

*Л. И. Хожай*

## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЕЙ GAT<sub>1</sub>-ТРАНСПОРТЕРА ГАМК В КОМПЛЕКСЕ БЕТЦИНГЕРА НА РАННИХ СРОКАХ ПОСТНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ КРЫС ПРИ ПРЕНАТАЛЬНОМ ДЕФИЦИТЕ СЕРОТОНИНА

Лаборатория онтогенеза нервной системы (зав. — проф. чл.-кор. РАН В. А. Отеллин), ФГБУН «Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН», Санкт-Петербург

**Цель работы** — исследование распределения уровня GAT<sub>1</sub>-транспортера ГАМК в комплексе Бетцингера на разных сроках раннего постнатального развития крыс в норме и при пренатальном дефиците серотонина.

**Материал и методы.** Работа проведена на лабораторных крысах линии Wistar. Снижение уровня эндогенного серотонина в эмбриональный период осуществляли методом ингибирования триптофан-гидроксилазы пара-хлорфенилаланином (пХФА). Выявление транспортного белка GAT<sub>1</sub> проводили посредством иммуногистохимической реакции с использованием первичных кроличьих поликлональных антител anti-GABA transporter1 (AbCam, Великобритания). Мозг исследовали на 5-, 10-е и 20-е сутки постнатального развития.

**Результаты.** В комплексе Бетцингера на ранних сроках постнатального развития у контрольных животных отмечено колебание уровня GAT<sub>1</sub>-транспортера ГАМК. На 1-й неделе жизни уровень GAT<sub>1</sub> был высоким как в сети отростков и терминалей, так и в синапсах. В течение 2-й недели жизни уровень GAT<sub>1</sub> снижался, а к концу 3-й недели — повышался вновь, достигая исходного уровня. Дефицит серотонина в пренатальный период вызывал у подопытных животных существенное увеличение уровня GAT<sub>1</sub> в нейроне комплекса Бетцингера на всех изученных сроках постнатального развития.

**Выводы.** Пренатальный дефицит серотонина приводит к существенному повышению уровня GAT<sub>1</sub>-транспортера ГАМК в ранние сроки постнатального развития, что может приводить к изменению трансмиссии ГАМК и, как следствие, к нарушению баланса тормозных и возбуждающих эффектов в дыхательном ядре.

**Ключевые слова:** транспортер GAT<sub>1</sub>, комплекс Бетцингера, серотонин, ранний период постнатального развития

**Введение.** Известно, что классические нейротрансмиттеры —  $\gamma$ -аминомасляная кислота (ГАМК) и серотонин (5-hydroxytryptamine; 5-HT) контролируют многочисленные физиологические функции в центральной нервной системе (ЦНС). Изменение баланса уровней содержания этих веществ в мозгу приводит к развитию различных видов нейропатологии. В ЦНС у млекопитающих и человека ГАМК является тормозным нейротрансмиттером, а одним из основных транспортеров ГАМК считается GAT<sub>1</sub>, который относится к Na<sup>+</sup>-зависимым нейротрансмиттерным белкам обратного захвата, локализованным на плазматической мембране нейронов и клеток нейроглии [4, 6]. При синаптической нейротрансмиттерной функции транспортера состоит в обратном захвате нейротрансмиттера из синаптической щели или межклеточного пространства обратно в пресинаптическую терминаль, при этом эффективность нейротрансмиттерной передачи определяется скоростью обратного захвата медиатора. Изменения этих

процессов могут вызывать функциональные нарушения ЦНС [6].

У млекопитающих становление дыхательной системы происходит во время первых 3 нед постнатального развития, которые являются самыми динамичными в развитии респираторной системы. В этот период в нейронах ядер дыхательного центра продолговатого мозга происходит активная экспрессия возбуждающих и тормозных нейротрансмиттеров, а также других нейрхимических соединений, уровень которых в ходе развития может меняться [6].

Комплекс Бетцингера входит в состав вентральной группы ядер дыхательного центра и образован преимущественно поздними экспираторными нейронами, представляющими область генерации дыхательного ритма. Установлено, что бульбоспинальные нейроны комплекса Бетцингера регулируют последовательную смену фаз дыхательного цикла и иннервацию дыхательных мышц верхних дыхательных путей, диафраг-

### Сведения об авторе:

*Хожай Людмила Ивановна* (e-mail: [astarta0505@mail.ru](mailto:astarta0505@mail.ru)), лаборатория онтогенеза нервной системы, ФГБУН «Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН», 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6

мальных и межреберных дыхательных мышц, которые непосредственно определяют паттерн дыхания [16].

Важную роль в контроле дыхательного цикла играет координированная взаимосвязь нейротрансмиттеров, в частности, ГАМК и серотонина, последний, в свою очередь, модулирует тормозные эффекты ГАМК [3, 15, 17]. Рецепторы к серотонину и терминали, содержащие серотонин, в комплексе Бетцингера обнаруживаются уже в ранний постнатальный период [17]. Показано, что в эти же ранние сроки у грызунов в комплексе Бетцингера для поддержания нормального дыхательного ритма и инспираторного паттерна необходим определенный уровень экспрессии ГАМК, а также развитие транспортной системы для ее трансмиссии, изменение которых может вызывать дыхательную дисфункцию [12]. Однако существует ли зависимость уровня транспортеров ГАМК от экспрессии серотонина в пренатальном периоде развития, в настоящее время неизвестно. В связи с этим задачей данной работы было исследование уровня транспортного белка  $GAT_1$  в комплексе Бетцингера на ранних сроках постнатального развития в норме и при пренатальном дефиците серотонина.

**Материал и методы.** Работа проведена на 21 лабораторной крысе линии Wistar из питомника Института физиологии им. И. П. Павлова РАН. Содержание животных и все экспериментальные процедуры проводили в соответствии с рекомендациями Директивы (2010/63/ÄU) Европейского союза по защите животных, используемых в научных целях (Directive 2010/63/ÄU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes). Протоколы опытов были утверждены Комиссией по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных при Учреждении Российской академии наук Институте физиологии им. И. П. Павлова РАН (Institutional Animal Care and Use Committee — IACUC) №04/02 от 04.02.2019 г.

Снижение уровня эндогенного серотонина в эмбриональный период у крыс осуществляли методом ингибирования триптофан-гидроксилазы (фермента его синтеза) параклорфенилаланином (пХФА) (Sigma, США). Самкам крыс вводили внутривенно пХФА в дозе 400 мг/кг на 9-е сутки беременности — в период начала формирования у плодов собственной серотонинергической системы. Уровень содержания серотонина в гомогенизированных пробах тканей мозга эмбрионов определяли методом высокоаффинной жидкостной хроматографии в лаборатории биохимии НИИ акушерства и гинекологии им. С. Е. Отта. Количество серотонина измеряли в нг/1 мг белка эмбриональной нервной ткани. Показано, что у плодов уровень серотонина снижается на 3-и сутки после введения пХФА в среднем на 63% и остаётся сниженным в течение 7–8 сут. Головной мозг крысят извлекали, фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде на фосфатно-солевом буфере (рН 7,4), затем заливали в парафин по общепринятой методике и готовили серийные поперечные срезы продолговатого мозга толщиной 6–7 мкм на уровне — 12,00–12,48 мм от брегмы [14]. Исследование

проводили на 5- (n=4), 10-е (n=4) и 20-е (n=4) сутки постнатального развития (П5, П10 и П20). Контролем служили крысята соответствующих сроков развития, полученные от интактных самок (n=9). В каждую возрастную группу отбирали одинаковых по размеру животных.

Исследовали комплекс Бетцингера, дыхательное ядро, входящее в состав вентральной группы респираторных ядер продолговатого мозга.

Морфологический анализ осуществляли на цифровых изображениях серийных срезов, полученных при помощи светового микроскопа Leica DME (Leica, Германия) и цифровой камеры Leica EC3 (Leica, Германия).

Иммуногистохимическую реакцию на выявление  $GAT_1$  проводили с использованием первичных кроличьих поликлональных антител (anti-GABA transporter 1;  $GAT_1$ ) (AbCam, Великобритания) в разведении 1:200 при инкубации срезов в течение 16 ч при 4 °С. В качестве вторичных реагентов для  $GAT_1$  использовали реактивы из набора EnVision+System-HRP Labelled Polymer Anti-Rabbit (DakoCytomation, США). Инкубацию срезов во вторичных антителах осуществляли в течение 40 мин при комнатной температуре. Для визуализации продукта реакции использовали хромоген DAB+ (Dako, Дания). Затем срезы заключали в синтетическую среду Permaunt (Termo, США). Условия проведения иммуногистохимических реакций были стандартизованы, все процедуры проводили одновременно на материалах, полученных от контрольных и опытных животных.

Количественную оценку иммунореактивности интернейронов определяли с помощью системы анализа изображений, включающей световой микроскоп Olympus CX31 (Япония), цветную цифровую камеру VideoZavr Standard VZ-C31Sr и программное обеспечение Видеозавр Мультиметр 2.3 (разработка ООО АТМ-практика, Санкт-Петербург). Оптическую плотность (D) продукта реакции оценивали в нейропиле комплекса Бетцингера в сети иммунопозитивных отростков, терминалях и скоплениях мелких и крупных гранул (последние, предположительно, считаются терминальными синаптическими структурами и их скоплениями [9]). Уровень содержания  $GAT_1$  выражали в относительных единицах оптической плотности продукта иммунной реакции. Математическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США). Все величины представлены как средняя арифметическая величина ± ошибка средней. Значимость различий средних величин определяли с использованием средств анализа ANOVA. Значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования.** *Распределение  $GAT_1$  в комплексе Бетцингера на разных сроках раннего постнатального развития у животных в контроле.* У контрольных крысят в комплексе Бетцингера на П5 в нейропиле присутствует сеть иммунопозитивных отростков, терминалей и гранул. На телах нейронов располагаются крупные иммунопозитивные гранулы (синаптические структуры), как одиночные, так и собранные в группы. Уровень  $GAT_1$  (значения D) в гранулах в 2,2 раза выше, чем в отростках (табл. 1). В комплексе Бетцингера могут присутствовать 1–2 мелкие иммунопозитивные клетки. На П10 в нейропиле в сети отростков и тер-

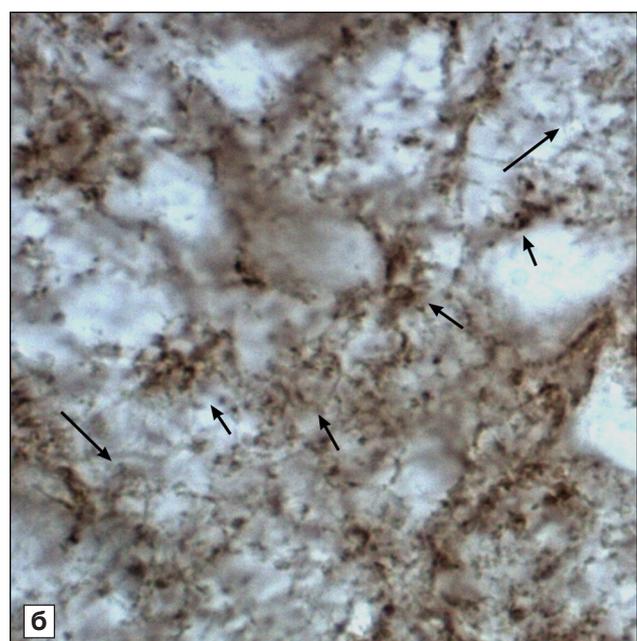
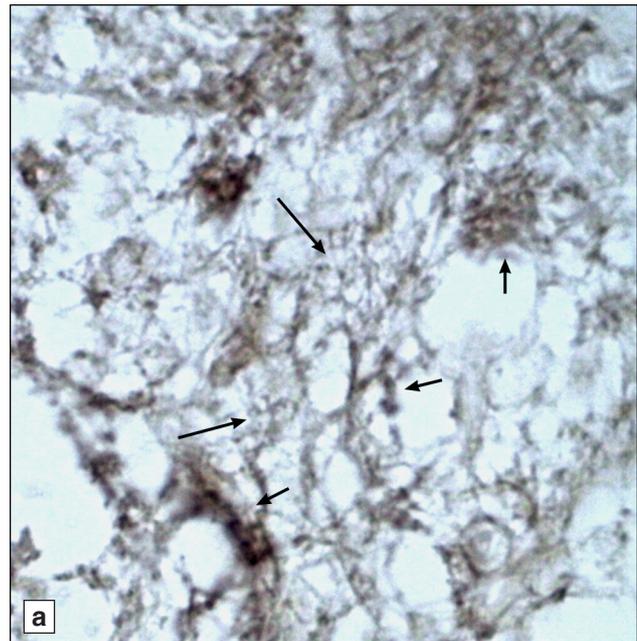
Таблица 1

**Изменение уровня GAT<sub>1</sub> (значение оптической плотности D-продукта иммунной реакции) в комплексе Бетцингера на разных сроках постнатального развития крысят в контроле**

Сроки развития/локализация	D (отн. ед.)		
	5-е сутки	10-е сутки	20-е сутки
Нейропиле (отростки нейронов)	0,074±0,007	0,032±0,011	0,050±0,004
Синаптические структуры	0,163±0,005	0,091±0,008	0,152±0,007

миналей уровень GAT<sub>1</sub> (значения D) в 2,3 раза, а в гранулах в 1,8 раза ниже, чем на предыдущем сроке (см. табл. 1). При этом в нейропиле как на отростках, так и на телах нейронов, выявляется меньшее количество крупных гранул. На П20 уровень GAT<sub>1</sub> (значения D) в нейропиле в отростках в 1,6 раза превосходит таковой на П10 и сопоставим с таковым на П5 (см. табл. 1). Количество крупных иммунопозитивных гранул на телах нейронов и уровень GAT<sub>1</sub> (значения D) в них возрастает по сравнению с таковым на П10 и становится сопоставимым с уровнем их значений на П5 (см. табл. 1).

*Распределение GAT-1 в комплексе Бетцингера на разных сроках постнатального развития животных при пренатальном дефиците серотонина.* У подопытных животных в комплексе Бетцингера в нейропиле иммунопозитивные отростки и терминали образуют более плотную сеть, чем в контроле. Уровень GAT<sub>1</sub> (значения D) как в нейропиле в отростках, так и в гранулах (синаптических структурах) вдвое превышает ( $p < 0,05$ ) таковой в контроле на этом сроке (табл. 2). На П10, подобно тому в контроле, в нейропиле в отростках и синаптических структурах уровень GAT<sub>1</sub> (значений D) снижается: в нейропиле в отростках и терминалях — в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ), а в синаптических структурах — в 1,2 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с таковыми на П5 (см. табл. 2). На П20 уровень GAT<sub>1</sub> (значения D) практически не повышается и сопоставим с его значениями на предыдущем сроке развития (П10). Однако уровень GAT<sub>1</sub> как в нейропиле в отростках, так и в синаптических структурах, остается выше, чем в контроле ( $p < 0,05$ ), в 1,9 и 1,3 раза соответственно (см. табл. 2; рисунок, а, б).



Иммуногистохимическая реакция на выявление GAT<sub>1</sub>-транспортера ГАМК в комплексе Бетцингера на 20-е постнатальные сутки в контроле (а) и у крыс, развивающихся на фоне пренатального дефицита серотонина (б); повышение уровня GAT<sub>1</sub> у подопытных животных, увеличение плотности сети иммунопозитивных отростков, терминалей и синаптических структур (длинные стрелки — сеть отростков в нейропиле; короткие стрелки — синаптические структуры, их скопления). Ув. 100

Таблица 2

**Изменение уровня GAT<sub>1</sub> (значение оптической плотности D-продукта иммунной реакции) в комплексе Бетцингера на разных сроках постнатального развития крысят на фоне пренатального дефицита серотонина**

Сроки развития/локализация	D (отн. ед.)		
	5-е сутки	10-е сутки	20-е сутки
Нейропил (отростки нейронов)	0,123±0,009 *	0,078±0,004 *	0,100±0,010 *
Синаптические структуры	0,260±0,020 *	0,210±0,010 *	0,198±0,007 *

\* p<0,05, различия значимы по сравнению с данными табл. 1.

Обсуждение полученных данных. Известно, что основной функцией транспортных белков при синаптической нейротрансмиссии является обратный захват нейромедиаторов [9]. В настоящее время для ГАМК известны четыре класса транспортеров: GAT<sub>1</sub>, GAT<sub>2</sub>, GAT<sub>3</sub> и GAT<sub>4</sub> (или BGT-1, betaine). Считается, что GAT<sub>1</sub> и GAT<sub>3</sub> являются основными транспортерами, которые захватывают ГАМК, высвобождаемую при тормозной передаче [8].

Проведенное исследование показало, что у контрольных животных в комплексе Бетцингера имеет место динамичное изменение уровня транспортера GAT<sub>1</sub> в ранние сроки постнатального развития. Уже в неонатальный период (1-ю постнатальную неделю) отмечен достаточно высокий уровень GAT<sub>1</sub> как в сети отростков и терминалей в нейропиле, так и в синаптических структурах. Во время 2-й недели жизни уровень GAT<sub>1</sub> значительно снижается (вдвое), а к концу 3-й недели вновь возрастает и соответствует таковому на неонатальном сроке.

Данные предыдущих наших исследований показали, что в 1-ю неделю постнатального развития в комплексе Бетцингера выявляется высокий уровень ГАМК, на 2-й неделе он резко снижается, однако, к концу 3-й недели (к началу ювенильного возраста, когда увеличивается активность поведенческих реакций) — вновь повышается [1]. Вероятно, на ранних сроках постнатального развития существует определенная координация в экспрессии ГАМК и ее транспортеров для поддержания необходимого уровня нейротрансмиссии в терминалях и синапсах.

Сведений в литературе о влиянии серотонина на структурную организацию комплекса Бетцингера, функциональную активность ГАМК-ергической системы, в том числе транспортной системы нейротрансмиссии, крайне мало. Существует предположение, что недостаток серотонина в эмбриогенезе может приводить к нарушению процесса миграции предшественников ГАМК-ергических нейронов, задержке дифференцировки нейронов комплекса Бетцингера и других формаций мозга, экспрессии ГАМК, а также к измене-

нию формирования нейропиля и синаптогенеза [2].

Результаты настоящего исследования показали, что у животных, развивающихся на фоне пренатального дефицита серотонина, в комплексе Бетцингера на всех исследованных сроках происходит значительное увеличение (почти вдвое) уровня GAT<sub>1</sub> по сравнению с животными, развивающимися в нормальных условиях.

Известно, что ГАМК может находиться как в синапсе, так и вне его границ из-за ее диффузии из синаптической щели в межклеточное пространство. Этот процесс известен как «спилловер нейротрансмиссии» [10, 11]. Часть нейромедиатора, вышедшая за пределы синапса, будет повышать внеклеточную концентрацию эндогенной ГАМК и, возможно, активировать внесинаптические рецепторы [10, 14]. В связи с этим спилловер может рассматриваться как процесс, активирующий обратный захват нейротрансмиссии из внеклеточного пространства [7, 13] и, следовательно, стимулирующий синтез транспортного белка. Более того, известно, что транспортеры ГАМК способны переносить нейротрансмиссию через мембрану в обоих направлениях: захватывать из внеклеточного пространства внутрь клетки и, наоборот, вновь его высвобождать [5], что, вероятно, также может повышать уровень транспортных белков. Существуют данные, подтверждающие эти предположения, которые показали, что увеличение экспрессии поверхностного транспортера GAT<sub>1</sub> коррелирует с увеличением транспорта ГАМК [6].

Отмеченное в данном исследовании повышение уровня GAT<sub>1</sub> в комплексе Бетцингера у подопытных животных, вероятно, можно объяснить наличием спилловера ГАМК, возможно, возникшим в результате изменения структуры синапсов, задержки процесса интернализации GAT<sub>1</sub>, нарушения экспрессии постсинаптических рецепторов, вызванных пренатальным дефицитом серотонина.

В литературе есть данные, демонстрирующие изменение уровня транспортера GAT<sub>1</sub> в результате нарушения внутриклеточных метаболических процессов (например фосфорилирования) [7, 8],

воздействия повреждающих факторов, таких как осмотический стресс, возникающий при высокой нейронной активности, а также при воздействии на мозг гипоксии/ишемии или травме. Более того, предполагают, что уровни транспортных белков могут быть регулируемыми [6], хотя механизмы такой регуляции до конца неизвестны.

**Заключение.** Следует отметить, что у крыс в комплексе Бетцингера в ранние сроки постнатального развития имеет место колебание уровня транспортера GAT<sub>1</sub>. Достаточно высокий его уровень на 1-й неделе жизни снижается в течение 2-й и вновь повышается к концу 3-й недели (т.е. к началу ювенильного, детского возраста). Пренатальный дефицит серотонина приводит к существенному повышению уровня GAT<sub>1</sub> в этот период развития. Выявленное отклонение уровня GAT<sub>1</sub> может вызывать изменение трансмиссии ГАМК и, как результат, нарушение баланса тормозных и возбуждающих эффектов в дыхательном ядре на ранних сроках постнатального развития. Полученные результаты расширяют возможности понимания механизмов регуляции уровня GAT<sub>1</sub> при формировании дыхательных дисфункций во время раннего периода развития.

*Автор выражает благодарность Вере Ивановне Мироновой (лаборатория нейроэндокринологии Института физиологии им. И. П. Павлова РАН) за предоставленную возможность использовать компьютерное программное обеспечение для анализа оптической плотности продукта реакции после иммуногистологической реакции.*

**Автор сообщает об отсутствии в статье конфликта интересов.**

#### ЛИТЕРАТУРА

- Хожай Л.И., Ильичева Н.В. Формирование ГАМК-ергической нейральной сети в комплексе Бетцингера у крыс в ранний постнатальный период в норме и при дефиците эндогенного серотонина // *Морфология*. 2016. Т. 150, вып. 4. С. 44–49 [Khozhaj L.I., Ilyicheva N.V. Formation of GABA-ergic neural network in Bötzing complex in rats during early postnatal period in norm and in prenatal deficiency of endogenous serotonin // *Morphologiya*. 2016. Vol. 150, № 4. P. 44–49. In Russ.].
- Хожай Л.И., Шишко Т.Т. Изменение структурной организации бледного ядра шва при снижении содержания эндогенного серотонина в пренатальный период развития у крыс // *Морфология*. 2013. Т. 143, вып. 2. С. 75–78 [Khozhaj L.I., Shishko T.T. Changes of the structural organization of the nucleus raphe pallidus after the decrease of endogenous serotonin level in the prenatal period of development in rats // *Morphologiya*. 2013. Vol. 143, № 2. P. 75–78. In Russ.].
- Alheid G.F., McCrimmon D.R. The chemical neuroanatomy of breathing // *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2008. Vol. 164. Iss. 1–2. P. 3–11. doi: 10.1016/j.resp.2008.07.014
- Augood S.J., Herbison A.E., Emson P.C. Localization of GAT-1 GABA Transporter mRNA in Rat Striatum: Cellular Coexpression with GAD<sub>67</sub> mRNA, GAD<sub>67</sub> Immunoreactivity, and Parvalbumin mRNA // *J. Neurosci.* 1995. Vol. 15. Iss.1. P. 665–674. doi: 10.1523/JNEUROSCI.15-01-00865.1995
- Barakat L., Bordey A. GAT-1 and Reversible GABA Transport in Bergmann Glia in Slices // *J. Neurophysiol.* 2002. Vol. 88. Iss. 3. P. 1407–1419. doi: 10.1152/jn.2002.88.3.1407
- Bernstein E.M., Quick M.W. Regulation of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) transporters by extracellular GABA // *J. Biol. Chem.* 1999. Vol. 274, № 2. P. 889–895. doi: 10.1074/jbc.274.2.889
- Danbolt N.C. Glutamate uptake // *Prog. Neurobiol.* 2001. Vol. 65. Iss. 1. P. 1–105. doi: 10.1016/s0301-0082(00)00067-8
- Gadea A., Lopez-Colome A.M. Glial transporters for glutamate, glycine, and GABA: II. GABA transporters // *J. Neurosci. Res.* 2001. Vol. 63. Iss. 6. P. 461–468. doi: 10.1002/jnr.1040
- Guthmann A., Fritschy J.M., Ottersen O.P. et al. GABA, GABA transporters, GABA(A) receptor subunits, and GAD mRNAs in the rat parabrachial and Kölliker-Fuse nuclei // *J. Comp. Neurol.* 1998. Vol. 400. Iss. 2. P. 229–243. doi: 10.1002/(SICI)1096-9861(19981019)400:2<229::AID-CNE5>3.0.CO;2-B
- Isaacson J.S. Synaptic transmission: Spillover in the spotlight // *Curr. Biol.* 2000. Vol. 10. Iss. 13. P. 475–477. doi: 10.1016/s0960-9822(00)00551-0
- Isaacson J.S., Solis J.M., Nicoll R.A. Local and diffuse synaptic actions of GABA in the hippocampus // *Neuron.* 1993. Vol. 10. Iss. 2. P. 165–175. doi: 10.1016/0896-6273(93)90308-e
- Kuwana S., Okada Y., Sugawara Y. et al. Disturbance of neural respiratory control in neonatal mice lacking GABA synthesizing enzyme 67-kDa isoform of glutamic acid decarboxylase // *Neuroscience.* 2003. Vol. 120. Iss. 3. P. 861–870. doi: 10.1016/s0306-4522(03)00338-5
- Lehre K.P., Rusakov D.A. Asymmetry of glia near central synapses favors presynaptically directed glutamate escape // *Biophys. J.* 2002. Vol. 83. Iss. 1. P. 125–134. doi: 10.1016/S0006-3495(02)75154-0
- Paxinos G., Watson C. *The Rat Brain in stereotaxic coordinates.* London: Academic Press, 1998.
- Ritter B., Zhang W. Early postnatal maturation of GABA-mediated inhibition in the brainstem respiratory rhythm-generating network of the mouse // *Eur. J. Neurosci.* 2000. Vol. 12. Iss. 8. P. 2975–2984. doi: 10.1046/j.1460-9568.2000.00152.x
- Song G., Li Q., Shao F.Z. GABAergic neurons in Kölliker-Fuse nucleus and Bötzing complex with axons projecting to phrenic nucleus // *Sheng Li Xue Bao.* 2000. Vol. 52, № 2. P. 167–169.
- Yu S.Y., Wang G.M., Wang H. et al. Raphe pallidus modulates Botzinger complex-induced inhibition of the phrenic nerve in rats // *Eur. J. Neurosci.* 2011. Vol. 34. Iss. 7. P. 1113–1120. doi: 10.1111/j.1460-9568.2011.07837.x

Поступила в редакцию 06.05.2019

Получена после доработки 24.06.2019

### DISTRIBUTION OF GABA TRANSPORTER (GAT1) LEVELS IN THE BÖTZINGER COMPLEX AT THE EARLY STAGES OF POSTNATAL DEVELOPMENT IN RATS WITH PRENATAL SEROTONIN DEFICIENCY

*L. I. Khozhai*

**Objective** — to study the distribution of GABA transporter 1 (GAT<sub>1</sub>) levels in the Bötzing complex at the early stages of postnatal development in rats with prenatal serotonin deficiency.

**Material and methods.** The work was carried out on Wistar line laboratory rats. To reduce the level of endogenous serotonin in the embryonic period, the method of tryptophan hydroxylase inhibition by para-chlorophenylalanine (PCPA) (Sigma, USA) was used. The GAT1 transport protein was detected by immunohistochemical reaction with anti-GABA transporter1 primary rabbit polyclonal antibodies (AbCam, UK). The brain was examined on the 5<sup>th</sup>, 10<sup>th</sup> and 20<sup>th</sup> day of postnatal development.

**Results.** At the early stages of postnatal development, a fluctuation in the GAT1 level of the GABA transporter was noted in the Bötzing complex of control animals. In the first postnatal week, the GAT<sub>1</sub> level was high both in the network of neuronal processes and terminals, and in synapses. During the 2<sup>nd</sup> week of life, the GAT1 level decreased, and by the end of the 3<sup>rd</sup> week

it increased again, reaching the initial level. Deficiency of serotonin in the prenatal period caused a significant increase in the level of GAT<sub>1</sub> in the neuropil of the Bötzing complex in experimental animals at all studied stages of postnatal development.

**Conclusions.** Prenatal deficiency of serotonin leads to a significant increase in the GAT1 level at the early stages of postnatal development, which can lead to a change in the GABA transmission, and, as a result, to a disturbance in the balance of inhibitory and stimulatory effects in the respiratory nuclei.

**Key words:** *GAT<sub>1</sub>-transporter, Bötzing complex, serotonin, early postnatal development period*

I. P. Pavlov Institute of Physiology of RAS, 6 Makarova Emb., Saint-Petersburg, 199034