

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ МЕДЛЕННЫХ НАТРИЕВЫХ КАНАЛОВ В ПРОЦЕССЕ ПЕРВИЧНОГО СЕНСОРНОГО КОДИРОВАНИЯ НОЦИЦЕПТИВНОЙ ИНФОРМАЦИИ

© 2023 г. Е.А. Скребенков*., Б.В. Крылов**, О.Л. Власова*

*Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,
ул. Политехническая, 29, Санкт-Петербург, 195251, Россия

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

#E-mail: skrebenkovea@gmail.com

Поступила в редакцию 20.04.2023 г.

После доработки 20.04.2023 г.

Принята к публикации 03.05.2023 г.

Натриевые каналы Nav1.8 ноцицепторов участвуют в кодировании ноцицептивных сигналов полимодальных ноцицепторов, причем только высокочастотная составляющая этого импульсного ответа информирует мозг о болевом повреждающем воздействии. Специфическое снижение функциональной активности указанных каналов должно приводить к «выключению» именно этой высокочастотной компоненты, что позволит сохранить нормальное функционирование полимодальных механо-, термо- и хеморецепторов в случае возникновения хронической боли. Для ее лечения в арсенале практической медицины отсутствуют безопасные анальгетики, длительное использование которых было бы совершенно безопасным. Методом математического моделирования на основании ионной теории Ходжкина–Хаксли исследован механизм специфической модуляции функциональной активности каналов Nav1.8 и его роль в первичном сенсорном кодировании ноцицептивной информации. Этот механизм основан на уменьшении потенциалочувствительности указанных каналов за счет снижения эффективного заряда, переносимого их активационным воротным устройством. Впервые показано, что это приводит к полному восстановлению нормальной функции «стимул–ответ» ноцицептивного нейрона. При этом специфически устраняется только высокочастотная компонента ответа его мембраны. Этого же эффекта можно добиться и при снижении плотности медленных натриевых каналов. Однако очевидно, что во втором случае действие фармакологических субстанций, претендующих на роль анальгетиков, будет менее специфично, поскольку становится вероятным их взаимодействие с другими представителями суперсемейства натриевых каналов.

Ключевые слова: ноцицепция, ионная теория, математическое моделирование.

DOI: 10.31857/S0006302923030122, EDN: FRUYXH

Ноцицептивная система занимает особое место среди сенсорных систем организма, являясь своеобразным шестым чувством [1]. Однако в тех случаях, когда болевое ощущение утрачивает свою защитную функцию, необходимую для формирования о повреждающем воздействии, возникает хроническая боль. К сожалению, в арсенале практической медицины сегодня отсутствуют безопасные и эффективные средства, способные заменить опиаты и опиоиды при лечении сильной хронической боли. По-новому подойти к решению этой проблемы позволяет поиск специфических модуляторов функциональной активности одного из представителей суперсемейства натриевых каналов, а именно медленных натриевых каналов Nav1.8. Эти каналы являются

маркерами ноцицептивных нейронов [2], выполняющая в их мембране важнейшую функцию генерации высокочастотной компоненты импульсного ответа. Именно эта высокочастотная компонента ответов полимодальных ноцицепторов несет информацию о повреждающем болевом воздействии, а их низкочастотная импульсная активность передает в центральную нервную систему информацию об интенсивности адекватного (например, механического или температурного) стимула. Поэтому важнейшей (как теоретической, так и практической) задачей является выяснение механизма специфической модуляции функциональной активности каналов Nav1.8, кодирующих именно ноцицептивную информацию [3]. Очевидно, что очень сложно подобрать фармако-

логическую субстанцию, способную в случае экспериментального применения строго специфически модулировать каждый из двух важнейших параметров, определяющих функциональную активность указанных каналов. В первую очередь это относится к параметру, определяющему потенциалочувствительность, а именно к величине эффективного заряда их активационного воротного устройства (Z_{eff}). Другим важнейшим параметром служит плотность каналов Nav1.8 в мембране этого первичного сенсорного нейрона. Применение метода математического моделирования создает уникальную возможность выяснения специфической роли каждого из указанных параметров при условии, что все остальные характеристики указанного канала и других мембранных ионных каналов, участвующих в генерации ответов ноцицептивного нейрона, остаются неизменными.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Моделирование генерации импульсной активности ноцицептивного нейрона. Модель типа Ходжкина–Хаксли мембраны сенсорного нейрона может быть описана следующей системой дифференциальных уравнений:

$$\frac{dE}{dt} = \frac{1}{C_m} [-I_{\text{leak}}(E) - I_{\text{Na}}(E) - I_K(E) + I_{\text{ext}}], \quad (1.1)$$

$$I_{\text{leak}}(E) = g_{\text{leak}}(E - E_{\text{leak}}), \quad (1.2)$$

$$I_{\text{Na}}(E) = g_{\text{Na}} m^3 h (E - E_{\text{Na}}), \quad (1.3)$$

$$I_K(E) = g_K n^4 (E - E_K), \quad (1.4)$$

$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m(E)(1 - m) - \beta_m(E)m, \quad (1.5)$$

$$\frac{dh}{dt} = \alpha_h(E)(1 - h) - \beta_h(E)h, \quad (1.6)$$

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n(E)(1 - n) - \beta_n(E)n, \quad (1.7)$$

где E — трансмембранная разность потенциалов; t — время; C_m — емкость мембраны; I_{leak} , I_{Na} и I_K — токи утечки, натриевых и калиевых ионов соответственно, I_{ext} — внешний ток, представляющий стимул; g_{leak} , g_{Na} и g_K — максимальные проводимости утечки, натриевых и калиевых ионов соответственно; E_{leak} , E_{Na} и E_K — потенциалы реверсии токов утечки, натриевых и калиевых каналов соответственно; m , h и n — переменные Ходжкина–Хаксли натриевых и калиевых каналов, которые изменяются с течением времени и зависят от трансмембранной разности потенциалов; $\alpha_m(E)$, $\beta_m(E)$, $\alpha_h(E)$, $\beta_h(E)$, $\alpha_n(E)$ и $\beta_n(E)$ — константы скоростей переходов, описывающие потенциалозависимости изменения переменных m , h и n . Уравнения 1.1–1.7 представляют базовую модель, которая позволяет осуществить моделирование генерации потенциалов действия.

Моделирование ответов мембраны в присутствии медленного натриевого тока Nav1.8, определяющего ноцицептивную компоненту зависимости «стимул–ответ», осуществляли следующим образом:

$$\frac{dE}{dt} = \frac{1}{C_m} [-I_{\text{leak}}(E) - I_{\text{Na}}(E) - I_K(E) - I_{\text{Nav1.8}}(E) + I_{\text{ext}}], \quad (2.1)$$

$$I_{\text{Nav1.8}} = g_{\text{Nav1.8}}(E - E_{\text{Na}}). \quad (2.2)$$

Уравнения, описывающие поведение переменных m , h , n приведены ниже в параграфе «Параметры уравнений воротных переменных».

Расчет Z_{eff} активационного воротного устройства медленного натриевого тока $\text{Na}_{\text{v1.8}}$. Оценку Z_{eff} выполняли методом Алмерса [4] на основе следующего уравнения:

$$\frac{g_{\text{Na}}(E)}{g_{\text{Na}}^{\text{max}} - g_{\text{Na}}(E)} = \text{const} \cdot e^{(Z_{\text{eff}} e_0 E)/(kT)}, \quad (3.1)$$

где e_0 — величина элементарного заряда, k — постоянная Больцмана, T — абсолютная температура.

Уравнение (2.2) использовали для построения функции Алмерса:

$$L(E) = \ln \frac{g_{\text{Na}}(E)}{g_{\text{Na}}^{\text{max}} - g_{\text{Na}}(E)}, \quad (3.2)$$

где $g_{\text{Na}}(E)$ — потенциалозависимость хордовой проводимости, которая характеризует число открытых медленных натриевых каналов (числитель), $g_{\text{Na}}^{\text{max}}$ — ее максимальное значение, поэтому в знаменателе функции Алмерса учитывается число закрытых каналов.

Расчет тангенса угла наклона $L(E)$ при низких значениях трансмембранной разности потенциалов (стремящихся к минус бесконечности) позволяет оценить Z_{eff} .

Параметры уравнений воротных переменных. Параметры натриевого тока I_{Na} :

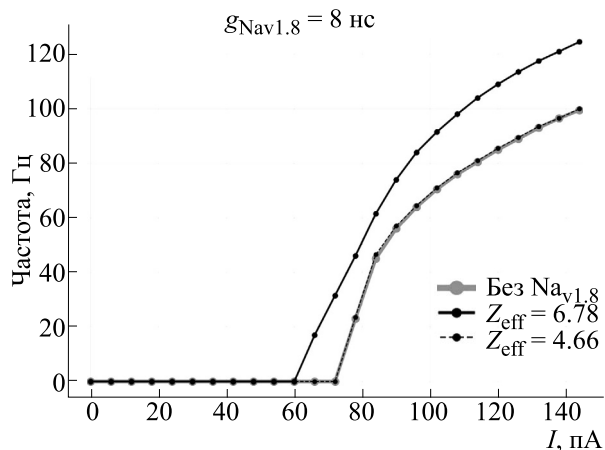


Рис. 1. Зависимость «стимул-ответ» для трех моделей. Серая кривая («Без $Nav1.8$ ») — базовая модель, не учитывающая вклад медленного натриевого тока. Темная кривая — с учетом вклада медленного натриевого тока с «контрольной» потенциалочувствительностью, т.е. величина эффективного заряда (Z_{eff}) активационного воротного устройства в этом случае была равна 6.78 элементарного заряда. Пунктирная кривая моделирует «эффект обезболивания», т.е. снижение Z_{eff} до величины 4.66 приводит к устранению высокочастотной компоненты импульсной активности ноцицептивного нейрона.

$$\alpha_m = 1.024 \frac{(E - 47) / 4}{e^{(E-47)/4} - 1}, \quad (4.1.1)$$

$$\beta_m = 1.4 \frac{(E + 26) / 5}{e^{(E+26)/5} - 1}, \quad (4.1.2)$$

$$\alpha_h = 0.0256 e^{-(E+31)/18}, \quad (4.1.3)$$

$$\beta_h = 0.8 / (1 + e^{-(E+8)/5}), \quad (4.1.4)$$

Параметры калиевого тока I_K :

$$\alpha_n = 0.16 \frac{-(E + 48) / 5}{e^{-(E+48)/5} - 1}, \quad (4.2.1)$$

$$\beta_n = 0.5 e^{-(E+53)/40}. \quad (4.2.2)$$

Параметры медленного натриевого тока $I_{Nav1.8}$:

$$\alpha_m = 2.85 - \frac{2.84}{1 + e^{(E-1.16)/13.95}}, \quad (4.3.1)$$

$$\beta_m = \frac{7.62}{1 + e^{(E+46.5)/8.83}}, \quad (4.3.2)$$

$$h_\infty = \frac{1}{1 + e^{(u+32.4)/4}}, \quad (4.3.3)$$

$$\tau_h = 1.218 + 42 \cdot e^{-(u+38.1)^2 / (2 \cdot 15.2^2)}, \quad (4.3.4)$$

$$\frac{dh}{dt} = (h_\infty - h) / \tau_h. \quad (4.3.5)$$

Параметры уравнений воротных переменных были адаптированы на основе данных, полученных экспериментально в работах [5, 6].

Численные решения уравнений были получены при помощи библиотеки Brian Simulator для языка программирования Python [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Влияние медленного натриевого тока на зависимость «стимул-ответ». Физиологическая роль тока $Nav1.8$ (уравнение (2.2)) может быть наглядно продемонстрирована при построении функции «стимул-ответ» (рис. 1).

Результаты расчетов показывают, что учет вклада медленного натриевого тока проявляется, во-первых, в сдвиге функции «стимул-ответ» влево, в сторону меньших стимулирующих токов. Генерация повторных ответов здесь начинается при стимулирующих токах, которые на 12 пА меньше, чем в базовой модели, не учитывающей их вклад. Во-вторых, наблюдается изменение крутизны исследуемой кривой. Учет вклада медленных натриевых каналов проявляется в том, что в базовой модели переход от линейного участка кривой к ее нелинейному участку (отрицательно ускоряющейся части) происходит раньше и более ярко выражен, чем в модели с медленным натриевым током. Так, в рамках базовой модели смена с линейного роста на отрицательное ускорение происходит примерно на уровне 85 пА входного тока, а для модели с медленным током — примерно на уровне 95 пА. Таким образом, в диапазоне величин стимулирующего тока 80–120 пА частота повторных ответов растет с большей скоростью для модели с медленным током: 0.925 Гц/пА для базовой модели и 1.25 Гц/пА — для модели с медленным натриевым током. Наибольшее влияние вклада тока $Nav1.8$ проявляется при низких значениях стимулирующего тока (рис. 1).

Наиболее важным результатом, на наш взгляд, явилось обнаружение сильного корректирующего действия снижения потенциалочувствительности медленных натриевых каналов. Так, уменьшение Z_{eff} до величины 4.66 приводит к восстановлению «контрольных» величин частоты импульсной активности сенсорного нейрона при моделировании его функции «стимул-ответ» (рис. 1). При этом, очевидно, специфически снижается именно высокочастотная компонента повторных ответов, которая кодирует ноцицептивную информацию, передаваемую от ноцицепторов в центральную нервную систему.

Влияние плотности каналов $Nav1.8$ на зависимость «стимул-ответ». На рис. 2 показаны несколько кривых «стимул-ответ» для различных значений $g_{Nav1.8}$. Увеличение плотности каналов

Nav1.8, которое в модели представлено переменной $g_{Nav1.8}$, приводит к общему увеличению частоты ответов мембраны, а также к более низким входным стимулам, необходимым для инициации ритмической активности.

Кривая (рис. 2) для самой низкой плотности каналов позволяет наиболее отчетливо увидеть различие ответов базовой модели и модели с учетом медленного тока Nav1.8. Наибольшая близость значений частоты ответов наблюдается в районе стимула 90 пА, как раз в зоне смены характера кривой с высокого линейного роста на «замедляющийся» рост для базовой модели. Кроме того, у кривой для модели с $g_{Nav1.8} = 5$ нСм отсутствует настолько же заметная смена характера кривой «стимул–ответ».

Кроме общего увеличения частоты ответов с ростом плотности каналов Nav1.8 также сдвигается точка расхождения кривых для базовой и Nav1.8-моделей. Зона качественного различия характеров кривых сдвигается в сторону более низких стимулов: около 90 пА для $g_{Nav1.8} = 5$ нСм и около 70 пА для $g_{Nav1.8} = 10$ нСм.

Однако при значительном различии в росте в зоне расхождения, для более сильных стимулов не наблюдается изменение характера роста, только общий сдвиг в сторону больших частот ответов.

Влияние каналов Nav1.8 на рисунок импульсной активности мембраны ноцицептивного нейрона. Проведенные расчеты показывают, что импульсные ответы на воздействие постоянного тока наблюдаются в широком диапазоне его величин — от 75 до 140 пА. При учете вклада медленных натриевых каналов заметно снижается длительность межимпульсного интервала (рис. 3 и 4). Сравнивая ритмическую активность, представленную на рис. 3 и на рис. 4, легко видеть, что этот эффект становится менее заметным. Очевидно, что снижение Z_{eff} с контрольного значения до величины 4.66 приводит к практически минимальному отличию межимпульсных интервалов установившихся повторных ответов. Отметим также, что прогрессивное увеличение последовательных межимпульсных интервалов, называемое адаптацией к действию постоянного стимула, проявляется очень слабо только в записи на рис. 3б при $Z_{eff} = 4.66$ в том случае, когда величина стимулирующего тока составляла 85 пА.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Основным результатом нашей работы явилось выяснение той специфической физиологической роли, которую выполняет часть молекулы медленного натриевого канала Nav1.8, его активационное воротное устройство, в процессе кодиро-

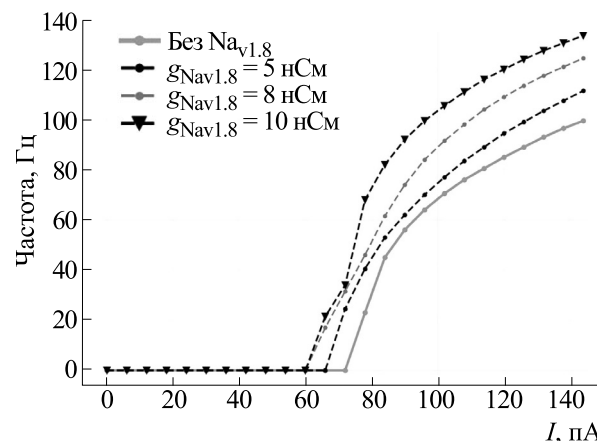


Рис. 2. Кривая «стимул–ответ» для различных проводимостей медленного натриевого тока.

вания ноцицептивных сигналов. Как было отмечено выше, указанные каналы могут считаться маркерами тех первичных сенсорных нейронов заднекорешковых ганглиев спинного мозга, афференты которых являются ноцицепторами. Величина эффективного заряда, переносимого при открывании канала в ответ на деполяризующий стимул, оказалась критически важным параметром, модулирующим возбудимость ноцицептивной мембраны. Это позволяет по-новому подойти к решению проблемы хронической боли, возникающей в том случае, когда ноцицептивный сигнал уже выполнил свою информационную функцию и стал для организма «негативным побочным эффектом». Тончайшее воздействие на активационное воротное устройство, рассматриваемое в качестве мишени для атакующих молекул и приводящее к снижению Z_{eff} , ведет, в свою очередь, к снижению высокочастотной компоненты импульсного ответа ноцицепторов и к купированию хронической боли. Этот подход оказался перспективным при использовании в качестве атакующих молекул аргинин-содержащих коротких пептидов, которые сегодня могут претендовать на роль анальгетических лекарственных субстанций [8, 9]. Наши расчеты показывают, что снижение потенциалочувствительности каналов Nav1.8 за счет уменьшения Z_{eff} всего лишь на 2.12 величины элементарного заряда приводит к устранению высокочастотной (болевой) компоненты импульсных ответов полимодальных ноцицепторов и к восстановлению их нормальной функции «стимул–ответ» (рис. 1). Отметим, что более очевидный механизм снижения возбудимости ноцицепторов за счет уменьшения плотности каналов Nav1.8 также приводит к снижению высокочастотной компоненты повторных ответов (рис. 2). При этом, однако под-

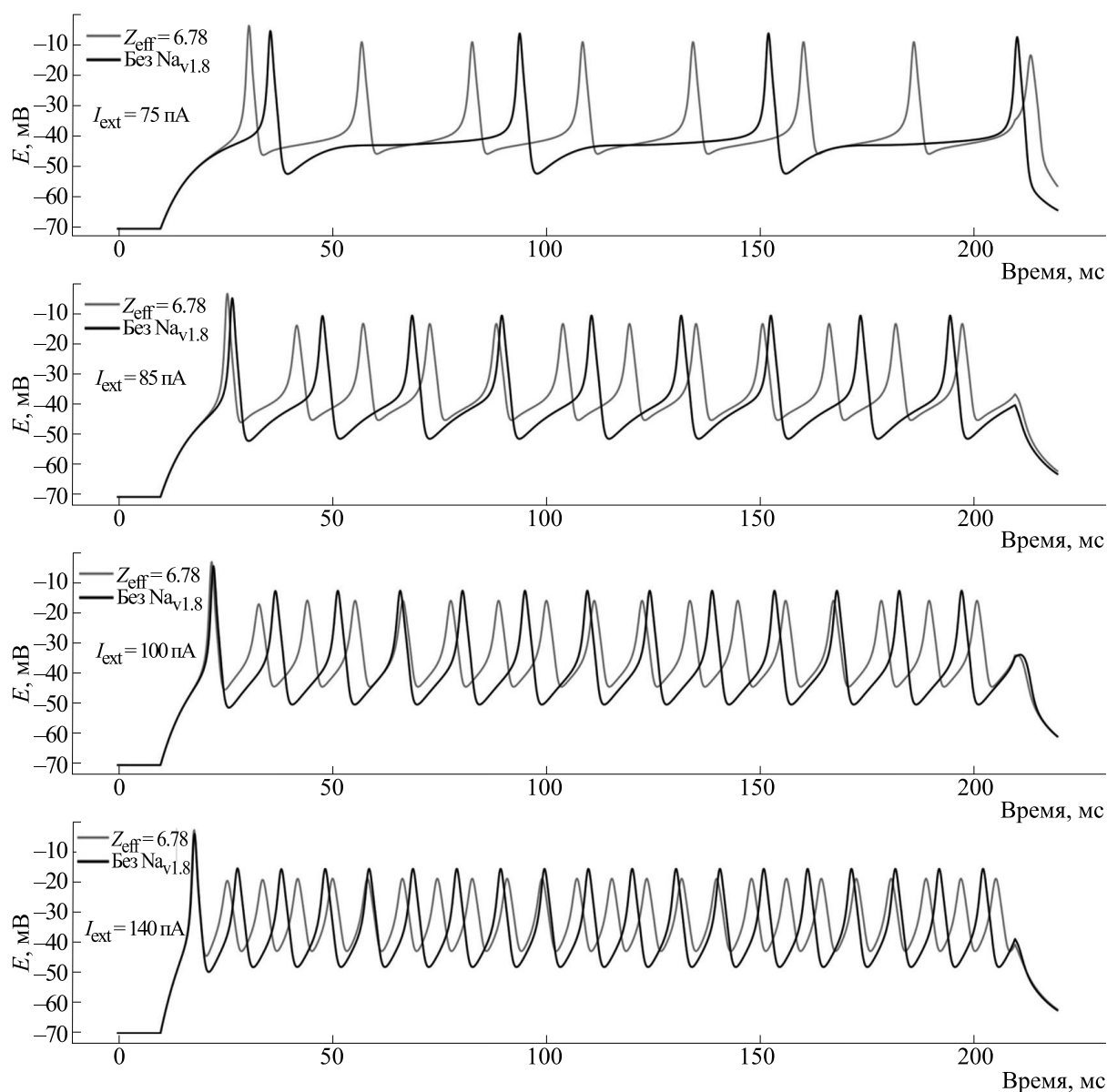


Рис. 3. Импульсная активность модели с медленным натриевым током ($Z_{\text{eff}} = 6.78$); «Без Nav1.8» — базовая модель, генерирующая импульсную активность.

бор субстанций, способных специфически воздействовать только на каналы Nav1.8, оставляя остальных представителей суперсемейства потенциалочувствительных натриевых каналов интактными, представляется очень сложным. Единственным примером реализации рассматриваемого механизма может служить действие очень низких «эндогенных» концентраций убаина, который запускает каскад внутриклеточной сигнализации, ведущий к снижению экспрессии гена SCN10A, продуцирующего каналы Nav1.8 [10]. Также можно отметить, что модель электровозбудимой мембраны ноцицептивного нейрона, раз-

работанная в настоящей работе, позволяет с хорошей точностью воспроизвести экспериментальные записи повторных ответов (рис. 3 и 4). Форма нервного импульса, межимпульсный интервал, адаптационные процессы соответствуют экспериментальным записям ритмической активности ноцицептивного нейрона [3].

Можно заключить, что разработанная математическая модель будет востребована для дальнейшего анализа экспериментальных данных, получаемых при исследовании действия субстанций эндогенной и экзогенной природы, претендую-

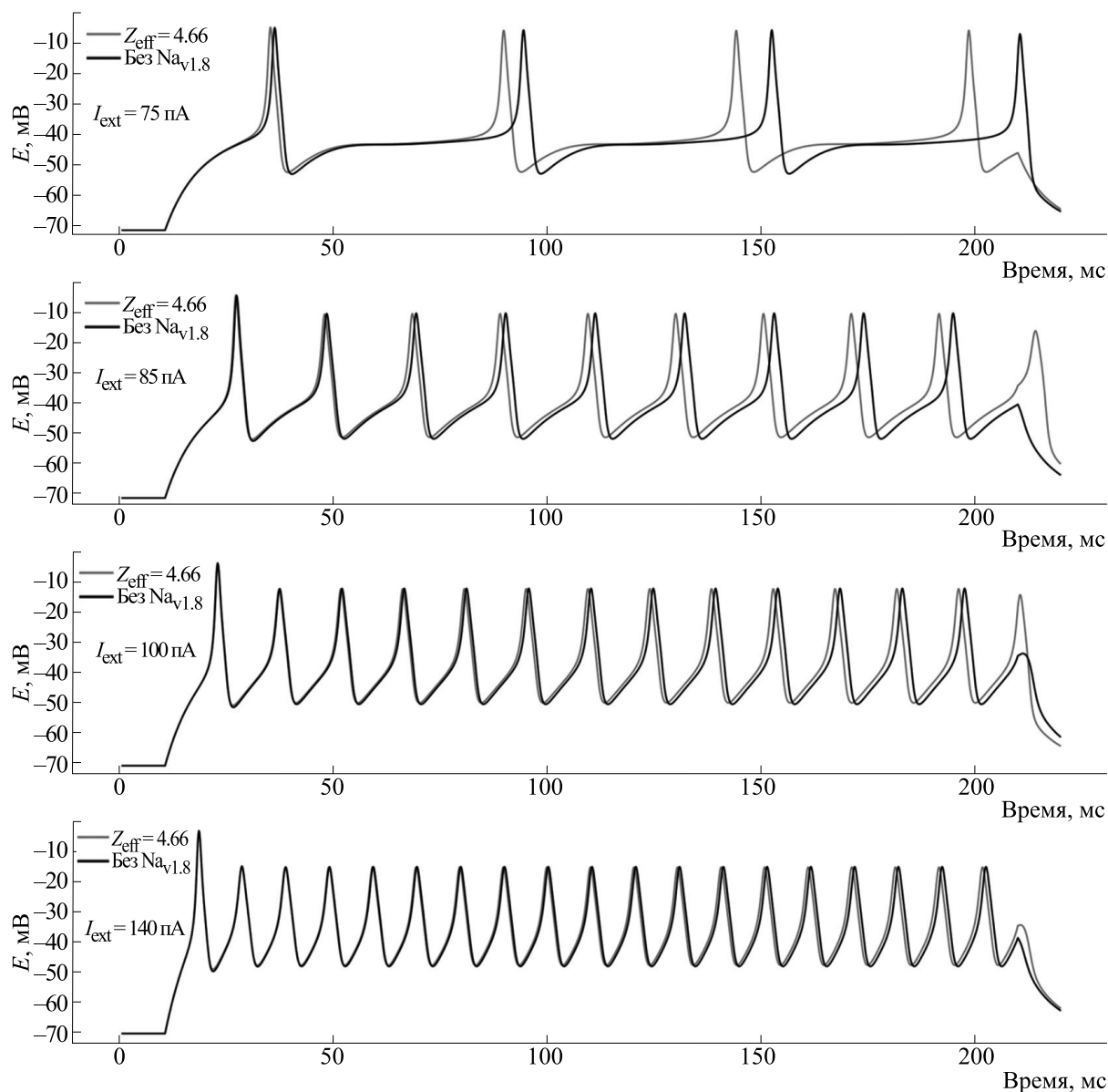


Рис. 4. Импульсная активность модели с медленным натриевым током со сниженным эффективным зарядом ($Z_{\text{eff}} = 4.66$); «Без $\text{Nav}_{1.8}$ » — базовая модель, генерирующая импульсную активность.

щих на роль новых анальгетиков, способных заменить опиаты при лечении хронической боли.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках Государственной программы ГП-47 «Научное и технологическое развитие Российской Федерации (2019–2030)», тема 0134-2019-0001.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sensory Coding in the Mammalian Nervous System, ed. by G. Somjen (Springer, USA, 1972). DOI: 10.1007/978-1-4684-8190-7
2. D. L. Bennett, X. A. J. Clark, J. Huang, et al., *Physiol. Rev.*, **99** (2), 1079 (2019). DOI: 10.1152/physrev.00052.2017

3. B. V. Krylov, I. V. Rogachevskii, T. N. Shelykh, and V. B. Plakhova, *Frontiers in Pain Science* (Bentham Science Publishers Ltd., Sharjah, 2017).
4. W. Almers, *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, **82**, 96 (1978). DOI: 10.1007/bfb0030498
5. O. Barkai, R. H. Goldstein, Y. Caspi, et al., *Front. Mol. Neurosci.*, **10**, ID181 (2017). DOI: 10.3389/fn-mol.2017.00181
6. P. L. Sheets, J. O. Jackson, S. G. Waxman, et al., *J. Physiol.*, **581** (3), 1019 (2007). DOI: 10.1113/jphysiol.2006.127027
7. M. Stimberg, R. Brette, and D. F. Goodman, *Elife*, **8**, e47314 (2019). DOI: 10.7554/eLife.47314
8. I. V. Rogachevskii, V. B. Plakhova, V. A. Penniyaynen, et al., *Int. J. Mol. Sci.*, **23** (11), 5993 (2022). DOI: 10.3390/ijms23115993
9. V. B. Plakhova, D. M. Samosvat, G. G. Zegrya, et al., *Int. J. Mol. Sci.*, **23** (18), 10640 (2022). DOI: 10.3390/ijms231810640
10. V. B. Plakhova, V. A. Penniyaynen, I. V. Rogachevskii, et al., *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **98** (11), 785 (2020). DOI: 10.1139/cjpp-2020-0197

Physiological Role of Slow Sodium Channels in Primary Sensory Coding

E.A. Skrebenkov*, B.V. Krylov**, and O.L. Vlasova*

*Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Polytechnicheskaya ul. 29, Saint-Petersburg, 195251 Russia

**Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, nab. Makarova 6, Saint-Petersburg, 199034 Russia

Nav1.8 sodium channels of nociceptors participate in encoding signals generated by polymodal nociceptors and only the high-frequency component of this impulse response alerts the brain to tissue damage and provides information about the location and type of pain. Specific reduction of the functional activity of these channels should help in “switching off” this high-frequency component, hence, the possibility of retaining the normal functioning of polymodal mechanoreceptors, thermoreceptors, and chemoreceptors in case of chronic pain. From general medical practice, it is known that in the treatment of pain, there are no safe analgesics, the use of which as a long-term therapy would be completely safe. Mathematical modeling based on the Hodgkin and Nuxley formulation describing the flow of ionic currents was used to understand the mechanism of specific modulation of the functional activity of Nav1.8 channels and its role in primary sensory encoding of nociceptive information. This mechanism is based on a reduction in the potential sensitivity of these channels due to a decrease in the effective charge transferred by their activation gating structure. It is shown for the first time that this leads to a complete restoration of the normal function of the stimulus-response of the nociceptive neuron. At the same time, only the high-frequency component of its membrane response is specifically eliminated. The same effect can be achieved by reducing the density of slow sodium channels. However, it is obvious that in the second case, the action of pharmacological substances which are supposed to be called analgesics will be less specific since the interaction with other representatives of the superfamily of sodium channels might turn out to be feasible.

Keywords: nociception, ionic theory, mathematical modeling