

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

Вплив модуляції проникності мітохондріальних мембран медулярних нейронів на артеріальний тиск у щурів

В острых экспериментах на наркотизированных уретаном (1,7 г/кг) крысах с нормальным артериальным давлением изучали эффекты модуляции проницаемости митохондриальных мембран нейронов медуллярных ядер, которые включены в систему нервного контроля функции кровообращения, и среди которых размещены нейроны, синтезирующие оксид азота (NO) – ядро солитарного тракта, парамедианное ретикулярное ядро, обоюдное ядро, латеральное ретикулярное ядро. Проницаемость митохондриальных мембран увеличивали инъекциями индуктора открывания митохондриальной поры (МП) фениларсин оксида (ФАО, 10^{-8} – 10^{-14} моль/л), а уменьшали – введением ингибиторов открывания МП циклоспорина А и мелатонина (10^{-8} – 10^{-12} моль/л). При изучении зависимости между проницаемостью митохондриальных мембран и содержанием NO использовали субстрат для синтеза эндогенного NO аминокислоту L-аргинин и ингибитор нейрональной NO-синтазы (NOS1) 7-нитроиндазол (30 мг/кг). Проведенное исследование показало, что увеличение проницаемости митохондриальных мембран нейронов исследуемых ядер продолговатого мозга за счет ФАО сопровождалось закономерным снижением уровня системного артериального давления (САД), дозозависимым: в дозе 10^{-12} моль/л оно носило обратимый характер, а в дозе 10^{-8} моль/л – необратимый, несовместимый с жизнью. Полученные результаты свидетельствуют об угнетении активности нейронов исследуемых ядер при увеличении проницаемости их митохондриальных мембран. Уменьшение проницаемости митохондриальных мембран с помощью инъекций ингибиторов открывания МП циклоспорина А и мелатонина в исследуемые ядра продолговатого мозга сопровождалось в значительной части опытов дозозависимым повышением уровня САД. После предварительного введения мелатонина отрицательный эффект ФАО на медуллярные нейроны ослаблялся, что свидетельствует о положительном, протекторном влиянии ингибиторов на активность медуллярных кардиоваскулярных нейронов у крыс. Предварительное введение L-аргинина ослабляло эффекты инъекций ФАО в исследуемые медуллярные ядра, что может говорить о протекторном влиянии эндогенного NO, в то же время предварительное угнетение NOS1 не оказывало существенного влияния на эффекты инъекций ФАО в кардиоваскулярные ядра продолговатого мозга. Наши результаты свидетельствуют о том, что функциональная активность нейронов ядер продолговатого мозга, которые включены в нервный контроль функции кровообращения, и их эффекты на систему кровообращения, безусловно, зависят от уровня проницаемости их митохондриальных мембран. Между состоянием проницаемости митохондриальных мембран нейронов и содержанием NO в исследованных медуллярных ядрах есть определенная связь, детальное изучение которой требует дальнейшего исследования.

ВСТУП

Не викликає сумніву, що мітохондрії, основною функцією яких є забезпечення клітини енергією і на яких зосереджено багато сиг-

нальних шляхів, мають суттєве значення для діяльності клітин різних функціональних систем організму, включаючи нейрони ЦНС. Нині інтерес до особливостей функціонування мітохондрій поновився в зв'язку з

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

отриманими даними про їх участь у розвитку апоптозу і деяких патологічних станів організму [1, 13, 15, 16, 19, 20, 29, 30, 35]. За умов норми внутрішня мембрана мітохондрій є майже непроникною для молекул, що не мають специфічного носія, а в зовнішній мембрані є канали, здатні пропускати молекули розміром до 1000 Да [8]. Під дією різних факторів, серед яких значне місце посідають оксид азоту (NO) та активні форми кисню, проникність мітохондріальних мембран може значно збільшуватись і сприяти відкриттю так званої мітохондріальної пори (МП), через яку здатні проходити в обох напрямках молекули розміром більше ніж 1500 Да [38]. Вважають, що саме стійке збільшення проникності внутрішньої мембрани мітохондрій лежить в основі апоптозу та спостерігається при різних патологічних станах.

З літератури відомо [27, 28, 31, 32], що в індукції апоптозу в кардіоміоцитах бере участь оксид азоту через його вплив на вивільнення цитохрому с і збільшення мітохондріальної проникності [12]. Водночас показано, що ендогенний NO відіграє значну роль у мітохондріальному біогенезі ссавців [9, 11, 21, 24, 25] і здатний пригнічувати апоптоз, попереджуючи збільшення активності каспаз [21]. Слід зазначити, що значна частина інформації про ефекти змін проникності мітохондріальних мембран базується на результатах генетичних і біохімічних досліджень, тоді як робіт, виконаних на цілому організмі, бракує. Значення змін проникності мітохондріальних мембран нейронів ЦНС у реалізації їх впливів на діяльність серцево-судинної системи взагалі ще не аналізувалося.

Гістохімічними, імуногістохімічними, фізіологічними дослідженнями в довгастому мозку щурів виявлено велику кількість нейронів, які синтезують NO і залучені в нервовий контроль функції кровообігу [14, 17, 23, 33, 36, 37]. Незважаючи на досить велику кількість публікацій, які

свідчать про участь NO в нервовому контролі функції кровообігу, багато питань щодо механізмів цієї участі, залишаються невивченими, зокрема питання про зв'язок між функціональним станом мітохондрій кардіоваскулярних нейронів, що синтезують NO, і їх ефектами на систему кровообігу.

Мета нашого дослідження – визначити вплив модуляції мітохондріальної проникності кардіоваскулярних нейронів довгастого мозку, зокрема тих, що синтезують NO, на рівень системного артеріального тиску (САТ) як інтегральний показник стану серцево-судинної системи.

МЕТОДИКА

Дослідження проведено в гострих експериментах на щурах масою 290–350 г, наркотизованих уретаном (1,7 г/кг, внутрішньоочеревинно). В сонну артерію вводили канюлю для вимірювання САТ за допомогою тензодатчика гемодинамічної установки (“Мікромед”, Угорщина). Довгастий мозок відкривали після фіксування голови у стереотаксичному приладі СЕЖ-3, модифікованому для роботи на дрібних тваринах. Стереотаксичні координати досліджуваних ядер довгастого мозку – ядра солітарного тракту (NTS), обопільного ядра (AMB), парамедіанного ретикулярного ядра (PMn) і латерального ретикулярного ядра (LRN) визначали за атласом [26]. Для ін'єкцій використовували мікрошприц з мікрометричним гвинтом. У популяції нейронів досліджуваних медулярних ядер вводили індуктор МП феніларсиноксид (ФАО, 10^{-8} – 10^{-14} моль/л); інгібітори – циклоспорин А (10^{-8} – 10^{-12} моль/л) і мелатонін (10^{-8} – 10^{-12} моль/л). Субстрат для синтезу ендогенного NO L-аргінін вводили внутрішньовенно (10^{-8} моль/л) і у популяції медулярних нейронів (10^{-12} моль/л). Блокатор нейрональної NO-синтази (NOS1) 7-нітроіндазол вводили внутрішньоочеревинно з розрахунку 30 мг/кг. Після закінчення експери-

менту тварин декапітували. Статистичний аналіз проводили з використанням критерію t Стьюдента за допомогою стандартної комп'ютерної програми. Як статистично значимі розглядали відміни із значенням $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Вплив індуктора відкриття МП на ефекти медулярних NO-синтезувальних кардіоваскулярних нейронів. У попередніх експериментах нами було показано, що посилення або пригнічення активності NOS1 ін'єкціями субстрату для синтезу NO (L-аргінін) або її інгібітора (L-NNA) в популяції нейронів кардіоваскулярних ядер довгастого мозку супроводжувалися розвитком дозозалежних змін рівня САТ [4]. Разом з морфологічними даними [17, 37] вони свідчать про локалізацію нейронів, які синтезують NO, в досліджених нами ядрах довгастого мозку. Ми керувалися цією інформацією при проведенні дослідження, спрямованого на визначення впливу змін проникності мітохондріальних мембран медулярних нейронів, які синтезують NO, на їх ефекти.

Збільшення проникності мітохондріальних мембран популяцій нейронів кардіовас-

кулярних медулярних ядер, серед яких є ті, що синтезують NO, ін'єкціями індуктора МП ФАО, призводило до дозозалежного зниження рівня САТ, яке було якісно подібним при введенні ФАО у всі досліджувані ядра.

Аналіз динаміки САТ після ін'єкцій ФАО (10^{-12} моль/л) у РМп показав, що його рівень знижувався досить швидко: через 10 с на 15,7 % ($P < 0,05$), через 20 с на 17,6 % ($P < 0,05$) через 60 с на 18,5 % ($P < 0,05$; рис. 1,а), після чого починалося повільне підвищення рівня САТ. Ін'єкції ФАО NTS призводили до зниження САТ на 18,8 % ($P < 0,05$), в латеральне ретикулярне ядро – на 16,8 % ($P < 0,05$). Для гіпотензивних реакцій на введення ФАО в усі досліджувані медулярні ядра характерним був досить швидкий розвиток, і значна їхня тривалість (до 30 хв у окремих дослідках), причому рівень САТ, як правило, не відновлювався повністю. Ін'єкції ФАО (10^{-10} моль/л) у всі досліджені медулярні ядра супроводжувалися розвитком більш вираженого зниження САТ, яке у деяких випадках призводило до загибелі тварини. На рис. 1,б показано зниження САТ, зумовлене ін'єкціями ФАО (10^{-10} моль/л) у РМп. У концентрації 10^{-8} моль/л ін'єкції ФАО призводили до дуже значного зниження САТ і загибелі тварини.

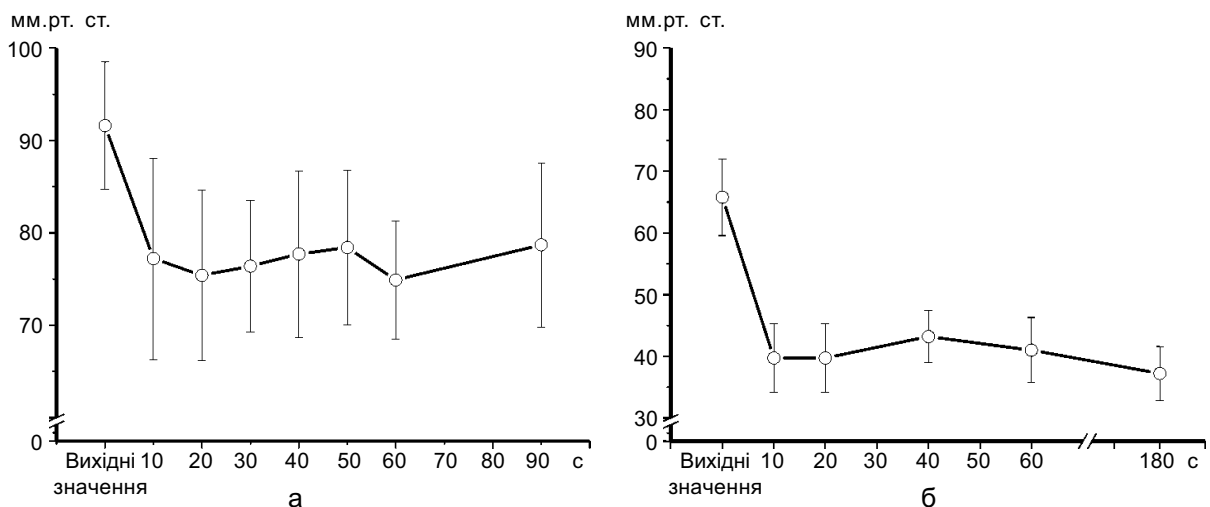


Рис. 1. Зниження системного артеріального тиску, зумовлене ін'єкціями індуктора мітохондріальної пори феніларсиноксиду (а – 10^{-12} моль/л; б – 10^{-10} моль/л) у популяції нейронів парамедіанного ретикулярного ядра

Отже, у щурів з нормальним артеріальним тиском, збільшення проникності мітохондріальних мембран нейронів досліджуваних медулярних ядер ін'єкціями індуктора МП ФАО, залежно від ступеня збільшення проникності мітохондріальних мембран, супроводжувалося зниженням САТ, який міг поновлюватися майже до вихідного, або знижуватися до рівня, не сумісного з життям тварини.

Вплив інгібіторів МП на ефекти медулярних NO-синтезувальних кардіоваскулярних нейронів. Зменшення проникності мітохондріальних мембран нейронів досліджених медулярних ядер ін'єкціями інгібітора МП циклоспорину А супроводжувалися дозозалежними змінами рівня САТ. Так, введення циклоспорину А (10^{-12} моль/л) в АМВ супроводжувалося значним підвищенням рівня САТ, яке становило в середньому 52,5 % ($P < 0,05$; рис. 2,а). Максимум реакцій спостерігався через 30–40 с, їх тривалість здебільшого була 3–5 хв, хоч інколи сягала 20 хв. При збільшенні концентрації циклоспорину А до 10^{-8} моль/л САТ знижувався (див. рис. 2,б). Отримані результати свідчать про те, що циклоспорин А має потужну дію на нейрони ЦНС, що слід враховувати при проведенні досліджень.

Ін'єкції іншого інгібітора МП мелатоніну (10^{-12} моль/л) у досліджувані медулярні ядра звичайно теж супроводжувалися розвитком гіпертензивних реакцій САТ, але

вони були кількісно менше вираженими, порівняно з тими, що розвивалися на дію циклоспорину А. Так, введення мелатоніну в РМп супроводжувалося підвищенням САТ на 13,8 % ($P < 0,05$; рис. 3,а), в NTS – на 16,8 % ($P < 0,05$; див. рис. 3,б), в АМВ – на 11,1 % (див. рис. 3,в). Реакції САТ мали досить короткий латентний період – його рівень підвищувався відносно вихідного вже через 5 с після ін'єкції препарату, з максимумом через 30–40 с; тривалість реакції становила 2–3 хв, хоч в окремих випадках до 10 хв. Слід зазначити, що введення мелатоніну в каудальну частину LRN (10^{-12} моль/л) супроводжувалося переважно зниженням САТ (16,6 %; $P > 0,05$).

Для ефектів мелатоніну характерною була їх залежність від дози. У NTS мелатонін у дозі 10^{-10} моль/л спричинював підвищення САТ від $89,1 \pm 1,73$ до $115,1$ мм рт.ст. $\pm 13,53$ мм рт.ст., що в середньому становило 29,2 % ($P > 0,05$). Особливістю ефектів мелатоніну була також стабілізація САТ протягом тривалого часу. Після ін'єкцій мелатоніну у цій дозі в РМп спостерігалось початкове зниження рівня САТ від $116,5 \pm 3,8$ до $108,4$ мм рт.ст. $\pm 4,6$ мм рт.ст., яке було статистично невірогідним ($P > 0,05$), після чого відбувалося його підвищення, яке сягало $139,3$ мм рт.ст. $\pm 39,2$ мм рт.ст. через 40 с (28,5 %). Тривалість реакції становила 10 хв.

Отже, ефекти ін'єкцій мелатоніну у

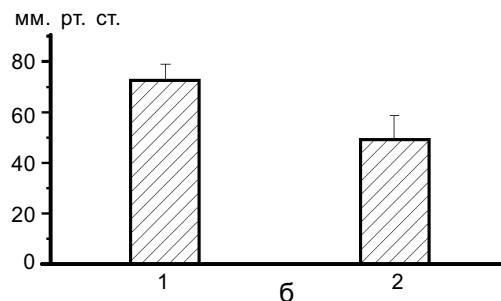
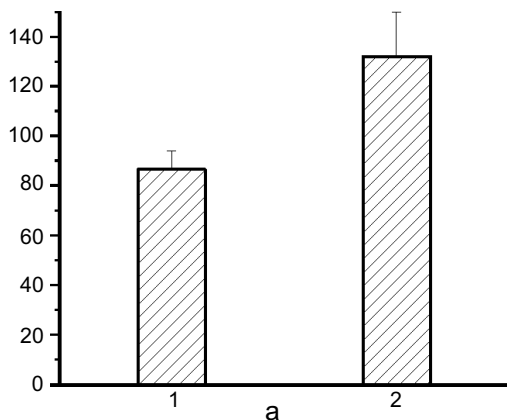


Рис. 2. Вплив ін'єкцій інгібітора мітохондріальної пори циклоспорину А у обопільне ядро (а – 10^{-12} моль/л; б – 10^{-10} моль/л) на рівень системного артеріального тиску: 1 – контроль, 2 – циклоспорин А

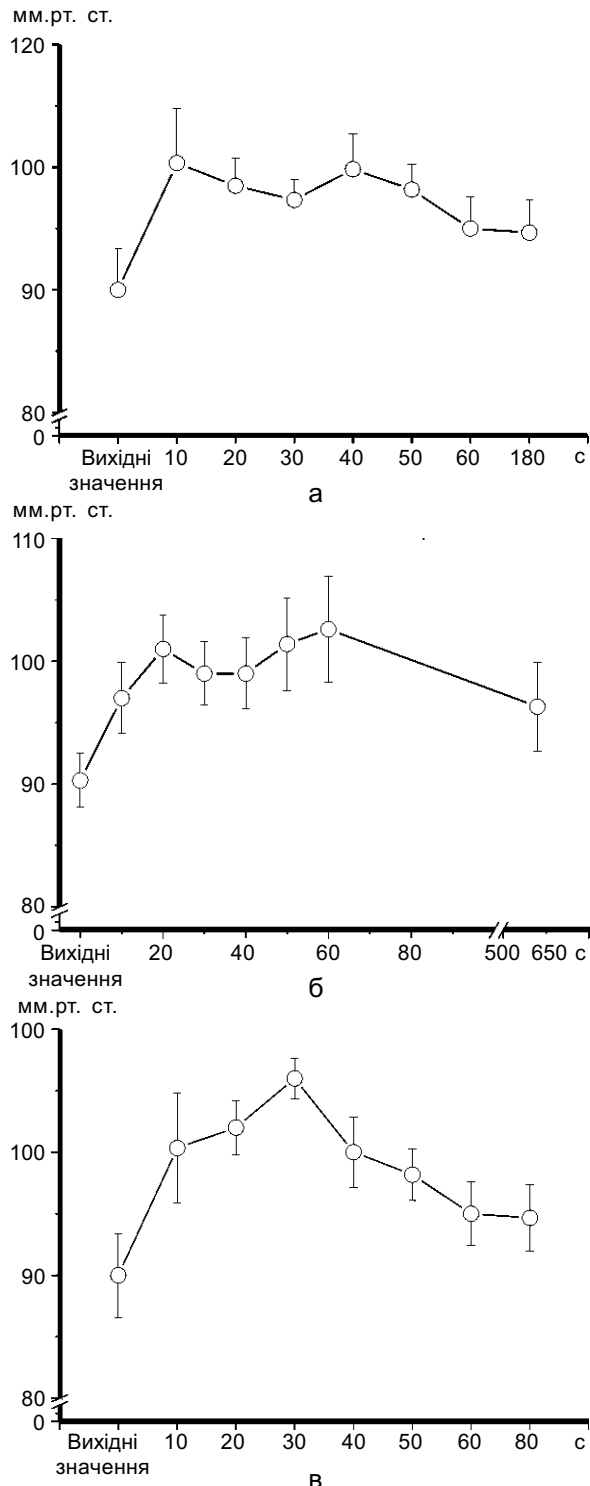


Рис. 3. Ефекти ін'єкцій інгібітора мітохондріальної пори мелатоніну (10^{-12} моль/л) в ядра довгастого мозку щурів на рівень системного артеріального тиску: а – оболончатє ядро, б – парамедианне ретикулярне ядро, в – ядро солітарного тракту

досліджувані ядра довгастого мозку посилювалися при збільшенні його дози.

Одночасне введення мелатоніну (10^{-10} моль/л) і ФАО (10^{-12} моль/л) у РМп супроводжувалося початковим незначним і короткочасним зниженням САТ, після чого він підвищувався, з максимумом через 40 с при загальній тривалості реакції 3–4 хв, тобто в цьому разі не було характерної для ФАО гемодинамічної реакції. Ефекти ін'єкцій ФАО (10^{-12} моль/л) у досліджувані ядра послаблювалися також після попереднього (за 1 год) внутрішньоочеревинного введення мелатоніну. Слід зазначити, що введення ФАО у дозі 10^{-14} моль/л у АМВ після попереднього внутрішньовенної ін'єкції мелатоніну супроводжувалося розвитком гіпертензивних реакцій при підвищенні рівня САТ в середньому на 19,2 % ($P < 0,05$). Отримані результати свідчать про те, що мелатонін здатний попереджувати вплив індуктора МП ФАО на активність кардіоваскулярних нейронів досліджених ядер довгастого мозку.

Під час вивчення взаємовідносин системи оксиду азоту та стану мітохондріальних мембран нейронів досліджуваних медулярних ядер були отримані результати, які свідчать про певний зв'язок між ними. Як з'ясувалось, ін'єкції ФАО (10^{-12} моль/л) у досліджувані популяції кардіоваскулярних нейронів на висоті гіпертензивної реакції, викликаній попереднім внутрішньовенним введенням L-аргініну, супроводжувалися розвитком менш виражених гіпотензивних реакцій САТ порівняно з дослідами без його введення. Так, введення L-аргініну (10^{-8} моль/л) призводило до закономірного підвищення САТ у середньому на 22,9 % ($P < 0,05$). Ін'єкції ФАО у РМп на висоті гіпертензивної реакції, викликаній введенням L-аргініну, супроводжувалися статистично невірогідним зниженням САТ у середньому на 8,9 % (рис. 4,а). Після попереднього пригнічення NOS1 введенням 7-нітроіндазолу ін'єкції ФАО (10^{-12} моль/л)

у РМп супроводжувалися зниженням САТ на 14,2 % ($P > 0,05$). Для гіпотензивної реакції характерним було повільне зниження САТ, яке тривало протягом 180 с (див. рис. 4,б). При дозі ФАО 10^{-14} моль/л розвивалися гіпертензивні реакції САТ 24,0 % ($P < 0,05$; див. рис. 4,а). Для гіпертензивних і гіпотензивних реакцій САТ характерним були повільний розвиток і значна їх тривалість.

Внутрішньовенне введення мелатоніну (10^{-12} моль/л, 0,5 мл) викликало підвищення САТ у середньому на 11,8 % ($P > 0,05$). Ін'єкції L-аргініну (10^{-12} моль/л) у досліджувані медулярні ядра на висоті гіпертензивної реакції САТ, викликаній попереднім введенням мелатоніну, супроводжувалися розвитком гіпотензивних реакцій САТ з максимумом через 30 с і тривалістю 3–5 хв. Так, ін'єкції амінокислоти у АМВ спричи-

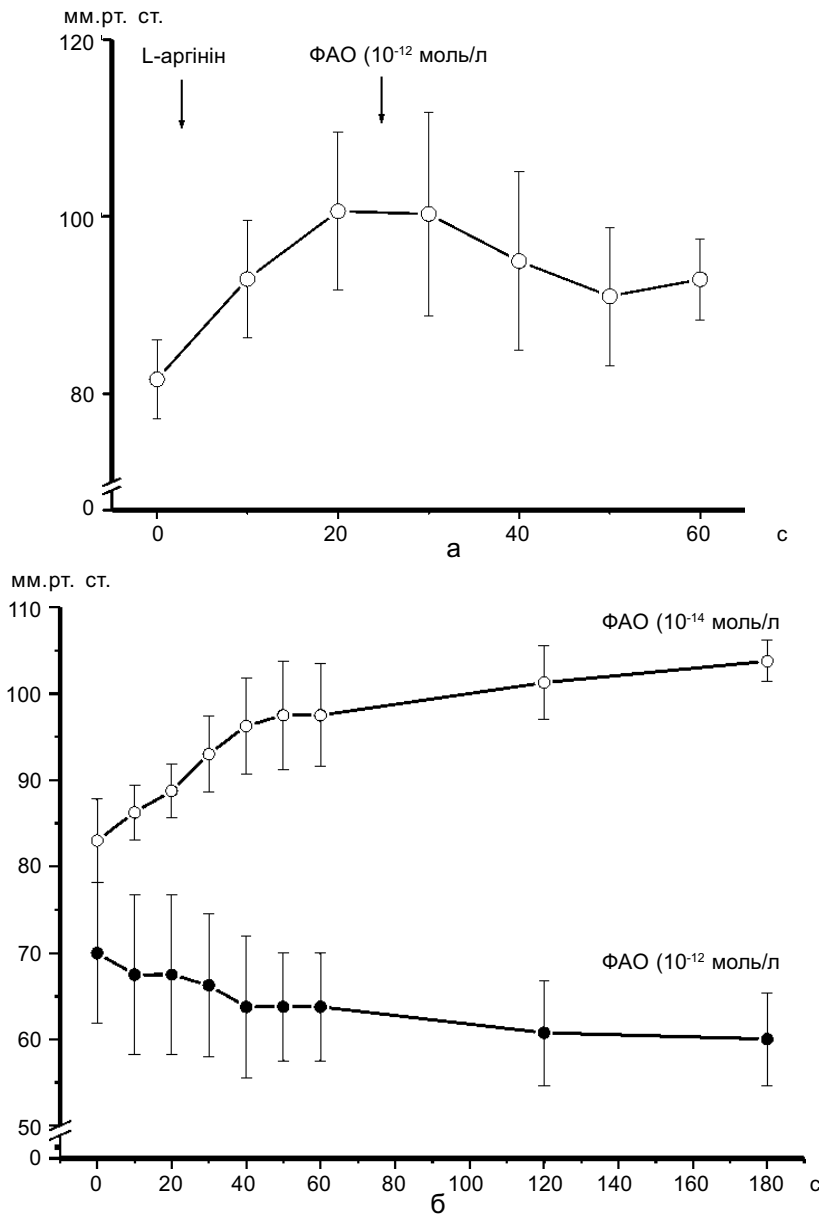


Рис. 4. Зміни системного артеріального тиску, зумовлені ін'єкціями феніларсинґксиду у парамедіанне ретикулярне ядро після попереднього внутрішньовенного введення L-аргініну (а) і після попередньої інактивзації NOS1 (б)

нювали зниження САТ на 18,5 % ($P < 0,05$) у LRN – на 27,3 % ($P < 0,05$). Після введення L-аргініну у РМп спостерігалось зниження САТ на 18,6 % ($P < 0,05$) через 30 с після ін'єкції, після чого його рівень починав підвищуватись і через 5 хв перевищував вихідний на 37,2 % ($P < 0,05$). Отримані результати свідчать про те, що попереднє внутрішньовенне введення мелатоніну не мало суттєвого впливу на вираженість гіпотензивних реакцій, викликаних ін'єкціями L-аргініну в досліджувані медулярні ядра, але в окремих випадках призводило до якісних змін у реакціях САТ (зокрема, при введенні амінокислоти в РМп).

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Проведене нами дослідження свідчить про те, що зміни проникності мітохондріальних мембран кардіоваскулярних нейронів довгастого мозку супроводжуються змінами їх функціональної активності, про що свідчить аналіз змін САТ як інтегративного показника діяльності серцево-судинної системи у відповідь на ін'єкції індуктора МП ФАО або її інгібіторів (циклоспорин А, мелатонін).

Таким чином, отримані результати можуть свідчити про те, що збільшення проникності мітохондріальних мембран кардіоваскулярних нейронів досліджених ядер за допомогою індуктора МП ФАО викликає пригнічення функціональної активності медулярних симпатических нейронів, що призводить до залежного від дози зниження САТ. Значне збільшення проникності мітохондріальних мембран кардіоваскулярних нейронів спричинює їх загибель, що супроводжується вираженим і незворотним зниженням САТ і, як наслідок, загибеллю тварини, а при менш вираженому збільшенні проникності розвиваються гіпотензивні реакції, особливістю яких є їх досить швидкий розвиток, наявність плато та неповне

відновлення вихідного рівня САТ. У літературі є дані про те, що відкривання МП за допомогою ФАО може викликати загибель кардіоміоцитів [22].

Відомо, що NO як вільний радикал виконує сигнальну функцію [18]. Як з'ясувалося, він здатний прямо чи опосередковано взаємодіяти з мітохондріями [9, 10]. Вплив NO може бути негативним, коли він, зв'язуючись з цитохромоксидазою пригнічує клітинне дихання, а взаємодіючи з супероксидним радикалом, сприяє утворенню пероксинітритів, які, в свою чергу, потенціюють ефекти NO. Пероксинітрити є джерелом високо реактивних вільних радикалів, які є ефекторами токсичності та викликають нейродеструкцію. У фізіологічних концентраціях дія оксиду азоту реалізується через активацію розчинної гуанілатциклази, зменшуючи чутливість МП до впливу її активаторів [7, 21, 25, 32]. NO у фізіологічних концентраціях також сприяє пригніченню МП, впливаючи на процеси інактивації каспаз за допомогою їх S-нітрозювання [21]. Аналіз отриманих нами результатів свідчить про те, що активація синтезу ендogenous NO попереднім введенням L-аргініну послаблювала негативний вплив ін'єкцій індуктора МП у досліджувані ядра довгастого мозку на рівень САТ. Цей факт може свідчити також про те, що активація NOS1 не була надмірною і тому синтезований NO сприяв зниженню проникності мітохондріальних мембран медулярних кардіоваскулярних нейронів. Водночас, після попереднього пригнічення NOS1 ін'єкції індуктора відкривання МП (10^{-12} моль/л) в досліджені медулярні ядра, зокрема в РМп, супроводжувалися розвитком гіпотензивних реакцій САТ, які майже не відрізнялися від тих, що були результатом введення ФАО в це ядро без попередньої блокади ензиму (14,5, 18,5 % відповідно). Ці результати можуть свідчити про те, що ефекти L-аргініну можуть бути реалізовані не тільки через активацію NOS1;

зокрема, не виключена можливість активації іншого ензиму аргінази, що теж використовує L-аргінін як субстрат для метаболічних перетворень.

Зв'язок між змінами проникності мітохондріальних мембран кардіоваскулярних нейронів, які синтезують NO, і їх активністю можна уявити наступним чином. Збільшення проникності мітохондріальних мембран медулярних нейронів ін'єкціями ФАО (10^{-12} моль/л) сприяє підвищенню вмісту внутрішньоклітинного Ca^{2+} внаслідок його швидкого виходу з мітохондрій, яке в свою чергу, активує NOS1, що призводить до посилення синтезу NO. Оскільки в фізіологічних межах NO діє переважно як гальмівний медіатор, розвиток гіпотензивних реакцій САТ на ін'єкції індуктора відкриття МП у досліджувані медулярні ядра є логічним.

Стійке збільшення проникності мітохондріальних мембран для молекул розміром понад 1500 Да при дії різних факторів, включаючи NO, призводить до порушення метаболізму мітохондрій, внаслідок чого зменшується мембранний потенціал, припиняється синтез мітохондріальних білків та імпорт синтезованих у цитозолі білків, роз'єднується окисне фосфорилування, припиняється синтез АТФ, починається гіперпродукція O^{-2} та вичерпуються відновні еквіваленти. При значному збільшенні мітохондріальної проникності ін'єкціями ФАО (10^{-8} моль/л) збільшується також і вихід Ca^{2+} із мітохондрій, що сприяє значній активації NOS1 і появі надмірної кількості NO. Вважають, що деполяризація мітохондріальних мембран відіграє домінуючу роль у механізмі порушення нейронального кальцієвого гомеостазу, викликаного глутаматом [3]. Мітохондрії, як відомо, є основним джерелом супероксидних радикалів, які утворюються внаслідок витоку електронів з дихального ланцюга. Взаємодія NO із супероксидним радикалом призводить до утворення токсичного перокси-

нітриду (ONOO^-), який інактивує супероксиддисмутазу та впливає на мітохондріальний дихальний ланцюг, збільшуючи кількість O^{-2} у матриксі мітохондрій. Посилення продукції пероксинітридів також активує вихід Ca^{2+} із мітохондрій. У цьому разі ефект NO, який дифундує в мітохондрію або продукується мітохондріальною NOS, полягає в інгібуванні мітохондріального дихання, інактивації ферментів і відкритті МП. З рештою це може призводити до ушкодження клітини. В наших дослідах ін'єкції значних доз ФАО супроводжувалися значним зниженням рівня САТ і загибеллю тварини. З огляду на ці результати мелатонін, прямий скавенжер вільних радикалів, який сприяє зменшенню їх кількості, може бути ефективним засобом зниження проникності мітохондріальних мембран клітин ЦНС. Після попереднього введення мелатоніну в наших дослідах ефект індуктора МП послаблювався. Нині є відомості про пригнічення мелатоніном активності NOS і активації аргінази в нирці [6], а також про пряме пригнічення мелатоніном МП [5], про попередження пост-реперфузійних порушень функції серця та неефективного використання кисню за допомогою інгібіторів МП [2]. Отже, не виключено, що мелатонін здатний пригнічувати і NOS1. Інактивація останньої у нейронах могла бути причиною того, що в проведеному нами дослідженні ін'єкції мелатоніну (10^{-12} моль/л) супроводжувалися підвищенням рівня САТ внаслідок зменшення гальмівного впливу NO і активації симпатозактивуючих нейронів ядер довгастого мозку.

Таким чином, при аналізі механізмів медулярного кардіоваскулярного контролю зокрема нейронами, що синтезують оксид азоту, слід враховувати багато різних факторів, серед яких важливе місце посідає визначення стану проникності мітохондріальних мембран кардіоваскулярних нейронів.

ВИСНОВКИ

1. Збільшення проникності мітохондріальних мембран нейронів досліджених медулярних ядер індуктором МП ФАО супроводжувалося закономірним дозозалежним зниженням САТ.

2. Зменшення проникності мітохондріальних мембран нейронів досліджених ядер довгастого мозку за допомогою інгібіторів МП циклоспорину А і мелатоніну супроводжувалося розвитком дозозалежних гіпертензивних реакцій САТ.

3. Попереднє введення мелатоніну зменшувало негативний ефект ін'єкцій ФАО у досліджувані ядра довгастого мозку.

4. Після попереднього введення L-аргініну ефекти ін'єкцій ФАО у досліджені ядра довгастого мозку послаблювалися.

5. Попереднє пригнічення нейрональної NO-синтази суттєво не впливало на ефекти ін'єкцій ФАО у кардіоваскулярні ядра довгастого мозку.

*За підтримки ДФФД МОН України
10.04/009*

**L.N.Shapoval, L.S.Pobegailo, O.V.Dmytrenko,
L.G.Stepanenko, V.F.Sagach**

**EFFECTS OF CHANGES IN MITOCHONDRIAL
PERMEABILITY TRANSITION
OF MEDULLARY CARDIOVASCULAR
NEURONS ON ARTERIAL PRESSURE IN RATS**

In acute experiments on anaesthetized with urethane normotensive rats we studied effects of modulating the mitochondrial permeability transition (MPT) of the neurons in the medullary cardiovascular nuclei – nucleus of the tractus solitarius (NTS), paramedian reticular nucleus (PMn), n.ambiguus (AMB), and lateral reticular nucleus (LRN) on the systemic arterial pressure level (SAP). An increase in the MPT with injections of an inductor for MPT phenylarsine oxide (10^{-12} M - 10^{-8} M) into the medullary nuclei under exploration has been shown to induce the lowering in the SAP level in a dose-dependent manner. A decrease in the MPT of the medullary neurons with either cyclosporine A or melatonin (10^{-12} M - 10^{-10} M) resulted in hypertensive responses of the SAP. Effects of phenylarsine oxide injections into the medullary nuclei were attenuated after preliminary intravenous administration of L-arginine. The data obtained give evidence that functional activity of the medullary cardiovascular neurons and their effects depend to a large extent on the functional state of their mitochondria.

Bogomoletz Institute of Physiology, Kyiv, Ukraine.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Владимиров Ю.В. Нарушение барьерных свойств внутренней и наружной мембран митохондрий, некроз и апоптоз// Биол. мембраны. – 2002. – **19**, №5. – С.356–377.
2. Сагач В.Ф., Шиманська Т.В., Надточій С.М. Попередження постреперфузійних порушень функції серця та неефективного використання кисню за допомогою інгібіторів мітохондріальної пори// Фізіол. журн. – 2002. – **48**, № 6. – С. 3–9.
3. Ходоров Б.И., Сторожевых Т.П., Сурин А.М. и др. Митохондриальная деполяризация играет доминирующую роль в механизме нарушения нейронального кальциевого гомеостаза, вызванного глутаматом// Биол. мембраны. – 2001. – **18**, № 6. – С. 421–432.
4. Шаповал Л.Н., Сагач В.Ф., Побегайло Л.С.и др. Участие оксида азота в медулярном контроле функции кровообращения у нормотензивных крыс// Нейрофизиология. – 2002. – **34**, № 4. – С. 294–302.
5. Andrabi S.A., Sayeed I., Siemen D. et al. Direct inhibition of the mitochondrial permeability transition pore: a possible mechanism responsible for apoptotic effects of melatonin// FASEB J. – 2004. – **18**, №7. – P. 869–871.
6. Aydogdu N., Erbas N., Atmaca G., Erten O., Kaymak K. Melatonin reduces nitric oxide via increasing arginase in rhabdomyolysis-induced acute renal failure in rats// Ren.Fail. – 2006. – **28**, № 5. – P. 435–440.
7. Balakirev M.Y., Khramtsov V.V., Zimmer G. et al. Modulation of the mitochondrial permeability transition by nitric oxide// Eur. J.Biochem. – 1997. – **246**, № 3. – P. 710–718.
8. Bernardi P. Mitochondrial transport of cations: channels, exchangers and permeability transition// Physiol.Rev. – 1999. – **79**. – P. 1127–1135.
9. Brown G.C. Regulation of mitochondrial respiration by nitric oxide inhibition of cytochrome c oxidase// Biochem. and Biophys. Acta. – 2001. – **1504**, № 1. – P. 46–57.
10. Brown G.C., Borutaite V. Nitric oxide inhibition of mitochondrial respiration and its role in cell death// Free Radic.Biol.Med. – 2002. – **33**, №11. – P. 1440–1450.
11. Brookes P.S.. Mitochondrial nitric oxide synthase// Mitochondrion. – 2004. – **3**, №4. – P. 187–204.
12. Brookes P.S., Salinas E.P., Darley K. et al. Concentration-dependent effects of nitric oxide on mitochondrial permeability transition and cytochrome c release// J. Biol. Chem. – 2000. – **275**, №27. – P. 20474–20479.
13. Cassarino D.S., Bennett J.P. An evaluation of the role of mitochondria in neurodegenerative diseases: mitochondrial mutations and oxydative pathology, protective nuclear responses, and cell death in neurodegeneration// Brain Res.Rev. – 1999. – **29**, №1. – P. 1–25.
14. Chowdhary S., Townend J.N. Role of nitric oxide in the regulation of cardiovascular autonomic control//

- Clin. Sci. – 1999. – **97**. – P. 5–17.
15. Crompton M., Barksby E., N.Johnson, M.Capano. Mitochondrial intermembrane junctional complexes and their involvement in cell death// Biochimie. – 2002. – **84**, № 2–3. – P. 143–152.
 16. Duchen M.R. Mitochondria in health an disease: perspectives on a new mitochondrial biology//Mol. Aspects Med. – 2004. – **25**, №4. – P. 365–451.
 17. Gai W.P., Messenger J.P., Yu Y.H. et al. Nitric oxide synthesizing neurons in the central 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.
 18. Garthwaite J, Bolton C.I.. Nitric oxide signalling in the central nervous system// Annu.Rev.Physiol. – 1995. – **57**. – P. 683–706.
 19. Green L.S., Kroemer G. The pathophysiology of mitochondrial cell death// Science. – 2004. – **305**, № 5684. – P. 626–629.
 20. Halestrap A.P. The mitochondrial permeability transition: its molecular mechanism and role in reperfusion injury// Biochem.Soc. Symp. – 1999. – **66**. – P. 181–203.
 21. Kim Y.M, Talanian T, Billiar T.R. Nitric oxide inhibits apoptosis by preventing increases in caspase-3-like activity via two distinct mechanisms// J.Biol.Chem. – 1997. – **272**, №49. – P. 31138–31148.
 22. Korge P, Goldhaber J.I., Weiss J N. Phenylarsine oxide induces mitochondrial permeability transition, hypercontracture, and cardiac cell death// Amer. J.Physiol.Heart Circ.Physiol. – 2001. – **280**. – №5. – H2203–H2213.
 23. Krukoff T.L.. Central actions of nitric oxide in regulation of autonomic functions// Brain Res. – 1999. – **30**. – P. 52–65.
 24. Moncada S., Erusalimsky J.D. Does nitric oxide modulate mitochondrial energy generation and apoptosis?// Nat.Rev.Mol.Cell.Biol. – 2002. – **3**, №3. – P. 214–220.
 25. Nizoli E., Clementi E., Paolucci C. et al. Mitochondrial biogenesis in mammals: the role of endogenous nitric oxide// Science. – 2003. – **299**, № 5608. – P. 896–899.
 26. Paxinos G., Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. New York: Acad. Press, 1982.
 27. Piantadosi C.A., Tatro L.G, Whorton. A.R. Nitric oxide and differential effects of ATP on mitochondrial permeability transition// Nitric oxide. – 2002. – **6**, №1. – P. 45–60.
 28. Ravagnan L, Roumier T., Kroemer G. Mitochondria, the killer organelles and their weapons// J.Cell Physiol. – 2002. – **192**, №2. – P. 131–137.
 29. Sastre J., Pallardo F.V., Vina J. Mitochondrial oxidative stress plays a kea role in aging and apoptosis// IUBMB. Life – 2000. – **49**, №5. – P. 427–435.
 30. Shapira A.H.V., Gu M., Taanman J.-W. Mitochondria in the ideology and pathogenesis of Parkinson's disease. – In: Neuroprotection in Parkinson's disease, Wells Med.Lim., Wells Kent. – 1998. – P. 177–185.
 31. Taimor G., Hofstaetter B., Piper H.M. Apoptosis induction by nitric oxide in adult cardiomyocytes via cGMP-signalling and its impairment after simulated ischemia// Cardiovasc.Res. – 2000. – **45**, № 3. – 588–594.
 32. Takuma K., Phuagphong P., Lee E. et al. Anti-apoptotic effect of cGMP in cultured astrocytes: inhibition by cGMP – dependent protein kinase of mitochondrial permeable transition pore // J. Biol. Chem. – 2001. – **276**. – **51**. – P.48093–48099.
 33. Vincent S.R., Kimura H.. Histochemical mapping of nitric oxide synthase in the rat brain// Neuroscience. – 1992. – **46**. – P. 755–784.
 34. Weiss J.N., Korge P., Honda H.M., Ping P. Role of mitochondrial permeability transition in myocardial disease// Circulat. Res. – 2003. – **93**, №4. – P. 292–301.
 35. Zanzami N. , Kroemer G. The mitochondrion in apoptosis: how Pandora's box opens// Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. – 2001. – **2**, №1. – P. 67–71.
 36. Zanzinger J. Role of nitric oxide in the neural control of cardiovascular function// Cardiovascular Res. – 1999. – **43**. – P. 639–649.
 37. 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.
 38. Zoratti M., Szabo I., De Marchi U. Mitochondrial permeability transitions: how many doors to the house?// Bichem.Biophys.Acta. – 2005. – **1706**, № 1–2. – P. 40–52.