

БИОЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ИНСПИРАТОРНОЙ МУСКУЛАТУРЫ ПРИ МИКРОИНЪЕКЦИЯХ ХОЛИНОАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В РАЗЛИЧНЫЕ ОБЛАСТИ АМБИГУАЛЬНОГО ЯДРА У КРЫС

Н.А. Меркулова, Л.И. Сергеева, Ю.В. Иванова¹

В острых опытах на крысах методом микроинъекций холиноактивных веществ в различные отделы амбигуального ядра (п. Ambiguus) выявлена специфика медиаторной ориентации исследуемых участков левой половины дыхательного центра, особенности эфферентных связей каждого из них с моторными центрами дыхательных мышц гомо- и контралатеральных половин спинного мозга, а также функциональные отличия между исследуемыми структурами, проявляющиеся в их влиянии на эффекторном уровне.

Введение

Проблема единства функционирования частей мозга многие годы находится в зоне особого внимания ученых. Одним из перспективных направлений в раскрытии закономерностей деятельности структур головного мозга является изучение их нейрохимической природы. Вопросы взаимодействия нейрохимических и чисто нервных факторов в работе, в частности, неспецифических систем мозга (ретикулярная формация различного уровня ствола) все больше привлекают внимание нейрофизиологов. Существенной чертой исследований в этом направлении явилось то, что функциональные механизмы рассматриваются в связи с конкретными структурами.

По современным представлениям бульбарный дыхательный центр (ДЦ) – это сложное образование, включающее в себя различные нейронные группировки, сложные по своему морфо-функциональному составу. В настоящее время локализация дыхательных нейронов, ритм залповой активности которых совпадает с фазами дыхания – зарегистрирована в пяти функционально различных отделах ДЦ: дорсальная дыхательная группа, ростральная область вентральной дыхательной группы, каудальная область вентральной дыхательной группы, комплекс Бетцингера и комплекс пре-Бетцингера. В частности, основной компонент вентральной дыхательной группы ядер – амбигуальное ядро состоит из нескольких частей [1], так, в нем различают более каудальную область, образованную ядром лицевого нерва, срединную и более ростральную, являющуюся ядром языкоглоточного нерва.

¹ Нина Андреевна Меркулова, Людмила Иосифовна Сергеева, Юлия Валентиновна Иванова, кафедра физиологии человека и животных, Самарский государственный университет

Однако, до настоящего времени не существует однозначного ответа на многие ключевые вопросы, в частности, о механизмах интеграции ядерных образований ДЦ при выполнении ими общей функции. Трудрами многих ученых доказано, что холинергическая медиация является одной из ведущих в регуляции висцеральных функций, в том числе и функции дыхания [2-8]. Возможно, анализ нейрохимической ориентации отдельных респираторных ядер и их различных областей позволит получить новые данные для дальнейшего развития представлений о морфо-функциональной организации ДЦ и механизмах, лежащих в основе взаимоотношений его структур. Целью настоящей работы явилось изучение особенностей реакций мышц вдоха симметричных межреберий при унилатеральном изменении уровня активности холинчувствительных элементов ростральной, срединной и каудальной частей одного из комплекса респираторных ядер – п. Ambiguus.

1. Методика исследования

Работа выполнена на 24 крысах обоего пола массой 100-250г, наркотизированных нембуталом (75 мг/кг, внутривенно). Голову животного закрепляли в стереотаксическом приборе в положении вентрального сгибания. Доступ к дорсальной поверхности ПМ осуществляли путем частичного удаления костей крыши черепа через атланта-окципитальное отверстие. Холиноактивные вещества (ацетилхолин и центральный Н-холиноблокатор пентамин или спазмолитин) инъецировали с помощью микрошприца МШ-1 через стеклянную микропипетку с диаметром кончика около 20 мкм. Пипетку вводили в район исследуемых областей п. Ambiguus (ростральную, срединную и каудальную часть) в соответствии с координатами стереотаксического атласа [9]. Характер дозозависимых эффектов выявляли методом микроинъекции 10^{-12} и 10^{-6} М растворов ацетилхолина в срединную область п. Ambiguus. Унилатеральное изменение уровня активности холинчувствительных элементов исследуемых областей п. Ambiguus осуществляли последовательным введением 0,2мкл 10^{-6} М растворов ацетилхолина и центрального Н-холиноблокатора (спазмолитина или пентамина). Регистрацию активности наружных межреберных мышц производили с помощью биполярных игольчатых электродов через электромиограф "Medicor M-21" на фотобумагу. Запись осуществляли до воздействия фармакологических агентов, а затем с интервалом 5 мин на фоне тридцатиминутного влияния ацетилхолина и 15-минутного действия центрального Н-холиноблокатора.

На электромиограмме анализировались следующие параметры: длительность залпа, с; продолжительность межзалпового интервала, с; амплитуда осцилляций в залпе, мкА; частота осцилляций, имп/сек; частота дыхания – количество дыхательных актов в минуту, доля вдоха – полезный цикл. Данные обработаны статистически методом прямых разностей.

2. Результаты исследования

Анализ изменений характеристик биоэлектрической активности наружных межреберных мышц выявил особенности дозозависимых эффектов после микроинъекций 10^{-12} и 10^{-6} М растворов ацетилхолина в срединную область левого амбигуального ядра. Регистрируемые в условиях микроинъекции раствора низкой концентрации реакции дыхательной мускулатуры развивались медленнее и были ме-

нее выражены, по сравнению с таковыми после введения более концентрированного раствора. Максимальные отклонения показателей электромиограммы отмечены в табл. 1.

Таблица 1

Изменения (в процентах от исходных значений) параметров биоэлектрической активности наружных межреберных мышц при введении 10^{-12} и 10^{-6} М растворов ацетилхолина

Параметр ЭМГ	Ацетилхолин 10^{-12}		Ацетилхолин 10^{-6}	
	левая ЭМГ	правая ЭМГ	левая ЭМГ	правая ЭМГ
Длительность залпа	38,3**	10*	66,6**	20,6**
Межзалповый интервал	69,6**	76,6**	130***	146,6***
Амплитуда осцилляций	-15**	15*	-25,6**	55**
Частота осцилляций	-16,4**	-9,5*	-14,7*	-11*

Примечание: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Таким образом, в условиях активации холинергических структур исследуемого участка доминировали сдвиги характеризующие ослабление исходной электрической активности дыхательных мышц, описанный эффект носил выраженный дозозависимый характер.

Результаты опытов, где инъекции ацетилхолина в различные участки левого п. Ambiguus предшествовали введению центрального Н-холиноблокатора показывают, что в этих условиях существенно менялось функциональное состояние ДЦ, о чем свидетельствует динамика всех параметров электрической активности.

Так, первое введение экзогенного ацетилхолина в ростральную область левого п. Ambiguus оказывало преимущественно тормозное влияние на деятельность ДЦ, что отмечено в максимальных сдвигах характеристик электромиограммы (табл. 2).

Таблица 2

Изменения (в процентах от исходных значений) параметров биоэлектрической активности наружных межреберных мышц при введении 10^{-6} М растворов холиноактивных веществ в ростральную область левого п. Ambiguus

Параметр ЭМГ	Ацетилхолин		Пентамин		Ацетилхолин	
	левая ЭМГ	правая ЭМГ	левая ЭМГ	правая ЭМГ	левая ЭМГ	правая ЭМГ
Длительность залпа	47,4**	29,7*	36,2**	38,5**	-8,2*	-6,5*
Межзалповый интервал	82,9**	86,7**	97,7***	103,2***	24,3**	25,1**
Амплитуда осцилляций	-6*	6,1*	9,2*	8,3*	42,3**	37,4**
Частота осцилляций	-39,6**	-39,4**	-39,5**	-42,5**	-10,6*	-9,1*

Примечание: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Последующая инъекция пентамина в эту же область характеризовалась сохранением направленности изменений параметров электрической активности, но в количественном отношении эти сдвиги характеристик были более выражены. (табл. 2). Заключительное введение раствора ацетилхолина на фоне предполагаемой блокады Н-холинорецепторов повлекло за собой совсем иные изменения показателей электромиограммы, которые можно охарактеризовать как активацию деятельности ДЦ – приближение показателей активности дыхательных мышц к исходному уровню.

Анализ совокупности изменений, отмеченных в условиях микроинъекции экзогенных холиномиметика и холинолитика в срединную часть левого п. Ambiguus, показывает, что, в частности, первая инъекция 10^{-6} М раствора ацетилхолина приводила к снижению исходной активности исследуемых инспираторных мышц; последующее введение Н-холиноблокатора характеризовалось преимущественно стимулирующим влиянием на деятельность наружных межреберных мышц; а заключительная инъекция ацетилхолина повлекла за собой выраженную качественную смену направленности эффекта – стимуляцию активности инспираторных мышц и функции дыхания. Максимальные значения описанных эффектов представлены в табл. 3.

Таблица 3

Изменения (в процентах от исходных значений) параметров биоэлектрической активности наружных межреберных мышц при введении 10^{-6} М растворов холиноактивных веществ в срединную область левого п. Ambiguus

Параметр ЭМГ	Ацетилхолин		Спазмолитин		Ацетилхолин	
	левая ЭМГ	правая ЭМГ	левая ЭМГ	правая ЭМГ	левая ЭМГ	правая ЭМГ
Длительность залпа	66,6**	20**	5,4*	-9,8*	67,5**	51,2**
Межзалповый интервал	130***	146,6***	-5,8*	-12*	-49,8**	-51,2**
Амплитуда осцилляций	-25,6**	55**	-7,3*	-9,1*	-12*	-4,4
Частота осцилляций	-14,7*	-11*	55**	63,3**	58,5**	59,7**

Примечание: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Оценка изменений параметров электромиограммы в условиях микровведений растворов холиноактивных веществ в каудальную область левого п. Ambiguus выявила однонаправленный характер сдвигов показателей активности наружных межреберных мышц после каждой из инъекций. Если первое введение ацетилхолина приводило к преимущественному угнетению функции дыхания, последствия инъекции пентамина также можно описать как преимущественное торможение активности дыхательной мускулатуры, то заключительное микровведение раствора ацетилхолина на фоне предполагаемой блокады центральных Н-холинорецепторов характеризуется более выраженными количественными сдвигами параметров электромиограммы (табл.4).

Таблица 4

Изменения (в процентах от исходных значений) параметров биоэлектрической активности наружных межреберных мышц при введении 10^{-6} М растворов холиноактивных веществ в кадуальную область левого п. Ambiguus

Параметр ЭМГ	Ацетилхолин		Пентамин		Ацетилхолин	
	левая ЭМГ	правая ЭМГ	левая ЭМГ	правая ЭМГ	левая ЭМГ	правая ЭМГ
Длительность залпа	38,2**	32,7**	23**	22,1**	12,5*	-20**
Межзалповый интервал	44,2**	35,7**	8,2*	28,7**	15,1*	18,8**
Амплитуда осцилляций	-10,3*	7,1	7,8*	1,8	14,5*	9,2*
Частота осцилляций	-21**	-42,4**	-15,6*	-21,4**	8,5*	29,14**

Примечание: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

3. Обсуждение результатов исследования

Сам факт, что изменение функционального состояния левого амбигуального ядра вызывало реакции наружных межреберных мышц, подтверждает высказываемую рядом авторов [10, 11] точку зрения о наличии эфферентных связей данных нейронных группировок ДЦ со спинальными моторными центрами этих мышц.

Проявление в наших опытах эффектов действия нейротропных агентов позволяет констатировать холинергическую ориентацию, по крайней мере, части элементов исследуемых зон левого п. Ambiguus.

Выявленные различия эффектов, в зависимости от области воздействия (ростральная, срединная, каудальная) веществ медиаторной природы позволяют сделать заключение о функциональных отличиях между исследуемыми структурами амбигуального ядра в их влиянии на эффекторном уровне. Таким образом можно предположить различный характер участия холинергических систем этих областей в реализации компенсаторно-приспособительных возможностей дыхательного центра.

Унилатеральные химические воздействия характеризовались перестройками во взаимодействии между ядерными структурами ДЦ. На электромиограммах доминировали асимметрии, обусловленные более глубокими реакциями на одноименной с воздействием стороне. Колебания частотно амплитудных показателей характеризовались большим разнообразием и асимметрии определялись не только глубиной, но и качественными различиями ответов. Различия в количественной и качественной выраженности ответов билатеральных мышц служат свидетельством сложности эфферентных проекций нейронных элементов исследуемых участков на мотонейроны одноименной и противоположной половин спинного мозга.

Механизм действия экзогенного ацетилхолина на холинотропные образования п. Ambiguus в известной степени раскрывает результаты опытов, в которых введению ацетилхолина предшествовала инъекция спазмолитина. Тот факт, что центральный Н-холинолитик не устранял, но в значительной мере модулировал первоначальный эффект экзогенного ацетилхолина, позволяет предположить, что влияние

последнего на холиночувствительные нейроны исследуемых подъядер не ограничивается их Н-холинорецепторами. Реализация этого влияния может осуществляться как через другие участки синаптических структур, так и путем несинаптических механизмов. Возможность несинаптического влияния медиаторов, а также их агонистов и антагонистов, в последнее время широко обсуждается в литературе [4,12] и др. Принято считать, что действие биологически активных веществ проявляется по крайней мере в 3-х аспектах: влияние на синаптические механизмы, на хеморецепторы несинаптического типа и на метаболические процессы, играющие важную роль в функциональной активности нейронов [3-4, 12-14].

Сравнительный анализ реакций лево- и правосторонних инспираторных мышц в условиях унилатерального изменения уровня активности холинергических систем, а также характер и выраженность асимметрий дают основания говорить о различной степени включения и участия нейронов исследуемых подъядер в механизмах генерации ритма дыхания и регуляции его глубины.

Таким образом, в рамках проведенных экспериментов нами установлены новые детали, позволяющие говорить о функциональной неравнозначности отдельных зон левого п. Ambiguus.

Литература

- [1] Сергиевский М.В., Якунин В.Е. Электрофизиологическое исследование ядер медиальной и латеральной зон дыхательного центра. //Бюлл. exper. биол.и мед. 1983. N7. С.4-7.
- [2] Базаревич Г.Я., Богданович У.Я., Волкова И.Н. Медиаторные механизмы регуляции дыхания и их коррекция при экстремальных состояниях. Л.: Наука. 1979. 200с.
- [3] Беллер Н.Н., Блондинский В.К., Бусыгина И.И. и др. Холинергические механизмы регуляции висцеральных функций. Л.: Наука. 1986. 136с.
- [4] Денисенко П.П. Роль холинореактивных систем в регуляторных процессах. М.: Медицина. 1980. 290с.
- [5] Меркулова Н.А., Михайлова Н.Л., Сергеева Л.И. Деятельность дыхательного центра в условиях изменения функционального состояния некоторых гомотопных структур головного мозга: Сб. науч. тр. //Пути оптимизации функции дыхания при нагрузках в патологии и в экстремальных состояниях. Калинин. 1989. С.80-87.
- [6] Сергеева Л.И., Кузьмина В.Е. Участие холинергических систем в бульбарных механизмах регуляции дыхания // Физиол. жур. Сеченова. 1993. Т.79, N11. С.38-42.
- [7] Сергеева Л.И., Кузьмина В.Е. Роль адreno- и холинергических систем в бульбарных механизмах регуляции дыхания: Тезисы 1-го Российского конгресса по патофизиологии. М.: 1996. С.114.
- [8] Кульчицкий В.А. Функции вентральных отделов продолговатого мозга. Минск, 1993.
- [9] G. Paxinos, C. Watson. The rat brain in stereotaxic coordinates. Sydney: Academic Press, 1982
- [10] Гордиевская Н.А. Особенности влияния ядер латеральной и медиальной зон дыхательного центра на активность дыхательных мышц // Современные проблемы физиологии дыхания/ Кбш: КГУ. 1980. С.41-44.

- [11] Сергиевский М.В., Габдрахманов Р.Ш., Огородов А.М., и др. Структура и функциональная организация дыхательного центра. Новосибирск: НГУ. 1993. 192с.
- [12] Тринус Ф.П., Громов Л.А., Скрыма Р.Н. Клеточные и нейрохимические механизмы действия центральных холинолитиков //Достижения современной нейрофармакологии. Л, 1982. С.137-141.
- [13] Демин Н.Н. О немедиаторных эффектах ацетилхолина в нервной ткани //Все-союз. конференция по нейрохимии. Тбилиси, 1970. С.365.
- [14] Зефилов Л.Н., Тютюжикова В.Д. Ацетилхолин, как модулятор холинергической передачи // Нейромедиаторы в норме и патологии Казань, 1979. С.134-135

BIOELECTRICAL ACTIVITY OF THE INSPIRATORY MUSCLES AFTER MICROINJECTION OF THE CHOLIN-ACTIVE SUBSTANCES INTO DIFFERENT PARTS OF THE NUCLEUS AMBIGUUS OF RATS.

N. Merkulova, L. Sergeeva, Y. Ivanova²

The microinjections of cholin-active substances into different parts of the nucleus ambiguus were carried out in acute experiment in nonlinear rats. The analysis of the external interrib muscles reaction observed during this experiment allowed us to reveal some specific peculiarities of the mediator orientation of nucleus ambiguus parts of the left half of the respiratory centre and peculiarities of the efferent connections of each part with the respiratory muscles motor centre of the homo- and contra-lateral halves of the medulla oblongata. We also revealed functional differences between the structures of the left nucleus ambiguus displayed in their influence at the effector level.

²Nina Merkulova, Ludmila Sergeeva, Yulia Ivanova, departament of physiology of human and animals, Samara state university