

## Ảnh hưởng của Glutamate trong dịch não tủy lên chức năng hệ tuần hoàn tim mạch

Vũ Thị Thu<sup>1,\*</sup>, Bùi Thị Hương<sup>2</sup>, Lê Thành Long<sup>3</sup>, Aleksandrov V<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*Khoa Sinh học, Phòng Thí nghiệm trọng điểm Công nghệ Enzym và Protein,*

*Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN, 334 Nguyễn Trãi, Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam*

<sup>2</sup>*Viện Y sinh nhiệt đới, Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga, Nguyễn Văn Huyền, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam*

<sup>3</sup>*Trung tâm Nghiên cứu Bệnh trao đổi chất và Tim mạch, Trường Y, Đại học Inje, Hàn Quốc*

<sup>4</sup>*Khoa Sinh học, Trường Đại học Tổng hợp Sư phạm Quốc gia Nga A.I.Herzen, Saint-Petersburg, Liên bang Nga*

### Tóm tắt

Glutamate là một trong những chất dẫn truyền kích thích thần kinh quan trọng, tham gia điều hòa hoạt động chức năng của các hệ nội quan. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành đánh giá ảnh hưởng của việc dẫn truyền Glutamate và mimetic N-methyl-D-aspartate (NMDA) vào dịch não tủy đến hệ tuần hoàn và giá trị độ nhạy của phản xạ áp lực trên chuột cống. Kết quả nghiên cứu cho thấy Glutamate được dẫn truyền vào dịch não tủy làm tăng huyết áp động mạch trung bình, tăng tần số tim đồng thời làm giảm độ nhạy của phản xạ áp lực và tác động này phụ thuộc vào nồng độ cũng như thời gian tác động. Như vậy, Glutamate trong dịch não tủy có thể là một yếu tố điều hòa các phản xạ của hệ tuần hoàn với kích thích cơ học.

Nhận ngày 30 tháng 9 năm 2015, Chính sửa ngày 20 tháng 11 năm 2015, Chấp nhận đăng ngày 25 tháng 6 năm 2016  
Từ khóa: Glutamate, NMDA, chất dẫn truyền kích thích.

### 1. Mở đầu

Glutamate (Glu) là một trong những chất dẫn truyền kích thích phổ biến nhất trong hệ thần kinh trung ương và có vai trò quan trọng điều hòa hoạt động của các hệ nội quan [1-4]. Có hai loại thụ thể của Glu đó là thụ thể hướng ion và thụ thể hướng chuyển hóa. Các thụ thể này phân bố rộng rãi trong nhiều cấu trúc của hệ thần kinh trung ương [5, 6], nhưng tập trung chủ yếu ở các cấu trúc tham gia kiểm soát các phản xạ chức năng tuần hoàn, hô hấp của tủy não, đặc biệt là nhân sợi trục thần kinh đơn độc (Nucleus of the Solitary Tract) - nơi kết thúc của những dây hướng tâm truyền xung thần

kinh từ các thụ quan của hệ tuần hoàn [4,7, 8]. Ngoài ra thụ thể Glu còn tập trung ở phần bụng-bên của hành tủy [1, 3, 4, 7, 8]. Khi thay đổi nồng độ Glu trong các cấu trúc này bằng cách dẫn truyền các chất đối kháng và chất chủ vận của thụ thể Glu thì các chỉ số tuần hoàn cũng thay đổi [9-12]. Glu có thể tham gia điều tiết những phản xạ của hệ tuần hoàn, trong đó có phản xạ áp lực (baroreflex). Bình thường, các tế bào thần kinh, tế bào hình sao và hàng rào máu não đóng vai trò giữ ổn định nồng độ Glu trong dịch ngoại bào [13] và trong dịch não tủy [13-14]. Nồng độ này tăng trong các điều kiện thiếu oxy, thiếu máu cục bộ hay tổn thương não kèm theo các rối loạn chức năng của hệ tuần hoàn [15]. Glu tăng cao có thể hoạt hóa các thụ thể Glu, hệ quả là tác động đến những cơ chế điều hòa phản xạ và gây ra thay đổi chức năng tuần

\* Tác giả liên hệ. ĐT. 84-903237808  
Email: vtthu2015@gmail.com

hoàn tim mạch. Cho đến nay chưa có dữ liệu về vai trò và ảnh hưởng của sự tăng nồng độ Glu và các nhóm thụ thể Glu trong dịch não tủy đến những cơ chế phản xạ duy trì sự ổn định của hệ tuần hoàn tim mạch.

Mục đích của nghiên cứu này đánh giá mức độ ảnh hưởng của Glu trong dịch não tủy đến cơ chế phản xạ điều khiển hoạt động của hệ tuần hoàn và xác định các nhóm thụ thể Glu có tham gia vào quá trình điều hòa này. Để đạt được mục tiêu chúng tôi tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của việc dẫn truyền Glu và mimetic N-methyl-D-aspartate (NMDA – hoạt hóa nhóm thụ thể hướng ion NMDA) vào dịch não tủy đến hệ tuần hoàn và giá trị độ nhạy của phản xạ áp lực.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

Chuột bạch đực Wistar (2-3 tháng tuổi, 230-350 gram, n=98) được gây mê toàn thân bằng Urethane (1350mg/kg). Độ sâu gây mê được kiểm tra bằng phản xạ giác mạc và phản xạ đau. Thân nhiệt của chuột được duy trì ở mức 36,8 - 37°C. Ống thông (chiều dài 20 cm, đường kính ngoài 0,2 mm, đường kính trong 0,1 mm, Heparin nồng độ 2500 ED/ml với tỉ lệ 20:1) được đưa vào động mạch, tĩnh mạch đùi để đo huyết áp và thử nghiệm với phản xạ áp lực; mở hộp sọ để dẫn truyền chất vào não thất.

### *Ghi các chỉ số hoạt động của hệ tuần hoàn*

Ống thông động mạch được nối với thiết bị cảm biến huyết áp và đầu thu của bộ khuếch đại ML224. Tín hiệu về huyết áp động mạch được thu nhận bởi thiết bị PowerLab 8/35 (ADInstruments, Australia) và được ghi lại và xử lý bằng phần mềm LabChart 7.0.

### *Thử độ nhạy cảm của phản xạ áp lực*

Chuột được tiêm tĩnh mạch phenylephrine (Mezaton, 0,001-0,1 mg/kg, 1 ml/kg) theo thứ tự liều lượng tăng dần, mỗi lần tiêm cách nhau 3-5 phút khi huyết áp động mạch (AP) và nhịp tim (HR) trở về giá trị ban đầu và độ nhạy của

phản xạ áp lực được ghi lại. Sự thay đổi độ nhạy của phản xạ áp lực được đánh giá theo sự thay đổi của hệ số a trong phương trình của đường thẳng xấp xỉ  $y = ax - k$ .

Trong các thí nghiệm đối chứng chuột được tiêm tĩnh mạch dung dịch nước muối sinh lý (1 ml/kg)

### *Dẫn truyền dung dịch Glu và NMDA vào não thất bên*

Chúng tôi sử dụng bơm tiêm Hamilton nối với kim tiêm siêu nhỏ (đường kính ngoài là 150µm) để đưa 5 µl dung dịch Glu và NMDA vào não thất bên với các liều lượng khác nhau với tốc độ 1 µl/s. Trong các thí nghiệm đối chứng dẫn truyền dung dịch nước muối sinh lý (5 µl, 1 µl/s).

### *Phân tích số liệu*

Các dữ liệu thu được được xử lý và phân tích bằng gói phần mềm MS Excel và Univariate analysis. Sự khác biệt được cho là đáng tin cậy nếu  $P < 0,05$ .

## 3. Kết quả và thảo luận

### *Đặc điểm trạng thái chức năng hệ tuần hoàn của chuột trong quá trình thí nghiệm*

Kết quả mô tả ở hình 1 cho thấy, trong suốt thời gian tiến hành thí nghiệm (80-90 phút) các chỉ số chức năng của hệ tuần hoàn và giá trị độ nhạy của phản xạ áp lực được duy trì khá ổn định, giá trị ở các mốc thời gian ghi lại có sự biến động nhưng không có ý nghĩa thống kê trong đó MAP là  $92 \pm 3$  mmHg, HR là  $384 \pm 7$  nhịp/phút, giá trị phản xạ áp lực với hệ số a là  $2,4 \pm 0,22$ , điều này cho chúng tôi các chỉ số tuần hoàn nền trong các thí nghiệm đối chứng nằm trong giới hạn đã được xác lập. Trong điều kiện gây mê toàn thân bằng Urethan, AP có giá trị là 85-113 mmHg [1, 3, 17]. Giá trị HR trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn giá trị HR đã được công bố trước đây là 6-8%, tuy nhiên mức độ sai khác là không đáng kể. Tương tự, hệ số a đặc trưng cho độ nhạy của phản xạ áp lực có thể dao động từ  $1,92 \pm 0,47$  đến  $2,5 \pm 0,06$ , kết quả thu được trong nghiên cứu này là  $2,4 \pm 0,22$  cũng nằm trong khoảng giới hạn đó (hình 1).

Như vậy, giá trị MAP, HR và a không có sai khác đáng kể, có thể phản ánh sự ổn định của chức năng sinh lý hệ tim mạch và cơ chế điều hòa các phản xạ áp thụ thể trong các điều kiện thí nghiệm trong nghiên cứu này.

#### **Ảnh hưởng của dẫn truyền Glu và NMDA đến MAP và HR**

Kết quả thí nghiệm cho thấy, Glu và NMDA được dẫn truyền vào dịch não tủy đều làm MAP và HR tăng mạnh, tuy nhiên sự chuyển biến của các chỉ số này có một số khác biệt và tùy thuộc vào nồng độ các chất. Khi dẫn truyền liều lượng hiệu quả tối thiểu của Glu ( $1,2 \mu\text{M}$ ), MAP và HR tăng cao nhất ở phút thứ 5, sau đó giảm dần xuống giá trị nền trong vòng 25-30 phút. Khi nồng độ của Glu là  $12 \mu\text{M}$ , MAP đạt giá trị tối đa vào phút thứ 10-15, sau đó giảm dần đều và quay trở lại giá trị nền ở phút thứ 50 (hình 2A).

Chỉ số HR tăng mạnh ở giai đoạn đầu và đạt giá trị tối đa vào phút thứ 10-15 và duy trì ổn định ở mức gần tối đa trong 20 phút, và bắt đầu giảm từ phút thứ 30, tuy nhiên, đến cuối thí nghiệm vẫn chưa giảm tới mức nền (hình 2B). Mức tăng của MAP tỉ lệ thuận với sự gia tăng nồng độ chất, ở giai đoạn 10-15 phút, thử nghiệm Glu  $12 \mu\text{M}$  MAP và Glu  $1,2 \mu\text{M}$  có thể làm tăng MAP tương ứng là  $164 \pm 9\%$  và  $134 \pm 6\%$  so với giá trị nền. Trong khi đó, đối với HR thì tác dụng này của Glu không gây ra sự sai khác lớn (tương ứng là  $117 \pm 3\%$  và  $123 \pm 3\%$ ).

NMDA (liều lượng từ  $0,03 \text{ nM}$  đến  $0,3 \text{ nM}$ ) cũng làm tăng MAP và HR; trong đó, sự biến thiên MAP xảy ra tương tự như dưới tác động của Glu. Với NMDA  $0,2 \text{ nM}$ , MAP tăng và đạt

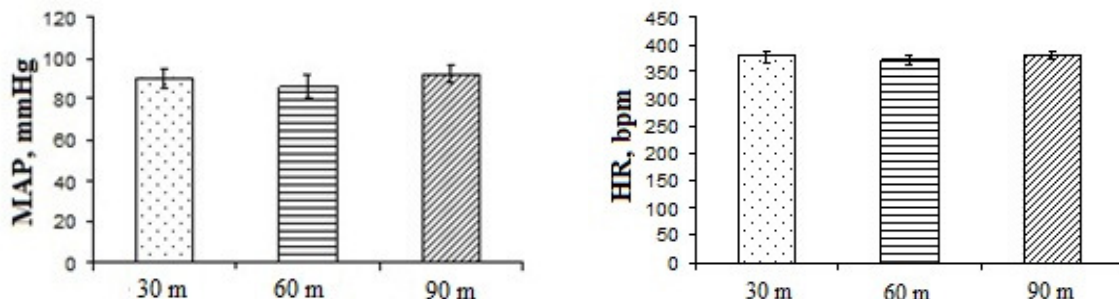
mức tối đa  $158 \pm 8\%$  so với giá trị nền ở những phút thứ 10-15 và bắt đầu giảm ở phút 30 và tiếp tục giảm trở về giá trị nền ở khoảng phút thứ 50 (hình 3).

Tác động của NMDA lên HR có sự khác biệt đáng kể so với MAP. HR tăng chậm theo 2 pha (hình 3B): sau khi đạt mức tăng ban đầu là  $13\%$  so với giá trị nền ( $113 \pm 2\%$ ) tại thời điểm phút thứ 2 HR giảm và tiếp tục duy trì ổn định ở mức cao hơn mức nền trong vòng 10 phút đầu, sau đó ở phút thứ 30 HR lại tăng lần thứ 2 tới  $20\%$  so với mức nền ( $120 \pm 5\%$ ). Từ phút thứ 50 trở đi, HR bắt đầu giảm và giữ ở giá trị cao hơn giá trị nền đến cuối thí nghiệm.

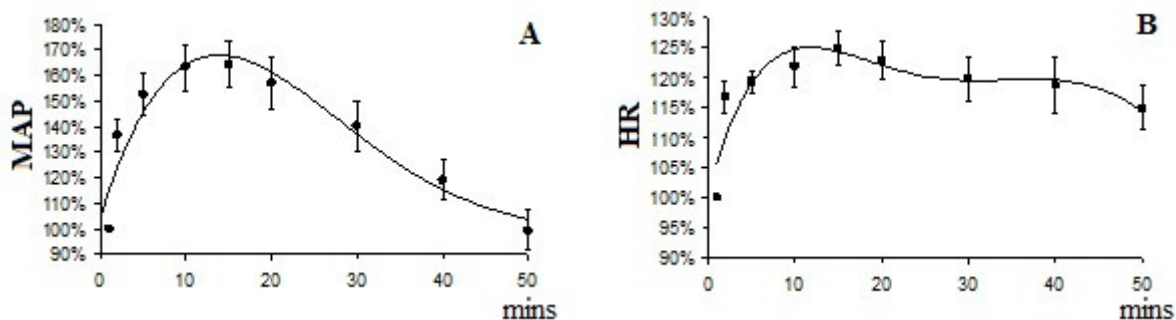
#### **Thay đổi độ nhạy của phản xạ áp lực**

Glu và NMDA làm giảm đáng kể độ nhạy của phản xạ áp lực và sự giảm này mang tính thuận nghịch. Ngay sau khi dẫn truyền Glu, chỉ số a giảm xuống tới giá trị  $1,6 \pm 0,20$ . Ở lần thử nghiệm thứ 2, giá trị a là  $0,9 \pm 0,26$ . Độ nhạy của phản xạ quay trở lại mức bình thường (mức nền) ở lần thử nghiệm cuối cùng với giá trị  $a = 2,2 \pm 0,38$  (hình 4, hình 5A).

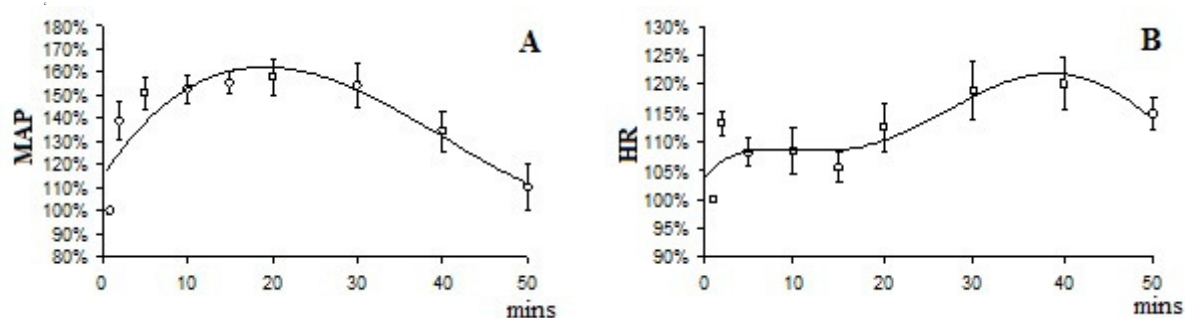
Đánh giá tác động của NMDA tới độ nhạy của phản xạ áp lực được tiến hành theo quy trình tương tự như đối với Glu. Ngay sau khi NMDA bắt đầu được dẫn truyền vào não thất bên hệ số a giảm xuống tới giá trị  $0,5 \pm 0,24$ , sau đó tăng nhẹ tới  $0,9 \pm 0,62$ . Đến cuối thí nghiệm  $a = 2,5 \pm 0,51$ , gần bằng với giá trị nền (hình 5B), trong khi không có sự thay đổi nào được ghi nhận ở nhóm control (nhóm dẫn truyền dung dịch sinh lý).



Hình 1. Biến đổi MAP và HR trong các thí nghiệm đối chứng, m: phút.



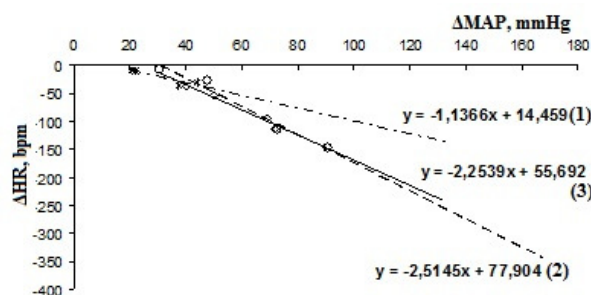
Hình 2. Ảnh hưởng của sự dẫn truyền dung dịch Glu 12 μM đến MAP (A) và HR (B) tính theo giá trị %.



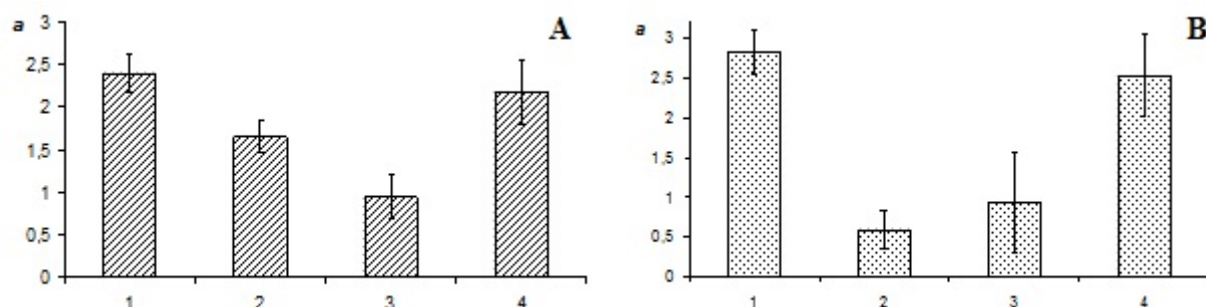
Hình 3. Ảnh hưởng của sự dẫn truyền dung dịch NMDA 0,2 nM đến MAP (A) và HR (B), giá trị của các chỉ số tương ứng ngay trước khi dẫn truyền Glu (phút thứ 40 từ khi bắt đầu thí nghiệm được tính là 100%).

Tương tự các nghiên cứu khác [12, 16, 17], trong nghiên cứu này MAP và HR tăng có thể là kết quả kích hoạt các thụ thể Glu ở các cấu trúc tham gia điều khiển các chức năng tự động của cơ thể. Ngoài ra, kết quả nghiên cứu này còn cho thấy sự thay đổi đồng hướng của MAP và HR trong điều kiện nồng độ Glu tăng có liên quan với sự suy giảm cường độ phản xạ áp lực. Rất có thể các cơ chế điều hòa của Glu tham gia

trong vòng liên hệ ngược âm tính [19-22] hoặc Glu tác động điều hòa vào cung phản xạ áp lực trong phạm vi nhân của bó đơn độc. Như vậy, sự tăng nồng độ Glu trong não là yếu tố làm giảm độ nhạy của phản xạ áp lực, đồng thời điều hòa hiệu ứng của mối liên hệ ngược âm tính trong hệ thống kiểm soát huyết áp động mạch. Trong các tác động của Glu có sự tham gia của các thụ thể NMDA (hình 5).



Hình 4. Sự thay đổi độ nhạy của phản xạ áp lực dưới tác động của Glu. 1 - trước khi dẫn truyền dung dịch Glu, 2 - dưới tác động của dung dịch Glu 12 μM, 3 - 60 phút sau khi bắt đầu dẫn truyền dung dịch Glu.



Hình 5. Ảnh hưởng của dung dịch Glu 6  $\mu$ M (A) và NMDA 0,2 nM (B) được dẫn truyền vào dịch não tủy đến độ nhạy của phản xạ áp lực (hệ số a. Trên trục Ox: 1 - giá trị nền; 2,3,4 - thời gian tương ứng với các thử nghiệm tại thời điểm 5, 25 và 45 phút từ lúc bắt đầu dẫn truyền.

#### 4. Kết luận

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy rằng gia tăng nồng độ Glu trong dịch não tủy kích thích hệ tuần hoàn và làm tăng MAP, và HR. Glu tác động lên độ nhạy của phản xạ áp lực khi dẫn truyền theo kiểu khiến ngược âm tính (negative feedback). Hơn nữa, Glu và NMDA cùng tác động đến phản xạ áp lực và gây ra những hiệu ứng tương đồng, chứng tỏ thụ thể Glu loại NMDA tham gia vào điều tiết tác động của Glu trong dịch não tủy trong chế độ điều hòa hoạt động hệ tuần hoàn.

#### Tài liệu tham khảo

- [1] Bongiani F., Mutolo D., Carfi M., Pantaleo T. Respiratory responses to ionotropic glutamate receptor antagonists in the ventral respiratory group of the rabbit, *Pflugers Archive* 444 (2002) 602.
- [2] Bonham A.C., McCrimmon D.R. Neurons in a discrete region of the nucleus tractus solitarius are required for the Breuer-Hering reflex in rat, *Journal of Physiology* 427 (1990) 261.
- [3] Braga V.A., Antunes V.R., Machado B.H. Autonomic and respiratory responses to microinjection of L-glutamate into the commissural subnucleus of the NTS in the working heart-brainstem preparation of the rat, *Brain Research* 1093 (2006) 150.
- [4] Canesin R.O., Bonagamba L.G.H., Machado B.H. Bradycardic and hypotensive responses

to microinjection of L-glutamate into the lateral aspect of the commissural NTS are blocked by an NMDA receptor antagonist, *Brain Res.* 852 (2000) 68.

- [5] Fagg G.E., Foster A.C. Amino acid neurotransmitters and their pathways in the mammalian central nervous system, *Neuroscience* 9 (1983) 701.
- [6] Frigero M., Bonagamba L.G.H., Machado B.H. The gain of the baroreflex bradycardia is reduced by microinjection of NMDA receptor antagonists into the nucleus tractus solitarius of awake rats, *Journal of Autonomic Nervous System* 79 (2000) 28.
- [7] Gören M.Z., Akici A., Berkman K., Onat F. Cardiovascular responses to NMDA injected into nuclei of hypothalamus or amygdala in conscious rats, *Pharmacology* 61 (2000) 257.
- [8] Hawkins R.A. The blood-brain barrier and glutamate, *American Journal of Clinical Nutrition* 90 (2009) 867.
- [9] Hehre D.A., Devia C.J., Bancalari E., Suguihara C. Brainstem amino acid neurotransmitters and ventilatory response to hypoxia in piglets, *Pediatrics Research* 63 (2008) 46.
- [10] Kazemi H., Hoop B. Glutamic acid and gamma-aminobutyric acid neurotransmitters in central control of breathing, *Journal Apply Physiology* 70 (1991) 1.
- [11] Leone C., Gordon F.J. Is L-glutamate a neurotransmitter of baroreceptor information in the nucleus of the tractus solitarius, *Journal Pharmacology Experimental Therapeutics* 250 (1989) 35.
- [12] Mizusawa A., Ogawa H., Kikuchi Y., Hida W., Kurosawa H., Okabe S., Takishima T., Shirato K. *In vivo* release of glutamate in

- nucleus tractus solitarii of the rat during hypoxia. *Journal of Physiology* 478 (1994) 55.
- [13] Nelson D.O., Cohen H.L., Feldman J.L., McCrimmon D.R. Cardiovascular function is altered by picomole injections of glutamate into rat medulla. *Journal of Neurosciences* (1988) 1684.
- [14] 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.
- [15] Takakura C., Moreira T.S., Wet G. H., Gwilt J.M., Colombari E., Stornetta R. L. and Guyenet P. G. GABAergic Pump cells of solitary tract nucleus innervate retrotrapezoid nucleus chemoreceptors, *Journal of Neurophysiology* 98 (2007) 374.
- [16] Talman W.T. Kynurenic acid microinjected into the nucleus tractus solitarius of rat blocks the arterial baroreflex but not responses to glutamate, *Neuroscience Letter* 102 (1989) 247.
- [17] Tsuchihashi T., Abe I., Fujishima M. Role of Metabotropic Glutamate Receptors in Ventrolateral Medulla of Hypertensive Rats, *Hypertension* 24 (1994) 648.
- [18] Tsuchihashi T., Averill D.B. Metabotropic glutamate receptors in the ventrolateral medulla of rats, *Hypertension* 21 (1993) 739.
- [19] Vardhan A., Kachroo A., Sapru H.N. Excitatory amino acid receptors in commissural nucleus of the NTS mediate carotid chemoreceptor responses, *European Journal of Physiology* 264 (1993) 41.
- [20] Young R.S.K., Petroff O.A.C., Aquila W.J., Yates J. Effects of glutamate, quisqualate, and N-methyl-D-aspartate in neonatal brain, *Experimental Neurology* 111 (1991) 362.
- [21] Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга, М.: Медицина, 328 (2001)40.
- [22] Сухова Г.К., Ноздрачев А.Д. Неонатальная Интермиттирующая гипоксия ускоряет развитие возрастных нарушений барорефлекторной чувствительности и вариабельности сердечного ритма, Доклады Академии наук 420 (2008) 421.

## Effects of Cerebral Glutamate on Cardiovascular Functionality

Vu Thi Thu<sup>1</sup>, Bui Thi Huong<sup>2</sup>, Le Thanh Long<sup>3</sup>, Aleksandrov V<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*Faculty of Biology, The Key Laboratory of Enzyme and Protein Technology (KLEPT), VNU University of Science, 334 Nguyen Trai, Thanh Xuan, Hanoi, Vietnam*

<sup>2</sup>*Vietnam-Russia Tropical Centre, Nguyen Van Huyen, Cau Giay, Hanoi, Vietnam*

<sup>3</sup>*Cardiovascular and Metabolic Disease Center, Inje University, Korea*

<sup>4</sup>*Faculty of Biology Herzen State Pedagogical University of Russia, Petersburg, Russia*

**Abstract:** Glutamate is one of the major excitatory neurotransmitters and plays an important role in the regulation of visceral functions. In this study, we examined the influence of a glutamate cerebral level and mimetic N-methyl-D-aspartate on cardiovascular system state and baroreflex sensitivity in acute experimental rat model. Our data showed that cerebroventricular microinjection of glutamate and NMDA increased mean arterial blood pressure and heart rate, and decreased baroreflex sensitivity and this impact depends on the concentration as well as the time impact. Thus, cerebral level of glutamate is potential factor modulating cardiocirculatory mechanoreflex.

**Keywords:** Glutamate, NMDA, excitatory neurotransmitters.