

The effect of ivabradine administration on heart rate, blood pressure, and secretion of epinephrine, norepinephrine, and corticosterone during stress response in rats

Vplyv ivabradínu na srdcovú frekvenciu, artériový krvný tlak a sekréciu adrenalínu, noradrenalínu a kortikosterónu počas stresovej reakcie u potkana

Hegedušová N¹, Ondičová K^{1,2}, Miková L^{1,2}, Lejavová K^{1,2}, Horváthová L², Tillinger A², Mravec B^{2,3}

¹Ústav patologickej fyziológie, Lekárska fakulta Univerzity Komenského, Bratislava, Slovenská republika

Hegedusova N, Ondicova K, Mikova L, Lejavova K, Horvathova L, Tillinger A, Mravec B. **The effect of ivabradine administration on heart rate, blood pressure, and secretion of epinephrine, norepinephrine, and corticosterone during stress response in rats.** Cardiology Lett. 2014;23(6):390–399

Abstract. Aim: The extent and duration of neuroendocrine stress response is regulated also by afferent signals from visceral organs. The aim of our study was to investigate the effect of ivabradine-induced reduction of afferent signalization from the heart on neuroendocrine stress response.

Methods: Male Sprague-Dawley rats (250 – 300 g) were injected with ivabradine (5 mg/kg body weight) or saline. Thirty minutes after ivabradine or saline administration animals were exposed to stressors (handling, restraint, or immobilization). Heart rate and blood pressure were recorded in rats by telemetry method. Moreover, blood samples were collected and plasma levels of catecholamines and corticosterone were determined.

Results: Administration of ivabradine attenuated stress-induced increase of heart rate and blood pressure in animals exposed to all three stressors. In rats exposed to the mild stressor, handling, ivabradine reduced secretion of epinephrine and norepinephrine compared to animals administered with saline. In contrast, in rats exposed to intense stressors (restraint or immobilization) ivabradine exaggerated epinephrine secretion, whereas plasma levels of norepinephrine were not significantly affected. Administration of ivabradine did not change plasma levels of corticosterone in animals exposed to handling, restraint or immobilization.

Conclusion: We have shown that ivabradine administration reduced the activity of the sympathetic nervous system during exposure to a mild stressor. In contrast, during exposure to intensive stressors, ivabradine increased the activity of adrenal medulla but without any effect on sympathetic nervous system activity. Hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis activity remained unaffected after ivabradine treatment in animals exposed to stressors. Our findings indicate that selective reduction of heart rate during exposure to a mild psychosocial stressor might reduce sympathoadrenal stress response and therefore protect the organism from negative impact of stressors. Fig. 2, Ref. 38, Online full text (Free, Pdf) www.cardiology.sk

Key words: afferent signalization – ivabradine – catecholamine – corticosterone – vagus nerve – heart rate – stress

Hegedušová N, Ondičová K, Miková L, Lejavová K, Horváthová L, Tillinger A, Mravec B. **Vplyv ivabradínu na srdcovú frekvenciu, artériový krvný tlak a sekréciu adrenalínu, noradrenalínu a kortikosterónu počas stresovej reakcie u potkana.** Cardiology Lett. 2014;23(6):390–396

Z ¹Ústavu patologickej fyziológie, Lekárska fakulta Univerzity Komenského v Bratislave, ²Ústavu experimentálnej endokrinológie, SAV v Bratislave a ³Fyziologického ústavu, Lekárska fakulta Univerzity Komenského v Bratislave, Slovenská republika

Do redakcie došlo dňa 27. októbra 2014; prijaté dňa 29. októbra 2014

Adresa pre korešpondenciu: Doc. MUDr. Boris Mravec, PhD., Fyziologický ústav, Lekárska fakulta UK, Sasinkova 2, 813 72 Bratislava, Slovenská republika, e-mail: boris.mravec@fmed.uniba.sk

Abstrakt. *Cieľ:* Na regulácii rozsahu a trvania stresovej reakcie sa podieľajú aj aferentné signály z vnútorných orgánov. Cieľom nášho výskumu preto bolo skúmať vplyv ivabradínu vyvolaného zníženia aferentnej signalizácie z myokardu na neuroendokrinnú stresovú reakciu.

Metódy: Samcom potkanov kmeňa Sprague-Dawley (250 – 300 g) sa intraperitoneálne aplikoval ivabradín (5 mg/kg telesnej hmotnosti) alebo fyziologický roztok. O 30 minút neskôr sa zvieratá exponovali jednému z troch rôznych stresorov (handling, restraint stres, imobilizácia). U zvierat sa telemetricky zaznamenávali hodnoty srdcovej frekvencie a arteriálneho tlaku krvi. Okrem toho sa potkanom opakovane odobrala krv, v ktorej sa stanovili plazmatické koncentrácie katecholamínov a kortikosterónu.

Výsledky: Podanie ivabradínu zabránilo stresom indukovanému zvýšeniu srdcovej frekvencie a arteriálneho tlaku, a to pri každom z použitých stresorov. U potkanov vystavených miernemu stresoru, handlingu, ivabradín znížil sekréciu adrenalínu a noradrenalínu v porovnaní so zvieratami, ktorým bol podaný fyziologický roztok. Na rozdiel od toho u zvierat vystavených intenzívnym stresorom (restraint stres alebo imobilizácia), ivabradín výrazne zvýšil sekréciu adrenalínu, plazmatické koncentrácie noradrenalínu ale významne neovplyvnil. Hladiny kortikosterónu podanie ivabradínu výraznejšie neovplyvnilo ani pri jednom z použitých stresorov.

Záver: Preukázali sme, že ivabradín znižuje aktivitu sympatiko-adrenálneho systému počas expozície miernemu stresoru. Naopak, počas expozície intenzívnym stresorom ivabradín zvyšuje aktivitu drene nadobličiek, aktivitu sympatikového systému ale neovplyvňuje. Aktivitu hypotalamo-hypofýzo-adrenokortikálnej osi u zvierat exponovaných miernemu, ako aj intenzívnym stresorom ivabradín neovplyvňuje. Naše experimentálne nálezy poukazujú na to, že v prípade vystavenia jedinca pôsobeniu mierneho, psychologického stresora, môže selektívne zníženie srdcovej frekvencie zmierniť rozsah sympatiko-adrenálnej stresovej reakcie a tým obmedziť jej negatívne vplyvy na činnosť organizmu. Obr. 2, Lit. 38, Online full text (Free, Pdf) www.cardiology.sk

Kľúčové slová: aferentná signalizácia – ivabradín – katecholamíny – kortikosterón – nervus vagus – srdcová frekvencia – stres

Trvanie a rozsah stresovej reakcie sú ovplyvňované viacerými faktormi, medzi ktoré patrí aj aferentná signalizácia z vnútorných orgánov (1). Tieto signály umožňujú spätnoväzobnú reguláciu aktivity základných zložiek neuroendokrinné stresovej reakcie, sympatiko-adrenálneho systému (SAS) a hypotalamo-hypofýzo-adrenokortikálnej (HPA) osi (2).

Spätnoväzobná regulácia neuroendokrinné stresovej reakcie vykazuje charakteristiky homeostatických regulácií (3, 4). Centrum homeostatu regulujúceho činnosť SAS sa nachádza v mozgovom kmeni (C1 adrenergické neuróny) a prostredníctvom descendných projekcií do miechy reguluje uvoľňovanie noradrenalínu zo sympatikových nervových zakončení a vyplavovanie adrenalínu (v menšej miere aj noradrenalínu) z drene nadobličiek (5). Typickým príkladom aktivácie SAS v dôsledku pôsobenia stresorov je zvýšenie srdcovej frekvencie (6, 7). Na regulácii činnosti SAS sa podieľajú aj signály prenášané z kardiovaskulárneho systému. Tieto signály vznikajú v mechanosenzitívnych zakončeníach nervus vagus a nervus glossopharyngeus, ktoré monitorujú krvný tlak, náplň srdca a kontraktilitu myokardu a sú prenášané do nucleus tractus solitarius (NTS), ktorý sa nachádza v dolnej časti mozgového kmeňa (8). NTS následne moduluje aktivitu C1 adrenergických neurónov a tým aj rozsah aktivity SAS (9). Neuróny NTS projekujú aj k neurónom nucleus paraventricularis hypothalami, a preto signály súvisiace s činnosťou kardiovaskulárneho systému môžu potenciálne ovplyvňovať aj činnosť HPA osi (10).

Význam aferentnej signalizácie z myokardu v modulácii rozsahu stresovej reakcie je však nejasný. Spôsobujú to pre-

dovšetkým metodologické obmedzenia, keďže u laboratórnych zvierat je komplikované uskutočniť selektívnu senzitivnú chirurgickú denerváciu srdca. Podanie farmák, ktoré znižujú srdcovú frekvenciu (napríklad betablokátory), zasa vyvoláva zmeny v aktivite rôznych vnútorných orgánov (11, 12). Tým sa ovplyvňuje aferentná signalizácia z týchto orgánov, čo neumožňuje selektívne skúmať úlohu aferentnej signalizácie zo srdca na neuroendokrinnú stresovú reakciu.

V ostatných rokoch je však k dispozícii látka S16257, ivabradín (7,8-dimetoxy 3-{3-([1S]-(4,5-dimetoxybenzocyclobután-1-yl) metyl) metylamino)propyl} 1,3,4,5-tetrahydro-2H-benzazepín 2-one), ktorá selektívne znižuje srdcovú frekvenciu bez výraznejšieho ovplyvnenia aktivity iných vnútorných orgánov (13, 14). Ivabradín je vysoko selektívny inhibítor hyperpolarizáciou aktivovaných I_f kanálov sinoatriálneho uzla. Zablockovaním týchto kanálov sa znižuje tendencia krivky k spontánnej diastolickej depolarizácie. Tým sa predĺži časový interval medzi následnými akčnými potenciálmi vznikajúcimi v sinoatriálnom uzle a dôsledkom je pokles srdcovej frekvencie (15). Ivabradín vyvoláva výraznú bradykardiu tak počas pokoja, ako aj počas fyzickej aktivity (16). Toto farmakum preto umožňuje selektívne znížiť prenos signálov súvisiacich s kontraktilitou myokardu (respektíve frekvenciou) do NTS a tým potenciálne ovplyvniť aj spätnoväzobnú reguláciu aktivity SAS a HPA osi.

V našich experimentoch sme preto skúmali, ako ovplyvní podanie ivabradínu rozsah neuroendokrinné stresovej reakcie. Ivabradín sme potkanom podali 30 minút pred ich expozíciou jednému z troch rozdielnych stresorov, ktoré sa

navzájom odlišujú v miere aktivácie SAS a HPA osi. Aktivitu SAS sme určovali na základe plazmatických hladín adrenalínu a noradrenalínu, aktivitu HPA osi na základe plazmatických koncentrácií kortikosterónu. Na overenie predpokladaného vplyvu ivabradínu na myokard sme u potkanov pomocou telemetrického systému monitorovali srdcovú frekvenciu a artériový krvný tlak.

Metodika

Samce potkanov kmeňa Sprague-Dawley (250 – 300 g) umiestnené v klietkach po tri sa chovali v štandardných podmienkach (12/12 hodinový svetelný režim so začiatkom svetlej fázy o 6:00 a teplotou 23 ± 1 °C) s prístupom k vode a štandardnej peletovanej potrave *ad libitum*. Experimenty sa uskutočnili v súlade s protokolom schváleným Štátnou veterinárnou a potravinovou správou SR a Etickou komisiou Ústavu experimentálnej endokrinológie SAV podľa Európskej dohody na ochranu zvierat použitých na experimentálne a iné vedecké účely (smernica 2010/63/EU Európskeho parlamentu).

Experimenty boli rozdelené do dvoch etáp. V prvej etape sme potkanom ($n = 28$) implantovali telemetrický snímač do brušnej aorty (17). Sedem dní po implantácii, keď sa zvieratá zregenerovali, sme ich vystavili jednému z nasledujúcich stresorov: i/ 5-minútový handling ($n = 10$); ii/ 60-minútový restraint stres ($n = 9$) (18); alebo iii/ 60-minútový imobilizačný stres ($n = 9$) (19). Tridsať minút pred expozíciou zvierat stresorom bol potkanom intraperitoneálne aplikovaný ivabradín v dávke 5 mg/kg telesnej hmotnosti rozpustený vo fyziologickom roztoku (2 ml/kg telesnej hmotnosti; skupina IVA). Potkanom z kontrolnej skupiny bol podaný fyziologický roztok (2 ml/kg telesnej hmotnosti; skupina SAL). Okrem toho v 5. a 60. minúte od začiatku expozície stresorom sa pomocou telemetrického zariadenia zaznamenala srdcová frekvencia a krvný tlak.

V druhej etape sme potkanom ($n = 45$) zaviedli do *vena jugularis* permanentnú kanylu, ktorá umožňuje opakovaný a bezstresový odber krvi u voľne pohyblivého zvieratá (20). Nasledujúci deň sme potkany exponovali buď 5-minútovému handlingu ($n = 16$), 60-minútovému restraint stresu ($n = 16$), alebo 60-minútovej imobilizácii ($n = 13$). Podobne ako v predchádzajúcej etape bol tridsať minút pred expozíciou stresorom potkanom intraperitoneálne injekčne podaný buď ivabradín (5 mg/kg telesnej hmotnosti) rozpustený vo fyziologickom roztoku (2 ml/kg telesnej hmotnosti; skupina IVA), alebo fyziologický roztok (2 ml/kg telesnej hmotnosti; skupina SAL). Okrem toho na začiatku a na konci expozície stresorom sme prostredníctvom kanyly odobrali potkanom krv v objeme 0,4 ml a následne sme im podali rovnaký objem roztoku heparínu (50 IU/ml). Vzorky krvi boli po odobratí okamžite umiestnené na ľad. Po centrifugácii krvi (10 000

otáčok/min, 10 minút, 4 °C) bola odobratá krvná plazma, ktorú sme následne uskladnili pri teplote -70 °C až do stanovenia plazmatických hladín adrenalínu, noradrenalínu a kortikosterónu.

Na biochemické stanovenie plazmatických hladín katecholamínov sme použili komerčne dostupný ELISA kit (2-CAT (A-N) Research ELISA, LDN, Nordhorn, Nemecko) s minimálnou hladinou detekcie pre adrenalín 8,1 pg/ml a pre noradrenalín 5,4 pg/ml, pričom tieto hodnoty závisia aj od objemu vzorky. Pre stanovenie plazmatických hladín kortikosterónu sme použili komerčne dostupný RIA kit s minimálnou hladinou detekcie 7,7 ng/ml.

Výsledky boli štatisticky vyhodnotené prostredníctvom programu GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, San Diego CA, USA). Zo získaných hodnôt koncentrácií hormónov sme následne vypočítali hodnoty plochy pod krivkou (AUC). AUC sme získali súčinom koncentrácie a času, čím sme získali celkové množstvo vylúčených hormónov počas expozície 5-minútovému handlingu, 60-minútovému restraint stresu alebo 60-minútovej imobilizácii. Vplyv ivabradínu na srdcovú frekvenciu a krvný tlak sa štatisticky hodnotil pomocou jednocestnej analýzy rozptylu s Tukeyho *post hoc* testom; v prípade plazmatických hladín hormónov pomocou t-testu s Welchovou korekciou. Hodnoty sú uvádzané ako priemer $\pm$ SEM. Za štatisticky významné sa považovali rozdiely medzi skupinami, kde $p < 0,05$.

Výsledky

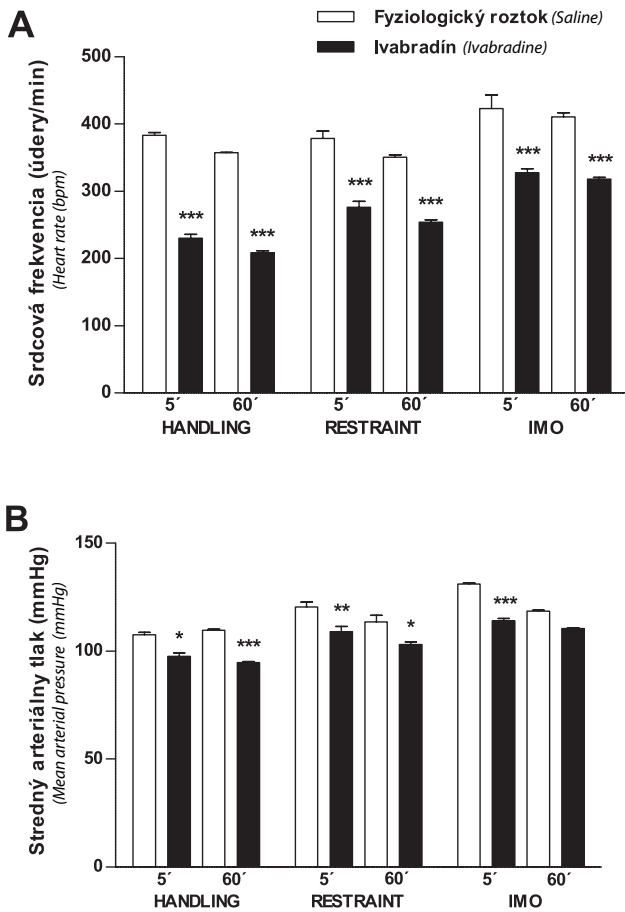
Vplyv ivabradínu na srdcovú frekvenciu a krvný tlak

Ivabradín podaný intraperitoneálne 30 minút pred expozíciou zvierat stresorom signifikantne znížil stresom podmienené zvýšenie srdcovej frekvencie u zvierat vystavených handlingu, restraint stresu alebo imobilizácii v oboch sledovaných časových úsekoch, t. j. v 5. aj v 60. minúte od začiatku expozície stresorom. Najvýraznejší inhibičný vplyv ivabradínu na srdcovú frekvenciu sa pozoroval u potkanov exponovaných handlingu, pričom významný pokles srdcovej frekvencie bol prítomný ešte 60 minút po ukončení handlingu (obrázok 1A).

Ivabradín tiež znížil artériový krvný tlak, pričom u zvierat exponovaných handlingu, restraintu alebo imobilizácii toto zníženie dosahovalo signifikantné hodnoty (obrázok 1B).

Vplyv ivabradínu na sekréciu adrenalínu, noradrenalínu a kortikosterónu

Ivabradín podaný pred expozíciou handlingu významne znížil vyplavovanie adrenalínu (SAL: $1\,854 \pm 105$ pg/ml.min vs. IVA: $1\,530 \pm 61$ pg/ml.min, $p < 0,05$) a noradrenalínu (SAL: $11\,695 \pm 350$ pg/ml.min vs. IVA: $9\,182 \pm$



Obrázok 1 Vplyv intraperitoneálne podaného ivabradínu (□ $n = 4 - 6$) na hodnoty srdcovej frekvencie (A) a krvného tlaku (B) u potkanov exponovaných handlingu, restraint stresu alebo imobilizácii (IMO). Zvieratám z kontrolnej skupiny sa aplikoval fyziologický roztok (■ $n = 4 - 6$). Ivabradín vs. Fyziologický roztok: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,005$.

Figure 1 The effect of intraperitoneally administrated ivabradine (□ $n = 4-6$) on heart rate (A) and blood pressure (B) in rats exposed to handling, restraint stress or immobilization (IMO). Control animals were administered with saline (■ $n = 4-6$). Ivabradine vs. Saline: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.005$

331 pg/ml.min, $p < 0,005$) (obrázok 2A, obrázok 2B). Naopak, u zvierat exponovaných restraintu alebo imobilizácii ivabradín sekreciu adrenalínu zvýšil (restraint: SAL: $9\,948 \pm 920$ pg/ml.min vs. IVA: $27\,122 \pm 1\,531$ pg/ml.min, $p < 0,005$; imobilizácia: SAL: $53\,963 \pm 6\,058$ pg/ml.min vs. IVA: $70\,469 \pm 3\,483$ pg/ml.min, $p < 0,05$) (obrázok 2D, obrázok 2G). Sekrécia noradrenalínu u týchto zvierat ale ovplyvnená nebola (obrázok 2E, obrázok 2H). Vyplavovanie kortikosterónu u zvierat exponovaných stresorom nebolo ivabradínom ovplyvnené (obrázok 2C, obrázok 2F, obrázok 2I).

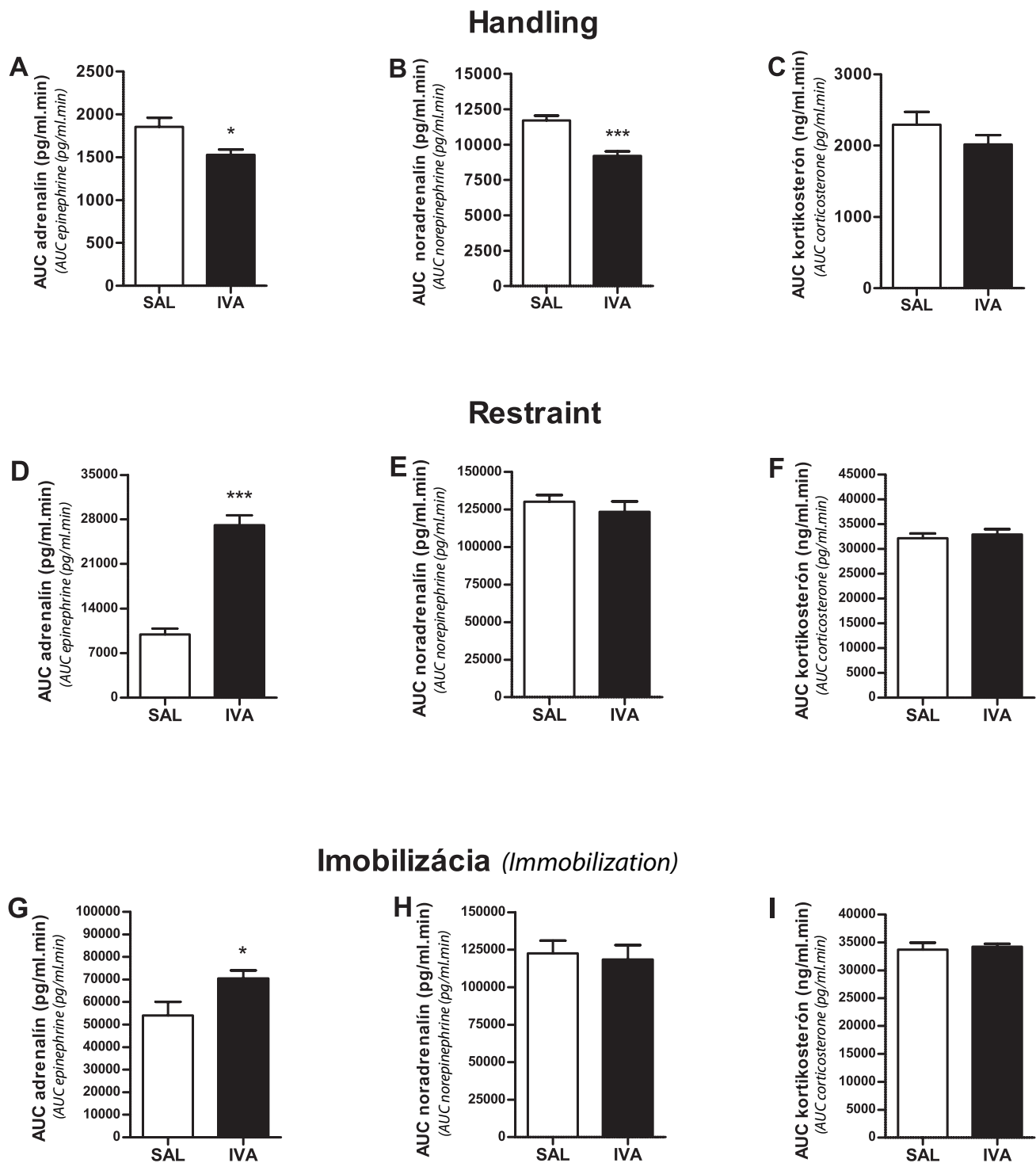
Diskusia

Negatívna spätná väzba predstavuje jeden z najuniverzálnejších mechanizmov regulácie činnosti organizmu, či už na úrovni molekulárnych dráh, buniek, tkanív alebo orgánových systémov (21). Tento regulačný mechanizmus sa podieľa aj na modulácii priebehu neuroendokrinné stresovej reakcie (1, 22). Aktivácia SAS a HPA osi podmieňuje zvýšenie uvoľňovania katecholamínov a kortikosterónu, pričom tieto látky ovplyvňujú činnosť vnútorných orgánov (6). Kortikosterón uvoľnený počas stresovej reakcie z kôry nadobličiek spätoväzobne ovplyvňuje aktivitu HPA osi priamo, pretože prechádza hematoencefalickou bariérou. Prostredníctvom hipokampu a ďalších štruktúr predného mozgu inhibuje činnosť neurónov nucleus paraventricularis hypothalami, ktoré uvoľňujú kortikoliberín do oblasti eminentia mediana (23, 24). Katecholamíny neprechádzajú hematoencefalickou bariérou (25), a preto je ich spätoväzobné pôsobenie na činnosť SAS nepriame a je sprostredkované aj aferentnými dráhami prenášajúcimi signály z vnútorných orgánov, ktorých aktivita sa pod vplyvom katecholamínov mení (26, 27).

Jedným z orgánových systémov, ktorý zohráva kľúčovú úlohu pri stresovej reakcii, je kardiovaskulárny systém (28). Možno preto predpokladať, že v spätoväzobnej regulácii činnosti SAS zohrávajú významnú úlohu práve signály prenášané z tkanív a orgánov kardiovaskulárneho systému. Určiť význam signálov prenášaných z kardiovaskulárneho systému, konkrétne zo srdca, na aktivitu SAS bolo až donedávna veľmi komplikované. Nervy inervujúce srdce sú zmiešané, pretože obsahujú tak motorické, ako aj senzitivné zložky (29). Selektívna senzitivná chirurgická denervácia srdca je preto bežne neuskutočniteľná. Ďalšiu možnosť predstavuje farmakologicky navodené zníženie prenosu signálov zo srdca, napríklad inhibíciou jeho činnosti betablokátormi. Tieto farmaká ale okrem kardiomyocytov pôsobia aj na ďalšie typy buniek (napríklad bunky tukového tkaniva, imunitného systému či endokrinného pankreasu) (30 – 32), a preto ovplyvňujú prenos signálov z viacerých vnútorných orgánov, nielen z kardiovaskulárneho systému.

V roku 1994 bola syntetizovaná látka S16257, ivabradín, ktorá selektívne inhibuje pacemakerovú aktivitu buniek sinoatriálneho uzla a tým znižuje srdcovú frekvenciu (13). Prevažná väčšina štúdií uskutočnených s ivabradínom a jej chemicky podobnými látkami (napríklad alinidine, cilobradine, zatebradine) sa preto zamerala a stále zameriava na skúmanie vplyvu ivabradínu na činnosť kardiovaskulárneho systému, a to pri fyziologických aj patologických situáciách (33 – 36).

Selektívna inhibícia srdcovej frekvencie umožňuje skúmať aj význam senzitivnej signalizácie prenášanej zo srdca do mozgu na rozsah neuroendokrinné stresovej reakcie a zodpovedať tak otázku, aký je význam pri aferentnej signalizácii zo srdca v spätoväzobnej regulácii činnosti SAS, prípadne



Obrázok 2 Vplyv intraperitoneálne podaného ivabradínu (□ n = 6 – 8) na celkovú sekreciu adrenalínu, noradrenalínu a kortikosterónu počas pôsobenia stresora u potkanov exponovaných handlingu (A – C), restraint stresu (D-F) alebo imobilizácií (IMO; G – I). Zvieratám z kontrolnej skupiny sa aplikoval fyziologický roztok (■ n = 6 – 8). Ivabradín vs. Fyziologický roztok: *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,005. AUC – plocha pod krivkou, reprezentujúca celkovú sekreciu daného hormónu počas pôsobenia stresora.

Figure 2 The effect of intraperitoneally administrated ivabradine (□ n = 6 – 8) on total amount of epinephrine, norepinephrine, and corticosterone secreted during exposure to stressor in rats exposed to handling (A – C), restraint stress (D-F) or immobilization (IMO; G-I). Control animals were administered with saline (■ n = 6 – 8). Ivabradine vs. Saline: *p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.005. AUC – area under the curve, represents total secretion of certain hormone during exposure to stressor.

či táto signalizácia ovplyvňuje aj činnosť HPA osi. V rámci našich experimentov sme skúmali, ako selektívne zníženie srdcovej frekvencie ivabradínom ovplyvní neuroendokrinnú stresovú reakciu u laboratórneho potkana.

Preukázali sme, že podanie ivabradínu významne znižuje hodnoty srdcovej frekvencie a stredného arteriálneho tlaku nielen počas stavu pokoja, ale taktiež počas expozície zvierať stresorom, ktoré sa odlišujú mierou aktivácie SAS a HPA osi. Podobné nálezy, ale z klinickej štúdie, publikoval Joannides a spol., ktorí sledovali vplyv ivabradínu na kardiovaskulárne parametre počas pokoja a počas expozície jedincov fyzickej záťaže. Autori tejto štúdie zistili, že podanie ivabradínu viedlo k poklesu hodnôt srdcovej frekvencie, a to tak počas pokojových podmienok, ako aj počas zvýšenej aktivity SAS indukovanej fyzickou aktivitou. Autori predpokladajú, že zníženie srdcovej frekvencie počas situácií, pri ktorých dochádza k výraznej aktivácii SAS, by mohlo prospešne ovplyvňovať činnosť kardiovaskulárneho systému (16).

V našich experimentoch sme tiež preukázali, že ivabradín ovplyvnil aj priebeh neuroendokrinnéj stresovej reakcie, a to v závislosti od typu stresora. Pri pôsobení mierneho stresora s prevahou psychologickéj zložky, akým je handling, ivabradín znížil aktivitu SAS. Na druhej strane, počas expozície zvierať intenzívnym stresorom s významnou fyzickou zložkou, akými sú restraint a imobilizácia, bola aktivita drene nadobličiek výrazne potenciovaná, čo sa prejavilo zvýšením plazmatických hladín adrenalinu. Predpokladáme, že toto zvýšenie je odrazom aktivácie kompenzačných reakcií v dôsledku nedostatočnej perfúzie tkanív a v dôsledku významného zníženia srdcovej frekvencie v situáciách, kedy je potrebné zvýšenie srdcového výdaja (7, 37). Predpokladáme, že organizmus zaregistroval nedostatočnú odpoveď na aktiváciu SAS počas stresovej reakcie, a preto následne došlo k potenciácii aktivity adrenomedulárnej zložky SAS. Na rozdiel od toho, aktivita sympatikových nervov u potkanov exponovaných restraintu alebo imobilizácii nebola významnejšie ovplyvnená, keďže plazmatické koncentrácie noradrenalinu podanie ivabradínu neovplyvnilo. Ivabradín taktiež neovplyvnil aktivitu HPA osi, keďže vyplavovanie kortikosterónu sa u zvierať exponovaných handlingu, restraint stresu ani imobilizácii nezmenilo. Uvedené výsledky sú prioritné, keďže v dostupnej literatúre nie sú údaje o vplyve ivabradínu na neuroendokrinnú stresovú reakciu u laboratórnych zvierať.

Účinky ivabradínu na neuroendokrinnú stresovú reakciu pozorované v našich experimentoch nie sú pravdepodobne podmienené priamym pôsobením na chromafinné bunky drene nadobličiek ani na sympatikové postgangliové neuróny, pretože v membráne týchto buniek nebola popísaná prítomnosť I_f kanálov. Predpokladáme, že ide o nepriamy efekt podmienený znížením srdcovej frekvencie, prípadne aj znížením arteriálneho krvného tlaku a následným znížením prenosu signálov z kardiovaskulárneho systému k štruktúram mozgu regulujúcim činnosť SAS.

Záver

Naše experimentálne nálezy naznačujú, že signály prenášané aferetnými dráhami zo srdca do centrálného nervového systému významnou mierou modulujú aktivitu SAS, konkrétne mechanizmom negatívnej spätnej väzby, a to najmä počas situácií, keď je organizmus exponovaný záťažovým podmienkam, kedy prevažuje pôsobenie psychologických stresorov. V prípade pôsobenia stresorov s prevahou fyzickej zložky táto signalizácia nemá na aktivitu SAS inhibičný vplyv.

V súčasnosti prevažuje vo vyspelých spoločnostiach pôsobenie psychologických stresorov. Pokiaľ tieto pôsobia chronicky, môžu sa u predisponovaných jedincov spolupodieľať na vzniku viacerých somatických chorôb v dôsledku dlhodobého a neprimeraného zvýšenia plazmatických hladín katecholamínov (38). Na základe našich nálezov predpokladáme, že selektívne zníženie srdcovej frekvencie pred expozíciou psychologickým stresorom sa môže uplatniť ako preventívny postup, ktorý zabraňuje, respektíve obmedzuje negatívne pôsobenie katecholamínov na orgánové systémy, a to najmä u pacientov s kardiovaskulárnymi chorobami.

Podakovanie

Práca bola finančne podporená grantom VEGA 2/0028/14 a Európskym fondom regionálneho rozvoja v rámci Operačného programu Výskum a vývoj pre projekt „Dobudovanie centra excelentnosti pre náhle cievne mozgové príhody na Lekárskej fakulte UK v Bratislave (ITMS 26240120023)“, spolufinancovaným zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Literatúra

1. Jänig W. Integrative Action of the autonomic nervous system. Cambridge: Cambridge University Press, 2006.
2. Ulrich-Lai YM, Herman JP. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nat Rev Neurosci* 2009;10:397-409.
3. Goldstein DS. Catecholamines and stress. *Endocr Regul* 2003;37:69-80.
4. Goldstein DS, McEwen B. Allostasis, homeostats, and the nature of stress. *Stress* 2002;5:55-58.
5. Guyenet PG, Stornetta RL, Bochorishvili G, Depuy SD, Burke PG, Abbott SB. C1 neurons: the body's EMTs. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2013;305:R187-204.
6. Romero LM, Butler LK. Endocrinology of stress. *International Journal of Comparative Psychology* 2007;20:89-95.
7. Lucini D, Di Fede G, Parati G, Pagani M. Impact of chronic psychosocial stress on autonomic cardiovascular regulation in otherwise healthy subjects. *Hypertension* 2005;46:1201-1206.
8. Wehrwein EA, Joyner MJ. Regulation of blood pressure by the arterial baroreflex and autonomic nervous system. *Handb Clin Neurol* 2013;117:89-102.

9. Guyenet PG. The sympathetic control of blood pressure. *Nat Rev Neurosci* 2006;7:335–346.
10. Herman JP, Cullinan WE. Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Trends Neurosci* 1997;20:78–84.
11. Wilkinson R. Beta-blockers and renal function. *Drugs* 1982;23:195–206.
12. Antonelli-Incalzi R, Pedone C. Respiratory effects of beta-adrenergic receptor blockers. *Curr Med Chem* 2007;14:1121–1128.
13. Thollon C, Cambarrat C, Vian J, Prost JF, Peglion JL, Vilaine JP. Electrophysiological effects of S 16257, a novel sino-atrial node modulator, on rabbit and guinea-pig cardiac preparations: comparison with UL-FS 49. *Br J Pharmacol* 1994;112:37–42.
14. Gardiner SM, Kemp PA, March JE, Bennett T. Acute and chronic cardiac and regional haemodynamic effects of the novel bradycardic agent, S16257, in conscious rats. *Br J Pharmacol* 1995;115:579–586.
15. Parakh N, Bhargava B. Rate control with ivabradine: angina pectoris and beyond. *Am J Cardiovasc Drugs* 2011;11:1–12.
16. Joannides R, Moore N, Jacob M, et al. Comparative effects of ivabradine, a selective heart rate-lowering agent, and propranolol on systemic and cardiac haemodynamics at rest and during exercise. *Br J Clin Pharmacol* 2006;61:127–137.
17. Muntzel MS, Al-Naimi OA, Barclay A, Ajasin D. Cafeteria diet increases fat mass and chronically elevates lumbar sympathetic nerve activity in rats. *Hypertension* 2012;60:1498–1502.
18. Day HE, Nebel S, Sasse S, Campeau S. Inhibition of the central extended amygdala by loud noise and restraint stress. *Eur J Neurosci* 2005;21:441–454.
19. Kvetnansky R, Mikulaj L. Adrenal and urinary catecholamines in rats during adaptation to repeated immobilization stress. *Endocrinology* 1970;87:738–743.
20. Thrivikraman KV, Huot RL, Plotsky PM. Jugular vein catheterization for repeated blood sampling in the unrestrained conscious rat. *Brain Res Brain Res Protoc* 2002;10:84–94.
21. Brandman O, Meyer T. Feedback loops shape cellular signals in space and time. *Science* 2008;322:390–395.
22. Rodrigues SM, LeDoux JE, Sapolsky RM. The influence of stress hormones on fear circuitry. *Annu Rev Neurosci* 2009;32:289–313.
23. Herman JP, Figueiredo H, Mueller NK, et al. Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. *Front Neuroendocrinol* 2003;24:151–180.
24. Myers B, McKlveen JM, Herman JP. Neural Regulation of the Stress Response: The Many Faces of Feedback. *Cell Mol Neurobiol* 2012;32:683–694.
25. Hardebo JE, Owman C. Barrier mechanisms for neurotransmitter monoamines and their precursors at the blood-brain interface. *Ann Neurol* 1980;8:1–31.
26. Miyashita T, Williams CL. Epinephrine administration increases neural impulses propagated along the vagus nerve: Role of peripheral beta-adrenergic receptors. *Neurobiol Learn Mem* 2006;85:116–124.
27. Mravec B. Role of catecholamine-induced activation of vagal afferent pathways in regulation of sympathoadrenal system activity: negative feedback loop of stress response. *Endocr Regul* 2011;45:37–41.
28. Huang CJ, Webb HE, Zourdos MC, Acevedo EO. Cardiovascular reactivity, stress, and physical activity. *Front Physiol* 2013;4:314.
29. Berthoud HR, Neuhuber WL. Functional and chemical anatomy of the afferent vagal system. *Auton Neurosci* 2000;85:1–17.
30. Smith J, Ferland A, Methot J, et al. The beta-1 adrenergic antagonist, atenolol, decreases acylation stimulating protein, exercise capacity and plasma free fatty acids in men with type 2 diabetes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2012;22:495–502.
31. Oberbeck R, Kobbe P. Beta-adrenergic antagonists: indications and potential immunomodulatory side effects in the critically ill. *Curr Med Chem* 2009;16:1082–1090.
32. Wicklmayr M, Rett K, Dietze G, Mehnert H. Effects of beta-blocking agents on insulin secretion and glucose disposal. *Horm Metab Res Suppl* 1990;22:29–33.
33. Riccioni G, Vitulano N, D'Orazio N. Ivabradine: beyond heart rate control. *Adv Ther* 2009;26:12–24.
34. Bois P, Guinamard R, Chemaly AE, Faivre JF, Bescond J. Molecular regulation and pharmacology of pacemaker channels. *Curr Pharm Des* 2007;13:2338–2349.
35. Reil JC, Bohm M. Heart rate and heart failure: the role of ivabradine therapy. *Curr Opin Cardiol* 2013;28:326–331.
36. Speranza L, Franceschelli S, Riccioni G. The biological effects of ivabradine in cardiovascular disease. *Molecules* 2012;17:4924–4935.
37. Charmandari E, Tsigos C, Chrousos G. Endocrinology of the stress response. *Annu Rev Physiol* 2005;67:259–284.
38. Chrousos GP. Stress and disorders of the stress system. *Nat Rev Endocrinol* 2009;5:374–381.