

УДК 612.819.912.08 : 599.323 : 616-053

Изменение устойчивости формирования дыхательного ритма у крыс при введении оксибутирата в зависимости от возраста

Тихомирова Л.Н., Тараканов И.А.

ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии»,
Россия, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

В опытах на наркотизированных пентобарбиталом беспородных белых крысах обоего пола изучали устойчивость генерации дыхательного ритма к активации ГОМК- и ГАМКb-рецепторов оксибутиратом. Обнаружено, что вероятность возникновения патологического периодического дыхания с задержками на фазе спокойного выдоха, вызванного введением оксибутирата, зависит от возраста и увеличивается у крыс по мере взросления. Можно предположить, что описанное явление может входить в механизм возникновения апноэ во сне, когда существенно активируется ГАМКергическая система мозга и которое особенно выражено у людей среднего и старшего возраста.

Ключевые слова: патологическое дыхание, дыхательный ритм, возраст, оксибутират, крыса

Введение

ГАМКергическая система мозга играет чрезвычайно важную роль в процессах генерации дыхательного ритма, что обуславливает повышенный интерес к ней физиологов и патофизиологов. В нашей лаборатории около 20 лет проводятся исследования значения ГАМК- и ГОМКергических систем в процессах ритмообразования и центральной регуляции дыхания у двух видов животных — кошек и крыс [4]. Поскольку кошки поставались как бродячие животные, отловленные в городе ветеринарными службами, то их возраст не поддавался точному учету. Однако в ходе экспериментов было найдено, что у котят и явно молодых животных, в отличие от взрослых, после введения стандартной дозы оксибутирата, нарушения дыхательного ритма не возникали или возникали значительно реже. Вследствие очевидного значения возрастных изменений участия ГАМК- и ГОМКергических систем в механизмах регуляции дыхания, нами были проведены соответствующие исследования на лабораторных крысах различных возрастных групп.

Задача данного исследования заключалась в оценке вероятности развития нарушений дыхательного ритма и появления периодического апнейстического дыхания при действии оксибутирата — агониста ГОМК-рецепторов и ГАМКb-рецепторов у лабораторных крыс разного возраста.

Методы

Эксперименты проводили на 62 наркотизированных пентобарбиталом натрия (50 мг/кг внутривенно, Spofa) беспородных белых крысах обоего пола массой 250—550 г. Необходимый уровень наркоза в дальнейшем поддерживали посредством дополнительного внутривенного введения небольших доз пентобарбитала. Воздействие на ГОМКергическую систему осуществляли с помощью оксибутирата лития в дозе 750 мг/кг [7], который внутривенно медленно вводили в виде концентрированного (для уменьшения вводимого объема) 40% раствора. Согласно накопленным к настоящему времени физиологическим и фармакологическим данным [2, 5, 6, 8], окси-

бутират является смешанным агонистом ГОМК- и ГАМКb-рецепторов. Однако в дальнейшем мы будем его называть агонистом ГОМКергической системы в соответствии с его основным механизмом действия. Температуру тела поддерживали с точностью 1°C в интервале 37,5—38,5°C с помощью инфракрасной лампы. Трахеотомию производили на уровне верхней трети трахеи, после чего в разрез вставляли и фиксировали отрезок пластмассовой трубки соответствующего диаметра. В дальнейшем эту трахеальную канюлю присоединяли к датчику для определения параметров внешнего дыхания. Основные показатели дыхания, такие как минутный объем дыхания (МОД), частоту дыхания (ЧД) и пневмотахограмму регистрировали с помощью блока для измерения параметров дыхания на полиграфе МХ-01 (Россия) в условиях ВTPS. Системное артериальное давление (АД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) регистрировали посредством катетера, введенного в бедренную артерию и присоединенного к тензодатчику МХ-01. Для регистрации внутрипищеводного давления (ВПД) в пищевод вводили катетер с эластичным баллончиком на конце, заполненным водой, который также присоединяли к датчику низкого давления МХ-01. Давление в системе устанавливали таким, чтобы во время пассивного выдоха оно составляло 0 мм рт.ст. Регистрацию экспериментальных данных производили на чернильном самописце Н3031-6 (Россия). Полученные результаты обрабатывали статистически и выражали как среднее арифметическое \pm ошибка среднего ($M \pm m$). Достоверность различия оценивали с помощью t-критерия Стьюдента, достоверным считали отличие при $p < 0,05$.

Результаты исследования

У всех животных в наших экспериментах введение оксибутирата вызывало довольно быстрое (в пределах 1—3 мин) и существенное (в 1,5—2 раза) снижение частоты дыхания. Затем развивается нарушение дыхательного ритма (рисунок), которое представляет собой чередование групп дыхательных движений и задержек дыхания в

фазе свободного выдоха, что отражено, в частности, на кривой внутрипищеводного давления (ВПД). В первые минуты после введения препарата вследствие резко снижающейся частоты дыхания уменьшается и вентиляция легких, но затем в пределах 5—10 мин вентиляция восстанавливается за счет значимого (двукратного) компенсаторного увеличения дыхательного объема, и к 15-й минуте величина МОД возвращается к исходному уровню, что отражено в табл. 1. Возрастание ДО можно оценить по кривым пневмотахограммы и ВПД, отражающим увеличение давления в грудной полости.

В целом, изменения внешнего дыхания показывают, что оксibuтират вызывает глубокие нарушения механизма центральной регуляции дыхания в его генераторном звене.

Во время введения оксibuтирата артериальное давление (АД) в большом круге несколько снижалось, но быстро (в течение 1 мин) восстанавливалось, что является обычной реакцией на внутривенное введение препарата. В дальнейшем АД оставалось, как правило, на прежнем уровне, что отражено в табл. 2. Частота сердечных сокращений (ЧСС) в течение первой минуты после введения препарата снижалась и, как видно из табл. 2, данное снижение сохранялось в течение длительного времени, но оставалось в пределах нормальных значений. Таким образом, есть основание для заключения, что состояние системной гемодинамики не могло быть причиной измененного дыхания.

В результате введения оксibuтирата экспериментальным животным в ходе опыта начальные изменения дыхательного ритма возникали через 3—10 мин. Ответом на введение могло быть простое замедление дыхательного ритма в 2—3 раза, при этом дыхательные движения возникали регулярно, без заметных колебаний продолжительности фаз вдоха и выдоха. Такой характер дыхания у животных с устойчивостью к оксibuтирату сохранялся в ходе всего эксперимента.

У животных с низкой устойчивостью при введении оксibuтирата после начального периода замедления частоты

дыхательных движений возникали периодические удлинения экспираторной фазы, которые чередовались через 2—3, реже 4 регулярных дыхательных цикла (рисунок). Этот тип дыхания можно охарактеризовать как периодическое апнейстическое дыхание с задержками на фазе спокойного (нефорсированного) выдоха.

Возрастные особенности реакции животных выражались следующим образом. У крыс обоего пола младше 3 мес. нарушения дыхательного ритма после введения оксibuтирата наблюдали в 30% случаев, старше 3 мес. — в 56% и 9 мес. — в 60% случаев. У крыс-самцов возрастом более 9 мес. и самок старше 12 мес. вероятность составляла 100%.

Обсуждение

Даже поверхностный анализ полученных результатов показывает, что вероятность развития патологического дыхания после введения оксibuтирата существенно зависит от возраста крыс. Чем старше становятся животные, тем чаще оксibuтират вызывает у них нарушение дыхательного ритма.

Еще одним важным итогом данных экспериментов является то, что возможно наличие некоторого полового различия в реакциях крыс на стимуляцию ГОМК- и ГАМК_B-рецепторов. Это видно из наблюдения, что 100% вероятность нарушения дыхательного ритма в этих условиях у самцов достигается спустя 9 мес., а у самок — 12 месяцев после рождения.

В каких же условиях возможно проявление выявленной возрастной зависимости? Одним из состояний, в котором возможно проявление такого повышения чувствительности ГАМКергической системы, является сон. Большое значение в генерации стадий сна имеют ГАМКергические нейроны. Эти нейроны локализируются во многих структурах мозга, в частности в стволе мозга, в диэнцефальных структурах, а также в структурах переднего мозга. Показано наличие ГАМКергических нейронов в гипоталамусе и в базальных структурах переднего мозга, посы-

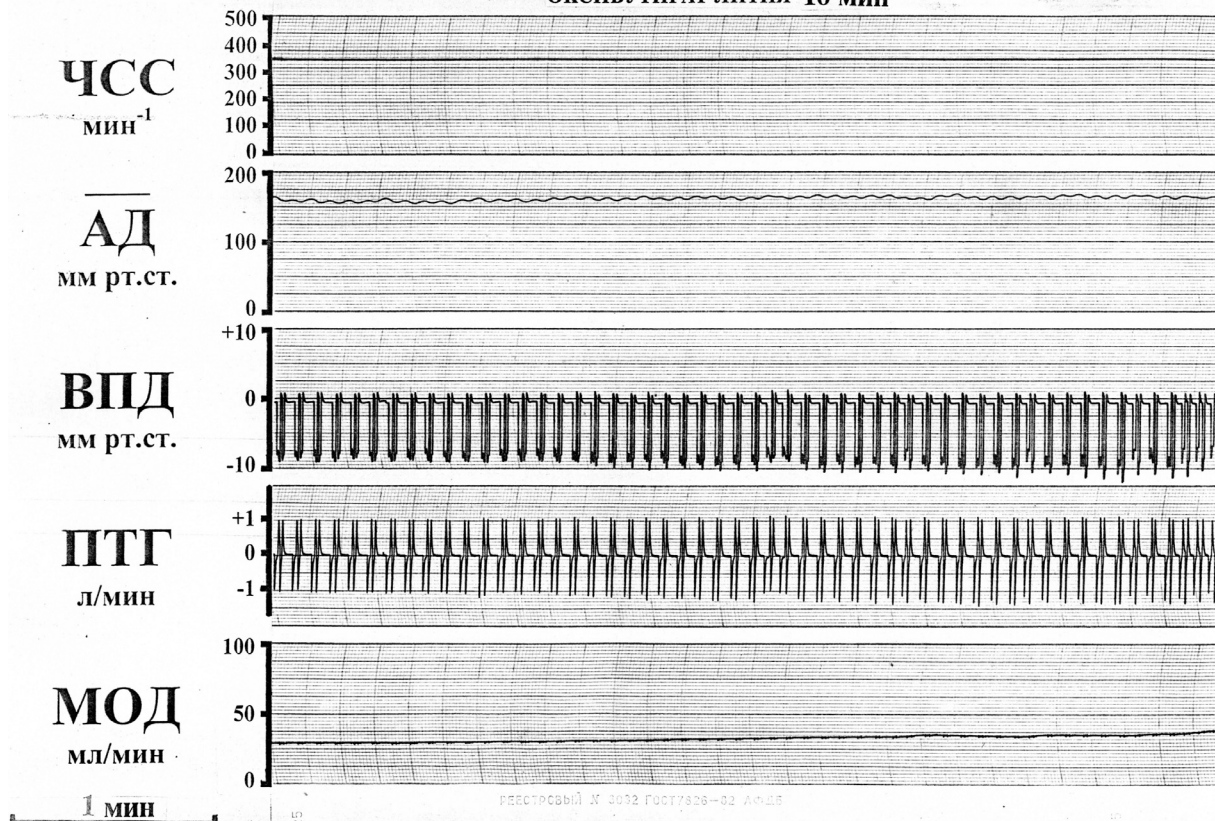
Таблица 1
Динамика параметров вентиляции легких после введения оксibuтирата крысам в возрасте 3 мес. (n = 26)

Параметр	Время, мин						
	0	1	3	5	10	15	30
МОД, мл/мин	28,3 ± 2,6	18,4 ± 2,0 p<0,01	17,7 ± 2,1 p<0,01	21,1 ± 0,7 p<0,02	21,6 ± 0,9 p<0,05	22,4 ± 1,5	25,4 ± 2,5
ЧД, мин ⁻¹	67 ± 1,8	45,1 ± 2,8 p<0,001	33,8 ± 2,6 p<0,001	38,8 ± 2,9 p<0,001	32,9 ± 2,4 p<0,001	30,9 ± 2,5 p<0,001	32,4 ± 2,2 p<0,001
ДО, мл	0,357 ± 0,031	0,433 ± 0,050	0,545 ± 0,050 p<0,01	0,658 ± 0,100 p<0,01	0,706 ± 0,076 p<0,001	0,759 ± 0,090 p<0,001	0,761 ± 0,068 p<0,001

Таблица 2
Динамика параметров кровообращения в большом круге после введения оксibuтирата крысам в возрасте 3 мес. (n = 26)

Параметр	Время, мин						
	0	1	3	5	10	15	30
ЧСС, мин ⁻¹	416 ± 6	339 ± 7 p<0,001	340 ± 8 p<0,001	357 ± 7 p<0,001	367 ± 5 p<0,001	359 ± 8 p<0,001	345 ± 8 p<0,001
АД, мм рт.ст.	119 ± 4	117 ± 5	113 ± 6	130 ± 4	125 ± 3	112 ± 5	119 ± 6

ОКСИБУТИРАТ ЛИТИЯ 10 МИН



Изменения внешнего дыхания и гемодинамики у самца крысы возрастом 9 мес. после введения оксибутирата: ЧСС — частота сердечных сокращений (мин^{-1}); АД — среднее системное артериальное давление (мм рт.ст.); ВПД — внутрипищеводное давление (мм рт.ст.); ПТГ — пневмотахограмма (л/мин); МОД — минутный объем дыхания (мл/мин). Внизу — отметка времени.

лающих свои восходящие проекции в кору больших полушарий. В этих структурах регистрируются ГАМКергические нейроны, повышающие свою активность во время сна. Существенно, что ГАМКергические интернейроны коры больших полушарий демонстрируют наибольшую активность во время медленноволнового сна [3].

Полученные результаты имеют важное физиологическое и патофизиологическое значение. Они позволяют предположить, что по мере взросления и старения организма ГОМК- и ГАМКергические системы мозга характеризуются повышающейся чувствительностью к соответствующим медиаторам и агонистам. Альтернативным объяснением наблюдаемого эффекта может быть понижение устойчивости функционирования генератора дыхательного ритма по мере взросления.

Известно, что у людей по мере увеличения возраста во время сна может нарушаться дыхательный ритм и дыхание характеризуется появлением периодических задержек (синдром апноэ во сне). Существует три типа апноэ во сне — обструктивное, центральное и смешанное. По некоторым сведениям регулярный или постоянный храп, обычно сопровождающий апноэ во сне, встречается у 30% населения старше 30 лет. Распространенность обструктивного апноэ при этом составляет от 5 до 7%. Если принять во внимание, что лабораторные белые крысы живут 2—2,5 года, то появление нарушений дыхательного ритма у более половины животных в возрасте 6 мес. вполне соответствует такой возможности.

По данным статистики, каждый из 15 взрослых людей в США имеет апноэ во сне [9]. Больные диабетом страда-

ют от обструктивного апноэ во сне с вероятностью более 30% [11]. А центральное апноэ с дыханием Чейна-Стокса встречается во сне у 40% больных, страдающих сердечной недостаточностью [10].

Таким образом можно предположить, что обнаруженное явление повышения чувствительности ГАМК- и ГОМКергических систем и снижение устойчивости механизмов дыхательного ритмогенеза может включаться в патогенез синдрома апноэ во сне, часто появляющегося у людей уже в среднем возрасте.

Список литературы

1. Гамбарян П.П., Дукельская Н.М. Крыса. — «Советская наука», 1955. — 254 с.
2. Крыжановский Г.Н., Тараканов И.А., Сафонов В.А. Участие ГАМКергической системы мозга в формировании дыхательного ритма // Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. — 1993. — Т. 79, №11. — С. 13—23.
3. Романов А.И., Решетняк В.К. Сон и его нарушения. Под ред. академика РАН и РАМН С.П. Миронова. — М.: ООО Фирма «Слово», 2003. — 272 с.
4. Тараканов И.А., Сафонов В.А. Нейрогуморальная концепция нарушений центральной регуляции дыхания // Патогенез. — 2003 — Т. 1, №2 — С. 11—24.
5. Banerjee P.K., Snead O.C. Presynaptic gamma-hydroxybutyric acid (GHB) and gamma-aminobutyric acid(B) (GABA_B) receptor-mediated release of GABA and glutamate (GLU) in rat thalamic ventrobasal nucleus (VB): A possible mechanism for the generation of absence-like seizures induced by GHB // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 1995. — Vol. 273. — P. 1534—1543.
6. Hechler V., Ratomponirina C., Maitre M. γ -Hydroxybutyrate conversion into GABA induces displacement of GABA_B binding that

is blocked by valproate and ethosuximide // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 1997. — Vol. 281, №2. — P. 753–760.

7. Hedner J.A., Jonason J., Lundberg D. Respiratory effects of gamma-hydroxybutyric acid in anesthetized rats // Neural Transm. — 1980. — Vol. 49. — P. 179–186.

8. Ito Y., Ishige K., Zaitse E., Anzai K., Fukuda H. gamma-Hydroxybutyric acid increases intracellular Ca^{2+} concentration and nuclear cyclic AMP-responsive element and activator protein 1 DNA-binding activities through $GABA_{(B)}$ -receptor in cultured cerebellar granule cells // J. Neurochem. — 1995. — Vol. 65. — P. 75–83.

9. Abad V.C., Guilleminault C. Neurological perspective on obstructive and nonobstructive sleep apnea // Semin. Neurol. — 2004. — Vol. 24, №3. — P. 261–269.

10. Andreas S. Central sleep apnea and chronic heart failure // Sleep. — 2000. — Vol. 23. — Suppl. 4. — S220–S223.

11. Bottini P., Dottorini M.L., Cordonni M.C., Casucci G., Tancucci C. Sleep-disordered breathing in nonobese diabetic subjects with autonomic neuropathy // Europ. Respir. J. — 2003. — Vol. 22, №4. — P. 654–660.

Поступила 24.04.2015

References

1. Gambarjan P.P., Dukel'skaja N.M. Krysa. — «Sovetskaja nauka», 1955. — 254 s.

2. Kryzhanovskij G.N., Tarakanov I.A., Safonov V.A. Uchastie GAMKergicheskoy sistemy mozga v formirovanii dyhatel'nogo ritma // Fiziol. zhurn. im. I.M. Sechenova. — 1993. — T. 79, №11. — S. 13–23.

3. Romanov A.I., Reshetnjak V.K. Son i ego narusheniya. Pod red. akademika RAN i RAMN S.P. Mironova. — M.: OOO Firma «Slovo», 2003. — 272 s.

4. Tarakanov I.A., Safonov V.A. Nejrogomoral'naja koncepcija narushenij central'noj reguljacji dyhanija // Patogenez. — 2003 — T. 1, №2 — S. 11–24.5. Banerjee P.K., Snead O.C. Presynaptic gamma-hydroxybutyric acid (GHB) and gamma-aminobutyric acid(B) ($GABA_{(B)}$) receptor-mediated release of GABA and glutamate (GLU) in rat thalamic ventrobasal nucleus (VB): A possible mechanism for the generation of absence-like seizures induced by GHB // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 1995. — Vol. 273. — P. 1534–1543.

6. Hechler V., Ratomponirina C., Maitre M. γ -Hydroxybutyrate conversion into GABA induces displacement of $GABA_{(B)}$ binding that is blocked by valproate and ethosuximide // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 1997. — Vol. 281, №2. — P. 753–760.

7. Hedner J.A., Jonason J., Lundberg D. Respiratory effects of gamma-hydroxybutyric acid in anesthetized rats // Neural Transm. — 1980. — Vol. 49. — P. 179–186.

8. Ito Y., Ishige K., Zaitse E., Anzai K., Fukuda H. gamma-Hydroxybutyric acid increases intracellular Ca^{2+} concentration and nuclear cyclic AMP-responsive element and activator protein 1 DNA-binding activities through $GABA_{(B)}$ -receptor in cultured cerebellar granule cells // J. Neurochem. — 1995. — Vol. 65. — P. 75–83.

9. Abad V.C., Guilleminault C. Neurological perspective on obstructive and nonobstructive sleep apnea // Semin. Neurol. — 2004. — Vol. 24, №3. — P. 261–269.

10. Andreas S. Central sleep apnea and chronic heart failure // Sleep. — 2000. — Vol. 23. — Suppl. 4. — S220–S223.

11. Bottini P., Dottorini M.L., Cordonni M.C., Casucci G., Tancucci C. Sleep-disordered breathing in nonobese diabetic subjects with autonomic neuropathy // Europ. Respir. J. — 2003. — Vol. 22, №4. — P. 654–660.

Received 24.04.2015

Age dependence of respiratory rhythm generation disturbances in rats after hydroxybutyrate administration

Tikhomirova L.N., Tarakanov I.A.

FSBSI «Institute of general pathology and pathophysiology», Russia1, 25315, Moscow, Baltiyskaya st., 8

In experiments on pentobarbital anesthetized outbred white rats of both sexes the resistance of respiratory rhythm generation was studied by means of activation GHB- and $GABA_{(B)}$ receptors with hydroxybutyrate. It was found that the probability of occurrence of pathological respiratory periodic arrests in the phase of quiet expiration caused by hydroxybutyrate administration depends on the age and increased in older rats. We can assume that the described phenomenon may be included in the pathogenesis mechanism of sleep apnea, when the brain GABAergic system is activated significantly by and which is especially pronounced in middle-aged and older patients.

Keywords: pathological breathing, respiratory rhythm, age, hydroxybutyrate, rat