

Л.И. Хожай¹, Н.В. Ильичева²

ФОРМИРОВАНИЕ ГАМК-ергической НЕЙРАЛЬНОЙ СЕТИ В КОМПЛЕКСЕ БЕТЦИНГЕРА У КРЫС В РАННИЙ ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД В НОРМЕ И ПРИ ПРЕНАТАЛЬНОМ ДЕФИЦИТЕ ЭНДОГЕННОГО СЕРОТОНИНА

¹ Лаборатория онтогенеза нервной системы (зав. — чл.-кор. РАН В.А.Отеллин), Институт физиологии им. И.П.Павлова РАН; ² группа некодирующей ДНК (руков. — проф. О.И.Подгорная), Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

Изучена динамика распределения ГАМК-ергических нейронов и нейронов, экспрессирующих разные типы ГАМК-рецепторов (ГАМК-Аα1 и ГАМК-В1) в комплексе Бетцингера в ранний постнатальный период (период функционального созревания респираторной системы у млекопитающих) в норме и при пренатальном снижении содержания серотонина у крыс линии Вистар. На 5-, 9-е и 20-е сутки после рождения исследовали мозг крысят двух групп: контрольных (n=9), родившихся от интактных самок и экспериментальных (n=13), матерям которых во время беременности вводили парахлорфенилаланин, снижающий содержание эндогенного серотонина. Проводили иммуноцитохимическое выявление нейронов, синтезирующих ГАМК, экспрессирующих ГАМК-Аα1- и ГАМК-В1-рецепторы. Показано, что созревание тормозной ГАМК-ергической сети в комплексе Бетцингера происходит в ранние постнатальные сроки (к 9-м суткам). Одновременно с ГАМК в ядре имеет место экспрессия ГАМК-Аα1- и ГАМК-В1-рецепторов, однако их созревание имеет различия. Формирование ГАМК-Аα1-рецепторов происходит раньше (к 9-м суткам) и совпадает по времени с экспрессией ГАМК. Созревание ГАМК-В1-рецепторов происходит позже — только к 3-й неделе. Пренатальный дефицит серотонина вызывает задержку экспрессии ГАМК и ГАМК-Аα1-рецепторов нейронами ядра, а также нарушение формирования сети терминалей и синапсов, содержащих ГАМК, ГАМК-Аα1- и ГАМК-В1-рецепторы.

Ключевые слова: комплекс Бетцингера, ГАМК, серотонин, ГАМК-Аα1- и ГАМК-В1-рецепторы

Регуляцию последовательной смены фаз респираторного цикла, как известно, в значительной мере осуществляют бульбоспинальные нейроны комплекса Бетцингера [5, 7]. У взрослых животных в его состав входят несколько популяций тормозных нейронов, включающих экспираторные, постинспираторные и усиливающие (augmenting) экспираторные нейроны [7–9], проецирующиеся на мотонейроны, иннервирующие респираторные мышцы верхних дыхательных путей [8], и мотонейроны, иннервирующие диафрагмальные и межреберные дыхательные мышцы, непосредственно участвующие в формировании глубины, частоты и ритма дыхания [18]. Показано, что важную роль в контроле респираторного цикла играет координированная взаимосвязь нейротрансмиттеров ЦНС, среди них основным является тормозный трансмисмиттер гамма-аминомасляная кислота (ГАМК), а также серотонин, который, в свою очередь, модулирует тормозные эффекты ГАМК [4, 17, 21].

Установлено, что первые 2 нед постнатального периода являются самыми важными для развития и созревания дыхательной системы у млекопитающих животных и человека. В это время в респираторных ядрах продолговатого мозга имеет место экспрессия возбуждающих и тормозных нейротрансмиттеров, а также нейрохимических соединений, активность которых в ходе развития изменяется [20]. Физиологические эксперименты показали, что для поддержания нормального респираторного ритма у грызунов в ранний постнатальный период в комплексе Бетцингера необходим определенный уровень ГАМК, снижение которого вызывает нарушение респираторной функции и приводит к апноэ и брадипноэ [12]. Существенную роль в передаче импульсов, опосредованной ГАМК, обеспечивающей тормозные эффекты, играет рецепторное звено, представленное двумя классами рецепторов — ГАМК-А и ГАМК-В, которые, как предполагают, активируются самой ГАМК [19]. В литературе практически отсутствуют данные о состоянии как тормоз-

Сведения об авторах:

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

Ильичева Надежда Викторовна (e-mail: nad9009@yandex.ru), группа некодирующей ДНК, Институт цитологии РАН, 194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий пр., 4

ной ГАМК-ергической сети, так и об экспрессии разных типов рецепторов, осуществляющих связывание ГАМК в комплексе Бетцингера в ранний постнатальный период. Ритм, частота и глубина дыхания, как полагают, контролируются разными нейротрансмиттерами. В ранний постнатальный период в комплексе Бетцингера обнаруживаются рецепторы серотонина и терминали, содержащие серотонин [21]. Однако какова степень зависимости развивающейся ГАМК-ергической системы от уровня экспрессии основных нейротрансмиттеров, в частности, серотонина, неизвестно.

В связи с этим цель данной работы — изучение динамики распределения ГАМК-ергических нейронов и нейронов, экспрессирующих разные типы рецепторов (ГАМК-А и ГАМК-В), в комплексе Бетцингера в ранний постнатальный период в норме и при пренатальном снижении содержания серотонина у крыс.

Материал и методы. Работа проведена на крысах линии Вистар. Содержание животных и все экспериментальные процедуры осуществляли в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР). Для снижения содержания эндогенного серотонина использовали метод ингибирования триптофан-гидроксилазы (фермента его синтеза) парахлорфенилаланином (пХФА) (Sigma, США). Самкам крыс вводили пХФА в дозе 400 мг/кг внутривентрикулярно на 9-е сутки беременности (для длительного снижения содержания эндогенного серотонина до 50–80% в период формирования у плодов собственной серотонинергической системы). Головной мозг у крысят исследовали на 5- (n=5), 9-е (n=4) и 20-е (n=4) сутки после рождения. В качестве контроля использовали животных (n=9) в соответствующие сроки развития, полученных от интактных самок. Материал фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде на фосфатно-солевом буфере (рН 7,4), заливали в парафин по общепринятой методике и готовили серийные поперечные срезы продолговатого мозга толщиной 5 мкм на уровне Bregma –12,00–12,48 мм [14].

Иммуноцитохимическую реакцию (ИЦР) выявления ГАМК-ергических нейронов проводили с использованием кроличьих поликлональных антител к GAD-67 (Spring Bioscience, США). В качестве вторичных реагентов использовали реактивы из набора EnVision+System-HRP Labelled Polymer Anti-Rabbit (DakoCytomation, США).

ИЦР, выявляющие нейроны, экспрессирующие ГАМК-А- и ГАМК-В-рецепторы, проводили с использованием кроличьих поликлональных антител к ГАМК-А α 1- и ГАМК-В-рецепторам соответственно (Abscam, США). В качестве вторичных реагентов для выявления ГАМК-А α 1-рецептора и ГАМК-В-рецептора применяли реактивы из набора LSAB2 System-HRP (Dako, Дания). Для выявления продукта реакции использовали хромоген DAB+ (Dako, Дания). После проведения ИЦР часть срезов докрашивали гематоксилином Майера (Bio-Optica, Италия) и заключали в синтетическую среду Permount (Termo, США). Условия проведения ИЦР были стандартизированы, все процедуры при этом у контрольных и подопытных животных осуществляли одновременно.

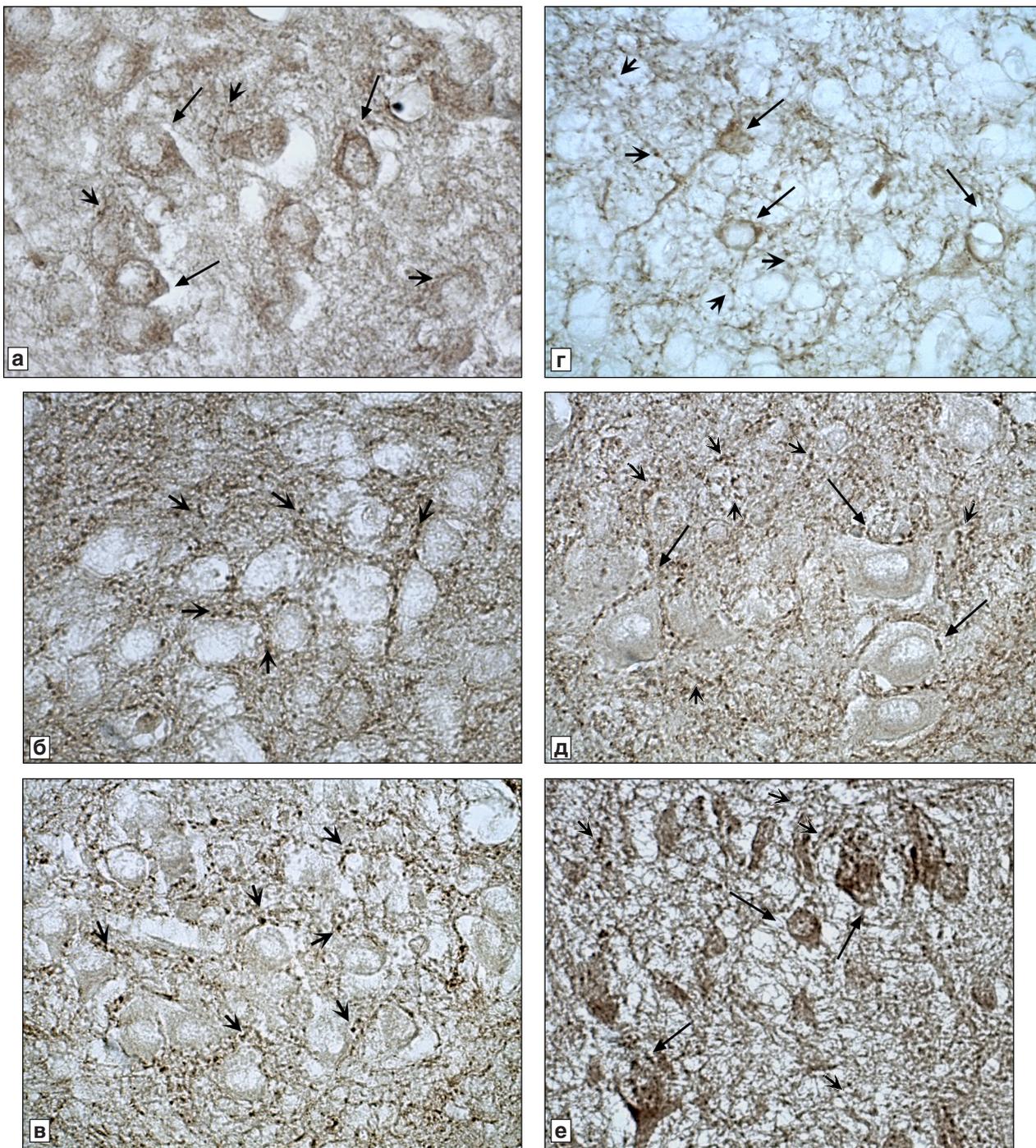
Морфологический анализ и количественное исследование проводили на цифровых изображениях серийных срезов, полученных при помощи светового микроскопа Leica DME (Leica, Германия) и цифровой камеры Leica EC3 (Leica, Германия).

Подсчет числа ГАМК-, ГАМК-А α 1-рецептор- и ГАМК-В1-рецептор-иммунопозитивных (ИП) нейронов проводили на 10 серийных срезах мозга, полученного от 3–4 животных в каждый срок исследования как контрольной, так и экспериментальной групп, на стандартной площади среза, равной 0,105 мм², при об. 40, ок. 10. Учитывали плотность сети ИП терминальных отростков в нейропиле и распределение гранул, которые принято считать синаптическими структурами, их скопления, а также терминальные варикозные расширения, свидетельствующие о незрелости терминальных отростков [10]. Статистическую обработку полученных морфометрических показателей осуществляли при помощи прикладных компьютерных программ Statistica 6.0, ImageScope Color и ORIGIN50. Значимость различий определяли по величине t-критерия Стьюдента. Различия считали значимыми при P<0,05.

Результаты исследования. *Распределение GAD-67-ИП-нейронов в комплексе Бетцингера.* У контрольных крысят на 5-е сутки после рождения основная часть нейронов ядра — 12,8±1,3 (здесь и далее количество на стандартной площади среза) являются ИП. В нейропиле присутствует рыхлая сеть ИП-терминалей, мало гранул, на телах нейронов они единичны (рисунк, а). На 9-е сутки в ядре обнаружены 1,0±0,6 ИП-нейронов. В нейропиле — плотная сеть терминалей, много крупных гранул. На 20-е сутки картина аналогичная: в ядре 1,0±0,8 ИП-нейронов. В нейропиле — плотная сеть терминалей, много крупных гранул (см. рисунок, б).

У животных с пренатальной недостаточностью серотонина на 5-е сутки после рождения в ядре на стандартной площади среза обнаруживаются 8,2±0,3 ИП-нейронов. В нейропиле — рыхлая сеть терминалей, крупные гранулы единичны. На 9-е сутки выявляются 2,0±0,4 ИП-нейронов. В нейропиле — рыхлая сеть терминалей, очень много крупных гранул как одиночных, так и их групп. На телах нейронов 3–9 гранул. На 20-е сутки в ядре — 2,0±0,6 ИП-нейронов. В нейропиле — рыхлая сеть терминалей, однако много крупных гранул (см. рисунок, в).

Распределение ГАМК-А α 1-рецептор-ИП-нейронов в комплексе Бетцингера. У контрольных животных на 5-е сутки в ядре присутствуют 10,5±0,3 нейронов (большинство на срезе), имеющих ГАМК-А α 1-ИП-рецепторы, цитоплазма нейронов и отростки ИП, в нейропиле терминали с крупными гранулами образуют рыхлую сеть. На телах нейронов — много мелких зерен и одиночных крупных гранул. На 9-е сутки в ядре число ИП-нейронов увеличивается и составляет 17,3±0,7. В нейропиле — плотная сеть термина-



Продолговатый мозг крысы — комплекс Бетцингера на 5-е (а, г) и 20-е (б, в, д, е) после рождения в контроле (а, б, д) и после пренатального дефицита серотонина (в, г, е).

Длинные стрелки — иммунопозитивные (ИП) нейроны; короткие стрелки — ИП-гранулы и их скопления. а-в — иммуноцитохимическая реакция на GAD-67; г-е — иммуноцитохимическая реакция на рецептор ГАМК-А α 1. Об. 100, ок. 10

лей, много крупных гранул. На телах нейронов гранул мало — 2–3. На 20-е сутки в ядре большинство ИП-нейронов сохраняются — $12,5 \pm 0,6$. В нейропиле — плотная сеть терминалей, много крупных гранул, располагающихся группами и одиночно. На телах нейронов гранул мало — 3–5 (см. рисунок, д).

У животных с пренатальной недостаточностью серотонина на 5-е сутки после рождения в

ядре присутствуют $2,1 \pm 0,3$ ИП-нейрона с небольшим объемом цитоплазмы. В нейропиле немногочисленные ИП-терминали образуют рыхлую сеть, крупных гранул очень мало. На телах нейронов гранул нет (см. рисунок, г). На 9-е сутки число ИП-нейронов увеличивается и составляет $9,4 \pm 0,3$. В нейропиле — рыхлая сеть терминалей, крупных гранул мало. На телах нейронов их нет. На 20-е сутки в ядре выявляются $11,7 \pm 0,6$ ИП-нейронов

(большая часть клеток на срезе). В нейропиле — рыхлая сеть терминалей, мало гранул. На телах нейронов гранул практически нет (см. рисунок, е).

Распределение ГАМК-В1-рецептор-ИП-нейронов в комплексе Бетцингера. У животных в контроле на 5-е сутки после рождения в ядре присутствуют $14,3 \pm 0,5$ ИП-нейронов, составляющих большую часть от общего числа клеток на срезе. В нейропиле — рыхлая сеть терминалей, мало крупных гранул. На телах нейронов — гранул нет. На 9-е сутки число ИП-нейронов не изменяется и составляет $14,1 \pm 0,3$, при этом повышается интенсивность реакции цитоплазмы. В нейропиле — рыхлая сеть терминалей, мало гранул. На телах нейронов их 8–10. На 20-е сутки в ядре численность ИП-нейронов сохраняется, составляя $14,6 \pm 0,8$ клеток с интенсивной реакцией цитоплазмы. В нейропиле — плотная сеть ИП-терминалей, много крупных гранул, расположенных группами. На телах нейронов гранул много — до 10.

Распределение ГАМК-В1-рецептор-ИП-нейронов в комплексе Бетцингера. У животных с пренатальной недостаточностью серотонина на 5-е сутки после рождения большинство нейронов ядра ($16,6 \pm 0,4$) — ИП, реакция цитоплазмы слабая. В нейропиле ИП-терминали образуют рыхлую сеть, встречаются единичные гранулы. На 9-е сутки число ИП-нейронов с интенсивной реакцией цитоплазмы соответствует таковому в предыдущий срок исследования и составляет $15,3 \pm 0,7$. В нейропиле определяются рыхлая сеть тонких терминалей и незначительное количество крупных гранул. На телах нейронов гранул нет. На 20-е сутки в ядре численность ИП-нейронов снижается до $7,6 \pm 0,8$. В нейропиле сохраняются рыхлая сеть ИП-терминалей и малочисленность крупных гранул, располагающихся преимущественно одиночно. На телах нейронов гранул мало — от 2 до 4.

Обсуждение полученных данных. Проведенное исследование показало, что в комплексе Бетцингера у крысят в 1-ю неделю после рождения довольно много GAD-67-ИП-нейронов, что свидетельствует о существенной экспрессии ГАМК на этом этапе развития. При этом в нейропиле выявляются малочисленные терминали и редкие синаптические структуры, содержащие ГАМК.

Во время 2-й (к 9-м суткам) и к концу 3-й недели постнатальной жизни происходит резкое снижение числа GAD-67-ИП-нейронов, а в нейропиле к этому сроку формируется плотная сеть ИП-терминалей. Сходная динамика изменения экспрессии ГАМК в 1-е 3 нед после рождения была обнаружена во вкусовых субъядрах ростральной

части ядра одиночного пути [11]. Предполагают, что высокий уровень экспрессии ГАМК нейронами и слабо развитые терминальная и синаптическая сети, содержащие ГАМК, в 1-ю неделю после рождения являются доказательством не транзитной, а вероятно, нейротрофической функции ГАМК в этот период [11].

Результаты показали, что у животных, развивавшихся при низком содержании серотонина, в отличие от контрольных, в ранние сроки после рождения незначительная часть нейронов являются GAD-67-ИП. К концу 3-й недели, так же как в контроле, число GAD-67-ИП-нейронов снижается, но, в отличие от контроля, в нейропиле сохраняется рыхлая, слабо развитая терминальная ИП-сеть, при этом плотность распределения синаптических структур, содержащих ГАМК, увеличивается.

Данных о влиянии серотонина на становление структурной организации комплекса Бетцингера в пренатальный период в литературе обнаружить не удалось. Однако есть основания предполагать, что недостаток серотонина в период развития может нарушать процесс миграции предшественников ГАМК-ергических нейронов, приводить к задержке экспрессии ГАМК и дифференцировки нейронов комплекса Бетцингера, так же как и нейронов других формаций мозга [1–3] и, соответственно, задержке формирования нейрональных отростков и терминалей. Считают, что созревание рецепторов ГАМК является ключевым моментом при переходе от нетранзитных функций ГАМК к нейротранзитным [11].

Результаты проведенного исследования показали, что в ранние постнатальные сроки (к 5-м суткам) в ядре уже присутствуют структуры, содержащие оба типа рецепторов, однако в динамике развития рецепторных систем ГАМК- $\alpha 1$ и ГАМК-В1 существуют различия. Во время первых 3 нед после рождения отмечено колебание интенсивности экспрессии ГАМК- $\alpha 1$ -рецептора. Так, в течение 2-й недели (к 9-м суткам) число ГАМК- $\alpha 1$ -рецептор-ИП-нейронов повышается в 1,6 раза, но затем к концу 3-й недели происходит его снижение и последующее возвращение к начальному значению. Вероятно, такое повышение экспрессии ГАМК- $\alpha 1$ -рецептора во время 2-й недели можно объяснить интенсивно формирующейся в нейропиле плотной сети терминалей и синаптических структур, содержащих ГАМК- $\alpha 1$ -рецептор.

Наблюдения показали, что к 5-м суткам подавляющее число нейронов в ядре имеют ГАМК-В1-ИП-рецепторы, и их численность остается постоянной на протяжении 3 нед после рождения,

однако сформированная плотная сеть терминалей и синапсов, содержащих ГАМК-В1-рецепторы, обнаруживается только к концу 3-й недели. Вероятно, у контрольных животных в комплексе Бетцингера созревание системы ГАМК-А α 1-рецепторов происходит раньше, чем ГАМК-В1-рецепторов.

Исследование показало, что пренатальный дефицит серотонина оказывает влияние на становление рецепторов как ГАМК-А α 1, так и ГАМК-В1 в ранний постнатальный период. У животных, развивавшихся при дефиците серотонина, на 5-е сутки после рождения, в отличие от контроля, имеет место низкая экспрессия ГАМК-А α 1-рецептора, о чем свидетельствуют единичные ИП-нейроны, имеющие ГАМК-А α 1-рецептор. К 9-м суткам их число увеличивается примерно в 5 раз, а к концу 3-й недели оно соответствует контрольному значению. В более ранние сроки в нейропиле не выявляются ГАМК-А α 1-рецептор-ИП-терминали, а синаптические структуры единичны. Во время 2-й и к концу 3-й недели в нейропиле сохраняется рыхлая сеть ИП-терминалей и количество синапсов.

Исследование показало, что значительная часть нейронов ядра экспрессируют ГАМК-В1-рецептор во время первых 2 нед после рождения, однако к концу 3-й недели их число снижается в 2 раза. В нейропиле на протяжении 3 нед выявляются рыхлая сеть тонких терминалей и по сравнению с контролем значительно меньшая плотность распределения синаптических структур, содержащих ГАМК-В1-рецептор.

Таким образом, в заключение следует отметить, что созревание тормозной ГАМК-ергической сети в комплексе Бетцингера происходит в ранние постнатальные сроки развития (к 9-м суткам). В ядре одновременно с ГАМК осуществляется экспрессия ГАМК-А α 1- и ГАМК-В1-рецепторов, однако в их созревании имеются различия. Созревание системы ГАМК-А α 1-рецепторов происходит раньше и совпадает по времени (к 9-м суткам) с ГАМК, что подтверждает предположение о том, что в респираторных ядрах ГАМК-А α 1-рецептор является основным в связывании ГАМК [10, 11]. Созревание ГАМК-В1-рецепторов происходит позже — только к концу 3-й недели. Пренатальный дефицит серотонина оказывает влияние на состояние тормозной ГАМК-ергической системы в ранний постнатальный период: имеют место задержка экспрессии ГАМК и ГАМК-А α 1-рецепторов нейронами ядра, нарушение формирования сети терминалей и синапсов, содержащих ГАМК, ГАМК-А α 1- и ГАМК-В1-рецепторы.

Итак, надо подчеркнуть, что нейроны комплекса Бетцингера имеют не только спинномозговые и медуллярные аксональные проекции, но и являются источником моносинаптического торможения как диафрагмальных мотонейронов, так и инспираторных нейронов вентролатеральной части ядра одиночного пути, а также нейронов позадидвойного ядра [6, 13, 15, 16]. Учитывая полученные данные, можно считать вероятным, что изменения в структуре тормозной системы комплекса Бетцингера в ранний постнатальный период, являющиеся следствием пренатального дефицита серотонина, могут приводить к нарушению респираторной функции, а также играть существенную роль в возникновении синдрома внезапной детской смерти.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-02167

ЛИТЕРАТУРА

1. Хожай Л. И., Отеллин В. А. Участие серотонина в механизмах становления двигательного ядра тройничного нерва // Морфология. 2012. Т. 142, вып. 5. С. 23–26.
2. 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.
3. Хожай Л. И., Шишко Т. Т., Отеллин В. А. Недостаточность серотонинергической системы в пренатальный период вызывает нарушение становления nucleus retroambiguus у крыс // Журн. эволюц. биохим. 2014. Т. 50, № 2. С. 162–165.
4. Alheid G. F., McCrimmon D. R. The chemical neuroanatomy of breathing // Respir. Physiol. Neurobiol. 2008. Vol. 16. P. 3–11.
5. Duffin J., Alphen J. Cross-correlation of augmenting expiratory neurons Bötzing complex in the cat // Exp. Brain Res. 1995. Vol. 103, № 2. P. 251–255.
6. Duffin J., Tian G. F., Peever J. H. Functional synaptic connections among respiratory neurons // Respir. Physiol. 2000. Vol. 122, № 2–3. P. 237–246.
7. Ezure K., Tanaka J., Saito Y. Activity of brainstem respiratory neurone just before the expiration-inspiration transition in the rat // J. Physiol. 2003. Vol. 547, № 2. P. 629–640.
8. Ezure K., Tanaka J., Saito Y. Brainstem and spinal projection of augmenting expiratory neurons in the rat // Neurosci. Res. 2003. Vol. 45, № 1. P. 41–51.
9. Fedorco L., Merrill E. G., Lipski J. Two descending medullary inspiratory pathways in phrenic motoneurons // Neurosci. Lett. 1984. Vol. 43. P. 74–77.
10. 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, № 2. P. 229–243.
11. Heck W. L., Basaraba A. M., Slusarczyk A., Schweitzer L. Early GABA-A receptor clustering during the development of the rostral nucleus of the solitary tract // J. Anat. 2003. Vol. 202, № 4. P. 387–396.

12. 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, № 3. P. 861–870.
13. Merrill E.G., Fedorko L. Monosynaptic inhibition of phrenic motoneurons: a long descending projection from Bötzing neurons // *J. Neurosci*. 1984. Vol. 4, № 9. P. 2350–2353.
14. Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 5th edn. Sydney: Academic Press, 2004.
15. Portillo F., Nunez-Abades P.A. Distribution of bulbospinal neurons supplying bilateral innervation to the phrenic nucleus in the rat // *Brain Res*. 1992. Vol. 583, № 1–2. P. 349–355.
16. Ramirez J.M. Respiratory rhythm generation in mammals: synaptic and membrane properties // *Respir. Physiol*. 1997. Vol. 110. P. 71–85.
17. 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. P. 2975–2984.
18. 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.
19. Thomas P., Mortensen M., Hosie A.M., Smart T.G. Dynamic mobility of functional GABA-A receptors at inhibitory synapses // *Nat. Neurosci*. 2005. Vol. 8, № 7. P. 889–897.
20. Wong-Riley M.T., Liu Q. Neurochemical development of brain stem nuclei involved in the control of respiration // *Respir. Physiol. Neurobiol*. 2005. Vol. 149, № 1–3. P. 83–98.
21. Yu S.Y., Wang G.M., Wang H. et al. Raphe pallidus modulates Bötzing complex-induced inhibition of the phrenic nerve in rats // *Eur. J. Neurosci*. 2011. Vol. 34, № 7. P. 1113–1120.

Поступила в редакцию 18.04.2016

L.I.Khozhaï¹, N.V.Ilyichova²

FORMATION OF GABA-ERGIC NEURAL NETWORK IN BÖTZINGER COMPLEX IN RATS DURING EARLY POSTNATAL PERIOD IN NORM AND IN PRENATAL DEFICIENCY OF ENDOGENOUS SEROTONIN

The dynamics of the distribution of GABAergic neurons and neurons expressing different types of GABA receptors (GABA_{Aα1} and GABA_{B1}) was studied in Bötzing complex (BötC) in the early postnatal period (the period of functional maturation of the respiratory system in mammals) in norm and prenatal reduction of serotonin content in Wistar rats. The brain was studied on postnatal Days 5, 9 and 20 in two groups of rat pups: control (n=9), born by intact females, and experimental (n=13), born from mothers that received parachlorophenylalanine, causing the depression of endogenous serotonin level. Immunocytochemical methods were used to detect the neurons producing GABA and expressing GABA_{Aα1} and GABA_{B1} receptors. It was shown that the maturation of the inhibitory GABAergic network in BötC occurred in the early postnatal period (by Day 9). Simultaneously with GABA, the expression of GABA_{Aα1} and GABA_{B1} receptors took place, however their maturation has the distinctive features. The formation of GABA_{Aα1} receptors occurred earlier (by Day 9) and coincided in time with the expression of GABA. The maturation of GABA_{B1} receptors happened later — only by the third week. Prenatal serotonin deficiency caused a delay in the expression of GABA and GABA_{Aα1} receptors by the neurons of BötC, as well as the disruption of the formation of a network of terminals and synapses containing GABA, GABA_{Aα1} and GABA_{B1} receptors.

Key words: *Bötzing complex, GABA, serotonin, GABA_{Aα1} and GABA_{B1} receptors, early postnatal period*

¹ Laboratory of Ontogenesis of the Nervous System, I.P.Pavlov RAS Institute of Physiology, St. Petersburg; ² Group of Non-Coding DNA, RAS Institute of Cytology, St. Petersburg