

Буй Тхи Хыонг

ВЛИЯНИЕ ГЛУТАМАТА НА СОСТОЯНИЕ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ АНЕСТЕЗИРОВАННОЙ КРЫСЫ

В острых экспериментах на анестезированных лабораторных крысах было исследовано влияние повышения церебрального уровня глутамата на состояние сердечно-сосудистой системы. Было установлено, что глутамат повышает среднее артериальное давление, увеличивает частоту сердечных сокращений и ослабляет барорефлекс. Полученные результаты подтверждают предположение о том, что ослабление барорефлекса является одним из механизмов, обеспечивающих реакцию кардиоваскулярной системы на повышение церебрального уровня глутамата.

Ключевые слова: нейромедиаторы, глутамат, кардиоваскулярная система, барорефлекс.

Bui Thi Huong

Glutamate Effect on cardiovascular system of the Anesthetized Rat

The acute experiments were performed on the anesthetized laboratory rats to study effects of the increased level of the cerebral glutamate on the cardiovascular system. It has been found that the glutamate microinjections into the lateral ventricles produced increases in the average blood pressure and heart rate, and baroreflex sensitivity has declined. The results obtained confirm the hypothesis that baroreflex weakening is one of the mechanisms providing reaction of cardiovascular system on the increase of cerebral level of glutamate.

Keywords: neurotransmitters, glutamate, blood pressure, heart rate, baroreflex.

Известно, что глутаматэргическая система играет важную роль в осуществлении центрального контроля висцеральных систем, в том числе сердечно-сосудистой системы. Это доказывается тем, что локальная аппликация глутамата, его миметиков и блокаторов различных типов глутаматных рецепторов к структурам нервной системы, участвующим в контроле кровообращения, приводит к существенным изменениям его параметров [5; 11; 10]. С другой стороны, установлено, что повышение церебрального уровня глутамата оказывает возбуждающий эффект на функции дыхания и кровообращения. Введение глутамата и его агонистов в цереброспинальную жидкость увеличивает частоту дыхания и дыхательный объём, повышает артериальное давление и частоту сердечных сокращений [1; 2; 4; 6]. Доказано, кроме того, что повышение церебрального уровня глутамата, а также введение в ликвор миметиков глутамата, изменяет силу рефлексов Геринга – Брейера, обеспечивающих объёмно-зависимую обратную связь в системе дыхания [1; 2]. Важным механизмом, реализующим обратную связь в системе кровообращения, является барорефлекс,

который обеспечивает поддержание стабильного уровня артериального давления. Его действие проявляется в том, что при повышении артериального давления происходит снижение частоты сердечных сокращений; и, наоборот, понижение артериального давления приводит к учащению сердцебиений. Однако известно, что повышение артериального давления при повышении церебрального уровня глутамата сопровождается, как правило, не уменьшением, а увеличением частоты сердечных сокращений [9]. Прямые экспериментальные данные относительно состояния барорефлекса при повышенном церебральном уровне глутамата отсутствуют.

Целью настоящей работы явилась экспериментальная проверка рабочей гипотезы, согласно которой повышение церебрального уровня глутамата приводит к ослаблению барорефлекса, реализующего петлю отрицательной обратной связи в системе кровообращения.

Экспериментальные данные были получены в острых опытах, выполненных на лабораторных крысах линии Wistar (самцы, вес 250–350 г, возраст 2–3 месяца, $n = 12$), в условиях общей анестезии (уретан, 1350 мг/кг, в/б). Глубина наркоза контролировалась по степени выраженности корнеального и болевого рефлексов. При помощи термоконтроллера (ML295/R, производство ADInstruments, Австралия) температура тела животного поддерживалась на уровне 36,8–37,0 °С. При подготовке животного к эксперименту в черепе расверливалось отверстие для стереотаксического введения микроинъектора в боковой желудочек головного мозга, устанавливались катетеры в правой бедренной артерии и вене.

Микроинъекции 5 мкл раствора, содержащего глутамат, производились со скоростью 1 мкл/мин при помощи шприца Гамильтона, соединённого с микроинъектором. Микроинъектор представлял собой тонкостенную металлическую трубку с наружным диаметром 0,5 мм.

Артериальный катетер присоединялся к переходной камере, установленной на датчике давления. Катетер и камера предварительно заполнялись физиологическим раствором, содержащим гепарин в концентрации 2500 ЕД/мл. Датчик давления присоединялся к входу мостового усилителя и калибровался при помощи манометра (мм рт. ст.). Сигнал от усилителя обрабатывался при помощи аппаратно-программного комплекса PowerLab 8/30 (ADInstruments, Австралия). С помощью пакета программ LabChart 7.0 рассчитывалась величина среднего АД (АД_{ср}) и частота сердечных сокращений (ЧСС). Все показатели выводились на экран и сохранялись на жёстком диске персонального компьютера.

Через катетер, установленный в бедренной вене, вводился раствор синтетического адреномиметика фенилэфрина (ФЭ), который вызывал сужение кровеносных сосудов и, как следствие, подъём АД. При этом происходило рефлекторное падение ЧСС. Для тестирования барорефлекса использовались следующие дозы ФЭ: 0,001 мг/кг; 0,003 мг/кг; 0,01 мг/кг; 0,05 мг/кг и 0,1 мг/кг. Величина изменений учитываемых параметров зависела от дозы ФЭ. Зависимость между величиной изменения АД_{ср} и ЧСС при действии разных доз ФЭ с хорошим приближением описывается уравнением регрессии $y = ax + b$. При этом коэффициент a определяет наклон аппроксимирующей прямой на графике зависимости ЧСС от АД и характеризует величину барорефлекторной чувствительности, то есть силу барорефлекса (Kent et al., 1972). Поэтому мы использовали этот коэффициент в качестве показателя барорефлекторной чувствительности. В каждом эксперименте барорефлекс тестировался до введения глутамата и три раза — после введения.

Статистическая обработка данных проводилась средствами программных пакетов MS Excel и Statistica 6.0. Вычислялись средняя величина регистрируемых параметров и стандартная ошибка. Проверка достоверности обнаруженных различий проводилась при по-

мощи однофакторного дисперсионного анализа. Различия считались статистически достоверными при $P < 0,05$.

Было установлено, что в наших экспериментальных условиях состояние сердечно-сосудистой системы крысы характеризуется следующими показателями: АДср = 100 ± 6 , мм рт. ст.; ЧСС = $382 \pm 8,3$, уд/мин, $a = 2,4 \pm 0,22$.

В течение 40 минут, предшествовавших введению глутамата, сохранялся стабильный уровень АДср и ЧСС, введение глутамата вызывало резкий рост обоих показателей, но их динамика была несколько различной (рис. 1, А, Б). АДср достигало максимальной величины на 10–15-й минуте после начала введения глутамата, затем оно плавно снижалось, достигая исходных величин через 50 минут после начала введения. Что касается ЧСС, то первоначально этот показатель также резко возрастал, достигая на 10–15-й минуте максимальной величины, а затем стабилизировался на уровне, близком к максимальному. На 30-й минуте начиналось снижение ЧСС, и через 20 минут этот показатель возвращался к исходным значениям.

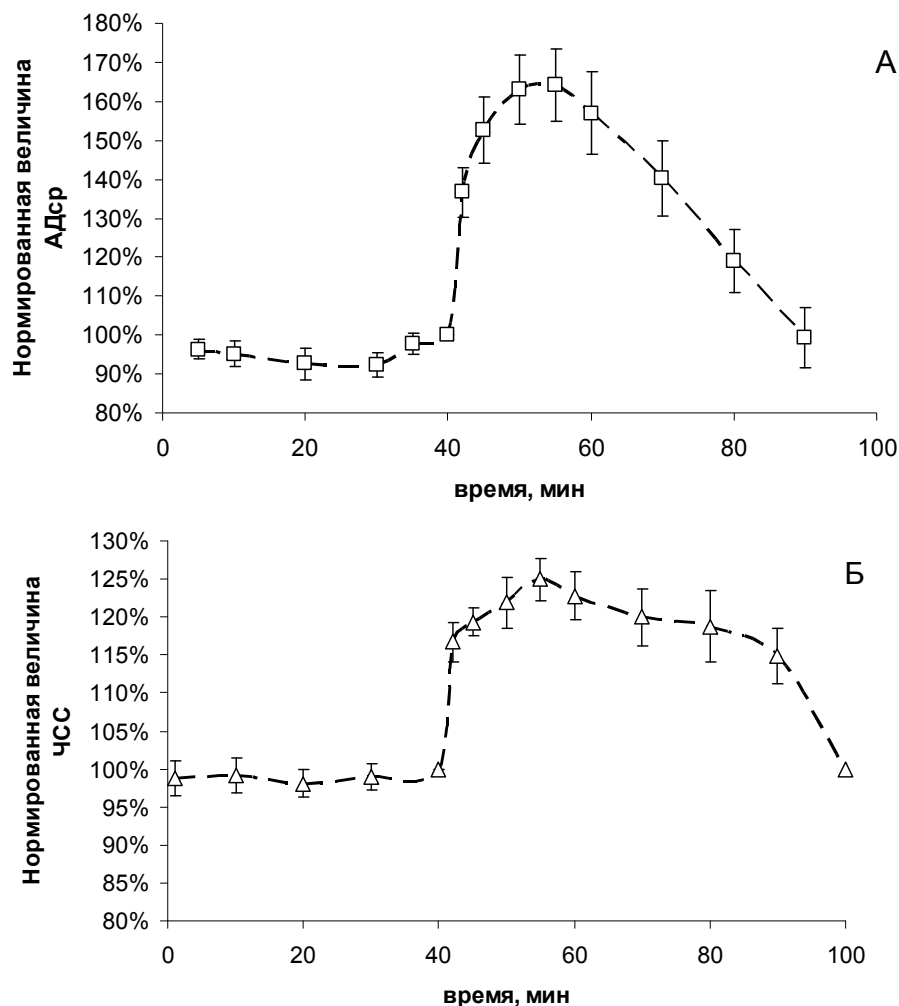


Рис. 1. Влияние церебровентрикулярной микроинъекции 12мкМ глутамата на АДср (А) и ЧСС (Б).

Оба параметра нормированы относительно их значений на 40-й минуте регистрации, то есть непосредственно перед введением вещества

Тестирование барорефлекса показало, что после введения глутамата происходит достоверное уменьшение силы барорефлекса (рис. 2). На 10-й минуте после начала введения глутамата показатель барорефлекторной чувствительности снижался до $1,6 \pm 0,20$, на 30-й — составлял $0,9 \pm 0,26$. Ещё через 20 минут показатель был равен $2,2 \pm 0,38$, то есть практически возвращался к фоновым значениям.

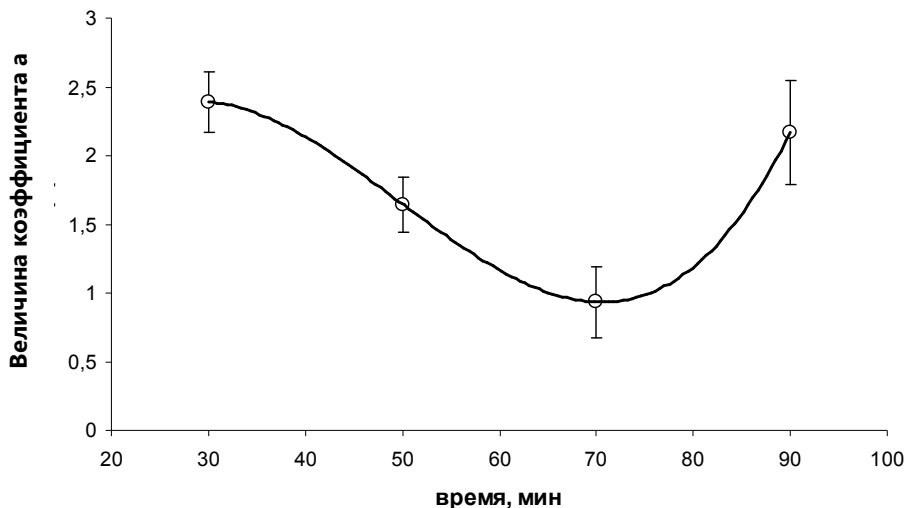


Рис. 2. Изменение барорефлекторной чувствительности под влиянием глутамата

Наши эксперименты показали, что церебровентрикулярное введение глутамата вызывает увеличение как ЧСС так и АД, то есть повышенный церебральный уровень глутамата является фактором, который оказывает возбуждающее действие на систему кровообращения. Сходные результаты были получены в результате исследований, выполненных ранее [9]. По-видимому, повышение АД и увеличение ЧСС являются следствием активации глутаматных рецепторов, которые обнаружены во многих структурах, участвующих в управлении автономными функциями и входящими в так называемую центральную автономную сеть [3]. Так, повышение АД и тахикардию наблюдали после введения глутамата в вентральную часть медиальной префронтальной коры [10]. Подъем АД происходил и после введения агониста глутамата — N-метил-D-аспартата (NMDA) в паравентрикулярное ядро гипоталамуса и в центральное ядро миндалины [5].

Вместе с тем активация глутаматных рецепторов, расположенных на нейронах центральной нервной сети, не всегда вызывает прессорные ответы и тахикардию. Введение NMDA в ядро одиночного тракта приводит к падению АД и брадикардии [7; 8]. Установлено также, что активация глутаматных рецепторов NMDA-типа, расположенных в пределах этого ядра, приводит к ослаблению барорефлекса [8]. Введение в ядро одиночного тракта кинуреновой кислоты, которая является блокатором глутаматных рецепторов, устраняет эффекты NMDA [11]. Поэтому можно полагать, что ослабление барорефлекторной чувствительности, которое в наших экспериментах происходило при повышении церебрального уровня глутамата, является следствием модуляции дуги барорефлекса, замыкающейся в пределах ядра одиночного тракта. В предыдущих исследованиях нами было установлено, что глутамат и NMDA при введении в ликвор изменяют силу рефлексов Геринга – Брейера, реализующих объёмно-зависимую обратную связь в системе дыхания [1; 2]. По-видимому,

изменение активности висцеральных рефлекторных дуг при изменении церебрального уровня глутамата является одним из важных механизмов, участвующих в контроле функций висцеральных систем.

Таким образом, результаты наших экспериментов подтверждают выдвинутую экспериментальную гипотезу. Они вполне согласуются с полученными ранее данными. Они доказывают, что повышенный уровень церебрального глутамата является фактором, уменьшающим величину барорефлекторной чувствительности и модулирующим эффективность отрицательной обратной связи в системе управления кровообращением.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александров В. Г., Буй Тхи Х., Александрова Н. П. Влияние повышенного церебрального уровня глутамата на состояние респираторной системы анестезированных крыс // Российский физиол. журн. им. И. М. Сеченова, 2012. Т. 98. № 7. С. 845–853.
2. Александров В. Г., Буй Тхи Хыонг, Александрова Н. П. Влияние N-метил-D-аспартата на паттерн дыхания и объёмно-зависимую обратную связь в системе дыхания анестезированной крысы // Известия РГПУ им. А. И. Герцена. СПб., 2012. № 147. С. 103–112.
3. Benarroch E. E. The central autonomic network: Functional organization, disfunction and perspective // Mayo Clin Proc. 1993. Vol. 68. № 10. P. 988–1001.
4. Burton M. D., Kazemi H. Neurotransmitters in central respiratory control // Resp. Physiol. 2000. V. 122. P. 111–121.
5. Gören M. Z., Akici A., Berkman K., Onat F. Cardiovascular responses to NMDA injected into nuclei of hypothalamus or amygdala in conscious rats // Pharmacology. 2000. V. 61. № 4. P. 257–262.
6. Kazemi H., Hoop B. Glutamic acid and gamma-aminobutyric acid neurotransmitters in central control of breathing // J. Appl Physiol. 1991. V. 70. № 1. P. 1–7.
7. Kubo T., Kihara M. Evidence of receptor-mediated modulation of the aortic baroreceptor reflex in the rat nucleus tractus solitarii // Neuroscience Letters 1988. Vol. 87. Issues 1–2, 22 April. P. 69–74.
8. Leone C., Gordon F. J. Is L-glutamate a neurotransmitter of baroreceptor information in the nucleus of the tractus solitarius // J. Pharmacol Exp Ther. 1989. 250(3):953-62.
9. Philippu A. Rev. Physiol. Regulation of Blood Pressure by Central Neurotransmitters and Neuropeptides. Biochem. Pharmacol. Vol. 111. Springer-Verlag, 1988.
10. Resstel L. B. M., Correa F. M. A. Injection of L-glutamate into medial prefrontal cortex induces cardiovascular responses through NMDA receptor – nitric oxide in rat Neuropharmacology. 51 (2006). 160–167.
11. Talman W. T. Kynurenic acid microinjected into the nucleus tractus solitarius of rat blocks the arterial baroreflex but not responses to glutamate // Neurosc Lett. 1989. V. 102. Issues 2–3, 31 July. P. 247–252.

REFERENCES

1. Aleksandrov V. G., Buj Thi H., Aleksandrova N. P. Vlijanie povyshennogo cerebral'nogo urovnja glutamata na sostojanie respiratornoj sistemy anestezirovannyh krysov // Rossijskij fiziol. zhurn. im. I. M. Sechenova, 2012. T. 98. № 7. S. 845–853.
2. Aleksandrov V. G., Buj Thi Hyong, Aleksandrova N. P. Vlijanie N-metil-D-aspartata na pattern dyhanija i obojomno-zavisimuju obratnuju svjaz' v sisteme dyhanija anestezirovannoj krysy // Izvestija RGPU im. A. I. Gercena. SPb., 2012. N 147. S. 103–112.
3. Benarroch E. E. The tsentral autonomic network: Functional organization, disfunction and perspective // Mayo Clin Proc. 1993. Vol. 68. N 10. P. 988–1001.
4. Burton M. D., Kazemi H. Neurotransmitters in tsentral respiratory control // Resp. Physiol. 2000. V. 122. P. 111–121.
5. Gören M. Z., Akici A., Berkman K., Onat F. Cardiovascular responses to NMDA injected into nuclei of hypothalamus or amygdala in conscious rats // Pharmacology. 2000. V. 61. N 4. P. 257–262.
6. Kazemi H., Hoop B. Glutamic acid and gamma-aminobutyric acid neurotransmitters in central control of breathing // J. Appl Physiol. 1991. V. 70. N. 1. P. 1–7.

7. *Kubo T., Kihara M.* Evidence of receptor-mediated modulation of the aortic baroreceptor reflex in the rat nucleus tractus solitarius // *Neuroscience Letters* 1988. Volume 87, Issues 1–2, 22 April. P. 69–74.
8. *Leone C., Gordon F. J.* Is L-glutamate a neurotransmitter of baroreceptor information in the nucleus of the tractus solitarius / *J. Pharmacol Exp Ther.* 1989. 250(3):953-62.
9. *Philippu A.* *Rev. Physiol. Regulation of Blood Pressure by Central Neurotransmitters and Neuropeptides.* Biochem. Pharmacol. Vol. 111. Springer-Verlag, 1988.
10. *Resstel L. B. M., Correa. F. M. A.* Injection of L-glutamate into medial prefrontal cortex induces cardiovascular responses through NMDA receptor — nitric oxide in rat *Neuropharmacology.* 51 (2006). P. 160–167.
11. *Talman W. T.* Kynurenic acid microinjected into the nucleus tractus solitarius of rat blocks the arterial baroreflex but not responses to glutamate // *Neurosc. Lett.* 1989.V. 102. Issues 2–3, 31 July. P. 247–252.