

РОЛЬ ГЛУТАМАТА В МЕХАНИЗМАХ АДАПТАЦИИ СИСТЕМЫ КОНТРОЛЯ ДЫХАНИЯ КРЫС К ИНТЕРВАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ

Поступила 10.03.09

В экспериментах на крысах линии Вистар исследовалась роль изменений состояния глутаматергической передачи в процессе адаптации системы контроля дыхания к интервальной гипоксии. Об объемно-временных параметрах дыхания судили по характеристикам ЭМГ-активности диафрагмальной мышцы (амплитуде, частоте разрядов и их интегральной интенсивности). Вызванные действием острой гипоксии (дыхание смесью, содержащей в себе 12 % O₂) изменения ЭМГ-активности диафрагмы оценивались до и после введения блокатора NMDA-рецепторов МК-801 до и после 14-дневного курса интервальных гипоксических тренировок. Результаты исследований свидетельствуют о существенном вовлечении глутаматергической медиаторной системы в реакцию системы дыхания на предъявление гипоксического стимула на всех этапах формирования вентиляторного ответа как до, так и после воздействия интервальной гипоксии. Блокирование NMDA-рецепторов в условиях адаптации к интервальной гипоксии оказывало более выраженное влияние на амплитуду респираторных ЭМГ-разрядов диафрагмы, чем на их частоту.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: интервальная гипоксия, ЭМГ-активность, диафрагма, ствол мозга, глутамат, МК-801.

ВВЕДЕНИЕ

Повышение интенсивности вентиляции при недостатке кислорода во вдыхаемом воздухе является одним из базисных приспособительных феноменов, выработанных наземными позвоночными в процессе эволюции и обеспечивающих им возможность существования в воздушной среде. Данная реакция обеспечивается изменением активности нейронных систем контроля респираторной функции и соответствующими нейрохимическими влияниями; упомянутая реакция квалифицируется как вентиляторный ответ на гипоксическую стимуляцию (hypoxic ventilatory response – HVR) [1, 2]. В условиях относительно длительного воздействия недостатка кислорода система контроля респираторной функции испытывает существенные адаптационные изменения, которые выражаются в устойчивом повышении интенсивности HVR. Такое устойчивое

усиление HVR достигается как в случаях постоянно действующей длительной гипоксии, так и при интервальных гипоксических воздействиях, речь о которых пойдет ниже.

Механизмы адаптации, вырабатываемой в ходе курса интервальных гипоксических тренировок (ИГТ), представляют очевидный интерес в аспектах как теоретической физиологии, так и клинической и спортивной медицины. Подобные тренировки в настоящее время достаточно широко применяются в качестве эффективного средства общего повышения резистентности и реактивности организма человека и используются как компонент комплексной терапии ряда заболеваний [3]. Обычно ИГТ реализуются либо путем создания нормобарической изокапнической гипоксии в случае использования для дыхания замкнутого объема воздуха с постепенной «выработкой» кислорода и поглощением выдыхаемого углекислого газа, либо в условиях дыхания в проточных камерах гипоксическими газовыми смесями постоянного состава (с неким заданным пониженным относительно нормы содержанием кислорода) [3]. Каждый эпизод дыхания гипоксическими

¹Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины, Киев (Украина).
Эл. почта: dr_kolesnikova@ukr.net; jane@biph.kiev.ua (Е. Э. Колесникова).

смесью переменяется дыханием нормоксической смесью (атмосферным воздухом) по нескольку раз в день. Минимальная длительность курса ИГТ для человека и лабораторных животных, обеспечивающая проявление устойчивых адаптационных сдвигов параметров HVR, составляет 10–14 дней [3].

Следует признать, что конкретные механизмы повышения интенсивности HVR в процессе адаптации к гипоксии (нейрохимический базис такой адаптации, принципы модификации двигательных команд, направляемых к дыхательным мышцам) до настоящего времени изучены недостаточно. В то же время установлено, что в формирование HVR и специфические преобразования этой реакции в процессе адаптации к условиям гипоксии вовлечены целый ряд нейротрансмиттеров и нейромоделюляторов.

Среди классических нейротрансмиттеров, действующих в пределах ЦНС, важнейшее место занимает глутамат. Высвобождение этого передатчика в межнейронных синапсах инициирует возбуждающие постсинаптические токи, которые обуславливают уменьшение мембранного потенциала покоя постсинаптических нервных клеток. Именно глутамат считают ведущим возбуждающим нейротрансмиттером, который действует в пределах основных церебральных структур, обеспечивающих управление респираторной активностью. Следует полагать, что изменения характеристик глутаматергической передачи в основном опосредуют усиление вентиляции покоя и кардиореспираторной реакции организма в ответ на экспозицию к гипоксии [4].

Показано, что в условиях гипоксии содержание глутамата в мозгу изменяется в весьма значительной степени [5]. При этом повышение интенсивности вентиляции при гипоксии коррелирует с увеличением высвобождения данного трансммиттера в структурах ЦНС (в частности, в ядре одиночного пути – *NTS*). Указанные сдвиги связывают с активирующим влиянием на *NTS* периферических хеморецепторов (каротидных гломусов, *carotid bodies* – КГ) [4]. В условиях действия гипоксии хемоденервация, обусловленная разрушением упомянутых КГ, приводит к снижению интенсивности обмена глутамата в мозгу [6].

Известно, что активация глутаматных NMDA-рецепторов на мембранах нейронов стволовых структур мозга связана с генерацией респираторного паттерна и деятельностью пневмотаксического механизма в большей степени, чем функционирование глутаматных рецепторов других типов [7].

Фармакологическое блокирование NMDA-рецепторов сопровождается существенным ослаблением респираторной реакции на гипоксическую стимуляцию [7]. Предполагается, что именно изменения характеристик NMDA-рецепторов опосредуют пластичность мозга в условиях хронической гипоксии. Таким образом, эти рецепторы являются существенной частью механизма адаптации системы дыхания к условиям сниженного PO_2 [8]. Однако роль глутамата и NMDA-рецепторов в развитии адаптации системы контроля дыхания к ИГТ непосредственному исследованию ранее не подвергалась. Это и послужило основанием для проведения настоящей работы, в которой мы в экспериментах на крысах сопоставляли характеристики HVR у животных, прошедших курс ИГТ, и нетренированных животных в условиях контроля и после введения селективного блокатора NMDA-рецепторов МК-801 [4]. Об изменениях HVR мы судили не по непосредственно измеряемым параметрам вентиляции, а по характеристикам ЭМГ-активности важнейшей дыхательной мышцы – диафрагмы.

МЕТОДИКА

Эксперименты были проведены на 10 крысах линии Вистар массой 310–400 г (360 ± 32 г). Весь период исследований животные находились на стандартном рационе вивария Института физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины при стандартном световом режиме (12 ч освещения/12 ч темноты). Исследования выполнялись согласно Положениям международных конвенций по защите животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (Страсбург, 1985), а также Положениям Комитета по биоэтике Института физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины.

Крысы были разделены на две группы: животные группы 1 ($n = 5$) использовались как контроль, а животные группы 2 ($n = 5$) подвергались курсу ИГТ. Сеансы ИГТ (15 мин гипоксии/15 мин дыхания атмосферным воздухом) проводились в течение 14 дней по пять раз в день. Использовалась проточная камера, в которую при помощи насоса подавалась гипоксическая газовая смесь, содержащая в себе 12 % O_2 и 88 % N_2 . Давление в камере соответствовало атмосферному. Время полной смены газовых смесей в камере не превышало 10 с.

После окончания курса ИГТ крысы контрольной и экспериментальной групп наркотизировали α -хло-

ралозой и уретаном (35 и 800 мг/кг, внутривентриально) и трахеостомировали на уровне верхней трети трахеи. На протяжении всего эксперимента животные сохраняли спонтанное дыхание. Использование двухстворчатого клапана позволяло разделять объемы вдоха и выдоха; в интратрахеальную канюлю подавали либо атмосферный воздух, либо гипоксическую газовую смесь.

Как уже упоминалось, объемно-временные параметры вентиляции оценивались не прямо, а соответственно характеристикам ЭМГ-активности диафрагмальной мышцы [9]. Для этого два стальных игольчатых униполярных электрода, изолированных, за исключением кончиков (межэлектродное расстояние 12–18 мм), вводились в прилежащую к стенке грудной клетки зону диафрагмы. ЭМГ-сигналы усиливались (полоса пропускания 50–5000 Гц) и подвергались полному выпрямлению и интеграции (низкочастотной фильтрации) с использованием модифицированной программы РЕО (Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины). По трем последовательным полным дыхательным циклам оценивались текущие значения амплитуды ЭМГ-разряда (отн. ед.), частоты дыхания (f , мин⁻¹) и интегральной ЭМГ-активности в пределах одноминутного интервала (отн. ед.). Последний индекс, обозначаемый как MDO (EMG minute diaphragmatic output), адекватно соответствует индексу минутной вентиляции, а амплитуда ЭМГ-разрядов отражает дыхательный объем (V_T). Одновременно упомянутые параметры выпрямленной и интегрированной ЭМГ представляют собой корреляты характеристик центральных моторных команд, поступающих к диафрагмальной мышце по *n. phrenicus*.

При гипоксической стимуляции ЭМГ-активность диафрагмы регистрировалась в пределах 2.5 мин (150 с) после начала подачи смеси, содержащей в себе 12 % O₂. Изменения этой активности соответствовали классическим фазам HVR. Вначале происходило усиление респираторных ЭМГ-разрядов, соответствующее повышению интенсивности вентиляции, а затем упомянутая активность ослаблялась, отражая, таким образом, постепенное падение интенсивности вентиляции. Очевидно, что ЭМГ-активность в использованной экспериментальной постановке неизбежно проявляла существенную индивидуальную вариабельность, определяемую различными биологическими и техническими факторами (например, чувствительностью конкретного животного к анестезии, позицией

отводящих электродов при их введении в ткань дыхательных мышц и др.). Поэтому все данные стандартизировались путем нормирования (расчета относительных значений отклонений от исходных величин).

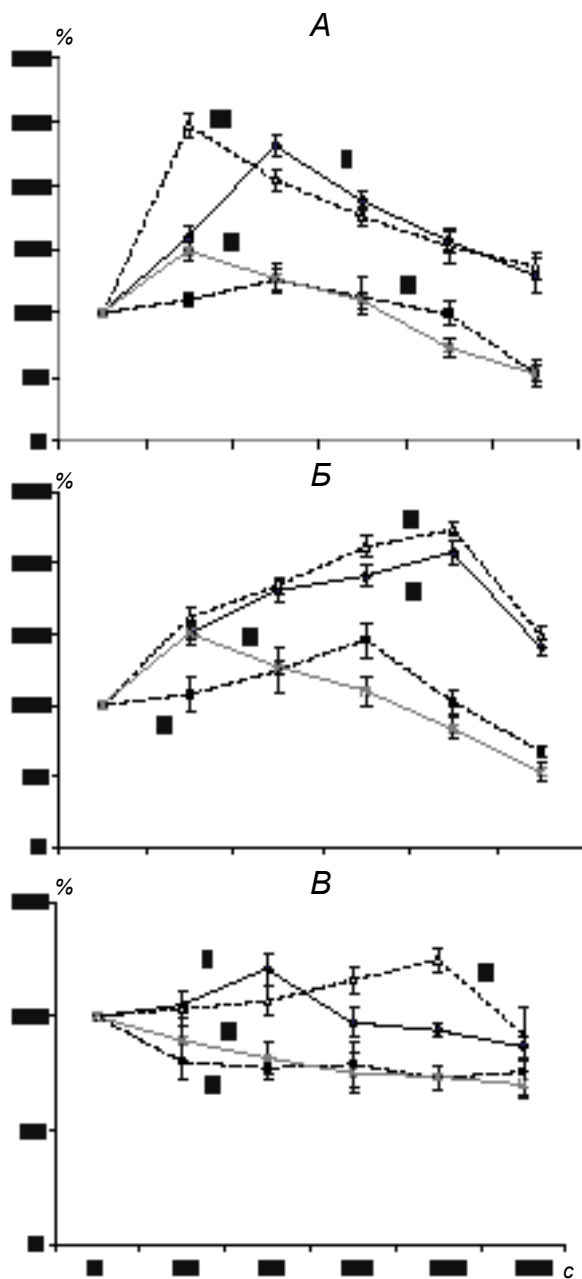
В ходе острого опыта проводился анализ содержания газов в артериальной крови и измерялся ее рН. Для этого экспериментальным животным в бедренную артерию вводили полихлорвиниловую канюлю, что позволяло осуществлять забор артериальной крови с последующей экспресс-оценкой газового состава образцов с использованием жидкостного газоанализатора. В течение эксперимента температуру тела животных поддерживали с точностью до 1 °С в интервале 37.0–38.5 °С с помощью инфракрасной лампы.

Для блокирования глутаматных NMDA-рецепторов животным внутривентриально вводили препарат МК-801 (дизоцилпин малеат; (+)-5-метил-10, 11-дигидро-5Н-добензо[а, d]-циклопентен-5, 10-имин гидроген малеат; «Sigma», США) в дозе 3 мг/кг [7].

Полученные результаты обрабатывались статистически; ниже приведены значения их средних арифметических \pm ошибка среднего ($M \pm m$). Достоверность межгрупповых различий оценивалась с помощью *t*-критерия Стьюдента; существенными считались различия при $P < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

ЭМГ-показатели HVR у контрольных крыс. У крыс контрольной группы дыхание гипоксической газовой смесью, содержащей в себе 12 % O₂, обуславливало достаточно быстрое нарастание MDO. Среднее значение этого показателя через 1 мин после начала подачи упомянутой смеси достигало 231.0 ± 7.8 % исходного. Затем интегральная интенсивность ЭМГ-активности диафрагмы постепенно уменьшалась, однако через 150 с (2.5 мин) она все еще составляла 129 ± 12.9 % начального значения (рис. 1, А, I). Изменения MDO, определяющие интенсивность вентиляции, обуславливались возрастанием как амплитуды, так и частоты ЭМГ-разрядов, причем вклад амплитудного компонента (соответствующий увеличению V_T) явно превалировал. Необходимо отметить, что динамика указанных компонентов в ходе развития HVR заметно различалась. Частота ЭМГ-разрядов превышала исходные значения лишь в пределах 1-й мин ды-



Р и с. 1. Изменения нормированных параметров ЭМГ-активности диафрагмы при действии острой гипоксии (12 % O₂) в контроле и после введения блокатора глутаматных рецепторов МК-801 у крыс до и после курса интервальных гипоксических тренировок (ИГТ).
А – динамика интегральной интенсивности, *Б* – амплитуды, *В* – частоты ЭМГ-разрядов. За 100 % приняты значения в исходном состоянии (до действия гипоксии). 1 – до ИГТ (контроль), 2 – до ИГТ после введения МК-801, 3 – после ИГТ, 4 – после курса ИГТ и введения МК-801.

Р и с. 1. Зміни нормованих параметрів ЕМГ-активності діафрагми при дії гострої гіпоксії (12 % O₂) у контролі та після введення блокатора глутаматних рецепторів МК-801 у щурів до та після курсу інтервальних гіпоксичних тренувань.

хания гипоксической смесью, а затем она становилась даже несколько более низкой, чем в исходном состоянии (*Б, 1*). Амплитуда же ЭМГ-разрядов демонстрировала более длительное увеличение, составляя через 2 мин действия гипоксической нагрузки 208.0 ± 8.1 % начальной величины, и лишь затем начинала сравнительно быстро уменьшаться (*Б, 1*).

Блокирование NMDA-рецепторов в результате введения контрольным крысам МК-801 оказывало весьма существенное депрессорное влияние на HVR и изменяло его динамику. Максимум респираторного ответа наблюдался раньше, чем в контроле, – уже через 30 с после начала дыхания гипоксической смесью, а прирост MDO составлял всего четверть исходного значения (среднее значение этого индекса в данном временном интервале равнялось 126.0 ± 7.8 % контрольного). Возрастание MDO в данных условиях определялось исключительно увеличением амплитуды респираторных ЭМГ-разрядов (рис. 1, *Б, 2, В, 2*). Вплоть до 2-й мин от начала дыхания гипоксической смесью MDO у животных с блокированием NMDA-рецепторов все еще незначительно превышал исходное значение (за счет сохраняющейся на протяжении 1.5 мин более высокой амплитуды ЭМГ-разрядов; *Б, 2*). Однако затем MDO довольно резко уменьшался, и через 2.5 мин (150 с) этот индекс составлял всего $52.5 \pm \pm 6.4$ % контроля, т. е. интенсивность респираторной активности падала практически вдвое (*А, 2*).

Таким образом, введение МК-801 обуславливало существенное уменьшение пикового значения MDO ЭМГ-активности диафрагмы ($P < 0.05$) и препятствовало поддержанию интенсивности дыхательной активности выше исходного уровня на поздней стадии эпизодов дыхания гипоксической смесью ($P < 0.05$; рис. 2). Амплитуда ЭМГ-разрядов уменьшалась под влиянием МК-801 преимущественно во второй фазе HVR (1.0–2.5 мин), когда наступала депрессия вентиляции. Вместе с тем действие МК-801 устраняло прирост частоты респираторной активности на протяжении всего HVR (рис. 1, *Б, 2*).

Парциальное давление кислорода в крови (PaO₂) и ее рН измерялись в исходном состоянии (на иллюстрации – 0 мин) и через 2.5 мин после начала действия гипоксии, по достижении отчетливой депрессии MDO. Сравнение значений PaO₂ и рН в пределах упомянутых временных интервалов в условиях контроля и при введении МК-801 показало, что соответствующие величины у контрольных

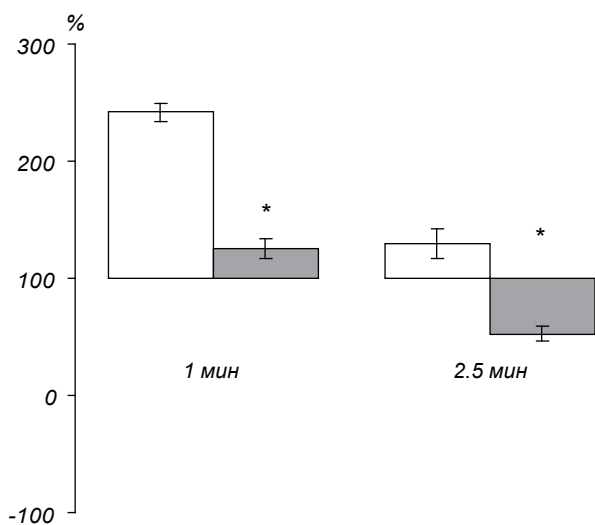


Рис. 2. Относительные изменения интегральной интенсивности ЭМГ-активности диафрагмы (MDO, % относительно контроля, принятого за 100 %) в условиях гипоксического теста до и после введения блокатора глутаматных рецепторов МК-801. * $P < 0.05$ относительно контроля. Белыми и заштрихованными столбцами обозначены значения сдвигов до и после введения МК-801 соответственно. Под столбцами указано время (мин) относительно начала гипоксической стимуляции.

Рис. 2. Відносні зміни інтегральної інтенсивності ЕМГ-активності діафрагми (MDO, % відносно контролю, який прийнято за 100 %) в умовах гіпоксичного тесту до та після введення блокатора глутаматних рецепторів МК-801.

животных существенно не различались (рис. 4). Таким образом, относительно кратковременные эпизоды дыхания гипоксической газовой смесью не приводили к каким-либо значительным изменениям содержания кислорода и концентрации водородных ионов в крови. Не влияло на эти показатели и введение блокатора глутаматных рецепторов. Следовательно, данные гуморальные факторы в условиях наших экспериментов не оказывали дополнительных влияний на формирование моторных респираторных команд, поступающих к диафрагмальной мышце.

ЭМГ-показатели в ходе HVR у крыс после курса ИГТ. Динамика MDO в условиях дыхания гипоксической смесью у крыс, адаптированных к действию интервальной гипоксии, в целом сохраняла определенное сходство с таковой у крыс контрольной группы. Вместе с тем максимальное значение MDO (247 ± 9 % исходного) достигалось заметно раньше – через 30 с после начала гипоксического воздействия (рис. 1, А, 3; 3). В дальнейшем данный показатель, как и у контрольных крыс, постепенно спа-

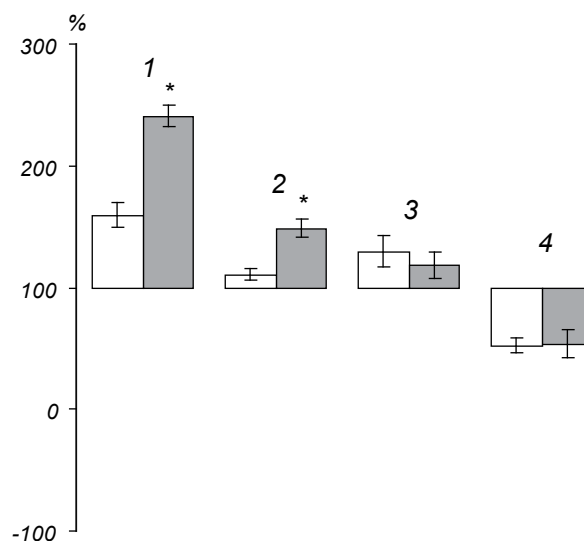


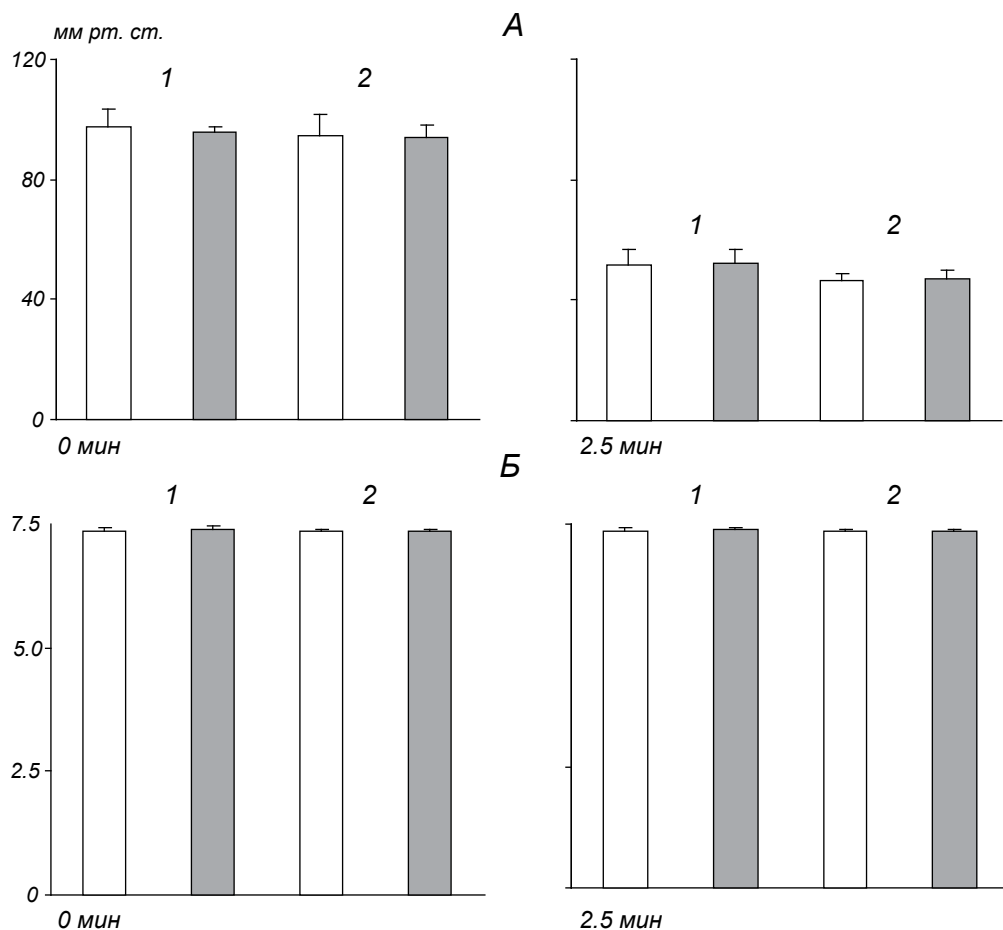
Рис. 3. Влияние адаптации к интервальным гипоксическим тренировкам (ИГТ) на изменения интегральной интенсивности ЭМГ-активности диафрагмы (MDO, % относительно контроля, принятого за 100 %) и эффекты введения блокатора глутаматных рецепторов МК-801.

1, 3 – до и после ИГТ; 2, 4 – до и после ИГТ при введении МК-801. Белыми и заштрихованными столбцами обозначены значения сдвигов до и после ИГТ соответственно. Остальные обозначения те же, что и на рис. 2.

Рис. 3. Вплив адаптації до інтервальних гіпоксичних тренувань на зміни інтегральної інтенсивності ЕМГ-активності діафрагми (MDO, % відносно контролю, прийнятого за 100 %) та ефекти введення блокатора глутаматних рецепторів МК-801.

дал, но через 2.5 мин все еще превышал начальную величину примерно на треть (рис. 1, А, 3; 3). Динамика амплитуды ЭМГ-разрядов, генерируемых диафрагмальной мышцей, у тренированных животных была почти такой же, как и у контрольных (при несколько бóльших приростах данного показателя; рис. 1, Б, 3). В то же время динамика частоты респираторной активности заметно отличалась от таковой в контрольной группе. Частота ЭМГ-разрядов при гипоксической нагрузке у тренированных животных проявляла тенденцию к увеличению вплоть до 2-й мин действия такой нагрузки и лишь затем довольно резко снижалась (В, 3).

Вызванные действием МК-801 модификации параметров респираторной реакции на гипоксическую стимуляцию у крыс, подвергнутых ИГТ, отличались следующими особенностями. Максимум



Р и с. 4. Парциальное давление кислорода (PaO_2) в артериальной крови (А) и ее pH (Б) у крыс в условиях контроля и после адаптации к интервальным гипоксическим тренировкам (ИГТ) до и после введения МК-801.

1 – до, 2 – после ИГТ. Белыми и заштрихованными столбцами обозначены значения указанных параметров до и при введении МК-801 соответственно. Под столбцами указано время (мин) относительно момента начала гипоксической стимуляции.

Р и с. 4. Парціальний тиск кисню (PaO_2) в артеріальній крові (А) та її pH (Б) у щурів в умовах контролю та після адаптації до інтервальних гіпоксичних тренувань до та після введення МК-801.

увеличения MDO, как и в случае отсутствия влияния МК-801, наблюдался уже через 30 с после начала дыхания гипоксической смесью. Прирост MDO был достаточно выраженным, хотя и значительно меньшим, чем при интактном состоянии NMDA-рецепторов (этот индекс в указанном временном интервале составлял в среднем 148.0 ± 7.1 % исходного значения; рис. 1, А, 4; 3). Данное увеличение MDO, индуцированное гипоксией, практически полностью обеспечивалось возрастанием амплитуды респираторных ЭМГ-разрядов после начала действия гипоксической нагрузки (рис. 1, Б, 4). В то же время частота этих разрядов у тренированных крыс в условиях блокирования NMDA-рецепторов была несколько ниже исходного значения на протяжении всего интервала наблюдения HVR (2.5

мин); более того, указанный параметр даже проявлял некоторую тенденцию к прогрессирующему уменьшению (Б, 4).

Так же, как и в контроле, содержание кислорода в крови и ее pH у животных, адаптированных к ИГТ, ни в норме, ни на фоне введения МК-801 существенно не различались (рис. 4).

Полученные нами результаты можно резюмировать следующим образом. В условиях адаптации к ИГТ тормозное влияние МК-801 на максимум MDO, достигаемый в ходе HVR, оказалось гораздо меньшим по сравнению с тем, что наблюдалось у контрольных животных (рис. 1, А, 4; 3). Кроме того, после курса ИГТ динамика частоты дыхания в течение данных респираторных реакций на гипоксию у животных, подвергнутых и не подвергнутых

действию упомянутого блокатора, была практически аналогичной. В то же время действие блокатора на амплитуду ЭМГ-разрядов диафрагмы в ходе HVR у тренированных крыс было несколько более выраженным (рис. 1, Б, 4; В, 4).

Таким образом, можно заключить, что адаптация к ИГТ в целом сопровождается усилением реакции системы дыхания на гипоксию (о чем можно судить по изменениям параметров интегрированной ЭМГ-активности диафрагмы). Как и в контрольных условиях, после курса ИГТ введение МК-801 подавляет ЭМГ-активность диафрагмы. Однако у адаптированных крыс эффект МК-801 претерпевает качественные изменения, которые проявляются в основном в увеличении депрессорного влияния блокатора на амплитуду активности дыхательных мышц и, соответственно, на амплитуду дыхательных движений в ходе респираторной реакции, вызванной гипоксическим воздействием. Мы полагаем, что полученные нами результаты являются непрямым, но достаточно убедительным свидетельством существенного вовлечения глутаматных NMDA-рецепторов в процесс адаптации системы дыхания к ИГТ.

ОБСУЖДЕНИЕ

Как упоминалось выше, респираторная реакция на гипоксическую стимуляцию – один из важнейших физиологических феноменов, обеспечивающих выживание позвоночных животных в изменяющихся условиях газовой среды обитания и при колебаниях газового состава крови. «Классический» паттерн HVR характеризуется двумя фазами: начальной фазой интенсивной гипервентиляции и следующей за ней фазой ослабления дыхательной активности и постепенного возвращения ее показателей к уровням, сопоставимым с исходными. Такая динамика наблюдается в случаях относительно умеренных уменьшений содержания кислорода в дыхательной смеси [2]. Начальная фаза HVR определяется преимущественно непосредственной активацией хеморецепторов КГ. Известно, что глутамат является основным возбуждающим трансмисмитером, вовлеченным в процессы регуляции дыхания на уровне ствола мозга и формирование HVR. При активации КГ в ответ на снижение PO_2 в крови глутамат высвобождается из афферентных волокон синокаротидного нерва, образующих проекции в *NTS* [10]. Такое высвобождение глутамата в пределах ЦНС

совпадает с развитием максимума вентиляции в первой (нарастающей) фазе HVR [11]. Интрацеребральные инъекции глутамата в эксперименте оказывают возбуждающие влияния на кардиореспираторную функцию [12]. Полагают, что упомянутый эффект глутамата реализуется преимущественно посредством действия этого передатчика на нейронные системы дорсальной и вентролатеральной поверхностей продолговатого мозга [12].

Блокатор МК-801 является неконкурентным антагонистом глутамата и связывается с NMDA-рецепторами на участке, отличном от сайта связывания глутамата [4]. Полагают, что именно МК-801 является селективным, причем достаточно специфическим, блокатором NMDA-рецепторов в комплексе *NTS*, ядра Келликера – Фузе и *n. parabrachialis* [10]. «Респираторный» эффект МК-801 может обеспечиваться также за счет его влияния на структуры вентролатеральной и дорсолатеральной поверхностей моста мозга, парапирамидного ядра и ретикулярной формации, обладающие NMDA-рецепторами [13]. Считают, что влияние МК-801 на респираторную систему выражается в подавлении вентиляции за счет уменьшения и частоты, и глубины дыхательных движений [4]. Микроинъекции МК-801 в каудальную часть *NTS* обеспечивают в основном ослабление увеличения V_T (но не частоты) респираторной реакции [14]. Показано, что введение МК-801 в высоких дозах может вызывать у животных интенсивное подавление дыхания вплоть до апноэ [4].

Выявленные нами модификации параметров HVR, которые обусловлены блокированием NMDA-рецепторов, преимущественно вовлеченных в контроль дыхания, являются свидетельством того, что глутамат существенно вовлечен в формирование дыхательного ответа на снижение PO_2 . Факт участия глутаматных NMDA-рецепторов в формировании респираторного ответа на гипоксическую стимуляцию, продемонстрированный в нашем исследовании, согласуется с данными, полученными Таракановым и соавт. [15]. Следует полагать, что влияния глутаматергических путей принимают участие в формировании паттерна HVR на протяжении всех фаз респираторной реакции на гипоксическую нагрузку [4, 14, 15].

Наблюдавшееся нами уменьшение амплитуды и частоты ЭМГ-разрядов диафрагмы при гипоксической стимуляции на фоне введения блокатора МК-801 соответствует существующим представлениям о характере фармакологических эффектов этого

агента [4, 8]. Вместе с тем факт отсутствия полного нивелирования респираторной реакции на снижение PO_2 после введения МК-801 показывает, что в формировании HVR, очевидно, участвуют и другие транзиттерные пути (катехоламинергические, холинергические), дополняющие, по-видимому, функции глутаматергических путей [4]. Возможно, наличие дополнительных транзиттерных систем, вовлеченных в формирование HVR, позволяет в определенном смысле дублировать/поддерживать физиологический эффект глутамата при гипоксии.

Предположение об участии NMDA-рецепторов в процессе адаптации системы дыхания к хронической гипоксии ранее было высказано Рейдом и Пауэллом [8] и нашло прямые подтверждения в результатах наших экспериментов.

В упомянутой работе Рейда и Пауэлла [8] (в которой изучались изменения респираторных параметров в процессе адаптации не к интервальной, а к хронической гипоксии) также было обнаружено подавление HVR под влиянием МК-801, причем подобный эффект наблюдался как до, так и после адаптации к гипоксии. Оказалось, что у адаптированных к гипоксии животных действие МК-801 на HVR выражается в преимущественном усилении влияния блокатора на параметры, характеризующие глубину дыхания (в нашем случае – на амплитуду ЭМГ-разрядов, генерируемых диафрагмальной мышцей). Очевидно, причину этого следует искать в базисных механизмах адаптации системы дыхания к условиям сниженного PO_2 .

Можно отметить целый ряд факторов, способных в процессе адаптации к гипоксии модифицировать уровень функционирования «респираторного» подразделения системы NMDA-рецепторов. Как известно, хроническая гипоксия увеличивает чувствительность ЦНС к афферентным сигналам, исходящим от КГ. Предположение о том, что именно пластические изменения в глутаматергическом аппарате могут опосредовать усиление HVR при хронической гипоксии, было высказано Рейдом и Пауэллом [8]. Основу подобной пластичности в условиях адаптации к гипоксии, в частности, могут составлять изменения уровней экспрессии различных субъединиц NMDA-рецепторов (NR1, NR2A, NR2B), которые сопряжены с изменениями NMDA-зависимой аккумуляции ионов Ca^{2+} в нервных клетках [16]. Было показано, что экспрессия различных

субъединиц NMDA-рецепторов в дорсокаудальной части ствола мозга зависит от режима экспозиции к условиям гипоксии [17]. Адаптация к интервальной гипоксии сопровождается преимущественной экспрессией субъединиц NR2A и NR2B; в то же время экспрессия NR1 как при хронической, так и при интервальной гипоксии характеризуется двухфазным паттерном (с подъемом и падением уровня такой экспрессии) [17]. Интересен тот факт, что подобные различия в экспрессии субъединиц NMDA-рецепторов сопровождаются существенными расхождениями между величиной максимума депрессии HVR и общей степенью депрессии этой реакции. В частности, после интервальной гипоксии HVR характеризуется меньшим максимальным значением и в то же время меньшей степенью падения интенсивности вентиляции во второй фазе HVR [17]. Определенное влияние на глутаматергическую транзиттерную систему способен оказывать тромбоцитарный фактор (platelet-activating factor – PAF) [18]. PAF оказывает заметное модулирующее влияние на активность нейронов; этот эффект связывают с повышением высвобождения глутамата. Как следствие, изменения уровня PAF потенциально способны играть существенную роль в респираторном контроле, реализуемом в условиях гипоксии, в частности в модификациях паттерна HVR [18]. Кроме того, установлено, что адаптация к гипоксии сопровождается изменениями метаболизма норадреналина и уровня основного фермента синтеза катехоламинов – тирозингидроксилазы (ТГ) – в *NTS*. Эти изменения предшествуют адаптационным сдвигам параметров вентиляции в условиях действия гипоксии и проявляются в существенных модуляционных сдвигах характеристик респираторных реакций [19]. Таким образом, можно предполагать, что адаптация к гипоксии связана со значительными преобразованиями глутаматергического компонента механизмов респираторного контроля. Такие адаптационные изменения, очевидно, заметно зависят от целого ряда сопутствующих факторов; это, однако, отнюдь не умаляет значимости вовлечения NMDA-рецепторов в формирование реакций системы дыхания на условия сниженного PO_2 во вдыхаемом воздухе.

Авторы выносят глубокую благодарность главному редактору журнала докт. биол. наук Д. А. Василенко за помощь и поддержку в написании данной статьи и участие в обсуждении полученных результатов.

С. Е. Колесникова¹, В. І. Носар¹, І. М. Маньківська¹

РОЛЬ ГЛУТАМАТУ В МЕХАНІЗМАХ АДАПТАЦІЇ СИСТЕМИ КОНТРОЛЮ ДИХАННЯ ЩУРІВ ДО ІНТЕРВАЛЬНОЇ ГІПОКСІЇ

Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ (Україна).

Резюме

В експериментах на щурах лінії Вістар досліджувалася роль змін стану глутаматергічної передачі в процесі адаптації системи контролю дихання до інтервальної гіпоксії. Висновок про об'ємно-часові параметри дихання робили за характеристиками ЕМГ-активності діафрагмального м'яза (амплітудою, частотою розрядів та їх інтегральною інтенсивністю). Викликані дією гострої гіпоксії (дихання сумішшю, яка вмішувала 12 % O₂) зміни ЕМГ-активності діафрагми оцінювалися до та після введення блокатора NMDA-рецепторів МК-801 до та після 14-денного курсу інтервальних гіпоксичних тренувань. Результати досліджень свідчать про істотне залучення глутаматергічної медіаторної системи в реакцію системи дихання на пред'явлення гіпоксичного стимулу на всіх етапах формування вентиляторної відповіді як до, так і після дії інтервальної гіпоксії. Блокування NMDA-рецепторів в умовах адаптації до інтервальної гіпоксії справляло більш виражений вплив на амплітуду респіраторних ЕМГ-розрядів діафрагми, ніж на їх частоту.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. E. A. Aaron and F. L. Powell, "Effect of chronic hypoxia on hypobaric ventilatory responses in awake rats," *J. Appl. Physiol.*, **74**, 1635-1640 (1993).
2. G. E. Bisgard and J. A. Neubauer, "Peripheral and central effects of hypoxia," in: *Lung Biology in Health and Disease*, Marcel Dekker, New York (1995), pp. 617-668.
3. T. V. Serebrovskaya, "Intermittent hypoxia research in the former Soviet Union and the common wealth of the independent states (CIS): history and review of the concept and selective application," *High Altitude Biol.*, **3**, 205-221 (2002).
4. R. C. Ang, B. Hoop, and H. Kazemi, "Role of glutamate as the central neurotransmitter in the hypoxic ventilatory response," *J. Appl. Physiol.*, **72**, 1480-1487 (1992).
5. H. Kazemi, C. H. Chiang, and B. Hoop, "Role of medullary glutamate in the hypoxic ventilatory response," in: *Comroe Memorial Symposium – Chemoreceptors and Reflex in Breathing*, S. Lahiri (ed.), Oxford Univ. Press, New York (1989), pp. 233-242.
6. B. Hoop, M.-R. Masjedi, V. E. Shin, and H. Kazemi, "Brain glutamate metabolism during hypoxia and peripheral chemodenervation," *J. Appl. Physiol.*, **69**, 147-154 (1990).
7. P. J. Ohtake, J. E. Torres, Y. M. Gozal, et al., "NMDA receptors mediate peripheral chemoreceptor afferent input in the conscious rat," *J. Appl. Physiol.*, **84**, 853-861 (1998).
8. S. G. Reid and F. L. Powell, "Effects of chronic hypoxia on MK-801-induced changes in the acute hypoxic ventilatory response," *J. Appl. Physiol.*, **99**, 208-2114 (2005).
9. M. Pokorski, E. Kolesnikova, M. Marczak, and K. Budzinska, "Neurotransmitter mechanisms in the enhancement of the hypoxic ventilatory response by antecedent hyperoxia in the anesthetized rat," *J. Physiol. Pharmacol.*, **56**, 433-446 (2005).
10. D. T. Monaghan and C. W. Cotman, "Distribution of N-methyl-D-aspartate-sensitive L-[³H]glutamate-binding sites in rat brain," *J. Neurosci.*, **5**, 2909-2919 (1985).
11. D. W. Richter, P. Schmidt-Garson, O. Pierrefiche, et al., "Neurotransmitters and neuromodulators controlling the hypoxic ventilatory response in anesthetized cats," *J. Physiol.*, **514**, 567-578 (1999).
12. C. H. Chiang, P. Pappagianopoulos, B. Hoop, and H. Kazemi, "Central cardiorespiratory effects of glutamate in dogs," *J. Appl. Physiol.*, **60**, 2056-2062 (1986).
13. S. K. Coles, P. Ernsberger, and T. E. Dick, "A role for NMDA receptors in posthypoxic frequency decline in the rat," *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, **274**, R1546-R1555 (1998).
14. A. Mizusawa, H. Ogawa, Y. Kikuchi, et al., "In vivo release of glutamate in nucleus tractus solitarii of the rat during hypoxia," *J. Physiol.*, **478.1**, 55-65 (1994).
15. I. Tarakanov, A. Dymecka, and M. Pokorski, "NMDA glutamate receptor antagonism and the ventilatory response to hypoxia in the anesthetized rat," *J. Physiol. Pharmacol.*, **55**, Suppl. 3, 139-147 (2004).
16. S. Kobayashi and D. E. Millhorn, "Regulation of N-methyl-D-aspartate receptor expression and N-methyl-D-aspartate-induced cellular response during chronic hypoxia in differentiated PC12 cells," *Neuroscience*, **101**, 1153-1162 (2000).
17. S. R. Reeves, E. Gozal, S. Z. Guo, et al., "Effect long-term intermittent and sustained hypoxia on hypoxic ventilatory and metabolic response in adult rats," *J. Appl. Physiol.*, **95**, 1767-1774 (2003).
18. N. Simakajornboon, G. R. Graff, J. E. Torres, and D. Gozal, "Modulation of hypoxic ventilatory response by systemic platelet-activating factor receptor antagonist in the rat," *Respirat. Physiol.*, **114**, 213-225 (1998).
19. P. Schmitt, V. Soulier, J. M. Pequignot, et al., "Ventilatory acclimatization to chronic hypoxia: relationship to noradrenaline metabolism in the rat solitary complex," *J. Physiol.*, **477**, 331-337 (1994).