

М.А. Лебедева, Н.В. Саноцкая, Д.Д. Мациевский

Реакция дыхательной и сердечно-сосудистой систем на гипоксию в условиях активации и блокады тормозных синаптических процессов

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» Российской академии медицинских наук, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

На наркотизированных белых крысах-самцах изучали изменения дыхательного ритма при введении неселективного блокатора ГАМК_A-рецепторов и при введении блокатора аденозиновых рецепторов на фоне активации ГАМК_B-рецепторов. В этих же условиях определяли устойчивость дыхательной и сердечно-сосудистой систем к острой тяжелой гипоксии. Интрацистернальная микроинъекция пикротоксина приводила к развитию патологического периодического дыхания. Системное введение пикротоксина повышало устойчивость организма к гипоксии. При блокаде аденозиновых рецепторов эуфиллином (аминофиллином) выраженность дыхательной реакции на гипоксию ослабевала. Эффект эуфиллина, введенного на фоне нарушений дыхательного ритма, вызванных оксибутиратом, выразился в восстановлении регулярного дыхания у животных с незначительным снижением артериального давления.

Ключевые слова: дыхание, хеморецепция, устойчивость к острой гипоксии, пикротоксин, эуфиллин, ультразвук

N.V. Sanotskaya, D.D. Matsievskii, M.A. Lebedeva

Respiratory and cardiovascular responses to hypoxia under activation or blockade inhibitory transmission

The Institute of General Pathology and Pathophysiology RAMS, 8, Baltiyskaya str., Moscow, 125315, Russia

Respiratory rhythm changes and hypoxic ventilatory responses were studied in anesthetized albino rats after administration GABA and adenosine receptor antagonists. Intracisternal microinjection of picrotoxin induced pathological periodic breathing. Picrotoxin intravenous administration caused the increase of individual resistance to acute hypoxia. Aminophylline administration exerted the opposite effect. After pretreatment of hydroxybutyrate we observed different types of respiratory reactions to adenosine antagonist injection, which probably depended on the value of arterial blood pressure and cerebral hemodynamics.

Key words: respiration, chemosensitivity, resistance to acute hypoxia, picrotoxin, aminophylline, ultrasound

В механизмах дыхательного ритмогенеза и его хеморецепторной регуляции принимают участие различные нейромедиаторные системы. Эндогенные возбуждающие и тормозные аминокислоты, действуя через специфические рецепторы, обеспечивают быстрые синаптические взаимодействия между функционально различными группами дыхательных нейронов на уровне продолговатого мозга [2]. В реализацию ответа дыхательной системы на возбуждение центральных и периферических хеморецепторов вовлекаются глутаматергическая, ГАМКергическая, серотонинергическая, пуринаргическая и другие системы [4, 13]. Реакция дыхательной системы на острую гипоксию характеризуется выражен-

ной двухфазностью, первоначальное усиление вентиляции связывают с активацией глутаматных рецепторов [10, 11]. Смещение медиаторного баланса в дорзальных структурах продолговатого мозга в сторону торможения под влиянием импульсации от хеморецепторов приводит к снижению параметров вентиляции [13]. Вторая фаза дыхательной реакции на гипоксию, а именно угнетение дыхания вплоть до необратимого апноэ, очевидно, обусловлена высвобождением таких тормозных нейромедиаторов, как ГАМК и аденозин [7, 9, 14]. Аденозин принимает участие в дыхательном ответе при жесткой гипоксии [6]. В литературе обсуждается модуляторная облегчающая роль АТФ, высвобождающейся на вентральной медулярной поверхности во вторую фазу вентиляторного гипоксического ответа, и действующая через метаболитные пуриновые рецепторы [13, 15]. Существует тесная взаимозависимость в действии ГАМК

Для корреспонденции: Лебедева Марина Андреевна, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. полисистемных исследований, ФГБУ НИИОПП РАМН. E-mail: ma_lebedeva@mail.ru

и аденозина на различные звенья регуляции дыхания. Доказано, что депрессия дыхания, возникающая при активации A_2a рецепторов, опосредуется через ГАМК_A-ергические входы на ритмогенерирующие структуры дыхательного центра [9].

Цель исследования — изучение изменений дыхательного ритма при системном и центральном введении неселективного блокатора ГАМК_A-рецепторов пикротоксина, системном введении блокатора аденозиновых рецепторов эуфиллина (аминофиллина) на фоне активации ГАМК_B-рецепторов, а также определение в этих условиях устойчивости дыхательной и сердечно-сосудистой систем к острой тяжелой гипоксии.

Методика

Эксперименты выполнены на 42 наркотизированных нембуталом (40 мг/кг внутривенно) беспородных белых крысах-самцах массой 350—400 г. В ходе эксперимента у животных регистрировали ЧСС с помощью кардиотахометра, запускаемого от пульсовой волны кровотока в аорте. Артериальное давление (АД) определяли микроманометром в бедренной артерии. Регистрировали электромиограмму диафрагмальной мышцы или дыхательные движения грудной клетки с помощью тензометрического датчика. Скорость кровотока в восходящей части дуги аорты измеряли миниатюрным ультразвуковым датчиком, введенным через правую сонную артерию (на частоте 27 МГц) [1]. Данные о скорости кровотока в восходящей аорте и АД вводили в аналого-вычислительное устройство для определения общего периферического сопротивления сосудов, динамики ударного и минутного объема сердца (сердечный выброс). Основные показатели дыхания, такие как минутный объем дыхания (МОД), частоту и глубину дыхания (ЧД и ДО соответственно) регистрировали с помощью блока для измерения параметров дыхания на полиграфе МХ-01 (Россия) в условиях ВТРС. Температуру тела поддерживали в интервале 37,0—38,0°C.

Индивидуальную устойчивость животных к гипоксии определяли при вдыхании газовой смеси, содержащей 3% O_2 в N_2 , по времени от начала вдыхания до наступления апноэ (время жизни). Затем подачу газовой смеси прекращали и 1,0—1,5 мин ждали восстановления дыхания. Если оно не возобновлялось спонтанно, подключали аппарат ИВЛ, который отключали при появлении первых самостоятельных вдохов. Животные, у которых время до наступления апноэ составляло 1—4 мин, составили группу низкоустойчивых к гипоксии животных (НУ), 9 мин и более — группу высокоустойчивых (ВУ), 5—8 мин — группу среднеустойчивых (СУ) к гипоксии животных. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistika 6.0. В за-

висимости от типа распределения достоверность различий между группами определяли с использованием критериев Манна—Уитни, Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Изучали характер изменений дыхательного ритма после системного и внутривенного введения пикротоксина. Системное введение субсудорожной дозы пикротоксина (0,5—1 мг/кг) в некоторых опытах вызывало учащение и увеличение амплитуды дыхательных движений без изменения АД, сердечного выброса и общего периферического сопротивления сосудов. В остальных случаях изменения дыхания и гемодинамики отсутствовали. Центральная интрацистернальная микроинъекция 1 мкл раствора пикротоксина (4 мг/мл) приводила к нарушениям дыхательного ритма в форме циклического изменения частоты дыхания, нерегулярности дыхательных движений, а иногда к появлению периодического (пачкообразного) ритма дыхания. (рис. 1А,Б), что можно объяснить смещением медиаторного баланса в сторону возбуждения в дыхательных ритмообразующих структурах. В литературе имеются также сведения об особой роли субъединицы ГАМК-рецептора чувствительной именно к пикротоксину в поддержании нормального дыхательного ритмогенеза [5].

Устойчивость животных к гипоксии тестировали при вдыхании газовой смеси, содержащей 3% O_2 в N_2 , и определяли по времени от начала вдыхания до наступления апноэ. После восстановления дыхания вводили пикротоксин и через 20 мин повторяли тестирование газовой смесью. Если к моменту введения

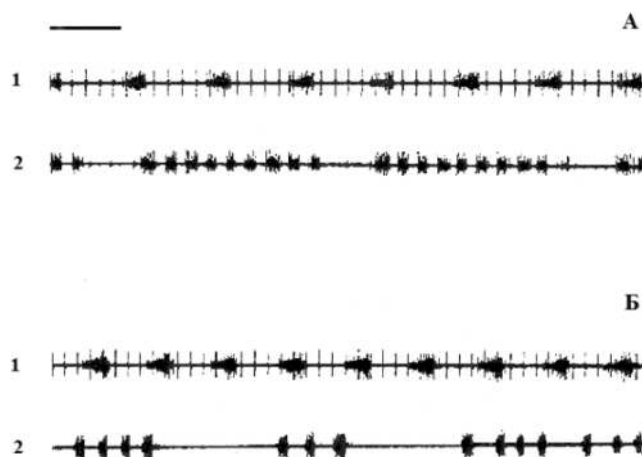


Рис. 1. Изменения дыхательного ритма после интрацистернальной микроинъекции пикротоксина в область IV желудочка. Электромиограмма диафрагмальной мышцы: 1 — до микроинъекции; 2 — после микроинъекции. А, Б — различные опыты. Отметка времени 1 с

пикротоксина регистрировалось низкое АД и угнетение дыхания, введение препарата вызывало повышение АД и нормализацию дыхательного ритма.

Ответная реакция дыхательной системы при переводе животного на дыхание гипоксической газовой смесью после введения пикротоксина сохраняла двухфазный характер и была более выраженной, чем в контрольных условиях. Наблюдалось значительное увеличение амплитуды и частоты дыхательных движений. Фаза депрессии вентиляторного ответа и последующее апноэ наступало позже, чем в контрольных условиях (рис. 2А), у всех групп животных с различной устойчивостью к гипоксии. Изменения гемодинамических показателей были более плавными на фоне действия блокатора ГАМК_A-рецепторов. Стимулирующий дыхание эффект пикротоксина — неселективного блокатора ГАМК_A-ергического синаптического торможения, в форме улучшения вентиляции обнаруживался также после отравлений опиатами и барбитуратами. Эффекты пикротоксина можно объяснить подавлением влияния ГАМК, которая накапливается в мозге при кислородной недостаточности и, действуя на ионотропные рецепторы, принимает участие в развитии второй депрессивной фазы дыхательной реакции на гипоксию, что подтверждается сходными результатами с внутримозговым применением другого блокатора ГАМК бичукулина [12].

В следующей серии исследовали характер изменений дыхательного ритма после системного применения эуфиллина (20 мг/кг). Показано, что внутривенное введение эуфиллина контрольным животным не вызывало значимых изменений характера дыхания. Наблюдалось снижение АД на 40—50 мм рт. ст. и уменьшение общего периферического сопротивления сосудов, которые восстанавливались в течение 10—15 мин. На фоне воздействия эуфиллина характер реакции на гипоксию не изменялся. Однако время жизни при тяжелой гипоксии сокращалось, особенно это было выражено у низкоустойчивых к гипоксии животных (рис. 2Б).

Далее изучали влияние эуфиллина на дыхание на фоне предварительной активации ГАМК_B-рецепторов оксибутиратом лития (750 мг/кг в/в). Внутривенное введение оксибутирата лития приводило к изменению дыхательных и гемодинамических параметров, максимальному к 20—30 мин. Снижение АД (от $111,54 \pm 3,22$ до $87,78 \pm 11,06$ мм рт.ст., $p < 0,05$) компенсировалось ростом ЧСС (от $397,08 \pm 9,23$ до $437,88 \pm 16,18$ уд./мин, $p < 0,05$). Падение частоты дыхания (до $29,6 \pm 5,18$ против $64,54 \pm 2,78$ мин⁻¹, $p < 0,001$) сопровождалось увеличением ДО (от $0,3 \pm 0,03$ до $0,7 \pm 0,12$ мл, $p < 0,01$), что позволяло сохранять неизменный минутный объем вентиляции. У животных с периодическим дыханием, возникшим

после применения оксибутирата лития [3], эуфиллин приводил к восстановлению регулярного ритма (рис. 3А). Однако если патологическая периодика не возникала после активации ГАМК_B-рецепторов, эуфиллин провоцировал появление патологического периодического дыхания с задержкой на выдохе (рис. 3Б). Это могло быть связано с влиянием введенных препаратов на системное АД и сопротивление сосудов головного мозга [8, 14].

При тестировании гипоксической газовой смесью на фоне действия оксибутирата реакция системы дыхания становилась более выраженной. Значительно

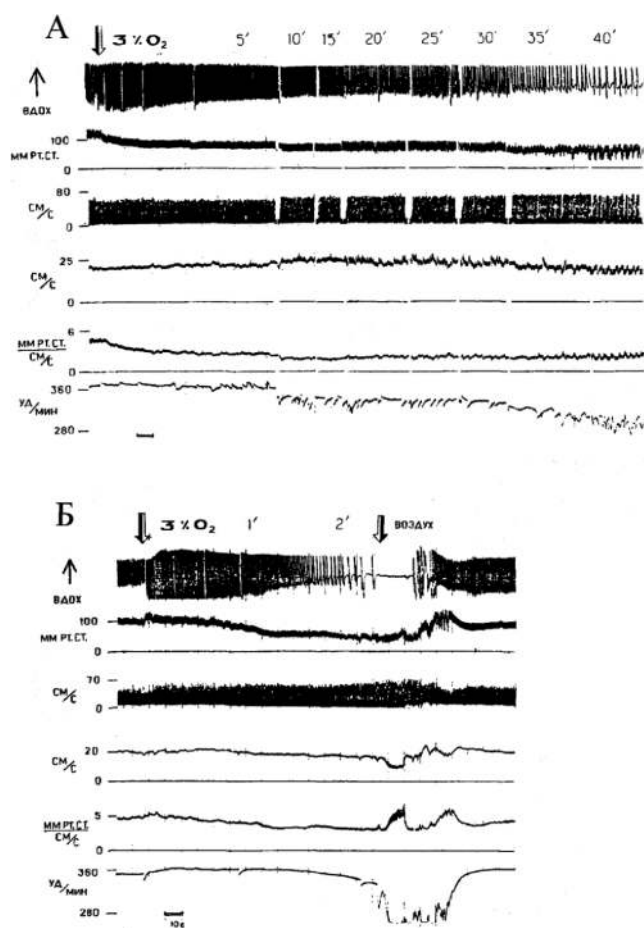


Рис. 2. Показатели гемодинамики и дыхания при вдыхании газовой смеси, содержащей 3% O₂ в N₂: А — ВУ животного после введения пикротоксина; Б — НУ животного после введения эуфиллина.

На кривых сверху вниз:

1 — дыхательные движения; 2 — артериальное давление; 3 — линейная скорость кровотока в восходящей дуге аорты; 4 — сердечный выброс; 5 — общее периферическое сопротивление; 6 — частота сердечных сокращений.

Линии под каждой из кривых — нулевые уровни.

Стрелки — начало и окончание дыхания газовой смесью.

Цифры в верхней части рисунков — время, прошедшее с начала воздействия, мин.

Масштаб времени 10 с.

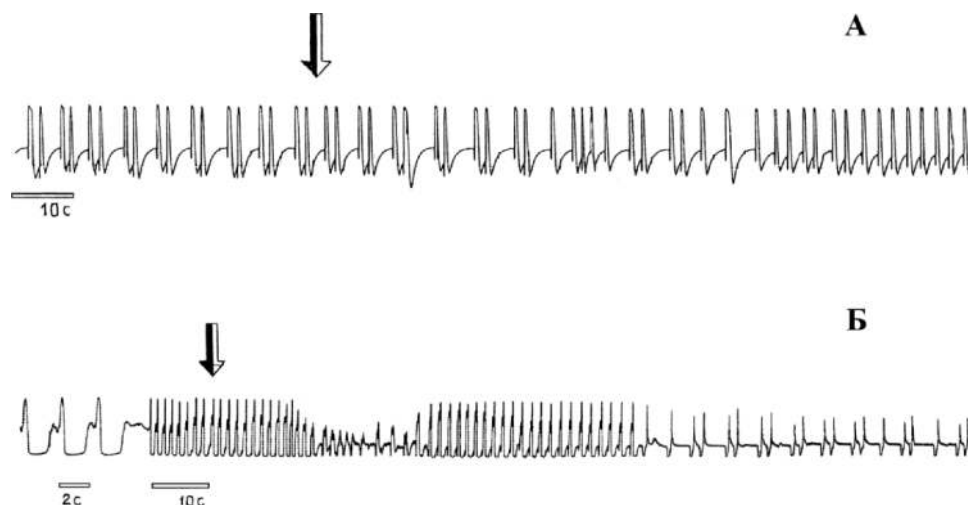


Рис. 3. На фоне периодического дыхания, возникшего через 30 мин после введения оксибутирата лития, эуфиллин восстанавливал ритмичное дыхание (А). Если через 40 мин после введения оксибутирата лития патологический ритм не развивался, эуфиллин вызывал появление периодического дыхания (Б). Стрелка — введение эуфиллина. Масштаб времени 10 с.

возрастала ЧД (с $35,3 \pm 5,1$ до $62,2 \pm 2,8$ мин⁻¹, $p < 0,001$). МОД значимо изменялся в обоих случаях, но при оксибутирате этот параметр увеличился в 2,3 раза, а в контроле — только в 1,7 раза (рис. 4). Депрессия дыхания во вторую фазу ответа на гипоксию была незначительной, параметры вентиляции, в отличие от контроля, где ЧД опускалась ниже исходной предгипоксической величины (с $68,7 \pm 2,2$ до $58,8 \pm 2,5$ мин⁻¹, $p < 0,05$), значимо не изменялись. Сердечно-сосудистая система на фоне действия оксибутирата и после введения эуфиллина не реагировала на гипоксию, гемодинамические параметры ЧСС и АД не менялись. Эуфиллин, введенный системно, несколько снижал выраженность ответа дыхательной системы на гипоксию при действии оксибутирата.

Таким образом, центральная микроинъекция блокатора ГАМК_A-рецепторов в область IV желудочка приводила к нарушениям дыхательного ритма в форме циклического изменения частоты дыхания. Восстановление нормального ритма дыхания на фоне периодического дыхания, вызванного оксибутиратом лития, происходило после использования эуфиллина у животных с адекватным уровнем АД.

Прирост легочной вентиляции на гипоксию в контрольных условиях обеспечивался в основном за счет увеличения ДО, а после активации ГАМК_B-рецепторов оксибутиратом — за счет роста как ЧД, и, соответственно, МОД. Использование блокатора ГАМК_A-рецепторов пикротоксина повышало устойчивость организма к острой тяжелой гипоксии. При блокаде аденозиновых рецепторов эуфиллином устойчивость организма к острой тяжелой гипоксии снижалась, выраженность дыхательной реакции на гипоксию ослабевала.



Рис. 4. Прирост параметров легочной вентиляции (% от начального уровня) при дыхании газовой смесью 3% кислорода в азоте в различные фазы реакции дыхательной системы на гипоксию. МОД — минутный объем дыхания; ЧД — частота дыхания; ДО — дыхательный объем

Список литературы

1. *Мацевский Д.Д.* Измерения кровотока в исследованиях макро- и микроциркуляции // Бюл. exper. биол. и мед. — 2004. — Т. 138, №12. — С. 612—616.
2. *Сафонов В.А., Лебедева М.А.* Автоматия или ритмообразование в дыхательном центре // Физиология человека. — 2003. — Т. 29, №1. — С. 140—153
3. *Тараканов И.А., Тихомирова Л.Н., Лебедева М.А., Тарасова Н.Н., Сафонов В.А.* Нарушения характера дыхания, возникающие под действием ГАМКергических веществ // Патогенез. — 2005. — №3. — С. 52—58.
4. *Budzinska K.* Hypoglossal and phrenic nerve responses to changes in oxygen tension during picrotoxin-induced seizures in the rat // J. Physiol. Pharmacol. — 2004. — Vol. 55. — Suppl. 3. — P. 31—39.
5. *Budzinska K.* Divergent effects of bicuculline and picrotoxin on ketamine-induced apneustic breathing // J. Physiol. Pharmacol. — 2005. — Sep. — 56. — Suppl. 4. — P. 39—46.
6. *Conde S.V., Monteiro E.C., Rigual R., Obeso A., Gonzalez C.* Hypoxic intensity: a determinant for the contribution of ATP and adenosine to the genesis of carotid body chemosensory activity // J. Appl. Physiol. — 2012. — 112(12). — 2002—2010.

7. **Koos B.J., Kawasaki Y., Kim Y.H., Bohorquez F.** Adenosine A2A-receptor blockade abolishes the roll-off respiratory response to hypoxia in awake lambs // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* — 2005. — 288(5). — R1185–94.
8. **Li D.P., Pan H.L.** Role of GABAB receptors in autonomic control of systemic blood pressure // *Adv. Pharmacol.* — 2010. — 58. — P. 257–286.
9. **Mayer C.A., Haxhiu M.A., Martin R.J., Wilson C.G.** Adenosine A2A receptors mediate GABAergic inhibition of respiration in immature rats // *J. Appl. Physiol.* — 2006. — 100(1). — P. 91–97.
10. **Nucci T.B., Dias M.B., Branco L.G., Gargaglioli L.H.** Ionotropic glutamatergic receptors in the rostral medullary raphe modulate hypoxia and hypercapnia-induced hyperpnea // *Respir. Physiol. Neurobiol.* — 2011. — 175(1). — P. 104–111.
11. **Soto-Arape J., Burton M.D., Kazemi H.** Central amino acid neurotransmitters and the hypoxic ventilatory response // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* — 1995. — Vol. 151, №4. — P. 1113–1120.
12. **Tabata M., Kurosawa H., Kikuchi Y.** et al. Role of GABA within the nucleus tractus solitarius in the hypoxic ventilatory decline of awake rats // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2001. — Vol. 281, №5. — R1411–R1419.
13. **Teppema L.J., Dahan A.** The ventilatory response to hypoxia in mammals: mechanisms, measurement, and analysis // *Physiol. Rev.* — 2010. — 90(2). — P. 675–754.
14. **Walsh M.P., Marshall J.M.** The role of adenosine in the early respiratory and cardiovascular changes evoked by chronic hypoxia in the rat // *J. Physiol.* — 2006. — Vol. 575, №1. — Vol. 277–289.
15. **Zwicker J.D., Rajani V., Hahn L.B., Funk G.D.** Purinergic modulation of preBotzinger complex inspiratory rhythm in rodents: the interaction between ATP and adenosine // *J. Physiol.* — 2011. — 589(Pt 18). — P. 4583–4600.

Поступила 12.02.13

Сведения об авторах:

Санюккая Наталья Владимировна, д-р биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. патофизиологии дыхания ФГБУ НИИОПП РАМН;

Мацневский Дмитрий Дмитриевич, канд. тех. наук, зав. биоинженерной лабораторией ФГБУ НИИОПП РАМН.