

## **ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ЦЕНТРОСТРЕМИТЕЛЬНОЙ ИМПУЛЬСАЦИИ В ПОДДИАФРАГМАЛЬНОЙ ВЕТВИ ВАГУСА ПРИ ВНУТРИКИШЕЧНОМ, ВНУТРИВЕННОМ И ИНТРАТЕКАЛЬНОМ ВЕДЕНИИ ГЛЮКОЗЫ**

**К.М. Люзина, А.Г. Чумак**

*Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь  
Институт физиологии НАН Беларуси*

### **Введение**

Всасывание углеводов находится под контролем коры больших полушарий, подкорковых структур, ствола головного мозга. Автономная нервная система интегрирована в регуляцию обменных процессов и прямо, включаясь в регуляцию уровня глюкозы в крови [1], и опосредованно, меняя кровотоки в соответствующих органах [2]. В общем виде установлено, что парасимпатические нервные волокна усиливают, а симпатические тормозят трансэпителиальный транспорт углеводов в тонкой кишке [3]. Рецепторы, возбуждаемые при изменении концентрации глюкозы в крови, расположены и на периферии, и в центральных отделах нервной системы [1, 4]. Полагают, что гипергликемия может являться мощным стимулом для реализации симпатических и парасимпатических рефлексов, поскольку сопровождается гипертензией [2, 5] и длительным ростом импульсации в симпатических эфферентных волокнах кишечника, возбуждением нейронов многих бульбарных ядер после введения растворов глюкозы в просвет двенадцатиперстной кишки [6].

Представления о том, что блуждающий нерв служит главным коллектором автономной регуляции функций тканей, вовлеченных в метаболизм глюкозы, разделяются большинством исследователей, хотя имеются убедительные доказательства того, что первичные афферентные волокна, следующие в центральную нервную систему (ЦНС) в симпатических нервных стволах (брыжеечных нервах), также усиливают импульсацию после введения глюкозы в просвет кишки [7]. При этом появление глюкозы в тонкой кишке приводит к активации нейронных популяций, локализованных в бульбарных структурах – ядре шва, моторном ядре вагуса, ядре солитарного тракта и дорсальной ретикулярной формации, параллельно с ростом центростремительной импульсации от кишки [7, 8]. В то же время есть сообщения [4] и о снижении активности нейронов дорсального моторного ядра вагуса при гипергликемии, опосредованном гуморальным механизмом на уровне гипоталамуса, и сочетанной активации холинергических эфферентов поджелудочной железы [2]. Помимо глюкорекцепторов, расположенных в подслизистом слое кишки [7, 9], на периферии обнаружены сенсоры глюкозы, локализованные в брыжеечных венах и портальной системе печени [10]. Информация от них, как полагают, передается по центростремительным волокнам вагуса в ядра ствола головного мозга и гипоталамуса, где находится высший центр инсулин-зависимой либо инсулин-независимой нейроэндокринной регуляции метаболизма глюкозы в тканях [1]. В некоторых публикациях пишут о существовании «оси вагус – кишка – мозг», интегрированной в гомеостатический «глюкостат» [8, 11]. Исходя из представлений о саморегуляции вегетативных функций, основанных на наличии обратной афферентации от рецепторов в исполнительных органах [7, 12] и существовании механизмов текущей настройки чувствительности разнообразных рецепторов [13] можно полагать, что процессы сенситизации либо десенситизации глюкорекцепторов в кишке могут быть объектом симпатических влияний. В свою очередь, глюкорекцепторы тонкой кишки могут вовлекаться в контроль содержания сахара не только в тонкой кишке, но и во внутренней среде организма в целом.

С целью проверки такого предположения предпринят электрофизиологический анализ изменений импульсации в афферентных волокнах блуждающего нерва, при

инъекциях глюкозы в двенадцатиперстную кишку, бедренную вену, ликвороносное пространство спинного мозга.

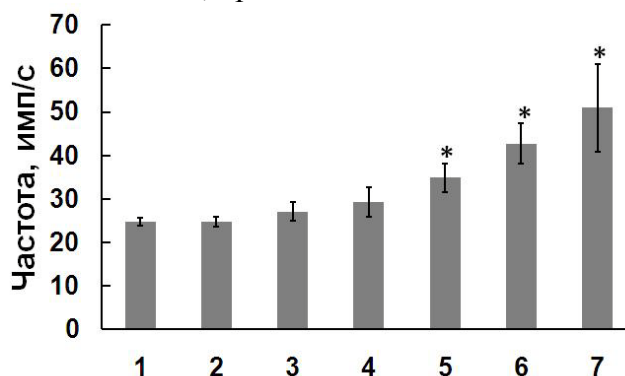
### Методы исследования

Эксперименты выполнены в острых опытах на наркотизированных (30 мг/кг нембутала и 500 мг/кг уретана, внутривенно) крысах массой 240-350 г с применением подходов и принципов, предусмотренных представлениями о гуманном отношении к лабораторным животным [14]. Регистрирующие биполярные подвесные электроды из хлорированного серебра располагались на перерезанных и взятых на лигатуры вентральных поддиафрагмальных ветвях блуждающего нерва и покрывались вазелиновым маслом. Раствор глюкозы вводили в полость двенадцатиперстной кишки (20%-ный раствор объемом 0,5 мл), внутривенно (40%-ный раствор объемом 1 мл) и интратекально (0,02 мл 40%-ного раствора). Контролем служил раствор NaCl (0,9 %), искусственная спинномозговая жидкость, вводимые в соответствующих объемах вместо тестируемых растворов. Для интратекального (Th8-Th10) введения раствора глюкозы применяли методику, описанную в [15].

Регистрация и обработка электрических сигналов выполнялась на стандартной компьютеризированной электрофизиологической установке с использованием программы, разработанной в Институте физиологии НАН Беларуси [16]. Для оценки достоверности обнаруженных эффектов применен парный t-критерий сравнения средних Стьюдента [17].

### Результаты и обсуждение

В опытах первой серии было установлено, что инъекция в 12-типерстную кишку растворов глюкозы разной концентрации сопровождается долговременным увеличением частоты афферентных импульсов в блуждающем нерве (рис. 1), как это характерно и для описанных в [6] результатов опытов, проведенных на кошках.

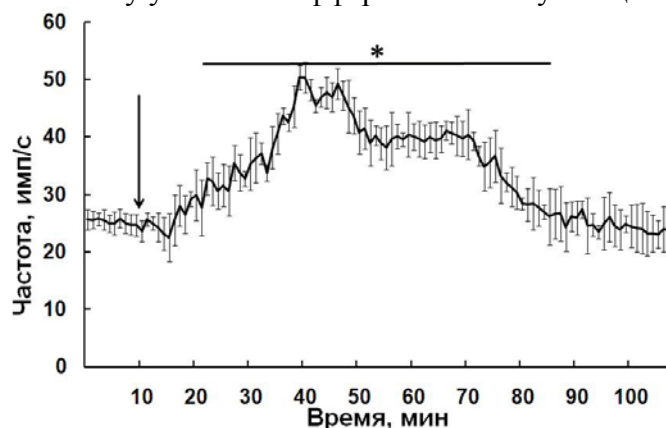


Обозначения: 5%, 10%, 20%, 30%, 40% соответственно концентрации растворов глюкозы. \* – достоверное изменение частоты по сравнению с фоном при  $P < 0,05$ .  $n = 13$ .

Рисунок 1 - Изменение афферентной импульсации в поддиафрагмальной вентральной ветви блуждающего нерва на 5 минуте после введения глюкозы в просвет двенадцатиперстной кишки.

Наиболее выраженный эффект наблюдался после введения в кишку 40%-ного раствора глюкозы (до  $61,1 \pm 3,2$  имп/с), но он был достоверным и в случае применения 20%-ного нутриента ( $34,9 \pm 3,3$  имп/с, при фоновом значении  $24,8 \pm 1,0$  имп/с). Поскольку параллельно регистрируемая электрическая активность гладких мышц двенадцатиперстной кишки усиливалась незначительно и кратковременно в указанных условиях, что минимально сказывалось на активности механорецепторов, отмеченное усиление центростремительной активности в волокнах вагуса следует связывать с активацией глюкорецепторов. В контрольной серии опытов было обнаружено, что введение в кишку изотонического раствора (0,9% NaCl) не вызывало достоверных изменений сигналов в блуждающем нерве, за исключением первоначальной реакции на возбуждение механорецепторов, не превышающей по продолжительности 1-2 минут.

Для определения реакции кишечных хеморецепторов на глюкозу, поступающую в ткани кишки не из полости кишки, а из кровотока, проведена специальная серия экспериментов с введением гексозы (1 мл 40%-ного раствора) в бедренную вену и регистрацией центростремительной импульсации в периферическом отрезке блуждающего нерва. И в описываемой серии экспериментов рост концентрации глюкозы в крови привел к длительному усилению афферентной импульсации (рис. 2, 3.2).



Обозначения: стрелкой указан момент начала введения. \* - достоверное изменение по отношению к фону ( $P < 0,05$ ,  $n = 5$ ).

Рисунок 2 - Изменение частоты афферентной импульсации в вагусе после внутривенного введения глюкозы (1 мл 40%-ного раствора).

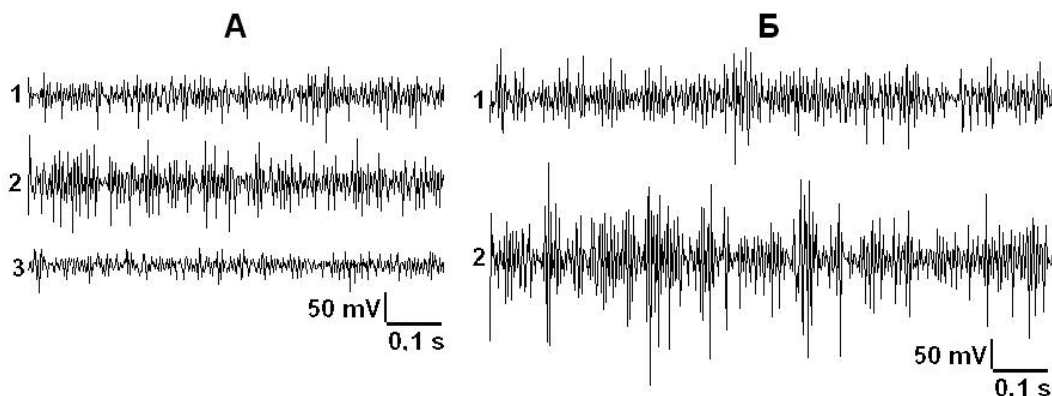
Эффект (достоверное усиление активности по отношению к фону) длился с 13-ой минуты регистрации в течении часа, был статистически значимым (на 30 минуте составил по частоте  $53,0 \pm 2,6$  имп/с при уровне фона  $25,1 \pm 0,6$  имп/с,  $P < 0,05$ ), и обратимым (рис.2). Внутривенное введение изотонического раствора в контрольных опытах не вызывало достоверных изменений частоты импульсации в блуждающем нерве.

Таким образом, было установлено, что глюкоза, попавшая к рецептирующим аппаратам кишки с током крови, также способна усиливать импульсацию хеморецептирующих афферентов тонкой кишки, следующих в мозг в составе ствола блуждающего нерва. Ранее в аналогичных методических условиях было определено [18], что внутривенная инфузия глюкозы в указанной дозе приводила к стойкой и длительной гипергликемии у животных, достигая уровня  $11,8 \pm 2,4$  ммоль/л на 25-ой минуте после начала воздействия. Зарегистрирован также продолжительный симпатизирующий эффект, в виде достоверного увеличения частоты и амплитуды импульсов в афферентных проводниках ветвей брюшноаортального сплетения. Учитывая эти данные, можно полагать, что, несмотря на усиление симпатической афферентной импульсации на периферии, рецепция глюкозы сохранялась.

Иная картина наблюдалась после введения гексозы в ликвор спинного мозга. В следующей серии опытов получены материалы, доказывающие ингибирующее влияние гипергликемии (повышение концентрации глюкозы в спинномозговой жидкости) на активность глюкочувствительных проводников вагуса. Интратекальное (Th8-Th10) введение животным глюкозы (20 мкл 40%-ного раствора,  $n = 7$ ) сопровождалось падением частоты афферентной импульсации в филаменте блуждающего нерва (рис. 3.3, 4).

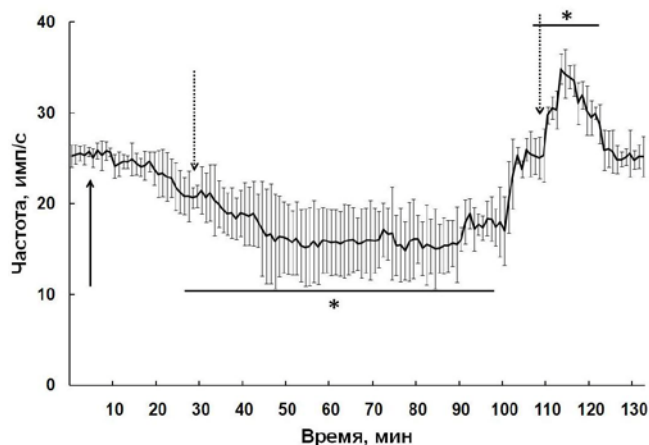
Эффект (достоверное снижение частоты импульсов по отношению к фону) развивался, начиная с 15-ой минуты регистрации, достигал минимума к 28-32 мин ( $14,8 \pm 3,2$  имп/с, фон  $25,5 \pm 1,0$  имп/с), и в 3 из 7 случаев был обратимым. На фоне действия субарахноидально введенной глюкозы были проведены пробы с последующим внутрикишечным введением 20%-ного раствора глюкозы. На 15-30-ой минутах после начала введения сахара в ликвор результаты проб с впрыскиванием глюкозы в просвет кишки были отрицательными. Центростремительная сигнализация в ответ на введение глюкозы в кишку не изменялась. Ингибиторный по отношению к глюкорецепторам эффект гипергликемии продолжался не менее полутора часов, поскольку только спустя

85 минут после ее моделирования в части опытов глюкорецепторная функция кишки восстанавливалась. Как оказалось, он был обусловлен усилением симпатической эфферентной импульсации, зарегистрированном в брыжеечном нерве.



**ОБОЗНАЧЕНИЯ: 1 – ФОН, 2 – ПОСЛЕ ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ 1 МЛ 40% ГЛЮКОЗЫ, 3 – ПОСЛЕ ИНТРАТЕКАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ 0,02 МЛ 40% ГЛЮКОЗЫ. Б - ЭФФЕРЕНТНАЯ ИМПУЛЬСАЦИЯ В БРЫЖЕЕЧНОМ НЕРВЕ ДО И ПОСЛЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ ГЛЮКОРАХИИ . ОБОЗНАЧЕНИЯ: 1 – ФОН, 2 – ПОСЛЕ ИНТРАТЕКАЛЬНОГО (ТН8-ТН10) ВВЕДЕНИЯ 0,02 МЛ 40% ГЛЮКОЗЫ.**

**РИСУНОК 3 - НЕЙРОГРАММЫ: А - АФФЕРЕНТНАЯ ИМПУЛЬСАЦИЯ В ВЕНТРАЛЬНОЙ ПОДДИАФРАГМАЛЬНОЙ ВЕТВИ ВАГУСА.**



Обозначения: сплошная стрелка – интратекальное введение глюкозы, пунктирная стрелка – внутрикишечное введение глюкозы. \* - достоверное изменение по отношению к фону ( $P < 0,05$ ,  $n=7$ ).

Рисунок 4 - Влияние интратекального (Th8-Th10) введения 40% глюкозы (0,02 мл) на частоту тонической афферентной импульсации в вагусе.

При интратекальном введении 20 мкл 40%-ного раствора глюкозы импульсация в центральном филamente брыжеечного нерва возросла до  $67,4 \pm 4,5$  имп/с на 15 мин после введения (рис. 3), фоновое значение  $32,3 \pm 1,6$  имп/с ( $n=5$ ,  $P < 0,05$ ). Введение в ликвор искусственной спинномозговой жидкости закономерными эффектами не сопровождалось.

### Выводы

В современных источниках указывается, что в головном мозге идентифицированы центры, которые вовлечены в регуляцию углеводного обмена. Эти структурные образования принимают участие в регуляции уровня инсулина, глюкогона в плазме крови, а также метаболизма глюкозы при голодании, ожирении, стрессе, сахарном диабете и других состояниях организма [7, 19].

Центральным рецепторным звеном в ЦНС, регулирующим углеводный обмен, являются нейроны, локализованные в вентромедиальном и вентролатеральном гипоталамических ядрах, выполняющие афферентные (глюкозо-чувствительные) функции [4]. Подобные нейроны функционально относятся к глюкорепторам, однако морфологически их до настоящего времени определить не удалось. В свою очередь в мозге выявлены рецепторы к инсулину в областях, лишенных гематоэнцефалического барьера [1]. Эти рецепторные образования влияют на интегративную деятельность ЦНС, что в конечном итоге модулирует секрецию инсулина [2].

Сведения о том, что спинальные сегментарные механизмы также могут вовлекаться в контроль всасывания и рецепции глюкозы в подслизистом пространстве тонкой кишке малочисленны и связаны с оценкой роли симпатической нервной системы в регуляции кровотока при гипергликемии [5]. В настоящей работе приведены доказательства существования нервного механизма, направленного на прекращение рецепции глюкозы афферентными волокнами блуждающего нерва в кишке при чрезвычайных ее концентрациях в ликворе. Афферентным звеном, как это установлено в предыдущих исследованиях [18], и подтверждено приведенными в экспериментальном разделе статьи данными, может выступать часть популяции симпатических афферентных волокон брыжеечных нервов, поскольку при гипергликемии отмечен симпативозбуждающий эффект. Афферентное звено представлено рецепторами неизвестной пока локализации, в ликворноносном пространстве спинного мозга. Возможно, процессы рецепции глюкозы в кишечных эпителиоцитах и внутренней среде организма (в частности, в ликворе), находятся под контролем нескольких специальных симпатических рефлексов, афферентное звено которых локализовано не только в слизистой оболочке кишки, но и в тканях спинного мозга.

Таким образом, полученные в работе данные могут служить аргументом в пользу заключения о том, что глюкорепторы вагуса реагируют на повышение концентрации глюкозы в крови, и о том, что рецепторная функция кишки, связанная с перцепцией важнейшего для нервной ткани нутриента, находится под контролем симпатической нервной системы. Вопрос, происходит ли при этом симпатически обусловленная десенситизация вагусных глюкорепторов, или ингибируется весь процесс транспорта глюкозы через мембрану эпителиоцитов в результате активации симпатической нервной системы при гликемии, остается предметом дальнейшего исследования.

### Список литературы

1. Lam TK, Gutierrez-Juarez R, Pocai A, Rossetti L. Regulation of blood glucose by hypothalamic pyruvate metabolism. // *Science*. - 2005 - Vol. 309(5736) - P. 943-7
2. Karen L. Teff, PhD Visceral Nerves: Vagal and Sympathetic Innervation // *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* – 2008. - Vol. 32, No. 5 - P. 569-571
3. Физиология всасывания. В серии «Руководство по физиологии». Л., Наука, - 1977.
4. Claude Knauf, Patrice D. Cani, Dong-Hoon Kim, et all. Role of Central Nervous System Glucagon-Like Peptide-1 Receptors in Enteric Glucose Sensing // *Diabetes* - 2008. - Vol. 57. - P.2603-2612
5. Claxton C.R., Michael W. B. Nitric Oxide Opposes Glucose-Induced Hypertension by Suppressing Sympathetic Activity // *Hypertension* - 2003. - Vol. 41. - P.274–278
6. Солтанов В.В. Механизмы саморегуляции вегетативных функций в норме и патологии. – Минск. – Наука и техника, - 1994.
7. Солтанов В.В. Механизмы саморегуляции вегетативных функций. – Минск. – Наука и техника, - 1989. - 271 с.
8. Schwartz GJ. The role of gastrointestinal vagal afferents in the control of food intake: current prospects. // *Nutrition*. – 2000. - Vol. 16 № 10. - P. 866-73
9. Ноздрачев А.Д., Филиппова Л.В. Интероцепция и нейроиммунные взаимодействия. – М: «Наука». - 2007. - 296 с.

10. Doong ML, Yang H. Intravenous glucose infusion decreases intracisternal thyrotropin-releasing hormone induced vagal stimulation of gastric acid secretion in anesthetized rats. // *Neurosci Lett.* - 2003. - Vol. 3. №340(1). - P.49-52
11. Grundy D. Signalling the state of the digestive tract. // *Auton Neurosci.* - 2006 - № 125(1-2) - P. 76-80
12. Анохин П.К. Системный анализ интегративной деятельности нейрона.//*Успехи физиологических наук.* - 1974. - Т.5, №2. - С.5-96
13. Есаков А.И. Системные механизмы деятельности рецепторов. Функциональные системы организма. - М: Медицина. - 1987. - С. 201-223
14. Руткевич С.А., Методологические подходы к изучению механизмов боли и соблюдение принципов биоэтики при работе с экспериментальными животными / Шухно Т.П. // Сборник трудов научно-практического семинара «Гуманное обучение специалистов медико-биологического профиля». Минск. - 2006. - С.76–77
15. Руткевич С.А., Особенности импульсации симпатических эфферентных волокон брюшно-аортального нерва после интратекального введения субстрата и ингибитора NO-синтазы / Поленов С.А. Чумак, А.Г., Кульчицкий В.А. // *Ж. «Бюллетень экспериментальной биологии и медицины».* - 2009. - Т. 147, № 3. - С.249-254
16. Солтанов В.В., Компьютерные программы обработки электрофизиологических данных. / Бурко В.Е. // *Новости медико-биологических наук.* - 2005. - №1. - С.90-96
17. Кобзарь А.И. Прикладная математическая статистика. Для инженеров и научных работников. – М.: Физматлит. - 2006. С.393-394
18. Чумак А.Г. Вклад NO-ергических процессов в формирование тонической импульсации симпатических эфферентных волокон при моделировании гипергликемии. / Сагач В.Ф., Руткевич С.А., Люзина К.М., Маслова Г.Т. // *Новости медико-биологических наук.* – 2008. - №1-2. С. 55-60.
19. Бабиченко И. И. Экспериментальная модель гипогликемических состояний центрального генеза // *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия "Медицина".* - 2000. - №2. - С. 33-36