

Л.М. Шаповал, Л.С. Побігайло, Л.Г. Степаненко, О.В. Дмитренко, В.О. Бурій, В.Ф. Сагач

Вплив інтервального гіпоксичного тренування на гемодинамічні ефекти модуляції нейрональної NO-синтази в медулярних кардіоваскулярних нейронах довгастого мозку щурів

Інтервальне гіпоксичне тренування (ІГТ) щурів проводили у скляній камері місткістю 10 л у нормобаричних умовах за допомогою вентиляції камери гіпоксичною сумішшю (12 % O₂ в N₂) 5 разів по 15 хв з інтервалом у 15 хв щодня протягом 10 діб. Після чого в гострих експериментах на наркотизованих уретаном щурах (1,7 г/кг, внутрішньоочеревинно) вивчали вплив модуляції нейрональної NO-синтази (nNOS) в медулярних нейронах, які залучені в нервовий контроль судинного тону та серцевої діяльності. Отримані результати свідчать про те, що ІГТ супроводжувалось активацією nNOS у нейронах досліджених ядер. Ефект цієї активації виявився короточасним: найбільш виражене зниження системного артеріального тиску (САТ) відмічалось в першу добу після закінчення ІГТ, на другу добу ефект послаблювався, а через три доби не спостерігався зовсім. Пригнічення nNOS у кардіоваскулярних нейронах за допомогою ін'єкцій її інгібітора L-NNA в медулярні ядра супроводжувалося здебільшого підвищенням рівня САТ як у контрольних, так і у тренуваних щурів. Після попереднього пригнічення nNOS за допомогою 7-нітроіндазолу ін'єкції L-аргініну в медулярні ядра не призводили до розвитку гіпотензивних реакцій. Слід зазначити, що в першу добу після закінчення ІГТ вихідний рівень САТ виявився підвищеним, хоч це підвищення було статистично невірідним. Не виключено, що основою підвищення САТ одразу після ІГТ була активація симпатичної нервової системи щурів внаслідок стресорного впливу гіпоксії або їх розміщення у камеру для дослідження впливу гіпоксії.

Ключові слова: інтервальне гіпоксичне тренування, нейрональна NO-синтаза, медулярні кардіоваскулярні нейрони.

ВСТУП

Відомо, що оксид азоту (NO) виконує в організмі найважливіші сигнальні функції, виявляючи широкий спектр біологічної активності. Його участь у нервовому контролі кровообігу значною мірою реалізується через нейронні системи дорсомедіального та вентролатерального відділів довгастого мозку [10, 17, 25, 26, 29]. У довгастому мозку різних видів тварин ідентифіковані і навіть картовані NO-синтезуючі нейрони, які залучені в нервовий контроль функції

кровообігу [30]. В нервових клітинах NO синтезується через окиснення термінальної гуанідинової групи L-аргініну, і процес каталізується переважно нейрональною NO-синтазою (nNOS). Тому логічним є припущення, що гіпоксія повинна впливати на експресію нейрональної NO-синтази (nNOS) у кардіоваскулярних нейронах і, отже, на продукцію NO. Існують дані, що NO має важливе значення в адаптивних механізмах інтервальної гіпоксії, які включають активацію синтезу NO і обмеження його надмірної продукції [20, 21].

© Л.М. Шаповал, Л.С. Побігайло, Л.Г. Степаненко, О.В. Дмитренко, В.О. Бурій, В.Ф. Сагач

Механізми адаптації серцево-судинної системи до інтервальної гіпоксії досліджені досить широко [11, 21, 28]. Відомо, що тривалість, частота та жорсткість гіпоксії є тими критичними факторами, котрі визначають напрямок її впливу на серцево-судинну систему – від протекторного (антистресовий, антигіпертензивний) до шкідливого (легенева та системна гіпертензія, інфаркт міокарда, інсульт). Адаптацію до інтервальної гіпоксії пов'язують з кардіоваскулярною протекцією проти більш жорсткої та стійкої гіпоксії, а також проти інших стресів [8, 32]. Показано, що ІГТ впливає на серцево-судинну та центральну нервову систему, поліпшуючи метаболічні процеси внаслідок збільшення утворення мітохондрій у мозку та печінці, активації респіраторного комплексу 1 та ефективності оксидативного фосфорилування [4, 15, 18]. Аналіз наявної літератури свідчить про те, що в значній частині досліджень вивчали вплив ІГТ на периферичні компоненти серцево-судинної системи. Зокрема, з'ясовано, що адаптація до періодичної гіпоксії активує стрес-лімітуючу систему простагландинів у серці й організмі в цілому і може відігравати важливу роль у кардіопротекції за допомогою обмеження стресреакції та попередження стресорних ушкоджень [3], а також внаслідок підвищення активності кальцієвого насоса в мембранах саркоплазматичного ретикула [1]. Підвищена продукція NO внаслідок хронічної гіпоксії робить свій внесок у послаблення системної вазоконстрикції [24]. Протекторний вплив адаптації до інтервальної гіпоксії вже широко використовується для лікування та попередження багатьох захворювань, для підвищення ефективності тренувань. Однак вплив ІГТ на нервовий кардіоваскулярний контроль медулярними NO-синтезуючими нейронами до цього часу не досліджено. У зв'язку з цим мета нашої роботи – вивчення впливу ІГТ на ефекти модуляції активності nNOS в кардіоваскулярних нейронах довгастого мозку щурів.

МЕТОДИКА

Досліди проведено на щурах лінії Вістар, віком 12 міс, середньою масою $300 \text{ г} \pm 40 \text{ г}$. Тварин утримували у віварії і регулярно забезпечували свіжою підстилкою, їжею та водою. У всіх дослідах дотримувалися положення міжнародних угод і національного законодавства з біоетики. Контрольну групу склали щури ($n=10$), які дихали кімнатним повітрям. Щури дослідної групи ($n=10$) підлягали ІГТ, яке проводили у скляній камері об'ємом 10 л у нормобаричних умовах за допомогою вентиляції камери гіпоксичною сумішшю ($12\% \text{ O}_2$ в N_2) 5 разів по 15 хв з інтервалом у 15 хв щодня протягом 10 діб. Після чого в гострих експериментах на наркотизованих уретаном ($1,7 \text{ г/кг}$, внутрішньоочеревинно) щурах вивчали вплив модуляції nNOS у медулярних нейронах, які залучені в нервовий контроль судинного тонуусу і серцевої діяльності. Одночасно в камері перебували 5 щурів. Дослідження проводили протягом трьох діб після закінчення гіпоксичного тренування. В сонну артерію вводили канюлю для вимірювання системного артеріального тиску (САТ) за допомогою тензодатчика гемодинамічної установки. Частоту серцевих скорочень (ЧСС) розраховували за пульсовими коливаннями артеріального тиску. Після фіксації голови щура в стереотаксичному приладі відкривали дорсальну поверхню довгастого мозку. Тестречовини вводили у медулярні ядра (ядро солітарного тракту – NTS, обопільне ядро – АМВ, латеральне ретикулярне ядро – LRN) за допомогою мікроін'єкцій згідно з координатами стереотаксичного атласу [23]. У медулярні структури вводили субстрат для синтезу ендogenous NO амінокислоту L-аргінін ($5,8; 58,0 \text{ нмоль}$) і антагоніст nNOS L-N^oнітро-L-аргінін (L-NNA, $23,0 \text{ нмоль}$). Специфічний антагоніст nNOS 7-нітроіндазол (30 мг/кг) вводили внутрішньоочеревинно за 30 хв до початку експерименту. Зміни САТ реєстрували від моменту ін'єкції агента,

що досліджувався, в медулярні ядра до повного відновлення вихідного рівня САТ.

Статистичний аналіз отриманих результатів здійснювали за допомогою критерію t Стьюдента із застосуванням стандартної комп'ютерної програми. Значення $P < 0,05$ вважали статистично достовірними.

РЕЗУЛЬТАТИ

Вплив ін'єкцій L-аргініну в медулярні ядра контрольних щурів на рівень САТ. У контрольних щурів, які перебували в умовах нормоксії, активація nNOS унілатеральними ін'єкціями субстрата для синтезу ендогенного NO L-аргініну в популяції нейронів досліджених ядер супроводжувалася переважно дозозалежним зниженням САТ. Слід відзначити, що в деяких дослідах (30 %) спостерігалися гіпертензивні реакції на ін'єкції L-аргініну у медулярні ядра, і їх величина теж залежала від дози амінокислоти. Ми аналізували лише гіпотензивні реакції, зумовлені активацією nNOS. Рівень САТ при введенні 5,8 нмоль L-аргініну в NTS знижувався на 27,2 % (від $101,7 \pm 2,2$ до $74,0$ мм рт.ст. $\pm 3,5$ мм рт.ст.; $P < 0,05$), в AMB – 23,8 % (від $98,2 \pm 2,8$ до $74,8$ мм рт.ст. \pm мм рт.ст.; $P < 0,05$), а у LRN – 18,8 % ($P < 0,05$). Ін'єкції 58 нмоль

L-аргініну у медулярні ядра супроводжувалися більш вираженим зниженням САТ. Так, після введення цієї амінокислоти в NTS САТ зменшився в середньому на 41,4 % ($P < 0,01$, $n=10$), в AMB і LRN – на 35,2 % ($P < 0,01$, $n=10$) і 32,8 % ($P < 0,01$, $n=8$) відповідно. Для гіпотензивних реакцій характерним були короткий латентний період реакції (5 с), її максимум відмічали в середньому через 20–40 с. Вихідний рівень САТ відновлювався через 3–6 хв.

Вплив ІГТ на ефекти активації nNOS у медулярних кардіоваскулярних нейронах. Ефекти активації nNOS у кардіоваскулярних ядрах дорсомедіального відділу довгастого мозку досліджували протягом трьох діб після закінчення ІГТ. В першу добу ін'єкції L-аргініну (5,8 нмоль) в NTS призводили до зниження САТ в середньому на 35,8 % (від $109,4 \pm 4,2$ до $70,2$ мм рт.ст. $\pm 5,4$ мм рт.ст.; $P < 0,05$) відносно його вихідного рівня. Якщо порівняти зниження САТ на активацію nNOS в нейронах цього ядра у адаптованих до інтервальної гіпоксії щурів (35,8 %) з тими, що перебували в умовах нормоксії (27,2 %), то стає очевидним, що гіпотензивна реакція у щурів в першу добу після закінчення ІГТ була в середньому на 8 % більш виражена (рис. 1,а).

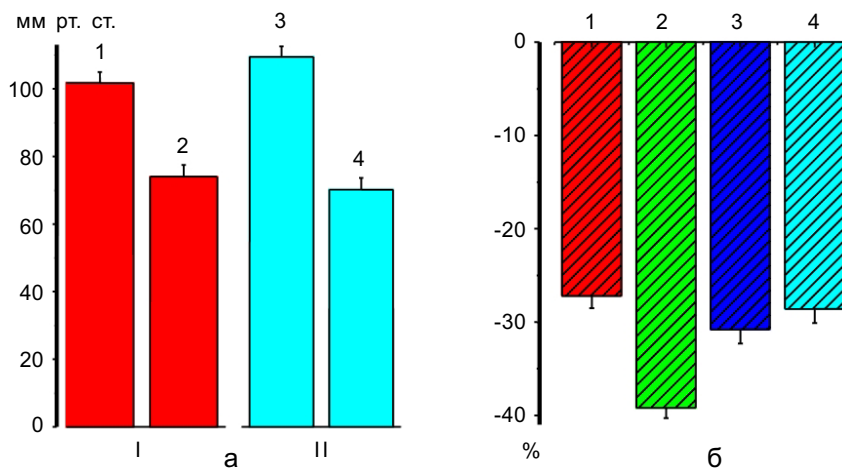


Рис. 1. Вплив інтервального гіпоксичного тренування (ІГТ) на зниження рівня системного артеріального тиску (САТ), викликане ін'єкціями L-аргініну в ядро солітарного тракту (NTS) щурів: а – абсолютні зміни, б – відносні зміни. На а: I – нормоксія, II – 1-ша доба після ІГТ; 1 – вихідний рівень, 2 – після введення L-аргініну; на б – 1 – нормоксія, 2, 3, 4 – 1-ша, 2-га і 3-тя доба після ІГТ відповідно

Ймовірно, що ІГТ в обраному нами режимі помірно посилювало активність nNOS у нейронах цього ядра. Слід зазначити, що ІГТ сприяло підвищенню вихідного рівня САТ (у середньому на 7,6 %) відразу після закінчення ІГТ (перша доба) він становив в середньому $109,4 \pm 4,2$, а в умовах нормоксії – $101,7$ мм рт.ст. $\pm 2,2$ мм рт.ст. Через дві доби ін'єкції L-аргініну в це ядро спричинювали зниження САТ у середньому на 30,8 % ($P < 0,05$) відносно його вихідного рівня, тобто ефект інтервальної гіпоксії зменшувався порівняно з першою добою (35,8 %), хоч залишався більш вираженим відносно контролю (27,2 %). Через три доби ін'єкції L-аргініну в це ядро призводили до зниження САТ, яке становило 28,6 % ($P < 0,05$) щодо його вихідного рівня (див. рис.1,б), тобто зміни цього показника практично не відрізнялися від тих, що були за умов нормоксії. Аналогічну закономірність ми відмічали після ін'єкцій L-аргініну в усі досліджувані медулярні ядра.

Так, в першу добу після закінчення ІГТ ін'єкції L-аргініну в АМВ призводили до зменшення САТ від $106,6 \pm 2,8$ до $72,6$ мм рт.ст. $\pm 3,1$ мм рт.ст. (на 31,9 %; $P < 0,05$; рис.2,а). Водночас у контрольних щурів САТ знижувався від $98,2 \pm 2,8$ до $74,8$ мм

рт.ст. $\pm 3,2$ мм рт.ст., що становило 23,8 % ($P < 0,05$). Порівняльний аналіз ефектів активації nNOS свідчить про те, що після ІГТ гіпотензивна реакція на дію L-аргініну в це ядро збільшилася в середньому на 8,1 %, і вихідний рівень САТ підвищився в середньому на 8,6 % відносно контрольних значень. Через дві доби ефект тренування послаблювався: якщо в першу добу зниження САТ було в середньому 31,9 %, то через дві доби після ін'єкції амінокислоти воно становило 28,6 % ($P < 0,05$). Через три доби зниження САТ на активацію nNOS було в середньому 24,8 % ($P < 0,05$), тобто гіпотензивна реакція на введення L-аргініну в популяції нейронів АМВ практично не відрізнялася від контрольної (23,8 %; див. рис.2,б).

Ін'єкції L-аргініну в LRN адаптованих до ІГТ щурів, які проводилися в першу добу після його закінчення, супроводжувалися зниженням САТ від $102,2 \pm 2,6$ до $74,8$ мм рт.ст. $\pm 3,2$ мм рт.ст. (26,8 %; $P < 0,05$). Зниження цього показника було в середньому на 8 % більш вираженим у порівнянні з контрольними щурами (18,8 %; рис.3,а). Крім того, у останніх САТ на ін'єкції L-аргініну в LRN знижувався від $94,6 \pm 2,2$ до $76,8$ мм рт.ст. $\pm 2,8$ мм рт.ст. ($P < 0,05$), тобто ІГТ

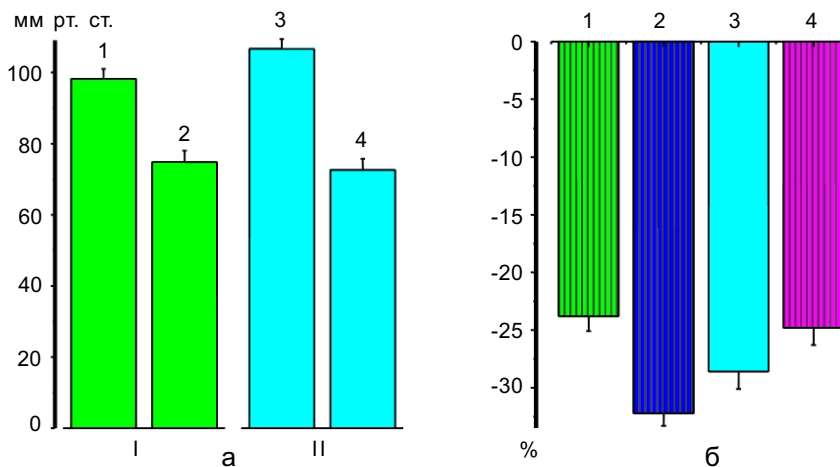


Рис.2. Вплив інтервального гіпоксичного тренування (ІГТ) на зниження рівня системного артеріального тиску (САТ), викликане ін'єкціями L-аргініну в обопільне ядро (АМВ) щурів: а – абсолютні зміни, б – відносні зміни. На а: I – нормоксія, II – 1-ша доба після ІГТ; 1 – вихідний рівень, 2 – після введення L-аргініну; на б – 1 – нормоксія, 2, 3, 4 – 1-ша, 2-га і 3-тя доба після ІГТ відповідно

сприяло, з одного боку, підвищенню вихідного рівня САТ, а з іншого, – посилювало ефект амінокислоти в це ядро (див. рис. 3,а). Як і при активації nNOS у нейронах інших медулярних ядер, вплив ІГТ виявився короточасним, він послаблювався на другу добу після закінчення гіпоксичного тренування та через три доби практично не відмічався (див. рис.3,б). Через три доби після закінчення ІГТ ін'єкції L-аргініну в це ядро супроводжувалися зниженням САТ, значення якого практично не відрізнялося від контрольного.

При ін'єкціях 58 нмоль L-аргініну в медулярні ядра спостерігалися такі самі закономірності, як при введенні меншої дози амінокислоти. В першу добу після закінчення ІГТ активація синтезу ендогенної nNOS спричинювало зниження САТ у середньому на 49,2 % ($P<0,01$) при ін'єкціях L-аргініну в NTS, на 39,2 % ($P<0,01$) при ін'єкціях L-аргініну в AMB, і на 38,4 % ($P<0,01$) – в LRN. Через три доби ефект введення L-аргініну в медулярні ядра практично не відрізнявся від контролю.

У проведеному дослідженні ми не спостерігали суттєвих змін ЧСС після введення L-аргініну в медулярні ядра. Це було зумовлено особливостями проведення

експерименту: в переважній частині дослідів проводили лівосторонні ін'єкції амінокислоти. В попередніх дослідженнях ми проаналізували структуру гемодинамічної реакції на вплив різних чинників у популяції нейронів довгастого мозку [5, 6, 27] і з'ясували, що в основі зниження САТ як інтегративного показника стану серцево-судинної системи на лівосторонні ін'єкції гальмівних агентів лежало переважно зменшення опору в периферичних судинах без істотних змін серцевого компонента реакції, в той час як правосторонні ін'єкції супроводжувалися зниженням САТ, зумовленим переважно зменшенням ЧСС. В окремих випадках при проведенні правосторонніх ін'єкцій L-аргініну ми відмічали незначне зменшення ЧСС.

Аналіз результатів показує, що ІГТ в обраному нами режимі сприяло помірній активації nNOS, про що свідчило збільшення вираженості гіпотензивної реакції на ін'єкції L-аргініну порівняно зі значеннями у контрольних щурів. Цей ефект ІГТ виявився дуже короточасним: посилення реакції САТ спостерігалось у першу добу після його закінчення, в наступні доби вплив гіпоксичного тренування послаблювався і через три доби був практично відсутнім. Тобто величина гіпотен-

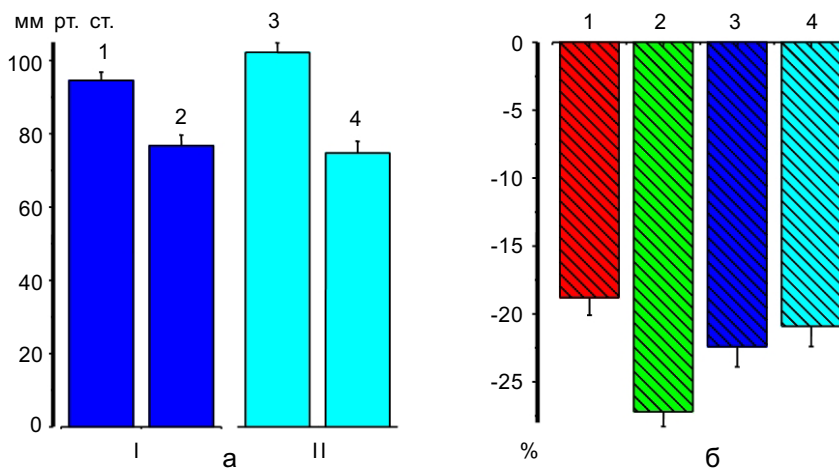


Рис.3. Вплив інтервального гіпоксичного тренування (ІГТ) на зниження рівня системного артеріального тиску (САТ), викликане ін'єкціями L-аргініну в латеральне ретикулярне ядро (LRN) щурів: а – абсолютні зміни, б – відносні зміни. На а: I – нормоксія, II – 1-ша доба після ІГТ; 1 – вихідний рівень, 2 – після введення L-аргініну; на б – 1 – нормоксія, 2, 3, 4 – 1-ша, 2-га і 3-тя доба після ІГТ відповідно

зивної реакції на ін'єкції L-аргініну в усі досліджувані медулярні ядра, через три доби практично не відрізнялась від тієї, що спостерігалась в умовах нормоксії.

Вплив ІГТ на ефекти пригнічення nNOS в медулярних кардіоваскулярних нейронах. За умов нормоксії ін'єкції інгібітора nNOS L-NNA в усі досліджувані медулярні ядра призводили до підвищення САТ у переважній більшості дослідів. Так, після його введення в NTS цей показник підвищився в середньому на 35,2 % ($P < 0,05$); у AMB – на 25,0 % ($P < 0,05$) і в LRN – на 24,1 % ($P < 0,05$; рис.4,а). Ін'єкції L-аргініну у медулярні ядра після попереднього введення специфічного антагоніста nNOS 7-нітроіндазолу істотно не впливали.

Після ІГТ пригнічення nNOS ін'єкціями її інгібітора L-NNA у медулярні ядра, супроводжувалися розвитком гіпертензивних реакцій, які були подібними до таких у щурів за умов нормоксії. Так, після введення L-NNA в NTS рівень САТ підвищився в середньому на 36,2 % ($P < 0,05$), в AMB – на 26,0 % ($P < 0,05$) і в LRN – на 25,4 % ($P < 0,05$). Ін'єкції L-аргініну в усі досліджувані ядра не спричинювали суттєвих змін САТ після попереднього введення специфічного антагоніста nNOS 7-нітроіндазолу.

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Під час проведення дослідження ми з'ясували, що у щурів інтервальна гіпоксія сприяла підвищенню САТ в першу добу після закінчення гіпоксичного тренування в середньому на 7,6 мм рт.ст (7,6–8,6 %, $P > 0,05$) відносно контрольного, хоч воно і було статистично невірогідним. Тенденція до підвищення САТ скоріше за все була наслідком того, що щури певною мірою реагували на гіпоксичні інтервенції, як на стресорні впливи. Вважають, що викликане інтервальною гіпоксією підвищення САТ залежить від низки факторів, насамперед від нервових і гормональних змін, які впливають на регуляцію серцево-судинної системи на центральному та периферичному рівні. Так, отримано дані, що інтервальна гіпоксія стимулює периферичні хеморецептори, посилюючи симпатичні впливи на надниркові залози, серце і судини підвищуючи САТ [7, 16], тому після попередньої денервації каротидного тільця підвищення артеріального тиску не відмічається [31]. Більш виражене підвищення САТ (на 13,7 мм рт.ст.), але в іншому режимі гіпоксії спостерігали інші дослідники [11]. Як з'ясувалось, інтервальна гіпоксія сприяє підвищенню експресії c-fos у NTS і

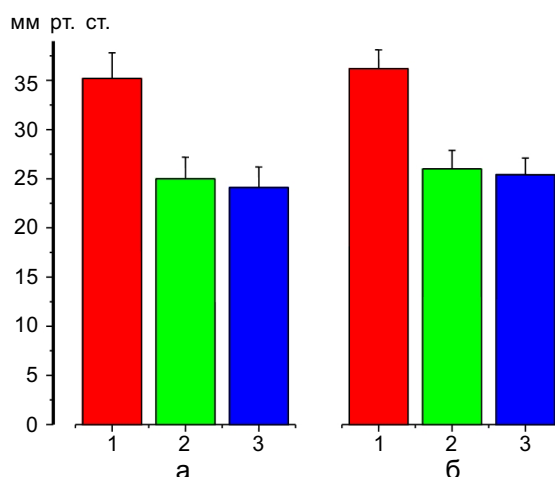


Рис.4. Зміни рівня системного артеріального тиску (САТ), викликані ін'єкціями інгібітора нейрональної NO-синтази в ядро солітарного тракту (1), обопільне ядро (2) і латеральне ретикулярне ядро (3) щурів за умов нормоксії (а) та після інтервального гіпоксичного тренування (б)

у вентролатеральному відділі довгастого мозку [13], тобто в тих відділах довгастого мозку шурів, які включені в тонічний і рефлекторний контроль симпатичної активності і які інтегрують периферичні аферентні входи від хеморецепторів із симпатичним виходом до органів-мішеней. Отже, сукупність отриманих даних свідчить про те, що інтервальна гіпоксія може сприяти помірній активації центрального та периферичного апарату симпатичної нервової системи, що пояснює деяке підвищення САТ за цих умов. Аналіз проведених до цього часу даних щодо впливу інтервальної гіпоксії на САТ показує наявність відмінностей у напрямку його змін, значною мірою зумовлених особливостями гіпоксичного режиму, використаного різними авторами [28]. Так, отримані дані, що короткочасна і жорстка гіпоксія може викликати стійку гіпертензію у людей і тварин, а адаптація до нормо- і гіпобаричного гіпоксичного тренування здатна попереджувати розвиток експериментальної гіпертензії і навіть зменшувати САТ у тварин з гіпертензією [12, 16]. Слід зазначити, що в багатьох клінічних дослідженнях адаптація до інтервальної гіпоксії декларується як антигіпертензивний засіб [29]. Однак деякі автори [2] вважають, що у шурів зі спонтанною гіпертензією адаптація до ІГТ не завжди супроводжується зниженням САТ, і воно взагалі не спостерігається у шурів з нормальним артеріальним тиском [16]. Складається враження, що існують певні відмінності між людиною та щурами в їх реакції на ІГТ. У проведеному нами дослідженні використано шурів з нормальним артеріальним тиском і теж не спостерігали зниження САТ після закінчення ІГТ. Більше того, одразу після закінчення гіпоксичного тренування САТ мав тенденцію до підвищення. Можливо, це пов'язано з тим, що процедура гіпоксичного тренування для тварин є більшим стресом, ніж для людей. Та обставина, що ІГТ в обраному нами режимі не супроводжувалося значним і

стійким підвищенням САТ, свідчить про те, що гіпоксія була відносно м'якою. З іншого боку, та обставина, що незначне підвищення САТ ми відмічали лише в першу добу після закінчення ІГТ і не спостерігали в наступні доби дає підставу думати, що, можливо, підвищення цього показника більшою мірою є реакцією щура на стрес при його перебуванні в камері, ніж на гіпоксію.

Вважають, що оксид азоту відіграє ключову роль в адаптивних механізмах до гіпоксії внаслідок стимуляції його синтезу й обмеження надмірної продукції, що сприяє кардіопротекції, вазопротекції, нейропротекції та антистресовому захисту [19–21]. Як відомо, продукція NO є кальційзалежним процесом. Нині отримано дані [1], що адаптація до періодичної гіпоксії підвищує активність кальцієвого насоса в мембранах саркоплазматичного ретикулама кардіоміоцитів, що сприяє збільшенню продукції NO. Доведено також [14], що гіпоксія потенціює синтез NO і збільшує вміст цитозольного кальцію в ендотеліальних клітинах легеневої артерії. В наших попередніх дослідженнях показано, що активація nNOS за допомогою ін'єкцій L-аргініну в популяції медулярних нейронів, залучених у нервовий контроль функції кровообігу, супроводжується розвитком переважно гіпотензивних реакцій внаслідок послаблення низхідних симпатотивуючих впливів до серця і судин [27]. У проведеному нами дослідженні ІГТ посилювало гіпотензивні ефекти активації nNOS у порівнянні з тими реакціями, що спостерігалися на введення аналогічних доз L-аргініну в медулярні ядра в умовах нормоксії. Порівняльний аналіз гіпотензивної реакції, котра розвивається на ін'єкції субстрату для синтезу ендогенного NO амінокислоти у популяції кардіоваскулярних нейронів показав, що ефекти активації nNOS у всіх досліджених ядрах довгастого мозку були якісно і кількісно подібними. Слід зазначити, що найбільш виражене збільшення гіпотензивних реакцій на ін'єкції L-аргініну в

медулярні ядра відносно тих, що відмічалися нами у щурів, які перебували в умовах нормоксії, ми спостерігали тільки в першу добу після закінчення ІГТ, після чого ефект інтервальної гіпоксії послаблювався. Тобто ІГТ у тому режимі, який ми використали, мало досить короточасний вплив на систему нервового контролю функції кровообігу NO-синтезуючими нейронами довгастого мозку. Складається враження, що тривалість і ефект ІГТ частково залежать від його режиму. Так, адаптація до гіпоксії (12–10 % O₂, 4–5 год на добу протягом 40 діб) виявляла виражений гіпотензивний ефект у щурів зі спонтанною гіпертензією [20, 22]. Аналогічним чином, гіпотензивні ефекти спостерігались у щурів і пацієнтів після нормобаричного дихання газовою сумішшю (9–14 % O₂, 3–8 хв з трихвилинними нормоксичними інтервалами, 40–60 хв на добу, протягом 20–30 діб) [9]. Результати проведеного нами дослідження свідчать про те, що помірна гіпоксія (12 % O₂) протягом досить короткого часу (10 діб) здатна активувати синтез оксиду азоту медулярними кардіоваскулярними нейронами, що може мати позитивне значення для осіб з підвищеним САТ. Аналіз отриманих результатів дає змогу думати, що під час ІГТ ми спостерігали дві протилежно спрямовані тенденції: з одного боку, певною мірою відбувалась активація симпатичної нервової системи, яка сприяла підвищенню вихідного САТ, а з іншого – посилювалась активність nNOS, що створювало передумови для зниження САТ.

Робота виконана за підтримки ДФФД України.

Л. Н. Шаповал, Л.С. Побігайло, Л.Г. Степаненко, О.В. Дмитренко, В.О. Бурій, В.Ф. Сагач

**ВЛИЯНИЕ ИНТЕРВАЛЬНОЙ
ГИПОКСИЧЕСКОЙ ТРЕНИРОВКИ
НА ГЕМОДИНАМИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ
МОДУЛЯЦИИ НЕЙРОНАЛЬНОЙ
NO-СИНТАЗЫ В МЕДУЛЯРНЫХ
КАРДИОВАСКУЛЯРНЫХ НЕЙРОНАХ
ПРОДОЛГОВАТОГО МОЗГА КРЫС**

В экспериментах использовались крысы линии Вистар

массой 300 г ± 40 г. Интервальную гипоксическую тренировку (ИГТ) у крыс проводили в специальной камере объемом 10 л в нормобарических условиях с помощью вентиляции камеры гипоксической смесью (12 % O₂ в N₂) 5 раз по 15 мин с интервалом в 15 мин ежедневно в течение 10 сут. После окончания гипоксической тренировки в острых опытах на наркотизированных уретаном крысах (1,7 г/кг, внутривенно) исследовали влияние ИГТ на эффекты модуляции активности нейрональной NO-синтазы (nNOS) в нейронах кардиоваскулярных ядер продолговатого мозга (ядро солитарного тракта, обоюдное ядро, латеральное ретикулярное ядро). Показано, что ИГТ в указанном режиме сопровождалась развитием более выраженных гипотензивных реакций на инъекции L-аргинина в исследованные медулярные ядра по сравнению с теми, которые развивались на инъекции этой аминокислоты у контрольных крыс в условиях нормоксии. Полученные результаты свидетельствуют о том, что ИГТ способствовала умеренной активации nNOS в нейронах исследованных ядер. Эффект активации nNOS оказался кратковременным и не наблюдался через 3 сут после ее окончания. Угнетение nNOS с помощью инъекций ее ингибитора L-NNA (23,0 нмоль) в медулярные ядра сопровождалось преимущественно повышением уровня САД, которое было подобным у тренированных животных и у крыс в условиях нормоксии. Эффекты инъекций L-аргинина в медулярные ядра исключались предварительным введением специфического антагониста nNOS 7-нитроиндазола. В первые сутки после окончания гипоксической тренировки отмечалась тенденция к повышению исходного уровня САД, что могло быть следствием незначительной активации симпатической нервной системы в результате стрессорного воздействия, с одной стороны, гипоксии, а с другой стороны, нельзя исключить возможность некоторого стрессорного воздействия помещения крыс в камеру для гипоксических тренировок. Ключевые слова: интервальная гипоксическая тренировка, нейрональная NO-синтаза, медулярные кардиоваскулярные нейроны.

**L.M.Shapoval, L.S.Pobigailo, L.G.Stepanenko,
O.V.Dmytrenko, V.O.Bury, V.F.Sagach**

**INFLUENCE OF INTERMITTENT HYPOXIC
TRAINING ON HAEMODYNAMIC EFFECTS
OF NNOS ACTIVATION IN MEDULLARY
CARDIOVASCULAR NEURONS OF RATS**

In our experiments, male Wistar rats, body weight 300 g ± 40 g, were exposed to intermittent hypoxia in a special chamber by its ventilation with hypoxic mixture containing 12 % O₂ in N₂ 5 times a day for 15 minutes with 15 min break for 10 days. After completing intermittent hypoxic training, in acute experiments on anesthetized with urethane (1.7 g/kg) rats, we studied changes in the systemic arterial pressure (SAP) induced by a modulation of neuronal NO-synthase (nNOS) ac-

tivity in the neurons of the medullary cardiovascular nuclei (nucleus of tractus solitarius, NTS; nucleus ambiguus, AMB, lateral reticular nucleus, LRN). In control rats housed in normoxic conditions, nNOS activation with injections of L-arginine (5.8 -58.0 nmol) into the medullary nuclei involved in the cardiovascular control induced the SAP lowering in most experiments in a dose-dependent manner. In rats submitted to intermittent hypoxic training, nNOS activation with injections of L-arginine (5.8 -58.0 nmol) into the medullary nuclei under study resulted in hypotensive responses which were more expressed as compared with those responses induced by its injections into the medullary nuclei in rats under normoxia. The data obtained give evidence for some additional activation of neuronal NO-synthase in the neurons of the medullary nuclei following intermittent hypoxic training. Effects of nNOS activation were comparable in all the tested nuclei. The effect of nNOS activation was quite short-lasting, it was the most pronounced on the first day after completing hypoxic training. In three days after hypoxic training, injections of L-arginine into tested medullary nuclei resulted in the SAP drop that was similar to that in control animals housed in normoxic conditions. On the contrary, inhibition of nNOS in the neurons induced by injections of NOS-1-antagonist L-NNA (23.0 nmol) into the medullary cardiovascular nuclei resulted in a comparable increase in the SAP in both control and hypoxically trained rats. Effects of L-arginine injections into the medullary nuclei were blocked by preliminary administration of a specific nNOS inhibitor 7-nitroindazol. We noticed that intermittent hypoxic training was followed with the SAP elevation observed on the first day after training. Although it was statistically insignificant, and we observed the elevated SAP just after completing hypoxic training, these data provide evidence to support the concept that rats submitted to intermittent hypoxia exhibit an increase in sympathetic activity. The SAP elevation might be also induced by the stressor effect of keeping rats in a chamber to provide hypoxic training. There is an impression that intermittent hypoxic training might lead to two simultaneous but opposite directed results: an activation of sympathetic nervous system and an activation of nNOS in the medullary neurons. Key words: Intermittent hypoxic training, neuronal NO-synthase, medullary cardiovascular neurons.

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology of National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Архипенко Ю.В., Сазонтова Т.Г., Рожицкая И.И., Меерсон Ф.З. Влияние адаптации к периодической гипоксии на Ca^{2+} -насос саркоплазматического ретикулума сердца и его устойчивость к эндогенным повреждающим факторам// Кардиология. – 1992. – **32**, №6. – С. 57–61.
2. Кошелев В.Б., Пинелис В.Г., Вакулина Т.П. и др. Влияние адаптации к высокогорной гипоксии на развитие структурных изменений в резистивных сосудах спонтанно гипертензивных крыс// Там же. –

1985. – **25**. – С. 80–84.
3. Пшенникова М.Г., Кузнецова В.А., Копылов Ю.Н. и др. Роль системы простагландинов в кардиопротекторном действии адаптации к гипоксии при стрессе// Там же. – 1992. – **32**, №3. – С. 61–64.
4. Серебровська Т.В., Кургалюк Н.М., Носар В.І., Колеснікова Є.Е. Вплив інтервальних гіпоксичних тренувань та екзогенного оксиду азоту на процеси енергозабезпечення та ліпопероксидації у печінці щурів за умов гострої гіпоксії // Фізіол. журн. – 2001. – **47**, №1. – С. 85–92.
5. Шаповал Л.Н., Сагач В.Ф., Побегайло ЛС. и др. Участие оксида азота в медуллярном контроле функции кровообращения у нормотензивных крыс// Нейрофизиология. – 2002. – **34**, №4. – С. 294–302.
6. Шаповал Л.Н., Дмитренко О.В., Побегайло Л.С. и др. Гемодинамические реакции, индуцируемые модуляцией активности системы оксида азота и проницаемости митохондриальных мембран в медуллярных кардиоваскулярных нейронах// Там же. – 2007. – **39**, №3. – С. 232–244.
7. Braga V.A., Soriano R.N., Machado B.H. Sympathoexcitatory response to peripheral chemoreflex activation is enhanced in juvenile rats exposed to chronic intermittent hypoxia// Exp. Physiol. – 2006. – **91**. – P. 1025–1031.
8. Cai Z., Manalo D.J., Wei G. et al. Hearts from rodents exposed to intermittent hypoxia or erythropoietin are protected against ischemia-reperfusion injury// Circulation. – 2003. – **108**. – P. 79–85.
9. Chizhov A.Ya., Potievskaya V.I. Intermittent normobaric hypoxia in prevention and treatment of essential hypertension. Moscow: Russian University of People's Friendship. – 2002.
10. Chowdary S., N. Townend. Role of nitric oxide in the regulation of cardiovascular autonomic control// Clin. Sci. – 1999. – P. 5–17.
11. Fletcher E.C. Physiological and Genomic Consequences of intermittent hypoxia. Invited review: Physiological consequences of intermittent hypoxia: systemic arterial pressure// J.Appl. Physiol. – 2001. – **90**. – P. 1600–1605.
12. Foster G.E., Poulin M.J., Hanly P.J. Intermittent hypoxia and vascular function: implication for obstructive sleep apnoea// Ibid. – 2007. – **92**. – P. 51–65.
13. Greenberg H.E., Sica A.L., Scharf S.M., Ruggiero D.A. Expression of c-fos in the rat brainstem after chronic intermittent hypoxia// Brain Res. – 1999. – **816**. – P. 638–645.
14. Hampl V., Comfield D.N., Cowan N.J., Archer S.L. Hypoxia potentiates nitric oxide synthesis and transiently increases cytosolic calcium levels in pulmonary artery endothelial cells// Eur. Respir. J. – 1995. – **8**. – P. 515–522.
15. Hochachka P., Buck L., Doll C., Land S. Unifying theory of hypoxia tolerance: Molecular/metabolic defence and rescue mechanisms for surviving oxygen lack// Proc.Natl.Acad.Sci. USA. – 1996. – **93**. – P.9493–9498.
16. Henley W.N., Bellush L.L., Tucker A. Sympathetic

- and metabolic correlates of hypoxic moderation of spontaneous hypertension in the rat// Proc. Soc. Exp. Biol. Med. – 1989. – **192**, №2. – P. 114–120.
17. Krukoff T.I. Central actions of nitric oxide in regulation of autonomic functions// Brain Res. – 1999. – **30**. – P. 52–65.
 18. Lukyanova L.D. Novel approach to the understanding of molecular mechanisms of adaptation to hypoxia. – In: Hargens A., Takeda N., Singal P.K., Eds. Adaptation Biology and Medicine, v.4 Current Concepts. New Dehli, Narosa, pp 1–19. – 2005.
 19. Malyshev I.Y., Zenina T.A., Golubeva L.Y. et al. NO-dependent mechanisms of adaptation to hypoxia// Nitric Oxide. – 1999. – **3**. – P. 105–113.
 20. Manukhina E.B., Mashina Slu., Smirin B.V. et al. Role of nitric oxide in adaptation to hypoxia and adaptive defense// Phys.Res. – 2000. – **49**. – P. 89–97.
 21. Manukhina E.B., Downey H.F., Mallet R.T. Role of nitric oxide in cardiovascular adaptation to intermittent hypoxia //Exp.Biol.Med. – 2006. – **231**. – P. 343–365.
 22. Obrezhikova M.N., Kharchenko I.B., Tarasova O.S., Koshelev V.B. Intermittent hypoxic training in an altitude chamber decelerates but not prevents development of genetically determined hypertension in rats// Hypox. Med. J. – 1997. – P. 3–7.
 23. Paxinos G., Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. – New York: Acad. Pres. – 1982.
 24. Scott E., Walker B.R. Increased nitric oxide production following chronic hypoxia contributes to attenuated systemic vasoconstriction// Amer. J.Physiol. Heart Circulat. Physiol. – 2003. – **284**. – P. H1655–H1661.
 25. Shapoval L.N., Sagach V.F., Pobegailo L.S. Nitric oxide influences ventrolateral medullary mechanisms of vasomotor control in the cat // Neurosci.Lett. – 1991. – **132**. – P. 47–50.
 26. Shapoval L.N. Nitric oxide and nervous control of cardiovascular function. – In: Receptors, channels and messengers, eds PG.Kostyuk, EA.Lukyanetz. –Kiev: DUS. – 2005. – P.318–337.
 27. Shapoval L.N., Sagach V.F., Pobegailo L.S. Chemosensitive ventrolateral medulla in the cat: the fine structure and GABA-induced cardiovascular effects// J.Autonom. Nerv. Syst. – 1991. – **36**. – P. 159–172.
 28. Serebrovskaya T.V., Manuchina M.L., Smith H.F., Downey R.T. Mallet. Intermittent Hypoxia: cause of or therapy for systemic hypertension. Minireview// Exp. biol. and med. – 2008. – **233**. – P. 627–650.
 29. Zanzinger J. Role of nitric oxide in the neural control of cardiovascular functions// Cardiovascul.Res. – 1999. – **43**. – P. 839–649.
 30. Zanzinger J., Seller H.. Species differences in the distribution of nitric oxide synthase in brain stem regions that regulate sympathetic activity// Brain Res. – 1997. – **764**. – P. 265–268.
 31. Zoccal D.B., Bonagamba L.G.N., Oliveira F.R.T. et al. Increased sympathetic activity in rats submitted to chronic intermittent hypoxia// Exp.Physiol. – 2007. – **92**. – P. 79–85.
 32. Zong P., Setty S, Sun W. et al. Intermittent hypoxic training protects canine myocardium from infarction// Exp.Biol.Med. – 2004. – **229**. – P.806–812.

*In-т фізіології ім.О.О.Богомольця НАН України, Київ
shapoval@biph.kiev.ua*

*Матеріал надійшов до
редакції 11.08.2009*