

# Характер сомато-симпатического рефлекса у крыс линии SHR

102 - 106

Ю.И.Щербин, Р.С.Хрусталева, В.А.Цырлин

Отдел экспериментальной и клинической фармакологии Научно-исследовательского института кардиологии Минздрава РФ, Санкт-Петербург, лаборатория биофизики кровообращения Института патологии сердечно-сосудистых заболеваний Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П.Павлова

РЕФ

**Резюме.** У наркотизированных и обездвиженных спонтанно гипертензивных крыс регистрировали сомато-симпатический рефлекс в шейном симпатическом стволе в ответ на электрическое раздражение афферентных волокон срединного нерва передней конечности. Показано, что рефлекс состоит из двух ответов, за которыми следует период торможения активности: А-ответ вызывается раздражением миелинизированных афферентных волокон, С-ответ появляется при совместной стимуляции миелинизированных и немиелинизированных волокон. Тормозный ответ возникает при раздражении миелинизированных волокон. Его длительность пропорциональна силе стимуляции афферентных волокон. А-ответ имеет сложную организацию и состоит из четырех волн, три из которых образуют ранний и поздний ответы.

**Ключевые слова:** стимуляция афферентных волокон, сомато-симпатический рефлекс, спонтанно гипертензивные крысы.

## The somato-sympathetic reflex in the spontaneous hypertensive rats

Yu.I.Shcherbin, R.S.Khrustaleva, V.A.Cirlin

**Summary.** In chloralose anesthetized and paralyzed spontaneously hypertensive rats (SHR) a somatosympathetic reflex in the cervical sympathetic trunk elicited by a single electrical shock to forelimb afferent fibres in the median nerve was recorded. It has been shown that the somatosympathetic reflex consists of two responses and following silent period. The A-response evoked by the somatic myelinated afferent fibres stimulation, and C-response elicited by the both stimulation of myelinated and unmyelinated afferent fibres. The silent period occurred with the myelinated fibres stimulation. Its duration was proportional to the electrical shock amplitude. The A-response consisted of four waves, the three of them formed early and late responses.

**Key words:** afferent fibres stimulation, somatosympathetic reflex, spontaneously hypertensive rat.

Известно, что у крыс линии SHR активность симпатической нервной системы повышена [1, 2]. Причины и механизмы, лежащие в основе усиления функциональной деятельности симпатических нейронов у животных со спонтанной гипертензией, не установлены. Большинство исследований, посвященных этой проблеме, касаются изучения ответов симпатизирующих нейронов вентральной поверхности продолговатого мозга в ответ на стимуляцию либо афферентных нервов [3, 4], либо вышележащих отделов мозга [1, 2]. Практически нет работ, в которых изучались бы реакции непосредственно симпатических нейронов спинного мозга в ответ на их активацию.

Ранее [5] нами было показано, что у нормотензивных крыс интегральный ответ в симпатическом преганглионарном нерве при стимуляции афферентных волокон в составе соматического нерва (соматосимпатический рефлекс) по своим характеристикам такой же, как у других животных (кошек, кроликов). Целью настоящей работы явилось изучение характеристик сомато-симпатического рефлекса у крыс линии SHR со спонтанной гипертензией.

## Материал и методы

Опыты выполнены на 11 крысах-самцах в возрасте 19–22 нед и массой 290–380 г. Под вводным эфирным наркозом в левую бедренную вену вставляли катетер и вводили 1% раствор хлоралозы (40–50 мг/кг). В течение опыта через каждые 30 мин дополнительно вводили хлоралозу в дозе 10 мг/кг. Для проведения искусственной вентиляции легких накладывали трахеостому и вводили раствор бромистого гискурония (ардуан, 1 мг/ч) в правую бедренную вену. Искусственное дыхание частотой 60 в 1 мин проводили аппаратом "Вита-1" со специально изготовленным миниатюрным клапаном. Артериальное давление (АД) регистрировали в левой бедренной артерии датчиком Siemens-Elema (модель 746). Животное фиксировали на подогреваемой поверхности с термостабилизатором, ректальную температуру поддерживали в пределах 37–38°C. Левый шейный симпатический ствол выделяли с вентральной поверхности под микро-

скопом МБС-2 (усиление 25) и перерезали у верхнего шейного симпатического ганглия. Регистрацию электрической активности осуществляли биполярными платиновыми электродами усилителем биопотенциалов с полосой пропускания 10–2000 Гц. Электрические разряды в симпатическом нерве, АД и межсистолический интервал записывали на чернилопишущем самописце НЗ38-6П и персональном компьютере после аналого-цифрового преобразования. Частота квантования составила 5,0 кГц. Ее выбор подробно описан нами ранее [5]. Амплитудные и временные характеристики рефлекса определяли после компьютерного усреднения 40 реализаций. Для определения характеристик постактивационной депрессии сигнал предварительно выпрямляли и интегрировали с постоянной времени 0,15 с. После этой предварительной обработки сигнал подавали на второй канал аналого-цифрового преобразователя и усредняли одновременно с основным сигналом. За нулевое значение интегральной активности принимали то значение, которое устанавливалось в конце опыта через 15 мин после остановки сердца у животного.

Для раздражения афферентных волокон на ипсилатеральной передней конечности выделяли срединный нерв. Электрическую стимуляцию осуществляли через биполярные платиновые электроды электростимулятором ЭС-50-1 через изолирующую приставку одиночными прямоугольными импульсами или пачкой из 3–5 прямоугольных импульсов со следующими параметрами: длительность импульса 1,0 мс; амплитуда 0,1–50 В, период следования импульсов в пачке 1,5–2,0 мс. Пороговой силой раздражения считали величину напряжения, при котором в шейном симпатическом стволе регистрировался четко различимый разряд минимальной амплитуды с любым латентным периодом.

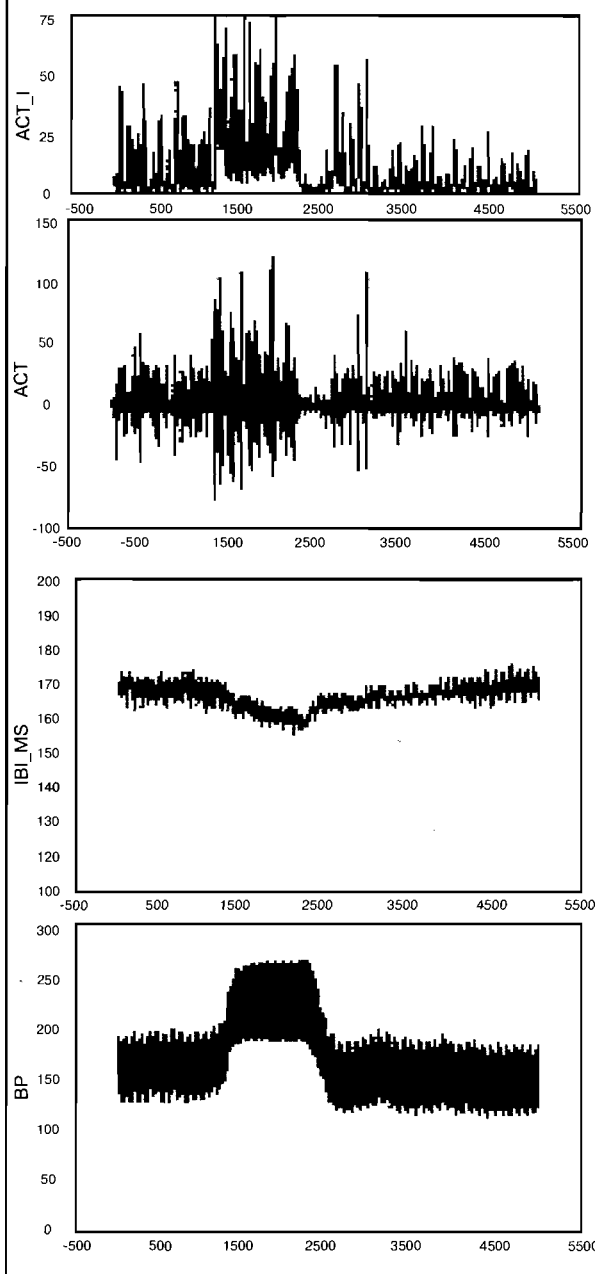
В пяти опытах производили перерезку спинного мозга на уровне первого шейного сегмента с дорсальной стороны через щель между вентральным краем затылочной кости и телом первого шейного позвонка.

Результаты измерений обрабатывали программой STATISTICA.

Характеристики волн, регистрируемых в шейном симпатическом стволе в ответ на одиночное электрическое раздражение срединного нерва ( $M \pm m$ )

| Показатель           | Волна           |                 |                 |                  |
|----------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
|                      | I               | II              | III             | IV               |
| Латентный период, мс | 33,6 $\pm$ 2,24 | 45,5 $\pm$ 2,61 | 79,9 $\pm$ 1,58 | 125,6 $\pm$ 8,64 |
| Длительность, мс     | 4,1 $\pm$ 0,89  | 30,6 $\pm$ 3,96 | 18,0 $\pm$ 6,08 | 28,9 $\pm$ 3,56  |
| Амплитуда, мкВ       | 3,2 $\pm$ 1,06  | 18,7 $\pm$ 2,16 | 6,5 $\pm$ 1,98  | 4,0 $\pm$ 1,33   |

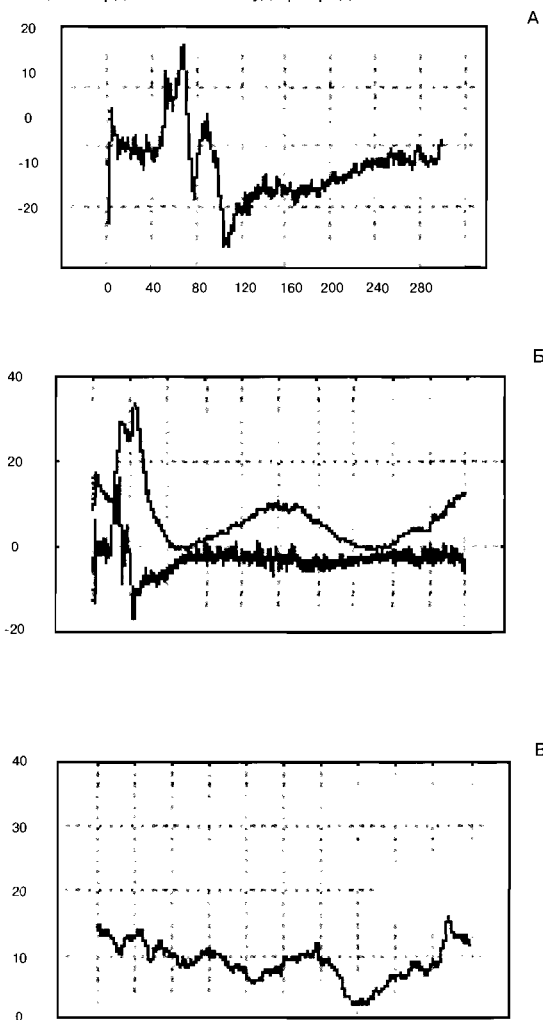
**Рис. 1.** Изменение АД, частоты сердечных сокращений и электрической активности в шейном симпатическом стволе у спонтанно гипертензивной крысы (один опыт). Сверху вниз: интегрированная активность нерва (ось абсцисс – время в с, ось ординат – амплитуда в мкВ); электрическая активность нерва (ось абсцисс – время в с, ось ординат – амплитуда в мкВ), межсистолический интервал (ось абсцисс – время в с, ось ординат – время в мс), АД (ось абсцисс – время в с; ось ординат – амплитуда в мм рт. ст.), отметка стимуляции.



### Результаты исследования

Через 30 мин после окончания оперативного вмешательства среднее АД у крыс составляло 153 $\pm$ 9,2 мм рт. ст., межсистолический интервал – 152 $\pm$ 3,8 мс. Электрическая активность в шейном симпатическом нерве представляет собой разряды амплитудой 7,9 $\pm$ 1,11 мкВ.

**Рис. 2.** Рефлекторные разряды в шейном симпатическом стволе при стимуляции срединного нерва и постактивационное торможение электрической активности (усреднение 40 реализаций, один опыт). А – Рефлекторные разряды; Б – то же, но с другим временным масштабом; 1 – сигнал на выходе усилителя биопотенциалов, 2 – тот же сигнал после выпрямления и интегрирования; В – выпрямленная и проинтегрированная активность без нанесения раздражения. Ось абсцисс – время в мс, ось ординат – амплитуда разрядов в мкВ.

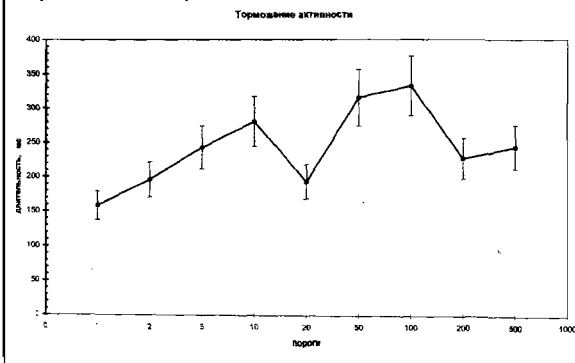


Электрическая стимуляция кожно-мышечных афферентных волокон с интенсивностью 100–200 порогов (чаще всего 1 порог был равен 0,1 В) на протяжении 10 с с частотой 10 импульсов в 1 с приводила к подъему среднего АД до 214 $\pm$ 5,7 мм рт. ст. ( $p < 0,001$ ) и росту электрической активности в шейном симпатическом стволе до 16,0 $\pm$ 2,92 мкВ ( $p < 0,05$ ). Межсистолический интервал уменьшался до 145 $\pm$ 3,9 мс, но это изменение в целом было недостоверно ( $p > 0,05$ ). После прекращения стимуляции наблюдали полное торможение электрической активности на протяжении 2,60 $\pm$ 0,531 с (рис. 1).

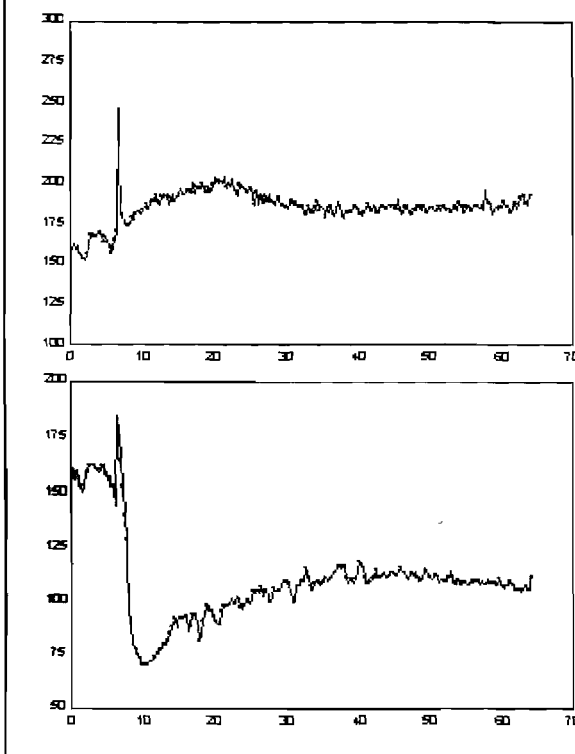
Стимуляция афферентных волокон одиночным электрическим импульсом на фоне спонтанных разрядов приводила к появлению в шейном симпатическом нерве разряда, состоящего из нескольких волн. В большинстве опытов вслед за разрядом наблюдали торможение спонтанной активности, длительностью 273 $\pm$ 23,3 мс (рис. 2). Усредненные временные и амплитудные характеристики чаще всего воспроизводимых волн приведены в таблице.

Как видно из таблицы, наибольшую амплитуду имели вторая и третья волна. Они регистрировались во всех опытах и иногда сливались в одну волну. Наибольшую трудность для регистрации представляет первая волна.

**Рис. 3.** Зависимость длительности постактивационной депрессии от силы раздражения афферентных волокон срединного нерва (ось абсцисс – сила раздражения в условных единицах (порогах), ось ординат – длительность торможения в мс).



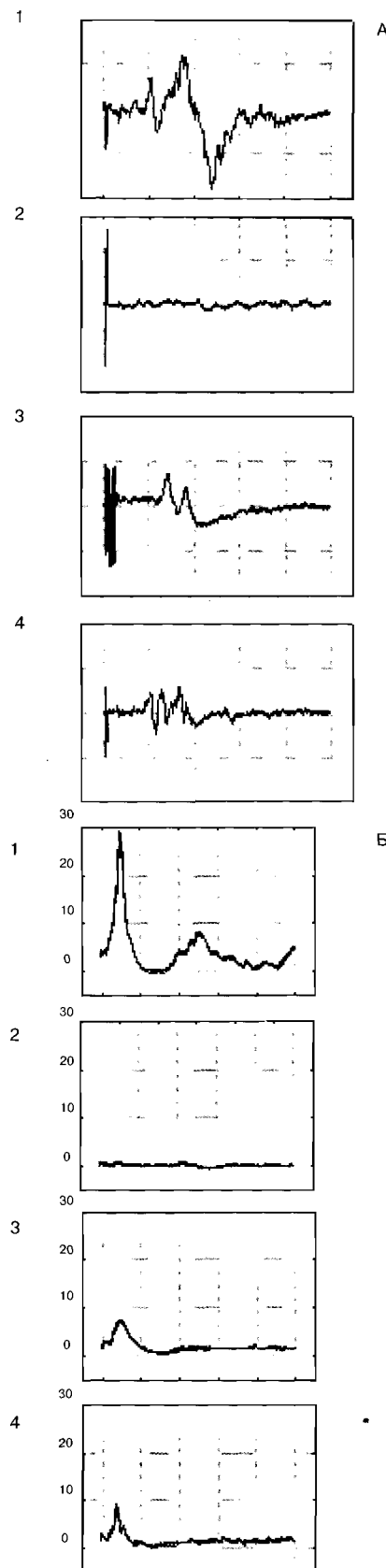
**Рис. 4.** Изменение гемодинамики у спонтанно гипертонической крысы после перерезки спинного мозга на уровне первого шейного позвонка (результат одного эксперимента). Сверху вниз: межсистолический интервал (ось абсцисс – время в мин); среднее артериальное давление (ось абсцисс – время в мин, ось ординат – время в мс, амплитуда в мм рт. ст.).



Она имеет наименьшую амплитуду и длительность среди всех волн, а кроме того еще больше уменьшается по амплитуде, если наносить раздражение чаще, чем 1 раз в 4–5 с. Иногда регистрировали волну с латентным периодом менее 30 мс и такими же амплитудой и длительностью, как и у первой волны, но она появлялась крайне нерегулярно даже на протяжении одного опыта и в таблице не учитывается. Четвертую волну наблюдали в четырех опытах. Только в двух экспериментах мы наблюдали еще одну волну (в таблице не указана) с латентным периодом в среднем 186 мс и амплитудой 2,3 мкВ при стимуляции высокопороговых афферентов группы С.

При пороговой стимуляции миелинизированных афферентных волокон срединного нерва первой появлялась вторая волна, затем, при силе стимуляции в 2 порога, регистрировались первая и третья волны и, наконец, при силе стимуляции 2–5 порогов появлялась четвертая волна. С-ответ наблюдали при силе стимуляции 50 по-

**Рис. 5.** Рефлекторные разряды в шейном симпатическом стволе при стимуляции срединного нерва (А) и постактивационное торможение электрической активности (Б) после перерезки спинного мозга (результат одного опыта). 1 – до перерезки спинного мозга; 2 – через 60 мин после перерезки спинного мозга; 3 – через 90 мин после перерезки спинного мозга; 4 – через 120 мин после спинализации. Остальные обозначения, как на рис. 2.



рогов и выше. От силы раздражения зависит не только форма и амплитуда рефлекторного разряда, но и длительность периода постактивационной депрессии (рис. 3).

Перерезка спинного мозга вслед за небольшим подъемом АД, связанного с механической активацией нисходящих симпатизирующих путей, в четырех опытах приводила к снижению среднего АД до 70–80 мм рт. ст. и урежению сердечного ритма до 190–220 мс. Затем АД увеличивалось и через 25–30 мин после спинализации стабилизировалось на уровне 90–115 мм рт. ст. Межсистолический интервал постепенно укорачивался, но исходного значения не достигал и стабилизировался на уровне 178–195 мс (рис. 4). Сомато-симпатический рефлекс после спинализации и динамика его изменения на протяжении 2 ч изображены на рис. 5. Как видно из рис. 5, А, при сверхпороговой стимуляции у интактного животного регистрировался А-ответ, состоящий из четырех волн (рис. 5, А1). За ним следовало торможение активности (рис. 5, В1). Через 1 ч после перерезки спинного мозга стимуляция с такой же интенсивностью не вызывала никаких разрядов (рис. 5, А2). Спонтанная активность практически отсутствовала (рис. 5, В2). Еще через 30 мин на раздражение нерва передней конечности появлялся разряд, состоящий из двух волн (рис. 5, А3). По величине латентного периода и суммарной длительности они соответствовали второй волне рефлекса у крыс с интактным мозгом. Одновременно с появлением рефлекторного разряда появлялись спонтанные разряды, которые тормозились на определенное время при стимуляции афферентных волокон. Спустя 2 ч после спинализации рефлекторный ответ изменялся – появлялась волна, которая соответствовала первой волне исходного рефлекса (рис. 5, А4). Торможение спонтанной активности становилось отчетливо выраженным и по длительности практически равнялось торможению активности до перерезки спинного мозга (рис. 5, В4). В одном опыте среднее АД снижалось после перерезки спинного мозга до 45 мм рт. ст. и затем устанавливалось на уровне 70–80 мм рт. ст. Спонтанная и вызванная электрическая активность исчезала и больше не восстанавливалась на протяжении всего времени наблюдения.

#### Обсуждение результатов

Как показали проведенные исследования, рефлекторный разряд в шейном симпатическом стволе появляется при раздражении как миелинизированных, так и немиелинизированных афферентных волокон. А-ответ, ответ на стимуляцию миелинизированных афферентных волокон [6], имеет сложную форму и состоит из четырех волн. Каждая волна по своим характеристикам отличается одна от другой. Так, волна I – это классический ранний ответ [7]: он имеет минимальный латентный период, замыкается на уровне спинного мозга и появляется при раздражении более высокопороговых афферентных волокон, чем тех афферентных волокон, раздражение которых вызывает поздний ответ [5]. Волна III имеет больший латентный период и амплитуду, чем волна I, и обеспечивается супраспинальным замыканием дуги рефлекса. Однако появляется она при той же интенсивности стимуляции срединного нерва, что и ранний ответ. Волна II появляется при минимальной величине стимуляции и образована разрядами преганглионарных нейронов, которые возбуждаются двумя способами: афферентным залпом на уровне спинного мозга и симпатизирующими нейронами продолговатого мозга [8, 9]. Волна IV по своим характеристикам похожа на поздний ответ, но большой латентный период позволяет предположить, что уровень замыкания этого рефлекторного ответа лежит выше продолговатого мозга. Если экспери-



ПРАВИЛЬНЫЙ выбор  
для длительной  
терапии

АРТЕРИАЛЬНОЙ  
ГИПЕРТОНИИ  
СТЕНОКАРДИИ



ОДИН РАЗ В ДЕНЬ...  
И 24 ЧАСА БЕЗ ПРОБЛЕМ!

ЮНИК ФАРМАСЬЮТИКАЛ ЛАБОРАТОРИЗ

Полную информацию о препарате  
можно получить по адресу:

Россия, 123242 Москва,  
ул. Садовая-Кудринская, 3  
Тел.: (095) 254-7902, 254-7579  
Факс: (095) 254-8382

менты с более высокими перерезками подтвердят это предположение, то волну IV можно будет считать сверхпоздним ответом [10].

Опыты с перерезкой спинного мозга показали, что вызванный ответ в симпатическом нерве в ответ на афферентное раздражение появляется одновременно с восстановлением спонтанной активности. Отсюда можно предположить, что, так же как у нормотензивных животных [11, 12], у крыс линии SHR в ответ на афферентное раздражение реагируют только те симпатические преганглионарные нейроны, которые обладают спонтанной электрической активностью. Наши эксперименты показали, что длительность постактивационного торможения активности до и после спинализации примерно одинакова. Это значит, что спинальные сегментарные механизмы принимают такое же участие в торможении активности, как и супраспинальные тормозные механизмы у животных с интактным мозгом. Длительность постактивационной депрессии нарастает с увеличением силы стимуляции. Возможно, это связано с тем, что при увеличении силы раздражения увеличивается число возбужденных афферентных волокон, что в свою очередь приводит к возрастанию числа интернейронов, тормозящих выходные преганглионарные нейроны. Возможно, что при увеличении числа возбуждающих импульсов, приходящих к преганглионарным нейронам, у последних вовлекается в работу механизм возвратного торможения, который на определенное время ограничивает возбуждение нейронов [13].

Проведенные исследования показали, что у крыс линии SHR, также как у нормотензивных крыс [5], соматосимпатический рефлекс реализуется спинальными и супраспинальными механизмами, которые имеют довольно сложную организацию.

#### Литература

1. Chan KKW, Chan YS, Wong TM. Electro-physiological properties of neurons in the rostral ventrolateral medulla of normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Brain Res* 1991; 549: 118–26.
2. Yang TL, Chai CY, Yen CT. Enhanced sympathetic reactivity to glutamate stimulation in medulla oblongata of spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol* 1995; 268: H1499–H1509.
3. Krassikova AV, Weaver LC. Connections between the pontine reticular formation and rostral ventrolateral medulla. *Amer J Physiol* 1993; 265: H1386–H1392.
4. Verberne AJM, Owens NC. Cortical modulation of the cardiovascular system. *Progress in Neurobiology* 1998; 54: 149–68.
5. Шербин ЮИ, Хрусталева РС, Цылин ВА. Изучение тонической и вызванной электрической активности эфферентных волокон симпатического нерва у лабораторных крыс. *Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова*. 2000; 86 (3): 320–8.
6. Coote JH, Perez-Gonzalez JT. Response of some sympathetic neurons to volley in various afferent nerves. *J Physiol* 1970; 208 (2): 261–78.
7. Kotzumi K, Brooks C. McC. The integration of autonomic system reactions: a discussion of autonomic reflexes, their control and their association with somatic reactions. *Ergebn Physiol* 1971; 67: 1–68.
8. Розанов НН, Лебедев ВП. Поздние сомато-симпатические рефлекторные ответы в грудных и поясничных белых соединительных веточках. *Физиол. журн. СССР*. 1982; 68 (8): 1076–83.
9. Kbayutin VM, Lukoshkova EV. Spinal mediation of vasomotor reflexes in animal with intact brain studied by electrophysiological methods. *Pflugers Arch Ges Physiol* 1970; 321 (3): 197–222.
10. Sato A. Somato-sympathetic reflex discharges evoked through supramedullary pathways. *Pflugers Arch Ges Physiol* 1972; 332: 117–26.
11. Лебедев ВП. Некоторые особенности ответов симпатических преганглионарных нейронов боковых рогов спинного мозга на антидромную и ортодромную стимуляцию. В кн.: *Межнейронная передача в вегетативной нервной системе*. Киев. 1972; С. 76–90.
12. Sato A, Schmidt RF. Somatosympathetic reflexes: afferent fibres, central pathways, discharge characteristics. *Physiol Reviews* 1973; 53 (4): 916–47.
13. Lebedev VP, Petrov VI, Skobelev VA. Do sympathetic preganglionic neurones have a recurrent inhibitory mechanism? *Pflugers Arch* 1980; 383: 91–7.