

УДК 611.018.8:612.72

ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЕЙ GAT₁ (ТРАНСПОРТЕРА ГАМК) В ВЕНТРАЛЬНОМ СУБЪЯДРЕ ЯДРА СОЛИТАРНОГО ТРАКТА У КРЫС ПРИ ПРЕНАТАЛЬНОМ ДЕФИЦИТЕ СЕРОТОНИНА

© 2019 г. Л. И. Хожай*

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, 199034 Россия

**E-mail: astarta0505@mail.ru*

Поступила в редакцию 14.06.2019 г.

После доработки 12.07.2019 г.

Принята к публикации 15.07.2019 г.

Уровень GAT₁ (транспортера ГАМК) изучен в вентральном субъядре ядра солитарного тракта (ЯСТ) крыс на разных сроках раннего постнатального периода развития в норме и при дефиците серотонина в пренатальный период. Показано, что начиная с раннего неонатального срока и до начала ювенильного (детского) возраста в вентральном субъядре в нейроне в отростках, терминалях и синаптических структурах происходит постепенное значительное увеличение уровня GAT₁. У животных, развивавшихся при дефиците серотонина, выявлено изменение уровней GAT₁ на разных сроках раннего постнатального периода. У подопытных животных во время первой и второй недели постнатального развития уровень GAT₁ значительно превышает контрольный, однако к концу третьей недели снижается и становится существенно ниже контрольного значения. Эти отклонения, вызванные дефицитом серотонина в пренатальный период, могут приводить к изменению трансмиссии ГАМК, что, в свою очередь, будет причиной дисбаланса тормозных и возбуждающих эффектов в респираторном ядре на ранних постнатальных сроках и, как следствие, быть основой для развития респираторных дисфункций.

Ключевые слова: респираторные ядра, серотонин, GAT₁ транспортер ГАМК, ранний постнатальный период

DOI: 10.1134/S0041377119110026

Вентральное субъядро располагается в каудальной части ядра солитарного тракта (ЯСТ), входит в состав дорсальной группы респираторных ядер и включается в состав бульбарного дыхательного центра (Bonham, McCrimmon, 1990). Нейроны, составляющие вентральное субъядро ЯСТ, являются инспираторными типа R α и R β , соответственно со снижающейся и повышающейся биоэлектрической активностью при растяжении легких и непосредственно участвующих в формировании паттерна дыхания (Castro et al., 1994). Регуляция функций субъядер ЯСТ осуществляется многочисленными нейромедиаторами (ГАМК, серотонином, глицином, глутаматом и др., а также нейропептидами) и соответствующим рецепторным звеном. Основным тормозным нейротрансмиттером в центральной нервной системе млекопитающих является ГАМК. У взрослых животных в ЯСТ ГАМКергические нейроны диффузно рассеяны и обнаруживаются на всей площади каудальной части ядра, а непосредственно в вентролатеральной части ЯСТ выявлены ГАМКергические терминали и синапсы (Chan, Sawchenko,

1998; Bailey et al., 2008; Austgen et al., 2009). Одним из основных транспортеров ГАМК считается GAT₁, который относится к Na⁺-зависимым нейротрансмиттерным белкам обратного захвата, локализованным на плазматической мембране нейронов и глии (Auggood et al., 1995; Bernstein, Quick, 1999). Известно, что как ГАМК, так и серотонин (5-hydroxytryptamine; 5-HT), через проекции нейронов каудальных серотонинергических ядер шва и вовлечение рецепторного звена (5-HT_{1A} и 5-HT_{1B} рецепторов), регулируют общий нейротрансмиттерный гомеостаз в этой области (Liu, Wong-Riley, 2000; Serrats et al., 2005). Изменение баланса этих биологически активных веществ в ядрах дыхательного центра может вызывать респираторную дисфункцию, приводя к апноэ и брадипноэ и т.д. (Kuwana et al., 2003). В настоящее время крайне мало известно о влиянии серотонина на становление элементов тормозной ГАМКергической сети и о механизмах контроля трансмиссии ГАМК в респираторных ядрах в период раннего постнатального развития. В связи с этим задача настоящей работы заключалась в исследовании уровней транспортного белка обратного захвата GAT₁ в вентральном субъядре на ранних постнатальных

Принятые сокращения: ГАМК – γ -аминомасляная кислота, ЦНС – центральная нервная система, ЯСТ – ядро солитарного тракта.

сроках в норме и при пренатальном дефиците серотонина.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Работа проведена на лабораторных крысах линии Wistar из питомника Института физиологии им. Павлова РАН (Санкт-Петербург).

Метод деплеции серотонина. Для снижения уровня эндогенного серотонина в эмбриональный период использовали метод ингибирования триптофангидроксилазы (фермента его синтеза) пара-хлорфенилаланином (пХФА) (Sigma, США). пХФА в дозе 400 мг/кг вводили внутривентриально самкам крыс на 9 сут беременности, т.е. в период формирования у плодов собственной серотонинергической системы, в результате происходило длительное (в течение 5–7 сут) снижение уровня эндогенного серотонина до 64% у матери и у плодов (Буткевич и др., 2005).

Гистологические и иммуногистохимические методы исследования. Головной мозг родившихся крысят извлекали, фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде на фосфатно-солевом буфере (рН 7.4), обезжировали, заливали в парафин по общепринятой методике и готовили серийные поперечные срезы продолговатого мозга толщиной 6–7 мкм на уровне брегмы от –12.00 до –12.48 мм (Paxinos, Watson, 1998). Затем срезы помещали на предметные стекла SuperFrost Plus Gold (Menzel-Glaser, Германия). Исследовали вентральное субъядро ЯСТ на 5-е ($n = 4$), 10-е ($n = 4$) и 20-е ($n = 4$) сут постнатального развития (П5, П10 и П20). В качестве контроля использовали животных соответствующих сроков развития, полученных от интактных самок ($n = 4$).

Общий морфологический анализ гистологических срезов проводили на цифровых изображениях серийных срезов, полученных при помощи светового микроскопа Leica DME (Leica, Германия) при увеличении объектива 100× и цифровой камеры Leica EC3 (Leica, Германия).

Для выявления на гистологических срезах в нейропиле GAT₁-иммунопозитивных отростков и синаптических структур использовали поликлональные кроличьи антитела (anti-GABA transporter 1; GAT₁) (AbCam, Великобритания) в разведении 1 : 200, при инкубации срезов в течение 16 ч при 4°C. В качестве вторичных реагентов для антител GAT₁ 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). Срезы заключали в синтетическую среду Permaunt (Termo, США).

Статистическая оценка оптической плотности продукта иммуногистохимической реакции. При проведении иммуногистохимических реакций все процедуры были стандартизированы и осуществлялись одновре-

менно для гистологических срезов мозга, полученных от контрольных и подопытных животных.

Оценку иммунореактивности производили с использованием системы анализа изображения, 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).

Оценивали оптическую плотность (D) продукта реакции в нейропиле в сети иммунопозитивных отростков, терминалей, а также в скоплениях мелких и крупных гранул. Последние, предположительно, считаются терминальными синаптическими структурами и их скоплениями (Guthmann et al., 1998). Для этого контуром выделяли участки сети иммунопозитивных отростков и скоплений гранул. Уровень содержания GAT₁ выражали в относительных единицах оптической плотности продукта иммунной реакции.

Определяли среднее значение D (отн. ед.) интенсивности окраски в иммунопозитивных отростках и гранулах при увеличении объектива 100×. Измерения проводили на 10 серийных срезах мозга, взятого от 3–4 животных каждой исследуемой группы. Вычисляли среднее арифметическое значение и ошибку среднего значения. Для анализа и сравнения результатов между разными группами животных использовали *t*-критерий Стьюдента и *oneway*ANOVA (Statistica 8.0, Statsoft Inc., USA) с достоверностью различий при $P < 0.05$.

Использованные реактивы: первичные кроличьи поликлональные антитела anti-GABA transporter 1; GAT₁ (AbCam, Великобритания); набор реактивов EnVision+System-HRP Labelled Polymer Anti-Rabbit (DakoCytomation, США); хромоген DAB+ (Dako, Дания); гематоксилин Майера (Bio-Optica, Италия); синтетическая среда для заключения гистологических срезов Permaunt (Termo, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У контрольных животных в вентральном субъядре ЯСТ в синаптических структурах уровень GAT₁ (значение D) в ходе развития постепенно увеличивается: от раннего постнатального срока П5 до П10 в 1.5 раза, от П10 до П20 в 3 раза (табл. 1). В результате в период от начала первой до конца третьей постнатальных недель в синаптических структурах уровень GAT₁ (значение D, которое здесь и далее рассматривается как показатель уровня содержания GAT₁) увеличивается в 4.4 раза (табл. 1).

В нейропиле присутствует сеть GAT₁-иммунопозитивных отростков, терминалей и гранул (рис. 1а). От раннего неонатального срока П5 до П10 в нейропиле в отростках и терминалях имеет место увеличение уровня GAT₁ (значения D) в 8 раз, а от П10 до П20 еще в 6.4 раза (табл. 1), т.е. в нейропиле в

Таблица 1. Изменение уровня GAT₁ (значения оптической плотности *D* продукта иммунной реакции в отн. ед.) в вентральном субъядре ЯСТ в ранний постнатальный период у крыс контрольной группы

Локализация	<i>D</i> , отн. ед.		
	сроки развития		
	П5	П10	П20
Синаптические структуры	0.049 ± 0.006	0.072 ± 0.008	0.213 ± 0.005
Нейропил (отростки клеток, терминали)	0.002 ± 0.0004	0.016 ± 0.003	0.102 ± 0.008

отростках и терминалях в исследуемый период уровень GAT₁ (значения *D*) значительно увеличиваются (почти в 50 раз) (табл. 1).

У животных, развивавшихся в условиях дефицита серотонина, в вентральном субъядре в синаптических структурах на разных сроках раннего постнатального периода имеет место колебание уровня GAT₁. Так, от П5 до П10 он увеличивается в 2.6 раза, а от П10 до П20 снижается в 1.6 раза (табл. 2), т.е. в первую и вторую недели уровень GAT₁ увеличивается, а к концу третьей недели снижается. В результате уровень GAT₁ к началу ювенильного возраста по сравнению с контролем увеличивается всего в 1.6 раза (табл. 2). В нейропиле на этом сроке развития присутствует сеть иммунореактивных отростков, часть из

которых имеют варикозные расширения, что может свидетельствовать об их незрелости (Guthmann et al., 1998). На поверхности клеточных мембран нейронов есть как одиночные крупные гранулы, так и их скопления (рис. 1б, *длинные стрелки*).

В нейропиле в отростках и терминалях, также, как и в синапсах, во время второй недели постнатального развития уровень GAT₁ значительно увеличивается (в 2.8 раза), а к концу третьей недели вновь снижается (также в 2.8 раза), т.е. во время неонатального периода и к началу ювенильного периода уровень GAT₁ практически одинаков (табл. 2).

Результаты исследования показали, что в вентральном субъядре ЯСТ дефицит серотонина в пренатальный период приводит к существенному повы-

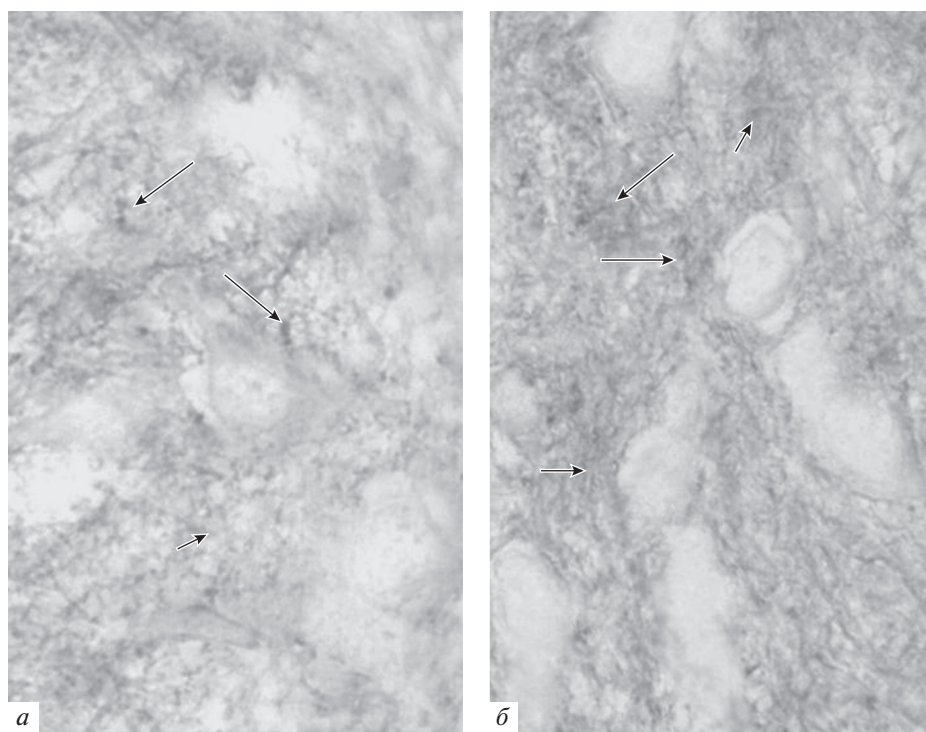


Рис. 1. Иммуногистохимическое выявление GAT₁ транспортера ГАМК в ядре солитарного тракта крысы (вентральное субъядро) на 5 сут постнатального развития в контроле (*а*) и после развития в условиях пренатального дефицита серотонина (*б*). *Длинные стрелки* показывают скопления иммунопозитивных синаптических структур, *короткая стрелка* — участок сети иммунопозитивных отростков и терминалей. Оптическая плотность продукта иммунной реакции у животных из экспериментальной группы (*б*) значительно выше, чем у контрольных животных (*а*). Об.: 100×.

Таблица 2. Изменение уровня GAT₁ (значения оптической плотности *D* продукта иммунной реакции в отн. ед.) в вентральном субъядре ЯСТ в ранний постнатальный период у крыс, развивавшихся в условиях дефицита серотонина

Локализация	<i>D</i> , отн. ед.		
	сроки развития		
	П5	П10	П20
Синаптические структуры	0.105 ± 0.006*	0.275 ± 0.008*	0.168 ± 0.005*
Нейропил (отростки клеток, терминали)	0.031 ± 0.002*	0.088 ± 0.007*	0.032 ± 0.004*

* Отличия от контрольных животных соответствующего возраста (табл. 1) достоверны при $P < 0.05$.

шению уровня GAT₁ на ранних постнатальных сроках по сравнению с таковым в контроле. Так, на П5 у подопытных крыс в синаптических структурах уровень GAT₁ в 2 раза выше (табл. 2; рис. 1а, б), а на П10 в 3.5 раза выше, чем у контрольных животных. Однако, у крыс из экспериментальной группы к концу третьей недели (к началу ювенильного возраста) уровень GAT₁ ниже в 1.3 раза по сравнению с таковым в контроле. В нейропиле в сети отростков на П5 у подопытных крыс уровень GAT₁ по сравнению с контрольным значением повышен в 15.5 раза, на П10 – в 5.5 раза, а на П20 ниже в 3.2 раза по сравнению с его значением в контроле (табл. 2).

ГАМК как основной тормозный нейротрансмиттер в мозге млекопитающих играет важную роль в регуляции возбудимости нейронов. При синаптической тормозной нейропередаче важным является обратный захват нейротрансмиттера из синаптической щели или межклеточного пространства, который осуществляется транспортерами, при этом эффективность нейропередачи определяется скоростью обратного захвата медиатора. Изменения этих процессов могут приводить к функциональным нарушениям ЦНС (Barakat, Bordey, 2002). Для ГАМК известны четыре класса транспортных белков: GAT₁, GAT₂, GAT₃ и GAT₄ (или BGT-1, betaine), из которых GAT₁ считается одним из основных транспортеров, задействованным в синаптической тормозной передаче (Gadea, Lopez-Colome, 2001).

Результаты настоящей работы показали, что у контрольных животных в вентральном субъядре ЯСТ в нейропиле в отростках, терминалях и синаптических структурах уровень GAT₁ от раннего неонатального срока и до начала ювенильного возраста постепенно значительно повышается. Проведенное ранее исследование динамики экспрессии ГАМК в вентральном субъядре в эти же сроки показало, что в течение второй и третьей недель постнатального развития в нейропиле происходит постепенное увеличение плотности сети иммунопозитивных терминалей и синаптических структур, что может свидетельствовать о повышении экспрессии ГАМК с увеличением постнатального возраста (Хожай, Ильичева, 2016). Сравнимые результаты были получены при исследовании формирования ГАМКергической сети во вку-

совых субъядрах, располагающихся в роstralной части ЯСТ (Heck et al., 2003).

Сопоставление этих наблюдений дает основание предполагать, что у контрольных животных на ранних постнатальных сроках вплоть до начала ювенильного возраста в вентральном субъядре ЯСТ существует координированная динамика увеличения экспрессии ГАМК и транспортера GAT₁, обеспечивающего поддержание постоянного уровня нейротрансмиттера в терминалях и синапсах.

Полученные данные показали, что у животных, развивавшихся при пренатальном дефиците серотонина, в вентральном субъядре ЯСТ на всех исследованных сроках имеет место изменение уровня GAT₁. На П5 и П10 в нейропиле в сети отростков и терминалей, а также синаптических структурах уровень GAT₁ значительно превышает таковой в контроле, а на П20 он существенно снижается.

Сведений о влиянии серотонина на структурную организацию и становление респираторных ядер, формирование и функции ГАМКергической системы в них, а также на систему транспортных белков в литературе известно крайне мало. Существуют данные о том, что недостаток серотонина в период развития может нарушать процесс миграции предшественников ГАМКергических интернейронов, приводить к задержке дифференцировки нейронов в респираторных ядрах и других формациях мозга, снижению уровня ГАМК, изменению формирования нейропиля и синаптогенеза (Хожай, Отеллин, 2012; Хожай, Шишко, 2013; Хожай и др., 2014).

Известно, что ГАМК может локализоваться не только в синапсе, но и во внеклеточном пространстве. Источником внеклеточной ГАМК может быть диффузия этого нейротрансмиттера из синаптической щели в межклеточное пространство, которая известна как процесс спilloвера нейротрансмиттера (Isaacson et al., 1993; Isaacson, 2000). Часть нейротрансмиттера, вышедшая за пределы синаптической щели, во-первых, будет повышать внеклеточную концентрацию ГАМК, во-вторых, находясь между синапсами, может активировать внесинаптические рецепторы (Isaacson et al., 1993; Isaacson, 2000). Вероятно, спilloвер можно рассматривать как процесс, стимулирующий активный обратный захват

нейротрансммиттера из внеклеточного пространства (Danbolt, 2001; Isaacson et al., 1993; Isaacson, 2000) и, следовательно, требующий увеличения синтеза транспортного белка. Подтверждением этого предположения могут быть данные, полученные при изучении синтеза поверхностных белков, показавших, что увеличение экспрессии поверхностного транспортера GAT_1 коррелирует с увеличением транспорта ГАМК (Bernstein, Quick, 1999).

Выявленное в данном исследовании значительное повышение уровня GAT_1 в вентральном субъядре ЯСТ у животных, развивавшихся при пренатальном дефиците серотонина, вероятно, можно объяснить наличием спилловера ГАМК, который может иметь место при изменении структуры синапсов, задержке процесса интернализации GAT_1 , нарушении экспрессии постсинаптических рецепторных белков. Изменения экспрессии транспортеров ГАМК были отмечены в ряде работ, показавших, что уровни GAT_1 могут изменяться в результате воздействия определенных повреждающих факторов: нарушения метаболических процессов (фосфорилирования), осмотического стресса, который может происходить как в случае высокой нейронной активности, так и при воздействии повреждающих факторов на мозг (гипоксии, травме) (Fuhrer et al., 2017; Isaacson et al., 1993; Kuwana et al., 2003). Более того, изменения экспрессии разных транспортеров ГАМК выявлены при болезни Альцгеймера. Было обнаружено существенное увеличение экспрессии $BGT-1$ (GAT_4) в зубчатой фасции, в полях С2 и С3 гиппокампа, и значительное уменьшение экспрессии GAT_1 в энторинальной коре (Fuhrer et al., 2017).

Результаты проведенного исследования показали, что у крыс, развивавшихся в условиях дефицита серотонина, к концу третьей недели постнатального развития в вентральном субъядре уровень GAT_1 существенно снижается по сравнению с таковым в контроле, что может быть связано с резким сокращением экспрессии самой ГАМК в этот период, не исключено, что имеет место сокращение синтеза рецепторных белков и нарушение синаптогенеза.

Наши наблюдения и факты, полученные другими авторами, показывают, что имеют место специфические изменения экспрессии транспортеров ГАМК в разных формациях мозга при воздействии различных неблагоприятных факторов, а также при нейродегенеративных заболеваниях, однако механизмы этих изменений неизвестны.

В заключение следует отметить, что у крыс в вентральном субъядре ЯСТ, в период раннего постнатального развития вплоть до начала ювенильного (детского) периода, происходит постепенное значительное увеличение уровня GAT_1 транспортера ГАМК, в этот период. Данные показали, что дефицит серотонина в пренатальный период приводит к изменению уровней GAT_1 в постнатальный период.

Эти отклонения будут вызывать изменение трансмиссии ГАМК, что, в свою очередь, будет приводить к дисбалансу тормозных и возбуждающих эффектов в дыхательном ядре на ранних постнатальных сроках, способствуя развитию респираторных дисфункций. Полученные результаты расширяют возможность понимания механизмов регуляции уровней GAT_1 , его высвобождения и интернализации при формировании респираторных дисфункций.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Содержание животных и все экспериментальные процедуры проводили в соответствии с соблюдением рекомендаций по этике работ с животными (Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes). Протоколы опытов были утверждены Комиссией по гуманному обращению с животными Института физиологии им. И.П. Павлова РАН.

Настоящая статья не содержит результатов каких-либо исследований с участием людей в качестве объектов исследований.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает благодарность Вере Ивановне Мировой (Лаборатория нейроэндокринологии Института физиологии им. И.П. Павлова РАН) за предоставленную возможность использовать компьютерное программное обеспечение для анализа оптической плотности продукта иммуногистохимической реакции.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках плановой темы (№ 0134-2014-0005,(65.1.)) Института физиологии им. И.П. Павлова РАН.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Буткевич И.П., Михайленко В.А., Хожай Л.И., Отеллин В.А. 2005. Влияние снижения синтеза серотонина и последующего стресса в эмбриогенезе на болевую чувствительность в препубертатном периоде развития крыс. Журн. эвол. биохим. и физиол. 41(2) : 168–175. (Butkevich I.P., Mikhailenko V.A., Khozhai L.I., Otellin V.A. 2005. Effects of decrease of serotonin synthesis and subsequent stress in embryogenesis on rat pain sensitivity during the prepuberty period of development. J. Evol. Biochem. Physiol. 41 : 211–220.)
- Хожай Л.И., Ильичева Н.В. 2016. Формирование ГАМКергической нейральной сети в комплексе Бетцингера у крыс в ранний постнатальный период в норме и при пренатальном дефиците эндогенного серотонина. Морфология. 150(4) : 44–49. (Khozhai L.I., Il'yicheva N.V. 2016. Formation of GABAergic neuronal networks in a complex of Bettsinger at

- rats in the early postnatal period in norm and at prenatal deficiency endogenous a serotonin. *Morphology*. 150(4) : 44–49.)
- Хожай Л.И., Отеллин В.А. 2012. Участие серотонина в механизмах становления двигательного ядра тройничного нерва. *Морфология*. 142(5) : 23–26. (Khozhai L.I., Otellin V.A. 2012. Participation serotonin in mechanisms of formation of an impellent nucleus of a trigeminal nerve. *Morphology*. 142(5) : 23–26.)
- Хожай Л.И., Шишко Т.Т. 2013. Изменение структурной организации бледного ядра шва при снижении содержания эндогенного серотонина в пренатальный период развития у крыс. *Морфология*. 143(2) : 75–78. (Khozhaj L.I., Shishko T.T. 2013. Change of the structural organisation of a raphe dorsal nucleus at maintenance decrease endogenous serotonin in prenatal the period of development in rats. *Morphology*. 143(2) : 75–78.)
- Хожай Л.И., Шишко Т.Т., Отеллин В.А. 2014. Недостаточность серотонинергической системы в пренатальный период вызывает нарушение становления nucleus retoroambiguus у крыс. *Журн. эвол. биохим. и физиол.* 50(2) : 162–165. (Khozhai L.I., Shishko T.T., Otellin V.A. 2014. Deficiency serotoninergic systems in prenatal the period causes formation infringement nucleus retroambiguus in rats. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 50(2) : 162–165.)
- Augood S.J., Herbison A.E., Emson P.C. 1995. Localization of GAT-1 GABA transporter mRNA in rat striatum: cellular coexpression with GAD, mRNA, GAD, immunoreactivity, and parvalbumin mRNA. *J. Neurosci.* 15 : 665–674.
- Austgen J.R., Fong A.Y., Foley C.M., Mueller P.J., Kline D.D., Heesch C.M., Hasser E.M. 2009. Expression of group I metabotropic glutamate receptors on phenotypically different cells within the nucleus of the solitary tract in the rat. *Neuroscience*. 159 : 701–716.
- Bailey T.W., Appleyard S.M., Jin Y.H., Andresen M.C. 2008. Organization and properties of GABAergic neurons in solitary tract nucleus (NTS). *J. Neurophysiol.* 99 : 1712–1722.
- Barakat L., Bordey A. 2002. GAT-1 and reversible GABA transport in Bergmann glia in slices. *J. Neurophysiol.* 88 : 1407–1419.
- Bernstein E.M., Quick M.W. 1999. Regulation of γ -aminobutyric acid (GABA) transporters by extracellular GABA. *J. Biol. Chem.* 274 : 889–895.
- Bonham A.C., McCrimmon D.F. 1990. Neurons in the discrete region of the nucleus tractus solitaries are required for the Hering-Breuer reflex in rat. *J. Physiol.* 427 : 261–280.
- Castro D., Lipski J., Kanihan R. 1994. Electrophysiological study of dorsal respiratory neurons in the medulla oblongata of the rat. *Brain Res.* 639 : 49–56.
- Chan R.K., Sawchenko P.E. 1998. Organization and transmitter specificity of medullary neurons activated by sustained hypertension implications for understanding baroreceptor reflex circuitry. *J. Neurosci.* 18 : 371–387.
- Danbolt N.C. 2001. Glutamate uptake. *Prog. Neurobiol.* 65 : 1–105.
- Gadea A., Lopez-Colome A.M. 2001. Glial transporters for glutamate, glycine, and GABA: II. GABA transporters. *J. Neurosci. Res.* 63 : 461–468.
- Guthmann A., Fritschy J.M., Ottersen O.P., Torp R., Herbert H. 1998. GABA, GABA transporters, GABA(A) receptor subunits, and GAD mRNAs in the rat parabrachial and Kölliker-Fuse nuclei. *J. Comp. Neurol.* 400 : 229–243.
- Heck W.L., Basaraba A.M., Slusarczyk A., Schweitzer L. 2003. Early GABA-A receptor clustering during the development of the rostral nucleus of the solitary tract. *J. Anat.* 202 : 387–396.
- Isaacson J.S. 2000. Spillover in the spotlight. *Curr. Biol.* 10 : 475–477.
- Isaacson J.S., Solis J.M., Nicoll R.A. 1993. Local and diffuse synaptic actions of GABA in the hippocampus. *Neuron*. 10 : 165–175.
- Fuhrer T.E., Palpagama T.H., Waldvogel H.J., Synek B.L., Turner C., Faull R.L., Kwakowsky A. 2017. Impaired expression of GABA transporters in the human Alzheimer's disease hippocampus, subiculum, entorhinal cortex and superior temporal gyrus. *Neuroscience*. 20 : 108–118.
- Liu Q., Wong-Riley M.T. 2000. Postnatal changes in the expressions of serotonin 1A, 1B, and 2A receptors in ten brain stem nuclei of the rat: implication for a sensitive period. *Neuroscience*. 165 : 61–78.
- Kuwana S., Okada Y., Sugawara Y., Tsunekawa N., Obata K. 2003. Disturbance of neural respiratory control in neonatal mice lacking GABA synthesizing enzyme 67-kDa isoform of glutamic acid decarboxylase. *Neuroscience*. 120 : 861–870.
- Paxinos G., Watson C. 1998. The rat brain in stereotaxic coordinates. 4th Edition. London: Academic Press. 420 p.
- Serrats J., Mengod G., Cortes R. 2005. Expression of serotonin 5-HT_{2C} receptors in GABAergic cells of the anterior raphe nuclei. *J. Chem. Neuroanat.* 29 : 83–91.

CHANGES OF GAT₁ (GABA TRANSPORTER) LEVELS IN THE VENTRAL SUBNUCLEUS OF THE *NUCLEUS TRACTUS SOLITARIUS* AS A RESULT OF PRENATAL SEROTONIN DEFICIENCY IN RATS

L. I. Khozhai*

Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 199034 Russia

*e-mail: astarta0505@mail.ru

The level of GAT₁, a GABA transporter, was studied in the ventral subnucleus of the *nucleus tractus solitarius* (nTS) of rats at different periods of the early postnatal period of development in normal conditions and with serotonin deficiency in the prenatal period. A gradual significant increase in the level of GAT₁, which starts from the early neo-

natal period to the beginning of juvenile (infancy) age, is observed in the ventral subnucleus: in the processes, terminals, and synaptic structures of the neuropil. In animals that developed with serotonin deficiency, changes in GAT₁ levels were detected at different stages of the early postnatal period. During the first and second week of postnatal development, the level of GAT₁ significantly exceeds the control value, but decreases and becomes significantly lower at the end of the third developmental week. These deflections caused by serotonin deficiency in the prenatal period can lead to a change in the GABA transmission, which in turn cause an imbalance of inhibitory and excitatory effects in the respiratory subnucleus in the early postnatal period and, as a result, conduct respiratory dysfunctions.

Keywords: respiratory subnucleus, serotonin, GABA transporter 1, early postnatal period