

УДК 547.587.1:615.099

## НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КРЫС НА ФОНЕ ИНТОКСИКАЦИИ СУЛЬФАТОМ РТУТИ

Коренюк И.И., Шилина В.В., Хусаинов Д.Р.

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь,  
e-mail: langrevik@gmail.com*

В работе была изучена болевая чувствительности крыс после интоксикации их организма сульфатом ртути, а также изменение активности дофаминергической и серотонинергической систем мозга, участвующих в ее формировании. Определено, что блокирование  $D_2$ -рецепторов не вызывает достоверных изменений показателей болевой чувствительности у интоксигированных крыс, что указывает на отсутствие влияния дофаминергической системы в условиях интоксикации. Блокирование  $5HT_3$ -рецепторов вызывало нивелирование эффекта снижения болевой чувствительности интоксигированных крыс, что указывает на связь влияния сульфата ртути с серотонинергической системой мозга.

**Ключевые слова:** болевая чувствительность, сульфат ртути,  $D_2$ -рецепторы,  $5HT_3$ -рецепторы

## NEUROCHEMICAL MECHANISMS OF CHANGES OF PAIN SENSITIVITY AGAINST THE BACKGROUND OF MERCURY SULFATE INTOXICATION IN RATS

Korenyuk I.I., Shylina V.V., Khusainov D.R.

*Taurida National University Vernadsky, Simferopol, e-mail: langrevik@gmail.com*

There was studied the pain sensitivity in rats against the background mercury sulfate intoxication, as well as changes in the activity of dopaminergic and serotonergic systems of the brain involved in its formation. Determined that, blocking of  $D_2$ -receptors does not cause any change of pain sensitivity of poisoned rats, indicating no effect on the dopaminergic system in conditions of intoxication. Blocking of  $5HT_3$ -receptor cause elimination of reducing of pain sensitivity in rats against the background of mercury sulfate intoxication, indicating that the effect of mercury sulfate connect with the serotonin system of the brain.

**Keywords:** pain sensitivity, mercury sulfate,  $D_2$ -receptors,  $5HT_3$ -receptors

Важным сенсорным ощущением организма является боль, вызывающая ответную реакцию, направленную на предотвращение действия раздражителей способных привести к нарушению целостности клеток, тканей, органов [1, 2]. Интенсивность боли зависит как от силы раздражителя, так и от функционального состояния рецепторов, проводящих путей и центральной нервной системы [1]. Связующим звеном между восприятием и обработкой информации, как известно, являются нейромедиаторные системы, функционирование которых может нарушаться под воздействием внутренних и внешних факторов [1, 2]. Среди последних особого внимания заслуживают соединения тяжелых металлов, которыми вследствие нерационального природопользования загрязнены многие районы Украины [3]. Множество патологических процессов, в том числе и в нервной системе вызывают неорганические соединения ртути, так показана их способность нарушать функционирование многих белковых структур (ионных каналов, различных рецепторов и др.), что может отражаться на функциональной активности нейромедиаторных систем мозга [7]. Патологические

изменения под воздействием тяжелых металлов могут происходить на различных уровнях организации нервной системы, поэтому обоснованным было использование двух моделей оценки боли. В связи с этим целью данной работы было выяснить как изменяется функциональное состояние дофаминергической и серотонинергической систем мозга, участвующих в формировании электрической и температурной болевой чувствительности, после интоксикации организма крыс сульфатом ртути.

### Материалы и методы исследования

В исследовании было задействовано шесть групп белых беспородных крыс по 10 особей в каждой, масса особи составила 230–250 грамм. Контрольной группе вводили физиологический раствор – 0,2 мл, в таком же объеме экспериментальным животным внутрибрюшинно вводили разведенные в физиологическом растворе вещества. Для интоксикации крыс использовали сульфат ртути. Для изменения функциональной активности моноаминергических систем мозга вводили блокатор  $D_2$ -рецепторов галоперидол или блокатор  $5HT_3$ -рецепторов – осетрон. В зависимости от введенных веществ, каждая группа крыс получила условное обозначение, что отражено в таблице.

Изучение болевой чувствительности крыс при температурном воздействии определяли в тесте «горячая пластина» (Василенко А.М., 2003), где

измеряли латентный период болевой реакции (ЛПБР), индикатором которой служило облизывание лап. При определении электрической чувствительности использовали тест «электростимуляция» (Демин С.А., 2002), где определяли болевой порог (БП) – напряжение электрического тока, при котором у животных

наблюдалось вздрагивание или подпрыгивание. Изменение показателей оценивали в процентах от значений контрольной группы, принимаемых за 100%. Достоверность различий между группами определяли с помощью непараметрического критерия Манн-Уитни для независимых совокупностей.

Группы животных, дозы и продолжительность получаемых ими инъекций

Группы крыс	«Контроль»	«Hg»	«D <sub>2</sub> »	«Hg/D <sub>2</sub> »	«5HT <sub>3</sub> »	«Hg/5HT <sub>3</sub> »
Введенные вещества, их доза и период проведения инъекций	Физраствор 7 дней + 3 дня	HgSO <sub>4</sub> 20 мг/кг 7 дней + Физраствор 3 дня	Физраствор 7 дней + Галоперидол 2,5 мг/кг 3 дня	HgSO <sub>4</sub> 20 мг/кг 7 дней + Галоперидол 2,5 мг/кг 3 дня	Физраствор 7 дней + Осетрон 2,5 мг/кг 3 дня	HgSO <sub>4</sub> 20 мг/кг 7 дней + Осетрон 2,5 мг/кг 3 дня

Примечание. Общая длительности введения веществ каждой группе 10 дней

**Результаты исследования и их обсуждение**

Изменение показателей болевой чувствительности на фоне интоксикации сульфатом ртути. Сравнительный анализ экспериментальных данных показал, что после интоксикации крыс сульфатом ртути в тесте «горячая пластина» наблюдалось увеличение ЛПБР на 233% ( $p < 0,05$ ), а в тесте «электростимуляция» БП увеличивался на 72% ( $p < 0,01$ ) относительно контроля (рисунок). Из этого следует, что после интоксикации сульфатом ртути происходит снижение как температурной, так и электрической чувствительности крыс, что согласуется с имеющимися данными о снижении или даже потери болевой чувствительности у людей, подвергшихся воздействию неорганических солей ртути [8].

Для объяснения полученного эффекта, необходимо отметить, что вводимый сульфат ртути легко диссоциирует в физрастворе на два активных компонента – это анион сульфата и катион ртути. Поскольку способность сульфатного остатка проходить гематоэнцефалический барьер и оказывать влияние непосредственно на центральную нервную систему не установлена, мы не рассматриваем его как основную причину нарушения болевой чувствительности при интоксикации.

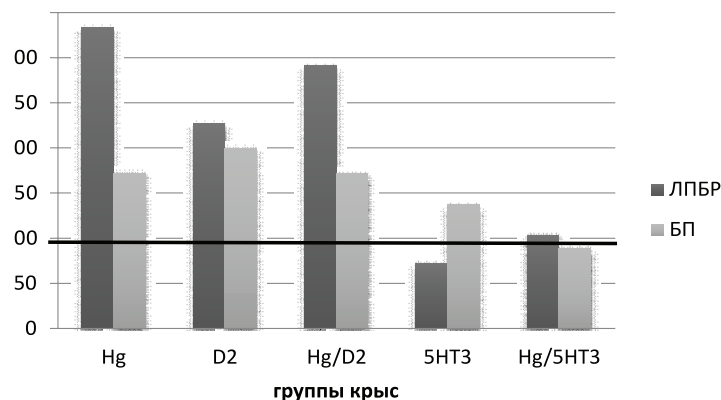
Относительно катиона ртути можно предположить, что именно его попадание в организм играет первостепенную роль в снижении болевой чувствительности. Во-первых, для ионов тяжелых металлов показана способность проходить гематоэнцефалический барьер и накапливаться в различных структурах центральной нервной системы [10]. Во-вторых, было установлено

несколько клеточных механизмов действия тяжелых металлов, затрагивающих функционирование нервной системы [7]. Так экспериментально было продемонстрировано снижение жизнеспособности тубулина в нейрофибриллах под воздействием ртути [9], что приводит к уничтожению конусов роста отростков нейронов, а, в итоге, к синаптической нейродегенерации. Другим механизмом является высокая заместительная способность тяжелых металлов относительно таких жизненно важных элементов, как цинк, магний, кальций [4]. Катионы этих металлов, в свою очередь, участвуют в процессах синаптической передачи (Ca<sup>2+</sup>) и регуляции функционирования различных ферментов (Mg<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>) [2, 4], нарушение же этих важных процессов под воздействием ионов ртути как на периферии, так и на спинальном или супраспинальном уровнях может приводить к изменению болевой чувствительности [2]. Еще одним важным механизмом является высокая степень сродства тяжелых металлов с –SH группами, –H<sup>+</sup> и с ионоселективными сайтами связывания белков, что приводит к нарушению их функций [5]. Одно из последних исследований показало, что представители тяжелых металлов способны замещать цинк в такой важной белковой структуре как «цинковый палец». На данном уровне негативное воздействие ртути проявляется посредством более сложных процессов таких, как изменение экспрессии белков (рецепторов, ионных каналов, медиаторов) [7].

Сравнение показателей болевой чувствительности крыс в норме и при интоксикации сульфатом ртути на фоне блокады D<sub>2</sub>-рецепторов галоперидолом. При анализе данных установлено, что у крыс

группы «D<sub>2</sub>» (см. рисунок) наблюдалось увеличение ЛПБР на 127% ( $p < 0,01$ ), а также БП на 100% ( $p < 0,05$ ) относительно контроля. Полученные данные указывают на то, что изменение функционального состояния дофаминергической системы приводит к снижению болевой чувствительности, как при термическом, так и при

электрическом раздражении. Этот факт говорит о немаловажной роли данной системы в регуляции болевых сигналов, что согласуется с результатами некоторых исследователей об усилении анальгезии при кратковременном болевом раздражении в условиях блокирования дофаминергических рецепторов [1].



*Изменение показателей латентного периода болевой реакции (ЛПБР) и болевого порога (БП). Примечание: данные выражены в процентах, за 100% принят контроль. «\*» ( $p < 0,05$ ), «\*\*» ( $p < 0,01$ ).*

Группы крыс: «Hg» – после интоксикации сульфатом ртути, «D2» и «5HT<sub>3</sub>» – после блокирования D<sub>2</sub>- и 5HT<sub>3</sub>-рецепторов соответственно, «Hg/D2» и «Hg/5HT<sub>3</sub>» – после интоксикации сульфатом ртути и блокировании D<sub>2</sub>- и 5HT<sub>3</sub>-рецепторов соответственно

Исследование болевой чувствительности у интоксигированных крыс после блокирования D<sub>2</sub>-рецепторов показало увеличение ЛПБР на 127% ( $p < 0,01$ ), а также БП на 72% ( $p < 0,01$ ) относительно контроля (см. рис. группа «Hg/D<sub>2</sub>»). В тоже время необходимо отметить, что не было выявлено достоверных отличий между показателями крыс групп «Hg/D<sub>2</sub>» и «Hg», что указывает на отсутствие влияния блокирования D<sub>2</sub>-рецепторов в условиях интоксикации. В силу того, что в норме изменение функционального состояния дофаминергической системы имело существенное влияние на формирование болевой чувствительности, мы полагаем, что поступление в организм сульфата ртути провоцирует нарушение функционирования этой моноаминергической системы.

*Сравнение показателей болевой чувствительности крыс в норме и при интоксикации сульфатом ртути на фоне блокады 5HT<sub>3</sub>-рецепторов остроном.* После блокирования рецепторов серотонинергической системы у неинтоксигированных крыс про-

являлась тенденция к усилению болевой чувствительности при термораздражении (рисунок), а в тесте «электростимуляция» у крыс этой группы наблюдалось увеличение БП на 37% ( $p < 0,05$ ) относительно «контроля». Полученные экспериментальные данные свидетельствуют, что при блокаде 5HT<sub>3</sub>-рецепторов наблюдается определенная избирательность в изменении показателей болевой чувствительности крыс, т.е. в норме серотонинергическая система мозга принимает участие в контроле болевых сигналов при электрораздражении и практически не имеет значения при термораздражении. Необходимо отметить, что роль серотонинергической системы в формировании болевой чувствительности также значительно ниже, чем дофаминергической.

Интересным оказался тот факт, что у интоксигированных крыс после блокирования 5HT<sub>3</sub>-рецепторов (см. рис. группа «Hg/5HT<sub>3</sub>») показатели болевой чувствительности не отличались от «контроля». В свою очередь, показатели группы «Hg» имели достоверно высокие значения, т.е. блокирование 5HT<sub>3</sub>-рецепторов вызывало нивелирование эффекта сульфата ртути, вероятно, повышение показателя ЛПБР на фоне интоксикации крыс связано с рецепторами серотонинергической системы. Относительно изменений БП, мы также предполагаем, что при интоксикации

организма происходит изменение функциональной активности серотонинергической системы, т.к. и в этом случае блокада 5HT<sub>3</sub>-рецепторов вызывает снижение показателя до уровня контроля.

Итак, блокирование рецепторов дофаминергической и серотонинергической систем вызывало различные эффекты у интоксцированных и интоксцированных крыс, что свидетельствует о нарушении функционирования моноаминергических систем связанных с формированием как термической, так и электрической болевой чувствительности под воздействием катионов ртути. Клеточные механизмы лежащие в основе данных изменений, вполне очевидно, не связано с дегенерацией конусов роста нейронов, т.к. после блокирования рецепторов серотонинергической системы наблюдалось восстановление значений контроля. Вероятно, снижение термо- и электрочувствительности на фоне интоксикации крыс сульфатом ртути, связано с нарушением функционирования компонентов моноаминергических систем. Во-первых, возможно изменение функционирования самих моноаминергических рецепторов, как это было показано для NMDA- и мускриновых рецепторов [5, 6]. Во-вторых, известно, что функционирование нейромедиаторных систем сопряжено с процессами обмена катионов [1, 2]. Учитывая, что активация кальциевых каналов терминальных С-волокон и спинальных нейронов играет важную роль в ноцицепции, замещение ртутью кальция может тормозить работу этой системы, а соответственно влиять на болевую чувствительность [2, 4]. Очевидно, данные нарушения не встречаются по отдельности, и механизмы негативного действия ртути являются комплексными, что согласуется с мнением авторов, специализирующихся по данной проблеме [7, 10].

### Выводы

1. На фоне интоксикации сульфатом ртути у крыс наблюдается существенное снижение болевой чувствительности.

2. У крыс без интоксикации дофаминергическая система играет важную роль в формировании болевой чувствительности, как при термическом, так и при электрическом раздражении, а серотонинергическая система мозга принимает участие в контроле болевых сигналов при электро-раздражении.

3. При интоксикации организма крыс сульфатом ртути происходит изменение функциональной активности дофаминергической и серотонинергической систем, так показатели болевой чувствительности у интоксцированных крыс после блокирование D<sub>2</sub>-рецепторов не изменяются, а после блокирование 5HT<sub>3</sub>-рецепторов снижаются до уровня контроля.

### Список литературы

1. Владыка А.С. Ноцицепция и антиноцицепция: теория и практика / А.С. Владыка, А.А. Шандра, Р.Е. Хома, В.М. Воронцов. – Винница: ФОП «Каштелянов А.И.», 2012. – 176 с.
2. Осипова Н.А. Системная анальгезия: периферические и центральные мишени // Инфекции и антимикробная терапия. – 2005. – Т. 7. (4). – С. 151–158.
3. Трахтенберг И.М. Тяжелые металлы во внешней среде: Современные гигиенические и токсикологические аспекты / И.М. Трахтенберг, В.С. Колесников, В.П. Луковенко. – Минск: Наука и техника, 1994. – 285 с.
4. Bridges C.C. Molecular and ionic mimicry and the transport of toxic metal / C.C. Bridges, R.K. Zalups // Toxicol Appl Pharmacol. – 2005. – Vol. 204. – P. 274–308.
5. Clarkson Th.W. The Toxicology of Mercury – Current Exposures and Clinical Manifestations / Th.W. Clarkson, L. Magos, G.J. Myers // N engl j med. – 2003. – Vol. 349. – P. 1731–1737.
6. Castoldi A.F. Interaction of mercury compounds with muscarinic receptor subtypes in the rat brain / A.F. Castoldi, S.M. Candura, F. Costa, L. Manzo, L.G. Costa // NeuroToxicol. – 1996. – Vol. 17. – P. 735–741.
7. Duruibe J.O. Heavy metal pollution and human biotoxic effects / J.O. Duruibe, M.O. Ogwuegbu, J.N. Egwurugwu // Int jour of phys sci. – 2007. – Vol. 2. (5). – P. 112–118.
8. Fix A.S. Mercury neurotoxicity in rats and humans emphasizes current trends in neurotoxicology / A.S. Fix, J.F. Ross // Toxicol Pathol. – 1997. – Vol. 25 (6). – P. 632–634.
9. Leong C.C.W. Retrograde degeneration of neurite membrane structural integrity of nerve growth cones following in vitro exposure to mercury / C.C.W. Leong, N.I. Syed, F.L. Lorscheider // NeuroReport. – 2001. – Vol. 12 (4). – P. 733–737.
10. Moller-Madsen B. Localization of mercury in the CNS of rats: mercuric chloride per os / B. Moller-Madsen, G. Danscher // Environ. Res. – 1986. – Vol. 41. – P. 29–43.