

УДК 577.3

## МАТЕМАТИЧНЕ МОДЕЛЮВАННЯ ЕФЕКТІВ ІН'ЄКЦІЙ ГАМК У МЕДУЛЯРНІ NO-СИНТЕЗУЮЧІ КАРДІОВАСКУЛЯРНІ НЕЙРОНИ ЩУРІВ

**Н.В. Радченко, Л.М. Шаповал, Т.Л. Давидовська, Ю.І. Прилуцький**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка, біологічний факультет, кафедра біофізики,*

*вул. Володимирська, 64, 01033 Київ*

Надійшла до редакції 11 січня 2007 р.

Досліджено часову залежність змін системного артеріального тиску після ін'єкцій  $\gamma$ -аміномасляної кислоти (ГАМК) у кардіоваскулярні нейрони довгастого мозку щурів.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** довгастий мозок щурів, NO-синтезуючі кардіоваскулярні нейрони, артеріальний тиск, моделювання.

Оксид азоту за два останні десятиліття був виявлений і вивчався практично у всіх фізіологічних системах організму, які координуються мозком, включаючи систему кровообігу. До кардіоваскулярних NO-синтезуючих нейронів відносять ядро солітарного тракту, обопільне ядро, парамедіанне ретикулярне ядро та латеральне ретикулярне ядро [1-4]. Ядро солітарного тракту та парамедіанне ретикулярне ядро - є областями входу аферентних нейронів. Латеральне ретикулярне ядро та обопільне ядро - області виходу еферентних нейронів до серця і судин. Використання методу введення гена ендотеліальної NO-синтази в ядро солітарного тракту дало змогу отримати дані про те, що підвищення експресії ендотеліальної NO-синтази у ядрі солітарного тракту щурів, які не спали, супроводжувалося зниженням рівня системного артеріального тиску (САТ), частоти серцевих скорочень (ЧСС) і симпатичної нервової активності внаслідок збільшення вивільнення  $\gamma$ -аміномасляної кислоти (ГАМК), як з одного з основних гальмівних медіаторів центральної нервової системи (ЦНС) [5]. Ці дані постулюють залежність ефектів ГАМК від рівня продукції оксиду азоту NO-синтезуючими нейронами. У рамках модельного опису отриманих експериментальних даних нами вирішувалися такі два головні завдання. По-перше, ми спробували описати часові залежності системного артеріального тиску щурів після введення досліджуваної речовини у кардіоваскулярні нейрони довгастого мозку за допомогою універсальної математичної функції і, по-друге, надати фізичного тлумачення параметрам цієї модельної задачі.

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

У гострих експериментах використовували щурів масою 290-350 г, наркотизованих уретаном (1,7 г/кг, внутрішньоочеревинно). У сонну артерію вводили канюлю для вимірювання САТ за допомогою тензодатчика гемодинамічної установки ("Мік-ромед", Угорщина). Довгастий мозок оголяли після фіксування голови щура в стереотаксичному приладі СЕЖ-3, модифікованому для роботи на дрібних тваринах. Стереотаксичні координати досліджуваних ядер довгастого мозку - ядро солітарного тракту (NTS), обопільне ядро (AMB), парамедіанне ретикулярне ядро (PMn) і латеральне ретикулярне ядро (LRN) визначали за атласом [6]. Для мікроін'єкцій використовували мікрошприц з мікрометричним твинтом. У популяції нейронів досліджуваних медулярних ядер вводили ГАМК (38,8-194,0 нмоль). Після закінчення експерименту тварину декапітували. Довгастий мозок видаляли і фіксували у 10%-му розчині формаліну. Для гістологічної верифікації зони введення препаратів виготовляли зрізи мозку товщиною 60 мкм. Статистичний аналіз результатів вимірювань проводили з використанням критерію Стьюдента за допомогою стандартної комп'ютерної програми. Як статистично значимі розглядалися відміни зі значенням  $P < 0,05$ . Моделювання проводилося як аналітично, так і чисельно з використанням пакету програми "Математика".

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У попередніх наших дослідженнях було показано [7], що у щурів з нормальним тиском унілатеральні ін'єкції ГАМК у досліджену діапазоні доз у популяції нейронів дорсомедіального відділу довгастого мозку, які залучені в систему медулярного кардіоваскулярного контролю, супроводжувалися розвитком переважно гіпотензивних реакцій системного артеріального тиску. Так, введення ГАМК (87 нмоль) у популяції нейронів ядро солітарного тракту спричинило зниження рівня САТ у середньому на 20,3 % ( $n=8$ ,  $P < 0,01$ ) через 5 с після ін'єкції; через 10 с відмічалось максимальне його зниження, яке становило 24,4 % ( $P < 0,01$ ). Значне зменшення цього показника спостерігалось протягом перших 20-40 с, після чого він поступово повертався до вихідного рівня протягом 2-3 хв.

Ін'єкції ГАМК через 5 с після введення в обопільне ядро спричиняли зниження рівня системного артеріального тиску від  $90,0 \pm 1,4$  до  $69,3$  мм рт.ст.  $\pm 5,7$  мм рт.ст., тобто на 23 % ( $n=8$ ,  $P<0,02$ ). Максимальне зниження системного артеріального тиску на 30,4% ( $P<0,001$ ) спостерігалось через 10 с. Через 20 с цей показник знижувався на 29,1% ( $P<0,01$ ) і становив  $63,8$  мм рт.ст.  $\pm 3,6$  мм рт.ст. Тривалість реакції в середньому складала 4 хв. Через 5 с після введення ГАМК у парамедіанне ретикулярне ядро рівень системного артеріального тиску знизився на 17 % ( $n=8$ ,  $P<0,01$ ), через 10 с на 28 % ( $P<0,01$ ), через 20 с на 24,2% ( $P<0,02$ ). Гіпотензивна реакція САТ тривала в середньому 4 хв.

Введення ГАМК у латеральне ретикулярне ядро супроводжувалося через 5 с зниженням системного артеріального тиску на 20,7 % ( $n=8$ ,  $P<0,02$ ). Максимальне зниження цього показника, яке відмічалось через 20 с після ін'єкції, становило 25,6 % ( $P<0,01$ ). Через 30 с зниження САТ становило 24,1 % ( $P<0,02$ ). Тривалість гіпотензивної реакції складала в середньому 5 хв.

У цій роботі було проведено математичне моделювання ефектів ін'єкцій ГАМК у медулярні NO-синтезуючі кардіоваскулярні нейрони щурів. Детальний чисельний аналіз експериментальних даних в рамках розв'язання наших завдань засвідчив, що вони задовільно можуть бути відтворені за допомогою квадратичного поліному (параболічної залежності) "тиск (P) – час (t)":

$$P(t) = A + Bt + Ct^2.$$

З математичної точки зору, ця функція досягає екстремуму (мінімуму чи максимуму) у точці  $t_0 = -B/2C$ :

$$P_{\text{ext}}(t_0) = A - B^2/4C.$$

Параметри A, B і C мають такий фізичний зміст: параметр A відповідає значенню величини P (у нашому випадку системного артеріального тиску) у початковий момент часу  $t=0$ , тобто  $A=P(0)$ ; параметр B описує швидкість зміни величини P у початковий момент часу  $t=0$ , тобто  $B=P'(0)$ . Нарешті, параметр C є функцією параметрів A і B, а також екстремального значення величини P:  $C = B^2/4(A - P_{\text{ext}})$ .

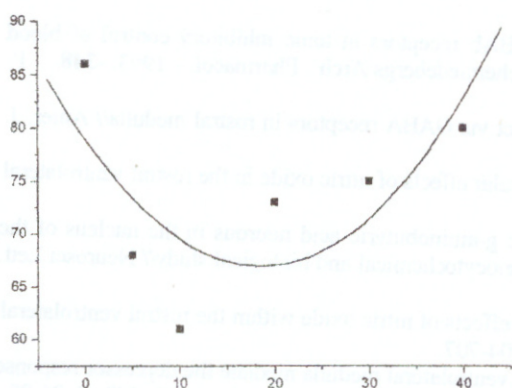
Розраховані часові залежності системного артеріального тиску щурів після введення досліджуваної речовини у різні ядра їх головного мозку для відповідних значень модельних параметрів наведені на рис. 1. Як бачимо, часова залежність системного артеріального тиску щурів після введення досліджуваних речовин у кардіоваскулярні нейрони довгастого мозку має однакову тенденцію, а саме системний артеріальний тиск щурів після введення ГАМК у різні ядра головного мозку спочатку спадає з часом до величини  $P_{\text{ext}}$ , а потім зростає за параболічним законом. Значення шуканих параметрів A, B,  $P_{\text{ext}}$  і C для усіх розглянутих випадків лежать відповідно у таких межах:  $A=(78-89)$  мм.рт.ст.;  $B=-(2,6-1,3)$  мм.рт.ст./с;  $P_{\text{ext}}=(57-65)$  мм.рт.ст. і  $C=(0,03-0,07)$  мм.рт.ст./с<sup>2</sup>. Звертає на себе увагу той факт, що у випадках ін'єкції ГАМК в парамедіанне ретикулярне ядро і латеральне ретикулярне ядро мінімальні значення системного артеріального тиску щурів практично співпадають:  $P_{\text{ext}} \approx 58$  мм.рт.ст. У випадках ін'єкції ГАМК в ядро солітарного тракту і обопільне ядро ці значення також суттєво не відрізняються. Це може свідчити про те, що в даних дослідженнях ін'єкції ГАМК у ці ядра довгастого мозку щурів мають подібний характер впливу на системний артеріальний тиск. Окрім того, швидкості зниження і зростання системного артеріального тиску щурів після введення ГАМК у різні ядра їх головного мозку є різними: найшвидше зниження і зростання системного артеріального тиску щурів спостерігається після ін'єкції ГАМК в латеральне ретикулярне ядро довгастого мозку. У випадках ін'єкції ГАМК в обопільне та парамедіанне ядро довгастого мозку щурів ці значення швидкості практично однакові.

## ВИСНОВКИ

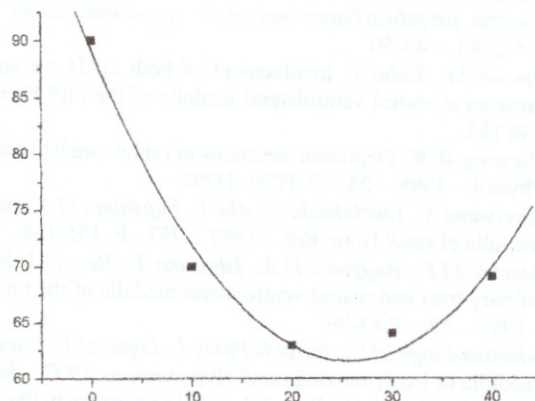
Відомо, що ГАМК є одним з основних гальмівних медіаторів ЦНС. У довгастому мозку щурів виявлено велику кількість ГАМКергічних нейронів і специфічних рецепторів ГАМК, включених у тонічний гальмівний контроль системи кровообігу [8-13]. Традиційно вважається, що в основі гальмівної дії ГАМК лежить або гіперполяризуючий вплив на постсинаптичну мембрану нейрона, або деполаризуючий вплив на аксонну терміналь (пресинаптичне гальмування). У цій ситуації логічним є зниження рівня САТ після мікроін'єкцій ГАМК у бульбарні симпто-активуючі кардіоваскулярні нейрони: гіперполяризація постсинаптичної мембрани симптоактивуючого нейрона пригнічує функціональну активність останнього, що призводить до послаблення низхідних симптоактивуючих впливів до серця і судин. Та обставина, що збільшення експресії eNOS у NTS щурів з нормальним артеріальним тиском і які не сплять [5], а також у RVLM у щурів зі спонтанною гіпертензією [14] супроводжувалося зниженням рівня САТ, ЧСС і симпатичної нервової активності внаслідок збільшення вивільнення ГАМК, свідчить про те, що NO може стимулювати синтез і вивільнення ГАМК у ЦНС. Це стало підставою припустити, що ефекти ГАМК можуть бути реалізовані за участю NO.

Нарешті, проведені нами модельні дослідження експериментальних даних з вивчення часової залежності системного артеріального тиску щурів після введення досліджуваної речовини у різні ядра головного мозку засвідчили, що теоретичні криві параболічного типу в цілому добре відтворюють ці

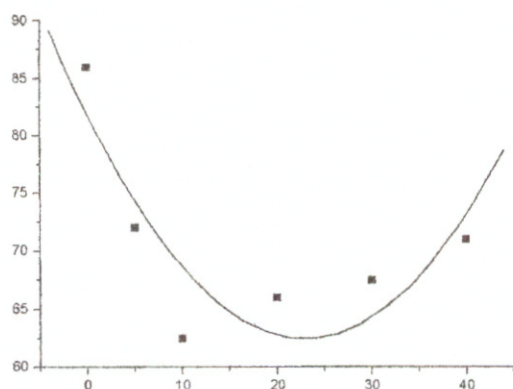
експериментальні результати. Це дає підставу говорити про універсальність параболічної функціональної залежності "тиск (P) – час (t)" у цьому випадку.



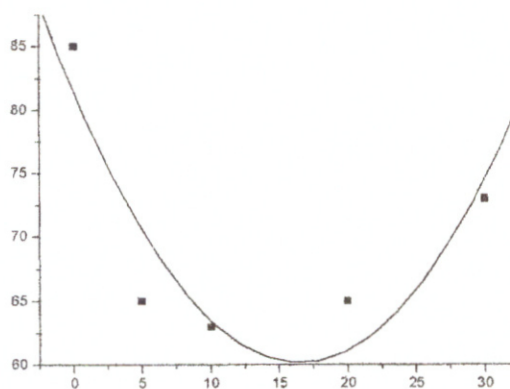
а) моделювання змін САТ після ін'єкцій ГАМК в ядро солітарного тракту довгастого мозку щурів:  $A=P(0)=78.89$ ;  $B=P'(0)=-1.29$ ;  $C=0.03$ ;  $t_0=21.5$ ;  $P_{\text{ext}}(t_0)=65.02$



б) моделювання змін САТ після ін'єкцій ГАМК в обопільне ядро довгастого мозку щурів:  $A=P(0)=89.08$ ;  $B=P'(0)=-2.13$ ;  $C=0.04$ ;  $t_0=26.63$ ;  $P_{\text{ext}}(t_0)=60.72$



в) моделювання змін САТ після ін'єкцій ГАМК в парамедіанне ядро довгастого мозку щурів:  $A=P(0)=81.79$ ;  $B=P'(0)=-1.68$ ;  $C=0.03$ ;  $t_0=28$ ;  $P_{\text{ext}}(t_0)=58.27$



г) моделювання змін САТ після ін'єкцій ГАМК в латеральне ретикулярне ядро довгастого мозку щурів:  $A=P(0)=81.43$ ;  $B=P'(0)=-2.58$ ;  $C=0.07$ ;  $t_0=18.43$ ;  $P_{\text{ext}}(t_0)=57.66$

Рис. 1. Розрахована (суцільна крива) часова залежність системного артеріального тиску щурів після введення ГАМК у медулярні кардіоваскулярні ядра: а) - ядро солітарного тракту; б) - обопільне ядро; в) - парамедіанне ядро; г) - латеральне ретикулярне ядро. Чорними квадратиками показані експериментальні дані. Вісь Y – тиск (мм.рт.ст.); вісь X – час (с).

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *De Vente J., Hopkins D.A., Maierink-Van L.M. et al.* Distribution of nitric oxide synthase and nitric oxide-receptive cyclic GMP-producing structures in the rat brain// *Neuroscience*. - 1998. - **87**. - P. 207-241.
2. *Gai W.P., Messenger J.P., Yu Y.H. et al.* Nitric oxide-synthesizing neurons in the central nervous subnucleus of the nucleus tractus solitarius provide a major innervation of the rostral nucleus ambiguus in the rabbit// *J.Comp.Neurol.* - 1995. - **357**. - P. 348-361.
3. *Vincent S.R., Kimura H.* Histochemical mapping of nitric oxide synthase in the rat brain// *Neuroscience*. - 1992. - **46**. - P. 755-784.
4. *Zanzinger J., Czachurski J., Sellar H.* Effects of nitric oxide on sympathetic baroreflex transmission in the nucleus tractus solitarii and caudal ventrolateral medulla in cats // *Ibid.* - 1995. - **197**. - P. 199-202.
5. *Sakai K., Hirooka Y., Matsuo I. et al.* Overexpression of eNOS in NTS causes hypotension and bradycardia in vivo// *Hypertension*. - 2000. - **36**. - P. 1023-1028.

6. Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. - N.J., Academic Press. - 1982. - 83 p.
7. Л.М.Шаповал, В.Ф.Сагач, С.С.Побігайло, Л.Г.Степаненко, Н.В.Єрмолінська Роль оксиду азоту в реалізації ефектів інтрабульбарно введеної  $\gamma$ -аміномасляної кислоти на систему кровообігу// Фізіол. журн., 2005, Т.51, №1, с.43-50
8. Amano M., Kubo T. Involvement of both GABA Aa and GABAB receptors in tonic inhibitory control of blood pressure at rostral ventrolateral medulla of the rat// Naunyn Schemiedebergs Arch . Pharmacol. - 1993. -**348**. P. 146-153.
9. Blessing W.W. Depressor neurones in rabbit caudal medulla act via GABA receptors in rostral medulla// Amer. J. Physiol. - 1988. - **23**. - P. H786-H792.
10. Kagiyama S., Tsuchihashi T., Abe I., Fujishima M. Cardiovascular effects of nitric oxide in the rostral ventrolateral medulla of rats// Brain Res. - 1997. - **757**. -P. 155-158.
11. Meeley M.P., Ruggiero D.A., Ishitsuka T., Reis D.J. Intrinsic g-aminobutyric acid neurons in the nucleus of the solitary tract and rostral ventrolateral medulla of the rat: immunocytochemical and biological study// Neurosci.Lett. - 1985. - **58**. - P.83-89.
12. Martins-Pinge M.C., Baraldi-Passy I., Lopes O.U. Excitatory effects of nitric oxide within the rostral ventrolateral medulla of freely moving rats// Hypertension. 1997.- **30**.- P. 704-707.
13. Ying J.P., Qian L.G., Peng L.L. GABA receptors in the rostral ventrolateral medulla mediate the depressor response induced by stimulation of the greater aplanchnic nerve afferent fibres in rats// Neurosci. Lett. -1998.-**249**.-P. 95-98.
14. Kishi T., Hirooka Y., Sakai K. et al. Overexpression of eNOS in the RVLM causes hypertension and drady-cardia via GABA release// Hypertension. - 2001. -**38**. - P. 896-904.