

**ОСОБЕННОСТИ НЕЙРОНАЛЬНЫХ МЕХАНИЗМОВ ОБРАБОТКИ
ВИСЦЕРАЛЬНЫХ БОЛЕВЫХ СИГНАЛОВ В БАЗОЛАТЕРАЛЬНОЙ
АМИГДАЛЕ У КРЫС С КИШЕЧНОЙ ГИПЕРАЛГЕЗИЕЙ
ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ИЛИ СТРЕССОРНОГО ГЕНЕЗА**

© 2025 г. О. А. Любашина^{1,*}, Д. А. Мехиляйнен¹, И. Б. Сиваченко¹

¹Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: lyubashinaoa@infran.ru

Поступила в редакцию 27.05.2025 г.

После доработки 23.06.2025 г.

Принята к публикации 23.06.2025 г.

Усиление болевой чувствительности кишки (кишечная гипералгезия) может являться следствием кишечного воспаления или перенесенного стресса. Оба состояния связывают с дисфункцией базолатеральной амигдалы (БЛА), поскольку они сопровождаются нейрохимическими и молекулярными перестройками в ней. Однако сопутствующие изменения в нейрональных механизмах контроля БЛА висцеральной ноцицепции и их возможная специфика для поствоспалительной и постстрессорной гипералгезий остаются неясными. Целью исследования являлась сравнительная оценка изменений в функциональных свойствах реактивных к висцеральной боли нейронов БЛА и влияниях на них инфралимбической области медиальной префронтальной коры (ИК), которые возникают после кишечного воспаления или стресса. Работа выполнена на самцах крыс Вистар: 1) контрольных, 2) перенесших экспериментальный колит и 3) подвергнутых длительному эмоционально-болевому стрессу. У животных разных групп в бодрствующем состоянии оценивали кишечную гипералгезию посредством регистрации висцеромоторной реакции на болевое колоректальное растяжение (КРР), а под общей анестезией – производили микроэлектродную регистрацию фоновой импульсной активности нейронов БЛА и их реакций на КРР до и после электростимуляции ИК. Установлено, что крысы постколитной и стрессированной групп демонстрируют кишечную гипералгезию, которая больше выражена после стресса. Постколитное состояние ассоциировано со снижением, а постстрессорное – с повышением частоты фоновой активности нейронов БЛА. Впервые показано, что в обоих случаях усиливается реактивность нейронов БЛА, отвечающих на КРР возбуждением или торможением, к стимулирующим влияниям ИК. Для постколитного периода характерно усиление активирующего действия ИК на тормозящиеся при КРР нейроны БЛА, а для постстрессорного – на возбуждающиеся и тормозящиеся ноцицептивные клетки. Выявленные в БЛА нейрональные перестройки могут приводить к присущим поствоспалительной или постстрессорной кишечным гипералгезиям нарушениям в амигдаларном контроле сенсорного и эмоционального компонентов висцеральной боли и являться специфическими мишенями при лечении таких состояний в клинике.

Ключевые слова: базолатеральная амигдала, нейрональная активность, колоректальное растяжение, колит, эмоционально-болевой стресс, кишечная гипералгезия

ВВЕДЕНИЕ

Кишечная гипералгезия, или повышенная чувствительность к внутрикишечным болевым стимулам, является ведущей причиной хронической абдоминальной боли у пациентов с воспалительными (болезнь Крона и язвенный колит) и функциональными (синдром раздраженной кишки) заболеваниями желудочно-кишечного тракта [1, 2]. При этих патологиях кишечная гипералгезия является непосредственным следствием органического воспаления или возникает после перенесенного стресса [3–5] и в обоих случаях часто сочетается с расстройствами психоэмоциональной сферы, проявляющимися в форме тревоги и/или депрессии [6, 7]. Последнее обстоятельство указывает на вовлечение в развитие кишечной гипералгезии разного генеза лимбических структур головного мозга [4, 8, 9].

Амигдала – одно из важнейших лимбических образований мозга, которое обеспечивает обработку и модуляцию поступающей в мозг висцеросенсорной информации, в том числе ноцицептивных сигналов, от органов желудочно-кишечного тракта [10, 11–13] и участвует в формировании эмоционально-аффективных реакций организма на боль, таких как реакции тревоги и страха [14, 15]. Клинические данные свидетельствуют о вовлечении амигдалы в патогенез как воспалительных, так и функциональных заболеваний кишки [3, 9, 16]. При этом имеются сведения о разнонаправленных изменениях в активности амигдалы и ее функциональных связях с медиальной префронтальной корой при воспалительных кишечных патологиях и синдроме раздраженной кишки [16, 17], предполагающие наличие специфики в процессах на амигдаллярном уровне, ассоциированных с их развитием. В свою очередь, экспериментальными исследованиями доказано участие амигдалы в развитии поствоспалительной и вызванной стрессом кишечных гипералгезий, а также сопутствующих им эмоциональных нарушений [4, 18, 19].

Как установлено, ключевую роль в интегративном контроле амигдалой болевой чувствительности и связанного с болью эмоционально-аффективного поведения играет ее базолатеральная область, которая получает ноцицептивную информацию от срединных и задних ядер таламуса, а также островковой и вторичной соматосенсорной коры, являясь при этом реципиентом модулирующих входов от передней поясной кортикальной области и других областей медиальной префронтальной коры [20–22]. После обработки и оценки эмоциональной значимости полученной ноцицептивной информации базолатеральная амигдала (БЛА) через свои проекции к центральному амигдаллярному ядру инициирует соответствующие эмоционально-аффективные поведенческие реакции и модулирует нисходящий контроль болевой трансмиссии [14, 15, 21].

В последние годы показано, что как поствоспалительные, так и вызванные стрессом кишечные гипералгезии ассоциированы с функциональными и нейрохимическими изменениями в БЛА [4, 18, 19, 23]. Так, у крыс и мышей с постколитным усилением кишечной болевой чувствительности в БЛА наблюдались подъем базальной и снижение вызванной внешними воздействиями с-Fos-синтезирующей активности нейронов [24, 25], а также уменьшение локальной продукции нейропептида Y (NPY) и нейротрофического фактора мозга (BDNF) [26, 27], которые сопровождалась усилением реактивности БЛА к ноцицептивным норадренергическим входам и ослаблением ее функциональной связи с передней поясной корой [28, 29].

В свою очередь, в разных моделях постстрессорной кишечной гипералгезии у грызунов БЛА демонстрировала общее повышение уровня нейрональной активности на фоне усиления глутаматергической нейротрансмиссии, экспрессии NMDA- и TRPV1-рецепторов [23, 30–32] при ослаблении локальных ГАМКергических процессов [33, 34], на фоне которых наблюдалось усиление ноцицептивной активации пути паравентрикулярное ядро таламуса – БЛА – центральное ядро амигдалы [35]. При этом, в отличие от поствоспалительных состояний, в БЛА после разных видов стресса было

отмечено не уменьшение, а усиление продукции NPY и BDNF [36, 37]. Помимо этого, в нашем предыдущем исследовании было установлено, что длительный эмоционально-болевой (травматический) стресс, который чаще всего связывают с патогенезом хронической висцеральной боли [38–40], вызывает изменения в фоновой импульсной активности нейронов БЛА и их реактивности к стимуляции инфраламбической области медиальной префронтальной коры [41]. Последняя, как известно, играет важную роль в модуляции функций БЛА, и нарушение такого контроля способствует возникновению хронических болевых синдромов и связанных с ними эмоциональных расстройств [20, 22]. Однако особенности кортикальной модуляции процессов обработки висцеральным болевым сигналами нейронов БЛА и изменения в ней при разных видах патологии остаются неизученными.

Таким образом, имеются убедительные доказательства, что кишечная гипералгезия разного генеза ассоциирована с нейропластическими перестройками в БЛА и ее отношениях с другими структурами мозга. Однако последствия таких перестроек для нейрональных механизмов контроля амигдалой висцеральной болевой чувствительности и их возможная специфика при поствоспалительных и постстрессорных кишечных гипералгезиях до настоящего времени остаются неясными, что, несомненно, сдерживает разработку эффективных методов купирования таких состояний в клинике.

На основании изложенного выше, целью проведенного исследования на крысах являлась сравнительная оценка изменений в функциональных свойствах реактивных к висцеральной боли нейронов БЛА и модулирующих влияниях на них инфраламбической коры (ИК), которые ассоциированы с состоянием кишечной гипералгезии, вызванным перенесенным кишечным воспалением или длительным эмоционально-болевым стрессом.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 61 взрослых самцах крыс Вистар (масса тела к началу исследования 270–320 г) из Коллекции лабораторных млекопитающих разной таксономической принадлежности Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Крысы были выращены и содержались в стандартных условиях вивария при световом режиме 12 ч день/12 ч ночь, получая стандартный корм и воду *ad libitum*. После доставки в лабораторию животные проходили как минимум 3-дневный период адаптации и далее были случайным образом разделены на три группы: 1) без негативных воздействий, 2) подвергнутые экспериментальному колиту, 3) подвергнутые длительному эмоционально-болевному стрессу.

Инициация колита

Колит вызывали по методу Morris с соавт. [42] посредством приемов, подробно описанных ранее [13, 43, 44]. Вкратце, животным после 16-часовой пищевой депривации через трансректально введенный 7-сантиметровый полиэтиленовый катетер, соединенный с инсулиновым шприцом, в полость ободочной кишки вводили 0.25 мл 50%-ного раствора этанола, содержащего 20 мг пикрилсульфоновой кислоты (TNBS, Sigma-Aldrich, США). Далее крыс содержали в стандартных условиях при свободном доступе к пище и воде, включая в исследование через 33–48 дней после внутрикишечного введения, когда исчезали внешние признаки кишечного воспаления (размягченный или жидкий стул, плохой аппетит, потеря массы тела). Животных контрольной группы все это время содержали в таких же условиях, не подвергая каким-либо негативным воздействиям.

Стрессорное воздействие

Эмоционально-болевое стрессорное воздействие осуществляли в прозрачной камере с решетчатым электрифицированным полом по 13 мин в течение 15 дней согласно стохастической схеме Гехта. Аналогично описанному ранее [41], животному предъявляли 12 световых сигналов длительностью 10 с (межсигнальный интервал 1 мин), из которых шесть были неподкрепляемыми, а другие шесть подкрепляемыми воздействиями электрического тока (2.5 мА, 4 с) на лапы. Сочетания с подкреплением и неподкреплением не повторялись, а чередовались с вероятностью 0.5, способствуя непредсказуемости электроболевого воздействия. Животных забирали в дальнейшее исследование через 24 ч после последнего сеанса стрессирования.

Оценка кишечной болевой чувствительности

У нескольких случайно выбранных крыс из контрольной ($n = 8$), постколитной ($n = 10$) и стрессированной групп ($n = 8$) в бодрствующем состоянии оценивали кишечную болевую чувствительность посредством электромиографической регистрации сокращений прямой мышцы живота или висцеромоторной реакции (ВМР) в ответ на коло ректальное растяжение (КРР) разной интенсивности, как это было описано ранее [43]. Для этого голодавшему в течение ночи животному под кратковременной ингаляционной анестезией изофлураном устанавливали пару игольчатых стальных электродов в прямую мышцу живота и плотно фиксировали их на коже медицинским пластырем. Затем в коло ректальный отдел толстой кишки трансанально вводили 7-сантиметровый резиновый баллон, соединительный катетер от которого фиксировали на хвосте крысы медицинским пластырем так, чтобы дистальный полюс баллона находился на расстоянии 1 см от анального сфинктера. Затем крысу помещали в прозрачный пластиковый бокс размером $24 \times 10 \times 15$ см и позволяли восстановиться после анестезии в течение 10–20 мин. В это время электроды для регистрации электромиограммы подключали к усилителю DAM 80 (World Precision Instruments, США), на хвост животного помещали заземляющий электрод, а соединительный катетер внутрикишечного баллона через Y-образный разъем соединяли с медицинским манометром и автоматическим шприцевым насосом ДШ-09 (Висма-Планар, Беларусь). После этого с помощью встроенной звуковой карты компьютера и программы Audition 3 (Adobe Corp., США) производили регистрацию ВМР на КРР (три раза по 20 с, 3-минутный межстимульный интервал), вызываемого раздуванием внутрикишечного баллона до давления 20, 40, 60 или 80 мм рт. ст. Электромиографическая запись для каждого уровня давления при КРР состояла из 3-минутного периода до КРР, трех ответов на 20-секундные КРР с интервалом в 3 мин и 3-минутного периода после стимуляции. После завершения экспериментов животных использовали в других (фармакологических) исследованиях. Результаты опытов анализировали офлайн в программе Spike 2 (Cambridge Electronic Design, Великобритания), посредством которой производили ректификацию записи электромиограммы и высчитывали площадь под очерчивающей ее кривой (AUC). Амплитуда ВМР определялась как процентное отношение AUC во время 20-секундного КРР определенным давлением к AUC в предшествующий 20-секундный период до кишечного растяжения (фоновое значение). Поскольку каждое давление КРР повторялось трехкратно, значения ВМР для данного уровня давления усреднялись.

Изучение нейрональной активности

Для нейрофизиологических экспериментов оставшихся крыс из контрольной ($n = 11$), постколитной ($n = 13$) и стрессированной групп ($n = 11$) после 12-часовой пищевой депривации анестезировали внутрибрюшинным введением смеси уретана (800 мг/кг; “Sigma”, США) и альфа-хлоралозы (60 мг/кг; “Sigma”, США). После

достижения хирургического уровня анестезии производили катетеризацию бедренной артерии и вены (для регистрации артериального давления и внутривенных введений) и трахеостомию с помощью полиэтиленовой трубки (для облегчения дыхания под анестезией). Артериальный катетер соединяли с полупроводниковым датчиком давления MLT0670 (ADInstruments, Австралия). Затем голову животного закрепляли в стереотаксическом приборе (Медикор, Венгрия) и рассекали мягкие ткани над теменной областью черепа в области брегмы. Далее для установки регистрирующего и стимулирующего электродов с помощью портативной бормашины (БЭБП-3, Россия) просверливали отверстия в левых теменной и лобной костях в зонах проекций БЛА и ИК согласно их стереотаксическим координатам по стандартному атласу мозга крысы [45]. Твердую мозговую оболочку в области отверстий надсекали, для смачивания открытой ткани мозга применяли теплый физиологический раствор. Для осуществления КРР в полость толстой кишки крысы трансректально вводили 7-сантиметровый резиновый баллон, соединительный катетер которого фиксировали на хвосте аналогично описанному выше и через Y-образный разъем присоединяли к медицинскому манометру и электрическому воздушному насосу (ДС-09, Висма-Планар, Беларусь). Показателем адекватности анестезии во время хирургической подготовки и в ходе эксперимента служила стабильность уровня артериального давления. При его дестабилизации или существенном повышении в отсутствие стимуляционных воздействий животному через внутривенный катетер вводили дополнительное количество анестезирующей смеси. Температуру тела крысы контролировали ректально и поддерживали на уровне 37–38 °С с помощью пластины, подогреваемой водяным термостатом (U-10, Германия).

Фоновую активность нейронов амигдалы и их реакции на ноцицептивное КРР давлением 80 мм рт. ст. регистрировали внеклеточно монополярными вольфрамовыми микроэлектродами в лаковой изоляции с кончиком 1 мкм и сопротивлением 1 МОм (World Precision Instruments, США). Микроэлектроды погружали в пределах левой БЛА, включающей согласно используемой классификации латеральное и базолатеральное ядра [45], и перемещали при помощи электронного устройства (МП-2, Россия) с шагом в 4 мкм в зоне 2.3–3.8 мм каудальнее брегмы, 4.5–5.5 мм латеральнее средней линии, 6.2–8.0 мм от поверхности мозга, которой по нашим нейроанатомическим данным преимущественно адресованы проекции ипсилатеральной ИК [10]. Стальной индифферентный электрод закрепляли в правой височной мышце. После усиления и фильтрации в диапазоне частот 400–5000 Гц (DAM 80, World Precision Instruments, США) регистрируемый микроэлектродом сигнал подавали на вход звуковой карты компьютера, визуализировали и сохраняли в программе Audition 3 (Adobe Corp., США).

Левую ИК раздражали в зоне, локализованной 2.7–3.5 мм роstralнее брегмы, 0.6–1.0 мм латеральнее средней линии, 4.0–4.8 мм от поверхности мозга [45], через стереотаксически погруженные монополярные вольфрамовые электроды в лаковой изоляции с диаметром кончика 5 мкм и сопротивлением 50 кОм (Science Products GmbH, Германия). Прямоугольные импульсы тока отрицательной полярности с амплитудой 0.3–0.6 мА и длительностью 0.25 мс предъявляли с частотой 50 Гц в течение 10 с при помощи электростимулятора Isostim A320 (World Precision Instruments, США). Электростимуляция ИК одиночными разрядами с такими параметрами вызывала стабильные реакции нейронов БЛА в нашем предыдущем исследовании [41].

Для каждого нейрона БЛА вначале регистрировали исходную фоновую и вызванную КРР активность. Запись осуществляли в течение 180 с: 60 с до стимуляции (фонный показатель), 60 с во время ноцицептивного КРР и 60 с после него. Затем (с интервалом не менее 3 мин) поочередно производили отдельные 180-секундные записи фоновой и вызванной КРР импульсаций нейрона в условиях электростимуляции ИК. При этом в обоих случаях в течение 40 с регистрировали текущую фоновую активность, затем применяли 10-секундное раздражение ИК и через 10 с после ее окончания

либо продолжали регистрацию фоновой импульсации без какой либо стимуляции, либо производили 60-секундное КРР с последующим 60-секундным постстимульным периодом. Как правило, у одного животного в ходе эксперимента подобным образом регистрировали нейрональную активность в 2–3 точках БЛА, отстоящих друг от друга не менее чем на 150 мкм.

По окончании эксперимента осуществляли эвтаназию животного внутривенным введением трехкратной дозы анестезирующей смеси и выполняли электролитическое разрушение ткани мозга в финальных точках локализации регистрирующего и стимулирующего электродов путем пропускания через них постоянного тока (0.75–1.5 мА, 60 с). Локализацию мест регистрации и стимуляции определяли с использованием атласа мозга крысы [45] на срезах мозга толщиной 40 мкм после их стандартной гистологической обработки по методу Ниссля. Также после эвтаназии у крыс контрольной, постколитной и стрессированной групп осуществляли забор фрагмента толстой кишки длиной 8 см от ануса для визуального анализа и гистологической обработки (эозин и гематоксилин) с целью оценки состояния кишки.

Последующую селекцию разрядов зарегистрированных нейронов БЛА по амплитуде и форме с определением их средней частоты в различных условиях выполняли с помощью программы Spike 2 (Cambridge Electronic Design, Великобритания). Для каждой изолированной импульсной последовательности в разных записях (исходная активность, фоновая импульсация или КРР-вызванная в условиях стимуляции ИК) рассчитывали среднюю частоту разрядов для трех периодов: 1) в первые 40 с регистрации (фоновый уровень), 2) с 60-ой по 120-ю секунды (во время КРР и/или после стимуляции ИК), 3) с 121-й до конца записи. Выходные данные отображались в виде частотных гистограмм с бином 1 с. Амплитуду ответов нейронов БЛА на КРР определяли как процентное изменение частоты фоновой активности. Нейрон считали реагирующим на кишечное растяжение, если частота его разрядов во время процедуры изменялась по отношению к фоновому уровню не менее чем на 15%. Данная величина была определена статистически как минимально значимое изменение в нейрональной активности (минимально детектируемый эффект) для анализируемых выборок наименьшего размера с учетом их вариативности (по стандартному отклонению) при уровне значимости различий в 5% и мощности статистического теста на уровне 80%. Для оценки эффектов электростимуляции ИК фоновую активность амигдаларного нейрона (в имп/с) и его реакцию на КРР (в % от фоновой импульсации), зарегистрированные после стимуляции ИК, сопоставляли с исходными (достимуляционными) показателями.

Статистический анализ

Результаты офлайн-обработки данных BMP и нейрональной активности транспортировали в программные пакеты Origin 2017 (OriginLab Corp., США) и IBM SPSS Statistics v. 21.0 (IBM Corp., США) для статистического анализа и графического оформления. В связи с отклонением анализируемых выборок от нормального распределения (тест Шапиро–Уилка), их статистические сравнения выполняли с использованием непараметрических методов. Для внутригрупповых сравнений применяли тест Фридмана и парный тест Вилкоксона, для межгрупповых – тесты Краскала–Уоллиса и Манна–Уитни–Вилкоксона. Эффекты влияния и взаимодействия разных экспериментальных факторов оценивали с помощью смешанной модели дисперсионного анализа (ANOVA) на рангах. В случае множественных сравнений применялась поправка Бонферрони. Для оценки различий между группами по частотам проявления тех или иных нейрональных реакций применяли тест Хи-квадрат и точный тест Фишера. Данные представлены как медиана с межквартильным размахом (Me [Q1; Q3]). Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные, получившие внутрикишечное введение пикрилсульфониевой кислоты ($n = 23$), на 7-й день после инъекции (в период острого колита) демонстрировали потерю массы тела на $14.2 \pm 6.4\%$ от исходной ($p = 0.015$, парный тест Вилкоксона), однако набирали его ко времени проведения исследования (через 33–48 дней после инъекции). В опытах масса тела крыс из разных экспериментальных групп существенно не различалась ($p = 0.15$, $KW = 3.8$, тест Краскала–Уоллиса) и составляла 380 [370; 390] г ($n = 19$) для контрольных животных, 370 [350; 380] г ($n = 23$) для перенесших колит и 390 [360; 410] г ($n = 19$) для стрессированных. Макроскопическое и микроскопические исследования толстой кишки всех животных после экспериментов не выявили в ней визуально выраженных повреждений.

Поствоспалительное и постстрессорное изменения кишечной болевой чувствительности

У бодрствующих крыс из разных групп растяжение кишки посредством раздувания воздухом внутрикишечного резинового баллона вызывало ВМР в виде серии мышечных сокращений (рис. 1а), которые нарастали с увеличением уровня давления в баллоне (для всех групп $p < 0.001$, $Fr = 12.6$ – 24.8 , тест Фридмана; рис. 1б). Однако амплитуда реакции у конкретного животного зависела не только от силы раздражения (эффект стимула, $p < 0.001$, $F_{3,69} = 62.8$, смешанная модель ANOVA), но и от принадлежности к контрольной, постколитной или стрессированной группам (эффект группы, $p < 0.001$, $F_{2,23} = 15.8$) при существенном взаимодействии факторов стимул $\times$ группа ($p = 0.017$, $F_{6,69} = 2.8$). По сравнению с контрольными животными ($n = 8$) крысы из постколитной группы ($n = 10$), а также крысы, перенесшие стресс ($n = 8$), демонстрировали более сильные ВМР на КРР давлениями как неболевого (40 мм рт. ст.), так и болевого (60 и 80 мм рт. ст.) диапазонов [46, 47], что свидетельствовало о развитии у них кишечных гиперчувствительности и гипералгезии (рис. 1б). При этом у стрессированных крыс ВМР на КРР давлением в 80 мм рт. ст. была интенсивнее, чем такая же реакция в постколитной группе ($p = 0.015$, $U = 13$ тест Манна–Уитни–Вилкоксона), указывая на более высокий уровень постстрессорной кишечной гипералгезии.

Эффекты кишечного воспаления и стресса на импульсную активность ноцицептивных нейронов базолатеральной амигдалы

У крыс из разных экспериментальных групп ноцицептивные нейроны были зарегистрированы в одной зоне амигдалы, расположенной на 2.7–3.6 мм каудальнее брегмы (рис. 2а) и включающей в себя вентромедиальную часть латерального ядра, а также переднюю и заднюю части базолатерального ядра амигдалы [45].

У животных из группы контроля в этой области была изучена активность 221 клетки. Из них 89 (40.3%) нейронов при ноцицептивном КРР (80 мм рт. ст.) демонстрировали усиление импульсной активности (рис. 3а, с), а 60 (27.1%) клеток снижали частоту разрядов (рис. 4а, с). Остальные 72 (32.6%) клеток не проявляли выраженных реакций на растяжение кишки. Они были исключены из дальнейшего анализа как не связанные с висцеральной ноцицепцией. Популяция возбуждающихся при КРР нейронов характеризовалась более низкой частотой фоновых разрядов по сравнению с таковой у тормозящихся клеток (0.4 [0.3; 0.6] имп/с по сравнению с 0.7 [0.4; 1.0] имп/с, $p < 0.001$, $U = 1621$, тест Манна–Уитни–Вилкоксона). При болевой стимуляции кишки импульсация в первой нейрональной популяции возрастала до 140.0 [123.9; 173.5]%, а во второй – снижалась на 25.8 [20.0; 40.7]%. В обоих случаях вызванные КРР изменения были статистически значимыми по сравнению с фоновой активностью нейронов ($p < 0.001$, парный тест Вилкоксона). Анализ с помощью смешанной модели

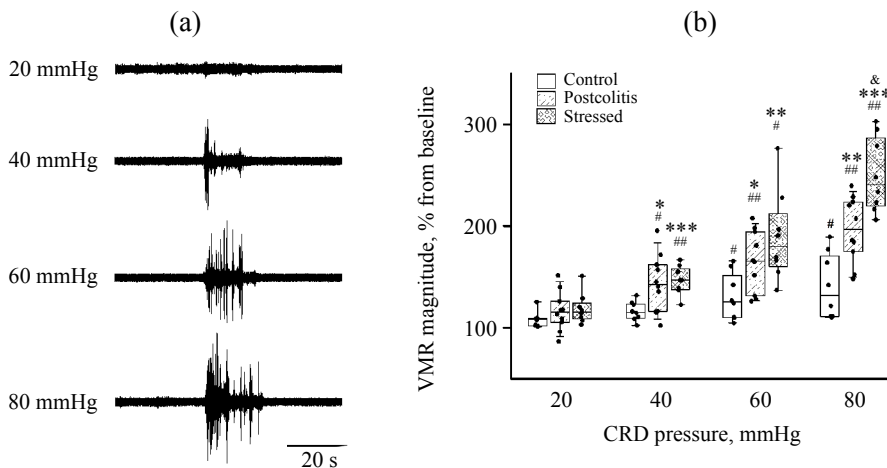


Рис. 1. Электромиографические записи висцеромоторных реакций бодрствующей крысы на колоректальное растяжение раздуванием воздухом внутрикишечного баллона до давления 20, 40, 60 и 80 мм рт. ст. (a) и амплитуда соответствующих реакций у животных из контрольной (Control), постколитной (Postcolitis) и стрессированной (Stressed) групп (b). На графике (b) по оси ординат – амплитуда реакции в % от стимуляционного уровня. Верхняя и нижняя границы каждого прямоугольника – первый и третий квартили (25-й и 75-й процентиля соответственно), горизонтальная линия внутри – медиана (50-й процентиль), концы отрезков – 10-й и 90-й процентиля, точки – индивидуальные значения в выборке. Значимые различия по сравнению с соответствующим значением при 20 мм рт. ст.: # – $p < 0.05$, ## – $p < 0.01$, ### – $p < 0.001$, парный тест Вилкоксона. Значимые различия по сравнению с соответствующим значением в группе контроля: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$; по сравнению с постколитной группой: & – $p < 0.05$; тест Манна–Уитни–Вилкоксона. Значимость изменений дана с учетом поправки Бонферрони.

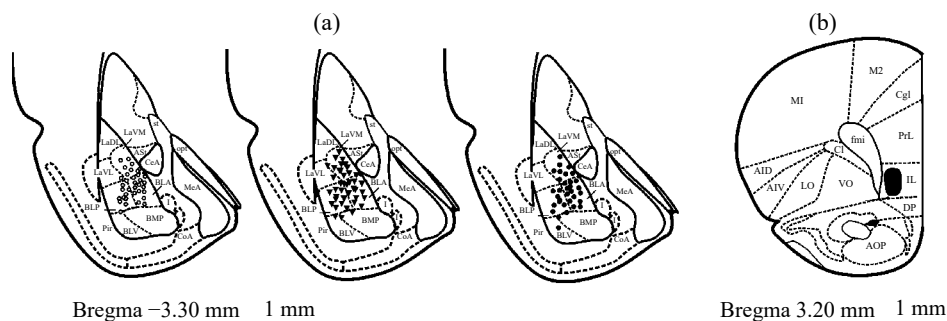


Рис. 2. Локализация мест регистрации нейронов в базолатеральной амигдале у контрольных (светлые точки), постколитных (темные треугольники) и перенесших стресс (темные точки) крыс (a) и зона электрической стимуляции инфралимбической коры у всех животных (b). На рис. (a) каждый символ соответствует локализации нескольких изученных нейронов. Схемы срезов адаптированы из стандартного атласа мозга крысы [45]. Обозначения на рис. (a): ASt – амигдалостриарная переходная область, BLA – передняя часть базолатерального ядра амигдалы, BLP – задняя часть базолатерального ядра амигдалы, BLV – вентральная часть базолатерального ядра амигдалы, BMP – задняя часть базомедиального ядра амигдалы, CeA – центральное ядро амигдалы, CoA – кортикальное ядро амигдалы, I – вставочные ядра амигдалы, LaDL – дорсолатеральная часть латерального ядра амигдалы, LaVL – вентролатеральная часть латерального ядра амигдалы, LaVM – вентромедиальная часть латерального ядра амигдалы, MeA – медиальное ядро амигдалы, орт – оптический тракт, Pir – пириформная кора, st – конечная полоска. Обозначения на рис. (b): AID – дорсальная агранулярная островковая кора, AIV – вентральная агранулярная островковая кора, AOP – переднее обонятельное ядро, Cgl – поясная извилина, Cl – ограда, DP – кора дорсальной ножки, fmi – малые щипцы мозолистого тела, IL – инфралимбическая кора, LO – латеральная орбитальная кора, M1 – первичная моторная кора, M2 – вторичная моторная кора, PrL – prelimбическая кора, VO – вентральная орбитальная кора.

ANOVA подтвердил эффект типа ноцицептивных амигдалярных нейронов на их фоновую ($p < 0.001$, $F_{1,449} = 12.9$) и КРР-вызванную ($p < 0.001$, $F_{1,450} = 459.1$) активности, а также выявил эффект принадлежности животного к контрольной, постколитной или стрессированной группам на фоновую ($p < 0.001$, $F_{2,449} = 38.3$), но не КРР-вызванную ($p < 0.001$, $F_{2,450} = 0.33$) нейрональные импульсации.

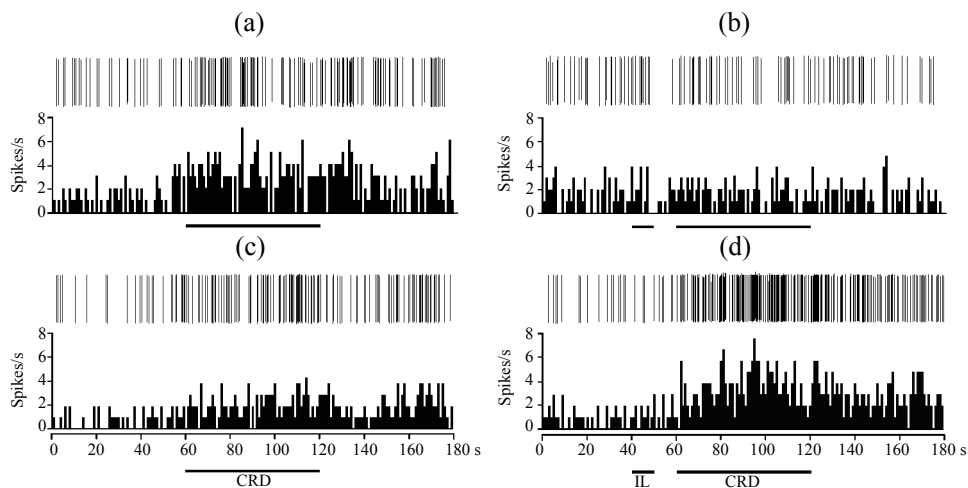


Рис. 3. Примеры возбуждающих реакций нейронов базолатеральной амигдалы на болевое колоректальное растяжение исходно (а, с) и в условиях подавляющего (б) и активирующего (д) эффектов электростимуляции инфраламбической коры. На рис. (а–д) в верхней части – нативные записи, ниже – соответствующие частотные гистограммы с бином в 1 с. По оси абсцисс – время в секундах, по оси ординат – частота разрядов (Spikes/s). Горизонтальные отрезки – время действия колоректального растяжения (CRD) и электрораздражения инфраламбической коры (IL). Артефакты электрической стимуляции убраны с помощью амплитудного дискриминатора.

Действительно, у крыс, перенесших колит, было зарегистрировано 232 нейрона БЛА, из которых 107 (46.1%) клеток были возбуждающимися при КРР, 65 (28.0%) – тормозящимися, а 60 (25.9%) нейронов не проявляли выраженных реакций, что было сопоставимо с соотношением нейронов разного типа у контрольных животных ($p = 0.3$, $\chi^2 = 2.5$, критерий Хи-квадрат). Однако у постколитных крыс было отмечено существенное по сравнению с контролем снижение частоты фоновых разрядов как возбуждающихся ($p = 0.014$, $U = 3790$, тест Манна–Уитни–Вилкоксона; рис. 5а), так и тормозящихся ноцицептивных клеток ($p < 0.001$, $U = 1260$; рис. 5с), хотя последние сохраняли превосходство над первыми по уровню импульсации ($p = 0.002$, $U = 2480$). При этом в обеих нейрональных популяциях выраженность (амплитуда) реакций на КРР не отличалась от контрольных значений (для возбуждающихся: $p = 0.9$, $U = 4742$; для тормозящихся: $p = 0.07$, $U = 1583$; рис. 5б, д).

Из 183 нейронов БЛА, которые были изучены у крыс, перенесших эмоционально-болевой стресс, 68 (37.2%) нейронов усиливали, 67 (36.6%) – снижали и 48 (26.2%) клеток не изменяли свою импульсную активность при болевой стимуляции кишки. Это не отличалось от соотношения нейронов разного типа у контрольных ($p = 0.1$, $\chi^2 = 0.2$, критерий Хи-квадрат) и постколитных животных ($p = 0.1$, $\chi^2 = 1.4$). Однако возбуждающиеся и тормозящиеся при КРР амигдалярные нейроны стрессированных крыс демонстрировали более высокие, чем в контрольной группе, уровни фоновой активности

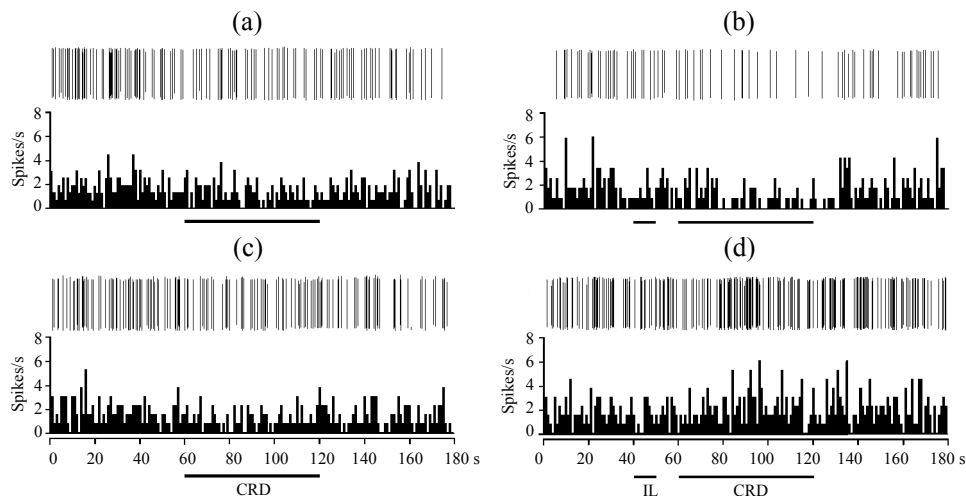


Рис. 4. Примеры тормозных реакций нейронов базолатеральной амигдалы на болевое колоректальное растяжение исходно (а, с) и в условиях подавляющего (b) и активирующего (d) эффектов электростимуляции инфралимбической коры. На рис. (а–d) в верхней части – нативные записи, ниже – соответствующие частотные гистограммы с бином в 1 с. Горизонтальные отрезки – время действия колоректального растяжения (CRD) и электрораздражения инфралимбической коры (IL). Артефакты электрической стимуляции убраны с помощью амплитудного дискриминатора. Остальные обозначения как на рис. 3.

(для возбуждающихся: $p < 0.001$, $U = 1915$; для тормозящихся: $p = 0.016$, $U = 1340$, тест Манна–Уитни–Вилкоксона), не различаясь по этому показателю между собой ($p = 0.08$, $U = 1673$) и существенно превосходя по импульсации такие же типы нейронов у постколитных животных ($p < 0.001$, $U = 1647$ и $p < 0.001$, $U = 851$; рис. 5а, с). Однако амплитуды возбуждающих и тормозных нейрональных ответов на КРР в БЛА животных, перенесших стресс, были сопоставимы с таковыми в контроле ($p = 0.6$, $U = 2877$ и $p = 0.11$, $U = 1679$ соответственно) и не отличались от таких же реакций после колита ($p = 0.7$, $U = 3501$ и $p = 0.7$, $U = 2081$; рис. 5b, d).

Поствоспалительные и постстрессорные изменения реактивности ноцицептивных нейронов базолатеральной амигдалы к влияниям инфралимбической коры

У всех животных предварительная электростимуляция глубоких слоев ИК на уровне 2.9–3.5 мм ростральнее брегмы (рис. 2b) могла оказывать на реактивные к КРР нейроны БЛА подавляющее или активирующее действие, либо не вызывать выраженного эффекта. Подавляющее действие кортикальной стимуляции проявлялось в ослаблении возбуждающих (рис. 3а, b) и усилении тормозных реакций клеток БЛА на болевое кишечное раздражение (рис. 4а, b). В свою очередь, активирующее влияние ИК выражалось в усилении ноцицептивной активации амигдаларных нейронов (рис. 3с, d) и в инвертировании их тормозных нейрональных ответов на КРР в возбуждающие (рис. 4с, d).

Эффекты кортикальной стимуляции на КРР-вызванную активность ноцицептивных нейронов БЛА были статистически значимыми (эффект стимула: $p = 0.04$, $F_{1,450} = 4.2$, смешанная модель ANOVA), демонстрируя зависимость от принадлежности нейронов к возбуждающемуся или тоmozящемуся типу (взаимодействие стимул $\times$ тип нейрона: $p < 0.001$, $F_{1,450} = 515.9$), а также от группы животных (стимул $\times$ группа: $p = 0.012$,

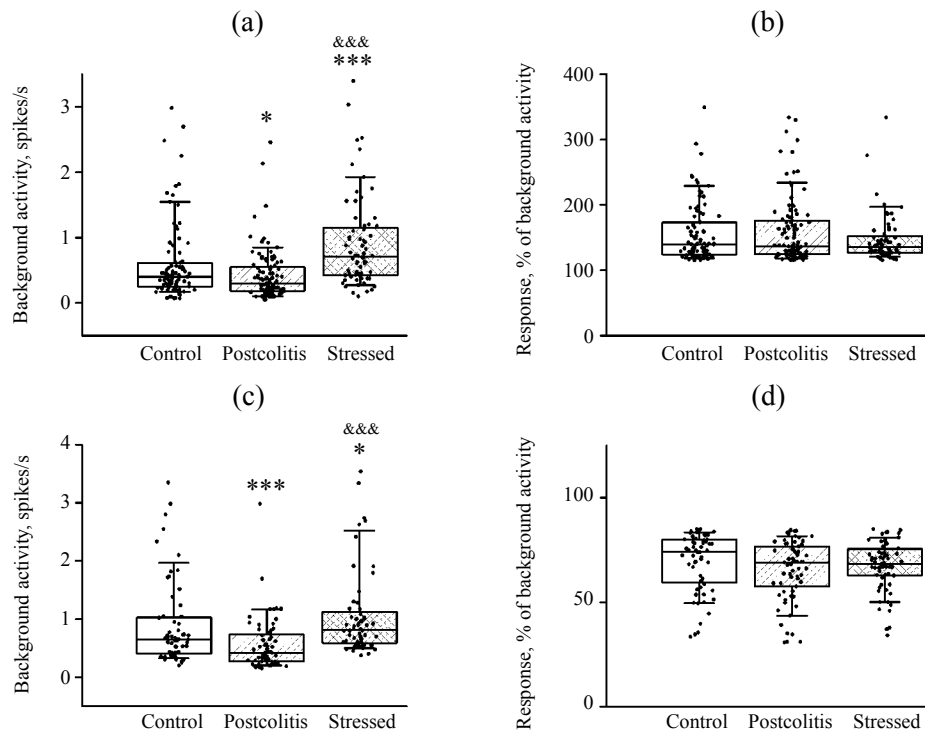


Рис. 5. Фоновая (а, с) и вызванная (b, d) активность нейронов базолатеральной амигдалы, отвечающих возбуждением (а, b) и торможением (с, d) на болевое колоректальное растяжение, у контрольных (Control), постколитных (Postcolitis) и перенесших стресс (Stressed) крыс. На рис. (а, с) по оси ординат – частота разрядов (Spikes/s). На рис. (b, d) – по оси ординат – реакция в % от уровня фоновой активности. На рис. (а–d) – верхняя и нижняя границы каждого прямоугольника – первый и третий квартили (25-й и 75-й процентиля соответственно), горизонтальная линия внутри – медиана (50-й процентиль), концы отрезков – 10-й и 90-й процентиля, точки – индивидуальные значения в выборке. Значимые различия по сравнению с соответствующим значением в группе контроля: * – $p < 0.05$, *** – $p < 0.001$; по сравнению с постколитной группой: &&& – $p < 0.001$; тест Манна–Уитни–Вилкоксона.

$F_{2,450} = 4.4$) при комплексном взаимодействии факторов стимул $\times$ тип нейрона $\times$ группа ($p = 0.003$, $F_{2,450} = 5.8$).

Так, у крыс из группы контроля при стимуляции ИК возбуждаемые КРР нейроны БЛА ($n = 89$) в 67.4% случаев демонстрировали уменьшение реакций на кишечное растяжение ($p < 0.001$, парный тест Вилкоксона; рис. 6а) и лишь в 19.1% случаев – их усиление ($p < 0.001$; рис. 6б). В 13.5% опытов кортикальная стимуляция не оказывала эффекта. В свою очередь, у тормозящихся при КРР амигдаларных нейронов ($n = 60$) кортикальная стимуляция в 65.0% случаев вызывала инверсию их ноцицептивного ответа в возбуждающий ($p < 0.001$; рис. 6с), и лишь у 5 (8.3%) нейронов при раздражении ИК наблюдалось усугубление их КРР-вызванного торможения, которое из-за малого количества наблюдений при значительном уровне вариабельности показателя не достигало статистической значимости ($p = 0.056$). В 26.7% случаев тормозящиеся ноцицептивные нейроны БЛА были индифферентны к активации ИК. При этом кортикальная стимуляция не оказывала существенного влияния на фоновую импульсную активность возбуждающихся и тормозящихся в ответ на КРР амигдаларных нейронов (для всех случаев: $p = 0.28$ – 0.77 , парный тест Вилкоксона).

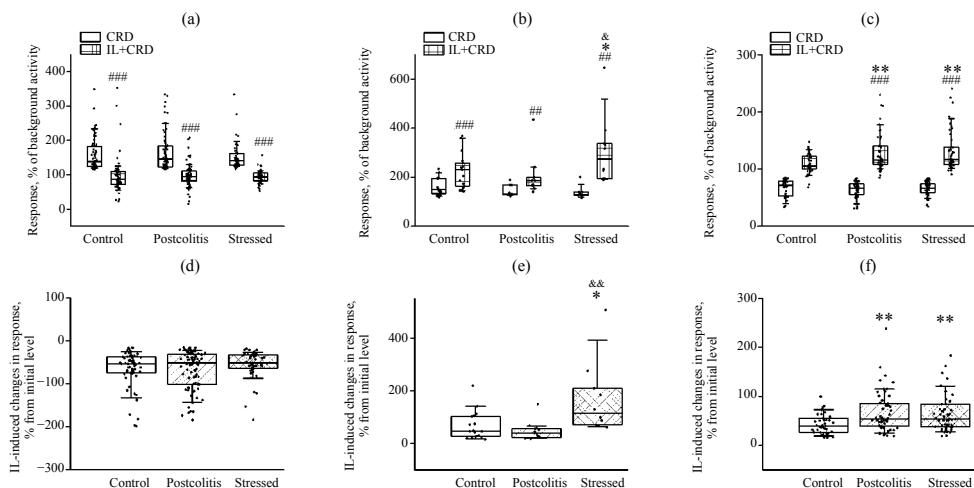


Рис. 6. Возбуждающие (a, b) и тормозные (c) реакции нейронов базолатеральной амигдалы на болевое корректальное растяжение исходно (CRD) и после предварительной электростимуляции инфралимбической коры (IL+CRD) у контрольных (Control), постколитных (Postcolitis) и перенесших стресс (Stressed) крыс. По оси ординат – реакция в % от уровня фоновой активности. Амплитуда подавляющего (d) и активирующего (e, f) эффектов кортикальной стимуляции на возбуждающиеся (d, e) и тормозящиеся (f) при кишечном растяжении амигдаларные нейроны в контрольной (Control), постколитной (Postcolitis) и стрессированной (Stressed) группах. По оси ординат – амплитуда вызываемых кортикальной стимуляцией изменений в % от исходного (достимуляционного) уровня. Значимые изменения по сравнению с соответствующим исходным уровнем: # – $p < 0.01$ и ### – $p < 0.001$, парный тест Вилкоксона. Значимые различия по сравнению с соответствующим значением в группе контроля: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$; по сравнению с постколитной группой: & – $p < 0.05$, && – $p < 0.01$; тест Манна–Уитни–Вилкоксона. Остальные обозначения как на рис. 5.

У крыс, перенесших колит, соотношения разных эффектов стимуляции коры на возбуждающиеся ($n = 107$) и тормозящиеся ($n = 65$) ноцицептивные нейроны БЛА существенно не изменились (для обеих нейрональных популяций: $p = 0.11$ – 0.16 , $\chi^2 = 3.7$ – 4.4 , тест Хи-квадрат). Как и у контрольной группы, у постколитных животных было отмечено превалирование подавляющего влияния ИК на возбуждающиеся нейроны (78.5% случаев) и ее активирующего (инвертирующего ноцицептивную реакцию) действия на тормозящиеся клетки (81.5% случаев). Индуцируемое корой усиление КРР-вызванных возбуждающих и тормозных нейрональных реакций наблюдалось лишь в 10.3% и 4.6% опытов соответственно. Интенсивность (амплитуда) как подавляющих, так и активирующих кортикальных влияний на возбуждаемые КРР нейроны БЛА также существенно не изменилась (для подавляющих: $p = 0.83$, $U = 2467$; для активирующих: $p = 0.49$, $U = 78$, тест Манна–Уитни–Вилкоксона; рис. 6d, e). Однако была усилена индуцируемая ИК инверсия тормозных реакций амигдаларных нейронов на растяжение кишки в возбуждающие. Уровень КРР-вызванной активации этих клеток после стимуляции коры был выше ($p = 0.006$, $U = 685$; рис. 6c) и активирующий эффект кортикальной стимуляции сильнее, чем у контрольных животных ($p = 0.002$, $U = 642$; рис. 6f).

В свою очередь, у крыс, перенесших стресс, соотношение подавляющего и активирующего влияний ИК на возбуждаемые КРР амигдаларные нейроны ($n = 68$) составляло 75.0% и 14.7% случаев соответственно, что было сопоставимо с контролем ($p = 0.59$, $\chi^2 = 1.1$, тест Хи-квадрат). Однако у стрессированных животных тест Хи-квадрат выявил значимые изменения ($p = 0.04$, $\chi^2 = 6.2$) в эффектах кортикальной стимуляции на тормозящиеся ноцицептивные нейроны БЛА ($n = 68$), которые выражались в существенном ($p = 0.013$, точный тест Фишера) увеличении доли активируемых корой

амигдаллярных клеток (до 76.1%) на фоне полного отсутствия нейронов, усиливающих свое КРР-вызванное торможение после стимуляции ИК. В этих условиях при неизменном по сравнению с контролем подавляющем действии ИК на возбуждающиеся ноцицептивные нейроны БЛА ($p = 0.28$, $U = 1345$, тест Манна–Уитни–Вилкоксона; рис. 6а), были усилены активирующие кортикальные влияния как на возбуждающиеся ($p = 0.04$, $U = 45$; рис. 6б), так и тормозящиеся при КРР нейроны амигдалы ($p = 0.004$, $U = 636$; рис. 6с). При этом в стрессированной группе выраженность активирующего действия ИК на первый тип амигдаллярных клеток превосходила таковую не только у контрольных ($p = 0.011$, $U = 35$), но и у постколитных животных ($p = 0.0011$, $U = 11$; рис. 6е), тогда как тормозящийся тип ноцицептивных нейронов БЛА испытывал усиленные по сравнению с контролем ($p = 0.002$, $U = 621$), но сопоставимые с таковыми в постколитной группе кортикальные влияния ($p = 0.88$, $U = 1329$; рис. 6ф).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что крысы, перенесшие кишечное воспаление (колит), как и животные, подвергшиеся длительному эмоционально-болевого стрессу, демонстрируют кишечную гипералгезию, которая в большей степени проявляется у стрессированных животных. Впервые показано, что постколитная гипералгезия ассоциирована со снижением, а постстрессорная – с повышением уровня фоновой импульсной активности нейронов БЛА, указывая на разнонаправленные изменения в общей возбудимости структуры. При этом в обоих случаях усиливается реактивность нейронов БЛА, отвечающих на болевое растяжение кишки, к стимулирующему влиянию инфралимбической области медиальной префронтальной коры. В постколитный период усиленной кортикальной стимуляции подвержены тормозящиеся при висцеральной ноцицепции нейроны, тогда как в постстрессорный период – как возбуждающиеся, так и тормозящиеся ноцицептивные амигдаллярные клетки.

На основании того, что преобладающими клетками БЛА являются глутаматергические пирамидные нейроны [21, 48], для которых доказано вовлечение в процессы ноцицепции [35, 49], мы полагаем, что именно они составляли основную массу ноцицептивных амигдаллярных нейронов, зарегистрированных в наших экспериментах. Представленные данные о разнонаправленных постколитных и постстрессорных изменениях фоновой активности нейронов БЛА согласуются с результатами других экспериментальных исследований на грызунах, продемонстрировавших уменьшение нейрональной активности этой амигдаллярной области после висцерального воспаления [28, 50], но усиление нейронального возбуждения в ней после разных видов стресса, включая травматический [23, 30–32]. Также клинические данные, в подтверждение противоположных эффектов воспаления и стресса на активность БЛА, свидетельствуют об ослаблении ее функциональных связей с островковой, передней поясной корой и парагиппокампальной извилиной у пациентов с воспалительными заболеваниями кишки [51–53] и усилении таких связей при синдроме раздраженной кишки [54–56], развитие которого в значительной степени связывают с действием стресса [19, 57, 58].

В основе постстрессорного усиления нейрональной активности БЛА могут лежать ранее продемонстрированные в нем после длительного стресса усиление NMDA-зависимой глутаматергической нейротрансмиссии [23, 30–32] и снижение активности парвальбумин-синтезирующих ГАМКергических интернейронов, осуществляющих непосредственный тормозный контроль глутаматергических пирамидных нейронов БЛА [33, 34]. Еще одной из причин может быть вызываемое патологическим стрессом усиление локальной продукции NPY и BDNF [36, 37], которые способны подавлять активность ГАМКергических синапсов на амигдаллярных пирамидных нейронах, приводя к усилению возбудимости последних [59, 60].

В свою очередь, локальные механизмы, которые могут лежать в основе продемонстрированного нами постколлитного снижения уровня фоновой активности нейронов БЛА, на данный момент времени остаются малоисследованными. Предположительно, его могут определять процессы, которые по своей общей направленности противоположны тем, что наблюдаются в постстрессорный период. В частности, определенную роль может играть отмеченное после висцерального воспаления снижение продукции в БЛА NGF и BDNF [26, 27], дефицит которых может способствовать усилению локальной ГАМКергической нейротрансмиссии [59, 60], приводя к подавлению активности глутаматергических пирамидных клеток БЛА и, как следствие, к снижению ее общей функциональной активности.

В целом продемонстрированные различия в постколлитном и постстрессорном изменении общей нейрональной активности БЛА могут определять различия в уровнях психологического дистресса, тревоги и депрессии при кишечных патологиях разного генеза, в частности их более высокие уровни у пациентов с синдромом раздраженной кишки по сравнению со страдающими воспалительными кишечными заболеваниями [61, 62]. В подтверждение этому предположению в экспериментах на животных показано, что вызываемое травмирующим стрессом усиление глутаматергического нейронального возбуждения в БЛА на фоне ослабления локальных ГАМКергических механизмов ассоциировано с усилением признаков тревожно-депрессивного состояния [31–34].

Полученные нами данные о существовании в БЛА популяций нейронов, усиливающих или снижающих свою импульсную активность при болевой стимуляции кишки, являются новыми. Они согласуются с результатами наших предыдущих исследований на других супраспинальных структурах. Различным образом реагирующие на колоректальное растяжение нейроны были продемонстрированы нами ранее в вентролатеральной ретикулярной области и ядре одиночного тракта продолговатого мозга, большом и дорсальном ядрах шва, центральном сером веществе среднего мозга [63–65]. Это позволяет предполагать, что такие нейроны могут относиться к функционально гетерогенным популяциям, вовлеченным в различные пути супраспинального контроля висцеральной ноцицепции. Одним из подтверждений этому могут быть отличия в фоновой импульсной активности таких нейрональных популяций, которые мы выявили в БЛА, а также в других структурах головного мозга в наших предыдущих работах [63–65].

Известно, что БЛА получает ноцицептивную информацию от спиноталамического тракта через срединные и задние ядра таламуса, а также опосредованно через островковую и вторичную соматосенсорную области коры [15, 21, 34]. При этом установлено, что непосредственной мишенью для возбуждающих таламических входов, включая висцеральные ноцицептивные, являются глутаматергические пирамидные нейроны БЛА, тогда как кортикальные входы в значительной степени адресованы локальным ГАМКергическим интернейронам, осуществляющим тормозный контроль активности амигдаллярных пирамидных клеток [34, 35, 66]. Это позволяет предполагать, что зарегистрированное нами возбуждение или торможение нейронов БЛА в ответ на болевое колоректальное растяжение в значительной степени может быть результатом активации таламических или кортикальных ноцицептивных входов к БЛА соответственно.

В нашем исследовании впервые продемонстрировано, что инфраламбическая область медиальной префронтальной коры может оказывать на реактивные к болевому КРР нейроны БЛА как активирующее, так и подавляющее влияние. В наших экспериментах активирующее влияние ИК выражалось в усилении ноцицептивной активации амигдаллярных нейронов и в инвертировании их тормозных нейрональных ответов на КРР в возбуждающие, а подавляющее действие кортикальной стимуляции проявлялось в ослаблении возбуждающих и усилении тормозных реакций клеток БЛА на болевое кишечное раздражение. Как ранее было показано, нисходящие

к амигдале проекции ИК являются возбуждающими и адресованы пирамидным нейронам БЛА, а также амигдаларным вставочным ГАМКергическим нейронам, которые обеспечивают тормозный контроль пирамидных клеток БЛА [67, 68]. Кроме того, установлено, что вставочные тормозные нейроны также могут подавлять парвальбумин- и кальбиндин-синтезирующие ГАМКергические интернейроны в БЛА, растормаживая ее пирамидные клетки [34, 69]. Эти данные позволяют предположить, что продемонстрированные нами кортико-амигдаларные влияния могут задействовать разные нейрональные пути.

Так, выявленное нами усиливающее действие ИК на возбуждающиеся при ККР нейроны БЛА может быть реализовано через прямые кортикальные входы, тогда как инициируемые ИК подавление возбуждающих и усиление тормозных нейрональных реакций БЛА на болевую кишечную стимуляцию, очевидно, опосредованы тормозными входами к ним от вставочных ГАМКергических клеток. В свою очередь, наблюдавшиеся нами при стимуляции ИК случаи инвертирования тормозных ноцицептивных реакций нейронов БЛА в возбуждающие могут быть объяснены их растормаживанием в результате подавления локальных парвальбумин- и/или кальбиндин-синтезирующих ГАМКергических интернейронов вставочными клетками, активирующимися при стимуляции ИК. Тот факт, что в нашем исследовании было отмечено преобладание подавляющего эффекта ИК на возбуждающиеся при ККР нейроны БЛА и ее активирующего (инвертирующего) действия на тормозящиеся ноцицептивные клетки, указывает на то, что выявленные нами кортикальные влияния преимущественно опосредованы амигдаларными вставочными клетками. При этом, однако, мы не можем исключать, что по крайней мере частично эти эффекты могут быть следствием непосредственного влияния ИК на поступающие к БЛА висцеральные ноцицептивные входы еще при их обработке на уровне продолговатого мозга, что было продемонстрировано в нашей предыдущей работе [44].

В наших экспериментах ни после колита, ни после длительного эмоционально-болевого стресса, несмотря на перестройки в фоновой активности нейронов БЛА, не наблюдалось существенного изменения их возбуждающих и тормозных реакций на болевую стимуляцию кишки. Конкретные причины этого остаются неясными. Однако можно предположить, что в поствоспалительный период поддержанию интенсивности ответов амигдаларных нейронов на болевое ККР при сниженной фоновой активности частично могло способствовать инициируемое колитом усиление висцерального ноцицептивного входа, получаемого ими от голубого пятна [29]. В свою очередь, неизменная по сравнению с контролем постстрессорная реактивность нейронов БЛА к висцеральной ноцицепции на фоне повышенного уровня их фоновой импульсации может быть объяснена потенцирующим действием BDNF, продукция которого возрастает после негативного стресса [36], на активацию локальных тормозных ГАМКергических процессов норадренергическими и серотонинергическими ноцицептивными входами [60].

Между тем мы впервые продемонстрировали, что следствием как кишечного воспаления, так и перенесенного стресса является повышение уровня реактивности ноцицептивных нейронов БЛА к стимулирующему влиянию ИК. При этом для постколитного периода специфичным является усиление активирующего действия коры только на тормозящиеся при висцеральной ноцицепции амигдаларные нейроны, тогда как для постстрессорного периода – усиление ИК-индуцируемой стимуляции как возбуждающихся, так тормозящихся ноцицептивных клеток.

Обнаруженные изменения в кортикальном контроле БЛА могут способствовать кишечной гипералгезии и связанным с ней эмоциональным расстройствам, поскольку ранее был экспериментально доказан вклад усиленных возбуждающих влияний ИК на БЛА в хроническую боль и ассоциированные с ней тревогу и депрессию [22, 70]. Поскольку есть основания полагать, что возбуждающиеся при ККР нейроны БЛА

могут получать таламические, а тормозящиеся – кортикальные ноцицептивные входы [34, 35, 66], первые из которых, как установлено, важны для формирования эмоционально-аффективного, а вторые – и перцептуального, и эмоционально-аффективного компонентов системной реакции на боль [49], обнаруженное нами после стресса возрастание стимулирующих влияний ИК на оба типа амигдалярных нейронов может приводить к существенному усилению обоих компонентов болевой реакции, способствуя более высокому уровню постстрессорной кишечной гипералгезии по сравнению с поствоспалительной, что мы и наблюдали в наших экспериментах.

Возможной причиной постстрессорного усиления стимулирующего действия ИК на возбуждающиеся ноцицептивные амигдалярные нейроны может являться уже упомянутое выше снижение функциональной активности локальных парвальбумин-синтезирующих ГАМКергических интернейронов, непосредственно тормозящих глутаматергические пирамидные клетки, которое было показано в БЛА после длительного стресса [33, 34]. Ослабление тормозного контроля со стороны таких интернейронов может как способствовать усилению непосредственных стимулирующих влияний ИК на возбуждение пирамидных клеток при КРР, так и облегчать инициируемое корой растормаживание тех пирамидных клеток, которые подавляли свою импульсацию при кишечной болевой стимуляции. Определенный вклад в первый процесс также может вносить показанное ранее постстрессорное усиление в БЛА NMDA-зависимой глутаматергической передачи [23, 30–32].

Что касается изменений во влияниях ИК, которые мы обнаружили после перенесенного кишечного воспаления, то сведения, необходимые для их объяснения, в известной к настоящему времени научной литературе отсутствуют. Учитывая избирательность таких изменений в отношении только действия ИК на тормозящиеся при КРР амигдалярные нейроны, можно предположить роль в них иных, чем возникающие после стресса, локальных перестроек. Гипотетически одной из возможных причин постколитного усиления вызываемой ИК инверсии тормозных реакций нейронов БЛА на КРР в возбуждения подавляющего влияния активируемых ИК вставочных ГАМКергических клеток на кальбиндин/ГАМК-синтезирующие интернейроны БЛА, которые, как установлено, опосредуют тормозное действие кортикальных ноцицептивных входов на локальные пирамидные нейроны [66]. Несомненно, для проверки справедливости этой гипотезы, а также других предположений, высказанным нами выше, необходимы специальные исследования.

Таким образом, представленное исследование продемонстрировало, что состояния кишечной гипералгезии поствоспалительного или постстрессорного генеза ассоциированы с противоположными изменениями фоновой импульсной активности нейронов БЛА, свидетельствующими о разнонаправленных сдвигах в общем уровне ее нейрональной возбудимости. Впервые показано, что нейроны БЛА могут реагировать возбуждением или торможением на болевое растяжение кишки, существенно не изменяя свои ноцицептивные реакции после перенесенного колита или длительного эмоционально-болевого стресса, но в обоих случаях демонстрируя усиление своей реактивности к стимулирующему влиянию инфралимбической области медиальной префронтальной коры. При этом для постколитного периода специфичным является усиление активирующего действия коры только на тормозящиеся при висцеральной ноцицепции нейроны БЛА, тогда как для постстрессорного периода – как на возбуждающиеся, так и на тормозящиеся ноцицептивные клетки, что может указывать на более интенсивные возбуждающие кортико-амигдалярные влияния после стресса. Выявленные в БЛА специфические нейрональные перестройки могут определять различные уровни боли и тревожно-депрессивных расстройств у пациентов с поствоспалительными или постстрессорными кишечными гипералгезиями и являться терапевтическими мишенями при разработке таргетных методов лечения таких состояний в клинике.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (О. А. Л.), сбор данных (И. Б. С.), обработка данных (О. А. Л., Д. А. М., И. Б. С.), написание и редактирование манускрипта (О. А. Л., Д. А. М., И. Б. С.).

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана средствами федерального бюджета в рамках государственного задания ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН» (№ 1021062411784-3-3.1.8).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям Комиссии по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных при Институте физиологии им. И.П. Павлова РАН (протокол № 09/03/2020).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Farzaei MH, Bahramsoltani R, Abdollahi M, Rahimi R* (2016) The Role of Visceral Hypersensitivity in Irritable Bowel Syndrome: Pharmacological Targets and Novel Treatments. *J Neurogastroenterol Motil* 22(4): 558–574.
<https://doi.org/10.5056/jnm16001>
2. *Roberts C, Albusoda A, Farmer AD, Aziz Q* (2021) Rectal Hypersensitivity in Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. *Crohns Colitis* 360 3(3): otab041.
<https://doi.org/10.1093/crocol/otab041>
3. *Bonaz B, Sinniger V, Pellissier S* (2024) Role of stress and early-life stress in the pathogeny of inflammatory bowel disease. *Front Neurosci* 18: 1458918.
<https://doi.org/10.3389/fnins.2024.1458918>
4. *Lyubashina OA, Sivachenko IB, Panteleev SS* (2022) Supraspinal Mechanisms of Intestinal Hypersensitivity. *Cell Mol Neurobiol* 42(2): 389–417.
<https://doi.org/10.1007/s10571-020-00967-3>
5. *Vergnolle N* (2008) Postinflammatory visceral sensitivity and pain mechanisms. *Neurogastroenterol Motil* 20 Suppl 1: 73–80.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2008.01110.x>
6. *Bisgaard TH, Allin KH, Keefer L, Ananthakrishnan AN, Jess T* (2022) Depression and anxiety in inflammatory bowel disease: epidemiology, mechanisms and treatment. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 19(11): 717–726.
<https://doi.org/10.1038/s41575-022-00634-6>
7. *Staudacher HM, Black CJ, Teasdale SB, Mikocka-Walus A, Keefer L* (2023) Irritable bowel syndrome and mental health comorbidity - approach to multidisciplinary management. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 20(9): 582–596.
<https://doi.org/10.1038/s41575-023-00794-z>
8. *Farmer AD, Aziz Q* (2013) Gut pain & visceral hypersensitivity. *Br J Pain* 7(1): 39–47.
<https://doi.org/10.1177/2049463713479229>

9. Mayer EA, Ryu HJ, Bhatt RR (2023) The neurobiology of irritable bowel syndrome. *Mol Psychiatry* 28(4): 1451–1465.
<https://doi.org/10.1038/s41380-023-01972-w>
10. Любашина ОА, Пантелеев СС, Ноздрачев АД (2009) Амигдалофугальная модуляция вегетативных центров мозга. Наука, СПб. [Lyubashina OA, Panteleev SS, Nozdrachev AD (2009) Amygdalofugal modulation of the autonomic centers of the brain. Nauka, Saint Petersburg. (In Russ)].
11. Benarroch EE (2012) Central autonomic control. In: Robertson D, Biaggioni I, Burnstock G, Low PA, Paton JFR (eds) *Primer on the Autonomic Nervous System*, 3rd ed. Elsevier, Amsterdam, pp. 9–12.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386525-0.00002-0>
12. Chang X, Zhang H, Chen S (2024) Neural circuits regulating visceral pain. *Commun Biol* 7(1): 457.
<https://doi.org/10.1038/s42003-024-06148-y>
13. Любашина ОА, Сиваченко ИБ, Бусыгина ИИ (2021) амигдалофугальная модуляция висцеральной ноцицептивной трансмиссии в каудальной вентролатеральной ретикулярной области продолговатого мозга крысы в норме и при кишечном воспалении. *Рос физиол журнал им ИМ Сеченова* 107(10): 1219–1234. [Lyubashina OA, Sivachenko IB, Busygina II (2021) Amygdalofugal Modulation of Visceral Nociceptive Transmission in the Rat Caudal Ventrolateral Medulla under Normal Conditions and Intestinal Inflammation. *Russ Physiol* 57: 1150–1162. (In Russ)].
14. Neugebauer V (2020) Amygdala physiology in pain. *Handb Behav Neurosci* 26: 101–113.
<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815134-1.00004-0>
15. Veinante P, Yalcin I, Barrot M (2013) The amygdala between sensation and affect: a role in pain. *J Mol Psychiatry* 1(1): 9.
<https://doi.org/10.1186/2049-9256-1-9>
16. Lanfers LR, Öhlmann H, Langhorst J, Theysohn N, Engler H, Icenhour A, Elsenbruch S (2024) Disease-specific alterations in central fear network engagement during acquisition and extinction of conditioned interoceptive fear in inflammatory bowel disease. *Mol Psychiatry* 29(11): 3527–3536.
<https://doi.org/10.1038/s41380-024-02612-7>
17. Mayer EA, Berman S, Suyenobu B, Labus J, Mandelkern MA, Naliboff BD, Chang L (2005) Differences in brain responses to visceral pain between patients with irritable bowel syndrome and ulcerative colitis. *Pain* 115(3): 398–409.
<https://doi.org/10.1016/j.pain.2005.03.023>
18. Han JS, Neugebauer V (2004) Synaptic plasticity in the amygdala in a visceral pain model in rats. *Neurosci Lett* 361(1–3): 254–257.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2003.12.027>
19. Meerveld BG, Johnson AC (2018) Mechanisms of Stress-induced Visceral Pain. *J Neurogastroenterol Motil* 24(1): 7–18.
<https://doi.org/10.5056/jnm17137>
20. Gao F, Huang J, Huang GB, You QL, Yao S, Zhao ST, Liu J, Wu CH, Chen GF, Liu SM, Yu Z, Zhou YL, Ning YP, Liu S, Hu BJ, Sun XD (2023) Elevated prelimbic cortex-to-basolateral amygdala circuit activity mediates comorbid anxiety-like behaviors associated with chronic pain. *J Clin Invest* 133(9): e166356.
<https://doi.org/10.1172/JCI166356>
21. Thompson JM, Neugebauer V (2017) Amygdala Plasticity and Pain. *Pain Res Manag* 2017: 8296501.
<https://doi.org/10.1155/2017/8296501>
22. Xie Y, Shen Z, Zhu X, Pan Y, Sun H, Xie M, Gong Q, Hu Q, Chen J, Wu Z, Zhou S, Liu B, He X, Liu B, Shao X, Fang J (2024) Infralimbic-basolateral amygdala circuit associated with depression-like not anxiety-like behaviors induced by chronic neuropathic pain and the antidepressant effects of electroacupuncture. *Brain Res Bull* 218: 111092.
<https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2024.111092>
23. Xiao Y, Che X, Zhang PA, Xu Q, Zheng H, Xu G-Y (2016) TRPV1-mediated presynaptic transmission in basolateral amygdala contributes to visceral hypersensitivity in adult rats with neonatal maternal deprivation. *Sci Rep* 6: 29026.
<https://doi.org/10.1038/srep29026>

24. Reichmann F, Painsipp E, Holzer P (2013) Environmental enrichment and gut inflammation modify stress-induced c-Fos expression in the mouse corticolimbic system. *PLoS One* 8(1): e54811. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054811>
25. Welch MG, Anwar M, Chang CY, Gross KJ, Ruggiero DA, Tamir H, Gershon MD (2010) Combined administration of secretin and oxytocin inhibits chronic colitis and associated activation of forebrain neurons. *Neurogastroenterol Motil* 22(6): 654–e202. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2010.01477.x>
26. Do J, Woo J (2018) From gut to brain: alteration in inflammation markers in the brain of dextran sodium sulfate-induced colitis model mice. *Clin Psychopharmacol Neurosci* 16(4): 422–433. <https://doi.org/10.9758/cpn.2018.16.4.422>
27. Reichmann F, Hassan A, Farzi A, Jain P, Schuligoi R, Holzer P (2015) Dextran sulfate sodium-induced colitis alters stress-associated behaviour and neuropeptide gene expression in the amygdala-hippocampus network of mice. *Sci Rep* 5: 9970. <https://doi.org/10.1038/srep09970>
28. Cao B, Wang J, Mu L, Poon DC, Li Y (2016) Impairment of decision making associated with disruption of phase-locking in the anterior cingulate cortex in viscerally hypersensitive rats. *Exp Neurol* 286: 21–31. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2016.09.010>
29. Chen CH, Tsai TC, Wu YJ, Hsu KS (2023) Gastric vagal afferent signaling to the basolateral amygdala mediates anxiety-like behaviors in experimental colitis mice. *JCI Insight* 8(12): e161874. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.161874>
30. Duan GB, Wang JW, Sun HH, Dong ZY, Zhang Y, Wang ZX, Chen Y, Chen Y, Huang Y, Xu SC (2024) Overexpression of EphB2 in the basolateral amygdala is crucial for inducing visceral pain sensitization in rats subjected to water avoidance stress. *CNS Neurosci Ther* 30(2): e14611. <https://doi.org/10.1111/cns.14611>
31. Zhang H-H, Meng S-Q, Guo X-Y, Zhang J-L, Zhang W, Chen Y-Y, Lu L, Yang J-L, Xue Y-X (2019) Traumatic Stress Produces Delayed Alterations of Synaptic Plasticity in Basolateral Amygdala. *Front Psychol* 10: 2394. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2019.02394>
32. Zhang JY, Liu TH, He Y, Pan HQ, Zhang WH, Yin XP, Tian XL, Li BM, Wang XD, Holmes A, Yuan TF, Pan BX (2019) Chronic Stress Remodels Synapses in an Amygdala Circuit-Specific Manner. *Biol Psychiatry* 85(3): 189–201. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2018.06.019>
33. Asim M, Wang H, Waris A, He J (2024) Basolateral amygdala parvalbumin and cholecystokinin-expressing GABAergic neurons modulate depressive and anxiety-like behaviors. *Transl Psychiatry* 14(1): 418. <https://doi.org/10.1038/s41398-024-03135-z>
34. Prager EM, Bergstrom HC, Wynn GH, Braga MF (2016) The basolateral amygdala γ -aminobutyric acidergic system in health and disease. *J Neurosci Res* 94(6): 548–567. <https://doi.org/10.1002/jnr.23690>
35. Li D, Li Y-Ch, Zhu Zh.-Y, Zhang F.-Ch, Zhao Q-Y, Jiang J-H, Shen B, Tang Y, Xu G-Y (2025) The paraventricular thalamus mediates visceral pain and anxiety-like behaviors via two distinct pathways. *Neuron* 113(1–15): e1–e7. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2025.04.019>
36. Chung EK, Bian ZX, Xu HX, Sung JJ (2009) Neonatal maternal separation increases brain-derived neurotrophic factor and tyrosine kinase receptor B expression in the descending pain modulatory system. *Neurosignals* 17(3): 213–221. <https://doi.org/10.1159/000224631>
37. Cui H, Sakamoto H, Higashi S, Kawata M (2008) Effects of single-prolonged stress on neurons and their afferent inputs in the amygdala. *Neuroscience* 152(3): 703–712. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2007.12.028>
38. Ju T, Naliboff BD, Shih W, Presson AP, Liu C, Gupta A, Mayer EA, Chang L (2020) Risk and Protective Factors Related to Early Adverse Life Events in Irritable Bowel Syndrome. *J Clin Gastroenterol* 54(1): 63–69. <https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000001153>

39. *Kearney DJ, Kamp KJ, Storms M, Simpson TL* (2022) Prevalence of Gastrointestinal Symptoms and Irritable Bowel Syndrome Among Individuals With Symptomatic Posttraumatic Stress Disorder. *J Clin Gastroenterol* 56(7): 592–596.
<https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000001670>
40. *Ng QX, Soh AYS, Loke W, Venkatanarayanan N, Lim DY, Yeo WS* (2019) Systematic review with meta-analysis: The association between post-traumatic stress disorder and irritable bowel syndrome. *J Gastroenterol Hepatol* 34(1): 68–73.
<https://doi.org/10.1111/jgh.14446>
41. *Sivachenko IB, Pavlova MB, Vaido AI, Shiryayeva NV, Panteleev SS, Dyuzhikova NA, Lyubashina OA* (2021) Spike Activity and Genome Instability in Neurons of the Amygdaloid Complex in Rats of Selected Strains with Contrasting Nervous System Arousability in Normal Conditions and Stress. *Neurosci Behav Physiol* 51: 620–628.
<https://doi.org/10.1007/s11055-021-01115-0>
42. *Morris GP, Beck PL, Herridge MS, Depew WT, Szewczuk MR, Wallace JL* (1989) Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology* 96(3): 795–803.
43. *Lyubashina OA, Sivachenko IB, Sushkevich BM, Busygina II* (2023) Opposing effects of 5-HT_{1A} receptor agonist buspirone on supraspinal abdominal pain transmission in normal and visceral hypersensitive rats. *J Neurosci Res* 101(10): 1555–1571.
<https://doi.org/10.1002/jnr.25222>
44. *Lyubashina OA, Sivachenko IB* (2024) The 5-HT₃ Receptor-Dependent Facilitatory Influence of the Infralimbic Cortex on the Caudal Ventrolateral Medulla Visceral Pain-Related Neurons and Its Colitis-Associated Changes in Rats. *J Evol Biochem Physiol* 60(3): 1198–1212.
<https://doi.org/10.1134/S0022093024030268>
45. *Paxinos G, Watson C* (1998) *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 4th ed. Acad Press, London.
46. *Ness TJ, Gebhart GF* (1988) Colorectal distension as a noxious visceral stimulus: physiologic and pharmacologic characterization of pseudoeffective reflexes in the rat. *Brain Res* 450(1–2): 153–169.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(88\)91555-7](https://doi.org/10.1016/0006-8993(88)91555-7)
47. *Suzuki A, Li WM* (2007) Changes in heart rate and blood pressure induced by noxious colorectal distension in anesthetized rats. *Autonom Neurosci* 135(1–2): 51.
<https://doi.org/10.1016/j.autneu.2007.06.073>
48. *Sah P, Faber ES, Lopez De Armentia M, Power J* (2003) The amygdaloid complex: anatomy and physiology. *Physiol Rev* 83(3): 803–834.
<https://doi.org/10.1152/physrev.00002.2003>
49. *Meng X, Yue L, Liu A, Tao W, Shi L, Zhao W, Wu Z, Zhang Z, Wang L, Zhang X, Zhou W* (2022) Distinct basolateral amygdala excitatory inputs mediate the somatosensory and aversive-affective components of pain. *J Biol Chem* 298(8): 102207.
<https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.102207>
50. *Loh MK, Stickling C, Schrank S, Hanshaw M, Ritger AC, Dilosa N, Finlay J, Ferrara NC, Rosenkranz JA* (2023) Liposaccharide-induced sustained mild inflammation fragments social behavior and alters basolateral amygdala activity. *Psychopharmacology (Berlin)* 240(3): 647–671.
<https://doi.org/10.1007/s00213-023-06308-8>
51. *Agostini A, Filippini N, Cevolani D, Agati R, Leoni C, Tambasco R, Calabrese C, Rizzello F, Gionchetti P, Ercolani M, Leonardi M, Campieri M* (2011) Brain functional changes in patients with ulcerative colitis: a functional magnetic resonance imaging study on emotional processing. *Inflamm Bowel Dis* 17(8): 1769–1777.
<https://doi.org/10.1002/ibd.21549>
52. *Fan Y, Bao C, Wei Y, Wu J, Zhao Y, Zeng X, Qin W, Wu H, Liu P* (2020) Altered functional connectivity of the amygdala in Crohn's disease. *Brain Imaging Behav* 14(6): 2097–2106.
<https://doi.org/10.1007/s11682-019-00159-8>
53. *Sun J, Sun W, Yue K, Zhang Y, Wu X, Liu W, Zou L, Shi H* (2024) Abnormal Amygdala Subregion Functional Connectivity in Patients with Crohn's Disease with or without Anxiety and Depression. *Behav Neurol* 2024: 1551807.
<https://doi.org/10.1155/2024/1551807>
54. *Aziz MNM, Kumar J, Muhammad Nawawi KN, Raja Ali RA, Mokhtar NM* (2021) Irritable Bowel Syndrome, Depression, and Neurodegeneration: A Bidirectional Communication from Gut to Brain. *Nutrients* 13(9): 3061.
<https://doi.org/10.3390/nu13093061>

55. Hong JY, Kilpatrick LA, Labus J, Gupta A, Jiang Z, Ashe-McNalley C, Stains J, Heendeniya N, Ebrat B, Smith S, Tillisch K, Naliboff B, Mayer EA (2013) Patients with chronic visceral pain show sex-related alterations in intrinsic oscillations of the resting brain. *J Neurosci* 33(29): 11994–12002. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5733-12.2013>
56. Qi R, Liu C, Ke J, Xu Q, Ye Y, Jia L, Wang F, Zhang LJ, Lu GM (2016) Abnormal Amygdala Resting-State Functional Connectivity in Irritable Bowel Syndrome. *AJNR Am J Neuroradiol* 37(6): 1139–1145. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A4655>
57. Azarfarin M, Moradikor N, Matin S, Dadkhah M (2024) Association Between Stress, Neuroinflammation, and Irritable Bowel Syndrome: The Positive Effects of Probiotic Therapy. *Cell Biochem Funct* 42(8): e70009. <https://doi.org/10.1002/cbf.70009>
58. Chang L (2011) The role of stress on physiologic responses and clinical symptoms in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 140(3): 761–765. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.01.032>
59. Mackay JP, Bompalaki M, DeJoseph MR, Michaelson SD, Urban JH, Colmers WF (2019) NPY-2Receptors Reduce Tonic Action Potential-Independent GABA Currents in the Basolateral Amygdala. *J Neurosci* 39(25): 4909–4930. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2226-18.2019>
60. Meis S, Endres T, Lessmann V (2020) Neurotrophin signalling in amygdala-dependent cued fear learning. *Cell Tissue Res* 382(1): 161–172. <https://doi.org/10.1007/s00441-020-03260-3>
61. Berens S, Schaefer R, Baumeister D, Gauss A, Eich W, Tesarz J (2019) Does symptom activity explain psychological differences in patients with irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease? Results from a multi-center cross-sectional study. *J Psychosom Res* 126: 109836. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychores.2019.109836>
62. Geng Q, Zhang QE, Wang F, Zheng W, Ng CH, Ungvari GS, Wang G, Xiang YT (2018) Comparison of comorbid depression between irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease: A meta-analysis of comparative studies. *J Affect Disord* 237: 37–46. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2018.04.111>
63. Lyubashina OA, Sivachenko IB, Busygina II, Panteleev SS (2018) Colitis-induced alterations in response properties of visceral nociceptive neurons in the rat caudal medulla oblongata and their modulation by 5-HT₃ receptor blockade. *Brain Res Bull* 142: 183–196. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2018.07.013>
64. Lyubashina OA, Sivachenko IB, Mikhalkin AA (2022) Impaired visceral pain-related functions of the midbrain periaqueductal gray in rats with colitis. *Brain Res Bull* 182: 12–25. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2022.02.002>
65. Сушкевич БМ, Сиваченко ИБ, Любашина ОА (2023) Постколитные перестройки в ноцицептивных свойствах нейронов большого и дорсального ядер шва крысы. *Журн эвол биохим физиол* 59(4): 293–310. [Sushkevich B, Sivachenko IB, Lyubashina OA (2023) Postcolitis Alterations in Nociceptive Properties of Neurons in the Rat Nucleus Raphe Magnus and Dorsal Raphe Nucleus. *J Evol Biochem Physiol* 59(4): 293–310. (In Russ)].
66. Unal G, Paré JF, Smith Y, Paré D (2014) Cortical inputs innervate calbindin-immunoreactive interneurons of the rat basolateral amygdaloid complex. *J Comp Neurol* 522(8): 1915–1928. <https://doi.org/10.1002/cne.23511>
67. Pinard CR, Mascagni F, McDonald AJ (2012) Medial prefrontal cortical innervation of the intercalated nuclear region of the amygdala. *Neuroscience* 205: 112–124. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.12.036>
68. Strobel C, Marek R, Gooch HM, Sullivan RKP, Sah P (2015) Prefrontal and Auditory Input to Intercalated Neurons of the Amygdala. *Cell Rep* 10(9): 1435–1442. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.02.008>
69. Bienvenu TC, Busti D, Micklem BR, Mansouri M, Magill PJ, Ferraguti F, Capogna M (2015) Large intercalated neurons of amygdala relay noxious sensory information. *J Neurosci* 35(5): 2044–2057. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1323-14.2015>
70. Chen YH, Wu JL, Hu NY, Zhuang JP, Li WP, Zhang SR, Li XW, Yang JM, Gao TM (2021) Distinct projections from the infralimbic cortex exert opposing effects in modulating anxiety and fear. *J Clin Invest* 131(14): e145692. <https://doi.org/10.1172/JCI145692>

The Features of Neural Mechanisms Underlying Visceral Pain Processing in the Basolateral Amygdala of Rats with Post-Inflammatory or Stress-Induced Hyperalgesia

O. A. Lyubashina^{a,*}, D. A. Mehilyainen^a, and I. B. Sivachenko^a

^aPavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

**e-mail: lyubashinaoa@infran.ru*

Increased intestinal pain sensitivity (intestinal hyperalgesia) may be a consequence of intestinal inflammation or experienced stress. Both conditions are thought to be associated with a dysfunction of the basolateral amygdala (BLA), since they are accompanied by its neurochemical and molecular rearrangements. However, the accompanying changes in the neuronal mechanisms of BLA-executed control of visceral nociception and their possible specificity for post-inflammatory and stress-induced hyperalgesia remain unclear. The aim of the study was to compare the changes in the functional properties of visceral pain-responsive BLA neurons and their modulation by the infralimbic area of the medial prefrontal cortex (IL) that occur after intestinal inflammation or stress. The work was performed on male Wistar rats: 1) control, 2) subjected to experimental colitis and 3) subjected to prolonged emotional-painful stress. In animals from different groups, in awake state the intestinal hyperalgesia was assessed by recording the noxious colorectal distension (CRD)-induced visceromotor response, and under general anesthesia the microelectrode recording of the background impulse activity of BLA neurons and their responses to CRD before and after IL electrical stimulation was performed. It was found that rats from the postcolitis and stressed groups demonstrate intestinal hyperalgesia, which is more pronounced after stress. The postcolitis state is associated with a decrease, and the stressed state – with an increase in the background activity frequency of BLA neurons. It was shown for the first time that in both cases the BLA neurons that respond to CRD with excitation or inhibition increase their reactivity to the stimulating action of IL. The postcolitis period is characterized by an increase in the IL activating effect on the CRD-inhibited BLA neurons, whereas the poststress period is characterized by an increase in the IL-induced stimulation of excited and inhibited nociceptive cells. The neuronal alterations revealed in the BLA may lead to the disturbances in the amygdala-executed control of the sensory and emotional components of visceral pain that are inherent to postinflammatory or stress-induced intestinal hyperalgesia, being thus a specific target for the treatment of such conditions in the clinic.

Keywords: basolateral amygdala, neuronal activity, colorectal distension, colitis, emotional-painful stress, intestinal hyperalgesia