

РЕАКЦИИ ДЫХАНИЯ НА МИКРОИНЪЕКЦИИ КАТЕХОЛАМИНОВ И ИХ АНТАГОНИСТОВ В ДВОЙНОЕ ЯДРО¹

© 2002 О.А. Ведясова, Л.И. Сергеева²

У наркотизированных крыс регистрировали электрическую активность инспираторных мышц при микроинъекциях адреналина, норадреналина, обзидана и аминазина в область двойных ядер дыхательного центра (ДЦ). Выявлена зависимость респираторных реакций от латерализации фармакологического воздействия, природы и концентрации инъецируемых агонистов и антагонистов катехоламинов. В статье обсуждаются возможность асимметричного представления катехоламинергических структур в двойных ядрах правой и левой половин ДЦ и особенности их вовлечения в бульбарные механизмы регуляции дыхания.

Введение

На сегодняшний день накоплено немало свидетельств участия катехоламинов (КА) в регуляции дыхания. Являясь важнейшими передатчиками возбуждения в центральных и периферических синапсах, они могут вовлекаться в деятельность всех звеньев дыхательной функциональной системы. Показано, что при колебаниях в организме содержания адреналина и норадреналина имеют место изменения рефлекторной возбудимости бульбарного дыхательного центра, электрической активности респираторных нейронов и мышц, величин объемов дыхания, уровня потребления кислорода и коэффициентов его использования [1–6]. При этом одни исследователи отмечают преимущественно угнетающее, другие — стимулирующее действие КА на функцию дыхания. Отсутствие единства во мнениях специалистов по данному вопросу объясняется различными причинами, в том числе тем, что конечная реакция дыхания в значительной степени зависит от способа введения адреноактивных веществ. Так, установлено, что при периферическом поступлении в организм они почти не проникают через гематоэнцефалический барьер и лишь в небольших количествах достигают мозговых структур [7]. В связи с этим наиболее перспективными для оценки места и роли КА в центральных механизмах респираторного контроля являются наблюдения с использованием методик локального подведения нейротропных соединений к отдельным ядрам дыхательного центра. В последние годы

¹ Представлена доктором биологических наук профессором А.Н. Инюшкиным.

² Ведясова Ольга Александровна (vedyas@ssu.samara.ru), Сергеева Людмила Иосифовна, кафедра физиологии человека и животных Самарского государственного университета, 443011, г. Самара, ул. Акад. Павлова, 1.

особое внимание исследователей направлено на изучение нейрохимической организации вентральной дыхательной группы, содержащей нейронные пулы, связанные с генерацией ритма и формированием паттерна дыхания [8–12].

В настоящей работе была поставлена задача определить значимость адреналина и норадреналина в медиаторной обеспеченности центральной регуляции дыхания на уровне двойного ядра (ДЯ).

Методика исследования

Для решения поставленной задачи в острых опытах на 56 белых крысах, наркотизированных этаминалом натрия (75 мг/кг, внутривенно) регистрировали респираторные эффекты на микроинъекции адреноактивных веществ в область ДЯ. Доступ к последнему осуществляли через трепанационное отверстие в затылочной кости черепа животного, голова которого закреплялась в стереотаксисе СЭЖ-3. Растворы адреналина (10^{-11} и 10^{-5} мг/мл), норадреналина (10^{-11} и 10^{-5} мг/мл), обзидана (10^{-3} мг/мл) и аминазина (10^{-5} мг/мл) в объеме 0,2 мкл вводили через стеклянную микропипетку с диаметром кончика 15–20 мкм с помощью микрошприца МШ-1 в указанное ядро правой или левой половин дыхательного центра в соответствии с координатной схемой мозга [13].

О реакциях дыхания судили по изменениям электроактивности наружных межреберных мышц симметричных межреберий, которую отводили биполярными игольчатыми электродами общепринятым способом с регистрацией на электромиографе "Medicor M-21". Запись суммарной электромиограммы (ЭМГ) проводили до воздействия, а затем через каждые 5 мин в течение получаса после введения нейротропного вещества. Осциллограммы анализировали по временным (длительность инспираторных залпов и интервалы между ними) и частотно-амплитудным характеристикам импульсных разрядов. С использованием величин временных показателей ЭМГ определяли частоту дыхательных движений и долю вдоха в дыхательном цикле.

Температуру тела подопытных животных поддерживали на постоянном уровне (ректальная температура $37,7 \pm 0,5^\circ\text{C}$).

Экспериментальные данные статистически обработаны.

Результаты исследования

Локальные введения в область ДЯ растворов адреналина и норадреналина вызвали отчетливые изменения исходной ЭМГ дыхательных мышц. При этом среди факторов, определяющих характер наблюдаемых эффектов, решающими оказались доза и латерализация воздействий фармакологических агентов. Микроаппликации растворов симпатомиметиков в правое ДЯ в низких концентрациях (10^{-11} мг/мл), как правило, вызывали усиление мощности залповых разрядов наружных межреберных мышц. Свидетельством тому служило увеличение на ЭМГ длительности инспираторных разрядов при введении адреналина и норадреналина соответственно на 27,4 и 42,1 % ($p < 0,05$) в сочетании с ростом средних значений амплитуды осцилляций в них на 40,4 и 51,9 % ($p < 0,05$). Что касается второго временного показателя активности дыхательных мышц — межзалпового интервала, то в разные сроки наблюдений он мог как несколько удлиняться, так и укорачиваться в пределах 10,0–20,0 % от первоначального уровня. Комплексная оценка таких изменений ЭМГ не выявила каких-либо заметных колебаний частоты дыхания по сравнению с

исходной, но вместе с тем показала значительное увеличение его эффективности, о чем свидетельствовал прирост доли вдоха, который составил около 30,0 % (рис. 1, осциллограммы 1 и 2).

Применение высоких концентраций (10^{-5} мг/мл) симпатомиметических веществ вызывало сопоставимые с действием малых доз изменения мощности активности инспираторной мускулатуры. Одновременно с этим прослеживалось закономерное и более выраженное нарастание межзалповых пауз (до 40,5 % от исходных величин), отражающих продолжительность фазы выдоха (рис. 1, осциллограмма 3). Отмеченные под влиянием катехоламинов реакции мышц вдоха позволяют говорить о некотором увеличении полезности дыхательного цикла на фоне урежения дыхания.

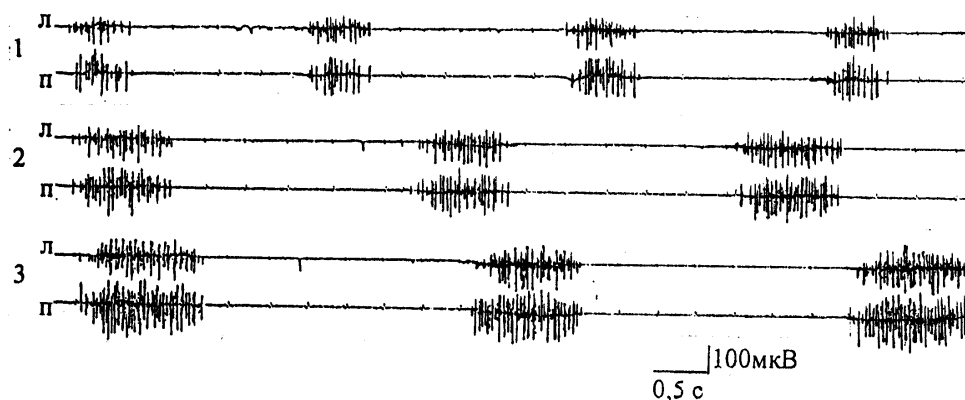


Рис. 1. Электроактивность наружных межреберных мышц левой (л) и правой (п) сторон грудной клетки в исходном состоянии (1) и при последовательных введениях растворов норадреналина в концентрациях 10^{-11} (2) и 10^{-5} (3) мг/мл в правое двойное ядро крысы

Существенным образом отличались от вышеописанных эффекты, полученные при введении адреналина и норадреналина в двух исследуемых концентрациях в область левого ДЯ продолговатого мозга крысы. В этих условиях среди всех анализируемых параметров ЭМГ в наибольшей степени изменялась продолжительность интервалов между инспираторными разрядами. После инъекций растворов экзогенных медиаторов даже в малых концентрациях обнаруживалась явная тенденция к значительному увеличению этого показателя. Эффект развивался во времени, максимально проявлялся в интервале от 10 до 15 мин после начала фармакологического воздействия и был однонаправленным на симметричных ЭМГ. В эти сроки интервал между залпами активности удлинялся в среднем на 36,5 % ($p < 0,05$) и прогрессивно нарастал при последующем увеличении концентрации действующих веществ. К 10 мин на фоне введения больших доз адреналина межзалповые паузы удлинялись в среднем на 62,6 % ($p < 0,01$), а после инъекции норадреналина более чем в два раза превышали исходные значения (рис. 2).

Изменение уровня активности адреноцептивных структур ДЯ антагонистами катехоламинов также могло сопровождаться как ослаблением, так и усилением деятельности дыхательных мышц. В условиях использования обзидана, известного β -адреноблокатора, на ЭМГ чаще отмечалось увеличение продолжительности и частотно-амплитудных характеристик залповых разрядов, что отражало домини-

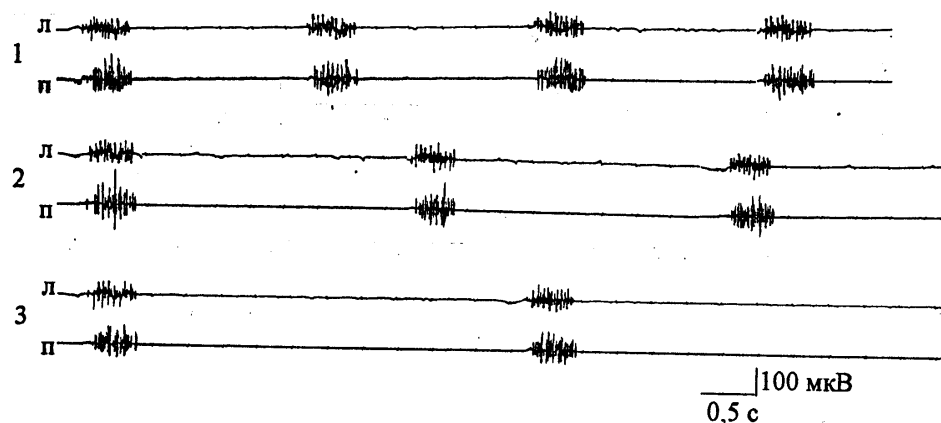


Рис. 2. Электроактивность наружных межреберных мышц левой (л) и правой (п) сторон грудной клетки в исходном состоянии (1) и при последовательных введениях растворов адреналина в концентрациях 10^{-11} (2) и 10^{-5} (3) мг/мл в левое двойное ядро крысы

рование облегчающих влияний на параметры фазы вдоха. С наибольшей закономерностью такой ответ развивался при левосторонних введениях β -адреноблокатора, вызывающих прирост доли инспирации в дыхательном цикле максимально на 31,8 % при $p < 0,01$ (рис. 3).

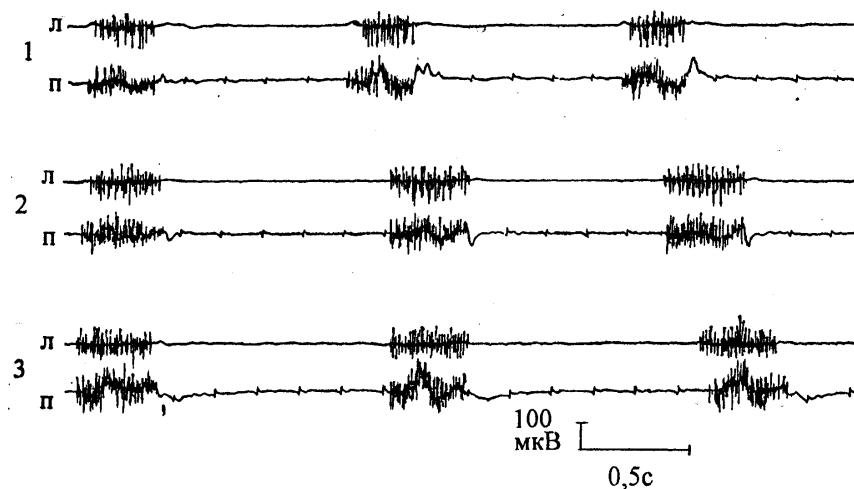


Рис. 3. Электроактивность наружных межреберных мышц левой (л) и правой (п) сторон грудной клетки в исходном состоянии (1), через 5 (2) и 15 (3) мин после введения раствора обзидана в левое двойное ядро крысы

Заметно более слабыми оказались респираторные реакции при микроинъекциях в ДЯ α -адреноблокатора аминазина. На этом фоне отклонения большинства показателей ЭМГ находились в пределах 5,0–15,5 % и, как правило, не достигали статисти-

чески достоверного уровня. При сравнительно незначительных изменениях функции дыхания под влиянием аминазина обращала на себя внимание способность последнего модулировать первоначальный эффект норадреналина. В случаях предварительной инъекции в правое ДЯ α -адреноблокатор усиливал реализацию стимулирующего действия норадреналина, а в левое — существенным образом ограничивал проявление типичного для этих условий тормозного влияния медиатора (рис. 4).

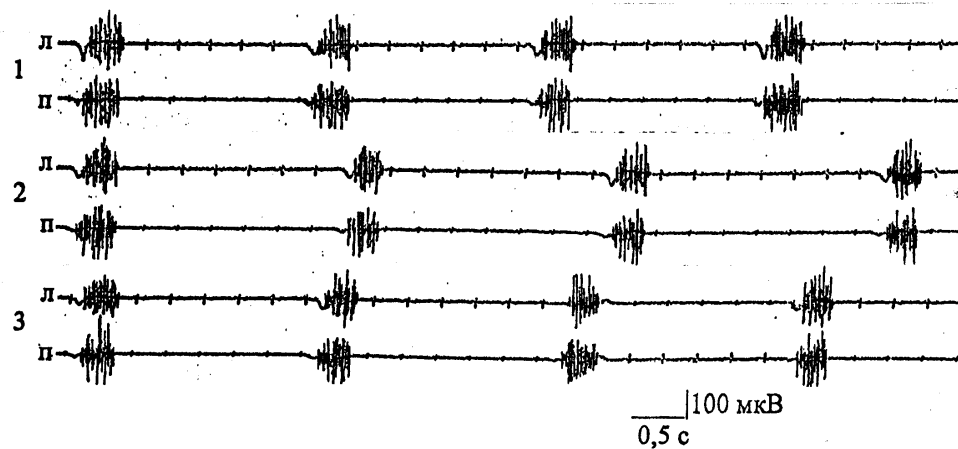


Рис. 4. Электроактивность наружных межреберных мышц левой (л) и правой (п) сторон грудной клетки в исходном состоянии (1), через 15 мин после введения раствора аминазина (2) и через 15 мин на фоне последующей инъекции норадреналина (3) в левое двойное ядро крысы

Обсуждение результатов

Результаты проведенных исследований являются свидетельством достаточно широкого представительства в области ДЯ крыс адреноцептивных образований и участия последних в нейрохимическом обеспечении деятельности бульбарного дыхательного центра. Нами обнаружено, что функциональное состояние адрен- и норадренергических нейромедиаторных систем в известной степени определяет параметры дыхания, на что указывают реакции инспираторных мышц при унилатеральных микроаппликациях моноаминов. В частности установлено, что стимуляция адреноцептивных элементов ДЯ введением экзогенных КА могла сопровождаться как усилением, так и угнетением исходной электроактивности наружных межреберных мышц. Это доказывает возможность осуществления КА облегчающих и тормозных влияний на нейронном уровне, что согласуется с наблюдениями других авторов и может быть объяснено вовлечением в реакцию различных классов и подклассов адренорецепторов [14–16]. По этому поводу в литературе сложилось мнение, согласно которому угнетение висцеральных функций опосредуется на центральном уровне преимущественно β -адренорецепторами постсинаптической мембраны с включением механизма превращения аденилатциклазы, а усиление — регуляцией через постсинаптические α_1 -адренорецепторы внутриклеточного содержания ионов кальция и через α_2 -адренорецепторы уровня аденилатциклазной активности [6, 17–20].

Обращала на себя внимание определенная зависимость характера респираторных реакций от дозы и латерализации фармакологического воздействия. Так, при активации адрен- и норадренергических структур правого ДЯ зачастую доминировали возбуждающие влияния на дыхание, особенно при действии низких концентраций медиаторных веществ. При введении изучаемых агонистов в симметричное ядро левой половины дыхательного центра превалировали тормозные респираторные эффекты, которые нарастали с увеличением концентрации веществ. Наблюдаемые различия эффектов унилатеральных инъекций КА в правую и левую половины дыхательного центра могут служить доказательством неравномерного распределения адреноцептивных структур в гомотопных респираторных ядрах, что соответствует ранее высказанному нами предположению о нейрохимической асимметрии последних [21–23]. В связи со сказанным следует подчеркнуть, что асимметричность в представительстве нейромедиаторных систем также установлена по отношению к парным структурам и других отделов головного мозга [24]. Выявленная нейрохимическая асимметрия билатеральных ядер дыхательного центра, на наш взгляд, объясняет заметные функциональные различия при вовлечении их в центральную регуляцию ритма и глубины дыхания. На основании полученных фактов допустимо предполагать, что левое ДЯ по своим эндогенным катехоламинергическим системам в большей степени, по сравнению с правым, включено в тормозные механизмы бульбарного управления функцией дыхания.

Что касается одновременно установленной в настоящей работе дозозависимости эффектов адреналина и норадреналина, то они могут найти объяснение с учетом данных литературы [14], согласно которым низкие концентрации КА путем активации пресинаптических β -адренорецепторов увеличивают количество секретируемого медиатора (положительная обратная связь), а высокие включают пресинаптические α -адренорецепторы, блокирующие кальциевую проницаемость и тем самым уменьшающие количество выделяемого трансмиссера (отрицательная обратная связь).

В плане анализа роли ДЯ в регуляции дыхания заслуживает внимания факт проявления при унилатеральных воздействиях нейротропных веществ ответов инспираторных мышц симметричных межреберий. Это обстоятельство указывает на наличие у крыс проекций от каждого ДЯ к моторным центрам дыхательной мускулатуры обеих половин спинного мозга.

Заключение

Таким образом, в ходе настоящего исследования получены новые экспериментальные данные, позволяющие с достаточной долей уверенности утверждать, что в сложной полихимической системе эндогенных регуляторов, обеспечивающих центральный контроль функции дыхания, важную роль играют нейротрансмиттеры моноаминаергической природы. Выявленная в работе зависимость респираторных ответов от уровня функциональной активности КА-чувствительных образований гомотопных ДЯ свидетельствует о вовлечении последних посредством адрен- и норадренергической медиаций в бульбарные механизмы управления ритмом и глубиной дыхания, причем преимущественно по тормозному типу.

Литература

- [1] Маслен Г.В. Катехоламины и функция дыхания// Физиологическая роль медиаторов. Казань, 1972. С.150–152.
- [2] Дыхательный центр/ Сергиевский М.В., Меркулова Н.А., Габдрахманов Р.Ш. и др. М.: Медицина, 1975. 184 с.
- [3] Базаревич Г.Я., Богданович У.Я., Волкова И.Н. Медиаторные механизмы регуляции дыхания и их коррекция при экстремальных состояниях. Л.: Медицина, 1979. 240 с.
- [4] Росин Я.А. Регуляция функций. М.: Наука, 1984. 173 с.
- [5] Нерсисян Л.Б. Исследование механизмов действия норадреналина на активность бульбарных дыхательных нейронов// Центральные и периферические механизмы вегетативной нервной системы. Ереван, 1985. С. 140–144.
- [6] Al-Zubaidy Z.A., Erickson R.L., Greer J.J. Serotonergic and noradrenergic effects on respiratory neural discharge in the medullary slice preparation of neonatal rats// Pflugers Arch. 1996. V. 431. No. 6. P. 942–949.
- [7] Майзелис М.Я. Современные представления о гематоэнцефалическом барьере: нейрофизиологические и нейрохимические аспекты// Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. 1986. Вып.4. С. 611–626.
- [8] Инюшкин А.Н., Меркулова Н.А. Дыхательный ритмогенез у млекопитающих: в поисках пейсмекерных нейронов// Регуляция автономных функций. Самара: Изд-во Самарского университета, 1998. С. 23–33.
- [9] Onimaru H., Arata A., Homma H. Intrinsic burst generation of preinspiratory neurons in the medulla of brainstem-spinal cord preparations isolated from newborn rats// Exp. Brain Res. 1995. V. 106. P. 57–68.
- [10] Richter D.W., Ballanyi K., Ramirez J.-M. Respiratory rhythm generation// Neural control of respiratory muscles. CRC Press, 1996. P. 119–131.
- [11] Pilowsky P.M., Jiang C., Lipski J. An intracellular study of respiratory neurons in the rostral ventrolateral medulla of the rat and their relationship to the catecholamine-containing neurons// J. Comp. Neurol. 1990. V. 301. No. 4. P.604–617.
- [12] Broussard D.L., Altschuler S.M. Brainstem viscerotopic organization on afferents and efferents involved in the control of swallowing // Amer. J. Med. 2000. V. 108. No. 6. Suppl. 4a. P. 79–86.
- [13] Paxinos G., Watson C. The rat brain in the stereotaxic coordinates// Academic Press. Sydney, 1982. P. 611–672.
- [14] Базян А.С. Роль адренорецепторов в регуляции эффективности адренергической синаптической передачи// Усп. соврем. биол. 1981. № 1. С.115–126.
- [15] Хухо Ф. Нейрохимия. Основы и принципы. М.: Мир, 1990. 383 с.
- [16] Авакян О.М. Фармакологическая регуляция функций адренорецепторов. М.: Медицина, 1988. 253 с.
- [17] Говырин В.А., Жоров Б.С. К молекулярной физиологии адренорецепторов// Физиол. журн. СССР им. И.М.Сеченова. 1984. № 5. С.529–550.
- [18] Сергеев П.В., Шимановский Н.Л. Рецепторы физиологически активных веществ. М.: Наука, 1987. 190 с.
- [19] Шишкина Г.Т., Дыгало Н.Н. Молекулярная физиология адренергических рецепторов// Усп. физиол. наук. 1997. № 1. С. 61–74
- [20] Arita H. Ochiishi M. Opposing effects of 5-hydroxytryptamine on two types of medullary inspiratory neurons with distinct firing patterns// J. Neurophysiol. 1991. V. 66. No. 1. P. 285–292.

- [21] Sergeeva L.I., Kuzmina V.E. Participation of cholinergic system in bulbar mechanisms of the respiratory control // *Neurosci. and Behav. Physiol.* 1994. V. 24. No. 6. P. 1–5.
- [22] Сергеева Л.И., Ведясова О.А., Краснов Д.Г. Реакции инспираторных мышц при микроинъекциях ацетилхолина и пропранолола в ядро солитарного тракта// *Росс. физиол. журн. им. И.М.Сеченова.* 1998. Т. 84. № 8. С. 798–805.
- [23] Сергеева Л.И., Ведясова О.А. Нейромедиаторы в системе регуляции дыхания// *Второй Росс. конгресс по патофизиологии.* М., 2000. С. 116.
- [24] Клементьев Б.И. Биохимическая симметрия и асимметрия мозга// *Всеросс. науч. конф. с междунар. участием, посв. 150-летию со дня рожд. акад. И.П.Павлова.* СПб., 1999. С. 30–31.

RESPIRATORY RESPONSES TO MICROINJECTIONS OF CATHECHOLAMINES AND THEIR ANTAGONISTS INTO THE NUCLEUS AMBIGUALIS³

© 2002 O.A. Vedyasova, L.I. Sergeeva⁴

In acute experiments on rats we studied responses of inspiratory muscles to microinjections of adrenalin, noradrenalin, obzidan and aminazin into the right and left nucleus ambiguus. It is shown that respiratory effects are depended from the lateralization of microinjections, dose and nature of the pharmacological agents.

Поступила в редакцию 14/V/2002;
в окончательном варианте — 3/VI/2002.

³Communicated by Dr. Sci. (Biology) Prof. A.N. Inyushkin.

⁴Vedyasova Olga Alexandrovna (vedyas@ssu.samara.ru), Sergeeva Lyudmila Iosiphovna, Dept. of Human and Animals Physiology, Samara State University, Samara, 443011, Russia.