

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ АФФЕРЕНТНЫХ ВОЛОКОН ВИСЦЕРАЛЬНЫХ НЕРВОВ КРЫСЫ ПОСЛЕ ИНТРАДУОДЕНАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ЛИНКОМИЦИНА

Х.А. Хруш, С.А. Руткевич

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

e-mail: rutkevitch@inbox.ru

Введение

Со времени открытия первого антибиотика, пенициллина, прошло около 90-лет и к настоящему времени широко используется около 30 различных групп антибиотиков, а общее число антимикробных препаратов приближается к 200 [1]. Антимикробные химиопрепараты – вещества, избирательно угнетающие жизнедеятельность микроорганизмов. Под избирательным эффектом понимают активность, проявляемую только в отношении возбудителей инфекции, причем определенного рода и вида микроорганизмов, однако на практике избирательность влияния препаратов оказывается не абсолютной. Широкое использование антибактериальных препаратов в медицинской практике и многолетняя история изучения механизмов их действия позволили выявить как терапевтические, так и негативные эффекты на клетки организма. По данным медицинских справочников и руководств для врачей, большинство антибиотиков в терапевтических дозах, даже при длительном применении, не вызывает существенных клинических изменений в организме. В специальной литературе приводятся также аргументы в пользу иммуностимулирующих эффектов некоторых из них. Например, известно, что антибактериальные препараты из групп макролидов, линкозамидов, фторхинолонов способны стимулировать определенные звенья иммунной реакции [1, 2]. Многие антибиотики существенно влияют на процессы катализа, синтеза макромолекулярных соединений, модулируют синаптическую передачу, подавляют пролиферацию нервных клеток или вызывают их гибель [2, 3]. В других источниках приводятся доказательства модулирующего влияния некоторых антибактериальных препаратов (стрептомицин, тетрациклин, линкомицин и клиндамицин) на функционирование нервных центров, вплоть до развития эпилептиформной активности, нарушения нервно-мышечной проводимости [4, 5, 6]. Стрептомицины, дигидрострептомицины и неомидины уже в средних дозах изменяют реактивность нервной системы, а в больших дозах являются нейротоксичными [4]. Исследование эффектов упоминаемых препаратов на функционирование нервной системы проводилось как при их системном введении, так и непосредственно к нервной ткани, поскольку некоторые из них (стрептомицин, клиндамицин, линкомицин) плохо проникают или вовсе не проникают через гематоэнцефалический барьер [1, 2]. Влияние подобных препаратов на внутрикишечные нервные сплетения, а также реакции нервных структур при оральном или внутрикишечном применении антибиотиков изучены недостаточно.

Целью наших исследований являлось – определить реакцию афферентных волокон блуждающего, брыжеечного и брюшного аортального нервов крысы, связанных с рецепторными полями пищеварительного канала, на интрадуоденальное введение линкомицина в условиях острого опыта.

Методы исследования

Эксперименты выполнены на 23 половозрелых белых беспородных крысах массой тела 234 ± 21 г, которые содержались в условиях свободного доступа к воде и пище (сухой корм) в виварии. Острые опыты проводились под уретановым наркозом (1,5 г/кг внутривентриально), в утреннее время до кормления. Наркотизированным животным выполнялась лапаротомия, висцеральные нервы (левая ветвь блуждающего, общий ствол брыжеечного, брюшной аортальный) препарировали, перерезали и брали на лигатуру. Блуждающий нерв (переднюю

желудочную ветвь) перерезали на уровне нижней трети пищевода. Регистрировали нейрограмму афферентной импульсной активности (АИА) нервов, для чего их периферические фрагменты помещали на хлорсеребряные подвесные электроды (межэлектродное расстояние 3 мм). Во избежание подсыхания, ткани покрывали вазелиновым маслом. На протяжении всего эксперимента контролировали глубокую температуру тела крыс, поддерживая ее в диапазоне 37–37,5 °С. Температуру внутренних органов крыс контролировали с помощью инфракрасного термометра MICROLIFE NC100. Афферентную импульсную активность нервов регистрировали на протяжении 30 мин до введения линкомицина (фон), на протяжении 30 мин после введения дистиллированной воды объемом 0,3 мл (контроль) и на протяжении 1,5–2 часов после введения линкомицина, растворенного в дистиллированной воде, в двенадцатиперстную кишку (6 мг/100 г, объем 0,3 мл). Введение воды и раствора антибиотика, после их подогрева до температуры 37 – 37,5 °С, выполняли через катетер, установленный в верхней трети двенадцатиперстной кишки. Анализировали частоту импульсной активности (имп/с) и среднюю амплитуду (мкВ). Для регистрации и анализа нейрограмм использовали аппаратно-программный комплекс «Нейрон-Спектр-4» («Нейрософт» Россия).

В отдельной серии опытов исследовали влияние введения линкомицина (6 мг/100 г) в полость двенадцатиперстной кишки на развитие электрической активности в восходящей ободочной кишке крыс (n=8). Для этого у наркотизированных животных после лапаротомии аккуратно извлекался из брюшной полости кишечник и располагался на грелке, поддерживающей температуру в диапазоне 37-37,5 °С. Регистрация электрических потенциалов гладких мышц кишки проводилась с помощью прижимных хлорсеребряных биполярных электродов с межэлектродным расстоянием 3 мм, которые подсоединяли ко входу канала для полиграфической регистрации аппаратно-программного комплекса «Нейрон-Спектр 4». Во избежание подсыхания петли кишечника также покрывали вазелиновым маслом. Анализировали амплитуду волн базального ритма (мкВ) и количество моторных потенциалов («быстрых пиков») в минуту (имп/мин).

Статистический анализ данных выполнен с использованием t-критерия Стьюдента для малых выборок и однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), поскольку был определен нормальный характер распределения показателей частоты и амплитуды. Различия считались достоверными при $P \leq 0,05$.

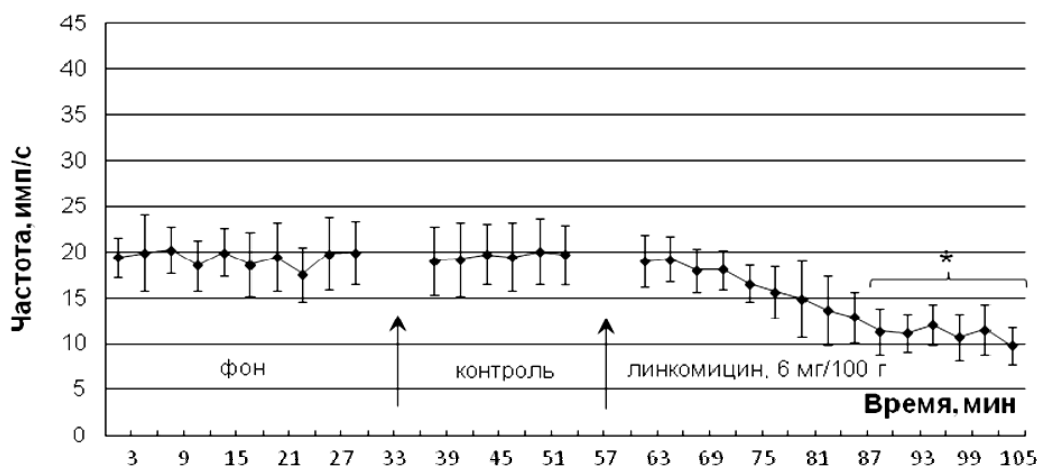
Результаты и обсуждение

У животных регистрировали спонтанную активность афферентных волокон блуждающего (n=9), брыжеечного (n=10) и брюшного аортального нервов (n=4) до введения воды и раствора линкомицина на протяжении 30 минут. Частота и амплитуда центростремительной активности в висцеральных нервах характеризовались незначительными флуктуациями, при условии поддержания оптимальной температуры тела животных и предотвращения подсыхания тканей. Средняя частота и амплитуда спонтанной импульсации в фоне составляла 20 ± 4 имп/с и 18 ± 3 мкВ для блуждающего нерва, 20 ± 2 имп/с и 29 ± 5 мкВ для брыжеечного нерва и 29 ± 5 имп/с и 26 ± 7 мкВ для брюшного аортального нерва. Введение воды, подогретой до температуры 37-37,5 °С, в полость двенадцатиперстной кишки не сопровождалось значимыми изменениями афферентной импульсной активности висцеральных нервов на протяжении получаса регистрации нейрограмм.

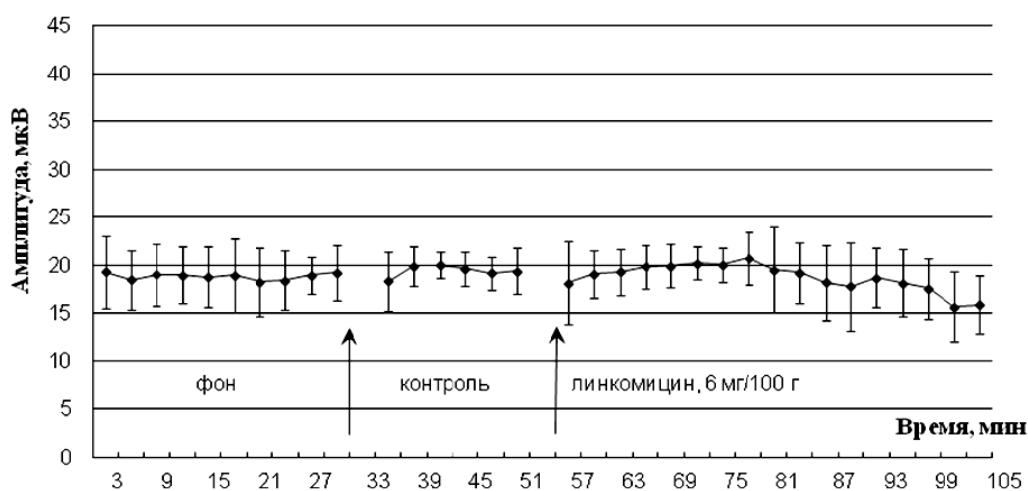
Введение подогретого до температуры 37–37,5 °С раствора линкомицина (6 мг/100 г объемом 0,3 мл) вызывало неодинаковые эффекты в афферентных системах различных отделов пищеварительной трубки.

Регистрация афферентной импульсной активности в волокнах передней желудочной ветви блуждающего нерва в динамике интрадуоденального введения линкомицина выявило статистически значимое угнетение частоты осцилляций по сравнению с уровнем фона и контроля (рисунок 1 а). Снижение частоты электрической активности начиналось

через 11-12 минут после инфузии антибиотика, к 30-ой минуте после инъекции она достигала достоверно низких значений по сравнению с фоном. Угнетение центростремительной электрической активности достигало в отдельных опытах уровня шума и в среднем составляло 11 ± 3 имп/с через 30 минут после введения антибиотика.



А



Б

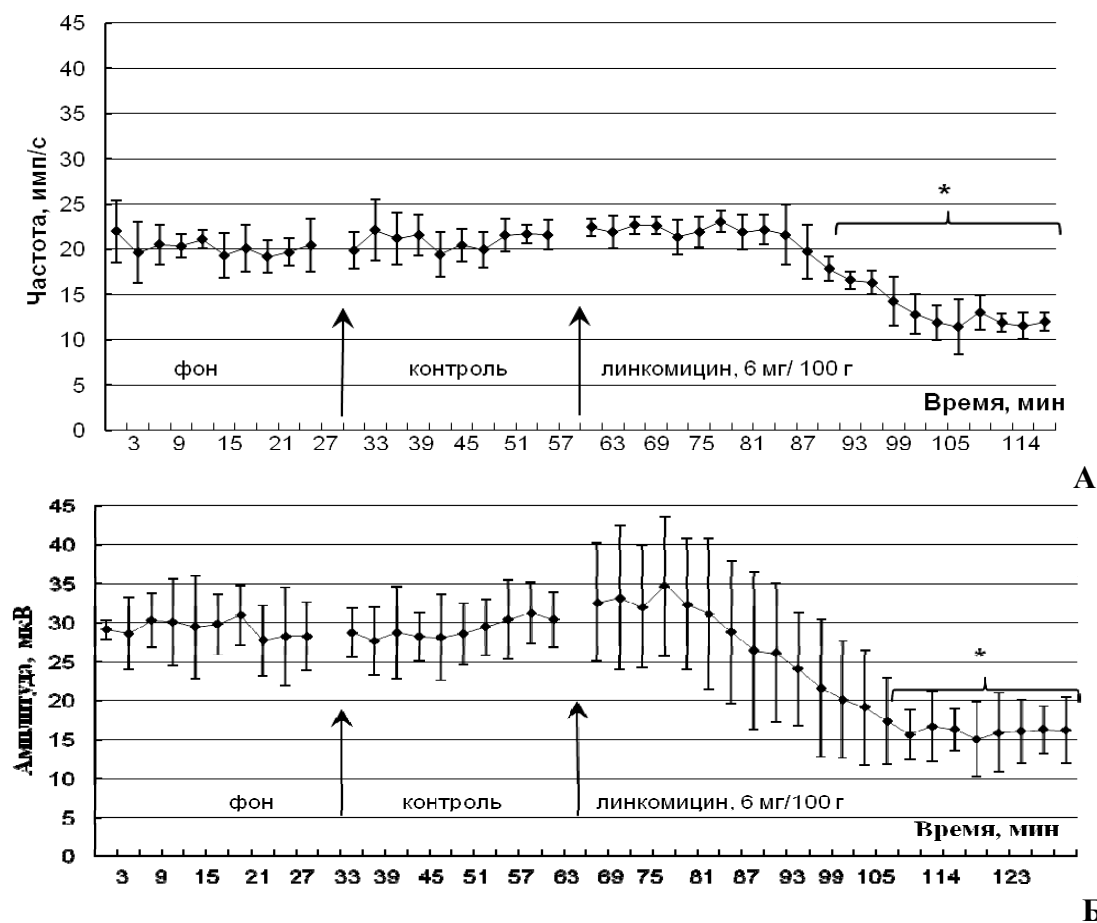
А – частота импульсной активности, Б – амплитуда импульсной активности
Рисунок 1 – Динамика изменений импульсной активности в афферентных волокнах передней желудочной ветви блуждающего нерва в динамике введения 0,3 мл дистиллированной воды (контроль) и 0,3 мл раствора линкомицина (6 мг/ 100 г)

В классических руководствах по анатомии вегетативной нервной системы констатируется, что в состав ветвей блуждающего нерва входят афферентные проводники почти всех органов пищеварительной системы, за исключением каудальных отделов кишечника (нисходящей ободочной, сигмовидной и прямой кишки). Причем передние желудочные ветви иннервируют, в основном, стенки желудка, в то время как задние участвуют в формировании чревного и верхнего брыжеечного сплетения и обслуживают функционирование большей части кишечника, а также печени и селезенки. Вместе с тем, каждый из стволов вагуса представляет собой комплекс нервных проводников не только парасимпатических, но также симпатических и афферентных и частично включает волокна обоих ветвей блуждающих нервов [7, 8, 9].

Таким образом, введение суточной дозы линкомицина в двенадцатиперстную кишку, вызывало быстро развивающееся снижение частоты афферентной импульсной активности в передних желудочных ветвях блуждающего нерва, что свидетельствует о

снижении функционального состояния сенсорных систем верхнего отдела пищеварительного тракта.

Описанная выше последовательность тестов применялась для анализа влияния линкомицина на функциональную активность чувствительных проводников в составе общего ствола брыжеечного нерва. Интрадуоденальное введение линкомицина инициировало изменение электрической активности в афферентных волокнах брыжеечного нерва, временная динамика которого отличалась от выявленной для сенсорных волокон вагуса, в то время как направленность реакции была аналогичной. АИА в брыжеечном нерве после инъекции антибиотика снижалась по частоте и амплитуде. Реакция начиналась спустя 30 минут после введения препарата и к 40-ой минуте достигала минимума (рисунок 2).



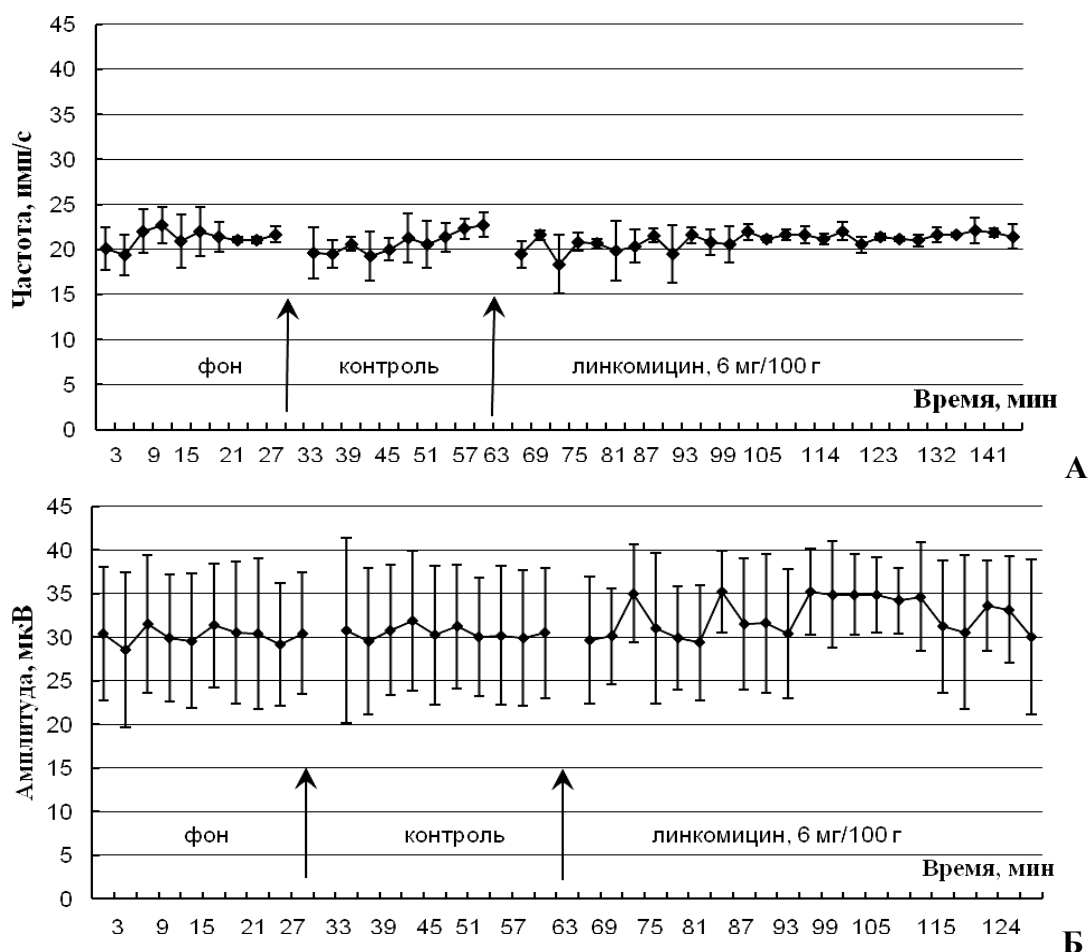
А – частота импульсной активности, Б – амплитуда импульсной активности
Рисунок 2 – Динамика развития импульсной активности в афферентных волокнах брыжеечного нерва в динамике введения 0,3 мл дистиллированной воды (контроль) и 0,3 мл раствора линкомицина (6 мг/100 г)

Понижение амплитуды АИА брыжеечного нерва до минимальных значений (16 ± 3 мкВ) развивалось спустя 45 минут после инфузии линкомицина, а урежение частоты до 12 ± 4 имп/с продолжалось до 50-55 минуты после введения антибиотика.

Зарегистрированные в ответ на внутрикишечное введение линкомицина эффекты в афферентных волокнах блуждающего и брыжеечного нервов продолжались до окончания эксперимента, т.е. не менее 2-х часов.

Полученные данные указывают на значительное падение (в 2 раза по сравнению с фоном) функциональной активности афферентных проводников брыжеечного нерва, которые, как известно, обеспечивают чувствительную иннервацию преимущественно тонкого кишечника.

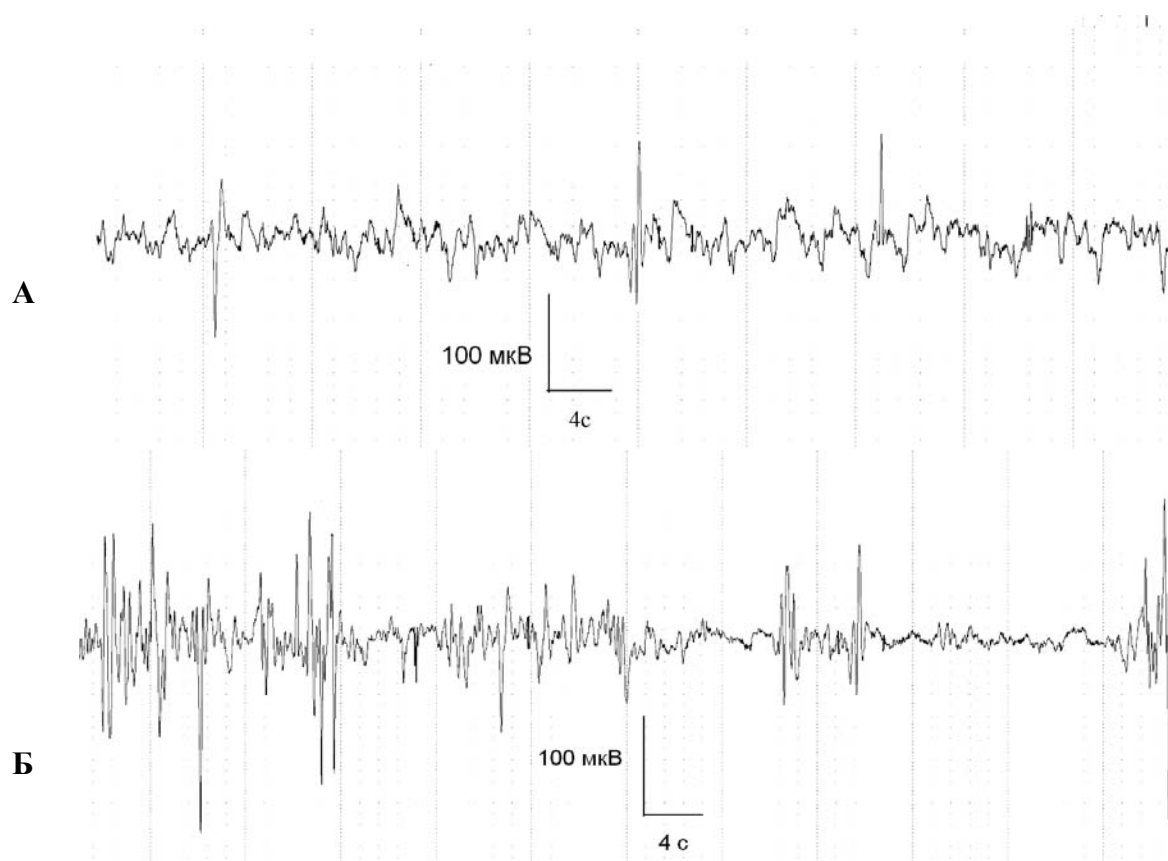
Для выяснения динамики формирования активности афферентных волокон, иннервирующих толстый кишечник, после интрадуоденального введения линкомицина, регистрировали АИА в проводниках брюшного аортального сплетения. Наблюдение осуществляли на протяжении 1,5 часа после введения препарата (рисунок 3).



А – частота импульсной активности, Б – амплитуда импульсной активности
Рисунок 3 – Динамика изменений импульсной активности в афферентных волокнах брюшного аортального нерва в динамике введения 0,3 мл дистиллированной воды (контроль) и 0,3 мл раствора линкомицина (6 мг/ 100 г)

Сравнительный и статистический анализ полученных данных не выявил значимых изменений амплитуды и частоты центростремительной импульсной активности в ветвях брюшного аортального сплетения после интрадуоденального введения линкомицина.

В отдельной серии опытов исследовали характер изменения электрической активности восходящей ободочной кишки в условиях внутрикишечного введения линкомицина. До введения антибиотика амплитуда волн базального ритма этого отдела кишки находилась в диапазоне 66 ± 14 мкВ, количество моторных потенциалов составляло 15 ± 6 имп/мин. После введения линкомицина электроэнтеромиограмма регистрировалась на протяжении 1 часа. К 30-ой минуте после инъекции препарата отмечалось уменьшение амплитуды волн основного ритма и увеличение количества моторных потенциалов. Амплитуда через 40 минут падала до 39 ± 11 мкВ (рисунок 4). Количество моторных потенциалов увеличивалось по сравнению с фоном в 5 раз (до 79 ± 24 имп/мин; $P < 0,05$).



А – электроэнтеромиограмма до введения антибиотика, Б – электроэнтеромиограмма через 40 минут после введения линкомицина (6 мг/100 г)

Рисунок 4 – Электрическая активность восходящей ободочной кишки крысы в динамике введения линкомицина

Полученные результаты доказывают, что однократное введение линкомицина в максимальной суточной дозе изменяло электрическую и моторную активность гладких мышц восходящей ободочной кишки. В литературе приводятся данные, свидетельствующие о способности клиндамицина, аналога линкомицина, вызывать деполяризацию мембраны нейронов вегетативных ганглиев [3]. Полученные нами результаты позволяют предположить прямое влияние линкомицина на нейроны внутрикишечной нервной сети.

Выводы

Таким образом, результаты исследований доказывают зависимость функционального состояния афферентных волокон тонкого кишечника и гладкомышечных волокон толстой кишки от содержания в его просвете антибиотиков. При этом обнаружена десенситизация рецепторов, образованных волокнами и блуждающего и брыжеечного нервов, что указывает на общий механизм развития нарушений. Поскольку рецепция питательных веществ в кишке происходит только после их всасывания [10], данные могут указывать на острое нарушение всасывания нутриентов после применения антибиотика. Вместе с тем, сравнение полученных фактов с имеющимися собственными результатами хронических опытов [11, 12, 13] доказывают, что для линкомицина характерно и прямое действие на нервные волокна. В любом случае, результаты опытов доказывают, что линкомицин способен оказывать прямое угнетающее влияние на активность афферентных систем кишки сразу после применения.

Список литературы

1 Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии. Под ред. Страчунский Л.С., Белоусов Ю.Б., Козлов С.Н. – НИИАХ СГМА, 2007 г. – 350 с.

- 2 Snavelly S.R., Hodges G.R. The neurotoxicity of antibacterial agents / *Ann Intern Med.* – 1984. – Vol.101. – P.92-104.
- 3 Konopka L.M., Parsons R.L. Clindamycin-induced alteration of ganglionic function. Direct effects on ganglion cell properties // *Brain Res.* – 1988. – Vol. 458(2). – P.269-277.
- 4 He H.Y., Ren Y.G., Li L., Jin F.L. et al. Influence of cefuroxime sodium on synaptic plasticity of parallel fiber-Purkinje cells in young rats // *Chinese Journal of Contemporary Pediatrics* – 2016. – Vol.18, N 6. P.558-563.
- 5 Fiekers J.F., Marshall I.G., Parsons R.L. Clindamycin and lincomycin alter miniature endplate current decay // *Nature* – 1979 – Vol.281(5733). – P.680-682.
- 6 Grøndahl T.O., Langmoen I.A. Epileptogenic effect of antibiotic drugs // *J. Neurosurg.* – 1993. – Vol.78, N 6. P.938-943.
- 7 Вегетативная нервная система: Атлас: Учеб. Пособие / Лобко П.И., Мельман Е.П., Денисов С.Д., Пивченко С.Г. – Мн.; Выш.шк., 1988. – 271 с.
- 8 Das U.N. Obesity: genes, brain, gut, and environment // *Nutr.* – 2010. – Vol. 26, No. 5. – P. 459–473.
- 9 Page A.J., Martin C.M., Blackshaw L.A. Vagal mechanoreceptors and chemoreceptors in mouse stomach and esophagus // *J Neurophysiol.* – 2002. – Vol. 87. – P. 2095–2103.
- 10 Люзина К.М., Чумак А.Г. Действие флоридзина на рецепторную и моторную активность тонкой кишки // *Труды БГУ. Серия «Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем».* – 2013 – Т.8, ч.1 – С. 42-62.
- 11 Руткевич С.А., Хруш Х.А. Особенности электрической активности восходящей ободочной кишки, брюшного аортального и блуждающего нервов крыс в условиях длительного приема линкомицина // *Труды БГУ. Серия «Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем».* – 2013 – Т.8, ч.1 – С. 75-78.
- 12 Хруш Х.А., Фёдоров А.Л., Руткевич С.А., Чумак А.Г. Реализация афферентной активности брыжеечного нерва крыс в условиях длительного приема линкомицина // *Материалы международной конференции Нейрофизиология боли в эксперименте и клинике. 16 октября 2015 г.* – С.58-59.
- 13 Хруш Х.А., Руткевич С.А. Влияние субстратной нагрузки на афферентную активность брыжеечного нерва крыс в условиях длительного приёма линкомицина // *72-я научная конференция студентов и аспирантов БГУ. – Минск, 23 апреля, 2015 г.* – С.262-265.

FUNCTIONAL ACTIVITY OF VISCERAL AFFERENT NERVES AFTER INTRADUODENAL ADMINISTRATION LINCOMYCIN IN RATS

H.A. Hrush, S.A. Rutkevich

Belarusian State University, Minsk, Belarus

e-mail: rutkevitch@inbox.ru

Electrophysiological studies were performed on anesthetized (urethane 1 g/kg) rats. It was found that a single intraduodenal administration of lincomycin (6 mg / 100 g) was accompanied by inhibition of vagus and mesenteric sensory nerves functional activity in 30-45 minutes after application, but did not alter the activity of abdominal aortic afferent fibers. The results suggest that lincomycin have an inhibitory effect on the activity of afferent intestine system just after use.