

## ВЛИЯНИЕ МИКРОИНЪЕКЦИЙ СОМАТОСТАТИНА В ОБЛАСТЬ ЯДРА СОЛИТАРНОГО ТРАКТА НА РЕФЛЕКС ГЕРИНГА — БРЕЙЕРА

© 2013 И.О. Петряшин<sup>1</sup>

В данной статье представлены результаты изучения влияния микроинъекций соматостатина в область дорсальной респираторной группы крыс на рефлекс Геринга — Брейера. Установлено, что на фоне действия данного нейропептида происходит усиление выраженности данного рефлекса путем увеличения нормализованной продолжительности выдоха. Обсуждаются возможные механизмы соматостатиновой модуляции рефлекса Геринга — Брейера, являющейся, вероятно, одним из механизмов реализации эффектов данного пептида на уровне дорсальной респираторной группы.

**Ключевые слова:** соматостатин, ядро солитарного тракта, рефлекс Геринга — Брейера, дыхательный центр.

### Введение

Среди структур, входящих в состав бульбарного дыхательного центра, важную специфическую роль играет дорсальная респираторная группа, расположенная в области ядра солитарного тракта. Данный отдел отличается разнообразием поступающих сюда первичных висцеральных афферентных проекций и нисходящих проекций из вышележащих отделов головного мозга. Многочисленность поступающей в ЯСТ (ядро солитарного тракта) информации отражает его значимость в реализации целого ряда важнейших респираторных и гемодинамических рефлексов. Значительную часть расположенных здесь клеток составляют инспираторные нейроны типа  $R\alpha$  со снижающейся при растяжении легких биоэлектрической активностью, а также типа  $R\beta$ , активность которых возрастает при растяжении легких. Особое место занимают Р-клетки, получающие афферентацию от рецепторов растяжения легких и имеющие уровень активности, целиком определяемый объемом находящегося в легких воздуха [1].

Установлено наличие моносинаптических связей между нейронами ЯСТ и диафрагмальными мотонейронами, однако предполагается функциональная специфика дорсальной респираторной группы у различных млекопитающих, в частности у крыс. Главными ее функциями у данного вида животных считаются восприятие и первичная обработка поступающих в данную область афферентных сигналов [2].

<sup>1</sup>Петряшин Илья Олегович (petryash1@gmail.com), кафедра физиологии человека и животных Самарского государственного университета, 443011, Российская Федерация, г. Самара, ул. Акад. Павлова, 1.

Функции ЯСТ обеспечиваются как многочисленными "классическими" нейромедиаторами, так и пептидами, а также специфическими рецепторами к ним. Имеются сведения о том, что многие нейропептиды способны изменять чувствительность дыхательного центра к афферентации от рецепторов растяжения легких и тем самым модулировать рефлекс Геринга — Брейера [3]. Ранее нами было показано влияние на внешнее дыхание микроинъекций соматостатина в область вентролатерального ЯСТ [4]. Целью настоящей статьи явилось изучение возможного модулирующего влияния на данный рефлекс соматостатина (ССТ) — нейропептида с установленным выраженным влиянием на паттерн внешнего дыхания.

## Методика проведения экспериментов

Исследование проведено на 11 лабораторных крысах обоего пола массой 220–320 г, наркотизированных уретаном (1,5 г/кг, внутривенно). Осуществлялись трахеостомия и доступ к дорсальной поверхности продолговатого мозга. Соматостатин (Sigma) растворяли *ex tempore* в искусственной цереброспинальной жидкости до концентрации  $10^{-5}$  М и вводили в объеме 100 нл в область ядра солитарного тракта со скоростью 5 нл/сек по следующим координатам: 0,5 мм роstralнее обех, 0,5 мм латеральнее срединной линии и 0,5 мм вглубь от поверхности мозга. В контрольных экспериментах в ту же область инъецировали те же объемы искусственной цереброспинальной жидкости. Растворы вводили с помощью микрошприца МШ-1 через стеклянную микрошприцетку с диаметром кончика 20–30 мкм, укрепленную на игле микрошприца. По окончании эксперимента продолговатый мозг извлекался и помещался в 4 % р-р формальдегида для последующего контроля места микроинъекции. Поскольку максимальная выраженность респираторных реакций на введение пептидов приходилась на 10–15 минут, к воспроизведению рефлекса Геринга — Брейера приступали в данные временные промежутки после микроинъекции. Легкие раздували на выдохе 5 мл шприцом, заранее откалиброванным с помощью U-образного водяного манометра, так что давление раздувания легких составляло 5, 10, 15 и 20 мм вод. ст. О параметрах паттерна внешнего дыхания судили по электромиограмме (ЭМГ) диафрагмы, которую регистрировали при помощи стальных игольчатых биполярных электродов. Определяли нормализованную длительность выдоха на интегрированной ЭМГ диафрагмы ( $Te_{max}/Te_{init}$ ).

Полученные данные подвергались статистической обработке. При анализе данных использовался тест ANOVA. Все данные представлены как среднее арифметическое  $\pm$  стандартная ошибка средней; изменения исследуемых параметров считались статистически значимыми при  $P \leq 0,05$ .

## Результаты исследования и их обсуждение

Проведенные эксперименты показали, что микроинъекции ССТ в концентрации  $10^{-5}$  М в область ядра солитарного тракта модулируют рефлекс Геринга — Брейера.

Раздувание легких на фоне воздействия введенного ССТ приводило к удлинению временного интервала от начала воздействия до появления следующего вдоха, т. е. к увеличению нормализованной длительности выдоха (рис. 1).

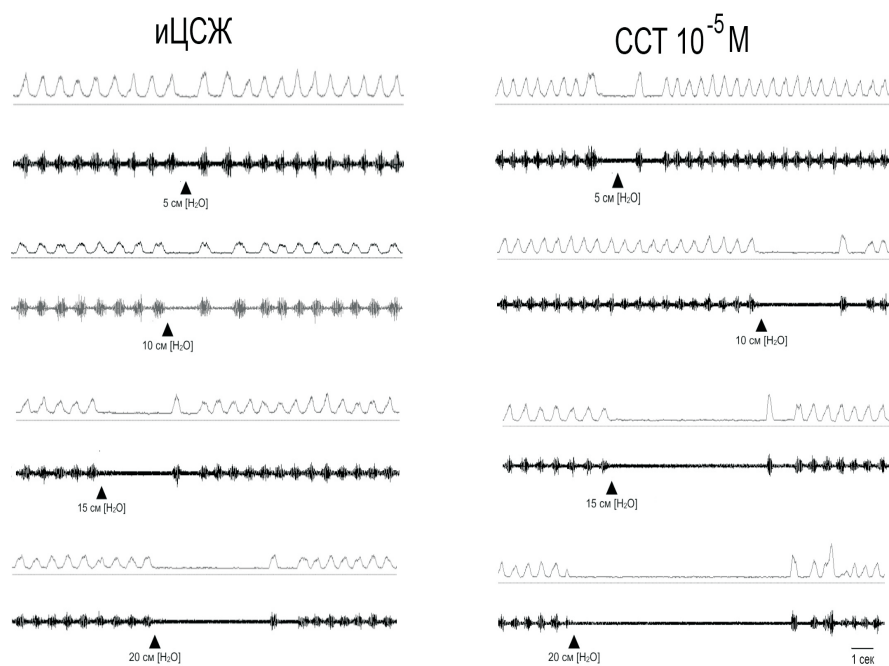


Рис. 1. Реакции биоэлектрической активности диафрагмы на модуляцию инспираторно-тормозящего рефлекса при раздувании легких указанными объемами воздуха на фоне микроинъекции соматостатина и искусственной цереброспинальной жидкости (снизу — ЭМГ; сверху — ее интегрированная производная)

Величина данного параметра статистически значимо увеличивалась с  $5,18 \pm 1,12$  в контрольных измерениях до  $9,38 \pm 1,36$  ( $p < 0,05$ , ANOVA) при раздувании легких воздухом давлением 10 мм вод. ст.; с  $6,58 \pm 1,29$  в контрольных измерениях до  $12,43 \pm 1,66$  ( $p < 0,05$ , ANOVA) при раздувании легких воздухом давлением 15 мм вод. ст.; с  $10,69 \pm 1,92$  в контрольных измерениях до  $17,35 \pm 2,12$  ( $p < 0,05$ , ANOVA) при раздувании легких воздухом давлением 20 мм вод. ст. При раздувании легких давлением 5 мм вод. ст. статистически значимых различий нормализованной длительности выдоха после введения соматостатина с контролем не выявлено. В среднем увеличение нормализованной деятельности экспирации по сравнению с контролем составляло соответственно 55,22, 47,06 и 38,39 % для 10, 15 и 20 мм вод. ст. (рис. 2).

Результаты работы указывают на то, что микроинъекции ССТ усиливают выраженность рефлекса Геринга — Брейера, модуляция которого, по всей видимости, является одним из механизмов реализации эффектов данного нейропептида на уровне дорсальной респираторной группы.

Известно, что нейроны дорсальной респираторной группы, локализованные в ЯСТ, принимают афферентные импульсы от рецепторов растяжения легких, играющих важную роль в регуляции длительности экспираторной и инспираторной фаз дыхательного цикла. Раздувание легких активирует медленноадаптирующиеся рецепторы растяжения легких (MAP), что приводит к возрастанию активности инспираторных нейронов  $I\beta$ -типа и Р-клеток, которые участвуют в реализации рефлекса Геринга — Брейера [5; 6]. Синаптическая передача сигнала на эти клетки

осуществляется с помощью L-глутамата (через AMPA-рецепторы) и АТФ (через P2 рецепторы) [7; 8].

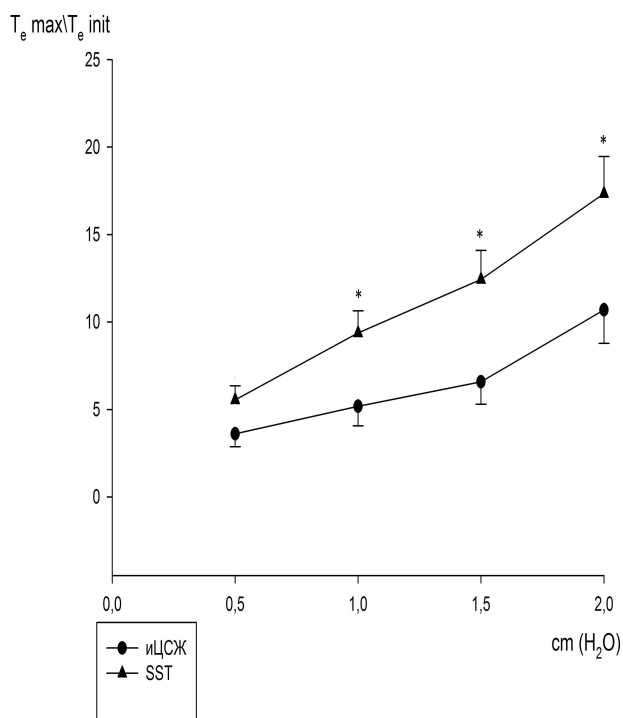


Рис. 2. Графики зависимости нормализованной продолжительности выдоха от давления раздувания легких при микроинъекциях  $10^{-5}$  М соматостатина в ядро солитарного тракта (\* —  $P \leq 0,05$ )

Имеются сведения о том, что многие нейропептиды способны изменять чувствительность дыхательного центра к данной афферентации и тем самым модулировать рефлекс Геринга — Брейера [3]. В частности, известны ингибирующие влияния микроинъекций тиролиберина, субстанции P, кассинина в данный отдел дыхательного центра, тогда как лейцин-энкефалин и морфин оказывают стимулирующее действие. Сравнительно недавно был продемонстрирован ингибирующий эффект бомбезина на проявления рефлекса при введении пептида в область ядра солитарного тракта [9]. Также было показано влияние микроинъекций ССТ в ЯСТ на паттерн внешнего дыхания: происходит снижение преимущественно объемных и в меньшей степени временных параметров дыхания [4]. Исходя из результатов о наличии в ядре солитарного тракта соматостатина и его специфических рецепторов типов SST1, SST2A, SST2B, SST4 и SST5 [10], можно предположить наличие данных рецепторов в том числе и на инспираторных нейронах  $R\beta$ - и P-типов, ответственных за реализацию рефлекса Геринга — Брейера. Ингибирующее действие соматостатина на внешнее дыхание инициируется связыванием его молекул с высокоаффинными G-протеинсвязанными рецепторами. Исследования *in vitro* [11] показали ингибирование спайковой активности в переживающих срезах продолговатого мозга на уровне ядра солитарного тракта гиперпо-

ляризацией путем увеличения  $K^+$ -проводимости; данный эффект предотвращался путем введения мускариновых агонистов. Схожие результаты были получены на CA1-клетках гиппокампа [12], что может свидетельствовать об ингибирующем эффекте ССТ через активацию постсинаптической  $K^+$ -проницаемости и вероятном наличии реципрокного SST-ацетилхолинового взаимодействия на уровне ядра солитарного тракта. Имеются данные о возможности предотвращения ССТ-индуцированного апноэ с помощью центрального и периферического введения агониста  $\mu$ -опиоидных рецепторов налоксона, блокирующего  $K^+$ -проводимость [13]. Также имеются предположения [14] об ингибировании нейронов дорсального комплекса ядер блуждающего нерва соматостатином через подавление глутаматергических возбуждающих нейронов в данной области; данная гипотеза хорошо соотносится с данными о глутаматной передаче сигнала через AMPA-рецепторы на инспираторные нейроны  $I\beta$ -типа и Р-клетки. Соотнесение результатов собственных исследований с имеющимися данными о соматостатиновой регуляции дыхания на уровне ЯСТ позволяет предполагать как непосредственное влияние данного пептида на рефлекс-индуцирующие нейроны через собственные рецепторы, так и опосредованное воздействие путем торможения активности глутаматергических интернейронов.

На основе полученных данных в совокупности с уже имеющимися работами можно сделать вывод о непосредственном участии ССТ в центральных механизмах регуляции дыхания на уровне ДРГ. Одним из механизмов вовлечения данных нейропептидов в респираторный контроль является модуляция рефлекса Геринга — Брейера.

## Литература

- [1] Electrophysiological study of dorsal respiratory neurons in the medulla oblongata of the rat / D. Castro [et al.] // *Brain Res.* 1994. V. 639. P. 49–56.
- [2] Bonham A.C., McCrimmon D.F. Neurons in the discrete region of the nucleus tractus solitaries are required for the Hering — Breuer reflex in rat // *J. Physiol.* 1990. V. 427. P. 261–280.
- [3] Меркулова Н.А., Инюшкин А.Н. Модуляция нейропептидами инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга — Брейера // *Вестник Самарского государственного университета. Спец. выпуск.* 1995. С. 152–158.
- [4] Петряшин И.О. Нейропептид соматостатин — модулятор центральных механизмов регуляции дыхания // *Вестник Самарского государственного университета.* 2011. № 2(83). С. 237–243.
- [5] Alheid G.F., McCrimmon D.F. The chemical neuroanatomy of breathing // *Respir. physiol. neurobiol.* 2008. V. 164. P. 3–11.
- [6] Central pathways of pulmonary and lower airway vagal afferents / L. Cubin [et al.] // *J. appl. physiol.* 2006. V. 101. P. 618–627.
- [7] Pulmonary stretch receptor afferents activate excitatory amino acid receptors in the nucleus tractus solitarii in rats / A.C. Bonham [et al.] // *J. physiol.* 1993. V. 464. P. 725–745.
- [8] Excitatory and inhibitory synaptic inputs shape the discharge pattern of pump neurons of the nucleus tractus solitarii in the rat / M. Miyazaki [et al.] // *Exp. brain res.* 1999. V. 129. P. 191–200.
- [9] Глазкова Е.Н., Инюшкин А.Н. Респираторные реакции на микроинъекции бомбезина в ядро солитарного тракта и их механизм реализации // *Российский физиологический журнал.* 2005. Т. 91. С. 521–529.

- [10] Expression and localisation of somatostatin receptor subtypes sst1-sst5 in areas of the rat medulla oblongata involved in autonomic regulation / E.J. Spary [et al.] // *J. chem. neuroanat.* 2008. V. 35. P. 49–66.
- [11] Somatostatin depresses excitability in neurons of the solitary tract complex through hyperpolarization and augmentation of IM, a non-inactivating voltage-dependent outward current blocked by muscarinic agonists / T. Jacquin [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1988. V. 85. P. 948–952.
- [12] Pittman Q.J., Siggins G.R. Somatostatin hyperpolarizes hippocampal pyramidal cells in vitro // *Brain Research.* 1981. V. 221. P. 402–408.
- [13] Somatostatin induced apnoea: prevention by central and peripheral administration of the opiate receptor blocking agent naloxone / A. Harfstrand [et al.] // *Acta Physiol. Scand.* 1985. V. 125. P. 91–95.
- [14] Advances in understanding neuronal somatostatin receptors / I. Selmer [et al.] // *Regul. Pept.* 2000. V. 90. P. 1–18.

Поступила в редакцию 26/II/2013;  
в окончательном варианте — 26/II/2013.

## THE EFFECTS OF SOMATOSTATIN MICROINJECTIONS INTO THE SOLITARY TRACT NUCLEUS ON HERING — BREUER REFLEX

© 2013 I.O. Petryashin<sup>2</sup>

In the paper, the data concerning the effects of somatostatin microinjections into the solitary tract nucleus on Hering — Breuer reflex are presented. We found a stimulatory effect of somatostatin on the reflex by an increase of normalized expiratory duration. Thus, modulation of Hering-Breuer reflex is appeared to be a possible mechanism of somatostatin action at the level of dorsal respiratory group.

**Key words:** somatostatin, solitary tract nucleus, Hering — Breuer reflex, respiratory center.

Paper received 26/II/2013.  
Paper accepted 26/II/2013.

---

<sup>2</sup>Petryashin Ilya Olegovich ([petryash1@gmail.com](mailto:petryash1@gmail.com)), the Dept. of Human and Animal Physiology, Samara State University, Samara, 443011, Russian Federation.