



УДК 612.336+612.82+616-009.021.1

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-1-71-78>

Нейрональные перестройки на супраспинальном уровне, способствующие кишечной гипералгезии при колите

О. А. Любашина^{✉1}, А. А. Михалкин¹, И. Б. Сиваченко¹

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

Сведения об авторах

Ольга Анатольевна Любашина,
SPIN-код: 5257-4057,
Scopus AuthorID: 6505777191,
ORCID: 0000-0002-6296-4628,
e-mail: lyubashinaoa@infran.ru

Александр Александрович
Михалкин,
SPIN-код: 9942-9379,
Scopus AuthorID: 55210047400,
ORCID: 0000-0003-2342-6357,
e-mail: mikhalkin@infran.ru

Иван Борисович Сиваченко,
SPIN-код: 4049-8950,
Scopus AuthorID: 55882139900,
ORCID: 0000-0001-8548-8823,
e-mail: AVANS_d@mail.ru

Для цитирования:

Любашина, О. А.,
Михалкин, А. А., Сиваченко, И. Б.
(2021) Нейрональные перестройки на супраспинальном уровне, способствующие кишечной гипералгезии при колите. *Интегративная физиология*, т. 2, № 1, с. 71–78.
<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-1-71-78>

Получена 27 января 2021; прошла рецензирование 21 февраля 2021; принята 21 февраля 2021.

Финансирование: Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 18-015-00055) и Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013–2020 годы (ГП-14, раздел 64).

Права: © Авторы (2021). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Воспалительные заболевания кишечника (болезнь Крона, язвенный колит) характеризуются хронической абдоминальной болью, которая продолжает беспокоить пациентов даже в период ремиссии. Полагают, что основной причиной такой боли является кишечная гипералгезия, развивающаяся вследствие вызванных периферическим воспалением нарушений в центральных, в частности супраспинальных, механизмах контроля болевой информации от толстой кишки. Однако какие именно структуры головного мозга и каким образом вовлечены в этот процесс, остается неясным. Поэтому целью нашего исследования было определение ассоциированных с колитом изменений в нейрональных свойствах супраспинальных структур, которые могут способствовать развитию кишечной гипералгезии. Работа выполнена на анестезированных уретаном самцах крыс линии Вистар. С помощью иммуногистохимического метода определения экспрессии c-fos белков и микроэлектродной нейрофизиологической техники оценивали нейрональную активность структур головного мозга у здоровых животных и крыс с колитом, вызванным трансректальным введением пикрилсульфониевой кислоты. Кишечное воспаление сопровождалось усилением базальной и вызванной ноцицептивным колоректальным растяжением (КРР) c-fos-синтезирующей активности в каудальной вентролатеральной ретикулярной области продолговатого мозга (ВЛРО), ядре одиночного тракта (ЯОТ), парабрахияльном комплексе моста и голубом пятне. В этих условиях c-fos-позитивные клетки дорсального ядра шва были индифферентными к КРР, а ноцицептивная c-fos-синтезирующая активность центрального серого вещества среднего мозга (ЦСВ) была существенно снижена по сравнению с таковой в норме. Микроэлектродное исследование ствола мозга у крыс с колитом выявило усиление вызванного КРР нейронального возбуждения в ВЛРО и ЯОТ при уменьшении доли отвечающих на кишечную стимуляцию нервных клеток в ЦСВ. Ассоциированные с кишечным воспалением сенситизация висцеросенсорных стволовых структур и параллельное снижение уровня возбудимости ключевых образований эндогенной антиноцицептивной системы мозга могут облегчать восходящее проведение висцеральных болевых сигналов, т. е. способствовать кишечной гипералгезии.

Ключевые слова: кишечное воспаление, структуры ствола мозга, экспрессия c-fos белков, нейрональная активность, колоректальное растяжение, кишечная гипералгезия, абдоминальная боль.

Supraspinal neuronal alterations promoting intestinal hyperalgesia in colitis

O. A. Lyubashina^{✉1}, A. A. Mikhalkin¹, I. B. Sivachenko¹

¹ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, 6 Makarova Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

Authors

Olga A. Lyubashina,
SPIN: 5257-4057,
Scopus AuthorID: 6505777191,
ORCID: 0000-0002-6296-4628,
e-mail: lyubashinaoa@infran.ru

Aleksandr A. Mikhalkin,
SPIN: 9942-9379,
Scopus AuthorID: 55210047400,
ORCID: 0000-0003-2342-6357,
e-mail: mikhalkin@infran.ru

Ivan B. Sivachenko,
SPIN: 4049-8950,
Scopus AuthorID: 55882139900,
ORCID: 0000-0001-8548-8823,
e-mail: AVANS_d@mail.ru

For citation:

Lyubashina, O. A., Mikhalkin, A. A., Sivachenko, I. B. (2021) Supraspinal neuronal alterations promoting intestinal hyperalgesia in colitis. *Integrative Physiology*, vol. 2, no. 1, pp. 71–78. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-1-71-78>

Received 27 January 2021;
reviewed 21 February 2021;
accepted 21 February 2021.

Funding: This study was supported the Russian Foundation for Basic Research (no. 18-015-00055) and the Program for Basic Scientific Research of State Academies for 2013-2020 (GP-14, section 64).

Copyright: © The Authors (2021).
Published by Herzen State
Pedagogical University of Russia.
Open access under [CC BY-NC](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)
License 4.0.

Abstract. Inflammatory bowel diseases (Crohn's disease, ulcerative colitis) are characterized by chronic abdominal pain that persists even in the disease remission. The main cause of such pain is believed to be intestinal hyperalgesia, which develops as a result of the peripheral inflammation-induced impairments in the central, in particular, supraspinal mechanisms controlling visceral nociception. However, which brain structures and neuronal events are involved in the process remains unclear. Our study was aimed to determine the colitis-associated changes in neuronal properties of supraspinal structures, which can underlie development of intestinal hyperalgesia. The work was performed on urethane anesthetized male Wistar rats. Neuronal activity in various brain areas was assessed in healthy animals and rats with trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitis by using the immunohistochemical method of determining c-fos protein expression and the microelectrode technique. Intestinal inflammation was accompanied by increased basal and nociceptive colorectal distension (CRD)-caused c-fos production in the caudal ventrolateral medulla (CVLM), nucleus tractus solitarius (NTS), parabrachial complex, and locus coeruleus. Under colitis, neuronal c-fos expression in the dorsal raphe nucleus was indifferent to CRD, whereas nociceptive c-fos activation in the midbrain central gray (MCG) was significantly reduced compared to that in norm. The microelectrode study in inflamed rats revealed an increase in the CRD-induced CVLM and NTS neuronal excitation and a decrease in the proportion of CRD-responsive MCG cells. The observed colitis-associated sensitization of the viscerosensory brainstem areas with a simultaneous decrease in excitability of the key structures belonging to the brain antinociceptive system can facilitate ascending visceral pain transmission, promoting intestinal hyperalgesia.

Keywords: intestinal inflammation, brainstem structures, c-fos expression, neuronal activity, colorectal distension, intestinal hyperalgesia, abdominal pain.

Введение

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), к которым относятся болезнь Крона и язвенный колит, характеризуются хронической абдоминальной болью, которая продолжает беспокоить пациентов даже в период ремиссии, при отсутствии выраженного органического воспаления (Bielefeldt et al. 2009; Ceuleers et al. 2016). Согласно современным представлениям основной причиной такой боли является кишечная гипералгезия, т. е. повышенная воспри-

имчивость к внутрикишечным болевым стимулам (Ceuleers et al. 2016; Farmer, Aziz 2013). Полагают, что ведущую роль в развитии последней играют вызванные периферической патологией изменения в центральных механизмах контроля висцеральной болевой информации, которые могут сохраняться длительное время после нормализации состояния кишки (Moshiree et al. 2006; Siegel, MacDermott 2009). К настоящему времени детально изучены ассоциированные с кишечным воспалением нейрональные перестройки на спинальном уровне

(Farrell et al. 2014; Lu et al. 2017; Lu, Westlund 2001). Между тем усиление или возникновение абдоминальной боли у индивидуумов с ВЗК в условиях психологического стресса, тревоги или депрессии указывает на немаловажную роль в патогенезе кишечной гипералгезии супраспинальных механизмов (Bhamre et al. 2018; Greenwood-Van Meerveld, Johnson 2018). Однако последние до сих пор остаются малоизученными, что существенно сдерживает разработку эффективных методов лечения хронических абдоминальных болевых синдромов при ВЗК. Поэтому целью нашего исследования, выполненного на крысах с использованием иммуногистохимического и нейрофизиологического методов, являлось определение ассоциированных с колитом изменений в нейрональных свойствах супраспинальных структур, которые могут способствовать развитию кишечной гипералгезии.

Материалы и методы

Исследование выполнено на анестезированных уретаном (Sigma-Aldrich, США; 1,5 мг/кг, внутривенно) взрослых самцах крыс линии Вистар (Коллекция лабораторных млекопитающих разной таксономической принадлежности Института физиологии им. И. П. Павлова РАН). Для инициации абдоминальной ноцицепции использовали механическое растяжение коло ректальной области толстой кишки. Колоректальное растяжение (КРР) осуществляли в течение 60 секунд посредством раздувания воздухом (до давления 80 мм рт. ст.) интравенально введенного резинового баллона автоматическим шприцевым насосом ДШ-09 (Висма-Планар, Беларусь). Экспериментальный колит вызывали по методу Дж. Морриса с соавторами (Morris et al. 1989) посредством трансректального введения в толстую кишку спиртового раствора пикрилсульфониевой кислоты (TNBS, Sigma-Aldrich, США; 20 мг в 0,25 мл 50% этанола).

Имуногистохимическая часть исследования выполнена на четырех группах крыс по трое животных в каждой: 1) норма контроль (здоровые, без болевой стимуляции), 2) норма КРР, 3) колит контроль (с колитом, без болевой стимуляции), 4) колит КРР. Животным контрольных групп осуществляли трансректальное введение резинового баллона, оставляли его в толстой кишке на 60 минут, но КРР не производили. В группах со стимуляцией 60-секундное КРР осуществляли 12 раз с 4-минутным интервалом (общее время процедуры — 60 минут). Сразу после завершения контрольных и стимуляци-

онных процедур крыс транскардиально перфузировали последовательно 0,9% физиологическим раствором и 4% раствором параформальдегида в 0,01 М фосфатном буфере (ФБ, БиолоТ, Россия; рН 7.4). Головной мозг после извлечения выдерживали в 20% и 30% растворах сахарозы в 0,01 М ФБ (4 °С) и на замораживающем микротоме (Reichert, Германия) изготавливали фронтальные срезы через области исследуемых структур толщиной 40 мкм. Для визуализации нейронов с с-fos-синтезирующими ядрами срезы подвергали иммуногистохимической обработке по авидин-биотин-пероксидазному методу с использованием первичных поликлональных антител к с-fos (ABE457, Sigma-Aldrich, США; разведение 1:10000) и вторичных биотинилированных антител (goat anti-rabbit IgG, PK-4001 kit, Vector Laboratories, США; разведение 1:600). После инкубирования в авидин-биотин-пероксидазном комплексе (PK-4001 kit, Vector Laboratories, США) срезы выдерживали в хромогенсодержащем растворе диаминобензидина, никеля и перекиси водорода. Цифровые изображения готовых препаратов получали в светлом поле светового микроскопа Olympus CX41 (Olympus Corporation, Япония), оснащенного видеокамерой Nikon (Nikon Corporation, Япония). Далее с помощью программного пакета «Cell Annotation Software» (Nurzynska et al. 2017) в пределах исследуемых структур определяли количество и реферированную к фону оптическую плотность с-fos-позитивных клеточных ядер. Далее оценивали средние значения этих показателей на срез в разных образованиях мозга у разных групп животных.

Нейрофизиологическая часть работы выполнена на двух группах крыс — здоровых и с колитом (по 30 животных в каждой группе). Голову анестезированного животного закрепляли в стереотаксическом приборе и хирургическим путем обеспечивали доступ к дорсальной поверхности продолговатого или среднего мозга. Для внеклеточной регистрации активности нейронов в исследуемых структурах использовали вольфрамовые микроэлектроды с кончиком 1 мкм и сопротивлением 1 Мом (Science Products GmbH, Германия), которые перемещали в пределах стереотаксических координат данной области (Paxinos, Watson 1998) с помощью микроманипулятора (МП-2, Россия). После усиления (DAM 80; World Precision Instruments, США) сигнал подавали на вход звуковой карты компьютера, визуализировали и сохраняли с помощью программы Audition 3 (Adobe Corp, США). Регистрацию нейрональной активности производили на 3-минутном интервале (1 мин до,

1 мин во время и 1 мин после КРР). Последующую селекцию нейрональных разрядов по форме выполняли с помощью программы Spike 2 (CED, Великобритания). Для разных импульсных потоков определяли среднюю частоту разрядов на минутных отрезках, указанных выше.

Статистическую обработку, сравнение и графическое оформление данных, полученных в обеих экспериментальных сериях на разных группах животных, производили с помощью программного пакета Origin 8 (OriginLab Corp, США) с применением парных и непарных непараметрических тестов.

Результаты и обсуждение

Как показали иммуногистохимические исследования, у здоровых крыс болевое растяжение толстой кишки вызывает существенное по сравнению с контрольной группой увеличе-

ние количества c-fos-позитивных нейронов, т. е. нейрональную активацию, в каудальной вентро-латеральной ретикулярной области продолговатого мозга (ВАРО, рис. 1А), ядре одиночного тракта (ЯОТ, рис. 1В), парабрахиальном комплексе моста (рис. 1С), голубом пятне (рис. 1D), дорсальном ядре шва (рис. 1Е) и центральном сером веществе среднего мозга (ЦСВ, рис. 1F). Статистически значимых различий по вызванной КРР c-fos-синтезирующей активности в указанных структурах между левой и правой сторонами мозга обнаружено не было (для всех структур $p > 0,05$, парный тест Вилкоксона). В парабрахиальном комплексе наиболее реактивной к стимуляции была его медиальная часть, в ЦСВ — латеральная и вентролатеральная колонки. Существенное по сравнению с контролем увеличение оптической плотности иммунопозитивных клеточных ядер после

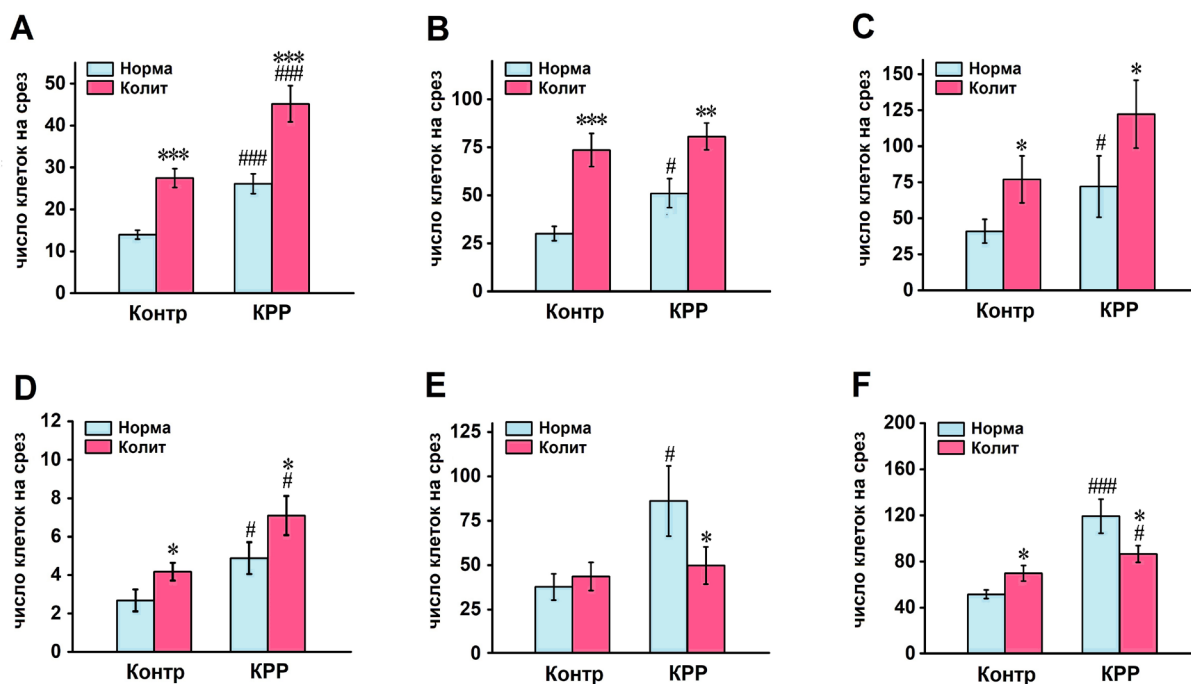


Рис. 1. Количество c-fos-позитивных нейронов в вентролатеральной ретикулярной области продолговатого мозга (А), ядре одиночного тракта (В), парабрахиальном комплексе моста (С), голубом пятне (D), в дорсальном ядре шва (Е) и центральном сером веществе среднего мозга (F) без стимуляции (Контр) и после колоректального растяжения (КРР) у здоровых крыс (Норма) и у животных с колитом (Колит). Показаны средние значения и их стандартные ошибки. Значимые различия (тест Манна — Уитни): # $p < 0,05$ и ### $p < 0,001$ — по сравнению с контролем; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ и *** $p < 0,001$ — по сравнению с нормой

Fig. 1. Numbers of c-fos-positive neurons within the caudal ventrolateral medulla (A), nucleus tractus solitarii (B), parabrachial complex (C), locus coeruleus (D), dorsal raphe nucleus (E), and midbrain central gray (F) without stimulation (Control) and after colorectal distension (CRD) in healthy (Norm) and colitic rats (Colitis). The mean values and their standard errors are shown. Significant differences (Mann — Whitney test): # $p < 0.05$ and ### $p < 0.001$, in comparison to the control; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$, in comparison to the norm

КРР наблюдалось только в латеральной части ЯОТ ($p = 0,04$, $U = 103$, тест Манна — Уитни).

У животных с экспериментальным колитом, подтвержденным визуальным и микроскопическим анализом толстой кишки, было отмечено существенное по сравнению с нормой усиление как фоновой (в отсутствие болевой стимуляции), так и вызванной КРР *c-fos*-синтезирующей активности в обеспечивающих висцеросенсорную трансмиссию каудальной ВЛРО (рис. 1А), ЯОТ (рис. 1В) и парабрахиальном комплексе моста (рис. 1С), а также в норадренергическом голубом пятне (рис. 1D). При этом было отмечено также увеличение оптической плотности иммунопозитивных клеточных ядер в ВЛРО ($p = 0,005$, $U = 808$, тест Манна — Уитни) и ЯОТ ($p < 0,0001$, $U = 502$). Эти изменения свидетельствуют о вызванных патологией повышении общего уровня нейрональной возбудимости указанных структур и усилении их реактивности к абдоминальным болевым сигналам, т. е. о развитии в них сенситизации. Между тем дорсальное ядро шва в условиях кишечного воспаления не проявляло каких-либо выраженных изменений в количестве *c-fos*-позитивных клеток в покое и не реагировало на болевое КРР (рис. 1Е). В свою очередь, в ЦСВ среднего мозга, демонстрирующем ассоциированное с колитом усиление базальной нейрональной экспрессии *c-fos*, увеличение последней после КРР было менее выражено, чем в норме (рис. 1F), что может указывать на снижение ноцицептивной чувствительности этой структуры.

В нейрофизиологических экспериментах в каудальной ВЛРО и медиальной части ЯОТ продолговатого мозга у здоровых крыс и животных с колитом были обнаружены три популяции нейронов, которые во время ноцицептивного КРР демонстрировали усиление, торможение импульсной активности или отсутствие выраженной реакции соответственно. Сходные три группы нейронов были зарегистрированы в вентролатеральной колонке ЦСВ среднего мозга. Среди КРР-реактивных нейронов в ВЛРО преобладали клетки с возбуждающими ответами на КРР (рис. 2А), тогда как в ЯОТ нейроны чаще демонстрировали тормозные реакции на раздражение (рис. 2В). Эти статистически значимые различия ($p = 0,002$, точный тест Фишера) могут свидетельствовать об исходно разном вкладе этих структур в контроль висцеральной ноцицепции. В свою очередь, в ЦСВ здоровых животных преобладали клетки с возбуждающими ответами на КРР, хотя тормозящиеся нейроны тоже составляли значительную по численности популяцию (рис. 2С).

У крыс с колитом в изученных бульбарных структурах преобладали возбуждающиеся в ответ на КРР нейроны при существенно сниженной по сравнению с нормой доле тормозящихся клеток в ВЛРО (рис. 2А) и меньшем числе индифферентных к висцеральной ноцицепции нейронов в ЯОТ (рис. 2В). При этом в обеих областях было отмечено значительное усиление возбуждающих нейрональных реакций на кишечную стимуляцию, что не было характерным для тормозных ответов (рис. 2D, E). Эти нейрональные перестройки свидетельствуют о вовлечении ВЛРО и ЯОТ в усиленную возбуждающую висцеральную ноцицептивную трансмиссию при колите. Напротив, в ЦСВ среднего мозга при кишечной патологии было зарегистрировано сниженное по сравнению с нормой количество возбуждающихся и тормозящихся клеток при значительно превосходящей доле индифферентных к КРР нейронов (рис. 2С). Параллельно ЦСВ животных с колитом демонстрировало усиление возбуждающих и ослабление тормозных изменений в импульсной активности при болевом раздражении кишки (рис. 2F). Эти данные дополняют результаты иммуногистохимических экспериментов и являются доказательством нарушений нейрональных процессов в ЦСВ при кишечной патологии.

В целом полученные нами иммуногистохимические данные согласуются с результатами ранее проведенных исследований, продемонстрировавших увеличение количества *c-fos*-иммунопозитивных нейронов в изученных структурах ствола мозга после болевого растяжения толстой кишки (Lyubashina et al. 2012; Mönnikes et al. 2003; Panteleev et al. 2013; Wang et al. 2009). Также они соответствуют данным других авторов, которые установили ассоциированное с колитом усиление фоновой (базальной) экспрессии *c-fos* белков в ЦСВ среднего мозга, парабрахиальном комплексе моста, голубом пятне, ЯОТ и каудальной ВЛРО продолговатого мозга (Goehler et al. 2005; Lu, Westlund 2001; Porcher et al. 2004; Zhang et al. 2014). Вместе с тем в нашей работе впервые обнаружены вызванные кишечной патологией изменения в уровне *c-fos*-позитивной реактивности этих структур к висцеральным болевым сигналам.

В свою очередь, полученные нами нейрофизиологические данные о существовании в висцеросенсорных областях продолговатого мозга групп нейронов, различающихся по характеру ответа на болевое колоректальное растяжение, согласуются с результатами других исследований, продемонстрировавших такие же популяции нервных клеток в каудальной ВЛРО (Lyubashina

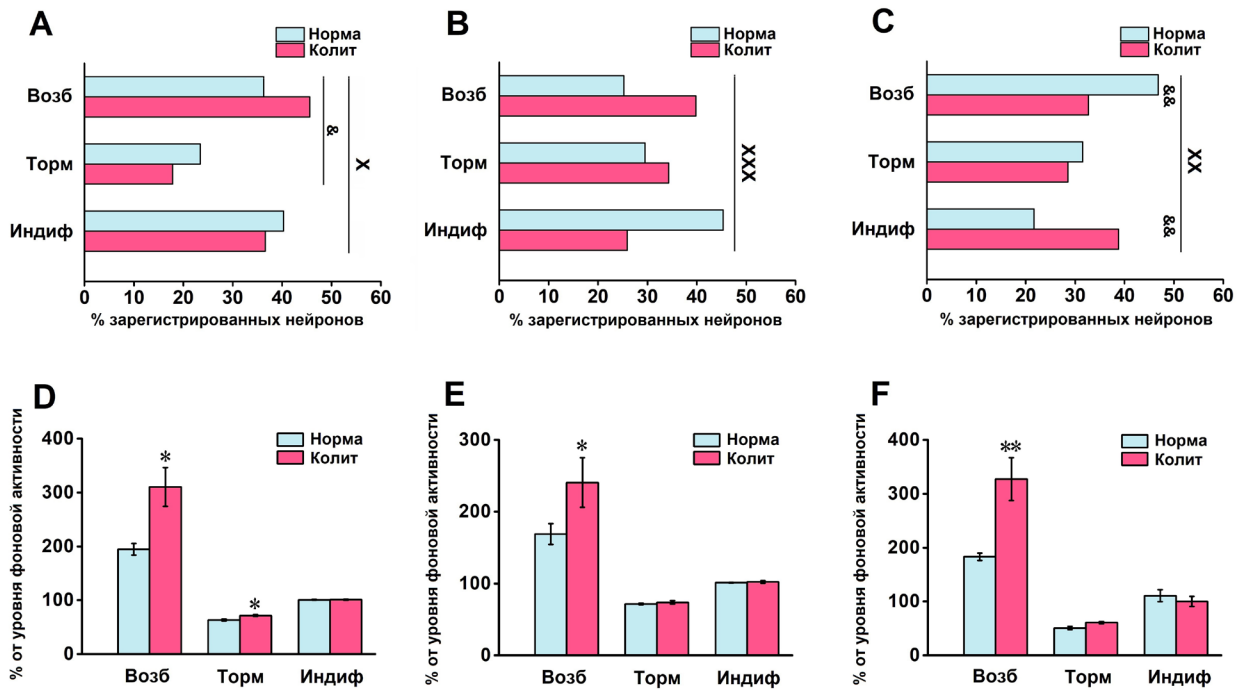


Рис. 2. Процентное соотношение возбуждающихся (Возб), тормозящихся (Торм) в ответ на колоректальное растяжение и индифферентных к нему (Индиф) нейронов (верхние графики) и амплитуда их ноцицептивных реакций (нижние графики) в вентролатеральной ретикулярной области продолговатого мозга (А, D), ядре одиночного тракта (В, Е) и центральном сером веществе среднего мозга (С, F) у здоровых животных (Норма) и крыс с колитом (Колит). На фрагментах А–С значимые различия между нормой и колитом: ^x $p < 0,05$, ^{xx} $p < 0,01$ и ^{xxx} $p < 0,001$ — для всех типов нейронов (тест Хи-квадрат); ^{*} $p < 0,05$ и ^{&&} $p < 0,01$ — для двух типов (точный тест Фишера). На фрагментах D–F значимые различия со значением в норме (тест Манна — Уитни): ^{*} $p < 0,05$ и ^{**} $p < 0,01$; показаны средние значения и их стандартные ошибки

Fig. 2. Percentages of neurons exhibiting excitatory (Возб), inhibitory (Торм), or no response (Индиф) to colorectal distension (upper graphs) and magnitudes of their nociceptive responses (bottom graphs) in the caudal ventrolateral medulla (A, D), nucleus tractus solitarius (B, E), and midbrain central gray (C, F) in healthy (Норма) and colitic rats (Колит). In A–C, significant differences between the norm and colitis: ^x $p < 0.05$, ^{xx} $p < 0.01$ и ^{xxx} $p < 0.001$, for all neuronal types (Chi-square test); ^{*} $p < 0.05$ и ^{&&} $p < 0.01$, for two types (Fisher's exact test). In D–F, significant differences between the norm and colitis (Mann — Whitney test): ^{*} $p < 0.05$ и ^{**} $p < 0.01$; the mean values and their standard errors are shown

et al. 2016; Ness et al. 1998; Pinto-Ribeiro et al. 2011) и ЯОТ (Liu et al. 2014; Panteleev et al. 2021). Однако мы впервые обнаружили сходные по реакциям на висцеральную боль группы нейронов в ЦСВ среднего мозга и показали, что при кишечном воспалении соотношение и функциональные характеристики таких нейронных групп не только в бульбарных структурах, но и на среднемозговом уровне претерпевают существенные изменения. Имеющиеся к настоящему времени сведения позволяют полагать, что выявленные нами перестройки в ноцицептивных свойствах ЯОТ и ЦСВ могут быть связаны с индуцированными висцеральной патологией нарушениями локальной глутаматергической нейротрансмиссии в этих структурах (Bai et al. 2019; Ko et al. 2020).

Таким образом, проведенные исследования впервые продемонстрировали ассоциированное с колитом усиление ноцицептивной активации висцеросенсорных стволовых структур и нейронов норадренергического голубого пятна с параллельным ослаблением реактивности к абдоминальной боли таких ключевых образований эндогенной антиноцицептивной системы, как серотонинергическое дорсальное ядро шва и центральное серое вещество среднего мозга. В своей совокупности выявленные на супраспинальном уровне изменения могут способствовать облегчению проведения висцеральных болевых сигналов к вышележащим структурам мозга, т. е. лежать в основе патогенеза кишечной гиперчувствительности и хронической абдоминальной боли.

References

- Bai, Y., Chen, Y.-B., Qiu, X.-T. et al. (2019) Nucleus tractus solitarius mediates hyperalgesia induced by chronic pancreatitis in rats. *World Journal of Gastroenterology*, vol. 25, no. 40, pp. 6077–6093. <https://www.doi.org/10.3748/wjg.v25.i40.6077> (In English)
- Bielefeldt, K., Davis, B., Binion, D. G. (2009) Pain and inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, vol. 15, no. 5, pp. 778–788. <https://www.doi.org/10.1002/ibd.20848> (In English)
- Bhamre, R., Sawrav, S., Adarkar, S. et al. (2018) Psychiatric comorbidities in patients with inflammatory bowel disease. *Indian Journal of Gastroenterology*, vol. 37, no. 4, pp. 307–312. <https://www.doi.org/10.1007/s12664-018-0870-9> (In English)
- Ceuleers, H., van Spaendonk, H., Hanning, N. et al. (2016) Visceral hypersensitivity in inflammatory bowel diseases and irritable bowel syndrome: The role of proteases. *World Journal of Gastroenterology*, vol. 22, no. 47, pp. 10275–10286. <https://www.doi.org/10.3748/wjg.v22.i47.10275> (In English)
- Farmer, A. D., Aziz, Q. (2013) Gut pain & visceral hypersensitivity. *British Journal of Pain*, vol. 7, no. 1, pp. 39–47. <https://www.doi.org/10.1177/2049463713479229> (In English)
- Farrell, K., Sci, B. B., Keely, S. et al. (2014) A systematic review of the evidence for central nervous system plasticity in animal models of inflammatory-mediated gastrointestinal pain. *Inflammatory Bowel Diseases*, vol. 20, no. 1, pp. 176–195. <https://www.doi.org/10.1097/01.MIB.0000437499.52922.b1> (In English)
- Goehler, L. E., Gaykema, R. P., Opitz, N. et al. (2005) Activation in vagal afferents and central autonomic pathways: Early responses to intestinal infection with *Campylobacter jejuni*. *Brain, Behavior, and Immunity*, vol. 19, no. 4, pp. 334–344. <https://www.doi.org/10.1016/j.bbi.2004.09.002> (In English)
- Greenwood-Van Meerveld, B. G., Johnson, A. C. (2018) Mechanisms of stress-induced visceral pain. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, vol. 24, no. 1, pp. 7–18. <https://www.doi.org/10.5056/jnm17137> (In English)
- Ko, C.-Y., Yang, Y.-B., Chou, D., Xu, J.-H. (2020) The ventrolateral periaqueductal gray contributes to depressive-like behaviors in recovery of inflammatory bowel disease rat model. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 14, article 254. <https://www.doi.org/10.3389/fnins.2020.00254> (In English)
- Liu, K., Gao, X.-Y., Li, L. et al. (2014) Neurons in the nucleus tractus solitarius mediate the acupuncture analgesia in visceral pain rats. *Autonomic Neuroscience*, vol. 186, pp. 91–94. <https://www.doi.org/10.1016/j.autneu.2014.08.004> (In English)
- Lu, Y., Jiang, B.-C., Cao, D.-L. et al. (2017) Chemokine CCL8 and its receptor CCR5 in the spinal cord are involved in visceral pain induced by experimental colitis in mice. *Brain Research Bulletin*, vol. 135, pp. 170–178. <https://www.doi.org/10.1016/j.brainresbull.2017.10.009> (In English)
- Lu, Y., Westlund, K. N. (2001) Effects of baclofen on colon inflammation-induced Fos, CGRP and SP expression in spinal cord and brainstem. *Brain Research*, vol. 889, no. 1–2, pp. 118–130. [https://www.doi.org/10.1016/S0006-8993\(00\)03124-3](https://www.doi.org/10.1016/S0006-8993(00)03124-3) (In English)
- Lyubashina, O., Atanasova, D., Pantelev, S. et al. (2012) Differential c-fos expression in nuclei of the caudal medulla oblongata following noxious colorectal distension in anaesthetized rats. *Comptes rendus de l'Académie bulgare des sciences — Proceeding of the Bulgarian Academy of Sciences*, vol. 65, no. 5, pp. 709–716. (In English)
- Lyubashina, O. A., Sivachenko, I. B., Pantelev, S. S., Nozdrachev, A. D. (2016) Effects of 5-HT₃ receptor blockade on visceral nociceptive neurons in the ventrolateral reticular field of the rat medulla oblongata. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 52, pp. 313–325. <https://www.doi.org/10.1134/S0022093016040062> (In English)
- Morris, G. P., Beck, P. L., Herridge, M. S. et al. (1989) Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology*, vol. 96, no. 3, pp. 795–803. PMID: 2914642. (In English)
- Moshiree, B., Zhou, Q., Price, D. D., Verne, G. N. (2006) Central sensitisation in visceral pain disorders. *Gut*, vol. 55, no. 7, pp. 905–958. <https://www.doi.org/10.1136/gut.2005.078287> (In English)
- Mönnikes, H., Rüter, J., König, M. et al. (2003) Differential induction of c-fos expression in brain nuclei by noxious and non-noxious colonic distension: Role of afferent C-fibers and 5-HT₃ receptors. *Brain Research*, vol. 966, no. 2, pp. 253–264. [https://www.doi.org/10.1016/S0006-8993\(02\)04197-5](https://www.doi.org/10.1016/S0006-8993(02)04197-5) (In English)
- Ness, T. J., Follett, K. A., Piper, J., Dirks, B. A. (1998) Characterization of neurons in the area of the medullary lateral reticular nucleus responsive to noxious visceral and cutaneous stimuli. *Brain Research*, vol. 802, no. 1–2, pp. 163–174. [https://www.doi.org/10.1016/S0006-8993\(98\)00608-8](https://www.doi.org/10.1016/S0006-8993(98)00608-8) (In English)
- Nurzynska, K., Mikhalkin, A., Piorkowski, A. (2017) CAS: Cell annotation software — research on neuronal tissue has never been so transparent. *Neuroinformatics*, vol. 15, no. 4, pp. 365–382. <https://www.doi.org/10.1007/s12021-017-9340-2> (In English)
- Pantelev, S. S., Martseva, A. A., Lyubashina, O. A. (2013) Responses of solitary tract nucleus neurons to nociceptive stimuli of the large intestine in rats. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, vol. 43, no. 6, pp. 775–781. <https://www.doi.org/10.1007/s11055-013-9808-y> (In English)

- Panteleev, S. S., Sivachenko, I. B., Lyubashina, O. A. (2021) The buspirone-dependent abdominal pain transmission within the nucleus tractus solitarius in the rat. *Neuroscience*, vol. 452, pp. 326–334. <https://www.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.11.032> (In English)
- Paxinos, G., Watson, C. (1998) *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 4th ed. San Diego: Academic Press, 237 p. (In English)
- Pinto-Ribeiro, F., Ansah, O. B., Almeida, A., Pertovaara, A. (2011) Response properties of nociceptive neurons in the caudal ventrolateral medulla (CVLM) in monoarthritic and healthy control rats: Modulation of responses by the paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVN). *Brain Research Bulletin*, vol. 86, no. 1–2, pp. 82–90. <https://www.doi.org/10.1016/j.brainresbull.2011.06.014> (In English)
- Porcher, C., Sinniger, V., Juhem, A. et al. (2004) Neuronal activity and CRF receptor gene transcription in the brains of rats with colitis. *The American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, vol. 287, no. 4, pp. G803–G814. <https://www.doi.org/10.1152/ajpgi.00135.2004> (In English)
- Siegel, C. A., MacDermott, R. P. (2009) Is chronic pain an extraintestinal manifestation of IBD? *Inflammatory Bowel Diseases*, vol. 15, no. 5, pp. 769–771. <https://www.doi.org/10.1002/ibd.20844> (In English)
- Wang, L., Martínez, V., Larauche, M., Taché, Y. (2009) Proximal colon distension induces Fos expression in oxytocin-, vasopressin-, CRF- and catecholamines-containing neurons in rat brain. *Brain Research*, vol. 1247, pp. 79–91. <https://www.doi.org/10.1016/j.brainres.2008.09.094> (In English)
- Zhang, M.-M., Liu, S.-B., Chen, T. et al. (2014) Effects of NB001 and gabapentin on irritable bowel syndrome-induced behavioral anxiety and spontaneous pain. *Molecular Brain*, vol. 7, article 47. <https://www.doi.org/10.1186/1756-6606-7-47> (In English)