

На правах рукописи

**Беляков Владимир Иванович**

**РЕСПИРАТОРНЫЕ ВЛИЯНИЯ СЕНСОМОТОРНОЙ КОРЫ МОЗГА И  
МОЗЖЕЧКА И МЕХАНИЗМЫ ИХ РЕАЛИЗАЦИИ**

03.00.13 - физиология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Самара - 2002

Работа выполнена в Самарском государственном университете

Научный руководитель: Заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор Меркулова Нина Андреевна.

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор Сергеев Олег Степанович;

доктор медицинских наук, профессор Якунин Валерий Ефимович.

Ведущая организация: Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, биологический факультет

Защита состоится "25" декабря 2002 года в 13 часов на заседании диссертационного совета К.21~~7~~<sup>4</sup>.218.02 при Самарском государственном университете по адресу: 443011, Самара, ул. академика Павлова, 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Самарского государственного университета по адресу: 443011, Самара, ул. академика Павлова, 1.

Автореферат разослан "22" ноября 2002 года.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

Ведясова О.А.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### АКТУАЛЬНОСТЬ ПРОБЛЕМЫ

Центральный механизм регуляции дыхания является предметом исследования нескольких поколений физиологов. Тем не менее многие стороны указанной проблемы остаются слабо исследованными или дискуссионными. Недостаточно изученной, в частности, является проблема супрабульбарной регуляции дыхания.

История развития учения о значении супрабульбарных отделов мозга в регуляции деятельности дыхательного центра сложна и противоречива [Данилевский, 1876; Жуковский, 1989; Бехтерев, 1894; Сергиевский, 1950; Меркулова, 1953, 2002; Маршак, 1961; Багаев, Александров, 2000; Александров, 2002; Ekhard. 1874; Delgado, 1948; Bassal, Bianchi, 1981; Lutherer et al., 1990; Gruart, Delgado-Garcia, 1992; Zhang, 1999; Xu et al., 2001 и др.]. В 50-х годах XX столетия самарскими физиологами выдвинуто положение о том, что дыхательный центр, имея хорошо развитые связи с различными отделами центральной нервной системы, способен вступать с ними в функционально подвижные объединения. Тем самым обеспечивается перестройка деятельности дыхательного центра и приспособление процесса дыхания к изменяющимся условиям жизнедеятельности организма [Сергиевский, 1950, 1955; Меркулова, 1953; Вакслейгер, 1957].

Современный подход к изучению данной проблемы предполагает анализ механизмов, обеспечивающих связи анатомически разобщенных отделов головного мозга (области дыхательного центра с одной стороны, супрабульбарных структур - с другой); выявление в пределах дыхательного центра конкретных структур, участвующих в реализации респираторных влияний супрабульбарных отделов. При анализе этих вопросов необходимо учитывать новые данные о структурно-функциональной и нейрохимической организации дыхательного центра, природе его ритмогенерирующей функции [Инюшкин, Меркулова, 1998; Кульчицкий, 1998; Пятин, Никитин, 1998; Якунин, Якунина, 1998; Инюшкин и соав., 2002; Funk, Feldman, 1995; Ramirez, Richter, 1996; Del Negro et al., 2001; Song et al., 2001; Liu, Wong-Riley, 2002 и др.]. Не менее важным является сравнительно-физиологический аспект проблемы супрабульбарной регуляции дыхания, предполагающий её характеристику у различных видов животных, имеющих особенности структурно-функциональной организации супрабульбарных структур и дыхательного центра [Сергеев, 1984; Курепина, 1985].

Перспективным направлением в рамках проблемы супрабульбарной регуляции дыхания является изучение особенностей и механизмов респираторного влияния сенсомоторной коры мозга и мозжечка. Данные мозговые структуры, тесно взаимодействующие между собой, принимают самое непосредственное участие в инициации и регуляции двигательного поведения [Фанарджян, 1995, 2001; Saito et al., 1995; Vjaalie, 2000; Schvarz, Welsh, 2001 и др.]. Эволюционные и функциональные связи дыхательной и двигательной систем обуславливают вовлечение и особую роль данных супрабульбарных структур в механизме адекватного приспособления дыхания к изменяющимся условиям существования организма.

В ранее выполненных работах по проблеме корковой и мозжечковой регуля-

ции дыхания практически не учитывалась сложность морфологической и нейрохимической организации сенсомоторной коры мозга и мозжечка; не анализировалось значение конкретных структур дыхательного центра и механизмы реализации респираторных влияний этих отделов головного мозга. Совершенно не изученным остается вопрос о взаимодействии данных супрабульбарных структур при организации механизмов центральной регуляции дыхания.

Сенсомоторная кора и мозжечок являются структурно сложными полифункциональными образованиями, интегрирующими информацию самой различной модальности [Мусяшикова, 1964; Черниговский, 1967; Братусь, 1969; Cicerata, 1992; Niellon, Rispal-Padel, 1996; Laborszky et al., 1999 и др.]. Отмечено разнообразие нейрохимического представительства на уровне сенсомоторной коры и структур мозжечка [Валеев и соав., 1990; Базян, 2001; Chen et al., 2001; Latsari et al., 2002 и др.], в то же время имеются данные о сходстве нейромедиаторного обеспечения их деятельности. В частности, в обеих структурах важную роль в координации гетеросенсорного потока афферентации и формирования эфферентных влияний играет ГАМК-ергическая система [Бурчинская, 1985; Фанарджян, 1992; Wang et al., 1999; Gritti et al., 2000; Bao et al., 2002; Diana et al., 2002 и др.]. Об особой важности данной нейромедиаторной системы в регуляции дыхания косвенно свидетельствует высокое содержание ГАМК и соответствующих рецепторов в структурах дыхательного центра, а также данные о непосредственном её участии в организации дыхательного ритмогенеза [Крыжановский и соав., 1993; Тараканов, Сафонов, 1998; Ellenbergen, 1999; Yokogawa et al., 2001; Zhang et al., 2002 и др.]. Всё это обуславливает целесообразность изучения роли ГАМК-ергической медиации в механизме реализации регулирующих влияний сенсомоторной коры и структур мозжечка на деятельность дыхательного центра.

В иммуногистохимических и электрофизиологических исследованиях доказано наличие связей рассматриваемых супрабульбарных структур с дыхательным центром [Бродал, 1960; Terreberry, Neafsley, 1983; Van der Kooy et al., 1984; Gaytan, Pasaro, 1998; Owens et al., 1999; Gaytan et al., 2002]. Наличие тесных морфофункциональных связей сенсомоторной коры мозга с неocerebellлярными образованиями [Фанарджян, 1995; Shihoda et al., 1987; Kennedy, 1999 и др.] дает основание предполагать возможность участия, в частности, зубчатых ядер мозжечка в механизме реализации респираторных влияний сенсомоторной коры мозга.

**ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ** — изучение особенностей респираторных влияний сенсомоторной коры мозга и мозжечка и механизмов их реализации.

#### **ОСНОВНЫЕ ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ**

1. Провести сопоставительный анализ изменений паттерна дыхания и биоэлектрической активности инспираторных мышц при электростимуляции сенсомоторной коры мозга и структур мозжечка;

2. Выявить специфические особенности реакций паттерна дыхания и биоэлектрической активности инспираторных мышц на электростимуляцию различных участков сенсомоторной коры мозга и структур мозжечка;

3. Изучить изменения биоэлектрической активности нейронов дыхательного центра при электрической стимуляции сенсомоторной коры мозга и структур мозжечка;

4. Изучить изменения паттерна дыхания и биоэлектрической активности инспираторных мышц в условиях воздействия на сенсомоторную кору мозга и структуры мозжечка характерного для них нейротрансмиттера ГАМК, а также специфического блокатора ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов бикикуллина. Определить изменения паттерна дыхания и биоэлектрической активности инспираторных мышц при электро-стимуляции сенсомоторной коры мозга и фастигиального ядра мозжечка до и в условиях микроинъекции ГАМК или бикикуллина в структуры дыхательного центра, с которыми данные супрабульбарные отделы наиболее тесно связаны.

5. Проанализировать изменения паттерна дыхания и биоэлектрической активности инспираторных мышц при электростимуляции сенсомоторной коры мозга в условиях химического разрушения зубчатых ядер мозжечка.

## НАУЧНАЯ НОВИЗНА

Впервые дана комплексная характеристика изменений паттерна дыхания, биоэлектрической активности диафрагмы и наружных межреберных мышц, а также нейронов дыхательного центра при электрической стимуляции участков сенсомоторной коры мозга и мозжечка. В работе выдвигается положение о том, что вовлечение различных участков сенсомоторной коры мозга и мозжечка в механизм центральной регуляции дыхания осуществляется по принципу топической организации нисходящих проекций к структурам дыхательного центра.

Проанализированы основные пути реализации респираторных влияний изучаемых супрабульбарных структур. Установлено, что сенсомоторная кора мозга оказывает непосредственное влияние на деятельность ядра солитарного тракта, фастигиальное ядро мозжечка - на амбигуальное ядро. Общей "мишенью" реализации респираторных влияний сенсомоторной коры мозга и структур мозжечка является ретикулярное гигантоклеточное ядро.

Впервые экспериментально обосновано положение об участии в механизме реализации респираторных влияний сенсомоторной коры мозга и мозжечка широко представленной на уровне данных мозговых образований и структур дыхательного центра ГАМК-ергической нейромедиаторной системы.

Получены новые данные, раскрывающие значение зубчатых ядер мозжечка в организации механизма регулирующих воздействий сенсомоторной коры мозга на деятельность дыхательного центра.

Разработана схема функциональных связей исследуемых супрабульбарных структур со структурами дыхательного центра.

## ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ И ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ РАБОТЫ

Полученные в исследовании результаты раскрывают принципиально новые стороны и механизмы участия сенсомоторной коры мозга и мозжечка в регуляции дыхания.

Данные об участии сенсомоторной коры мозга и мозжечка в регуляции дыхания и механизмах реализации их респираторных влияний являются существенным вкладом в развитие представлений о супрабульбарной регуляции деятельности дыхательного центра, его функциональной организации и адаптационных возможностях. Кроме того, установленные факты раскрывают сущность сложных функциональных взаимоотношений сенсомоторной коры мозга и мозжечка в организации центральных механизмов регуляции дыхания.

Результаты исследования представляют интерес и в плане одной из ключевых проблем современной нейрофизиологии - изучение механизмов интегративной деятельности мозга.

В работе получены данные, которые, в определенной степени, позволяют прогнозировать характер возможных изменений дыхания при нарушениях функционирования сенсомоторной коры мозга и мозжечка и их функционального взаимодействия.

### ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ

1. Сенсомоторная кора мозга и структуры мозжечка оказывают выраженное влияние на показатели паттерна дыхания, биоэлектрической активности инспираторных мышц и нейронов дыхательного центра.

2. Различные участки сенсомоторной коры мозга и структур мозжечка в условиях их электростимуляции включаются в механизм центральной регуляции дыхания в соответствии с топическим принципом организации нисходящих проекций к структурам дыхательного центра.

3. Реализация респираторных влияний сенсомоторной коры мозга осуществляется преимущественно, через ядро солитарного тракта, мозжечка - через амбигуальное ядро. Респираторные влияния исследуемых супрабульбарных структур могут реализовываться также через ретикулярное гигантоклеточное ядро.

4. Воздействие ГАМК и бикукуллина на сенсомоторную кору мозга и структуры мозжечка приводит к специфическим изменениям дыхания: ГАМК оказывает угнетающее респираторное влияние; бикукуллин - активирующее. ГАМК на уровне ядра солитарного тракта и амбигуального ядра усиливает выраженность тормозных респираторных влияний, соответственно, сенсомоторной коры мозга и мозжечка. Бикукуллин в этих условиях подавляет выраженность тормозных влияний исследуемых супрабульбарных структур на дыхание.

5. Химическое выключение зубчатых ядер мозжечка оказывает модулирующее влияние на характер респираторных влияний сенсомоторной коры мозга, подавляя выраженность угнетающих влияний данного отдела коры, преимущественно, на механизмы регуляции дыхательного ритма.

### АПРОБАЦИЯ РАБОТЫ

Материалы научного исследования доложены: на Всероссийской научной конференции, посвященной 125-летию со дня рождения акад. А.А.Ухтомского (Санкт-Петербург, 2000); на I Международной конференции молодых ученых "Актуальные проблемы современной науки" (Самара, 2000); на

Международной конференции, посвященной 75-летию со дня рождения А.М.Уголева (Санкт-Петербург, 2001); на XXXIX Международной научной конференции молодых ученых и студентов (Новосибирск, 2001); на XVIII съезде физиологического общества имени И.П.Павлова (Казань, 2001); на Всероссийской конференции “Физиология организмов в нормальном и экстремальном состояниях”, посвященной 95-летию со дня рождения В.А.Пегеля (Томск, 2001); на XXV, XXVI и XXVII научных конференциях молодых ученых и специалистов Самарского государственного университета (Самара, 2000, 2001, 2002).

**ПУБЛИКАЦИИ:** по теме диссертации опубликовано 10 печатных работ.

**СТРУКТУРА И ОБЪЕМ ДИССЕРТАЦИИ:** диссертация изложена на 180 страницах машинописного текста, иллюстрирована 23 таблицами, 23 рисунками. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания использованных в работе материалов и методов исследования, полученных экспериментальных данных, обсуждения результатов, выводов и списка цитируемой литературы. Список литературы включает 337 библиографических названий, из которых 139 зарубежные.

#### **СПИСОК ИСПОЛЪЗУЕМЫХ В РАБОТЕ СОКРАЩЕНИЙ:**

СМК - сенсомоторная кора мозга; ДЦ - дыхательный центр; ДО - дыхательный объем, ЧД - частота дыхания; МОД - минутный объем дыхания; ГАМК - гаммааминомасляная кислота.

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

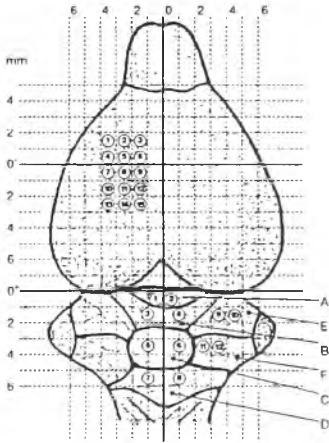
Исследования выполнены на 148 нелинейных крысах обоего пола массой 210-280 грамм, наркотизированных уретаном (1,5-1,7 г/кг). Все наблюдения проводились в строгом соответствии с нормами и правилами этического отношения к лабораторным животным [Буреш и соав., 1991; Иванов, 2002].

Паттерн дыхания регистрировался при помощи спирографической методики [Конза, Фролова, 1978]. Преобразованный электрический сигнал от спирографа поступал на самописец Н-338. На спирограммах оценивали ДО (мл), длительность инспираторной (с) и экспираторной (с) фаз дыхательного цикла, длительность всего дыхательного цикла (с). Рассчитывали ЧД ( $\text{мин}^{-1}$ ), МОД (мл/мин), а также долю вдоха в дыхательном цикле. Параллельно регистрировалась биоэлектрическая активность диафрагмы и наружных межреберных мышц (VI-VIII межреберье) с правой стороны тела животных с помощью стальных игольчатых электродов биполярным способом. Усиление биопотенциалов от дыхательных мышц осуществлялось с помощью блока усилителя электромиографа “Medicor-M 42” (Венгрия). На электромиограммах определяли длительность залпов активности (с), длительность межзалповых интервалов (с) и максимальную амплитуду осцилляций (отн. ед.) в залпах активности инспираторных мышц [Бреслав, 1984].

Импульсная активность нейронов ядра солитарного тракта и амбигуального ядра ДЦ отводилась внеклеточным способом с помощью стеклянного микроэлектрода с диаметром кончика около 10 мкм, заполненного 3 М раствором NaCl со-

гласно координатам атласа мозга крысы [Paxinos, Watson, 1986]. Индифферентный электрод крепился на шейных мышцах животного. Активность нейронов усиливалась при помощи блока усилителя электромиографа "Medicor - M 42" и трансформировалась электростимулятором ЭС - 50 - 1 в стандартные импульсы. На нейронограммах оценивали продолжительность залповой активности (с), количество импульсов в залпах, среднюю частоту импульсов в залпе (имп/с) и межимпульсный интервал (с) [Сафонов и соав., 1968].

Поверхностную электрическую стимуляцию участков СМК, коры червя и полушарий мозжечка осуществляли с помощью монополярного шарикового электрода с диаметром активной поверхности около 300 мкм. На основании визуального наблюдения за состоянием вибриссного аппарата, головы, конечностей у крысы составляли карту коркового и мозжечкового моторного представительства. Локализация участков раздражения представлена на рис. 1. Электростимуляцию фастигиального ядра мозжечка осуществляли стальным микроэлектродом с диаметром изолированного кончика примерно 20 мкм согласно атласу мозга [Paxinos, Watson, 1986]. Параметры электрического тока составляли: 3 В, 8 В и 12 В (50 Гц; 0,5 мс).



**Рис. 1.** Схема сенсомоторной коры мозга и мозжечка крысы с указанием участков, подвергавшихся электрическому раздражению

*Обозначения:* 0 - сагиттальный шов; 0<sup>^</sup> - брегма; 0<sup>^^</sup> - фронтальная граница мозжечка; А - передняя долька червя мозжечка; В - простая долька червя мозжечка; С - медиальная долька червя мозжечка; D - задняя долька червя мозжечка; Е - петлевая долька полушарий мозжечка; F - парамедианная долька полушарий мозжечка.

Воздействие растворов ГАМК ( $10^{-3}$  М,  $10^{-1}$  М) и бичукуллина ( $10^{-3}$  М,  $10^{-1}$  М) на поверхность СМК производилось методом локальной аппликации. Инъекции растворов ГАМК ( $10^{-3}$  М; 0,2 мкл) и бичукуллина ( $10^{-3}$  М; 0,2 мкл) в ростральный участок фастигиального ядра мозжечка, в ядро солитарного тракта и ростральный участок амбигуального ядра, а также инъекции раствора каиновой кислоты ( $10^{-1}$  М; 0,2 мкл) в зубчатые ядра мозжечка производились при помощи микрошприца МШ-1 через укрепленную на его игле стеклянную микроканюлю с диаметром кончика около 20 мкм согласно координатам атласа мозга крысы [Paxinos, Watson, 1985]. В контрольных наблюдениях аналогичным способом воздействовали искусственной цереброспинальной жидкостью. В части экспериментов проводился гистологический контроль локализации точек электростимуляции и микроинъекции биоактивных веществ [Елисеев и соав., 1967].

В течении эксперимента ректальная температура поддерживалась на постоянном уровне  $35 \pm 0,5$  С°. Полученные экспериментальные данные обрабатывали ста-



тистически с использованием программного пакета "Statistika". Для определения достоверности различий использовали критерий Стьюдента. Достоверными считались изменения со значениями  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

*1. Изменение паттерна дыхания и биоэлектрической активности инспираторных мышц при электрической стимуляции различных участков СМК и структур мозжечка.*

Установлено, что характер респираторных влияний СМК определяется участком раздражения, а также параметрами действующего тока. Максимальные по выраженности респираторные эффекты наблюдались при действии тока 12 В. В этих условиях электрическое раздражение ростральных участков СМК (№ 1-9) приводило к значительному угнетению объемных и временных показателей паттерна дыхания и активности инспираторных мышц. Основной вклад в снижение ДО (-53,3 %;  $p < 0,001$ ) вносило уменьшение максимальной амплитуды осцилляций в залпах активности, в основном, наружных межреберных мышц (-51,4 %;  $p < 0,001$ ). Среди временных показателей наиболее выражено изменялись продолжительность выдоха (-59,9 %,  $p < 0,001$ ) и длительность межзалповых интервалов активности инспираторных мышц (-63,5 %,  $p < 0,001$  - у диафрагмы; -66,0 %,  $p < 0,001$  - у наружных межреберных мышц). Отмеченные факты хорошо согласуются с известным представлением о том, что у крысы ритмика дыхания регулируется в самых разнообразных экспериментальных условиях, главным образом, за счет изменения выдоха; дыхательный объем за счет изменения активности наружных межреберных мышц [Сергеев, 1984; Чепурнов, Иношкин, 1998].

Смещение кончика раздражающего электрода в каудальном направлении (участки № 10-15) сопровождалось ослаблением выраженности тормозных респираторных влияний СМК. В этом случае происходило снижение МОД на 47,4 % ( $p < 0,01$ ), что достигалось уменьшением ДО на 20,4 % ( $p < 0,05$ ), ЧД на 30,0 % ( $p < 0,01$ ). На рис. 2 (А, В) представлена динамика изменений основных показателей паттерна дыхания при раздражении током различного напряжения одного из ростральных и каудальных участков СМК.

Характерной особенностью мозжечковой регуляции дыхания явилось угнетающее влияние данной супрабульбарной структуры, преимущественно, на временные показатели дыхания. Изменения дыхательного ритма, также как и в случае СМК, прежде всего заключались в соответствующих изменениях фазы выдоха. Установлена специфика в характере респираторных влияний различных структур мозжечка. Наиболее "активные" респираторные участки располагались в пределах передней, простой, задней долек червя мозжечка, а также рострального участка его фастигиального ядра. Раздражение током 12 В одного из таких участков передней дольки червя мозжечка привело к уменьшению МОД на 71,4 % ( $p < 0,001$ ), которое достигалось уменьшением ДО и ЧД соответственно на 21,5 % ( $p < 0,05$ ) и 68,2 % ( $p < 0,001$ ). Параллельно уменьшалась длительность межзалповых интервалов активности диафрагмы на 60,8 % ( $p < 0,001$ ), наружных межреберных мышц на 61,2 %

( $p < 0,001$ ). В 24,3 % случаев в этих условиях регистрировалась временная остановка дыхания. Характерной чертой вновь установившегося дыхания было увеличение амплитудной характеристики первого после раздражения дыхательного залпа, что, возможно, связано с возросшей интенсивностью хеморецепторного драйва. Отмеченные факты свидетельствуют о важной роли участков передней дольки червя мозжечка в механизмах надбульбарной регуляции ритмогенерирующей функции ДЦ.

Выраженное угнетение дыхания наблюдалось при раздражении участков простой и задней долек червя мозжечка. Участки медиальной дольки червя мозжечка, парамедианной и петлевой долек полушарий мозжечка оказывали незначительное влияние на показатели паттерна дыхания и активности инспираторных мышц. На рис. 2 (С, D) приведены данные об изменениях основных показателей внешнего дыхания при раздражении током 3 В, 8 В и 12 В участка передней дольки червя и петлевой дольки полушарий мозжечка. Раздражение (12 В) рострального участка фасцигиального ядра мозжечка приводило к снижению МОД на 57,7 % ( $p < 0,001$ ) в результате уменьшения ЧД на 51,1 % ( $p < 0,01$ ).

Таким образом, наиболее “активные” респираторные участки расположены в пределах ростральной части СМК, передней, простой и задней долек червя мозжечка, а также ростральной части его фасцигиального ядра. Отмечено, что данные участки у крысы соответствуют областям моторного представительства вибриссного аппарата и передних конечностей. Полученные данные свидетельствуют о том, что различные участки СМК и структур мозжечка включаются в механизм центральной регуляции дыхания в соответствии с топическим принципом организации их нисходящих проекций к структурам ДЦ.

*2. Изменение биоэлектрической активности нейронов ДЦ при электрической стимуляции СМК и фасцигиального ядра мозжечка.*

Одним из основных факторов, обеспечивающих участие СМК и мозжечка в регуляции дыхания, является наличие морфологических связей данных супрабульбарных отделов со структурами ДЦ. Описаны опосредованные передней лимбической корой связи СМК с ядром солитарного тракта [Hurley-Gius K., Neafsey, 1986; Van der Kooy et al., 1984; Owens et al., 1999]. С помощью флуоресцентных меток установлены проекции фасцигиального ядра к ростральной части амбигуального ядра ДЦ [Gaytan, Pasaro, 1998; Gaytan et al., 2002]. Имеются данные о том, что кортико- и фасцигио-бульбарные волокна устанавливают синаптические контакты с нейронами ростральной части ретикулярного гигантоклеточного ядра [Бродал, 1960; Kuypers, 1958], являющегося важной воспринимающей структурой ДЦ [Ройтбак, 1959; Якунин, 1990; Сергиевский и соавт., 1993; Буракова, 1999].

Бесспорным доказательством реализации респираторных влияний исследуемых супрабульбарных структур непосредственно на структуры ДЦ является установленное в нашем исследовании выраженное изменение нейронной активности соответствующих структур ДЦ. Раздражение током 8 В (50 Гц; 0,5 мс) одного из “активных” ростральных участков СМК приводило к уменьшению количества импульсов в залпах инспираторных нейронов ядра солитарного тракта на 47,4 % ( $p < 0,001$ ). Средняя частота импульсов в залпах уменьшалась на 46,2 % ( $p < 0,001$ ),

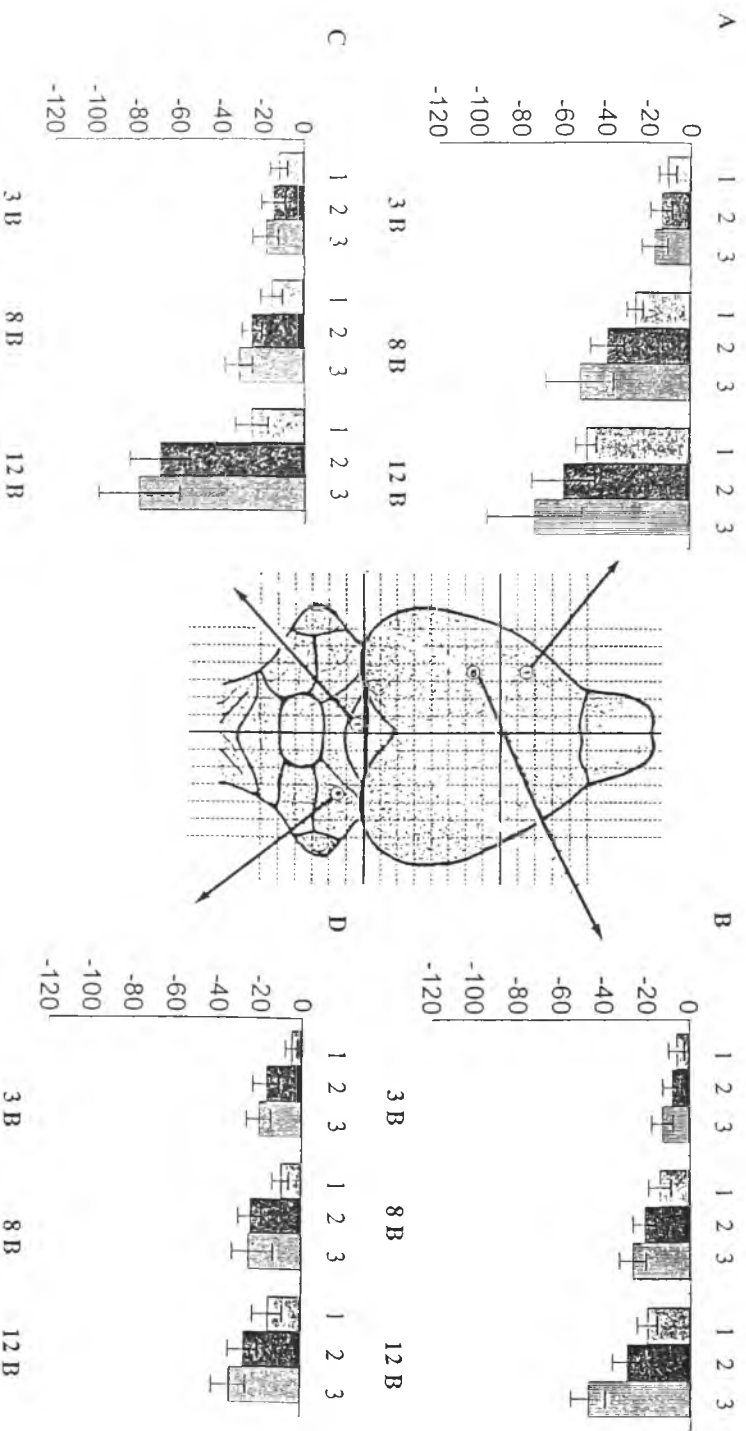


Рис. 2. Изменение основных показателей паттерна дрыгания (в % от исходного уровня) при электростимуляции различных участков СМК: В - каудальный участок СМК; А - ростральный участок СМК; С - участок передней долики червя мозжечка; D - участок парамедиальной долики полушарий мозжечка.

Обозначения: А - ростральный участок СМК; В - каудальный участок СМК;

С - участок передней долики червя мозжечка; D - участок парамедиальной долики полушарий мозжечка.  
1 - ДО; 2 - ЧД; 3 - МОД.

а межимпульсный интервал в залпах увеличивался более чем на 50 % ( $p < 0,001$ ). В этих условиях выражено угнеталась непрерывная импульсная активность ретикулярных нейронов данного респираторного ядра.

Электрическое раздражение (8 В; 50 Гц; 0,5 мс) рострального участка фастигиального ядра мозжечка вызывало уменьшение количества импульсов в залпах инспираторных нейронов амбигуального ядра на 33,3 % ( $p < 0,01$ ), средней частоты импульсации в залпах на 59,8 ( $p < 0,001$ ). В случае экспираторных нейронов наблюдалось увеличение продолжительности залпов активности на 30,7 % ( $p < 0,01$ ), возрастание количества импульсов в залпах на 62,5 % ( $p < 0,001$ ). Средняя частота импульсации в залпах увеличивалась на 24 % ( $p < 0,05$ ). В значительной степени угнеталась непрерывная импульсная активность ретикулярных нейронов амбигуального ядра.

Таким образом, на основании отмеченных изменений активности нейронов ДЦ при раздражении исследуемых супрабульбарных отделов и наличия морфологических связей между ними позволительно заключить, что респираторные влияния СМК реализуются, преимущественно, через ядро солитарного тракта; влияния мозжечка - преимущественно, через амбигуальное ядро. Общей структурой, участвующей в реализации респираторных влияний СМК и мозжечка является ретикулярное гигантоклеточное ядро.

### *3. Изменение паттерна дыхания и биоэлектрической активности инспираторных мышц при воздействии ГАМК и специфического блокатора ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов биккукуллина на СМК и фастигиальное ядро мозжечка.*

При рассмотрении нейрохимических механизмов, обеспечивающих передачу респираторных влияний СМК и мозжечка внимание привлекает ГАМК-ергическая нейромедиаторная система, широко представленная в исследуемых супрабульбарных отделах и активно включенная в механизм реализации их эфферентных влияний [Фанарджян, 1992; Wang et al., 1999; Diana et al., 2002 и др.].

Установлено, что воздействие ГАМК на ростральный участок СМК и фастигиальное ядро мозжечка приводит к дозозависимому угнетению дыхания. При действии ГАМК ( $10^{-1}$  М) на СМК регистрировалось снижение ЧД на 22,2 % ( $p < 0,05$ ), МОД на 24,2 % ( $p < 0,05$ ). Увеличение продолжительности межзалповых интервалов активности диафрагмы составило 20,5 % ( $p < 0,05$ ), наружных межреберных мышц - 23,2 % ( $p < 0,05$ ). ГАМК на уровне фастигиального ядра мозжечка также вызывала угнетение, главным образом, временных показателей паттерна дыхания и активности инспираторных мышц. ЧД и МОД падали соответственно на 27,6 % ( $p < 0,05$ ) и 41,1 % ( $p < 0,01$ ) (рис. 3).

Воздействие биккукуллина ( $10^{-1}$  М) на ростральный участок СМК приводило к стимуляции дыхания: наблюдался рост ДО, ЧД и МОД соответственно на 20 % ( $p < 0,05$ ), 25,8 % ( $p < 0,05$ ) и 54,8 % ( $p < 0,01$ ). Микроинъекция биккукуллина ( $10^{-1}$  М) в ростральный участок фастигиального ядра вызывала увеличение ЧД на 38,8 % ( $p < 0,01$ ), МОД на 44,5 % ( $p < 0,01$ ) на фоне незначительных изменений ДО. Растворы биккукуллина в концентрации  $10^{-1}$  М при их воздействии на исследуемые супрабульбарные структуры обладали менее выраженной респираторной активностью.

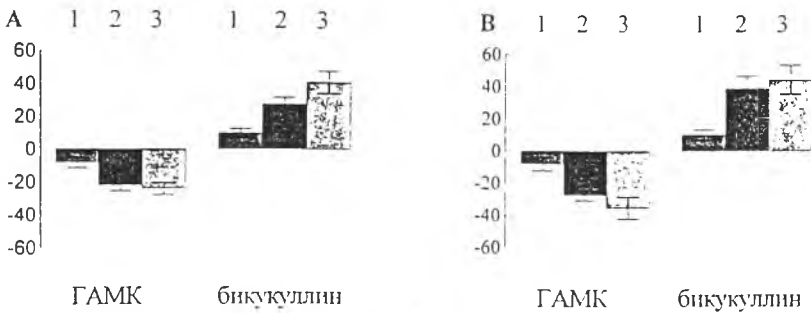


Рис. 3. Изменение основных показателей паттерна дыхания (в % от исходного уровня) при воздействии ГАМК и бикукуллина на ростральный участок СМК (А) и фастигиальное ядро мозжечка (В)

Обозначения те же, что на рис. 2.

Таким образом, представленная в СМК и в мозжечке ГАМК-ергическая система непосредственно включена в механизм реализации респираторных влияний данных супрабульбарных структур.

4. Изменение паттерна дыхания и биоэлектрической активности инспираторных мышц при электрической стимуляции СМК и фастигиального ядра мозжечка в условиях микроинъекции ГАМК и специфического блокатора ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов бикукуллина в структуры ДЦ.

Учитывая установленное нами непосредственное влияние СМК и фастигиального ядра мозжечка, соответственно, на активность нейронов ядра солитарного тракта и амбигуального ядра, а также высокую плотность ГАМК-ергических терминалей и важное значение ГАМК в функционировании ДЦ [Крыжановский и соав., 1993; Тараканов, Сафонов, 1998; Zhang et al., 2002 и др.] изучали значение ГАМК-ергических структур указанных ядер в механизме реализации респираторных влияний исследуемых супрабульбарных отделов.

Установлено, что введение ГАМК ( $10^{-3}$  М), а также бикукуллина ( $10^{-3}$  М) в структуры ДЦ приводило к угнетению, микроинъекция бикукуллина ( $10^{-3}$  М) к стимуляции дыхания. При этом ГАМК и бикукуллин на уровне ядра солитарного тракта вызывали изменения, преимущественно, объемных показателей дыхания, а на уровне амбигуального ядра – временных, что согласуется с результатами наблюдений других авторов [Тараканов, Сафонов, 1998; St-John, 2000].

Применяемые нейротропные агенты не только сами по себе характеризовались выраженной респираторной активностью, но и оказались способными модулировать влияния СМК и мозжечка на дыхание на уровне определенных структур ДЦ (рис. 4). Если до микроинъекции ГАМК в ядро солитарного тракта электрическое раздражение (12 В) приводило к уменьшению ДО на 34,9 % ( $p < 0.01$ ), ЧД - на 48,4 % ( $p < 0.001$ ), МОД - на 69,7 % ( $p < 0,001$ ). После микроинъекции ГАМК изменения основных показателей паттерна дыхания составили соответственно - 53,3 % ( $p < 0,001$ ), 60,3 % ( $p < 0,001$ ) и 88,6 % ( $p < 0,001$ ). Значимость различий между сериями опытов

для ДО и МОД составила  $p < 0,05$ . Блокада ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов ядра солитарного тракта бикукуллином подавляла угнетающее влияние СМК на дыхание. До блокады электростимуляция (12 В) рострального участка СМК вызывала уменьшение ДО, ЧД и МОД соответственно на 33,7 % ( $p < 0,01$ ), 56,6 % ( $p < 0,01$ ) и 79,8 % ( $p < 0,001$ ). После блокады ЧД уменьшалась на 38,4 % ( $p < 0,05$ ), МОД - на 46,9 % ( $p < 0,05$ ).

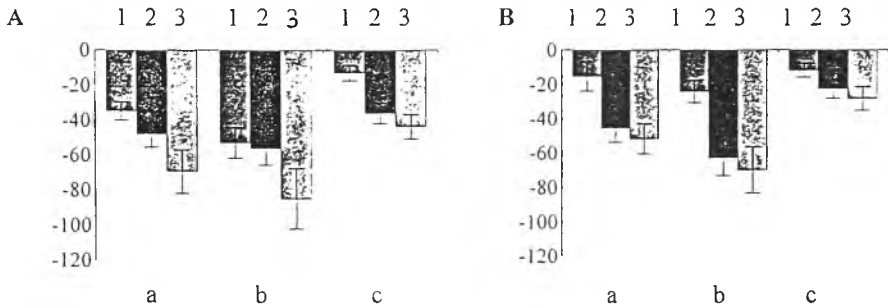


Рис. 4. Изменение основных показателей паттерна дыхания (в % от исходного уровня) при электростимуляции рострального участка СМК (А) и фастигиального ядра мозжечка (В) до (а) и в условиях микроинъекции ГАМК (б) и бикукуллина (с) в структуры ДЦ

Обозначения те же, что на рис. 2.

Микроинъекция ГАМК в амбигуальное ядро усиливала респираторные эффекты электрического раздражения фастигиального ядра мозжечка. До микроинъекции ЧД и МОД уменьшались соответственно на 45,0 % ( $p < 0,01$ ) и 55,9 % ( $p < 0,001$ ). После микроинъекции изменение данных показателей составило соответственно 63,9 % ( $p < 0,001$ ) и 74,1 % ( $p < 0,001$ ). Значимость различий между сериями опытов составила  $p < 0,05$ . Бикукуллин на уровне амбигуального ядра подавлял угнетающие влияния электрического раздражения фастигиального ядра мозжечка, особенно на временные показатели дыхания. До введения бикукуллина в амбигуальное ядро раздражение фастигиального ядра приводило к уменьшению ЧД на 45,9 % ( $p < 0,001$ ), МОД на 57,4 % ( $p < 0,001$ ). В условиях воздействия бикукуллина данные показатели уменьшались соответственно на 22,8 % ( $p < 0,05$ ) и 28,5 % ( $p < 0,05$ ). Различия между сериями опытов были достоверными ( $p < 0,05$ ).

На основании полученных результатов сделан вывод о том, что ГАМК-ергические структуры ядра солитарного тракта и амбигуального ядра принимают непосредственное участие в механизме реализации респираторных влияний, соответственно, СМК и мозжечка.

5. Изменение паттерна дыхания и биоэлектрической активности инспираторных мышц при электрической стимуляции СМК в условиях химического разрушения зубчатых ядер мозжечка.

Учитывая существование тесных морфофункциональных связей СМК с зубчатыми ядрами мозжечка сделано предположение об их возможном участии в механизме реализации респираторных СМК. Для проверки данного предположения

производили электрическое раздражение рострального участка СМК до и в условиях химического разрушения каиновой кислотой зубчатых ядер мозжечка.

Микроинъекция каиновой кислоты в зубчатые ядра вызывала стимуляцию дыхания. Наблюдалось увеличение МОД на 30,8 % ( $p < 0,01$ ), главным образом, за счет увеличения ЧД на 25,1 % ( $p < 0,05$ ). Продолжительность межзальповых интервалов активности диафрагмы снижалась на 23,2 % ( $p < 0,05$ ), наружных межреберных мышц - на 26,0 % ( $p < 0,05$ ). В условиях интактных зубчатых ядер раздражение током 12 В рострального участка СМК приводило к уменьшению ДО, ЧД и МОД на 44,6 % ( $p < 0,01$ ), 59 % ( $p < 0,001$ ) и 74,4 % ( $p < 0,001$ ). Электростимуляция данного коркового участка в условиях химически выключенных зубчатых ядер приводила к уменьшению данных показателей дыхания соответственно на 34,6 % ( $p < 0,01$ ), 35,9 % ( $p < 0,01$ ) и 47,4 % ( $p < 0,01$ ). Различия между сериями опытов для ЧД и МОД были достоверными ( $p < 0,05$ ). На рис. 5. отражена динамика изменений основных показателей паттерна дыхания при электростимуляции рострального участка СМК до и в условиях химического разрушения зубчатых ядер мозжечка.

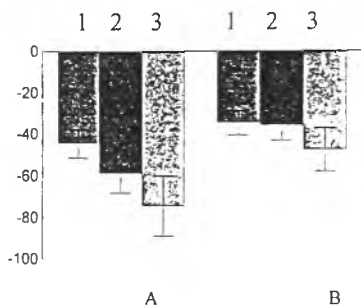


Рис. 5. Изменение основных показателей паттерна дыхания (в % от исходного уровня) при электростимуляции рострального участка СМК до (А) и в условиях химического разрушения зубчатых ядер мозжечка (В)

Обозначения те же, что на рис. 2.

Таким образом, разрушение зубчатых ядер мозжечка каиновой кислотой не только приводит к изменениям дыхания, но и модулирует характер респираторных влияний СМК, преимущественно, на временные показатели дыхания.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании установлены и проанализированы особенности и механизмы реализации респираторных влияний СМК и мозжечка.

Анализ изменений показателей дыхательного паттерна и активности инспираторных мышц при электростимуляции СМК и структур мозжечка у крыс позволил установить, что СМК оказывает угнетающее влияние как на объемные, так и временные показатели дыхания; мозжечок вызывает угнетение, главным образом, ритма дыхания. В этих условиях снижение ДО обеспечивалось изменением активности, в основном, наружных межреберных мышц; ЧД уменьшалась за счет фазы выдоха. Отмечена неравнозначность участия различных участков СМК и структур мозжечка в механизме центральной регуляции дыхания. Наиболее "активные" в отношении

регуляции дыхания участки располагаются в пределах ростральной части СМК, передней, простой и задней долек червя мозжечка, а также рострального участка его фастигиального ядра. Данные участки перекрываются с областями моторного представительства вибриссного аппарата и передних конечностей. По всей видимости, различные участки СМК и мозжечка включаются в механизм центральной регуляции дыхания в соответствии с топическим принципом их проекций к структурам ДЦ. Можно предположить, что функциональное взаимодействие исследуемых супрабульбарных структур с ДЦ возрастает при осуществлении сложных форм двигательного поведения, требующего обязательного участия вибриссного аппарата и передних конечностей у данного вида животных. Данное заключение хорошо согласуется с концепцией самарских физиологов об адаптационно-приспособительном значении супрабульбарных структур для деятельности ДЦ [Сергиевский, 1950; Меркулова, 1953, 2001; и др.].

Одним из основных факторов, обеспечивающих передачу респираторных влияний СМК и мозжечка является наличие связей данных супрабульбарных отделов со структурами ДЦ. В литературе имеются указания о том, что мозжечок посредством фастигиобульбарных путей связан с амбигуальным ядром [Gaytan, Pasaro, 1998; Gaytan et al., 2002]; СМК посылает олигосинаптические связи к ядру солитарного тракта ДЦ [Hurley-Gius K., Neafsey, 1986; Van der Kooy et al., 1984; Owens et al., 1999]. Кроме того, СМК и центральные ядра мозжечка (преимущественно фастигиальные) имеют эфферентный выход к ретикулярному гигантоклеточному ядру [Бродал, 1960; Kuypers, 1958; Zhang et al., 2002], являющемуся важной интегративной структурой ДЦ [Ройтбак, 1959; Якунин, 1990; Сергиевский и соав., 1993; Буракова, 1999 и др.]. Обнаруженные реакции нейронной активности структур ДЦ на электростимуляцию рострального участка СМК и фастигиального ядра мозжечка свидетельствуют о непосредственном влиянии СМК на ядро солитарного тракта, фастигиального ядра мозжечка - на амбигуальное ядро. Известно, что ядро солитарного тракта участвует, преимущественно, в регуляции объема дыхания, амбигуальное ядро ритма дыхания [Инюшкин, 1998]. Следовательно, выявленные особенности респираторных влияний СМК и мозжечка могут быть обеспечены характером их связей с функционально различными структурами ДЦ. Существование тесных связей между структурами самого ДЦ [Якунин, 1990; Сергиевский и соав., 1993; Пятин, Никитин, 1998] может приводить к задействованию различных механизмов, ответственных за реализацию респираторных влияний СМК и мозжечка.

Показана важная роль ГАМК-ергической нейромедиаторной системы в организации респираторных влияний СМК и мозжечка. Воздействие ГАМК на СМК и фастигиальное ядро приводит к угнетению дыхания; воздействие блокатора ГАМК-рецепторов биккуллина, напротив, активизирует дыхание. ГАМК и биккуллин на уровне ядра солитарного тракта модулируют характер респираторных влияний СМК, на уровне амбигуального ядра модулируют респираторные влияния фастигиального ядра мозжечка. На основании последнего заключения можно предположить включение ГАМК-ергических волокон в состав нейронных проекций, обеспечивающих передачу респираторных влияний СМК и мозжечка.



## СЕНСОМОТОРНАЯ КОРА МОЗГА

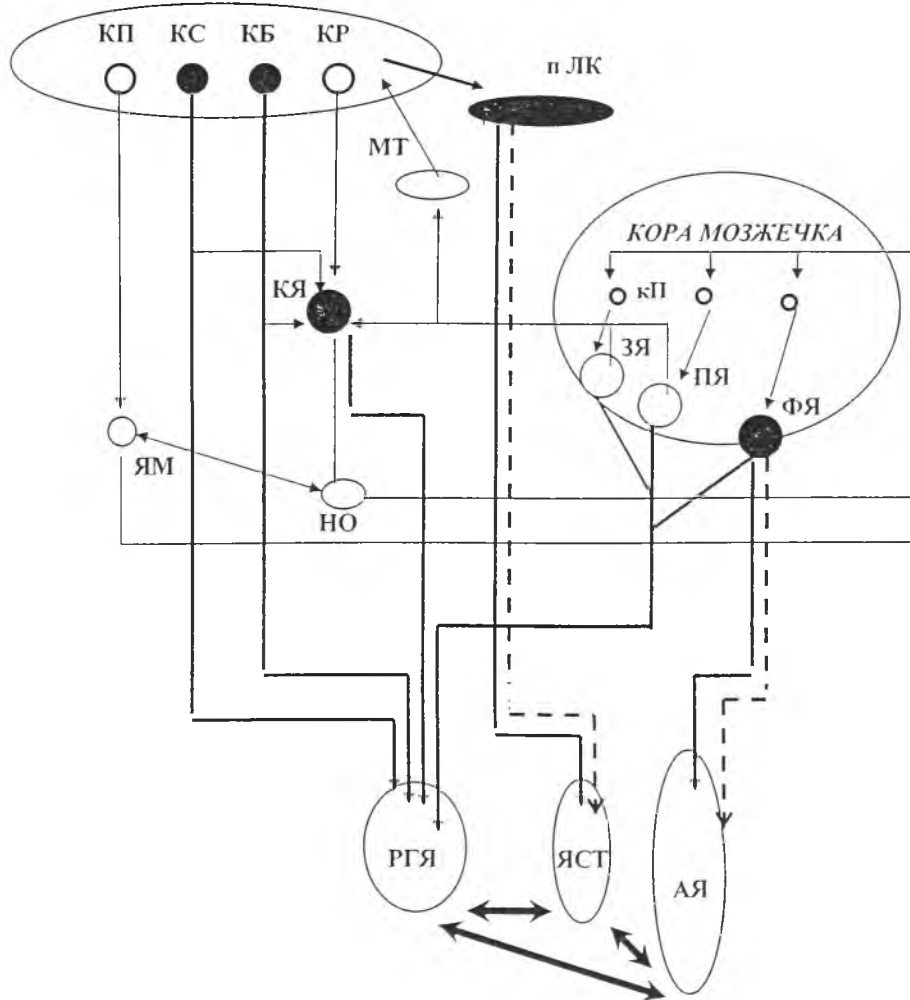


Рис. 6. Схема путей взаимодействия в функциональной системе  
 “сенсомоторная кора мозга - мозжечок - дыхательный центр”

Обозначения: КП - кортикопонтинный нейрон (мостовой); КС - кортикоспинальный нейрон; КБ - кортикобульбарный нейрон; КР - кортикорульбарный нейрон; п ЛК - эфферентный нейрон передней лимбической коры; МТ - моторный таламус; КЯ - красное ядро; ЯМ - ядро моста; НО - нижняя олива; кП - клетка Пуркиньи коры мозжечка; ЗЯ - зубчатое ядро мозжечка; ПЯ - промежуточное ядро мозжечка; ФЯ - фасцикулярное ядро мозжечка; РГЯ - ретикулярное гигантоклеточное ядро; ЯСТ - ядро солитарного тракта; АЯ - амбигуальное ядро. Жирными линиями показаны связи супрабульбарных отделов со структурами дыхательного центра; жирными пунктирными линиями обозначены возможные ГАМК-ергические проекции от супрабульбарных структур к ДЦ.

Известно, что СМК и мозжечок содружественно вовлечены в механизм регуляции двигательной активности [Фанарджян, 2001; Kennedy, 1999 и др.]. Морфологически это обеспечено существованием кортико-пonto-мозжечковой петли и системой “СМК красные ядра нижняя олива мозжечок”, являющихся одними из самых мощных путей в центральной нервной системе млекопитающих. Данные пути из СМК адресуются прежде всего к неocerebellарным образованиям, в частности, к зубчатым ядрам [Фанарджян, 1995]. Учитывая тесные эволюционные и морфофункциональные связи дыхательной и двигательной систем в исследовании проанализировано значение зубчатых ядер мозжечка в механизме реализации респираторных влияний СМК. Установлено, что химическое разрушение зубчатых ядер мозжечка снижает выраженность угнетающих влияний СМК на временные показатели дыхания. Данный факт в совокупности с выше отмеченными позволяет представить взаимоотношения СМК, мозжечка и ДЦ как сложно организованную функциональную систему, деятельность которой лежит в основе приспособления дыхания к изменяющимся условиям жизнедеятельности организма, в частности, при двигательной деятельности.

На основе установленных и литературных данных можно предложить схему функционального взаимодействия СМК и мозжечка с ДЦ (рис. 6).

## ВЫВОДЫ

1. Сравнительный анализ респираторных реакций, вызванных электрическим раздражением различных участков СМК и структур мозжечка позволил выявить следующие особенности: участки СМК оказывают угнетающее влияние на механизмы регуляции дыхательного объема и ритма дыхания; структуры мозжечка вызывают угнетение, главным образом, ритмогенерирующей функции дыхательного центра.

2. Выявлен топический принцип включения участков СМК и структур мозжечка при их электростимуляции в механизм центральной регуляции дыхания. Наиболее “активные” респираторные участки расположены в пределах роstralной части СМК, передней, простой и задней долек червя мозжечка, а также роstralной части его фастигиального ядра. Данные участки топически перекрываются с областями моторного представительства вибриссного аппарата и передних конечностей.

3. Установлены выраженные изменения биоэлектрической активности дыхательных и ретикулярных нейронов ядра солитарного тракта и амбигуального ядра ДЦ при электростимуляции соответственно роstralного участка СМК и фастигиального ядра мозжечка. Полученные факты позволяют считать, что респираторные влияния СМК реализуются преимущественно через ядро солитарного тракта; влияния структур мозжечка - преимущественно через амбигуальное ядро. Общей структурой, участвующей в реализации респираторных влияний СМК и мозжечка является ретикулярное гигантоклеточное ядро.

4. ГАМК-ергическая нейромедиаторная система участвует в механизме реализации респираторных влияний исследуемых супрабульбарных структур. Специфическая стимуляция ГАМК-цепитивных структур роstralного участка СМК и фастигиального ядра мозжечка оказывает тормозное респираторное влияние; блокада этих

структур бикукуллином, напротив, стимулирует дыхание. Стимуляция ГАМК-цепивных структур в ядре солитарного тракта и амбигуальном ядре усиливает выраженность тормозных респираторных влияний, соответственно, СМК и фастигального ядра мозжечка. Бикукуллин в этих условиях подавляет выраженность характерных для данных супрабульбарных структур респираторных влияний.

5. Имеется функциональное взаимодействие СМК с неocerebellарными образованиями при организации центральных механизмов регуляции дыхания. Показано, что химическое выключение зубчатых ядер мозжечка модулирует характер респираторных влияний СМК, подавляя выраженность угнетающих влияний данной корковой структуры, преимущественно, на ритмогенерирующую функцию дыхательного центра.

\* \* \*

Часть экспериментальных исследований, положенных в основу настоящей работы, выполнена при финансовой поддержке гранта Министерства образования России - Е 00-6.0-26.

#### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Беляков В.И. Торакальный и абдоминальный компоненты биоэлектрической активности дыхательных мышц при раздражении сенсомоторной коры мозга у крыс / Тезисы XXV Самарской областной студенческой научной конференции. Ч. I. Самара, 1998, С. 65-66.
2. Беляков В.И., Меркулова Н.А. Торакальный и абдоминальный компоненты биоэлектрической активности дыхательных мышц при раздражении сенсомоторной коры мозга у крыс. Вестник Самарского госуниверситета. № 2 (12), 1999, С. 113-118, авт. ... 4 с.
3. Беляков В.И. Значение и механизмы респираторных влияний сенсомоторной коры головного мозга и мозжечка у крыс. В сб.: Актуальные проблемы современной науки. Самара, 2000, 19 с.
4. Меркулова Н.А., Инюшкин А.Н., Беляков В.И. Доминанта и механизмы адекватного приспособления дыхания к изменяющимся условиям жизнедеятельности организма / Всеросс. научная конференция, посвященная 125-летию со дня рождения академика А.А.Ухтомского. Санкт-Петербург, 2000, С. 67-69, авт. ... 1 с.
5. Беляков В.И. Значение зубчатых ядер (nucleus dentatus) мозжечка в реализации респираторных влияний сенсомоторной коры мозга у крыс / Физиология организмов в нормальном и экстремальном состояниях. Сб. статей, посвященный памяти и 95-летию со дня рождения В.А.Пегеля. Томск, 2001, С. 171-173.
6. Беляков В.И. Реакции инспираторных мышц при электрической и химической стимуляции коры головного мозга у крыс / Материалы XXXIX Международной научной конференции молодых ученых и студентов. Новосибирск, 2001, 193 с.
7. Беляков В.И., Меркулова Н.А. Электрофизиологический анализ особенностей функционального объединения сенсомоторной коры мозга и коры мозжечка с дыхательным центром / Современные проблемы физиологии вегетативных функций. Сб.

научных статей, посвященный 75-летию со дня рождения Н.А.Меркуловой. Самара, 2001, С. 151-162, авт. ... 7 с.

8. Меркулова Н.А., Инюшкин А.Н., Беляков В.И. Сравнительный анализ значимости коры головного мозга и мозжечка в регуляции дыхания / Механизмы функционирования висцеральных систем. Международ. конференция, посвященная 75-летию со дня рождения А.М.Уголева. Тезисы докладов. Санкт-Петербург, 2001, С. 240-241, авт. ... 1 с.

9. Меркулова Н.А., Инюшкин А.Н., Беляков В.И. и соав. Основные принципы интегративного объединения дыхательного центра с надбужбарными структурами / XVIII съезд физиологического общества имени И.П.Павлова. Тезисы докладов. Казань, 2001, 388 с., авт. ... 0,25 с.

10. Беляков В.И., Меркулова Н.А., Инюшкин А.Н. Респираторные влияния сенсорной коры мозга у крыс и механизмы их реализации. Бюлл. экспериментальной биологии и медицины, № 4, 2002, С. 367-370, авт. ... 2,5 с.

*Автор выражает глубокую благодарность доктору биологических наук профессору А.Н.Инюшкину за неоценимую помощь и поддержку в работе.*

Подписано в печать 19 ноября 2002 г.

Формат 60×84/16. Бумага офсетная. Печать оперативная.

Объем 1 п.л. Тираж 100 экз. Заказ № 921.

443011 г. Самара, ул. Академика Павлова, 1.

УОП СамГУ ПЛД № 67-43 от 19.02.98.