

РЕСПИРАТОРНЫЕ РЕАКЦИИ НА МИКРОИНЪЕКЦИИ ГАМК В СУПРАБУЛЬБАРНЫЕ СТРУКТУРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Л.В.Глущенко, Р.А.Зайнулин, И.Д.Федорченко¹

В острых опытах на крысах в условиях микроинъекции ГАМК в стриатум, красное ядро и ядра кортикомедиальной миндалины было показано, что вышеуказанные структуры оказывают влияние на формирование дыхательного паттерна. Стимуляция дыхания происходила при микроинъекции ГАМК в миндалину и угнетение – при микроинъекциях данного вещества в мелкоклеточную часть красного ядра. Эффекты ГАМК при введении его в стриатум зависели от места инъектирования. Было сделано предположение об участии ГАМК-ергических механизмов супрабульбарных структур в регуляции дыхания.

Введение

Дыхательная система - одна из важнейших систем, участвующих в поддержании жизнедеятельности организма. Решающую роль в регуляции дыхательной функции играет бульбарный дыхательный центр. В то же время на функционирование дыхательного центра оказывают влияние вышележащие структуры головного мозга. В частности такие, как миндалевидный комплекс, базальные ганглии и средний мозг. Супрабульбарные влияния позволяют обеспечить более тонкое приспособление дыхательной функции к постоянно меняющимся условиям внешней и внутренней сред. Исследование особенностей нейрохимической организации хвостатого и красного ядер, а также ядер кортикомедиальной миндалины показало ключевую роль ГАМК как тормозного медиатора в вышеперечисленных образованиях [6, 8, 12, 16, 20, 23]. Установлены реципрокные взаимодействия между вышеперечисленными надбульбарными структурами, а также прослежены их проекции в структуры продолговатого мозга, непосредственно участвующими в регуляции дыхания [4, 8, 10, 13, 17, 19, 22, 24]. В связи с вышеизложенным представляет интерес изучение дыхательных реакций в условиях микроинъекций в хвостатое и красное ядра, а также в ядра миндалины растворов ГАМК различной концентрации.

1. Методика исследования

Эксперименты были выполнены на 57 белых беспородных крысах обоего пола массой 250-300 г, наркотизированных нембуталом (50 мг/кг, внутривенно).

¹Глущенко Любовь Валерьевна, Зайнулин Руслан Анасович, Федорченко Ирина Дмитриевна, кафедра физиологии человека и животных, Самарский государственный университет

На уровне верхней трети трахеи делался Т-образный разрез, в который вводилась дыхательная канюля. После трахеотомии животное помещалось в стереотаксическую установку СЭЖ-3, модифицированную для работы с мелкими животными. При помощи шаровидного бора над исследуемыми структурами высверливалось трепанационное отверстие. Микроинъекции ГАМК осуществлялись с помощью микрошприца МШ-1 со стеклянной микроканюлей с диаметром кончика 20 мкм, которую вводили в изучаемые структуры согласно стереотаксическим координатам атласа мозга крысы [21]. Использовались растворы гамма-аминомасляной кислоты, приготовленные *ex tempore* в искусственной цереброспинальной жидкости [18] в концентрациях 10^{-8} М, 10^{-6} М и 10^{-4} М в объеме 0,3 мкл. Рабочие растворы инъецировались в изучаемые структуры в течение 30-40 с во избежание гидравлического удара. В контрольных наблюдениях по аналогичной методике вводилось 0,3 мкл искусственной цереброспинальной жидкости. По окончании части экспериментов в исследуемую структуру вводился краситель с целью последующего определения локализации места инъекции на гистологических средах. Паттерн дыхания регистрировался при помощи спирографической методики. Для этого использовался миниатюрный спирометр Крога [7], снабженный фотооптическим датчиком перемещений колокола. Преобразованный электрический сигнал от прибора поступал на самописец Н-338. На полученных кривых дыхания определялись длительность в секундах дыхательного цикла T_t , инспираторной T_i и экспираторной T_e фаз, дыхательный объем V_t . Частота дыхания f определялась согласно формуле $f=60/T_t$. Минутный объем дыхания V подсчитывался по формуле $V=f/V_t$. Вычислялись также следующие показатели: доля вдоха в общей длительности цикла (т.к. "полезный цикл" T_i/T_t , средние скорости инспираторного $V_i=V_t/T_i$ и экспираторного $V_e=V_t/T_e$ потоков) [3]. Результаты обрабатывались статистически с использованием *t*-критерия по Стьюденту. Данные представлены как $M \pm m$.

2. Результаты исследования и их обсуждение

При микроинъекциях ГАМК различных концентраций в исследуемые участки хвостатого ядра (ростральный, медиальный и каудальный) наиболее выраженный эффект наблюдался при действии вещества в концентрации 10^{-6} М. Характерно изменялись следующие показатели паттерна дыхания: частота дыхания, полезный цикл, длительность фазы экспирации, дыхательный и минутный объемы дыхания. Направленность эффектов при микроинъекциях ГАМК в ростральную и медиальную области носила качественно схожий характер. Так, в обоих случаях происходило уменьшение дыхательного объема к 20-й мин до $81,26 \pm 7,7\%$, $p < 0,001$ и $32,2 \pm 7,5\%$, $p < 0,001$ соответственно. Затем такое выраженное угнетение глубины дыхания сменялось на 25-30-й мин резким его увеличением до $214,16 \pm 8,9\%$, $p < 0,001$ в первом случае и $134,4 \pm 26,9\%$ во втором. Изменения минутного объема дыхания определялись, в основном, соответствующими изменениями дыхательного объема. На первых минутах происходило уменьшение данного показателя до $84,03 \pm 8,14\%$, $p < 0,05$ при микроинъекциях ГАМК в ростральный участок и до $34,45 \pm 7,68\%$, $p < 0,001$ – в медиальный. А на 25-30-й мин наблюдалось резкое его увеличение до $244,73 \pm 10,5\%$, $p < 0,001$ и $118,68 \pm 34,4\%$, $p < 0,05$ соответственно. Возможная реализация ГАМК-ергических влияний стриатума на низлежащие структуры опосредуется либо через бледный шар, либо черную субстанцию [8]. В свою очередь, аксоны последних проецируются на ГАМК-ергические нейроны стриатума, снижая их активность [10]. Наличие таких реципрокных взаимосвязей между данными структурами позволя-

ет объяснить полученные в нашем исследовании эффекты: стимуляцию дыхания на первых двадцати минутах, а затем его угнетение на двадцать пятой и тридцатой минутах. Для обоих случаев было характерно то, что частота дыхания увеличивалась до $113,9 \pm 3,08\%$, $p < 0,01$ при микроинъекциях ГАМК в ростральный участок хвостатого ядра и $109,9 \pm 1,27\%$, $p < 0,01$ – в медиальный. Увеличение полезного цикла до $110,05 \pm 2,48\%$, $p < 0,05$ и $116,6 \pm 2,28\%$, $p < 0,001$ соответственно происходило за счет роста длительности инспираторной и уменьшения продолжительности экспираторной фаз. Таким образом, выявлено, что микроинъекции ГАМК в концентрации 10^{-6}М в ростральную и медиальную части хвостатого ядра приводят к угнетению дыхания.

При воздействии ГАМК в той же концентрации на каудальную часть хвостатого ядра наблюдались эффекты, имеющие противоположную направленность. Так, происходило увеличение дыхательного до $154,7 \pm 0,76\%$; $p < 0,001$ и минутного объемов дыхания до $145,8 \pm 0,5\%$, $p < 0,001$. А частота дыхания и полезный цикл уменьшались до $90,61 \pm 1,16\%$, $p < 0,001$ и $84,52 \pm 4,25\%$, $p < 0,001$ соответственно. Изменения полезного цикла в данном случае были обусловлены увеличением длительности экспираторной фазы до $124,71 \pm 2,48\%$, $p < 0,001$. Полученные результаты можно объяснить сложной сетью связей хвостатого ядра. Как уже отмечалось выше, нисходящие проекции хвостатого ядра идут либо через нейроны бледного шара, либо через черную субстанцию в ствол. Аксоны последних проецируются на клетки верхних слоев тектума, которые дают начало текто-спинальному и текто-ретикулярному путям, которые, проходя через красное ядро среднего мозга, оканчиваются на мотонейронах спинного мозга и на гигантоклеточном ядре продолговатого мозга [8, 22]. Химическая стимуляция стриатума приводит в конечном счете к растормаживанию и возбуждению (либо торможению) стволовых спинальных путей [8]. Следовательно, стимуляцию дыхания при микроинъекциях ГАМК в каудальную часть хвостатого ядра можно объяснить растормаживанием нисходящих путей, идущих от стриатума к продолговатому мозгу.

Поскольку ГАМК преобладает в мелкоклеточной части красного ядра [20], исследования проводились в условиях микроинъекций медиатора в вышеуказанную структуру. При этом наблюдалось дозозависимое угнетение дыхания. Наибольшие отклонения величин исследуемых параметров паттерна дыхания от их исходных значений отмечались после микроинъекций растворов ГАМК в концентрации 10^{-4}М . При этом наблюдалось прогрессивное уменьшение частоты дыхания, достигавшее статистически достоверного значения на 10-й мин после микроинъекции. Величина данного параметра паттерна дыхания при этом уменьшалась на $11,42 \pm 2,47\%$, $p < 0,001$. Максимальное снижение частоты дыхания наступило на 15-й мин и составило $79,00 \pm 5,78\%$, $p < 0,01$ от своего первоначального значения. Параллельно со снижением частоты дыхания происходило увеличение длительности экспираторной фазы. На 10-й мин после микроинъекции 10^{-4}М раствора ГАМК длительность выдоха достоверно превышала исходное значение на $17,97 \pm 7,08\%$, $p < 0,05$, а через 5 мин изменения были максимальными, и этот показатель составил $136,72 \pm 17,07\%$, $p < 0,01$ по сравнению с исходным уровнем. Изменения длительности инспираторной фазы были незначительными и не достигали статистически-достоверных значений. Длительность дыхательного цикла увеличивалась, главным образом, за счет увеличения длительности экспираторной фазы. Это, в свою очередь, приводило к уменьшению доли вдоха в общей длительности цикла ("полезного цикла", T_i/T_t). Так, при использовании 10^{-4}М раствора ГАМК "полезный цикл" достоверно уменьшался на $9,49 \pm 4,07\%$, $p < 0,05$ через 10 мин после микроинъекции. Еще через 5 мин изменения

достигли максимального значения. Величина данного параметра паттерна дыхания при этом составила $81,65 \pm 6,53\%$, $p < 0,05$ от своего первоначального значения. Глубина дыхания при микроинъекциях в мелкоклеточную часть красного ядра 10^{-4}М , 10^{-6}М и 10^{-8}М растворов ГАМК имела тенденцию к уменьшению. Однако наблюдавшиеся при этом изменения не были статистически достоверными, и снижение легочной вентиляции, имевшее место в экспериментах, происходило, главным образом, за счет уменьшения частоты дыхания. Раствор ГАМК в концентрации 10^{-4}М вызывал прогрессивное снижение вентиляции легких вплоть до 15-й мин после микроинъекции. Достоверные различия данного показателя по сравнению с исходным уровнем наблюдались на 10-й мин после микроинъекции. Легочная вентиляция при этом уменьшалась на $18,48 \pm 4,66\%$, $p < 0,01$. Максимальные изменения были на 15-й мин. Вентиляция легких при этом составила $71,73 \pm 5,25\%$, $p < 0,01$ от своего первоначального значения. Наблюдавшееся в наших экспериментах снижение средней скорости экспираторного потока происходило, главным образом, за счет увеличения длительности экспираторной фазы. При микроинъекциях в мелкоклеточную часть красного ядра 10^{-4}М раствора ГАМК средняя скорость экспираторного потока достоверно уменьшалась на $21,99 \pm 4,77\%$, $p < 0,001$ через 10 мин после микроинъекции. Еще через 5 мин изменения были максимальными, и величина данного показателя составила $66,46 \pm 7,75\%$, $p < 0,01$ от исходного уровня.

Из вышеизложенного следует, что угнетение дыхания, наблюдавшееся в экспериментах, обусловлено, главным образом, изменениями временных показателей паттерна дыхания. Это, в свою очередь, приводило к уменьшению таких объемно-временных параметров паттерна дыхания, как вентиляция легких и средняя скорость экспираторного потока. Респираторные влияния со стороны красного ядра, вероятно, реализуются через рубро-ретикулярные волокна, которые, в свою очередь, образуют два пути, первый из которых – контралатеральный рубро-бульбарный тракт – является частью рубро-спинального тракта. Его волокна оканчиваются на нейронах латерального ретикулярного и парвоцеллюлярного ретикулярного ядер [13, 17, 19]. Волокна второго – рубро-ретикуло-оливарного тракта идут с ипсилатеральной стороны к нейронам ретикулярного гигантоклеточного ядра, а также орального и каудального ретикулярного ядер моста [24]. По данным некоторых авторов, латеральное и оральное ретикулярные ядра, а также ретикулярное гигантоклеточное ядро относятся к структурам бульбарного дыхательного центра [5, 9, 22].

В ходе исследования влияния микроинъекции ГАМК в область центрального, медиального и кортикального ядер миндалевидного комплекса установлено следующее. Микроинъекции ГАМК в концентрации 10^{-6}М в область центрального ядра вызывали увеличение глубины дыхания. Первоначальное увеличение данного показателя составило $32,38 \pm 7,24\%$, $p < 0,05$ на первой минуте после начала воздействия вещества, а к 10 мин значение дыхательного объема возросло уже до $70,0 \pm 8,15\%$, $p < 0,001$ от исходных значений, к тридцатой минуте величина рассматриваемого параметра снизилась до первоначальных значений. Аналогичным образом развивались изменения дыхательного объема и при воздействии ГАМК на медиальное и кортикальное ядра амигдалы. Однако в данном случае изменения исследуемого параметра были менее выраженными. Так, на первой минуте наблюдений величина дыхательного объема возросла на $13,49 \pm 1,68\%$, $p < 0,05$ и $14,25 \pm 3,02\%$, $p < 0,05$ при инъекции вещества в медиальное и кортикальное ядра соответственно. Максимального значения исследуемый параметр при воздействии на кортикальное ядро достиг к 10 мин наблюдения $22,70 \pm 4,27\%$, $p < 0,01$, а на медиальное ядро к 15 мин

$30,08 \pm 5,12\%$, $p < 0,01$. На этом уровне значение дыхательного объема удерживалось вплоть до 30 мин наблюдений, а затем происходило его снижение. Уменьшение продолжительности дыхательного цикла наблюдалось лишь при воздействии ГАМК на центральное ядро миндалевидного комплекса. Причем эффект развивался сразу же после начала введения вещества и уже на первой минуте воздействия данный параметр снизился на $49,30 \pm 6,14\%$, $p < 0,01$. В дальнейшем происходило постепенное восстановление исходной величины данного показателя, проявлявшееся в полной мере исходного уровня лишь через пятьдесят минут после фармакологического вмешательства. Существенных изменений длительности инспирации обнаружено не было, следовательно, изменение таких параметров паттерна дыхания, как длительность фазы экспирации и полезный цикл, было аналогичным динамике длительности дыхательного цикла. Воздействие ГАМК на область медиального и кортикального ядер не вызывало изменений длительности дыхательного цикла. Однако при этом происходило нарастающее увеличение инспираторной фазы дыхательного цикла начиная с 10 мин воздействия вещества. В этот момент времени данный показатель возрос на $12,12 \pm 1,87\%$, $p < 0,05$ и $9,98 \pm 1,05\%$, $p < 0,05$ для медиального и кортикального ядер соответственно. Нарастание эффекта продолжалось и достигло максимума на 30-й мин наблюдения, когда увеличение продолжительности фазы экспирации составило $31,82 \pm 2,18\%$, $p < 0,05$ и $26,74 \pm 3,11\%$, $p < 0,05$ для медиального и кортикального ядер соответственно. Затем происходило постепенное восстановление параметра. Таким образом, установлено, что воздействие ГАМК на ядра кортикомедиальной миндалины оказывает стимулирующее влияние на объемный компонент дыхательного паттерна, в то время как изменение временных показателей паттерна носило различный характер для разных ядер.

Полученные результаты можно объяснить опосредованным влиянием ГАМК-ергической системы миндалины на дыхание через ядро ложноконечной полоски, которое связано не только с лимбическими структурами, непосредственно участвующими в регуляции вегетативных функций, но также имеющее прямые проекции к ядру солитарного тракта [1, 6, 16, 23]. Кроме того, известно, что характер влияния миндалины на вегетативные функции зависит от ее функционального состояния [1, 16]. Следовательно, изменение уровня функциональной активности ГАМК-ергической системы исследуемых ядер приводит к обнаруженным нами респираторным реакциям.

Полученные в ходе нашего исследования данные указывают на многообразные и сложные влияния со стороны изучаемых структур на деятельность дыхательного центра. Так, респираторные влияния со стороны ГАМК-ергических структур мелкоклеточной части красного ядра выражались в основном в изменении временных параметров паттерна дыхания. Причем наиболее подвижной оказалась фаза экспирации. ГАМК-ергические влияния стриатума напротив приводили, в основном, к изменению объемных параметров паттерна дыхания, в то время как ГАМК-ергические влияния миндалины зависели от того, какая из структур амигдалы подвергалась воздействию ГАМК. Так, микроинъекции ГАМК во все изучаемые структуры миндалины приводили к изменению объемных показателей паттерна дыхания, а в центральное ядро – и временных.

Механизм реализации респираторных реакций, которые возникают при воздействии ГАМК на мелкоклеточную часть красного ядра, может объясняться наличием прямых связей последней со структурами бульбарного дыхательного центра. ГАМК-ергические механизмы участия стриатума и миндалины в регуляции дыхания представляются более сложными и многообразными.

Литература

- [1] Баклаваджян О.Г., Аветесян Э.А., Багдасарян К.Г. Нейрональная организация амигдало-висцеральной рефлекторной дуги // Успехи физиол. наук. 1996. Т.27. N3. С.51-77.
- [2] Блинков С.М., Никандров М.Г. Время реакции и дыхание. Механизм воздействия предупреждающего сигнала // Физиология человека. 1988. Т.14. N5. С.806-811.
- [3] Бреслав И.С. Паттерны дыхания. Физиология, экстремальные состояния, патология. Л., Наука. 1984.
- [4] Бродал А. Ретикулярная формация мозгового ствола. М.: Наука, 1960. С.99.
- [5] Вальдман А.В., Ма-Чуань Ген О функциональной организации бульбарного дыхательного центра // Физиол. журн. СССР им. И.М.Сеченова, 1964. Т.50. Вып.7. С.793-802.
- [6] Ильюченко Р.Ю., Тилинский М.А., Лоскутова А.В. Миндалевидный комплекс (связи, поведение, память). Новосибирск: Наука, 1981. 230с.
- [7] Конза Э.А., Фролова В.П. Установка для регистрации легочной вентиляции и механики дыхания лабораторных животных // Физиол. журн. СССР им. И.М. Сеченова. 1978. Т.64. N6. С.878-880.
- [8] Леонтович Т.А., Михальченко Н.А. Структура и связи базальных ганглиев. Стриатум / Успехи физиол. наук. 1997. Т.28. N1. С.3-26.
- [9] Ройтбак А.И. Локализация дыхательного центра и его взаимодействия с другими центральными механизмами // 9 съезд Всесоюз. об-ва физиологов, биохимиков и фармакологов. Минск: Звезда, 1959. Т.3. С.118-123.
- [10] Суворов Н.Ф. Базальные ганглии: структура и функции / Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 1997. Т.83. N1-2. С.71-90.
- [11] Bevan M.D., Smith A.D., Bolam J.P. The substantia nigra as a site of synaptic integration of functionally diverse information arising from the ventral pallidum and the globus pallidus in the rat / Neuroscience 1996. Nov. V.75. N10. P.5-12.
- [12] Cottessfeld Z., Jacobowitz D. M. Neurochemical and anatomical studies of GABA-ergic neurons. /Interactions between Putative Neurotransmitters in the Brain. Raven Press, 1978.
- [13] Edwards S. B. The ascending and descending projections of the red nucleus in the cat: an experimental study using an autoradiographic tracing method / Brain Res. 1972. V.48. N1. P.54-63.
- [14] Huang J., Sugihara C., Hehre D., Lin J., Bancaluri E. Effects of GABA receptor blockage on the respiratory response of hypoxia in sedated newborn piglets / J. Appl. Physiol. 1994. Aug. V.77. N2. P.1006-1010.
- [15] Kneussl M.P., Pappagianopoulos P., Hoop B., Kazemi H. Reversible depression of ventilation and cardiovascular function by ventriculocisternal perfusion with gamma-aminobutyric acid in dogs / Am. Rev. Respir. Dis. 1986. Jun; V.133. N6. P. 1024-1028.
- [16] Le Gal LeSalle G., Paxinos G., Emson P., Ben-Ari J. Neurochemical mapping of GABA-ergic system in the amygdaloid complex and bed nucleus of the stria terminalis / J. Comp. Neurol. 1973. V.152. N2. P.327-345.
- [17] Miller R.A., Strominger N. L. Efferent connections of the red nucleus in the brain stem and spinal cord of the Rhesus monkey / J. Comp. Neurol. 1973. V.152. N.2. P.327-345.

- [18] Mitchell R. A., Loeschcke H. H., Massion N. H., Severinghaus J. W. Respiratory responses mediated through superficial chemosensitive areas on the medulla / J. Appl. Physiol. 1963. V.18. N3. P.523-533.
- [19] Mizuno N., Mochizuki K., Akimoto A., Matsushima R., Nakamura J. Rubrobulbar projections in the rabbit. A light and electron microscopic study / J. Comp. Neurol. 1973. V.147. N2. P.267-280.
- [20] Nicoullon A., Dusticier N. Increased glutamate decarboxylase activity in the red nucleus of the adult cat after cerebellar lesions / Brain Res. 1981. V.224. P.129-139.
- [21] Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Sydney, 1986
- [22] Pearce G.W. Personal communication. Boston, 1956.
- [23] Smith B. S., Millhouse O.E. The connection between basolateral and central amygdaloid nuclei / Neurosci. Lett. 1985. V.56. N3. P.307-309.
- [24] Strominger N. L., Miller R. A. Efferent connections of the red nucleus in the brain stem and spinal cord of the rhesus monkey / Anat. Res. 1975. V.182. N3. P.452-460.
- [25] Yoneda Y., Kanmori K., Ida S., Kuriyama K. Stress-induced alterations in metabolism of gamma-aminobutyric acid in rat brain / J. Neurochem. 1983. Feb. V.40. N2. P.350-356.

Respiratory effects of GABA microinjected into the suprabulbary structures

L. Gluschenko, R. Zainulin, I. Fedortchenko²

Microinjections of GABA to the striatum, red nucleus and cortico-medial amygdala influenced to the respiratory pattern in rat. Breathing was mainly stimulated after GABA administration to the amygdala but inhibited after GABA administration to the parvocellular part of red nucleus. Effects of GABA administration to the striatum depended on the microinjection. An involvement of GABA-ergic suprabulbary mechanisms in the respiratory control is supposed.

²Lubov Gluschenko, Ruslan Zainulin, Irina Fedortchenko, department of human and animal physiology, Samara state university