

УДК 612.79: 612.815.1: 612.59

В. Э. Диверт

ИМПУЛЬСНАЯ АКТИВНОСТЬ В КОЖНЫХ АФФЕРЕНТНЫХ ВОЛОКНАХ КРЫСЫ ПРИ СОЧЕТАННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ЛОКАЛЬНОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ И ДАВЛЕНИЯ

ГУ НИИ физиологии СО РАМН, Новосибирск

Исследована спонтанная и вызванная локальными температурными воздействиями импульсная активность кожных сенсоров наружной тазобедренной области у лабораторных крыс при различных дозированных давлениях термоды на кожу. Установлено, что спонтанная активность кожных афферентных волокон от интактного участка кожи очень низка. После прикосновения термоды к коже изменения статической активности и динамических реакций кожных сенсоров на локальные температурные воздействия соответствуют характеристикам холодных термосенсоров. Максимальные величины частоты импульсов статической и динамической характеристик импульсации кожных афферентов от локальной температуры наблюдаются при температурах термоды, близких к естественной температуре кожи, и пропорционально возрастают с ростом силы прижима термоды до 30 г/см^2 , а затем понижаются. Обсуждаются возможные механизмы модулирующего влияния давления термоды на температурно-зависимую активность кожных сенсоров.

Ключевые слова: кожа крысы, чувствительные нервные окончания, механическое воздействие, воздействие холода и тепла

Несмотря на значительный объем экспериментальных и теоретических исследований в области терморегуляции в целом, вопрос о специфичности базового элемента системы – температурного сенсора (терморецептора) – остается дискуссионным. Это прослеживается в существующих определениях терморецепторов [8] и позициях известных исследователей [3, 5–7, 9, 11, 14]. Важность установления специфичности термической рецепции является одной из основных фундаментальных проблем в области терморегуляции [4]. В нашем предыдущем исследовании [2] показано, что фоновая импульсация сенсорных волокон кожи очень низка и в среднем со-

ставляет 0,06 Гц, что соответствует появлению импульса через 17 секунд. Однако активность сенсоров увеличивается в десятки раз в случае прикосновения к рецептивному участку термоды, обычно используемого для термостимуляции, даже если его температура не отличается от температуры интактной кожи. Температурные зависимости импульсации афферентных волокон: статическая и динамическая характеристики, измеренные при прислоненном к коже термоды, оказались полностью идентичными известным характеристикам холодных термосенсоров. Вместе с тем строгое исследование модулирующего влияния механического воздействия на температурную чувствительность кожных сенсоров у лабораторных крыс проведено не было, что и составило задачу настоящего исследования.

Методика. В опытах использованы белые лабораторные крысы-самцы линии Вистар массой $343 \pm 13 \text{ г}$, содержащиеся в условиях специализированного вивария.

Экспериментальная установка включала усилитель биопотенциалов УБП1-02 (завод “ЭМА”, Москва) и 8-уровневый амплитудный дискриминатор АА-83 (ЭПМ НИИЭМ, Санкт-Петербург), где выделялась импульсация отдельных волокон с соответствующими амплитудами потенциалов действия. Далее сигналы вводились в персональный компьютер, оснащенный программой регистрации и предварительной обработки исходных данных. Для термического раздражения рецептивного поля на коже использовали термод с рабочей поверхностью 1 см^2 , изго-

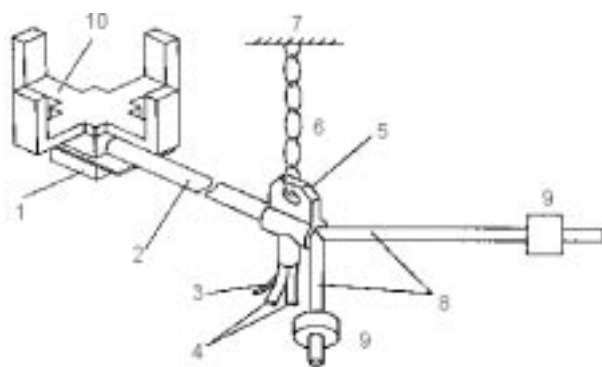


Рис. 1. Схема сбалансированной подвески термоды. 1 – термобатарея, 2 – латунная трубка, 3 – провод питания и термопары, 4 – силиконовые трубки, 5 – хомут, 6 – металлическая цепочка, 7 – кронштейн штатива, 8 – отрезки стальной проволоки, 9 – противовесы, 10 – крестовина-держатель

товленный на основе стандартной термоэлектрической батареи, и блок управления температурой его поверхности [2]. С целью регистрации импульсной активности от наиболее представительной выборки волокон использовали методику макроэлектродного отведения биопотенциалов от дистального отрезка перерезанного кожного нерва. Описание накладных макроэлектродов из платиновой проволоки приведено в предыдущей работе [2].

Для решения основной задачи настоящего исследования был разработан способ точного дозирования давления термоды на кожу на основе специальной схемы сбалансированной подвески термоды (рис. 1). К боковой поверхности термоды (1) прикреплялась латунная ручка в виде трубки (2), через которую пропускали провода для питания термобатареи и медьконстантановой термопары, закрепленной на рабочей поверхности термостимулятора (3). Через ту же ручку проходили силиконовые трубки (4) для охлаждающей воды, подаваемой к теплообменнику на нерабочей поверхности термобатареи. На внешней поверхности теплообменника прикреплялась крестовина-держатель (10) для укладки нужного количества пятикопеечных монет образца 1961–1990 гг. весом по 5 г каждая. На другом конце ручки термоды закреплялся хомутик (5), от которого отходили разведенные в стороны отрезки стальной проволоки (8) с перемещаемыми по ним грузиками-противовесами (9). К хомутику прикреплялась металлическая цепочка (6), другой конец которой фиксировался на кронштейне лабораторного штатива (7). Изменением пространственного положения кронштейна штатива и его высоты, а также перемещением противовесов можно было установить исходное положение рабочей поверхности термоды (1) строго параллельным кожной поверхно-

сти в области рецепторного поля и максимально приближенным к ней. После настройки подвески сила прижима термоды могла легко задаваться числом монет дискретно по 5 г.

Порядок подготовки животного к эксперименту – уретановый наркоз в дозе 1 г/кг массы тела, процедура выделения подкожной веточки нерва и определение границы области рецепторного поля на коже наружной тазобедренной области – не отличался от описанных ранее [2]. В начале эксперимента проводили запись спонтанной импульсной активности нервных волокон в исходном состоянии, без термоды. Затем к коже в области иннервации прислоняли термоды при давлении 5 г/см² и запись уровня активности сенсоров продолжали при температурах кожи, задаваемых термодом. Температура термоды при этом изменялась ступенчато в интервале от 40–42 до 18–20°C с шагом отдельной ступени в 4–5°C и 3–4-минутным стабильным поддержанием температуры на каждой ступени. Затем по аналогичной схеме регистрация продолжалась при других величинах давлений термоды: 10, 20, 30, 40 и 50 г/см².

Для каждого уровня давления термоды на кожу по термостабильным участкам записи на отдельных ступенях температуры кожи рассчитывалась статическая характеристика импульсной активности кожных сенсоров. На полученных статических характеристиках определялись координаты максимумов: максимальная частота импульсов и температура кожи для каждой величины давления термоды. Всего было проанализировано 33 отрезка записей. Затем определяли суммарные средние величины для всей группы исследованных нервных веточек. В итоге была получена общая зависимость максимальной статической активности кожных сенсоров и

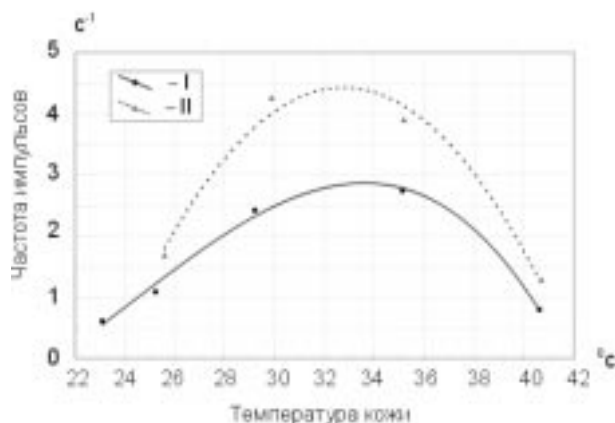


Рис. 2. Пример результатов анализа импульсной активности в отдельном афферентном волокне кожного нерва крысы от температуры кожи при постоянном давлении термоды 40 г/см².

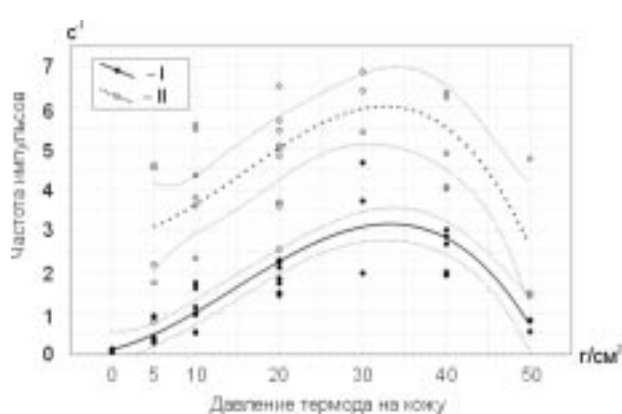


Рис. 3. Зависимость максимальной частоты импульсации кожных сенсоров в оптимуме температурно-зависимых характеристик от величины давления термоды на кожу для всех наблюдений.

соответствующих температур термоды от давления термоды на поверхность кожи.

Переход с одного стационарного уровня температуры термоды на другой (более низкий) при каждом заданном давлении термоды на кожу производился со скоростью около $1^{\circ}\text{C}/\text{с}$. При этом импульсация в афферентных волокнах резко возрастала на короткое время (около 30 с), отражая их динамические реакции на изменения температуры. По средним величинам импульсации за 30 с переходного процесса рассчитывались динамические температурно-зависимые характеристики и определялись координаты их максимумов: максимальные частоты импульсации и соответствующие температуры термоды (всего 32 участка записи). Затем по данным для отдельного эксперимента рассчитывались средние величины и строились общие графики для всей группы исследованных кожных нервов.

Всего проанализирована импульсная активность 50 нервных волокон, выделенных из 12 кожных нервов у 10 крыс.

Для аппроксимации эмпирических данных динамической и статической температурно-зависимых характеристик кожных сенсоров применяли полиномиальную зависимость 3 степени, максимумы которой определяли графическим способом с использованием пакета прикладных программ "Statistica" (StatSoft Inc.). Данные обрабатывали стандартными статистическими методами с расчетом средней величины показателя и ее ошибки.

Результаты. Фоновая импульсация от кожных афферентных волокон, зарегистрированная на 19 отрезках записей со средней длительностью 437 ± 133 с, составила $0,07 \pm 0,02$ с⁻¹, что практически не отличается от данных предыдущего исследования [2].

В качестве примера на рис. 2 приведены результаты анализа одного из отрезков записи со свойственным видом статической (I) и динамической (II) характеристик импульсации кожных сенсоров от температуры термоды, прислоненного к области рецептивного поля с давлением $40 \text{ г}/\text{см}^2$. Можно заметить, что частота импульсации на обеих кривых наиболее высока при температурах термоды $33,1$ – $33,8^{\circ}\text{C}$ и плавно понижается как при увеличении, так и при понижении температуры. Несколько повышенные величины температуры кожи для максимальной статической активности сенсоров, по сравнению с данными, полученными ранее [2], где она составляла 32 – $32,5^{\circ}\text{C}$, объясняются тем, что искусственно поддерживаемая с помощью подогревного столика ректальная температура в данной серии экспериментов была повышена до $37,7 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$, против $37,2 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ в предыдущих исследованиях. Контрольные измерения темпера-

туры интактной кожи у части животных показали, что она равнялась $32,8$ – $33,4^{\circ}\text{C}$.

Данные для всей группы животных приведены на рис. 3, где отображены зависимости максимальной частоты импульсной активности кожных афферентов в оптимуме температурно-зависимых характеристик: статической (I) и динамической (II) от величин давления термоды на кожу. Из рис. 3 видно, что максимальная частота статической импульсации сенсоров (I) линейно нарастает до $3,17$ с⁻¹ с увеличением давления термоды до $33,2 \text{ г}/\text{см}^2$, а затем понижается. Аналогично ведет себя и динамическая активность сенсоров (II). Максимум динамической реакции кожных сенсоров составляет $6,0$ с⁻¹ и наблюдается при давлении термоды на кожу $32,7 \text{ г}/\text{см}^2$.

Следовательно, само давление является важным фактором, активирующим дополнительно чувствительные к температуре кожные сенсоры, причем проявляющие характерные свойства специфических холодовых сенсоров. При отсутствии давления на кожу, как было отмечено выше, фоновая активность сенсоров кожи становится крайне низкой. Используемая методика отведения биоэлектрической активности от целого нервного ствола дает основания полагать, что в анализе присутствовала наиболее представительная выборка кожных нервных сенсоров, отражающая интегральный пул центростремительной импульсации. Ярко выраженная механическая модуляция активности сенсоров внешним давлением, увеличивающим их фоновую активность в 45 раз (от $0,07$ до $3,17$ импульсов в секунду), причем с появлением характерных свойств хорошо известных холодовых терморепцепторов, требует поиска возможных причин и механизмов, лежащих в основе феномена.

Существование механохолодовых сенсоров в коже показано в ряде исследований [3, 7, 12, 13] и в принципе не отрицается всеми специалистами по термической рецепции. Отдельные ученые, авторы многолетних фундаментальных работ, специально подчеркивали наличие механочувствительности у всех исследованных ими кожных термосенсоров [5]. Факт наличия сопряженной механочувствительности у части термосенсоров отмечается в известных обзорах [9, 14], но приводится с оговоркой на то, что их следует считать "неспецифическими" термосенсорами, в отличие от чисто "специфических". В то же время используемый способ определения "специфичности" по отсутствию реакции на механические раздражения, сила которых строго не оговаривается, оставляет определенные сомнения в интерпретации результатов. С другой стороны, убедительные данные их "неспецифичности" также отсутствуют. Наоборот, в работах О.П. Минут-Сорохтиной [7] приводятся результаты

многолетних исследований свойств афферентов кожных и подкожных сосудов, где механочувствительности холодовых сенсоров отводится важная функциональная роль.

Можно отметить, что в литературе слабо представлены результаты анализа импульсации механохолодовых сенсоров у крыс, поскольку наиболее активно работавшие с ними авторы стоят на позиции признания лишь “специфических” термосенсоров [6]. В отдельных работах отмечается, что “неспецифические” термосенсоры имеют сниженную, по сравнению со “специфическими”, температурную чувствительность [12]. Вместе с тем в настоящем исследовании средние частоты импульсации термосенсоров составили около 3 с^{-1} , что вдвое превышает частоты, отмеченные в исследованиях Т.В. Козыревой [6].

В работах А.В. Зевеке, выполненных на кошках, также отмечается полимодальность кожных сенсоров: чувствительность их к температурным изменениям и к механическим нагрузкам [3]. Многолетние исследования позволили автору развить гипотезу, по которой основой температурно-зависимой функции кожных сенсоров может служить кожный коллаген. Он отличается высокими температурными коэффициентами сжатия-расширения и может выполнять роль температурно-чувствительного посредника для механорецепторов, обеспечивая их термочувствительность.

Низкие уровни фоновой активности зарегистрированы в исследовании О. В. Бариновой с соавт. [1] на кошках. Было показано, что фоновая импульсация в А-дельта волокнах кожи встречается настолько редко, что не позволяет провести ее статистический анализ. Совсем отсутствовала фоновая импульсация в безмиелиновых афферентных С-волокнах кожных нервов, часть которых обычно также составляют холодовые термосенсоры.

Очень низкие уровни фоновой импульсации термосенсоров в отсутствие механического стимула ($0,07 \text{ с}^{-1}$) получены и в настоящей работе. Это может отражать отсутствие необходимости в повышенном центростремительном пуле для нормальных условий в коже, хотя и несколько противоречит общей концепции терморегуляции, где подразумевается значительно более высокий (до нескольких единиц и даже десятков герц) фоновый уровень активности “специфических” периферических термосенсоров [9, 14]. С другой стороны, аналогично низкие частоты имеет центробежный (эфферентный) поток импульсации, идущий по симпатическим волокнам к коже. Так, специальные исследования влияния частоты стимуляции децентрализованного отрезка симпатического ствола на кровоток в коже конечности у крыс показали, что наиболее эф-

фективны частоты $0,05\text{--}0,07 \text{ с}^{-1}$ [15]. Следовательно, некоторый сбалансированный по афферентно-эфферентным каналам нейрогенной регуляции уровень активности можно считать наиболее приемлемым для нормального функционального состояния кожи.

Наконец, что касается максимума на полученной кривой частота-давление при уровне давления $32,7\text{--}33,2 \text{ г/см}^2$, то, сопоставляя его с известными наблюдениями, можно отметить появление данных об изменении локального кровотока кожи, измеренного лазер-доплеровским методом [10]. В работе показан рост кровотока с увеличением силы прижима датчика до величины $27,6 \pm 14,7 \text{ г/см}^2$, а затем понижение. Сходство величин внешних давлений, оказывающих существенное влияние на динамику процессов, происходящих в кожной ткани, позволяет предположить наличие функциональной связи между исследованными механохолодовыми сенсорами и сосудами, что в свою очередь дополняет гипотезу о сосудистой природе терморецепции, развитую в работах О.П. Минут-Сорхтиной [7].

Выводы. Спонтанная активность афферентных волокон кожи наружной тазобедренной области у крыс очень низка ($0,07 \pm 0,02 \text{ с}^{-1}$). Давление термоды на кожу усиливает ее в десятки раз.

Все исследованные кожные афференты проявляют свойства механохолодовых термосенсоров с максимумом статической и динамической характеристик при температурах термоды, близких к естественной температуре кожи.

Максимальная импульсация термосенсоров линейно возрастает с увеличением давления термоды до 30 г/см^2 , а затем понижается. В механизме модуляции функциональной активности термосенсоров внешним давлением могут участвовать миогенные реакции кожных и подкожных сосудов.

IMPULSIVE ACTIVITY IN THE RATS SKIN AFFERENT FIBERS AT COMBINED INFLUENCE OF LOCAL TEMPERATURE AND PRESSURE

V.E. Divert

Spontaneous and caused by local temperature influences the impulse activity of skin sensors of outer coxofemoral area in rats is explored at various dosed pressures of thermode on the skin. It has been investigated that spontaneous afferent fibers' activity from an intact part of skin is very low. Changes of static activity and dynamic responses of dermal sensor controls to local temperature influences after the thermode is touched to skin correspond to characteristics of cold thermosensors. Maximal frequency rates of static and dynamic characteristics of dermal afferents from local temperature are observed at thermode temperatures close to natural temperature of skin, and they proportionally grow with the increase of thermode pressing force up to 30 g/sm^2 , and then go down. Possible mechanisms of modulating inf-

fluence of thermode pressure on temperature-dependent activity of dermal sensors are discussed.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Барина О.В., Зевеке А.В., Мальшиева Г.И.* // Сенсорные системы. 2000. № 3. С. 185–192.
1. *Диверт В.Э.* // Сенсорные системы. 2000. Т. 14. № 3. С. 194–203.
2. *Зевеке А.В.* Кодирование сенсорной информации в периферическом отделе кожного анализатора: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук в виде научн. доклада. Минск, 1991. 57 с.
3. *Иванов К.П.* Основы энергетики организма (теоретические и практические аспекты) Общая энергетика, теплообмен и терморегуляция. Л. 1990. Т. 1.
4. *Клейнбок И.Я.* Температурная чувствительность кожи животных и человека: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. Алма-Ата, 1990. 36 с.
5. *Козырева Т.В.* Терморепция при адаптации организма к холоду: Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук. СПб., 1991. 33 с.
6. *Минут-Сорохтина О.П.* Физиология терморепции. М., 1972. 227 с.
7. Словарь физиологических терминов / Отв. ред. О.Г. Газенко. М., 1987. 447 с.
8. *Iggo A.* // Rev. Neurol. Paris. 1985. Vol. 141. № 10. P. 599–613.
9. *Fromy B.* // Brain Res. Protocols. 2000. Vol. 5. P. 198–203.
10. *Gavrilov L. R., Tsiulnikov E. M., Davies I. A.* // Ultrasound Med. Biol. 1996. Vol. 22. № 2. P. 179–192.
11. *Hahn J.F.* // Exp. Neurol. 1971. Vol. 33. P. 607–617.
12. *Hensel H., Zotterman Y.* // J. Physiol. 1951. Vol. 115. P. 16–24.
13. *Hensel H.* Thermoreception and temperature regulation. // Monograph of the Physiological Society No. 38. London, New-York, Toronto, Sydney, San-Francisco, 1981. 321 p.
14. *Stauss H.M., Stegmann J.U., Persson P.B., Habler H.J.* // Am. J. Physiol. 1999. Vol. 277 (Regul. Integr. Comp. Physiol. 46). P. R591–R600.