

Л.А. Бугайченко, О.І. Пілявський, О.І. Костюков

Вплив внутрішньом'язової ін'єкції брадикініну та капсаїцину на постсинаптичні реакції мотонейронів триголового м'яза литки у відповідь на його розтягування

Основным эффектом инъекции альгезивных веществ в трёхглавую мышцу голени (ТМГ) было подавление активности гомонимных мотонейронов. Постсинаптическую активность мотонейронов тестировали, растягивая гомонимную мышцу. После внутримышечной инъекции брадикинина или капсаицина наблюдали уменьшение амплитуды возбуждающего постсинаптического потенциала (ВПСП) или уменьшение частоты импульсации мотонейрона в зависимости от активности нейрона в контроле. На смоделированной острой мышечной боли характер подавления при использовании брадикинина отличался от наблюдаемого при введении капсаицина. Инъекция брадикинина в ТМГ приводила к временному, в течение 30–200 с, уменьшению частоты импульсации гомонимного мотонейрона в тестах. Тенденцию к восстановлению контрольных значений частоты импульсации наблюдали приблизительно через 8–10 мин после инъекции брадикинина. Если в контроле мотонейрон не генерировал импульсы, в первые минуты после инъекции наблюдали небольшое увеличение ВПСП, которое в последующие минуты сменялось выразительным его уменьшением. Инъекция капсаицина сразу приводила к уменьшению ВПСП или частоты импульсации мотонейрона без начального небольшого его увеличения, которое наблюдали в случае с брадикинином. После инъекции капсаицина подавление активности мотонейронов длилось дольше десяти минут, и тенденции к восстановлению контрольных значений активности мы не наблюдали.

ВСТУП

До кінця 80-х років вважали, що м'язовий біль супроводжується захисним спазмом м'язів. Але в більшості досліджень не вдалося зареєструвати підвищеної тонічної активності моторних одиниць, що іннервують м'язові волокна у м'язі, який болить [1]. Припускають, що біль спричинює зміну саме принципу контролю рухових програм з відкритої схеми регуляції – до замкненої. М'язовий біль моделюють ін'єкціями гіпертонічного сольового розчину брадикиніну або капсаїцину. Відомо, що ці речовини активують чутливі закінчення високопорогових аферентів. При їх ін'єкції

спостерігаються зміни у скороченні м'яза, в якому людина відчуває біль. Зменшується сила максимального вольового скорочення, яке може розвинути людина, зменшується і час, упродовж якого вона це скорочення витримує. Динамічні скорочення м'яза-агоніста (відносно того м'яза, у якому викликали експериментальний біль) характеризуються зменшенням електроміографічної (ЕМГ) активності [5, 14]. Ін'єкції гіпертонічного сольового розчину або капсаїцину у двоголовий м'яз плеча людини викликають уповільнення та зменшення амплітуди ЕМГ, і такі зміни не пов'язані з погіршенням проведення сигналу до м'язових волокон [11]. Посилення

© Л.А. Бугайченко, О.І. Пілявський, О.І. Костюков

відчуття болю при цьому супроводжувалося зменшенням частоти імпульсації моторних одиниць [3, 4]. Отже, зменшення сигналу від мотонейронів до м'язових волокон відбувається на центральному рівні. Але обстежуючи людей не можна відокремити події, що відбуваються на прегі на постмотонейронному рівні; також завжди наявний афективний компонент, що пов'язаний з експериментальною процедурою.

Мета нашого дослідження – з'ясувати характер пов'язаних з болем змін мотонейронної активності.

МЕТОДИКА

Експерименти проведено на 6 децереброваних котах. Стовбур мозку перерізали на інтерколікулярному рівні. Препарували правий триголовий м'яз литки (ТМЛ) – його обережно виділяли з навколишніх тканин, зберігаючи кровопостачання. Сухожилля разом з невеликим фрагментом п'яркової кістки виділяли з тим, щоб приєднати до механостимулятора. Всі нерви м'язів кінцівки, за виключенням ТМЛ, виділяли з навколишніх тканин і перерізали. Після операції тварину переносили до стереотаксичного пристрою з системою жорсткої фіксації хребта, кінцівок і голови. Температуру тварини і ранових поверхонь протягом досліді підтримували на рівні 37,5–38°C. Розтягування м'яза відбувалося за допомогою сервокерованого механостимулятора. Всі зміни довжини м'яза, які здійснювали протягом експериментів, були в межах змін довжини за реальних умов. У експериментах довжина м'яза при найбільшому розтяганні була на декілька міліметрів менше за таку при максимально зігнутій стопі. Розтягування м'яза використовували як тестове збурення для мотонейронів.

Активність окремих мотонейронів реєстрували скляними мікроелектродами внутрішньоклітинно із використанням підсилювача Axoclamp 2A (“Axon Instru-

ments”, США). Сигнал записували від мікроелектрода що являв собою мікропіпетку, заповнену 0,6 моль/л розчином K_2SO_4 (опір 1,5–4,5 МОм). Занурення мікроелектрода до спинного мозку виконували електромеханічним маніпулятором (крок 0,5 мкм). Протягом реєстрації мембранного потенціалу паралельно записували сигнали від датчиків довжини, сили м'яза, кров'яного тиску і відмітки стимуляції.

Гострий м'язовий біль моделювали ін'єкціями брадикініну або капсаїцину – речовин, які збуджують високопорогові м'язові аференти. Як тест було обрано рефлекс на розтягнення м'яза. Цей рефлекс полягає переважно у моносинаптичному збудженні мотонейронів при активації м'язових веретен (рецепторів розтягування м'яза), і може запобігати надмірному розтяганню м'яза при ході та при підтримці постави.

Оцтову сіль брадикініну (“Sigma”, США) розводили розчином Тіроде до концентрації 100 мкг · мл⁻¹, капсаїцин (“Sigma”, США) – розчином Твіне 80 (7 %) і фізіологічним розчином (93 %) до концентрації 500 мкг · мл⁻¹. Розчин брадикініну або капсаїцину вводили приблизно рівними порціями в 6 точок у центральну частину м'яза G-S на глибину 6–10 мм. Сукупний об'єм ін'єкції – 1 мл.

РЕЗУЛЬТАТИ

Розтягування ТМГ викликає деполяризацію мембрани гомонімного мотонейрона. Якщо деполяризація була достатньо інтенсивною, спостерігали генерацію імпульсів. Постсинаптичний потенціал, що виникає рефлекторно при розтягуванні м'яза, відображає сумачію збуджувальних постсинаптичних потенціалів (ЗПСП), у тому числі моносинаптичних, що пов'язані з активністю м'язових веретен. Розтягування м'яза є природнім шляхом активації мотонейронів.

Після введення у м'яз брадикініну або капсаїцину, ми не спостерігали будь-яких

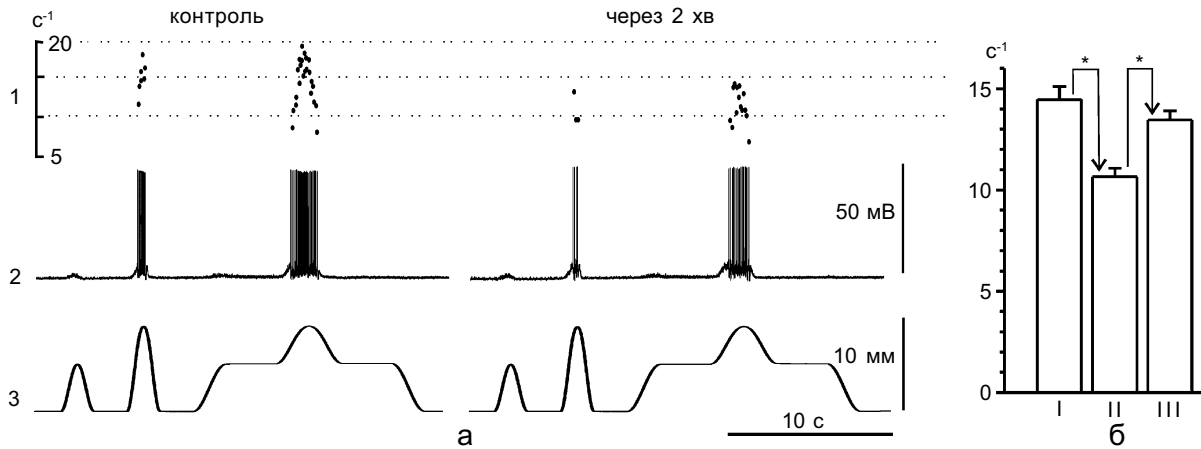


Рис. 1. Зміни імпульсної активності мотонейрона триголового м'яза гомілки після введення брадикініну: а – частота імпульсації мотонейрона в послідовних тестових серіях з розтягуванням м'яза до (контроль) і після внутрішньом'язового введення брадикініну: 1 – миттєва частота імпульсації, 2 – мембранний потенціал, 3 – довжина м'яза; б – гістограма миттєвої частоти ($M \pm m$) для мотонейрона: 1 – контроль, II – через 2 хв, III – через 7 хв після ін'єкції брадикініну. Стрілками показано достовірну відмінність миттєвої частоти для сусідніх тестових серій (* $P < 0,05$)

виразних змін рівня мембранного потенціалу, що могли бути пов'язані з постсинаптичним впливом, незмінним залишався й кров'яний тиск. На цьому фоні в тестах з

розтягуванням м'яза активність мотонейрона, а саме – миттєва частота імпульсації або амплітуда ЗПСП зменшувалися.

Пригнічення імпульсації мотонейрона в

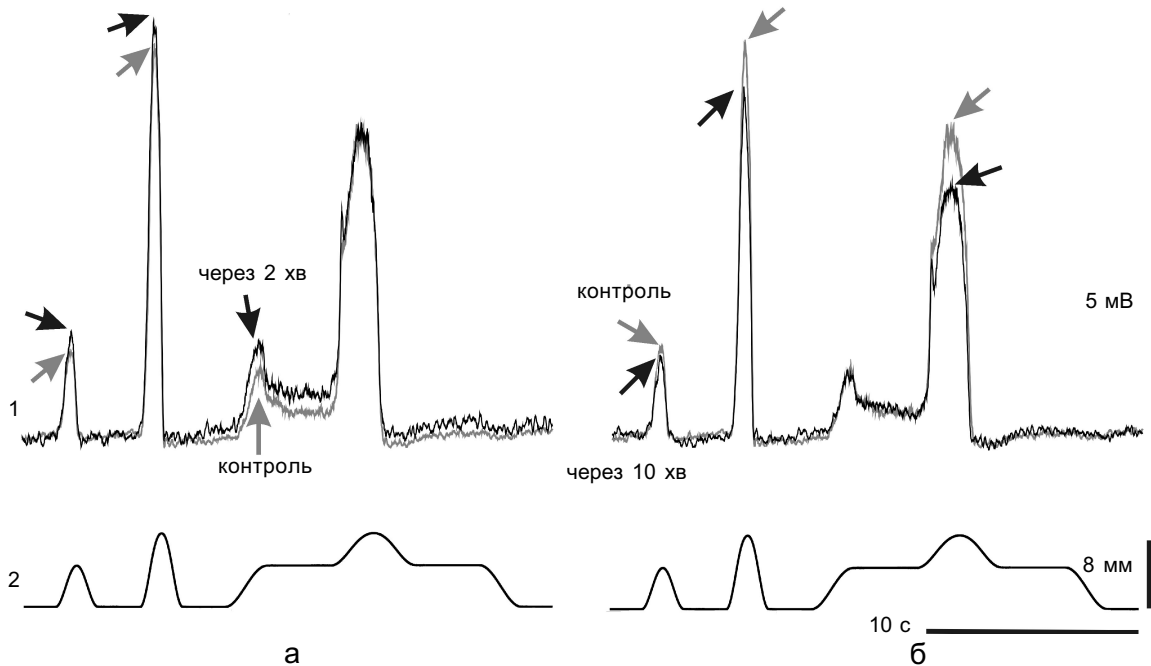


Рис. 2. Зміни постсинаптичного потенціалу мотонейрона триголового м'яза гомілки після введення брадикініну: а – через 2 хв, б – через 10 хв (1 – запис мембранного потенціалу, 2 – зміни довжини м'яза). Сірим кольором зображено усереднений запис мембранного потенціалу мотонейрона в контрольній серії, чорним кольором – після введення брадикініну; стрілками показано різницю амплітуд постсинаптичного потенціалу

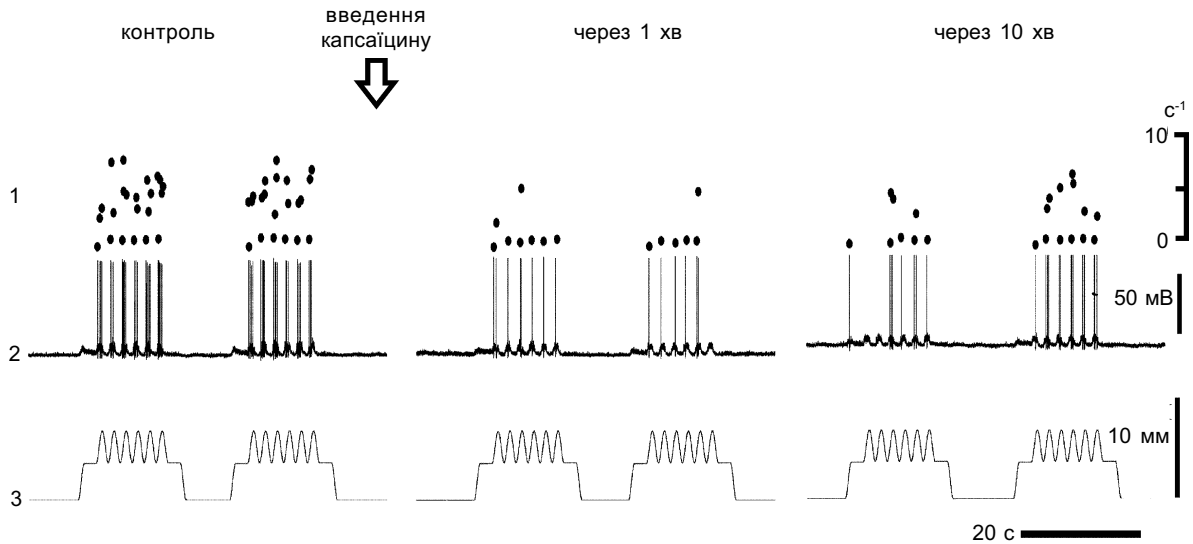


Рис. 3. Імпульсна активність мотонейрона триголового м'яза гомілки після введення капсаїцину: 1 – миттєва частота імпульсації мотонейрона, імп/с, 2 – запис мембранного потенціалу, 3 – зміни довжини м'яза

тестах спостерігали вже через 30 с після введення брадикініну, в той час як відновлення імпульсної активності реєстрували протягом 500–800 с після ін'єкції. Через 2 хв після ін'єкції кількість імпульсів і миттєва частота імпульсації мотонейрона у відповідь на тестове розтягання м'яза зменшувалися (рис. 1,а). Статистичний аналіз імпульсної активності в тестах (див. рис. 1,б) показав достовірне зменшення імпульсної активності відносно контролю в інтервалі впродовж 4 хв після моменту ін'єкції брадикініну і достовірне відновлення активності в інтервалі 8–11 хв після ін'єкції. Статистичний аналіз змін активності було зроблено для двох дослідів. Зміни, що відбувалися, були односпрямованими.

У випадку, коли у відповідь на розтягання м'яза не спостерігалось імпульсації гомонімного мотонейрона, ми порівнювали ЗПСП у контролі та після ін'єкції брадикініну у м'яз. Для цього записи мембранного потенціалу фільтрували й усереднювали (4 оригінальних записи для кожного усередненого). На рис. 2 показано, що через 2 хв після ін'єкції брадикініну відбувається

невелике збільшення амплітуди ЗПСП. Далі амплітуда ЗПСП у тестах з розтяганням зменшувалася. Через 10 хв після ін'єкції брадикініну амплітуда ЗПСП значно зменшувалася.

У дослідах з введенням капсаїцину імпульсна активність мотонейрона в тестах була пригніченою через 1 хв. Це пригнічення було інтенсивнішим, ніж після введення брадикініну. Через 10 хв тенденція до відновлення імпульсної активності була незначною (рис. 3). Отримані в тестах ЗПСП (до і після ін'єкції капсаїцину) порівнювали між собою. Через 1 хв після ін'єкції спостерігали тенденцію до зменшення ЗПСП: амплітуда ЗПСП була меншою від контрольних лише у відповідь на деякі хвили розтягання м'яза (рис. 4,а). Через 4 хв амплітуда ЗПСП виразно зменшувалася (див. рис. 4,б). ЗПСП, які виникали у відповідь на низькоамплітудне розтягання м'яза, залишалися практично без змін, тоді як ЗПСП, які виникали у відповідь на високоамплітудне розтягання м'яза, помітно зменшувалися. Зменшення ЗПСП відбувалося без почат-

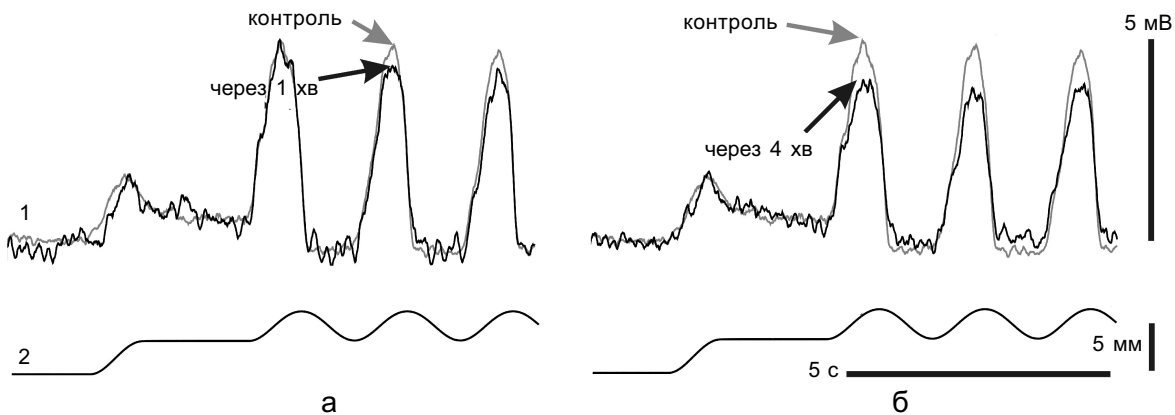


Рис. 4. Зміни постсинаптичного потенціалу мотонейрона триголового м'яза гомілки у тестах з розтягуванням гомонімного м'яза після введення капсаїцину: а – через 1 хв, б – через 4 хв (1 – запис мембранного потенціалу, 2 – зміни довжини м'яза). Сірим кольором зображено усереднений запис мембранного потенціалу мотонейрона в контрольній серії, чорним – після введення капсаїцину, стрілками вказано різницю амплітуд постсинаптичного потенціалу

кового швидкоминучого збільшення амплітуди, яке спостерігали при ін'єкції брадикініну у ТМЛ.

ОБГОВОРЕННЯ

Основним ефектом внутрішньом'язової ін'єкції альгезивних речовин було пригнічення активності мотонейронів, які іннервують цей м'яз.

Слід зазначити, що ін'єкції брадикініну та капсаїцину в даних концентраціях не викликали помітних змін артеріального тиску, отже – навряд чи викликали зміни кровопостачання судин спинного мозку. З літератури відомо, що навіть у разі, коли ін'єкції капсаїцину спричиняють підвищення кров'яного тиску – кровообіг у скелетних м'язах і мозку залишався без змін [1]. Брадикінін у великих концентраціях спричинює короточасне зменшення регіонарного церебрального кровотоку одночасно зі зменшенням системного тиску [9], які не спостерігали при використаних нами концентраціях. Тому можна вважати, що пригнічення активності мотонейронів відбувалося переважно внаслідок центрального обмеження їх активності.

Звичайно, порівняно короточасний

ефект пригнічення мотонейронної активності при ін'єкції брадикініну може відбуватися внаслідок порівняно швидшої утилізації брадикініну з внутрішньом'язового середовища, тоді як утилізація капсаїцину більш повільна. Також існує можливість, що у випадку з ін'єкцією капсаїцину відбуваються незворотні зміни властивостей високопорогових аферентів.

Що стосується механізмів пригнічення активності мотонейронів, то постсинаптичне гальмування, швидше за все, не могло бути його причиною, оскільки ми не спостерігали ознак гіперполяризації мембрани і появи фонових гальмівних постсинаптичних потенціалів (ГПСП) після ін'єкції. Малоімовірно є і зменшення сигналу, що надходить при розтягуванні м'яза, адже відомо, що ін'єкція капсаїцину в кров'яній басейн кінцівки не впливає на активність низькопорогових аферентів I і II груп [7].

Однією з причин пригнічення активності мотонейронів у тестах з розтягуванням м'яза могла бути інтенсифікація пресинаптичного гальмування. Раніше було показано, що інтенсивність пресинаптичного гальмування мотонейронів може збільшуватися внаслідок хімічної активації високопорогових аферентів [12]. Більше

того, подібний механізм пригнічення мотонейронів, а саме посилення пресинаптичного гальмування в дузі моносинаптичного збудження мотонейронів спостерігали при втомі гомонімного м'яза [6]. Відомо, що м'язова втома супроводжується підвищеною активністю високопорогових аферентів, і у тварин в умовах їх дегенерації не відбувається пригнічення моносинаптичного рефлексу [10]. Внутрішньоклітинні відведення від мотонейронів показали відсутність фонових ГПСП при формуванні втоми у гомонімному м'язі, частота імпульсації мотонейрона (або ЗПСП) при цьому зменшувалася [8]. Картина пригнічення активності моторних нейронів при м'язовій втомі була подібною до тієї, яку ми спостерігали при ін'єкції альгезивних речовин. Отже, маємо підстави вважати, що задіяний механізм пригнічення (пресинаптичне гальмування) однаковий і при втомі, і при болю м'язів, зважаючи на однакові причини його активації.

Окрім аферентів групи Ia, розтягування м'яза може активувати сухожилкові рецептори Гольджи групи Ib і механочутливі аференти II і III груп. У дослідженнях, що були зроблені на спіналізованих котах, хімічна активація аферентів III і IV груп гомілки супроводжувалася полегшенням нерцепроного гальмування, яке забезпечували аференти групи Ib м'яза литки на екстензорні мотонейрони [13]. Але у людей виявлено протилежну закономірність, і ослаблення нерцепроного гальмування відбувалося, ймовірно, через пресинаптичне гальмування аферентів групи Ib [12]. У нашому дослідженні гальмування, опосередковане аферентами групи Ib, яке могло зазнати впливів від м'язових аферентів III і IV груп, не відіграло значної ролі.

I, нарешті, імпульсація пачками мотонейронів ініціює зворотне гальмування, опосередковане клітинами Реншоу, активність яких може модулюватись аферентами III і IV груп. Адже відомо, що після внутрішньом'язової ін'єкції брадикініну і

серотоніну імпульсація клітини Реншоу у спіналізованих котів зазвичай пригнічується [15]. Незважаючи на те, що послаблення зворотного гальмування повинно було призвести до збудження відповідних мотонейронів, у нашому дослідженні спостерігалось зменшення частоти імпульсації мотонейронів і, відповідно, подовження міжімпульсного інтервалу) при ін'єкції брадикініну та капсаїцину (див. рис. 1, 3). Тобто, ймовірно, що механізмом, який відповідає за обмеження активності мотонейронів при гострому м'язовому болю, є пресинаптичне гальмування. За таких умов сигнал від м'язових рецепторів розтягнення буде зменшеним і, відповідно, рефлекторна активація м'яза буде також пригніченою. Фізіологічний сенс такого явища полягає в обмеженні рівня активації м'яза і зменшенні його травматизації за умови виникнення гострого болю внаслідок м'язового перенавантаження.

Отже, основним ефектом ін'єкції альгезивних речовин у ТМГ було пригнічення активності гомонімних мотонейронів. Після внутрішньом'язової ін'єкції брадикініну або капсаїцину спостерігали зменшення амплітуди ЗПСП або зменшення частоти імпульсації мотонейронів. Характер пригнічення відрізнявся при використанні брадикініну або капсаїцину для моделювання гострого м'язового болю. При введенні брадикініну пригнічення було короткочасним, з помітним відновленням активності мотонейронів, а при використанні капсаїцину – тривалішим, без відновлення впродовж більше ніж 10 хв.

L.A. Bugaychenko, A.I. Pilyavskii, A.I. Kostyukov
EFFECTS OF BRADYKININ AND CAPSAICIN
INJECTIONS INTO FELINE M. GASTROCNEMIIUS-SOLEUS ON STRETCH-EVOKED
POSTSYNAPTIC RESPONSE
IN HOMOSYNAPTIC MOTONEURONES

Responses of gastrocnemius-soleus motoneurons to stretches of the homonymous muscles were recorded intracellularly in

the decerebrated cats during intramuscular injections (IMI) of bradykinin or capsaicin into the muscles. Effects of IMI on EPSPs and spikes evoked by stretches of the G-S muscles were studied in 6 motoneurons. Stretch-evoked EPSPs and firing were predominantly suppressed after IMIs, with the exception of slight increase of EPSPs up to 150 s after bradykinin injection, followed by their distinct decrease. The suppression of spike activity was followed by restoration within 500–800 s after bradykinin injection. Stretch-evoked EPSPs and firing were depressed after capsaicin injection; control level of motoneurons activity was seemed to be unrecoverable for quite a long time. No background IPSPs were observed after algescic injections and presynaptic inhibition was considered as plausible reason for the observed suppression of motoneurons activity.

O.O.Bogomoletz Institute of Physiology, NAS of Ukraine, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Тревелл Дж.Г., Симонс Д.Г. Миофасциальные боли. – Т. 1. – М.: Медицина, 1989. – 273 с.
2. Crayton S.C., Mitchell J.H., Payne F.C. 3rd. Reflex cardiovascular response during injection of capsaicin into skeletal muscle // *Amer. J. Physiol.* – 1981. – **240**. – P. 315–319.
3. Farina D., Arendt-Nielsen L., Graven-Nielsen T. Experimental muscle pain reduces initial motor unit discharge rates during sustained submaximal contractions // *J. Appl. Physiol.* – 2005. – **98**. – P. 999–1005.
4. Farina D., Arendt-Nielsen L., Merletti R., Graven-Nielsen T. Effect of experimental muscle pain on motor unit firing rate and conduction velocity // *J. Neurophysiol.* – 2004. – **91**. – P. 1250–1259.
5. Graven-Nielsen T., Svensson P., Arendt-Nielsen L. Effects of experimental muscle pain on muscle activity and co-ordination during static and dynamic motor function // *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* – 1997. – **105**. – P. 156–164.
6. Kalezic I., Bugaychenko L.A., Kostyukov A.I. et al. Fatigue-related depression of the monosynaptic gastrocnemius-soleus reflex // *J. Physiol.* – 2004. – **556**. – P. 283–296.
7. Kaufman M.P., Iwamoto G.A., Longhurst J.C., Mitchell J.H. Effects of capsaicin and bradykinin on afferent fibers with ending in skeletal muscle // *Circulat. Res.* – 1982. – **50**. – P. 133–139.
8. Kostyukov A.I., Bugaychenko L.A., Kalezic I. et al. Effects in feline gastrocnemius-soleus motoneurons induced by muscle fatigue // *Exp. Brain Res.* – 2005. – **163**, № 3. – P. 284–294.
9. Muraishi M., Sayama T., Matsukado K. et al. Effect of intracarotid bradykinin infusion on cerebral blood flow in dogs // *Neurol. Res.* – 1999. – **21**. – P. 791–795.
10. Pettorossi V.E., Della Torre G., Bortolami R., Brunetti O. The role of capsaicin-sensitive muscle afferents in fatigue-induced modulation of the monosynaptic reflex in the rat // *J. Physiol.* – 1999. – **515**. – P. 599–607.
11. Qerama E., Fuglsang-Frederiksen A., Kasch H. Effects of evoked pain on the electromyogram and compound muscle action potential of the brachial biceps muscle // *Muscle Nerve.* – 2005. – **31**. – P. 25–33.
12. Rossi A., Decchi B., Ginanneschi F. Presynaptic excitability changes of group Ia fibres to muscle nociceptive stimulation in humans // *Brain Res.* – 1999. – **818**. – P. 12–22.
13. Schomburg E.D., Steffens H., Kniffki K.D. Contribution of group III and IV muscle afferents to multisensorial spinal motor control in cats // *Neurosci. Res.* – 1999. – **33**. – P. 195–206.
14. Svensson P., Arendt-Nielsen L., Houe L. Sensory-motor interactions of human experimental unilateral jaw muscle pain: a quantitative analysis // *Pain.* – 1996. – **64**. – P. 241–249.
15. Windhorst U., Meyer-Lohmann J., Kirmayer D., Zochodne D. Renshaw cell responses to intra-arterial injection of muscle metabolites into cat calf muscles // *Neurosci. Res.* – 1997. – **27**. – P. 235–247.

Ін-т фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ

Матеріал надійшов до редакції 25.05.2005