

Л. М. ШАПОВАЛ¹, О. В. ДМИТРЕНКО¹, А. М. НАУМЕНКО²,
Т. Л. ДАВИДОВСЬКА², В. Ф. САГАЧ¹

СПЕЦИФІКА ЕФЕКТІВ СТЕРЕОТАКСИЧНОГО ВВЕДЕННЯ БАКЛОФЕНУ В МЕДУЛЯРНІ КАРДІОВАСКУЛЯРНІ ЯДРА ЩУРІВ

Надійшла 12.06.15

У щурів, наркотизованих уретаном (1.7 г/кг, внутрішньоочеревинно), досліджували ефекти стереотаксичних мікроін'єкцій баклофену в медулярні ядра, залучені в нервовий контроль серцево-судинної діяльності (парамедіанне, обопільне і латеральне ретикулярне). Вимірювали викликані такими уведеннями зміни гемодинамічних показників (систолічного і діастолічного артеріального тиску та частоти серцевих скорочень). Ін'єкції вказаного агоніста ГАМК_B-рецепторів (10^{-7} – 10^{-5} М, 0.1 мкл) у кардіоваскулярні медулярні ядра супроводжувалися змінами артеріального тиску, величина і напрямок яких залежали не тільки від концентрації баклофену, але й від місця введення (в те чи інше ядро). При ін'єкції препарату в обопільне ядро в концентрації 10^{-7} М артеріальний тиск демонстрував тенденцію до підвищення, а при концентрації 10^{-5} М спостерігалось статистично вірогідне зниження систолічного і діастолічного артеріального тиску. Якщо баклофен вводився в латеральне ретикулярне ядро, артеріальний тиск також міг підвищуватись або знижуватись залежно від концентрації агента, але патерн реакцій відрізнявся від такого після ін'єкцій в обопільне ядро. Ін'єкції баклофену в парамедіанне ядро завжди супроводжувались істотним підвищенням артеріального тиску. Зміни частоти серцевих скорочень при ін'єкціях баклофену були незначними. Відмічена специфіка ефектів баклофену, ймовірно, пов'язана з особливостями функціонування ГАМК_B-рецепторів, активація котрих може опосередковувати дію не одного, а декількох нейронних механізмів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: баклофен, ГАМК_B-рецептори, довгастий мозок, кардіоваскулярні ядра, контроль гемодинаміки.

ВСТУП

Баклофен (β -(4-хлорофеніл)- γ -аміномасляна кислота) є селективним агоністом ГАМК_B-рецепторів. Відомо, що під дією цього препарату низка спінальних та вісцеральних рефлексів пригнічуються, причому на спінальному рівні інгібуються як моно-, так і полісинаптичні реакції [1, 2]. Є також вказівки на те, що баклофен може діяти і на супраспінальних рівнях, у тому числі на рівні довгастого мозку. Отримані дані про те, що активація ГАМК_B-рецепторів опосередковує так зване повільне пост- і пресинаптичне гальмування. При цьому слід зауважити, що вплив баклофену на серцево-судинну діяльність визначався здебільшого в

умовах ін'єкцій вказаного препарату в ядро солітарного тракту (*nucl. tractus solitarius* – NTS) [3–10]. Ефекти стереотаксичного введення баклофену в інші ядра довгастого мозку, котрі безпосередньо залучені в кардіоваскулярний контроль, поки що практично не вивчалися.

Ми визначали вплив стереотаксичних мікроін'єкцій баклофену в декілька кардіоваскулярних ядер довгастого мозку на гемодинамічні показники у щурів.

МЕТОДИКА

Експерименти проводили на щурах, анестезованих уретаном (1.7 г/кг, внутрішньоочеревинно). Голову тварин фіксували в стереотаксичному приладі. Баклофен вводили відповідно до координат стереотаксичного атласу [11] в кардіоваскулярні ядра

¹ Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ (Україна).

² Національний університет ім. Тараса Шевченка, Київ (Україна).

Ел. пошта: shapoval@biph.kiev.ua (Л. М. Шаповал).

довгастого мозку (обопільне, парамедіанне і латеральне ретикулярне) за допомогою мікроін'єктора. Об'єм мікроін'єкцій складав 0.1 мкл; використовували розчини баклофену з концентраціями останнього 10^{-7} , 10^{-6} та 10^{-5} М. Для визначення артеріального тиску в сонну артерію вводили канюлю, заповнену гепаринізованим фізіологічним розчином. Реєстрацію здійснювали з використанням тензодатчика і спеціалізованого тензопосилювача (гемодинамічна установка "Мікромед", Угорщина) та стандартного програмного забезпечення. Частоту серцевих скорочень (ЧСС) визначали згідно з пульсовими коливаннями артеріального тиску.

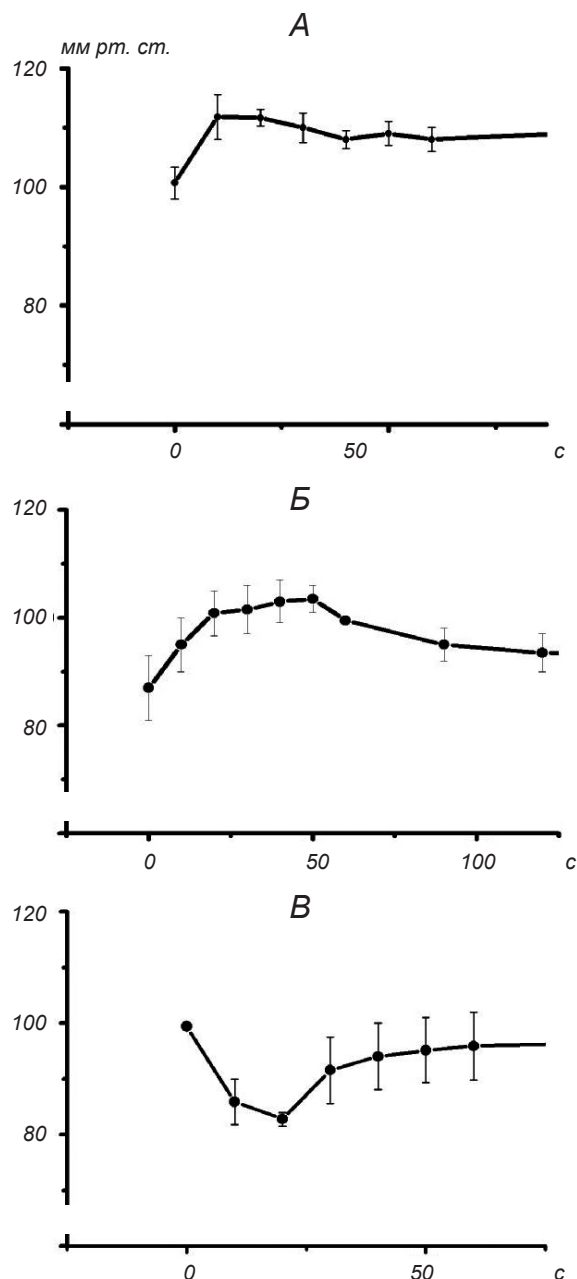
Статистичний аналіз числових даних проводили з використанням загальноприйнятих методів за допомогою стандартного пакета Microsoft Excel. Числові результати представлені як середні \pm стандартне відхилення. Значущість міжгрупових відмінностей середніх значень визначали за критерієм *t* Ст'юдента, вважаючи такі відмінності вірогідними при $P < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Стереотаксичні мікроін'єкції розчинів баклофену в кардіоваскулярні ядра довгастого мозку щурів супроводжувалися помітними змінами систолічного і діастолічного артеріального тиску (САТ і ДАТ відповідно), величина і напрямок яких залежали від концентрації препарату і місця його введення (ядра, в яке здійснювалась ін'єкція). Так, при ін'єкціях розчину баклофену в обопільне ядро (*nucl. ambiguus* – *AMB*) у концентрації 10^{-7} М спостерігалось підвищення САТ (на рівні тенденції, в середньому на 8.5 %; $P > 0.05$). У концентрації 10^{-6} М баклофен викликав вірогідне підвищення САТ у середньому на 37.9 % ($P < 0.05$). Проте після ін'єкції препарату в концентрації 10^{-5} М САТ вірогідно знижувався, в середньому на 22.5 % ($P < 0.05$) (рис. 1).

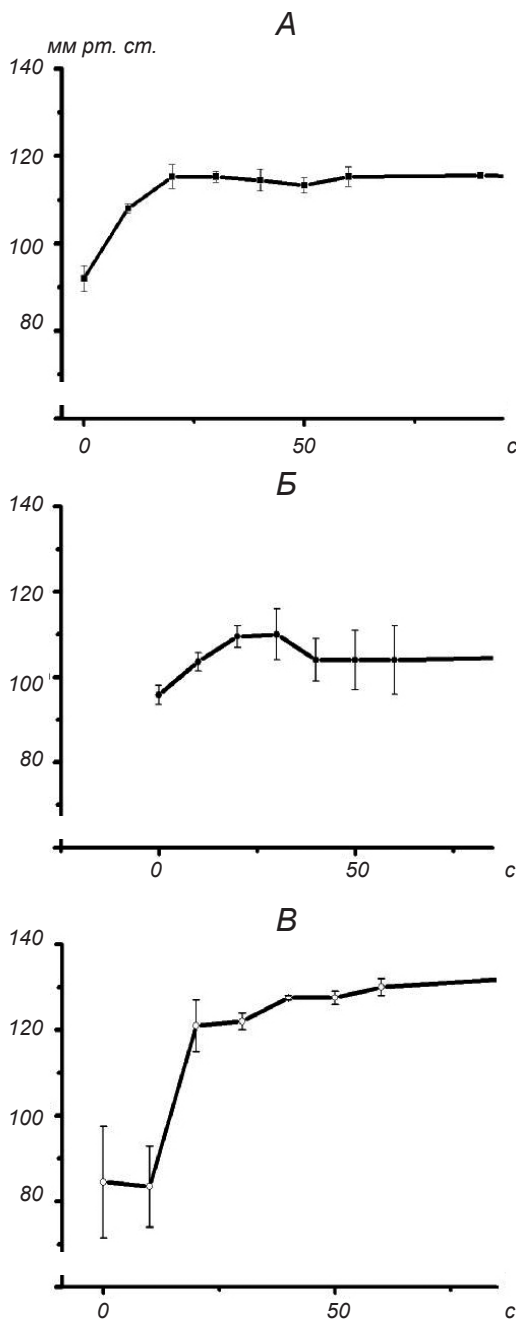
Стереотаксичне введення баклофену (10^{-7} М) в парамедіанне ядро (*nucl. paramedianus* – *PMn*) супроводжувалось в усіх випадках підвищенням рівня САТ. Значення приросту САТ при ін'єкціях даного агоніста в концентрації 10^{-7} М складало в середньому 25.2 % ($P < 0.05$), в концентрації 10^{-6} М – 25.7 % ($P < 0.05$), а при концентрації 10^{-5} М інкремент сягав у середньому 54.8 % ($P < 0.05$) (рис. 2).

Ін'єкції баклофену в концентрації 10^{-7} М у лате-



Р и с. 1. Впливи мікроін'єкцій баклофену (А – 10^{-7} , Б – 10^{-6} , В – 10^{-5} М) в обопільне ядро (*nucl. ambiguus* – *AMB*) на рівень систолічного артеріального тиску.

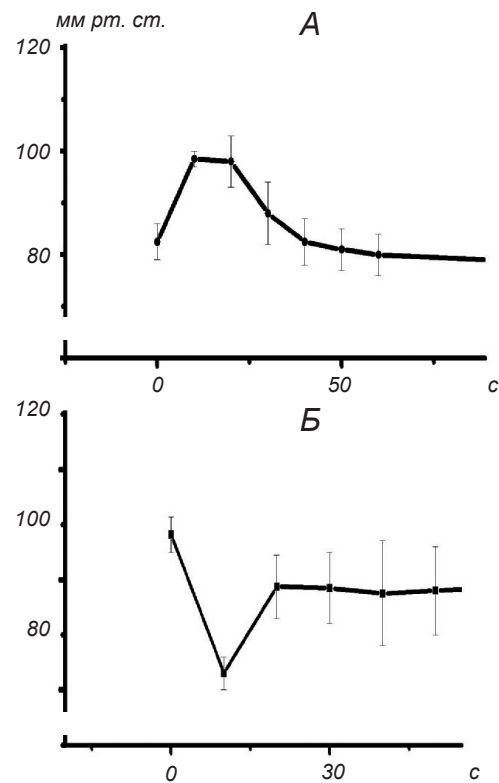
ральне ретикулярне ядро (*nucl. lateralis reticularis* – *LRN*) супроводжувалися розвитком вірогідних гіпотензивних реакцій (рівень САТ знижувався в середньому на 18.5 %; $P < 0.05$). У разі ж концентрації 10^{-5} М, навпаки, спостерігалось підвищення САТ у середньому на 32.7 % (також вірогідне; $P < 0.05$) (рис. 3). Отже, патерн змін САТ після вве-



Р и с. 2. Впливи мікроін'єкцій баклофену ($A - 10^{-7}$, $B - 10^{-6}$, $B - 10^{-5}$ М) у парамедіанне ядро (*nucl. paramedianus* – *PMn*) на рівень систолічного артеріального тиску.

день баклофену в *LRN* відрізнявся від такого після ін'єкцій в *AMB* – залежність напрямків змін цього показника від концентрації (і, відповідно, кількості ін'єкцій) була протилежною.

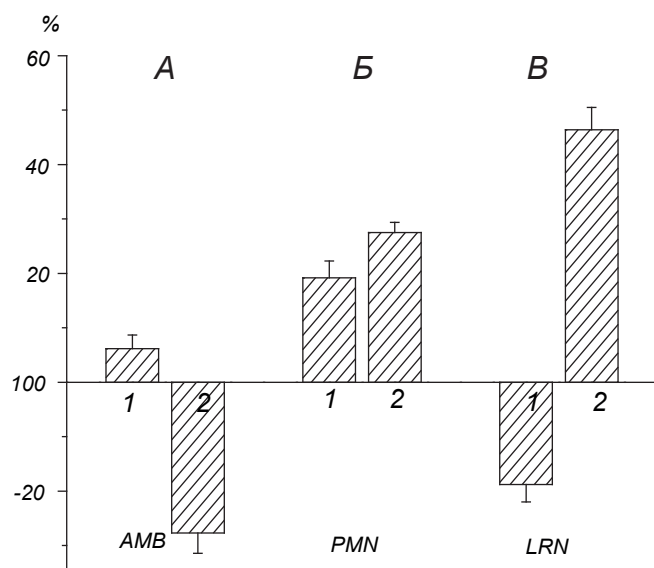
ДАТ після введення баклофену в *AMB* (10^{-7} М) незначно збільшувався (в середньому на 6.2 %; $P > 0.05$), а при введенні препарату в концентра-



Р и с. 3. Впливи мікроін'єкцій баклофену ($A - 10^{-7}$, $B - 10^{-5}$ М) у латеральне ретикулярне ядро (*nucl. lateralis reticularis* – *LRN*) на рівень систолічного артеріального тиску.

ції 10^{-5} М цей показник вірогідно зменшувався (на 27.7 %; $P < 0.05$). Введення баклофену в *PMn* у вказаних концентраціях супроводжувалося тільки збільшенням ДАТ – на 19.2 і 27.5 % ($P < 0.05$ в обох випадках). Ін'єкції баклофену в *LRN* (10^{-7} М) призводили до зменшення ДАТ у середньому на 18.8 % ($P < 0.05$), у той час як після введення препарату в концентрації 10^{-5} М ДАТ збільшувався в середньому на 46.4 % ($P < 0.05$) (рис. 4).

Зміни ЧСС при введенні баклофену в досліджені ядра довгастого мозку при вказаних вище концентраціях були здебільшого незначними. Статистично вірогідне зменшення ЧСС (у середньому на 19.3 %; $P < 0.05$) ми спостерігали тільки в одному випад-



Р и с. 4. Впливи мікроін'єкцій баклофену ($1 - 10^{-7}$, $2 - 10^{-5}$ M) у кардіоваскулярні ядра (A – обопільне ядро, *nucl. ambiguus* – AMB, Б – парамедіанне ядро, *nucl. paramedianus* – PMn, В – латеральне ретикулярне ядро, *nucl. lateralis reticularis* – LRN) на середні значення діастолічного тиску.

ку – після введення баклофену в LRN у концентрації 10^{-5} M; такі зміни, можливо, носили компенсаторний характер.

Гемодинамічні реакції на введення баклофену в усі досліджені медулярні ядра мали відносно короткий латентний період. Максимум реакції звичайно досягався вже через 10–20 с після ін'єкції препарату, а тривалість змін артеріального тиску складала 300–480 с.

Таким чином, стереотаксичні введення баклофену в три тестовані медулярні ядра, безпосередньо залучені в нервовий контроль функції кровообігу, супроводжувалися змінами артеріального тиску, які істотно залежали не тільки від концентрації (і, відповідно, кількості) агоніста, але й від місця його введення (в те або інше ядро). В даному разі розвиток гіпотензивних реакцій був досить очікуваним, зважаючи на те, що баклофен є агоністом ГАМК – найважливішого гальмівного трансмітера в ЦНС. Між тим, при активації ГАМК_B-рецепторів у згаданих ядрах у низці випадків спостерігалося не зниження, а, навпаки, досить істотне підвищення рівня САТ. Підвищення САТ ми також у ряді випадків відмічали після того, як у PMn і LRN ін'єкували ГАМК, тобто в умовах переважної активації ГАМК_A-рецепторів у цих ядрах [12]. Індуковане баклофеном підвищення артеріального тис-

ку спостерігали й інші дослідники, причому як при системному, так і при центральному введенні даного препарату. Зокрема, в окремих повідомленнях вказувалося на те, що баклофен може викликати різноспрямовані зміни рівня артеріального тиску в умовах внутрішньовенного введення (в разі низьких доз індукувати зниження, а високих – підвищення рівня САТ) [13]. Автори цитованої роботи вважають, що підвищення артеріального тиску при системному введенні баклофену у великих дозах має центральне симпатичне походження, проте прямих доказів цього твердження дотепер немає. Повідомлялося, що введення баклофену в *cisterna magna* супроводжується вазоконстрикцією в задніх кінцівках і підвищенням рівня САТ. Є підстави вважати, що дані реакції реалізуються через центральні ГАМК_B-рецептори [14]. Підвищення рівня САТ спостерігали також при ін'єкціях баклофену в NTS [3, 4, 6, 7, 9].

Відомо, що активація іонотропних ГАМК_A-рецепторів призводить до відкривання фактично тільки хлорних каналів. У той же час активація метаболічних ГАМК_B-рецепторів може опосередковувати як пресинаптичне (через зменшення кальцієвої провідності), так і постсинаптичне (через підвищення калієвої провідності) гальмування. Така активація, що діє через комплекс G-протеїнів, здатна впливати на інші медіатори. В свою чергу, і сама активація ГАМК_B-рецепторів може піддаватися впливам згаданих медіаторів. Іншими словами, активація цих рецепторів може викликати зміни артеріального тиску, які реалізуються через дію на досить широкий набір механізмів. Не виключено, що значну роль відіграє саме модулюючий вплив баклофену через медіаторні системи, присутні в досліджених ядрах. Відмінності між ефектами баклофену сильно залежали від концентрації і, відповідно, кількості введеного препарату (в наших експериментах такі кількості розрізнялися на два порядки). Вказані відмінності, очевидно, могли бути певною мірою пов'язані з різницями інтенсивності дифузії тестованого агоніста і об'ємів нервової тканини, на які він діє.

Реалізована через ГАМК_B-рецептори взаємодія специфічного агоніста ГАМК баклофену з трансмітерами, які експресуються в довгастому мозку, може мати істотне значення для регуляції системи кровообігу. Існує думка, що у спонтанно гіпертензивних щурів ГАМК забезпечує антигіпертензивний вплив (значною мірою за рахунок пригнічення вивільнення норадреналіну із симпатичних нервових

закінчень). Останній ефект опосередковується активацією пресинаптичних ГАМК_B-рецепторів [15]. З іншого боку, показано, що ангіотензин II може посилювати ГАМК_B-рецепторну функцію та експресію відповідних рецепторів в *NTS* [16, 17], а це може призводити до посилення симпатичних впливів і збільшення артеріального тиску і ЧСС. Підвищенню артеріального тиску при стереотаксичному введенні баклофену в *NTS* може сприяти вивільнення вазопресину [18]. Вважають, що активація пресинаптичних ГАМК_B-рецепторів під впливом баклофену супроводжується пригніченням вивільнення глутамату із барорецепторних аферентних терміналей у *NTS* [8]. В *AMB* експресуються рецептори ГАМК і гліцину [19], бета-адренорецептори [20], нікотинові холінорецептори [21], рецептори окситоцину і вазопресину [22] тощо. Зважаючи на це, ефект баклофену в довгастому мозку може здійснюватися через посилення або пригнічення вивільнення того чи іншого трансмітера в результаті активації ГАМК_B-рецепторів; відповідні конкретні реакції можуть бути досить різноманітними.

Згідно з точкою зору деяких авторів, ГАМК_B-рецептори можуть бути новою молекулярною цілью при лікуванні нейрогенної гіпертензії [23]. Підставою для цього є той факт, що баклофен знижує артеріальний тиск у пацієнтів з тяжкою гіпертензією. Ймовірно, у цих пацієнтів зниження артеріального тиску є наслідком переважного зв'язування баклофену з пресинаптичними ГАМК-рецепторами, що призводить до зменшення вивільнення збуджувальних амінокислот (глутамату та/або аспартату). Слід, проте, брати до уваги і ту обставину, що баклофен здатний підвищувати артеріальний тиск в результаті взаємодії з ангіотензином II або з інших причин.

Таким чином, результати проведеного дослідження показали, що вплив баклофену на нейрони медулярних ядер, безпосередньо залучених у нервовий контроль серцево-судинної діяльності, має досить складний характер; це, ймовірно, пов'язане з особливостями взаємодії зазначеного агента з ГАМК_B-рецепторами в даній ділянці мозку. Специфіка взаємодії баклофену з ГАМК_B-рецепторами полягає в тому, що активація вказаних рецепторів опосередковує дію не одного, а декількох механізмів. Це може лежати в основі розвитку різноспрямованих зрушень артеріального тиску, викликаних стереотаксичними мікроін'єкціями баклофену в кардіоваскулярні ядра довгастого мозку.

Утримання та використання піддослідних тварин проводили у відповідності з біоетичними вимогами Європейської конвенції про захист тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986).

Автори роботи – А. М. Науменко, Л. М. Шаповал, О. Ю. Нипорко, І. С. Войтешенко, О. В. Цимбалюк, В. Ф. Сагач та Т. Л. Давидовська – підтверджують відсутність будь-яких конфліктів щодо комерційних або фінансових відносин, відносин з організаціями або особами, котрі будь-яким чином могли бути пов'язані з дослідженням, а також взаємовідносин співавторів статті.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. S. See and R. Ginzburg, "Skeletal muscle relaxants," *Pharmacotherapy*, **2**, No. 28, 207-213 (2008).
2. M. Brusberg, A. Ravnefjord, R. Martinsson, et al., "The GABA(B) receptor agonist, baclofen, and the positive allosteric modulator, CGP7930, inhibit visceral pain-related responses to colorectal distension in rats," *Neuropharmacology*, **56**, No. 2, 362-367 (2009).
3. A. F. Sved and Ju. C. Sved, "Endogenous GABA acts on GABAB receptors in nucleus tractus solitarius to increase blood pressure," *Brain Res.*, **526**, No. 2, 235-240 (1990).
4. A. Florentino, K. Varga, and G. Kunos, "Mechanism of the cardiovascular effects of GABA_B receptor activation in the nucleus tractus solitari of the rats," *Brain Res.*, **535**, 264-270 (1990).
5. P. A. Brooks, S. R. Glaum, R. J. Miller, and K. M. Spyer, "The actions of baclofen on neurones and synaptic transmission in the nucleus tractus solitarii of the rat *in vitro*," *J. Physiol.*, **457**, 115-129 (1992).
6. J. C. Callera, L. G. Bonagamba, A. Nosjean, et al., "Activation of GABA receptors in the NTS of awake rats reduces the gain of baroreflex bradycardia," *Auton. Neurosci.*, **84**, 58-67 (2000).
7. W. Zhang, M. Herrera-Rosales, and S. Mifflin, "Chronic hypertension enhances the postsynaptic effect of baclofen in the nucleus tractus solitarius," *Hypertension*, **49**, 659-663 (2007).
8. W. Zhang and S. Mifflin, "Chronic hypertension enhances presynaptic inhibition by baclofen in the nucleus of the solitary tract," *Hypertension*, **55**, 481-486 (2010).
9. B. Li., Liu Qing, X. Chengluan, et al., "GABA_B receptor gene transfer into the nucleus tractus solitarii induces chronic blood pressure elevation in normotensive rats," *Circulation*, **77**, No. 10, 2558-2566 (2013).
10. T. S. Moreira, A. C. Takakura, and E. Colombari, "Important GABAergic mechanism within the NTS and the control of sympathetic baroreflex in SHR," *Auton. Neurosci.*, **159**, 62-70 (2011).
11. G. Paxinos and C. Watson, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, Acad. Press, New York (1982).
12. N. V. Radchenko, L. N. Shapoval, T. L. Davydovskaya, et al., "Features of GABAergic cardiovascular control provided by medullary neurons in rats," *Neurophysiology*, **45**, No. 5, 407-417 (2013).
13. L. A. Chahl and S. B. Walker, "The effect of baclofen on the cardiovascular system of the rat," *Br. J. Pharmacol.*, **69**, 631-637 (1980).

14. Y. Takemoto, "Hindquarters vasoconstriction through central GABA_B receptors in conscious rats," *Exp. Physiol.*, **88**, No. 4, 491-497 (2003).
15. K. Hayakawa, M. Kimura, and K. Kamata, "Mechanism underlying gamma-aminobutyric acid-induced antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats," *Eur. J. Pharmacol.*, **438**, Nos. 1/2, 107-113 (2002).
16. F. Yao, C. Summers, S. T. O'Rourke, and C. Sun, "Angiotensin II enhances GABA_B receptor-expression in nucleus tractus solitarii of rats," *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **294**, H2712-H2720 (2008).
17. Q. Zhang, F. Yao, S. T. Rourke, et al., "Angiotensin II enhances GABA_B receptor-mediated responses and expression in nucleus tractus solitarii of rats," *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **297**, H1837-H1844 (2009).
18. C. D. Landulpho, A. C. Dias, and E. Colombari, "Cardiovascular mechanisms activated by microinjection of baclofen into NTS of conscious rats," *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **284**, H987-H993 (2003).
19. V. C. Chitravanshi, K. Kawabe, and H. N. Sapru, "GABA and glycine receptors in the nucleus ambiguus mediate tachycardia elicited by chemical stimulation of the hypothalamic arcuate nucleus," *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **309**, H174-H184 (2015).
20. R. J. Bateman, C. R. Boychuk, K. E. Phibin, and D. Mendelowitz, "Beta adrenergic receptor modulation of neurotransmission to cardiac vagal neurons in the nucleus ambiguus," *Neuroscience*, **210**, 58-66 (2010).
21. M. Zhang, Y. T. Wang, D. M. Vyas, et al., "Nicotinic cholinergic-mediated excitatory postsynaptic potentials in rat nucleus ambiguus," *Exp. Brain Res.*, **96**, 83-88 (1993).
22. R. Stoop, "Neuromodulation by oxytocin and vasopressin," *Neuron*, **76**, 142-159 (2012).
23. R. Becker, I. Benes, U. Sure, et al., "Intrathecal baclofen alleviates autonomic dysfunction in severe brain injury," *J. Clin. Neurosci.*, **7**, 316-319 (2000).