

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ ТЕМНОГО ЯДРА ШВА (NUCLEUS RAPHE OBSCURUS) В ЦЕНТРАЛЬНЫХ МЕХАНИЗМАХ РЕГУЛЯЦИИ ДЫХАНИЯ

Д.Г. Краснов, А.Н. Инюшкин¹

В опытах на наркотизированных крысах исследованы реакции диафрагмальных и наружных межреберных мышц симметричных сторон грудной клетки при электрическом раздражении темного ядра шва (nucleus raphe obscurus). Электрическое раздражение данной структуры приводило к снижению частоты генерации залпов на электромиограммах инспираторных мышц вплоть до полного исчезновения активности за счет значительного увеличения длительности межзалпового интервала. Отмечено симметричное реагирование правых и левых инспираторных мышц. В статье обсуждаются предполагаемые механизмы участия темного ядра шва в механизмах центральной регуляции дыхания.

Введение

Все возрастающее количество фактов указывает на то, что нейроны ядер шва продолговатого мозга (ЯШ) активно включены в механизмы центральной регуляции дыхания. Так, в работах, выполненных на кошках и кроликах, показано, что электрическое или химическое раздражение этих образований вызывает развитие выраженных респираторных реакций [4,5,11,12,19,20,23-24,28-31]. В ЯШ обнаружены нейроны с активностью, синхронной фазам дыхания [10,16,17,22]. Относительно недавно опубликованы данные, говорящие о возможности прямого участия ЯШ в механизмах центральной хеморецепции [4]. Наконец, нейроанатомическими и физиологическими исследованиями выявлены обширные связи между данными структурами и нейронами вентральной, дорсальной дыхательных групп, нисходящие проекции к мотонейронам диафрагмы [5-8,13,15,17,21,22,26,29].

Однако нужно отметить, что относительно функциональной роли ЯШ в центральных механизмах регуляции дыхания все еще сохраняется неопределенность. Имеющиеся в литературе данные малочисленны, разнородны и противоречивы. Так, до настоящего времени выполнены лишь единичные исследования респираторных влияний ЯШ у крысы [4,25]; совершенно не затрагивался вопрос о значении ЯШ в регуляции дыхания с позиций билатеральной организации дыхательного центра. Все это и определило необходимость настоящего исследования, в котором изучен характер изменений электрической активности диафрагмальных и наружных межреберных мышц правой и левой сторон грудной клетки при электрическом раздражении одного из ЯШ - nucleus raphe obscurus (nROb).

¹Краснов Дмитрий Геннадиевич, Инюшкин Алексей Николаевич, кафедра физиологии человека и животных, Самарский государственный университет

1. Методика исследования

Работа выполнена на 12 белых беспородных крысах обоего пола массой 230-280 г, наркотизированных нембуталом (70 мг/кг, внутривенно). Голову животного фиксировали в положении вентрального сгибания и обнажали дорсальную поверхность продолговатого мозга. Для электрического раздражения использовали биполярные игольчатые стальные или вольфрамовые электроды. Диаметры изолированных кончиков составляли 10 мкм, межэлектродное расстояние - 200 мкм. Электроды погружали в мозг по средней линии на уровне обх с шагом около 325 мкм. На каждом уровне погружения производили раздражение прямоугольными импульсами постоянного тока (0,1 мс, 100 мкА, 100 Гц) в течение 5 с. По респираторным эффектам определяли наиболее реактивную точку. Изменяя параметры раздражения этой точки (0,1 мс, 10-300 мкА, 100 Гц, 5-30 с), исследовали изменения электрической активности инспираторных мышц.

Электрическое раздражение и усиление биопотенциалов осуществляли при помощи электромиографа "Medicor M42" (Венгрия). В ряде опытов получали интегрированные производные электромиограмм (R-C фильтр с постоянной времени около 100 мс) и вели магнитную запись сигналов. Регистрацию электромиограмм производили на самописце НЗ38-6.

В ходе эксперимента ректальная температура животного поддерживалась на уровне $37 \pm 1^\circ\text{C}$.

Данные обрабатывались статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

2. Результаты исследования

Наиболее отчетливые изменения активности инспираторных мышц получены при электрическом раздражении точки, расположенной в продолговатом мозге крысы на средней линии на уровне обх на глубине около 2,1 мм от дорсальной поверхности мозга. Это соответствует точке в пROb с координатами Р 13.6, L 0, V 9.8 по атласу [27].

Раздражение пROb в этой области с силой тока 20-80 мкА приводило к значительному (на 20-110 % от исходного уровня) снижению частоты следования залпов на электромиограммах диафрагмальных и наружных межреберных мышц (рис.1).

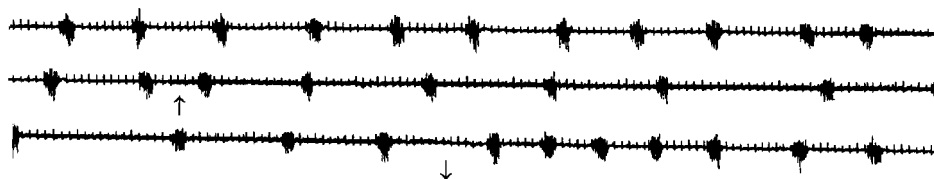


Рис.1. Электромиограмма диафрагмальной мышцы при электрическом раздражении пROb с силой тока 40 мкА. Стрелками показаны моменты начала и окончания раздражения

Выраженность реакций инспираторных мышц находилась в прямой зависимости от интенсивности раздражения. Снижение частоты залповой активности почти полностью обуславливалось значительным достоверным удлинением межзалпового

интервала. Изменения средней длительности залпа были незначительны по степени выраженности и разнонаправлены. Для средних частоты и амплитуды осцилляций в залпе или для средней амплитуды на интегрированных электромиограммах также не отмечено ни достоверного роста, ни достоверного уменьшения величин данных показателей.

Раздражение nROb с силой тока 200-300 мкА приводило к полному исчезновению спонтанной активности на электромиограммах диафрагмальных и наружных межреберных мышц в течение всего периода раздражения (рис.2).

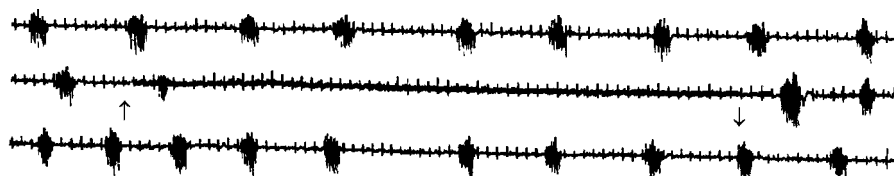


Рис.2. Электромиограмма диафрагмальной мышцы при электрическом раздражении nROb с силой тока 200 мкА. Стрелками показаны моменты начала и окончания раздражения

Если сила тока была меньше (100-180 мкА), то после первоначального периода полного отсутствия активности инспираторных мышц на электромиограммах появлялась все возрастающая по амплитуде тоническая активность (рис.3). В одном случае на фоне такой тонической активности мы наблюдали возникновение ритмичных залповых разрядов.



Рис.3. Электромиограмма диафрагмальной мышцы при электрическом раздражении nROb с силой тока 140 мкА. Стрелками показаны моменты начала и окончания раздражения

После прекращения раздражения спонтанная залповая активность дыхательных мышц во всех опытах восстанавливалась. При этом первые дыхательные циклы характеризовались некоторым увеличением амплитуды осцилляций в залпе и/или укорочением межзалпового интервала по сравнению с исходным состоянием.

Нужно отметить, что при статистическом анализе не было выявлено достоверных различий между реакциями диафрагмальных и наружных межреберных мышц (рис.4), а также между реакциями дыхательных мышц правой и левой сторон грудной клетки.

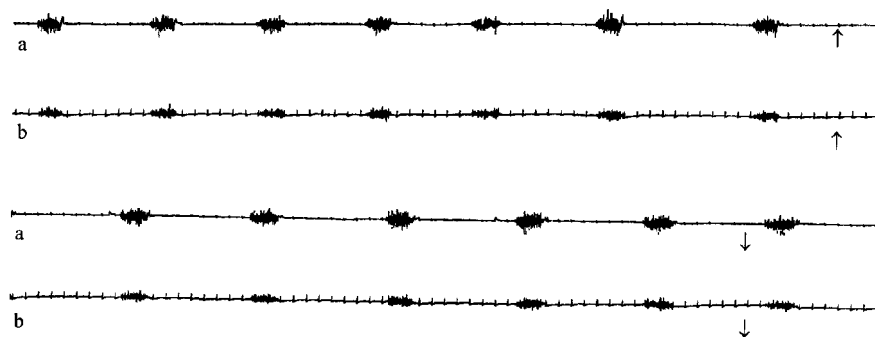


Рис.4. Электромиограммы диафрагмальной (а) и наружных межреберных мышц (b) правой стороны грудной клетки при электрическом раздражении pROb с силой тока 40 мкА. Стрелками показаны моменты начала и окончания раздражения

3. Обсуждение результатов

Значительное удлинение межзальпового интервала и отсутствие достоверных изменений длительности залпа и его частотно-амплитудных характеристик при раздражении pROb дают основание утверждать, что у крыс функциональная роль данного ядра состоит в пролонгировании экспираторного торможения центральной инспираторной активности [9] без существенного влияния на параметры последней. Данное положение хорошо согласуется с фактом о наличии в ЯШ крысы большой популяции постинспираторных и экспираторных нейронов [17].

На основании анализа результатов исследования и данных литературы [6,8,13,15] можно предположить, что реализация респираторных влияний pROb осуществляется посредством изменения функционального состояния нейронов вентральной и дорсальной дыхательных групп. Однако также возможно и прямое влияние pROb на активность мотонейронов инспираторных мышц. В пользу такого предположения говорят данные о регистрации низкопороговых коротколатентных антидромных ответов дыхательных нейронов ЯШ крысы при раздражении двигательного диафрагмального ядра [17] и о существовании прямых нисходящих диафрагмальных проекций ЯШ [7,14,26]. Однако в общем числе на долю волокон от ЯШ приходится лишь 1,1 % [26], что в сравнении с количеством проекций от вентральной и дорсальной дыхательных групп крайне мало.

Известно, что ЯШ являются основным источником серотонина в стволе мозга. При этом в ряде работ [3,18] показано, что в одних и тех же нейронах ЯШ совместно с серотином локализуются и нейропептиды: тиролиберин и субстанция Р. Как правило, порядок высвобождения нейроактивных веществ из пресинаптической терминали и картина эффектов последующих пре- и постсинаптических реакций определяются параметрами раздражения. Появление тонической активности на электромиограммах инспираторных мышц, отмеченное при электрическом раздражении pROb, напоминает картину реакций, описанную нами ранее при микроинъекциях тиролиберина в комплекс пре-Бетцингера [1]. Это наблюдение и данные о наличии у крысы проекций, содержащих серотонин и субстанцию Р, от pROb к структурам дыхательного центра, дают все основания предполагать, что в качестве синаптических посредников в передаче влияний pROb выступают серотонин, тиролиберин и субстанция Р.

Кратковременное гиперпноэ после прекращения раздражения, а также возникновение залпов инспираторных мышц на фоне тонической активности, с нашей точки зрения, вызваны возросшим хеморецепторным стимулом. Изменение респираторного ответа на электростимуляцию nROb ранее продемонстрировано на искусственно вентилированных кошках при вдыхании гиперкапнической или гипоксической смеси [20].

При электрическом раздражении nROb крысы не наблюдается развития ни качественных, ни количественных асимметрий дыхания. Симметричное реагирование дыхательных мышц правой и левой половин грудной клетки указывает на "равнозначность" у крыс функциональных связей между nROb и симметричными структурами дыхательного центра.

В целом, реакции дыхательной системы крысы на электрическое раздражение nROb вполне сопоставимы с данными, полученными на других объектах исследования. К выводу о тормозном, угнетающем влиянии nROb на дыхание пришло большинство экспериментаторов, работавших на кошках, кроликах и на препаратах ствола мозга грызунов *in vitro* [2,19-21,23,25]. Для кошки отмечено также и симметричное реагирование правого и левого эфферентных звеньев дыхательной системы при стимуляции nROb [12]. Однако в отдельных работах описаны стимулирующие респираторные эффекты электрического раздражения nROb. В частности, в исследованиях, выполненных на обездвиженных, искусственно вентилируемых кошках, при электрическом или химическом раздражении данного ядра наблюдалось значительное увеличение как частоты, так и амплитуды интегрированной активности диафрагмального нерва [11,12]. Длительное (до 10 мин) воздействие вызывало эффект "длительного облегчения" дыхания. Последнее выражалось в значительном и продолжительном (свыше 30 мин) усилении активности диафрагмального нерва [24]. В настоящей работе представлены данные, полученные при электрическом раздражении каудальной части nROb крысы. Не исключено, что направленность реакций инспираторных мышц может определяться локализацией области раздражения в пределах nROb. Для проверки данного предположения необходимы дополнительные исследования.

В целом, можно заключить, что nROb активно включено в центральные механизмы регуляции дыхания. Функциональная роль данного ядра состоит в пролонгировании экспираторного торможения центральной инспираторной активности. При этом между nROb и симметричными структурами дыхательного центра существуют "равнозначные" функциональные связи.

Литература

- [1] Инюшкин А.Н., Меркулова Н.А., Чепурнов С.А. Комплекс пре-Бетцингера участвует в реализации респираторных эффектов тиролиберина //Рос. физиол. журн. им И.М. Сеченова 1998. Т.84. N4. С.285-292.
- [2] Al-Zubaidi Z.A., Erickson R.L., Greer J.J. Serotoninergetic and noradrenergetic effects on respiratory neural discharge in the medullary slice preparation of neonatal rat //Pflugers Arch. 1996. Apr; V.431. N.6. P.942-949.
- [3] Arvidsson U., Cullheim S., Ulfhake B., Luppi P.H. Kitahama K., Jouvent M., Hokfelt T. Quantitative and qualitative aspects on the distribution of 5-HT and its coexistence with substance P and TRH in cat ventral medullary neurons //J. Chem. Neuroanat. 1994. Jul; V.7. N.1-2. P.3-12.

- [4] Bernard D.G., Li A., Nattie E.E. Evidence for central chemoreception in the midline raphe //J. Appl. Physiol. 1996. Jan; V.80. N.1. P.108-115.
- [5] Budzinska K., Romaniuk J.R. The role of raphe and tractus solitarius neuronal structures in the modulation of respiratory pattern in rabbits //Acta Neurobiol. Exp. 1995. V.55. N.3. P.155-164.
- [6] Connelly C.A., Ellenberger H.H., Feldman J.L. Are there serotonergic projections from raphe and retrorapizoid nuclei to the ventral respiratory group in the rat? //Neurosci. Lett. 1989. Oct 23; V.105. N.1-2. P.34-40.
- [7] Dobbins E.G., Feldman J.L. Brainstem network controlling descending drive to phrenic motoneurons in rat //J. Comp. Neurol. 1994. Sep 1; V.347. N.1. P.64-86.
- [8] Ellenberger H.H., Feldman J.L. Brainstem connections of the rostral ventral respiratory group of the rat //Brain Res. 1990. Apr 9; V.513. N.1. P.35-42.
- [9] Euler C. Brain stem mechanisms for generation and control of breathing pattern //Handbook of Physiology. The Respiratory System. Control of Breathing., Washington, DC: Am. Physiol. Soc., 1986, sect. III. V.II. P.1-67.
- [10] Gilbey M.P., Futuro-Neto H.A., Zhou S.Y. Respiratory-related discharge patterns of caudal raphe neurones projecting to the upper thoracic spinal cord in the rat //J. Auton. Nerv. Syst. 1995. Jan 3; V.50. N.3. P.263-273.
- [11] Holtman JR. Jr., Anastasi N.C., Norman W.P., Dretchen K.L. Effect of electrical and chemical stimulation of the raphe obscurus on phrenic nerve activity in the cat //Brain Res. 1986. Jan 8; V.362. N.2. P.214-220.
- [12] Holtman JR.Jr., Dick T.E., Berger A.J. Involvement of serotonin in the excitation of phrenic motoneurons evoked by stimulation of the raphe obscurus //J. Neurosci. 1986. Apr; V.6. N.4. P.1185-1193.
- [13] Holtman JR.. Jr., Marion L.J., Speck D.F. Origin of serotonin containing projections to the ventral respiratory group in the rat //J. Neurosci.1990.V.37.N.2.P.541-552.
- [14] Holtman JR.Jr., Norman W.P., Gillis R.A. Projections from the raphe nuclei to the phrenic motor nucleus in the cat //Neurosci. Lett. 1984. Jan 27; V.44. N.1. P.105-111.
- [15] Holtman JR.Jr., Speck D.F. Substance P immunoreactive projections to the ventral respiratory group in the rat //Peptides 1994. V.15. N.5. P.803-806.
- [16] Hosogai M., Matsuo S., Nakao S. Firing pattern and location of respiratory neurons in cat medullary raphe nuclei //Neurosci. Lett. 1993. Oct 29; V.161.N.2.P.149-152.
- [17] Hosogai M., Matsuo S., Sibahara T., Kawai Y. Projection of respiratory neurons in rat medullary raphe nuclei to the phrenic nucleus //Respir. Physiol. 1998. Apr; V.112. N1. P.37-50.
- [18] Jonson H., Ulfhake B., Dagerlind A., Bennet G.W., Fone K.C., Hokfelt T. The serotonergic bulbospinal system and brainstem-spinal cord content of serotonin-, TRH-, and substance P- like immunoreactivity in the aged rat with special reference to the spinal cord motor nucleus //Synapse 1993. Sep; V.15. N.1. P.63-89.
- [19] Kumaido K. Studies on the respiratory control mechanism of medullary raphe nuclei and their serotonergic system //No. To. Shienkei 1988. Oct; V.40. N.10. P.929-938.
- [20] Lalley P.M. Responses of phrenic motoneurons of the cat to stimulation of medullary raphe nuclei //J. Physiol. (Lond). 1986. Nov; V.380. P.349-371.
- [21] Lalley P.M., Benacka R., Bischoff A.M., Richter D.W. Nucleus raphe obscurus evokes 5-HT-1A receptor-mediated modulation of respiratory neurons //Brain Res. 1997. Jan 30; V.747. N.1. P.156-159.

- [22] Lindsey B.G., Seger L.S., Morris K.F., Hernandez Y.M., Saporta S., Shannon R. Distributed actions and dynamic associations in respiratory related neuronal assemblies of the ventrolateral medulla and brain stem midline: evidence from spike train analysis //J. Neurophysiol. 1994. Oct; V.72. N.4. P.1830-1851.
- [23] Man H.Y., Liu L. Effect of electrical and L-glutamate stimulation of nucleus raphe obscurus on phrenic nerve activity in rabbits //Sheng. Li. Hsueh. Pao. 1992. Feb; V.44. N.1. P.92-97.
- [24] Millhorn D.E. Stimulation of raphe (obscurus) nucleus causes long-term potentiation of phrenic nerve activity in cat //J. Physiol. (Lond). 1986. Dec; V.381. P.169-179.
- [25] Morin D., Hennequin S., Monteau R., Hilaire G. Depressant effect of raphe stimulation on inspiratory activity of the hypoglossal nerve: in vitro study in the newborn rat //Neurosci. Lett. 1990. Aug 24; V.116. N.3. P.299-303.
- [26] Onai T., Miura M. Projections of supraspinal structures to the phrenic motor nucleus in cats, studied by a horseradish peroxidase microinjection method //J. Auton. Nerv. Syst. 1986. May; V.16. N.1. P.61-77.
- [27] Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Sydney, 1986.
- [28] Richard C.A., Stremel R.W. Involvement of the raphe in the respiratory effects of gigantocellular area activation //Brain Res. Bull. 1990. Jul; V.25. N.1. P.19-23.
- [29] Sessle B.J., Ball G.J., Lucier G.E. Suppressive influences from periaqueductal gray and nucleus raphe magnus on respiration and related reflex activities and on solitary tract neurons, and effect of naloxone //Brain Res. 1981. Jul 6; V.216. N.1. P.145-161.
- [30] Yen C.T., Hwang J.C. Control of phrenic nerve activity and blood pressure by medullary raphe nuclei in cats //Proc. Natl. Sci. Counc. Repub. China[B]. 1989. Apr; V.13. N.2. P.89-96.
- [31] Zhang Y.M., Li P., Lovick T.A. Role of the nucleus raphe obscurus in the inhibition of rostral ventrolateral medullary neurons induced by stimulation in ventrolateral periaqueductal grey matter of the rabbit //Neurosci. 1994. Sep; V.62. N.1. P.177-187.

THE FUNCTIONAL ROLE OF THE NUCLEUS RAPHE OBSCURUS IN THE RESPIRATORY CONTROL

D. Krasnov, A. Inyushkin²

We studied the effects of electrical stimulation of nucleus raphe obscurus (nROb) on phrenic (Phr) and external intercostal muscles (EI) electromiograms in anaesthetised spontaneously breathing rats. Stimulation of nROb (0.1 ms, 20-80 microA, 100 Hz, 5-30 s) produced inhibition of bursting inspiratory activity. A significant lengthening of the interbursting interval was observed, whereas bursting time and integrated Phr and EI amplitudes were only slightly influenced in both right and left Phr and EI. Stimulation of nROb by a high current intensity (200-300 microA) produced a complete cessation of Phr and EI activities. The involvement of nROb in the respiratory control is discussed.

²Dmitri Krasnov, Alexey Inyushkin, departament of human and animal physiology, Samara state university