

Н. В. РАДЧЕНКО¹, Л. М. ШАПОВАЛ², Т. Л. ДАВИДОВСЬКА¹,
Л. Г. СТЕПАНЕНКО², О. В. ДМИТРЕНКО², В. Ф. САГАЧ²

ОСОБЛИВОСТІ ГАМК-ЕРГІЧНОГО КОНТРОЛЮ ФУНКЦІЇ КРОВООБІГУ НЕЙРОНАМИ ДОВГАСТОГО МОЗКУ ЩУРІВ

Надійшла 10.06.13

У гострих експериментах на наркотизованих уретаном щурах досліджували особливості участі гамма-аміномасляної кислоти (ГАМК) у медулярному контролі функції кровообігу щурів. Мікроін'єкції ГАМК (10^{-10} або 10^{-8} М) у медулярні ядра (парамедіанне і латеральне ретикулярні ядра – *PMn* та *LRN* відповідно, обопільне ядро – *AMB*) супроводжувалися розвитком гіпо- або гіпертензивних реакцій, що носили дозозалежний характер. Знайдені певні відмінності в структурі викликаних ін'єкціями ГАМК гемодинамічних реакцій. Так, у розвиток гіпотензивної реакції, зумовленої введенням ГАМК у *PMn*, серцевий і судинний компоненти були залучені приблизно в рівній мірі (при значному гальмуванні хронотропної функції серця). В основі гіпотензивної реакції на введення ГАМК у *LRN* лежав переважно судинний компонент, а серцевий компонент був менш вираженим. При введенні ГАМК в *AMB* спостерігалось значне зниження рівня діастолічного артеріального тиску і частоти серцевих скорочень. Що ж до ГАМК-індукованих гіпертензивних реакцій за участю нейронів *PMn* і *LRN*, то в їх розвитку переважав судинний компонент, а вплив на хронотропну функцію серця був менш вираженим. Ін'єкції конкурентного антагоніста ГАМК_A-рецепторів бікукуліну (10^{-7} М) у медулярні ядра, що досліджувалися, супроводжувалися підвищенням рівня систолічного і діастолічного артеріального тиску, а також збільшенням частоти серцевих скорочень, тобто в реалізації гіпотензивних ефектів ГАМК задіяні чутливі до бікукуліну ГАМК_A-рецептори. Після пригнічення активності нейронної NO-синтази ін'єкції ГАМК у медулярні ядра не спричиняли розвитку гіпотензивних реакцій, а ГАМК-індуковані гіпертензивні реакції послаблювалися, що свідчить про можливість взаємодії ГАМК із оксидом азоту в нервовому контролі діяльності серцево-судинної системи. Виявлено також, що ефекти ін'єкцій в медулярні ядра ГАМК залежать від активності Na⁺, K⁺-АТФази, ензиму плазматичної мембрани кардіоваскулярних нейронів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ГАМК, медулярний кардіоваскулярний контроль, оксид азоту, Na⁺, K⁺-АТФаза.

ВСТУП

Загальновідомо, що гамма-аміномасляна кислота (ГАМК) є головним гальмівним нейромедіатором у ЦНС, широко представленим у різних структурах головного мозку [1, 2]. Незважаючи на те, що істотна участь ГАМК у регуляції діяльності серцево-судинної системи доведена досить переконливо, дослідження фізіологічних, біохімічних та фармакологічних аспектів ГАМК-ергічної передачі інтен-

сивно продовжуються. При вивченні ролі ГАМК у медулярному контролі функції кровообігу увага дослідників значною мірою була сконцентрована на вентролатеральному відділі довгастого мозку, здебільшого його роstralній частині (*RVLm*). Зокрема, ГАМК-ергічні нейрони і специфічні ГАМК_A-рецептори, залучені в тонічний гальмівний контроль системи кровообігу, виявлені в *RVLm* кішки [3], кролика [4] і щурів [5–7]. У щурів досліджувалась ультраструктурна організація ГАМК-синтезуючих нейронів *RVLm* [8, 9]. Відомості про роль ГАМК у контролі функції кровообігу нейронами дорсомедіального відділу довгастого мозку є значно обмеженими. Є вказівки на те, що ін'єкції ГАМК у медулярні ядра кішки супроводжуються зниженням

¹ Інститут високих технологій Київського національного університету ім. Тараса Шевченка (Україна).

² Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ (Україна).
Ел. пошта: radchenko-n@ukr.net (Н. В. Радченко);
shapoval@biph.kiev.ua (Л. М. Шаповал).

системного артеріального тиску (АТ) внаслідок пригнічення симпатичної активності в нирковому нерві [10]. У щурів роль ГАМК у контролі функції кровообігу нейронами цього відділу мало досліджена.

На сьогодні безперечним фактом є залучення системи оксиду азоту (NO) в регуляцію функції кровообігу нейронами довгастого мозку, причому даний агент діє як гальмівний медіатор [11–17]. У зв'язку з цим логічним є припущення про можливість взаємодії ГАМК і NO в нервовому контролі функції кровообігу, що здійснюється медулярними нейронами. Про можливість взаємодії двох згаданих нейромедіаторів свідчать дані щодо опосередкованого вивільнення ГАМК розвитку гіпертензії і брадикардії внаслідок надмірної експресії ендотеліальної NO-синтази (NOS) у *RVLM* [18]. На жаль, більш безпосередні дані щодо взаємодії ГАМК і NO в реалізації нервового контролю функції кровообігу медулярними нейронами практично відсутні.

Відомо, що фізіологічна дія ГАМК опосередкована рецепторами трьох типів – іонотропними (ГАМК_A і ГАМК_C) і метаботропними (ГАМК_B). В основі класифікації рецепторів ГАМК лежить їх спорідненість до селективних лігандів. Рецептори, які мають спорідненість до бікукуліну, були віднесені до класу А, а ті, що мають спорідненість до баклофену, – до класу В. Відомо, що ГАМК_A-рецептори функціонально зв'язані з потенціалкеруваними хлорними каналами. ГАМК_B-рецептори є метаботропними трансмембранними рецепторами, які діють через G-білки та функціонально зв'язані з потенціалкеруваними кальцієвими каналами пресинаптичних мембран; крім того, дані рецептори модулюють вивільнення катехоламінів [19]. ГАМК_C-рецептори відносять до лігандзалежних іонних каналів, які забезпечують передачу за допомогою транспорту іонів K⁺, Na⁺, Ca²⁺ та Cl⁻ через мембрану [20]; активність цих рецепторів регулюється різними нейротрансмітерами, такими як ацетилхолін, гліцин, серотонін або ГАМК.

Основним ферментом зовнішньої мембрани клітини, котрий значною мірою відповідає за асиметричний розподіл іонів Na⁺ і K⁺ з обох боків плазматичних мембран клітин практично усіх типів, вважають Na⁺,K⁺-АТФазу. Вона опосередковує транспорт іонів через плазматичну мембрану проти градієнтів їх концентрацій, забезпечуючи процес енергією за допомогою гідролізу АТФ [21, 22]. По суті, Na⁺, K⁺-АТФаза – це інтегральний трансмембранний білок, який вбудований у зовнішню мембра-

ну клітини, із центрами зв'язування для Na⁺ і K⁺, а також з активним центром зв'язування та гідролізу АТФ. Отримані дані про те, що α₂-ізоформа Na⁺, K⁺-АТФази відіграє ключову роль у підтриманні гомеостазу іонів Cl⁻ у респіраторних нейронах [23]. Ця обставина дає підстави вважати, що ГАМК здатна впливати на активність Na⁺, K⁺-АТФази через ГАМК_A-рецептори, функціонально зв'язані з потенціалкеруваними хлорними каналами. Проте можливість взаємодії ГАМК із вказаним мембранним ферментом у кардіоваскулярних нейронах довгастого мозку досі не визначалася.

Мета даної роботи полягала у визначенні можливих механізмів залучення ГАМК у нервовий контроль функції кровообігу щурів (використовуючи мукроїн'екції цього трансмітера в медулярні кардіоваскулярні ядра), а також у встановленні можливості й характеру взаємодії ГАМК із NO і Na⁺, K⁺-АТФазою в реалізації нервового контролю функції кровообігу.

МЕТОДИКА

Гострі експерименти були проведені на дорослих самцях щурів лінії Вістар (маса 290–350 г), наркотизованих уретаном (1700 мг/кг маси тварини, внутрішньоочеревино). У сонну артерію вводили канюлю для вимірювання АТ (мм рт. ст.); використовувалася тензодатчик установки для вивчення гемодинаміки („Мікромед”, Угорщина). Аналізували систолічні та діастолічні значення тиску (САТ і ДАТ відповідно). Частоту серцевих скорочень (ЧСС, хв⁻¹) визначали за пульсовими коливаннями АТ. Довгастий мозок відкривали після фіксування голови щура в стереотаксичному приладі, модифікованому для роботи на дрібних лабораторних тваринах. Стереотаксичні координати досліджуваних ядер довгастого мозку (обопільного ядра – *AMB*, парамедіанного ретикулярного ядра – *PMn* і латерального ретикулярного ядра – *LRN*) визначали за атласом [24]. У місця розташування популяцій нейронів досліджуваних медулярних ядер з використанням мікроін'екцій (об'єм 100 нл) вводили наступні фармакологічні агенти: ГАМК (10⁻⁸ або 10⁻¹⁰ М), конкурентний антагоніст ГАМК_A-рецепторів бікукулін (10⁻⁷ М), специфічний блокатор Na⁺, K⁺-АТФази оубаїн (10⁻⁵ М). Специфічний антагоніст нейронної NO-синтази (nNOS) 7-нітроіндазол вводили внутрішньоочеревино із розрахунку 30 мг/кг маси тіла.

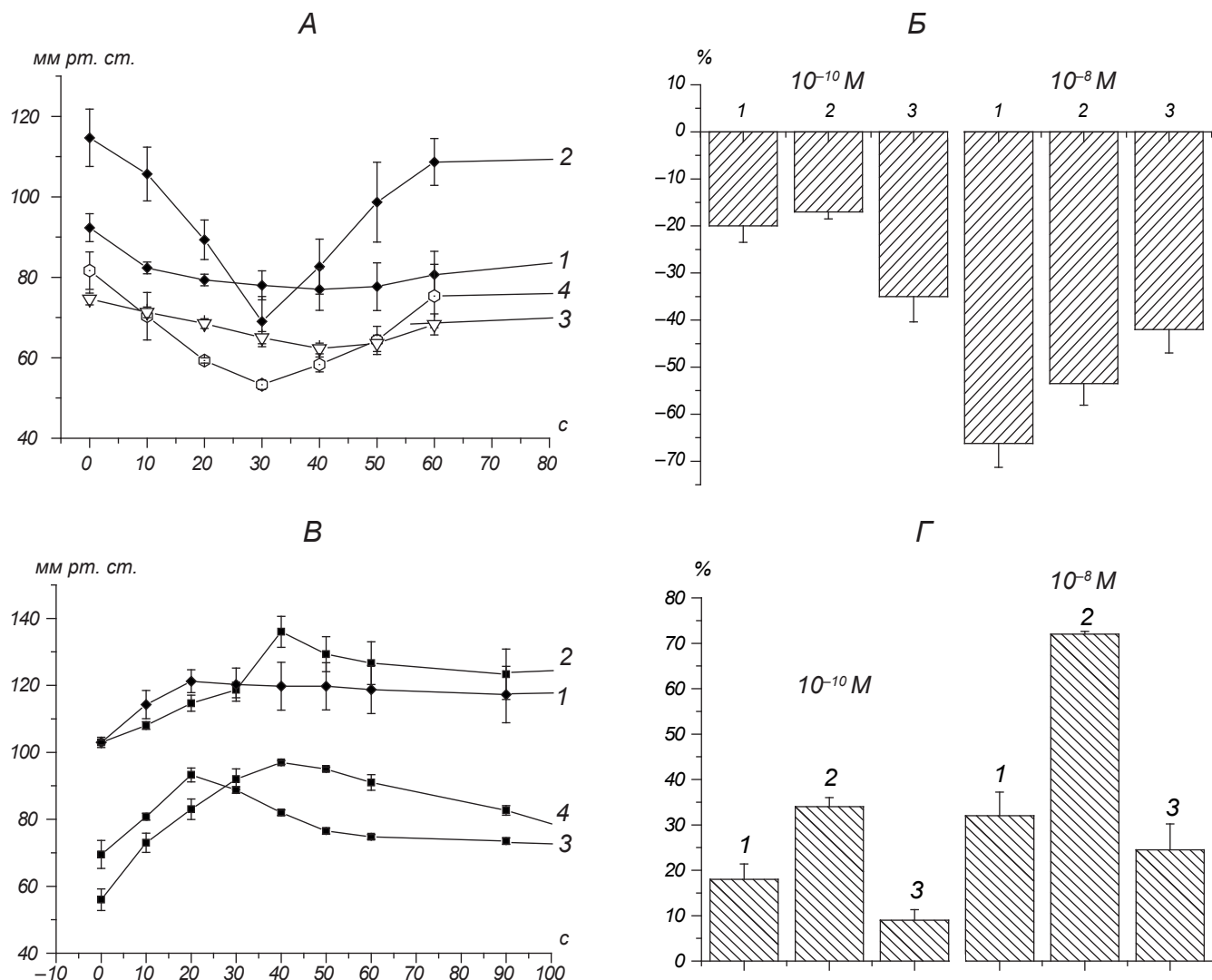
Статистичний аналіз отриманих числових даних здійснювали з використанням критерію Ст'юдента (із застосуванням стандартного комп'ютерного забезпечення "Microsoft Excel" та „Origin 7.0"). Як статистично значущі розглядали міжгрупові відмінності з $P < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Вплив ін'єкцій ГАМК у медулярні кардіоваскулярні ядра щурів на показники гемодинаміки. Ін'єкції ГАМК у медулярні ядра, залучені в систему нерво-

вого кардіоваскулярного контролю, в більшості випадків супроводжувалися розвитком гіпотензивних реакцій, які носили дозозалежний характер.

Введення розчину ГАМК (10^{-10} М) у парамедіанне ядро (PMn) викликало зниження САТ у середньому на 20 % ($P < 0.05$) – від 92.3 ± 3.4 до 77.0 ± 5.1 мм рт. ст. Значення ДАТ знижувалися при цьому на 17, а ЧСС – на 35 % ($P < 0.05$) – від 345.3 ± 7.4 до 256.0 ± 8.7 хв $^{-1}$. Максимальне зниження САТ спостерігалося приблизно через 40 с після мікроін'єкцій, а його базовий рівень відновлювався в середньому через 60 с після максимуму реакції. Відмічалось також зниження частоти дихання (ЧД) у серед-



Р и с. 1. Вплив мікроін'єкцій ГАМК у парамедіанне ретикулярне ядро (PMn) щурів на гемодинамічні показники: гіпотензивні (А, Б) та гіпертензивні (В, Г) реакції.

А, В – динаміка систолічного (1, 2) і діастолічного (3, 4) тиску при введеннях ГАМК у концентраціях 10^{-10} і 10^{-8} М відповідно. По осі абсцис – час, с; по осі ординат – значення артеріального тиску, мм рт. ст. Б, Г – нормовані усереднені значення максимальних змін систолічного (1) та діастолічного (2) артеріального тиску і частоти серцевих скорочень (3) після ін'єкцій ГАМК у вказаних концентраціях (позначені вгорі, М).

ньому на 15.4 % ($P < 0.05$) – від 75.0 ± 2.9 до 65.0 ± 2.9 хв⁻¹. Ін'єкції ГАМК у концентрації 10^{-8} М у *PMn* супроводжувалися зниженням САТ у середньому на 66.6 % ($P < 0.05$), а ДАТ падав у середньому на 53.5 %. Максимальне зниження АТ у цьому разі спостерігалось приблизно через 30 с після введення ГАМК, а реакція тривала в середньому 60 с. ЧСС зменшувалась у середньому на 42 % ($P < 0.05$) – від 274.0 ± 5.03 до 193.3 ± 8.8 хв⁻¹. При цьому ЧД також зменшувалась на 44.4 % ($P < 0.05$) – від 52.0 ± 2.3 до 36.0 ± 23 хв⁻¹ (рис. 1).

Ін'єкції ГАМК (10^{-10} М) у *LRN* викликали досить подібні гемодинамічні реакції. Спостерігалось зниження САТ у середньому на 17 % ($P < 0.05$) – від 114.0 ± 3.2 до 97.7 ± 5.5 мм рт. ст. Величина ДАТ знижувалась на 29.3 % ($P < 0.05$), ЧСС – на 22 %

($P < 0.05$) – від 356.7 ± 12.0 до 293.3 ± 14.5 хв⁻¹, а ЧД – на 40.4 % ($P < 0.05$) – від 65 ± 2.9 до 46.3 ± 6 хв⁻¹. Уведення ГАМК у вищій концентрації (10^{-8} М) у згадане ядро викликало зниження рівня САТ на 39 % ($P < 0.05$). ДАТ знижувався в середньому на 45.6 % ($P < 0.05$). Максимальне зниження АТ при даній концентрації ГАМК спостерігалось приблизно через 10 с після ін'єкції, а реакції тривали в середньому 60 с. Середнє значення ЧСС зменшувалося від 332.5 ± 13.7 до 257.75 ± 5.8 хв⁻¹, що становило 29 % ($P < 0.05$). Паралельно зменшувалась ЧД – у середньому від 60.0 ± 4.08 до 40.0 ± 1.08 хв⁻¹, тобто на 50 % ($P < 0.05$; рис. 2).

Як показав аналіз гіпотензивних реакцій, викликаних ін'єкціями ГАМК (10^{-8} М) в *AMB*, САТ у цьому разі в середньому знижувався від 122.3 ± 1.3 до

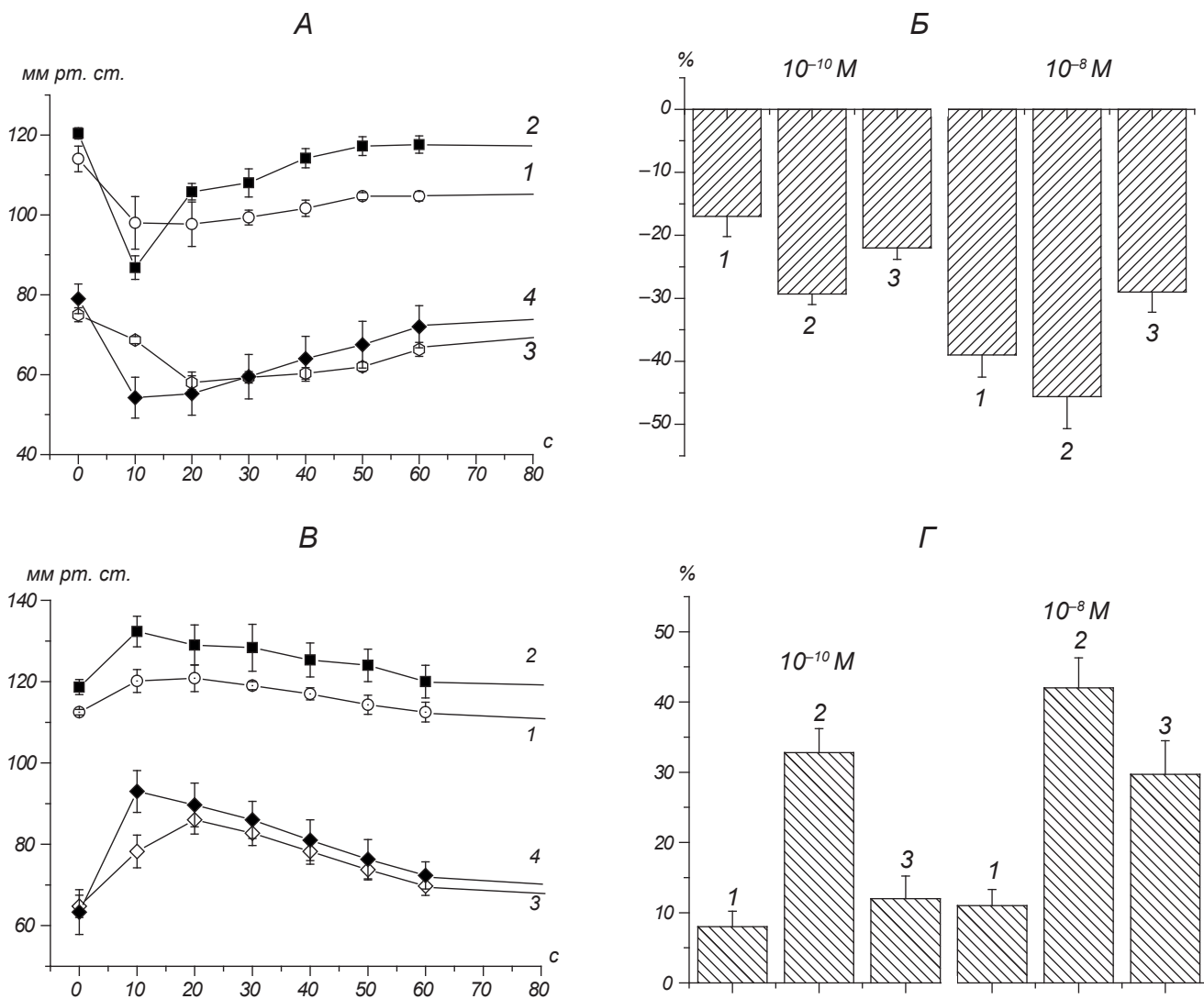


Рис. 2. Вплив мікроін'єкцій ГАМК у латеральне ретикулярне ядро (*LRN*) щурів на гемодинамічні показники. Позначення аналогічні таким на рис. 1.

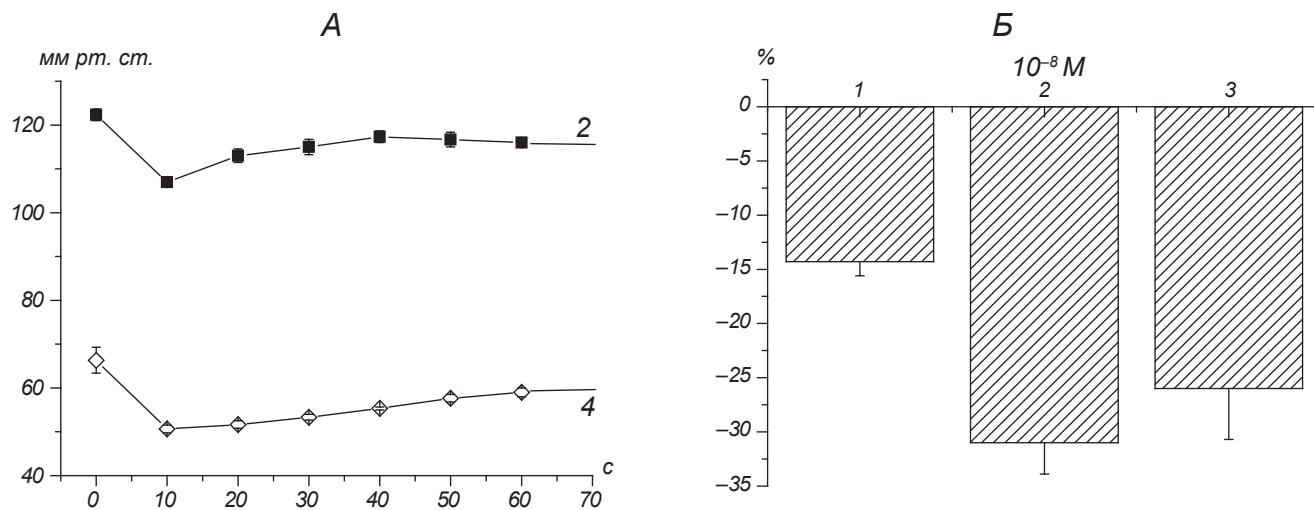


Рис. 3. Вплив мікроін'єкцій ГАМК (10^{-8} М) в обопільне ядро щурів (АМВ) на системний кров'яний тиск. Позначення аналогічні таким на рис. 1 та 2.

107.0 ± 1 мм рт. ст. ($P < 0.05$), що складало 14 %. ДАТ падав у середньому на 31 %. Максимальна гемодинамічна відповідь після ін'єкцій у дане ядро спостерігалася через 10 с після введення ГАМК, а реакції тривали в середньому 50 с. ЧСС у цих умовах зменшувалася від 360.0 ± 5.7 до 285.7 ± 3.4 хв⁻¹, тобто на 26 % ($P < 0.05$), а ЧД зменшувалася на 21 % – від 66.7 ± 3.3 до 54.7 ± 2.9 хв⁻¹ ($P < 0.05$; рис. 3). Гіпотензивні реакції, викликані ін'єкціями ГАМК у меншій концентрації (10^{-10} М) в АМВ, були статистично невірогідними.

Звертає на себе увагу те, що у щурів введення ГАМК досить часто (у 30–40 % випадків) супроводжувалося не гіпо-, а гіпертензивними реакціями, причому вони також носили дозозалежний характер. Гіпертензивні відповіді на введення 10^{-10} М ГАМК у РМп виглядали як підвищення рівня САТ на 18 % ($P < 0.05$) – від 103.0 ± 0.7 до 121.2 ± 3.4 мм рт. ст., а ДАТ – на 34 % ($P < 0.05$). При цьому також спостерігалася збільшення ЧСС на 9 % – від 323.3 ± 8.3 до 352.7 ± 9.9 хв⁻¹ ($P < 0.05$). ЧД збільшувалася на 16.7 % – від 60.0 ± 5.7 до 77.0 ± 3.3 хв⁻¹ ($P < 0.05$). Ін'єкції ГАМК у більшій концентрації (10^{-8} М) у РМп викликали в цій частині експериментів підвищення САТ у середньому на 32 % ($P < 0.05$) – від 103.0 ± 1.5 до 136.0 ± 4.6 мм рт. ст., а ДАТ зростав на 72 % ($P < 0.05$). Максимальне підвищення САТ відмічалася через 40 с після введення ГАМК. ЧСС паралельно збільшувалася в середньому на 24.5 % – від 266.7 ± 8.8 до 332 ± 16.6 хв⁻¹ ($P < 0.05$), а ЧД – на 23 % – від 68.3 ± 1.6 до 84.0 ± 3.6 хв⁻¹ ($P < 0.05$; рис. 1).

Ін'єкції 10^{-10} М ГАМК у LRN супроводжувалися

в аналогічних випадках збільшенням САТ на 8 % – від 112.5 ± 0.7 до 120.8 ± 3.3 мм рт. ст. ($P < 0.05$); ДАТ при цьому зростав на 32.8 %. ЧСС підіймалася в середньому на 12 % – від 320 ± 15.9 до 358 ± 10.4 хв⁻¹ ($P < 0.05$), а ЧД – на 23 % – від 65.0 ± 5.0 до 80.0 ± 3.6 хв⁻¹ ($P < 0.05$). Основу гіпертензивної реакції на ін'єкції 10^{-8} М ГАМК у LRN складало збільшення ДАТ; зазначений показник зростав на 42 % ($P < 0.05$). ЧСС у таких ситуаціях збільшувалася на 29.7 % – від 346.7 ± 8.8 до 450.0 ± 7.8 хв⁻¹ ($P < 0.05$), а підвищення САТ було менш вираженим (всього на 11 %, від 118.7 ± 1.9 до 129.0 ± 4.9 мм рт. ст., $P < 0.05$). ЧД при цьому значно збільшувалася (на 44.5 %, від 60.0 ± 5.7 до 86.7 ± 3.3 хв⁻¹, $P < 0.05$; рис. 2). Після введення ГАМК у АМВ гіпертензивні реакції не спостерігалися.

Таким чином, у щурів із нормальним АТ введення ГАМК у зони розташування кардіоваскулярних нейронів довгастого мозку супроводжується розвитком і гіпо-, і гіпертензивних реакцій, які мають дозозалежний характер. Величини АТ, як відомо, характеризуються двома значеннями – систолічним і діастолічним. Обидва показника важливі, але зміни в них говорять про різні речі. Величини САТ відповідають максимальному тиску в артеріях у момент, коли серце знаходиться в систолі, тобто скорочується і виштовхує кров в аорту. Тому величина САТ прямо залежить від частоти і сили серцевих скорочень, і тому цей параметр іноді називають «серцевим». Величини ж ДАТ вказують на мінімальний тиск в артеріях під час діастолі, в момент розслаблення серцевого м'яза. Показники ДАТ залежать в основному від опору периферичних артерій. Отри-

мані нами дані свідчать про наявність деяких відмінностей у структурі викликаних мікроін'єкціями ГАМК гемодинамічних реакцій і про залежність цих реакцій від місця введення. Так, у разі введення ГАМК у *PMn* (в обох концентраціях – 10^{-10} і 10^{-8} М) серцевий і судинний компоненти були залучені в розвиток гіпотензивної гемодинамічної реакції приблизно в рівній мірі, причому при значному гальмуванні хронотропної функції серця. В основі ж гіпотензивної реакції на введення ГАМК у *LRN* лежить переважно судинний компонент, а серцевий компонент є менш вираженим. У разі введення 10^{-8} М ГАМК в *AMB* спостерігалось значне зниження рівня ДАТ і ЧСС, тобто ефект ГАМК опосередковувався переважно зменшенням опору периферичних судин і пригніченням хронотропної функції серця. Що ж до ГАМК-індукованих гіпертензивних реакцій в умовах її введення в *PMn* і *LRN*, то в цих випадках переважав судинний компонент реакції при менш вираженому підвищенні хронотропної функції серця.

Вплив унілатеральних ін'єкцій бікукуліну в медулярні ядра на гемодинамічні показники. У зв'язку з тим, що одним із механізмів дії ГАМК у ЦНС є активація ГАМК_A-рецепторів, ми провели аналіз внеску цього процесу в реалізацію гемодинамічних ефектів ГАМК при дії останньої на нейрони довгастого мозку шурів. Як відомо, конкурентним інгібітором ГАМК_A-рецепторів у ЦНС є бікукулін, котрий зв'язується з місцем приєднання ГАМК до рецептора і тим самим блокує відповідну синаптичну передачу через пригнічення хлорних трансмембранних струмів. Активація чутливих до бікукуліну постсинаптичних ГАМК_A-рецепторів звичайно призводить до гіперполяризації клітинних мембран і гальмування збуджувальних ефектів, пов'язаних з деполіризацією мембрани [25]. ГАМК-індуковане гальмування низхідних симпатических впливів від нейронів довгастого мозку до серця і судин звичайно супроводжується зниженням рівня САТ [3, 9, 10]. Отже, пригнічення функції ГАМК_A-рецепторів повинно супроводжуватися посиленням збуджувальних процесів. Результати проведеного нами дослідження показали, що саме цей ефект і спостерігається після пригнічення ГАМК_A-рецепторів за допомогою бікукуліну. Так, після ін'єкцій 10^{-7} М бікукуліну в *PMn* САТ збільшувався в середньому від 90.3 ± 5.6 до 118.0 ± 4.3 мм рт. ст., що становить 24 % ($P < 0.05$), а рівень ДАТ зростав на 57 % ($P < 0.05$). Максимальне збільшення САТ спостерігалось приблизно через 20 с після ін'єкції

ГАМК. ЧСС при цьому збільшувалася в середньому на 16 % (від 245.3 ± 11.6 до 283.3 ± 14.0 хв⁻¹; $P < 0.05$), а ЧД зростала на 19 % (від 60 ± 2.3 до 71.3 ± 0.7 хв⁻¹; рис. 4).

Аналогічним чином, ін'єкції розчину бікукуліну (10^{-7} М) у *LRN* супроводжувалися зростанням САТ і ДАТ у середньому на 26 і 73 % відповідно ($P < 0.05$). ЧСС при цьому збільшувалася в середньому на 17 % – від 276 ± 9.2 до 319.3 ± 4.6 хв⁻¹ ($P < 0.05$), а ЧД зростала на 27 % (рис. 4).

Після введення бікукуліну (10^{-7} М) в *AMB* рівні САТ і ДАТ збільшувалися на 19 і 31 % відповідно ($P < 0.05$). ЧСС і ЧД зростали на 17 (від 298.7 ± 7.3 до 348.7 ± 8.2 хв⁻¹) і 32 (від 50 ± 1.2 до 66 ± 1.2 хв⁻¹) % відповідно (рис. 4).

Таким чином, отримані дані свідчать про те, що гальмівні кардіоваскулярні ефекти після ін'єкцій ГАМК у структури довгастого мозку шурів значною мірою реалізуються через чутливі до бікукуліну ГАМК_A-рецептори на мембранах нейронів певних „гемодинамічних” медулярних ядер. Ці результати узгоджуються із отриманими раніше даними про участь ГАМК_A-рецепторів у медулярному нервовому контролі функції кровообігу у кішки [9].

Ефекти ГАМК в умовах пригнічення активності nNOS. Зважаючи на те, що в межах довгастого мозку, крім ГАМК, локалізовані також NO-синтезуючі нейрони [11–17], залучені в гальмівний нервовий контроль функції кровообігу, зрозумілим є питання про вірогідність взаємодії цих двох гальмівних медіаторів у регуляції діяльності серцево-судинної системи та про характер такої взаємодії, якщо вона існує. Очевидно, що продукція NO і вивільнення даного агента в медулярних нейронних мережах залежать від активності відповідних ферментів. Загальноприйнятою концепцією є наступна: синтез NO у фізіологічних умовах відбувається переважно через NO-синтазний шлях метаболізму амінокислоти L-аргініну. В нормальних умовах nNOS вважають найбільш потужним ферментом, який забезпечує аеробний синтез NO. Відповідно, пригнічення активності цього ферменту повинно супроводжуватися послабленням ефектів ін'єкцій L-аргініну в медулярні нервові структури [15]. Ефективним специфічним антагоністом nNOS є 7-нітроіндазол, який цілком блокує активність nNOS через 30 хв після його введення.

На сьогоднішній день питання щодо залежності ефектів ГАМК від рівня продукції NO-синтезуючими цей газотрансмітер нейронами залишається відкритим. Вирішення даної проблеми

виглядає вкрай важливим, оскільки це стосується можливостей розробки методів корекції низки патологічних станів мозку, пов'язаних із розбалансуванням опосередкованої ГАМК NO-залежної регуляції судинного тонуусу.

У наших експериментах ми оцінювали ефек-

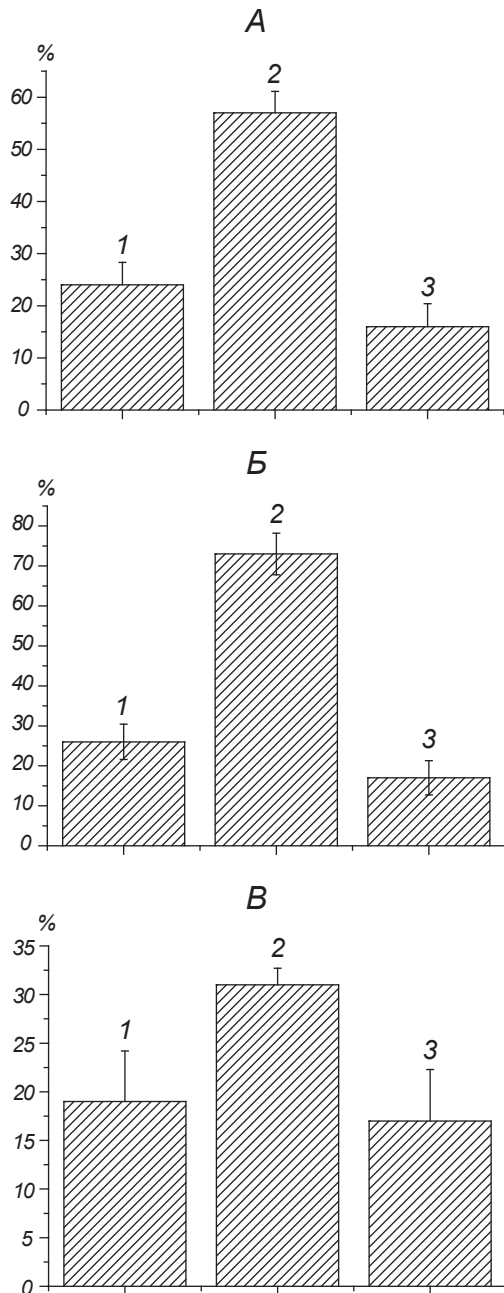


Рис. 4. Нормовані зміни гемодинамічних показників (%) після ін'єкцій бікукуліну (10^{-7} M) у парамедіанне ретикулярне ядро – *PMn* (A), латеральне ретикулярне ядро – *LRN* (B) та обопільне ядро – *AMB* (B).

1 – систолічний, 2 – діастолічний артеріальний тиск; 3 – частота серцевих скорочень. За 100 % прийняті величини відповідних показників до ін'єкцій бікукуліну.

ти ін'єкцій ГАМК у досліджувані медулярні ядра в умовах пригнічення активності nNOS. Як з'ясувалося, після попереднього пригнічення функціонування даного ензиму ін'єкції 10^{-8} M ГАМК у згадані вище медулярні ядра практично не супроводжувалися розвитком гіпотензивних реакцій. Це дає підстави вважати, що NO є істотно залученим у реалізацію симпатогальмівної дії ГАМК у довгастому мозку. Що ж до гіпертензивних реакцій, то після введення ГАМК у вказаних умовах у *PMn*, *LRN* і *AMB* рівень САТ підвищувався в середньому на 14, 25 і 44 % відповідно ($P < 0.05$). Якщо порівняти інтенсивність змін САТ після ін'єкцій ГАМК у досліджувані медулярні ядра в разі пригнічення активності nNOS із відповідними значеннями в контролі, то виявляється, що зменшення інтенсивності продукції NO досить помітно впливає на гіпертензивні ефекти ГАМК. У разі введення у *PMn* вони ставали слабкішими (14 проти 32 % у контролі); після ін'єкцій у *LRN* реакції посилювалися (25 проти 11 % у контролі), а після введення в *AMB* спостерігалось значне підвищення САТ, чого в контролі не відмічалось (рис. 5).

Отже, отримані нами дані свідчать про те, що взаємодія ГАМК і NO в нервовому контролі функції кровообігу є досить істотною. Складається враження, що обидва вказані нейромедіатори в реалізації гальмівного контролю судинного тонуусу і серцевої діяльності діють як синергісти.

Ефекти мікроін'єкцій ГАМК в умовах пригнічення активності Na^+, K^+ -АТФази. Специфічним інгібітором Na^+, K^+ -АТФази традиційно вважається оубаїн [22, 26, 27, 32, 33]. Він виявлений у плазмі крові людей і шурів у наномолярних концентраці-

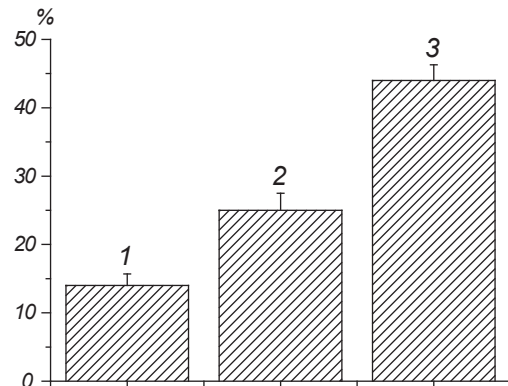


Рис. 5. Вплив пригнічення активності нейронної NO-синтази (nNOS) 7-нітроіндазолом на нормовані гемодинамічні ефекти мікроін'єкцій ГАМК у медулярні ядра: 1 – парамедіанне ретикулярне ядро (*PMn*), 2 – латеральне ретикулярне ядро (*LRN*), 3 – обопільне ядро (*AMB*).

ях [26]. Оуабаїн здатний індукувати розвиток гіпертензії, пов'язаний зі змінами активності та експресії Na^+ , K^+ -АТФази в ЦНС і опосередкований підвищенням симпатичного тону та активацією церебральної ренін-ангіотензинової системи [26–29]. Відомо, що ендогенний оуабаїн бере участь у контролі натрієвого гомеостазу та регуляції артеріального тиску [27, 30, 31]. Водночас він помітно модифікує функцію серця, а також модулює проліферацію і диференціацію клітинних елементів серця [32] та судинних гладеньком'язових клітин [33].

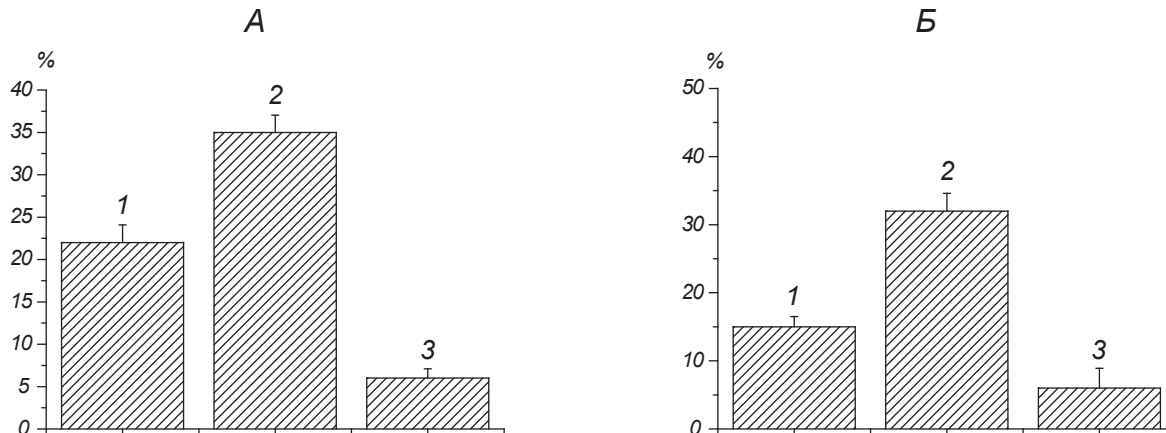
Існують вказівки на те, що надлишок зовнішньоклітинної ГАМК може бути результатом зменшеного кліренсу ГАМК-транспортера, функціонально пов'язаного з $\alpha 2$ -ізоформою Na^+ , K^+ -АТФази [23]. Порушення нейронної активності респіраторних нейронів у щурів із дефіцитом згаданої ізоформи цього ферменту пов'язують із порушенням хлорного гомеостазу в нейронах стовбура мозку. Відомо, що із потенціалкерованими хлорними каналами функціонально пов'язані ГАМК_A-рецептори. Більш того, висувається припущення, що формування надлишку внутрішньоклітинного Cl^- може призводити до трансформації знаку відповіді на ін'єкцію ГАМК – від гіперполяризації до депольаризації [23].

У попередньому дослідженні ми виявили, що у щурів із нормальним артеріальним тиском ін'єкції специфічного інгібітора Na^+ , K^+ -АТФази оуабаїну (10^{-8} – 10^{-5} М) у певні медулярні ядра (*NTS*, *PMn*, *LRN*), як правило, супроводжуються залежним від дози підвищенням рівня САТ [34]. Іншими словами, пригнічення активності Na^+ , K^+ -АТФази плазматичних мембран нейронів у межах медулярних кардіоваскулярних ядер сприяє розвитку гіпертензії центрального ге-

незу. Зокрема, після введення оуабаїну в *PMn* і *LRN* (10^{-5} М) САТ закономірно підвищується – в середньому на 25.4 ($P < 0.05$) і 17.2 ($P < 0.05$) % відповідно.

Як з'ясувалося, після ін'єкцій у медулярні ядра 10^{-8} М ГАМК разом із 10^{-5} М оуабаїну гіпотензивні відповіді не спостерігалися, а розвивалися виключно гіпертензивні реакції, як і в разі ізольованого введення оуабаїну в медулярні ядра. Дане спостереження дозволяє думати про те, що реалізація гальмівного впливу ГАМК відбувається (в усякому разі в значній мірі) через активацію цього ензиму. Щож до гіпертензивних реакцій, то при спільному введенні ГАМК та оуабаїну підвищення рівня САТ у *PMn* складало 22 ($P < 0.05$), а в *LRN* – 15 ($P < 0.05$) %, тобто такі реакції були кількісно подібними до ефекту оуабаїну, введеного окремо. Слід нагадати, що введення ГАМК у *PMn* і в *LRN* викликало підвищення САТ на 32 і 11 % відповідно ($P < 0.05$). ДАТ при спільному введенні ГАМК і оуабаїну в *PMn* і *LRN* збільшувався в середньому на 35 і 32 % відповідно ($P < 0.05$) на тлі незначного збільшення ЧСС, тобто в основі даної гіпертензивної реакції лежить переважно збільшення опору периферичних судин (рис. 6). Отже, є підстави вважати, що в довгастому мозку щурів ГАМК здійснює гальмівний контроль функції кровообігу за участю Na^+ , K^+ -АТФази плазматичних мембран кардіоваскулярних нейронів.

Традиційно вважається, що основна фізіологічна роль ГАМК полягає в модуляції ефектів активації головного збуджувального трансмітера – глутамата – та в створенні стійкої рівноваги між активністю збуджувальних і гальмівних нейронних систем. В основі гальмівної дії ГАМК лежать або постсинаптичні ефекти (гіперполяризуючий вплив на постси-



Р и с. 6. Вплив пригнічення активності Na^+ , K^+ -АТФази медулярних нейронів на ефекти мікроін'єкцій ГАМК у медулярні ядра: 1 – парамедіанне ретикулярне ядро (*PMn*), 2 – латеральне ретикулярне ядро (*LRN*).

1 – систолічний, 2 – діастолічний артеріальний тиск; 3 – частота серцевих скорочень.

наптичні мембрани нейронів та шунтування опору даних мембран), або деполяризуючий вплив цього трансмітера на аксонні терміналі, тобто пресинаптичне гальмування. У такій ситуації зниження рівня САТ після мікроін'єкцій ГАМК у зони локалізації медулярних симпатотивуючих кардіоваскулярних нейронів є очікуваним. Гіперполяризація постсинаптичних мембран симпатотивуючих нейронів пригнічує функціональну активність останніх, що призводить до послаблення низхідних симпатотивуючих впливів на серце і судини. Зі збільшенням концентрації ін'єксованої ГАМК зростає інтенсивність гіперполяризуючих впливів на постсинаптичні мембрани, відповідно посилюється і гальмівна дія ГАМК.

Довгий час вважали, що згаданий амінокислотний трансмітер забезпечує виключно синаптичне гальмування (або пост-, або пресинаптичне). Але з'ясувалося, що на ранніх етапах розвитку мозку ГАМК опосередковує переважно синаптичне збудження. У дорослому мозку збуджувальна функція ГАМК зберігається лише дуже обмежено, поступаючись місцем синаптичному гальмуванню.

Вище згадувалося, що у щурів ГАМК-індуковані гіпертензивні гемодинамічні реакції спостерігаються досить часто, але питання, за рахунок чого це відбувається, залишається недостатньо вивченим. Певною мірою можливість відповідних гіпертензивних феноменів можна пояснити гальмуванням активності гальмівних нейронів. Це досить чітко видно у вентролатеральному відділі довгастого мозку, де симпатотивуючі і симпатогальмівні нейрони розміщені відносно окремо – в *RVLM* і *CVLM* відповідно [9]. Пригнічення симпатогальмівних нейронів призводить до зменшення їх гальмівних впливів на симпатотивуючі нейрони, що супроводжується посиленням симпатотивуючих низхідних впливів на кардіоваскулярні ефектори. Проте видається малоімовірним, що у щурів (для яких характерним є підвищений фоновий симпатичний тонус порівняно, наприклад, таким у котів) це основний механізм гіпертензивної дії ГАМК у довгастому мозку. Можливо, вказаний ефект ГАМК реалізується через ГАМК_B-рецептори, які функціонально зв'язані із потенціалкерованими кальцієвими каналами пресинаптичних мембран. Ці канали в разі їх активації модулюють вивільнення катехоламінів [19]. Не виключено також, що в здійсненні гіпертензивного ефекту ГАМК залучені інші механізми.

Дослідження здійснювались із дотриманням вимог Європейської конвенції щодо роботи з експериментальними тваринами (Страсбург, 1985) і положень Комітетів біоетики Київського національного університету ім. Тараса Шевченка та Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України.

Автори даної роботи – Н. В. Радченко, Л. М. Шаповал, Т. Л. Давидовська, Л. Г. Степаненко, О. В. Дмитренко та В. Ф. Сагач – підтверджують, що у них немає конфлікту інтересів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. И. А. Сытинский, *Гамма-аминомасляная кислота в деятельности нервной системы*, Наука, Ленинград (1972).
2. G. E. Fagg and A. C. Foster, "Amino acid neurotransmitters and their pathways in the mammalian central nervous system," *Neuroscience*, **9**, No. 4, 701-719 (1983).
3. Л. Н. Шаповал, Л. С. Побегайло, "Изменения эфферентной активности в почечном нерве и вегетативной реакции на введение ГАМК в структуры вентролатеральной поверхности продолговатого мозга кошки", *Нейрофизиология/Neurophysiology*, **19**, № 3, 327-334 (1987).
4. W. W. Blessing, "Depressor neurons in rabbit caudal medulla act via GABA receptors in rostral medulla," *Am. J. Physiol.*, **23**, H786-H792 (1988).
5. R. N. Willette, A. J. Krieger, P. P. Barcas, and H. P. Sapru, "Medullary γ -aminobutyric acid (GABA) receptors and the regulation of blood pressure in the rat," *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **226**, 893-899 (1983).
6. M. P. Meeley, D. A. Ruggiero, T. Ishitsuka, and D. J. Reis, "Intrinsic γ -aminobutyric acid neurons in the nucleus of the solitary tract and rostral ventrolateral medulla of the rat: immunocytochemical and biochemical study," *Neurosci. Lett.*, **58**, 83-89 (1985).
7. M. Amano and T. Kubo, "Involvement of both GABA_A and GABA_B receptors in tonic inhibitory control of blood pressure at rostral ventrolateral medulla of the rat," *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **348**, 146-153 (1993).
8. A. Milner, V. M. Pickel, J. Chan, et al., "Phenyl-ethanolamine N-ethyl-transferase-containing neurons in the rostral ventrolateral medulla. II. Synaptic relationships with GABAergic terminals," *Brain Res.*, **411**, 46-57 (1987).
9. L. N. Shapoval, V. F. Sagach, and L. S. Pobegailo, "Chemosensitive ventrolateral medulla in the cat: the fine structure and GABA-induced cardiovascular effects," *J. Auton. Nerv. Syst.*, **36**, 159-172 (1991).
10. Л. Н. Шаповал, Л. С. Побегайло, "Влияние ГАМК, введенной в структуры продолговатого мозга, на симпатическую активность и уровень системного артериального давления", *Физиол. журн. СССР им. И. М. Сеченова*, **68**, № 11, 1500-1505 (1982).
11. L. N. Shapoval, V. F. Sagach, and L. S. Pobegailo, "Nitric oxide influences ventrolateral medullary mechanisms of vasomotor control in the cat," *Neurosci. Lett.*, **132**, 47-50 (1991).
12. T. I. Krukoff, "Central actions of nitric oxide in regulations of autonomic functions," *Brain Res.*, **30**, 52-65 (1999).
13. S. Chowdhary and N. Townend, "Role of nitric oxide in the regulation of cardiovascular autonomic control," *Clin. Sci.*, **97**, 5-17 (1999).

14. J. Zanzinger, "Role of nitric oxide in the neural control of cardiovascular functions," *Cardiovascul. Res.*, **43**, 839-649 (1999).
15. Л. Н. Шаповал, В. Ф. Сагач, Л. С. Побегайло и др., "Участие оксида азота в медуллярном контроле функции кровообращения у нормотензивных крыс", *Нейрофизиология/Neurophysiology*, **34**, № 4, 294-302 (2002).
16. L. N. Sharoval, "Nitric oxide and nervous control of cardiovascular function," in: *Receptors, Channels and Messengers*, P. G. Kostyuk and E. A. Lukyanetz (eds.), DUS, Kiev (2005), pp. 318-337.
17. Л. Н. Шаповал, О. В. Дмитренко, Л. С. Побегайло и др., "Гемодинамические реакции, индуцируемые модуляцией активности системы оксида азота и проницаемости митохондриальных мембран в медуллярных кардиоваскулярных нейронах", *Нейрофизиология/Neurophysiology*, **39**, № 3, 232- 244 (2007).
18. T. Kishi, Y. Hirooka, K. Sakai, et al., "Overexpression of eNOS in the RVLM causes hypertension and bradycardia via GABA release," *Hypertension*, **38**, No. 4, 896-904 (2001).
19. К. С. Раевский, В. П. Георгиев, *Медиаторные аминокислоты: нейрофармакологические и нейрохимические аспекты*, Медицина, Москва, София (1986).
20. M. Chebib and G. A. R. Johnston, "GABA-activated ligand gated ion channels: medical chemistry and molecular biology," *J. Med. Chem.*, **43**, No. 8, 1427-1447 (2000).
21. А. А. Болдырев, "Роль Na/K-насоса в возбудимых тканях (обзор)", *J. Siber. Fed. Univ. Biol.*, **3**, 208-225 (2008).
22. J. B. Lingrel and T. Kuntzweiler, "Na/ K-ATPase," *J. Biol. Chem.*, **269**, 19659-19662 (1994).
23. K. Ikeda, H. Onimaru, J. Jamada, et al., "Malfunction of respiratory-related neuronal activity in Na⁺-K⁺-ATPase α_2 subunit-deficient mice is attributable to abnormal Cl⁻ homeostasis in brainstem neurons," *J. Neurosci.*, **24**, No. 47, 10693-10701 (2004).
24. G. Paxinos and C. Walson, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, Acad. Press, New York (1982).
25. D. R. Curtis, A. W. Duggan, D. Felix, and G. A. R. Johnston, "Bicuculline, an antagonist of GABA and synaptic inhibition in the spinal cord of the cat," *Brain Res.*, **32**, 69-96 (1971).
26. A. S. Padilha, M. Salaices, S. D. V. Vassallo, et al., "Hypertensive effects of the i.v. administration of picomoles of ouabain," *Brazil. J. Med. Biol. Res.*, **44**, 933-938 (2011).
27. M. Ferrandi, P. Barassi, I. Molinari, et al., "Ouabain antagonists as antihypertensive agents," *Current Pharm. Res.*, **11**, No. 25, 3301-3305 (2005).
28. X. Hou, S. T. Theriault, I. Dostanic-Larson, et al., "Enhanced pressor response to increased CSF sodium concentration and to central ANG 1 in heterozygous α_2 Na⁺-K⁺-ATPase knockout mice," *Am. J. Physiol. Regulat. Integr. Comp. Physiol.*, **296**, R1427-R1438 (2009).
29. H. Takahashi, M. Yoshika, Yu. Komiyama, and M. Nishimura, "The central mechanism underlying hypertension: a review of the roles of sodium ions, epithelial sodium channels, the renin-angiotensin-aldosterone system, oxidative stress and endogenous digitalis in the brain," *Hypertens. Res.*, **34**, 1147-1160 (2011).
30. J. C. Wang, J. A. Staessen, E. Messaggio, et al., "Salt, endogenous ouabain and blood pressure interactions in the general population," *J. Hypertens.*, **21**, No. 8, 1475-1481 (2003).
31. J. Zhang, M. Y. Lee, M. Cavalli, et al., "Sodium pump alpha 2 subunits control myogenic tone and blood pressure in mice," *J. Physiol.*, **569**, Part 1, 243-256 (2005).
32. B. S. Huang and F. H. Leenen, "Blockade of brain 'ouabain' prevents sympathoexcitatory and pressor responses to high sodium in SHR," *Am. J. Physiol.*, **271**, Y103-H108 (1996).
33. A. Aydemir-Koksoy, J. Abramovitz, and J. C. Allen, "Ouabain-induced signaling and vascular smooth muscle cell proliferation," *J. Biol. Chem.*, **276**, 46605-46611 (2001).
34. Л. М. Шаповал, О. В. Дмитренко, Г. Л. Вавилова та ін., "Вплив модуляції Na⁺-K⁺-АТФази медулярних кардіоваскулярних нейронів на гемодинамічні ефекти у щурів із підвищеним артеріальним тиском", *Фізіол. журн.*, **58**, № 5, 3-13 (2012).