

<https://doi.org/10.15388/vu.thesis.570>

<https://orcid.org/0000-0002-0381-0346>

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Žilvinas Chomanskis

Arterinio kraujospūdžio korekcijos,
pritaikant giliosios galvos smegenų
stimuliacijos metodą gyvūnų modelyje,
tyrimas

DAKTARO DISERTACIJA

Medicinos ir sveikatos mokslai,
medicina (M 001)

VILNIUS 2023

Disertacija rengta 2018–2023 metais Vilniaus universitete.

Mokslinis vadovas – prof. dr. Saulius Ročka (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina, M 001).

Mokslinis konsultantas – prof. dr. Osvaldas Rukšėnas (Vilniaus universitetas, gamtos mokslai, biofizika, N 011).

Gynimo taryba:

Pirmininkė – prof. dr. Janina Tutkuvienė (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina, M 001).

Nariai:

prof. Toomas Asser (Tartu universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina, M 001),

prof. dr. Dalius Jatužis (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina, M 001),

prof. dr. Žaneta Petrulionienė (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina, M 001),

dr. Andrius Radžiūnas (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina, M 001).

Disertacija ginama viešame Gynimo tarybos posėdyje 2023 m. gruodžio 14 d. 14 val. Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų konferencijų salėje (Raudonoji auditorija, E122). Adresas: Santariškių g. 2, LT-08661, Vilnius, Lietuva, tel.: +370 5 236 5000; el. paštas: info@santa.lt.

Disertaciją galima peržiūrėti Vilniaus universiteto bibliotekoje ir VU interneto svetainėje adresu: www.vu.lt/naujienos/ivykiu-kalendorius

<https://doi.org/10.15388/vu.thesis.570>

<https://orcid.org/0000-0002-0381-0346>

VILNIUS UNIVERSITY

Žilvinas Chomanskis

Arterial Blood Pressure Correction Applying Deep Brain Stimulation Method in an Animal Model

DOCTORAL DISSERTATION

Medical and Health Sciences,
Medicine (M 001)

VILNIUS 2023

The dissertation was prepared between 2018 and 2023 at Vilnius University.

Academic supervisor – Prof. Dr. Saulius Ročka (Vilnius University, Medicinal and Health Sciences, M 001).

Academic consultant – Prof. Dr. Osvaldas Rukšėnas (Vilnius University, Natural Sciences, Biophysics, N 011).

This doctoral dissertation will be defended in a public meeting of the Dissertation Defence Panel:

Chairperson – Prof. Dr. Janina Tutkuvienė (Vilnius University, Medicinal and Health Sciences, M 001).

Members:

Prof. Dr. Toomas Asser (University of Tartu, Medical and Health Sciences, Medicine, M 001).

Prof. Dr. Dalius Jatužis (Vilniaus University, Medicinal and Health Sciences, M 001),

Prof. Dr. Žaneta Petrulionienė (Vilniaus University, Medicinal and Health Sciences, M 001),

Dr. Andrius Radžiūnas (Lithuanian University of Health Sciences, Medical Academy, Medicinal and Health Sciences, M 001),

The dissertation shall be defended at a public meeting of the Dissertation Defence Panel at 14:00 on 14 December 2023 in the Conference Room (Red Auditorium) of Vilnius University Hospital Santaros Clinics.

Address: Santariškių 2, LT-08661, Vilnius, Lietuva.

Tel.: +370 5 236 5000; e-mail: info@santa.lt.

The text of this dissertation can be accessed at Vilnius University Library, as well as on the website of Vilnius University:

www.vu.lt/lt/naujienos/ivykiu-kalendorius

SANTRUMPOS

AAH – antrinė arterinė hipertenzija

AH – arterinė hipertenzija

ANS – autonominė nervų sistema

AKS – arterinis kraujo spaudimas

ASK – analoginis-skaitmeninis keitiklis

BA – Brodmano zona

CAT – centrinis autonominis tinklas

CNS – centrinė nervų sistema

CPM – centrinė pilkoji medžiaga

GASR – γ -amino sviesto rūgštis

GPKO – galinės plokštelės kraujagyslinis organas

GSS – gilioji smegenų stimuliacija

JAV – Jungtinės Amerikos Valstijos

LB – pagumburio lankinis branduolys

LLP – lokalaus lauko potencialai

MABS – miego arterijos baroreceptorių stimuliacija

PAH – pirminė arterinė hipertenzija

PADJS – priekinė apatinė didžiosios jungties sritis

PB – pagumburinis branduolys

PIAD – perkutaninė inkstų arterijų denervacija

PLB – pavienio laido branduolys

PPB – prieskilvelinis pagumburio branduolys

PsAH – pseudorezistentinė arterinė hipertenzija

PSO – poskliautinis organas

RAAS – renino-angiotenzino-aldosterono sistema

RAH – rezistentinė arterinė hipertenzija

RfAH – refrakterinė arterinė hipertenzija

SAK – skaitmeninis-analoginis keitiklis

SNA – simpatinių nervų aktyvumas

SNS – simpatinė nervų sistema

SPŠPSD – snapinė pilvinė šoninė pailgųjų smegenų dalis

ŠSD – širdies susitraukimų dažnis

TŠB – tarpinis šoninis branduolys

UPŠPSD – uodeginė pilvinė šoninė pailgųjų smegenų dalis

PLB – pavienio laido branduolys

TURINYS

ĮVADAS	9
1. LITERATŪROS APŽVALGA	15
1.1. Pirminė arterinė hipertenzija	15
1.2. Rezistentinė arterinė hipertenzija	16
1.3. Arterinio kraujo spaudimo reguliavimas	17
1.3.1. Nervinis reguliavimas	18
1.3.2. Humoralinis reguliavimas	19
1.3.3. Sąsajos tarp baroreflekso ir RAAS	21
1.4. Arterinės hipertenzijos patogenezė	21
1.4.1. Druskai jautri hipertenzija	22
1.4.2. Nutukimo sukelta hipertenzija.....	24
1.5. Intervenciniai RAH gydymo būdai	25
1.5.1. Inkstų arterijų perkateterinė simpatinė denervacija	25
1.5.2. Baroreceptorių stimuliacija	26
1.6. Intervenciniai RAH gydymo būdai	26
1.6.1. Klinikiniai arterinės hipertenzijos korekcijos GSS bandymai.....	29
1.6.2. Potencialūs GSS taikiniai hipertenzijai gydyti	30
1.6.3. Eksperimentinės GSS sistemos	35
1.7. Literatūros apibendrinimas	37
2. METODIKA	38
2.1. Pulsų generatorius su integruota slėgio matavimo sistema.....	38
2.2. Pulsų generatoriaus invaziniai komponentai	40
2.3. Duomenų perdavimo ir analizės sistema	41
2.4. Eksperimentas 1: GSS stimulatoriaus veikimas	42
2.4.1. Gyvūnai.....	43
2.4.2. Chirurginė intervencija.....	43
2.4.3. Pooperacinis laikotarpis	45

2.4.4. Duomenų analizė.....	45
3. REZULTATAI.....	48
3.1. Eksperimentas 1: GSS stimulatoriaus veikimas	48
3.1.1. Modulio veikimo patvirtinimas	48
3.1.2. Išgyvenamumas ir neurologinis deficitas	49
3.1.3. Kalibracijos duomenys.....	49
3.1.4. Kateterių trombozė.....	50
3.2. Eksperimentas 2: UPŠPSD ilgalaikės stimuliacijos efektas	50
3.2.1. Išgyvenamumas ir neurologinis deficitas	50
3.2.2. Arterinio kraujospūdžio pokyčiai	51
4. REZULTATŲ APTARIMAS	54
4.1. Modulio veikimas ir veikimo patvirtinimas <i>in vivo</i>	54
4.2. Išgyvenamumas ir neurologinė simptomatika	57
4.3. Kalibracija.....	58
4.4. Kateterių trombozė.....	58
4.5. Hipotenzinis UPŠPSD stimuliacijos efektas	58
IŠVADOS	61
TYRIMO TĘSTINUMAS.....	62
TYRIMO TRŪKUMAI.....	63
LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	64
PRIEDAI.....	86
KONFERENCIJŲ PRANEŠIMAI DISERTACIJOS TEMA.....	87
PADĖKA	88
TRUMPOS ŽINIOS APIE DISERTANTĄ	89
SANTRAUKA.....	90

ĮVADAS

Tiriamoji problema ir darbo aktualumas

Gilioji smegenų stimuliacija (GSS) yra moderni XX amžiaus 9-ajame dešimtmetyje sukurta, silpno elektros krūvio poveikiu giliosioms smegenų substancijoms parenta, neuromoduliacinė terapija, skirta pacientų, sergančių centrinės nervų sistemos (CNS) ligomis, simptomams koreguoti (1). Nuo pat įdiegimo GSS tapo vienu iš efektyviausių gydymo metodų pažengusia Parkinsono liga, įvairios kilmės tremoru ir generalizuota distonija sergantiems pacientams, labai sumažinanti pacientų motorinius simptomus, vartojamų medikamentų kiekį, pagerinanti pacientų gebėjimą apsitarnauti ir gyvenimo kokybę (2, 3).

Šiuolaikinės GSS technologijos sparčiai vystosi (4–6). Taikant naujas GSS technologijas su daugiakampiais – direkciniais elektrodų kontaktais (angl. *directional leads*), galima selektyvesnė, šalutinių reiškinių padedanti išvengti stimuliacija (4, 5). Taip pat pasitelkiant modernias GSS pulsų generatorių jutiklines technologijas galima vadinamoji uždaro kontūro adaptyvi stimuliacija (angl. *closed-loop adaptive stimulation*), kai pati GSS sistema geba parinkti tinkamiausius stimuliacijos parametrus, pagal iš to paties implantuoto elektrodo gaunamą sensorinę informaciją (6).

Manoma, kad per ateinančius 20 metų akreditavimo tarnybų patvirtintų GSS ligų sąrašas gerokai išsiplės (2, 7). Pasaulyje, pasitelkiant įvairius ikiklinikinius ir klinikinius tyrimus, GSS mėginama pritaikyti pacientų, kurių ligų patogenezė turi reikšmingą neurogeninį komponentą, gydymui (8–13). Didelį vaidmenį čia atlieka ikiklinikiniai GSS gyvūnų modeliai. Šie modeliai yra naudojami saugesnių ir efektyvesnių smegenų taikinių paieškai, gydant ligas, kurios ir dabar sėkmingai gydomos elektrine stimuliacija (10). Be to, GSS gyvūnų modeliai naudojami siekiant įvertinti galimybę pritaikyti elektrinę stimuliaciją gydant ligas, kurioms elektrinė stimuliacija dar nebuvo taikyta (11, 14). Yra žinoma, kad pirminės arterinės hipertenzijos (PAH) ir nutukimo patogenezės reikšmingai susijusios su sutrikusiomis neurogeninės kilmės reguliavimo grandinėmis, todėl šiomis ligomis sergantys pacientai laikomi perspektyviausiais kandidatais ateityje gydyti GSS būdu (15–18).

Nors GSS indikacijų plėtotės prognozės išlieka pozityvios, vis dėlto istoriškai susiklostė taip, kad be obsesinio kompulsinio sindromo indikacijų patvirtinimo 2008 m. Jungtinėse Amerikos Valstijose (JAV) ir 2009 m. Europos Sąjungoje, toliau GSS indikacijos nesiplėtė (19). Abiejose randomizuotose kontroliuojamose studijose, finansuotose GSS sistemas gaminančių didelių verslo kompanijų, kurios vertino GSS reikšmę depresija

sergančių pacientų nuotaikos pokyčiams, nebuvo gauta taip lauktų reikšmingų skirtumų tarp eksperimentinių ir kontrolinių grupių (20, 21). Daugiacentrinė klinikinė studija GSS poveikiui Alzheimerio ligos simptomų korekcijai įvertinti taip pat susidūrė su panašiomis, kaip ir depresijos tyrimų atveju, problemomis, nenustatyta skirtumų tarp stimuliuojamųjų ir nestimuliuojamųjų pacientų (22). Yra tik pavieniai klinikiniai bandymai, vertinantys pavienius pacientus, kai GSS sistema buvo implantuota sergantiesiems rezistentine arterine hipertenzija (RAH) (15, 23–25). Nutukimo GSS klinikinių studijų teigiami rezultatai labai nežymūs ir nėra geresni negu šiuo metu plačiai taikomos bariatrinės chirurgijos (17, 26). Sąmonės sutrikimai dėl daugialypės sąmonės sutrikimų kilmės taip pat rodo panašius nežymiai teigiamus rezultatus: padaugėja pacientų būdravimo periodo laikas, tačiau kokybinio sąmonės lygio šuolio pasiekti nepavyksta (27, 28). Taigi, didžioji depresija, RAH, nutukimas, įvairūs sąmonės sutrikimai ir vegetacinės būklės, nors ir sukeltos įvairių pažaidų galvos smegenų reguliacinėse grandinėse, vis dar negali būti plačiai gydamos GSS metodu klinikinėje praktikoje (17, 20, 28, 29).

Viena, nors ir daugiųjų veiksnių lemiamą ligą, tačiau turinti aiškų neurogeninį komponentą, yra PAH (15). Mills ir kt., remdamiesi 135 atliktais populiaciniais tyrimais, kuriuose iš viso dalyvavo 968 419 suaugusiųjų iš 90 šalių, apskaičiavo, kad 2010 m. pasaulinis pagal amžių standartizuotas hipertenzijos paplitimas buvo 31,1 %, arba trečdalis visos pasaulio suaugusiųjų populiacijos (30). Hipertenzija yra pagrindinis koreguojamas širdies ir kraujagyslių ligų rizikos veiksnys ir išvengiamo mirtingumo priežastis pasaulyje, lemianti 13 % suaugusiųjų populiacijos mirčių (31–35). Pasaulio sveikatos organizacija apskaičiavo, kad net 54 % insultų ir 47 % išeminės širdies ligos atvejų yra tiesioginis aukšto kraujospūdžio padarinys (36). 40–69 metų amžiaus asmenims sistolinio arterinio kraujo spaudimo (AKS) padidėjimas 20 mmHg arba diastolinio AKS padidėjimas 10 mmHg, neatsižvelgiant į AKS pradines vertes, yra susijęs su daugiau nei dvigubai padidėjusia insulto ar išeminės širdies ligos rizika (37).

Nors žinoma, kad gyvenimo būdo pokyčiai ir medikamentinis gydymas veiksmingai mažina AKS, daugiau negu 50 % PAH sergančių pacientų lieka blogai kontroliuojami dėl nepakankamo vaistų vartojimo ar RAH (38, 39). Manoma, kad RAH patogenezėje svarbiausią reikšmę turi padidėjęs simpatinės nervų sistemos (SNS) aktyvumas (40, 41).

Šiuolaikinės PAH gydymo galimybės, be gyvenimo būdo pokyčių, medikamentinio gydymo, apima ir minimaliai invazyvias chirurgines intervencijas (42). Dvi labiausiai paplitusios intervencinės RAH gydymo priemonės yra perkutaninė inkstų arterijų denervacija (PIAD) ir miego

arterijos baroreceptorų stimuliacija (MABS) (43, 44). PIAD metu selektyviai negrįžtamai pažeidžiant mažas simpatines perivaskulines nervines skaidulas, sumažinama natrio ir vandens reabsorbcija inkstuose, todėl sumažėja ir AKS (44). Šio metodo pagrindiniai trūkumai yra destruktinis intervencijos pobūdis bei tai, kad nėra moduliacinio poveikio (45, 46). MABS taikoma siekiant slopinti baroreflekso aktyvumą ir tokiu būdu sumažinti širdies susitraukimų dažnį, kontraktiliškumą ir periferinį kraujagyslių pasipriešinimą (43). Nors tai neuromoduliacinis, tačiau brangus ir šiuo metu plačiai klinikinėje praktikoje nenaudojamas metodas (47).

Duomenų, suponuojančių tikėtiną GSS veiksmingumą gydant PAH, yra daug ir įvairių (48–54). Žinoma, kad padidėjęs SNS aktyvumas, nustatytas mikroneurografinių tyrimų metu, yra svarbus PAH patogenezės veiksnys (55, 56). Apie pusei visų PAH sergančių pacientų randama netiesiogiai padidėjusio SNS aktyvumo požymių: padidėjusi katecholaminų koncentracija kraujo plazmoje ir padidėjęs noradrenalino išsiskyrimas su šlapimu (48). Viena iš efektyviausių antihipertenzinių vaistų grupių – centrinę nervų sistemą (CNS) veikiantys simpatolitikai – tiesiogiai veikia centrinę SNS dalį, vadinamąjį centrinį autonominį tinklą (CAT) (49). Abu plačiai tiriama gyvūnų hipertenzijos modelių tipai – druskai jautrios hipertenzijos ir nutukimo sukeltos hipertenzijos – yra aiškiai susiję su padidėjusiu SNS aktyvumu (50–52). Pirmiau minėtų sėkmingai taikomų RAH intervencinių gydymo metodų veikimo mechanizmuose didžiausią reikšmę vaidina SNS afektorinių ir efektorinių dalių moduliacija ar destruktija (53, 54). Taigi, įvertinus didelį ir ateityje dar didėsiantį PAH paplitimą, dažną PAH rezistentiškumą, reikšmingų ir mirtimi besibaigiančių PAH komplikacijų dažnį, taip pat PAH patogenezės SNS reikšmę, ateityje klinikinėje praktikoje būtų pravartu turėti daugiau gydymo galimybių. Tai galėtų būti ir intervencinė procedūra, veikianti tiesiogiai CNS. Pageidautina, kad ši procedūra būtų minimaliai invazyvi, saugi, galėtų tiesiogiai moduluoti ANS aktyvumą ties fiziologinių reguliacinių grandinių centrais, būtų nedestrukcinio pobūdžio, o terapijos poveikio efektas būtų titruojamas paprasto vizito pas gydytoją metu.

Žinomi keli ANS taikiniai, kuriuos stimuliuojant silpna elektros srove ar cheminėmis medžiagomis gaunamas sisteminis hipotenzinis efektas (18). Šiuo metu geriausiai ištirtas taikinytis yra centrinė pilkioji medžiaga (CPM) (57). Šios pilkosios medžiagos kolonos, randamos apie vidurinių smegenų vandentiekį, integruoja informaciją, gaunamą iš kitų CAT centrų (57). Be dalyvavimo AKS ir širdies ritmo moduliacijos procese esant įsivaizduojamai ar tikėtinai situacijai, CPM taip pat pasižymi tam tikromis antinociceptinėmis savybėmis, taip pat šis branduolys svarbus autonominės kilmės „kovok arba bėk“, „ramybės“ ir įniršio reakcijose (18). Klinikiniai GSS veiksmingumo

įrodymai koreguojant RAH buvo aprašyti keliuose atvejų pristatymuose, kurių metu elektrodai buvo implantuojami į pilvinę CPM koloną (15, 23–25). Kiti literatūroje įvardijami potencialūs taikiniai yra priekinė apatinė didžiosios jungties sritis (PADJS), pagumburinis branduolys, užpakalinė pagumburio dalis, akiduobinė-kaktinė ir salos smegenų žievė (18). Kadangi šie taikiniai nėra refleksiniai, o veikiau integraciniai centrai, jiems būdingas toks pats poveikio pobūdis: šių taikinių stimuliacijos hipotenzinis efektas turi būti nedidelis ir kompliktuotas dėl nepageidaujamų neuroendokrinių ar elgesio pokyčių.

Taigi, norint PAH kontrolei pritaikyti GSS metodą, reikia remtis kitų efektyvesnių branduolių stimuliacija. Seniai žinoma, kad uodeginės pilvinės šoninės pailgųjų smegenų dalies (UPŠPSD, angl. *caudal ventrolateral medulla*) elektrinė stimuliacija ūmių eksperimentų, kuriuose gyvūnas nėra gaivinamas, metu sukelia ryškų hipotenzinį efektą (58). Eksperimente narkozės metu SNS aktyvumas yra slopinamas, todėl hipotenzinis efektas tampa dar ryškesnis (59). UPŠPSD yra baroreflekso lanko centras, kuris tiesiogiai slopina snapinės pilvinės šoninės pailgųjų smegenų dalies (SPŠPSD, angl. *rostral ventrolateral medulla*) funkciją (60). SPŠPSD yra svarbiausias baroreflekso centras, pasižymintis nuolatiniu toniniu aktyvumu ir, tiesiogiai veikdamas nugaros smegenų tarpinius šoninius branduolius (TŠB), aktyvina čia esančius simpatinius neuronus, atsakingus už kraujagyslių tonuso palaikymą. Literatūroje nėra žinių apie ilgalaikės UPŠPSD elektrinės stimuliacijos poveikį panaudojant sąmoningos ir laisvai judančios žiurkės modelį. Įprasta praktika, kad apatinės smegenų kamieno dalies stimuliacijos eksperimentai dažniausiai atliekami gyvūno negaivinant (58, 61). Manoma, kad apatinės smegenų dalies implantacijos yra pavojingos, gali sukelti sunkias neurologines komplikacijas ar laboratorinio gyvūno žūtį (62). Teigiama, kad šias komplikacijas lemia statinio prie kaukolės fiksuoto rigidiško elektrodo ir iš dalies judrios apatinės smegenų kamieno dalies kontakto zonoje vykstanti papildoma pažeida gyvūnui judant (62). Be to, žinoma, kad neurochirurginių operacijų metu manipuliacijos ties smegenų kamieniu ir ypač pailgosiomis smegenimis gali sukelti staigų kraujospūdžio kritimą ar net asistoliją (63). Anksčiau smegenų kamienas laikytas nepasiekiamu ir neoperabilia sritimi, tačiau dabartinėje neurochirurgijoje šios srities operacijų tolydžio vis daugėja (64). Taip pat literatūroje aprašyti lėtiniai gyvūnų eksperimentai, kai elektrodai ar mikrokaniulės būdavo implantuojamos netgi taip žemai kaip SPŠPSD, tik dėl kitų nei hemodinaminės kilmės eksperimentai priežasčių (65).

Šiuolaikiniai eksperimentiniai gyvūnų GSS stimulatoriai dažniausiai naudojami Parkinsono ligos ar distonijos modeliuose (66). Šie stimulatoriai

neturi jokio sensorinio komponento sprendimo, kuris galėtų registruoti invazinį AKS, todėl nėra galimybės stimuliuoti uždaro kontūro principu (66). Šiems stimulatoriams nebūdingos belaidės duomenų perdavimo sistemos, o tai ypač svarbu, registruojant tokį labilų ir nuo gyvūno streso lygio priklausantį organizmo rodiklį kaip AKS (66). Nemažai šiuolaikinių eksperimentinių stimuliatorių vis dar neturi nuotolinio perprogramavimo galimybės nesiliečiant prie gyvūno, o tai taip pat aktualu atliekant eksperimentus, susijusius su sąmoningų gyvūnų hemodinamika (66). Taigi, galima konstatuoti, kad dabartinės eksperimentinės GSS sistemos yra nepakankamos, norint įvertinti arterinio kraujospūdžio korekcijos galimybę pritaikant GSS metodą laisvai judančios žiurkės modelyje. Reikia uždaro kontūro principu galinčio veikti pulsų generatoriaus su visiškai integruota invazinio AKS registravimo ir belaide sensoriaus duomenų bei stimulatoriaus komandų perdavimo sistema.

Tyrimo hipotezės

1. Sukurto pulsų generatoriaus su visiškai integruota invazinio arterinio kraujo spaudimo sistema jautrumo pokytis eksperimento metu yra minimalus ir tinkamas tolesnei eksperimentų plėtočiai.
2. Elektrodo implantacija į UPŠPSD ir šios dalies elektrinė stimuliacija yra sąlygiškai saugi ir reikšmingo neurologinio deficito nesukelianti intervencija.
3. UPŠPSD elektrinė stimuliacija sumažina arterinį kraujo spaudimą ir širdies susitraukimų dažnį laisvai judančios žiurkės laboratoriniame modelyje.

Tyrimo tikslas

Ekspertiškai įvertinti UPŠPSD elektrinės stimuliacijos poveikį tiesioginiam AKS pokyčiui laboratoriniame laisvai judančios žiurkės organizme, panaudojant sukurtą pulsų generatorių su visiškai integruota belaide invazinio arterinio kraujo spaudimo duomenų ir stimulatoriaus komandų perdavimo sistema.

Tyrimo uždaviniai

1. Sukurti laisvai judančios laboratorinės žiurkės su GSS pulsų generatoriumi ir integruota invazinio arterinio kraujo spaudimo matavimo bei belaidžio duomenų perdavimo sistema modelį, patvirtinant pulsų generavimą ir arterinio kraujo spaudimo duomenų perdavimą *in vivo*.

2. Nustatyti sukurto GSS pulsų generatoriaus slėgio matavimo sistemos sensoriaus jautrumo pokytį per ilgalaikį eksperimentą *in vivo*.
3. Įvertinti kateterių užpildomųjų tirpalų gebėjimą perduoti kraujo spaudimo pulsines bangas pulsų generatoriaus slėgio davikliui.
4. Įvertinti gyvūnų išgyvenamumą ir neurologinių komplikacijų dažnį po atliktos UPŠPSD implantacijos per ilgalaikį eksperimentą trunkantį 14 dienų.
5. Įvertinti vidutinio AKS ir širdies susitraukimų dažnio (ŠSD) pokytį, taikant elektrinę stimuliaciją UPŠPSD per ilgalaikį eksperimentą trunkantį 14 dienų.

Ginamieji teiginiai

1. Sukurto pulsų generatoriaus sensoriaus jautrumo pokytis yra minimalus *in vivo* sąlygomis, leidžiantis taikyti sukurtą pulsų generatorių tolesniuose eksperimentuose.
2. Elektrodo implantavimas į UPŠPSD yra sąlygiškai saugi ir ryškių neurologinių komplikacijų nesukelianti intervencija laboratorinės žiurkės organizme, leidžianti taikyti ilgalaikius apatinės pailgosios smegenų dalies eksperimentus, susijusius su elektrodo implantacija.
3. Stimuliuojant UPŠPSD gaunamas hipotenzinis efektas ilgalaikiame eksperimente panaudojant laisvai judančią sąmoningą žiurkę.

Tyrimo naujumas

Pulsų generatorius su integruota arterinio kraujo spaudimo registravimo ir perdavimo sistema būtų pirmasis toks laboratorijoje naudojamas prietaisas Lietuvoje ir pasaulyje. Galima tokio aparato pritaikymo klinikinėje praktikoje nauda yra labai reikšminga ir susijusi su mažesniu vaistų poreikiu, galimybe išvengti šalutinio medikamentų poveikio ir individualizuoti kiekvieno paciento AKS kontrolę pagal jo poreikius.

Ilgalaikių eksperimentų su laisvai judančios žiurkės modeliais stimuliuojant UPŠPSD Lietuvoje ir pasaulyje nebuvo atlikta. Įrodžius pakankamą gyvūnų išgyvenamumą po atliktos pailgųjų smegenų ilgalaikės stimuliacijos, tai galėtų paskatinti tolesnių eksperimentų, susijusių su tokiais sudėtingomis būklėmis kaip vegetacinės būklės po trauminių galvos smegenų pakitimų plėtotę.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Pirminė arterinė hipertenzija

Bendro PAH apibrėžimo nėra. Pagal Europos hipertenzijos asociaciją (angl. *European Society of Hypertension*) PAH diagnozuojama, kai dviejų skirtingų AKS matavimų metu pacientui nustatomas sistolinis ir (ar) diastolinis AKS, atitinkamai viršijantis 140 mmHg ir (arba) 90 mmHg (67). Pagal informatyvesnį patogenetinį arterinės hipertenzijos apibrėžimą, PAH yra liga, lemiama aukšto AKS sukeltų hemodinaminių pokyčių organų taikinių kraujagyslių sienelėje, o tai sukelia šių organų lėtą tolesnį pažeidimą (68). Hipertenzija pagal etiologiją skirtą į pirminę ir antrinę arterinę hipertenziją (AAH) (69). Daugumai (90–95 %) aukštą AKS turinčių pacientų nustatoma PAH, arba esencialinė hipertenzija. PAH sukelia daugiafaktorinę genų ir aplinkos veiksnių sąveiką (70). PAH diagnozuojama atmetimo būdu, kai nenustatoma AAH veiksnių. AAH sukelia inkstinę patologiją (ūmus glomerulonefritas, inksto arterijos stenozė, reninoma, lėtinis inkstų nepakankamumas), endokrinologinę patologiją (feochromocitoma, aldosteronizmas, Kušingo liga), kardiovaskulinę patologiją (aortos koarktacija), neurologinę patologiją (padidėjęs intrakranijinis slėgis) (71). Tuomet aukštas AKS yra tik pagrindinės ligos vienas iš simptomų.

2010 m. pagal amžių standartizuotas hipertenzijos paplitimas buvo 31,1 %, arba trečdalis viso pasaulio suaugusių gyventojų populiacijos (30). Hipertenzija pasaulyje yra pagrindinis išvengiamas širdies ir kraujagyslių ligų rizikos veiksnys ir mirtingumo priežastis (31–33). Pasaulio sveikatos organizacijos duomenimis, 54 % insultų ir 47 % išeminės širdies ligos atvejų yra tiesioginis aukšto kraujospūdžio padarinys (36).

Pacientai, sergantys PAH, turi didelę miokardo infarkto, smegenų ir aortos aneurizmų susidarymo, širdies nepakankamumo, vainikinių arterijų ligos, paskutinės stadijos inkstų ligos, aritmijų, kairiojo skilvelio hipertrofijos, intracerebrinio kraujavimo, hipertenzinės encefalopatijos, hipertenzinės retinopatijos, glomerulosklerozės, okliuzinės arterijų ligos ir staigios mirties riziką (72). Be to, dauguma pacientų, sergančių PAH, turi ir papildomų gretutinių ligų, tokių kaip diabetas, nutukimas, lėtinis inkstų funkcijos nepakankamumas, hipercholesterolemija; šios ligos daugiau nei dvigubai padidina hipertenzijos sukeltų komplikacijų riziką (73, 74). Deja, hipertenzija paprastai ilgai išlieka besimptomė, palaipsniui sukeldama subklinikinius organų taikinių pažeidimus ir tik vėlyvose organų taikinių pažeidimo stadijose nustatoma kaip pagrindinis ligą nulėmęs veiksnys, kai procesas nebegrįžtamas (75). PAH laikoma viena iš „civilizacijos ligų“, kurią

skatina bendrieji kardiovaskulinės rizikos veiksniai: nutukimas, didelis alkoholio ir druskos vartojimas, nepakankamas fizinis krūvis, emocinė įtampa, gyventojų senėjimas ir netinkama mityba, todėl tikėtina, kad ateityje sergamumo ir mirštamumo rodikliai, lemiami PAH, tik didės (76, 77). Manoma, kad iki 2025 metų, palyginti su 2010 metų duomenimis, PAH paplitimas padidės 20–25 % (76).

1.2. Rezistentinė arterinė hipertenzija

Pagal 2018 metais patvirtintas Europos hipertenzijos asociacijos gaires, hipertenzija apibrėžiama kaip rezistentiška gydymui (angl. *treatment resistant hypertension*), kai gydytojų kardiologų rekomenduota gydymo strategija, susidedanti iš trijų medikamentų, įskaitant diuretiką, nesumažina gydytojo kabinete išmatuotų sistolinio ir diastolinio AKS reikšmių iki mažiau negu 140 mmHg ir (ar) 90 mmHg (atitinkamai). Svarbu pažymėti, kad nepakankama AKS kontrolė patvirtinama ambulatoriniu arba namų AKS ilgalaikiu stebėjimu. Taip pat įvertinama, ar pacientas pakankamai ir teisingai vartojo gydytojo rekomenduotus vaistus (67, 78). Tik kiek mažiau nei 50 % AH sergančių pacientų pasiekia gerą AKS kontrolę su trimis medikamentais, o apie 0,5 % nepasiekia kontrolės net su 5 medikamentais, įskaitant mineralokortikoidų receptorių antagonistus ir tiazidinius ilgos veikimo trukmės diuretikus (72, 79, 80). Pastaroji pacientų grupė netgi vertinama kaip patogenetiškai nuo RAH besiskirianti grupė, turinti kitokią populiacinę išraišką, ir vadinama refrakterine arterine hipertenzija (RfAH, angl. *refractory hypertension*).

Didelę RAH pacientų populiacijos dalį sudaro vadinamoji pseudorezistentinė AH (PsAH). PsAH priskiriami dvejetainiai pacientai. Pirmoji grupė, vadinamoji „baltųjų chalatų hipertenzija“ – tai pacientai, kuriems ambulatorinėje grandyje išmatuojamas aukštas AKS, bet jų AKS namuose būna normalus. Antroji grupė, pacientai, kurių AKS yra aukštas dėl to, kad jie nepakankamai arba apskritai nevartojo jiems paskirtų medikamentų. Žinoma, kad tarp PAH sergančių pacientų PsAH sudaro apie 28 % (81). Achelrod ir bendraautorių atlikta metaanalizė atskleidė, kad nepakankama hipertenzijos kontrolė tarp hipertenzija sergančių bei tinkamai gydomų pacientų siekia 13,72 %, taip pat jie nurodė ir didelę šių pacientų širdies ir kraujagyslių ligų riziką (82, 83).

Manoma, kad RAH ir RfAH patogenezėje svarbų vaidmenį atlieka padidėjęs SNS aktyvumas, tačiau procese dalyvauja skirtingos SNS grandinės (40, 41). RAH patogenezėje svarbus pakitęs simpatinis vazomotorinis tonusas ir dėl to padidėjęs periferinis kraujagyslių pasipriešinimas, o RfAH

būdingesnė hipervolemija (72). RfAH gerokai dažniau diagnozuojama jaunesnio amžiaus pacientams (72).

Palyginti su PAH sergančiais pacientais, pacientai, sergantys RAH, dažniau serga lėtine inkstų liga, staziniu širdies nepakankamumu ar išemine širdies liga (84, 85). Žinoma, kad širdies ir kraujagyslių ligų rizika sergant RfAH yra didesnė nei sergant RAH (72).

1.3. Arterinio kraujo spaudimo reguliavimas

Pagrindinė širdies ir kraujagyslių sistemos funkcija yra nenutrūkstama kraujo ir audinių skysčio cirkuliacija, kuri yra būtina, norint patenkinti organizmo ląstelių mitybinius, ekskrecinius ir kitus poreikius. Funkcionuojant širdžiai kraujas varinėjamas dėl slėgių skirtumo tarp arterinės ir veninės kraujotakos sistemos dalių. Šioje sistemoje egzistuoja priklausomybė tarp kraujo slėgio kraujagyslėse, minutinio kraujo tėkmės tūrio ir periferinio kraujagyslių pasipriešinimo (VAS – vidutinis arterinis kraujospūdis; PR – periferinis kraujagyslių pasipriešinimas; MT – minutinis kraujo tūris) (86):

$$VAS = PR \times MT$$

Taigi, keisti AKS fiziologinėmis sąlygomis galima dviem principiniais būdais: moduluoti iš širdies išvaromo kraujo kiekį (MT) arba kraujagyslių pasipriešinimą (PR).

PR priklauso nuo veiksnių, aprašomų šia neidealiųjų skysčių dinamikos arba Hagen-Poiseuille'io lygtimi (μ – kraujo klampumas; l – kraujagyslės ilgis; r – kraujagyslės spindžio spindulys) (87):

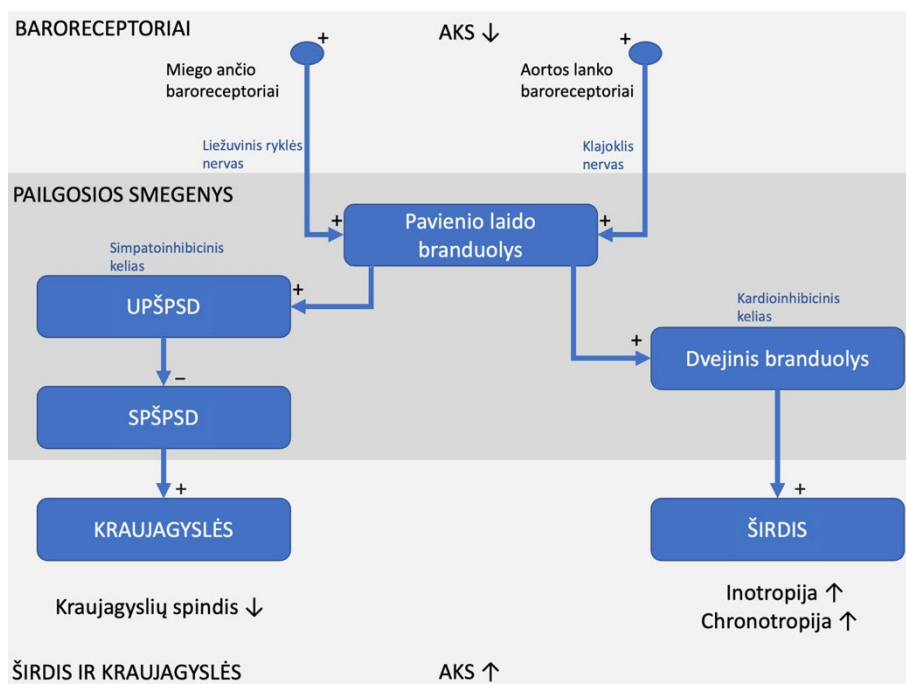
$$PR = \frac{8\mu l}{\pi r^4}$$

Pagal formulę matyti, kad kraujagyslių rezistentiškumą labiausiai lemia periferinės kraujagyslės spindžio pokytis. Sumažėjus kraujagyslės spindžiui perpus, periferinis pasipriešinimas kraujo tėkmei šioje kraujagyslėje išauga net 16 kartų. Gyvosiose sistemose nėra galimybės fiziologiškai reikšmingai keisti kraujagyslės ilgio. Kraujo klampumo pokytis organizme lemia proporcingą AKS kitimą, tačiau nėra žinomų tiesioginių nuo AKS priklausomų kraujo klampumo reguliacinių mechanizmų (88).

Žinomos dvi pagrindinės sistemos, palaikančios normalų AKS: barorefleksas (nervinis reguliavimo būdas) ir renino-angiotenzino-aldosterono sistema (humoralinis reguliavimo būdas).

1.3.1. Nervinis reguliavimas

Barorefleksas, arba arterinių baroreceptorių refleksas, yra fiziologinis grįžtamojo ryšio mechanizmas, kuris užtikrina nuolatinę ir momentinę arterinio kraujo spaudimo korekciją keičiantis kūno padėčiai, prisitaikant prie fizinio krūvio ar emocinės būklės (1 pav.). Senoji „vazomotorų centro“ koncepcija, aiškinanti apie „kardioinhibicinių“ ir „kardioakseleracinių“ centrų darnią veiklą, nors ir lengvai suprantama, yra mažai tiksli (89).



1 pav. Baroreflekso schema

Baroreflekso afektorinę dalį sudaro baroreceptoriai – nervinės galūnėlės, kurios gausiai inervuoja miego ančių ir aortos lanko išorinį (lot. *tunica adventitia*) ir vidurinį (lot. *tunica media*) sluoksnius (90). Šie mechanoreceptoriai reaguoja į aukštesnio kraujo spaudimo metu atsirandančią kraujagyslės sienelės šlyties apkrovą membranos depolarizacija, o tai dažnina veikimo potencialų generavimą (angl. *firing rate*). Veikimo potencialams plintant liežuvinio ryklės (iš miego ančių) ir klajoklio nervų (iš aortos lanko) aferentiniais neurais informacija apie padidėjusį AKS pasiekia nugarinę-šoninę pavienio laido branduolio (PLB, lot. *nucleus tractus solitarius*) dalį, kur yra integruojami su veikimo potencialais, kylančiais iš kitų periferinių receptorių tipų (pvz.: miego ančio kamuolėlių

chemoreptorių) (91). Tarpiniai PLB neuronai aktyvina tolesnius AKS palaikymo centrus formuodami dvi projekcijas: simpatoinhibicinį ir kardioinhibicinį kelius (92). Simpatoinhibicinio kelio funkcija – sumažinti bendrą kraujagyslių periferinį pasipriešinimą, o kardioinhibicinio kelio funkcija – sumažinti širdies susitraukimų dažnį ir jėgą.

Per glutamaterginius PLB neuronus aktyvavus simpatoinhibicinį kelią iš UPŠPSD neuronų presinapsinių membranų skatinamas išsiskirti slopinantysis neuromediatorius γ -amino sviesto rūgštis (GASR). GASR slopina spontaninius veikimo potencialus generuojančius SPŠPSD neuronus (93). Dėl to mažiau veikimo potencialų pasiekia krūtininių ir viršutinių juosmeninių nugaros smegenų segmentų TŠB. TŠB neuronų didžiąją dalį sudaro ikimazginiai simpatinės nervų sistemos neuronai, kurie per užmazginius neuronus netiesiogiai veikia raumenų, odos ir vidaus organų arteriolių lygiuosius raumenis. Sumažėjus SPŠPSD toniniam aktyvumui dėl slopinamojo UPŠPSD poveikio, arteriolių lygieji raumenys atsipalaiduoja, arteriolės pasyviai išsiplečia (94). Žinoma, kad, veikiant SPŠPSD inhibuojančiu neuromediatoriumi glicinu arba stipria elektros srove sunaikinus šią pailgųjų smegenų dalį, gaunamas reikšmingas AKS kritimas (95). Atkreiptinas dėmesys, kad cheminėmis medžiagomis (pvz.: glutamato agonistais) arba elektrinės stimuliacijos priemonėmis (depolarizacijos sukėlimas) aktyvavus UPŠPSD, galima simuliuoti baroreflekso receptorių aktyvaciją (MABS veikimo principas) ir tokiu būdu sukelti hipotenzinį efektą.

Kita sužadintų PLB tarpinių neuronų aksonų projekcija, kardioinhibicinis kelias, veikia aktyvindamas dvejinio branduolio (lot. *nucleus ambiguus*) pilvinėje-šoninėje dalyje esančius ikimazginius parasimpatinės nervų sistemos neuronus (96). Šių neuronų aksonai plinta klajokiu nervu ir sužadina cholinerginius užmazginius neuronus, kurie slopina širdies sinusinį mazgą. Tokiu būdu sukeliama bradikardija ir sumažėja širdies susitraukimo jėga.

1.3.2. Humoralinis reguliavimas

Humoralinis arterinio kraujo spaudimo reguliavimo būdas paremtas proteolizinių fermentų kaskada – renino-angiotenzino-aldosterono sistema. Tai ilgalaikis AKS reguliavimo būdas, kurio poveikis hemodinaminiam rodikliams eksperimentuose pradedamas pastebėti po poros parų (97). Sistema funkcionuoja palaikydama Na^+ koncentraciją kraujo plazmoje (98, 99).

Renino išsiskyrimą iš jukstaglomerulinio aparato granulinių ląstelių gali paskatinti trys veiksniai: (1) inkstų kraujagyslių baroreceptoriai, jautrūs inkstų perfuzinio slėgio pokyčiams aferentinėje arteriolėje, (2) distalinio kanalėlio tankiosios dėmės (lot. *macula densa*) ląstelės, jautrios Na^+ koncentracijai

šlapime, bei (3) inkstų simpatinių nervų galūnėlės (100). Reninas išskiriamas, kai sumažėja inksto perfuziją, padidėja Na^+ koncentracija distaliniame kanalėlyje (esant lėtai glomerulų filtracijai), arba tiesiogiai skatinant per inkstų simpatines nervines skaidulas (toniniam aktyvumui sklindant iš SPŠPSD).

Reninas, dar kitaip vadinamas angiotenzinogenaze, cirkuliuodamas kraujyje, hidrolizės būdu paverčia angiotenzinogeną (α_2 globuliną), gaminamą kepenyse, į angiotenziną I (101). Angiotenzinogeno kiekį plazmoje didina kortikosteroidų, estrogenų, skydliaukės hormonų ir angiotenzino II kiekis (101). Angiotenzinas I, proteolizės būdu pašalinus dvi C galo aminorūgštis, verčiamas angiotenzinu II. Šis procesas vyksta plaučių kapiliarų endotelio paviršiuje, kur yra proteazė – angiotenziną konvertuojantis faktorius (102).

Angiotenzinas II – tai hormonas, turintis įvairialypį poveikį iš karto kelioms reguliacinėms organizmo grandinėms ir gebantis veikti tiek autokrininiu, tiek ir parakrininiu būdais. Angiotenzinas II pirmiausia laikomas stipriu stambių ir smulkių kraujagyslių, tiek arterijų, tiek ir venų vazokonstriktoriumi. Šis jo poveikis moduluojamas per AT1 receptorius. Taip pat žinoma, kad angiotenzinas II didina širdies susitraukimų dažnį. Be to, šis hormonas skatina plazminogeno aktyvatoriaus inhibuojančių baltymų patekimą į kraujotaką, o tai didina organizmo trombogeninį potencialą (103). Kalbant apie centrinio poveikio mechanizmus, angiotenzinas II gali tiesiogiai veikti pagumburio neuronus, tokiu būdu skatindamas troškulio refleksą (104). Taip pat angiotenzinas II skatina vazopresino išskyrimą iš neurohipofizės dalies, o tai didina vandens reabsorbciją inkstų distaliniuose ir surenkamuosiuose kanalėliuose. Angiotenzinas II turi reikšmės adrenokortikotropinio hormono (AKTH) sekrecijai iš adenohipofizės dalies kortikotropinių ląstelių (105). Žinoma, kad AKTH yra pagrindinis hormonas, reguliuojantis kortizolio gamybą antinksčiuose (106). Taip pat angiotenzinas II gali skatinti ir lipogenezę (107). Šis hormonas taip pat gali turėti reikšmės ir prostaglandinų, kurie skatina inkstų vazokonstrikciją, išsiskyrimui. Ypač svarbu, kad angiotenzinas II skatina antinksčių žievės glomerulinės zonos ląsteles išskirti aldosteroną (108). Aldosteronas palaiko natrio ir kalio homeostazę organizme, skatindamas proksimalinių inkstų kanalėlių $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{ATPazės}$ veiklą, (109). Aldosteronas tokiu būdu lemia santykinai didesnio Na^+ kiekio reabsorbciją nei K^+ sekreciją, todėl tai skatina didesnę vandens kiekio pasyvią reabsorbciją, kuri lemia AKS padidėjimą.

1.3.3. Sąsajos tarp baroreflekso ir RAAS

Inkstų simpatiniai nervai yra svarbūs palaikyti normalų AKS, todėl manoma, kad jie atlieka reikšmingą vaidmenį ir PAH patogenezėje (110). Seniai žinoma, kad pacientams, sergantiems PAH, būdingas ženkliai padidėjęs inkstų simpatinių nervų aktyvumas (SNA), o chirurginiu būdu pašalinus inkstus inervuojančius simpatinius mazgus galima pasiekti normotenziją (111). Įrodyta, kad padidėjęs inkstų SNA veikia per tris pagrindinius mechanizmus: (1) skatinama natrio ir vandens reabsorbcija inkstų kanalėliuose, (2) sumažinama inkstų kraujotaka ir glomerulų filtracijos greitis dėl aferentinių ir eferentinių arteriolių vazokonstrikcijos ir (3) skatinamas renino išsiskyrimas, taip sužadinant renino-angiotenzino-aldosterono kaskadą (100). Mechanizmus lemia noradrenalino išsiskyrimas iš simpatinių nervų galūnėlių ir sąveikavimas su inkstų α_1 ir β_1 receptoriais (112).

Inkstų SNA lygis priklauso nuo CAT presimpatinių branduolių aktyvumo (113). Dažniausiai literatūroje aprašomi CAT branduoliai, skatinantys inkstų SNA, yra SPŠPSD, snapinė pilvinė vidurinė pailgųjų smegenų dalis ir prieskilvelinis pagumburio branduolys (PPB) (110, 114). SPŠPSD yra svarbiausias CAT branduolys, skatinantis inkstų SNA (115). Taigi baroreflekso lankas ir CAT branduoliai gali tiesiogiai dalyvauti AKS humoralinio reguliavimo procese (110). Be to, žinomi ir aferentiniai inkstų ir SNS ryšiai, kai SPŠPSD ir PPB aktyvumas yra moduluojamas inkstų mechano- ir chemoreceptorių, randamų inkstų geldelių sienelėse (100). Inkstų simpatiniai aferentiniai nervai veikia SPŠPSD ir PPB aktyvumą per PLB sensorinę dalį, kur apdorojami minėtų receptorių signalai, todėl tokie veiksniai kaip inksto išemija, uždegimas ar šlapimtakio išsiplėtimas dėl obstrukcijos gali skatinti inkstų eferentinių SNA (116). Renorenalinių refleksų svarbą taip pat gerai iliustruoja eksperimentai su gyvūnais, kurių metu inkstų pažeidimo sukeltas noradrenalino koncentracijos padidėjimas pagumburio srityje gali būti iš dalies blokuotas denervavus žiurkės inkstų arterijas (117, 118).

1.4. Arterinės hipertenzijos patogenezė

Pagrindiniai AH patogenezę lemiantys mechanizmai ir juos skatinantys veiksniai bei šių veiksnių ir mechanizmų sąveika yra sudėtinga ir nėra iki galo iširta (119). Sudėtingą patogenezę gerai iliustruoja šis pavyzdys: inkstai gali būti tiek AH pradžia inicijuojantis veiksnys, tiek ir AH organostaikinis (119). PAH patogenezė yra daugialypė, ją lemia genetiniai ir aplinkos rizikos veiksniai bei genų ir aplinkos tarpusavio sąveika (120). Dažniausiai teigiama,

kad PAH 60 % atvejų yra nulemta genetinių veiksnių ir 40 % atvejų aplinkos veiksnių (121). Pagrindiniai PAH rizikos veiksniai yra nutukimas, per didelis druskos suvartojimas, nepakankamas fizinis aktyvumas, nesaikingas alkoholio vartojimas, vyriška lytis, vyresnis amžius, genetiniai veiksniai ir šeiminė anamnezė (122).

PAH pažeidžia ne visus organus, o vadinamuosius organus taikinius: smegenis, širdį, akis, inkstus, stambiausias ir vidutines organizmo arterijas (123). Organų taikinių pažeidimas atsiranda dėl nuolat padidėjusios hemodinaminės apkrovos, o tai sukelia endotelio disfunkciją ir remodeliaciją (124). Tai sukelia tolesnį struktūrinį organų taikinių kraujagyslių pažeidimą bei funkcijos praradimą. AH patogenezėje svarbios šios tarpusavyje dažnai susipinančios patologinės grandys: (1) kraujagysliniai pokyčiai sergant hipertenzija, (2) su obstrukcine miego apnėja susijusios hipertenzijos patogenezė, (3) druskai jautrios hipertenzijos patogenezė ir (4) su nutukimu susijusios hipertenzijos patogenezė.

Kraujagyslių funkciniai ir struktūriniai pokyčiai traktuojami ir kaip AH priežastis, ir kaip pasekmė (125). Jei dėl oksidacinio streso ar hiperurikemijos sumažėja azoto oksido prieinamumas endotelio ląstelėse, tada dėl funkcinės ir vėliau dėl struktūrinės vazokonstrikcijos išsivysto AH (126). Tačiau identišką NO trūkumą ir endotelio disfunkciją taip pat gali sukelti ir tiesioginis hemodinaminis stresas dėl aukšto AKS, todėl kraujagysliniai mechanizmai labiau tinkami paaiškinti AH progresavimą, bet ne paties AH atsiradimą.

Taip pat atskira AH patogenezės grandimi laikytina ir su obstrukcine miego apnėja susijusi hipertenzija. Dėl pasikartojančios nuolatinės hipoksijos miego metu miego arterijų kūnelių chemoreptorių jautrumo slenkstis pakinta. Todėl net ir nesant hipoksijos dienos metu, yra nuolatos skatinama SNS, o tai lemia AH išsivystymą (127).

Toliau plačiau apžvelgsime druskai jautrios hipertenzijos ir nutukimo sukeltos hipertenzijos patogenezę. Abiejų šių AH formų patogenezės turi aiškų neurogeninį komponentą.

1.4.1. Druskai jautri hipertenzija

Druskai jautri hipertenzija apibrėžiama kaip AKS padidėjimas, nulemtas inkstų nesugebėjimo pašalinti Na⁺ jonus, net ir vartojant rekomenduojamą valgomosios druskos kiekį (55). Nustatyta, kad apie 50–60 % žmonių būdinga nepakankama Na⁺ jonų šalinimo geba (128). Nemažai tyrimų patvirtina, kad druskai jautrios hipertenzijos patogenezėje didelę reikšmę turi SNS (55). Druskai jautri hipertenzija yra siejama su padidėjusiu inkstų SNA, sprendžiant iš tyrimų, vertinančių eksperimentinių druskai jautrių gyvūnų noradrenalino

koncentracijas šlapime ar tų pačių gyvūnų inkstų mikroneurografijos duomenis (50, 51). SNS periferinių dalių cheminis slopinimas ar mechaninis suardymas sumažina druskai jautrių modelinių gyvūnų AKS (129, 130). SNS centrinių dalių cheminis slopinimas ar mechaninis suardymas sumažina druskai jautrių modelinių gyvūnų SNA ir AKS (131, 132). Nustatyta, kad pagumburio priekinio trečdallo pažeidimas sustabdo Dahl druskai jautrių ir ribinės hipertenzijos (angl. *borderline hypertensive*) modelinių žiurkių AH išsivystymą (55, 133, 134). Manoma, kad druskai jautrius ūminius SNS aktyvumo pokyčius lemia PPB, o lėtinius – priekinio trečdallo pagumburio dalis (135).

Padidėjus druskos koncentracijai kraujo plazmoje ar smegenų skystyje aktyvinama simpatinė nervų sistema (136). Eksperimentuojant su keliais druskai jautrių žiurkių hipertenzijos modeliais buvo įrodyta, kad didelio valgomosios druskos kiekio dieta šiems gyvūnams reikšmingai padidina Na⁺ ir Cl⁻ koncentraciją kraujo plazmoje ir audinių skystyje (134, 137, 138). Panašūs duomenys gauti ir tyrimuose, kai buvo vertinta sveikų žmonių valgomosios druskos kiekio dietoje ir Na⁺ ir Cl⁻ koncentracijų kraujo plazmoje koreliaciją (139, 140).

Hipertoninio NaCl tirpalo intraveninė injekcija per kelias minutes eksperimentiniams gyvūnams sukelia greitus SNA pokyčius: (1) padidėja raumenų SNA, (2) padidėja antinksčių SNA, (3) tačiau nekinta širdies ir virškinamojo trakto SNA, (4) sumažėja inkstų SNA (141–143). Klinikiniai tyrimai rodo, kad ūmiai didėjant osmoliariškumui kraujo plazmoje, didėja raumenų SNA (144). Eksperimentuodami su Sprague-Dawley žiurkėmis Kinsman ir kt. įrodė, kad intraskilvelinė hipertominio NaCl infuzija padidina AKS ir SNA (141).

Manoma, kad į plazmos NaCl koncentracijos pokyčius reaguoja specializuoti priekinėje pagumburio dalyje randami branduoliai: poskliautinis organas (PSO, lot. *organum subfornicale*) ir galinės plokštelės kraujagyslinis organas (GPKO, lot. *organum vasculosum laminae terminalis*) (145). Šie branduoliai yra vaskuliarizuoti ir neturi smegenų-kraujo barjero, todėl gali atlikti plazmos medžiagų chemoreptorių funkciją. Lokali hipertominio NaCl tirpalo injekcija į GPKO padidina raumenų SNA, antinksčių SNA bei AKS (141). Šio branduolio cheminis slopinimas taip pat sumažina hipertominio NaCl infuzijų poveikį SNA ir AKS (141). Panašūs rezultatai gauti ir mechaniškai pažeidus GPKO sritį: AKS sumažėja Ang II hipertenzinių žiurkių ir DOCA žiurkių modeliuose (146, 147).

Manoma, kad iš GPKO ir PSO receptorių nervinis impulsas sklinda į PPB ir SPŠPSD. Atkreiptinas dėmesys, kad grįžtame prie tos pačios pagrindinės baroreflekso reguliacijos grandinės (1 pav.). Žinoma, kad PPB AT1

slopinimas šių receptorių antagonistais sumažina hipertominio NaCl infuzijos poveikį eksperimentinių žiurkių SNA ir AKS (148). PPB neuronai gali tiesiogiai skatinti TŠB ikimazginius simpatinius neuronus arba netiesiogiai skatinti SPŠPSD bulbospinalinius neuronus. SPŠPSD cheminis slopinimas su glutamato ar AT1 receptorių antagonistais sumažina AKS Dahl hipertenzijos modeliui druskai jautrių žiurkių organizme (132, 149).

Žinoma, kad su maistu suvartojama druska gali „įjautrinti“ SNS. Tada net ir į mažo stiprumo stimulą, kaip nesunkų fizinį krūvį, organizmas reaguoja perdėtu SNA ir AKS pakilimu (150). Net jeigu dauguma laboratorinių gyvūnų ir žmonių yra atsparūs druskai ir su didesne valgomosios druskos dieta SNA ar AKS nedidėja, tačiau pastebėta, kad tokia dieta gali „įjautrinti“ SNS tokiems stimulams (151, 152). Tai lemia didesnę AKS variabilumą, o tai savo ruožtu gali sukelti didesnę organų taikinių pažeidimą nei nuolat aukštas AKS (153).

1.4.2. Nutukimo sukelta hipertenzija

Nutukimas yra svarbiausias PAH rizikos veiksnys, manoma, atsakingas už du trečdalius visų PAH atvejų (154). Nutukusių žmonių SNS grandinių aktyvumo padidėjimą daugiausia nulemia du hormonai: insulinas ir leptinas (154, 155). Abu hormonai didesniais kiekiais cirkuliuoja nutukusių žmonių organizme. Manoma, kad leptinas ir insulinas skatina SNS, prisijungdami prie savo receptorių pagumburio lankiniame branduolyje (LB, lot. *nucleus arcuatus hypothalami*). Žinoma, kad tiesioginė insulino injekcija į šį branduolį didina AKS ir SNA (156). Eksperimentiškai parodyta, kad genetiškai modifikuotų pelių su LB leptino receptorių delecija sumažino nutukimo sukeltą AKS padidėjimą (157). Nutukusių triušų organizme AKS sumažino intraventrikulinė leptino ir insulino receptorių antagonistų infuzija (158). Žinoma, kad LB turi tiesiogines projekcijas į SPŠPSD. Vėlgi, matome ryšį, kai reguliacinėje patloginėje grandinėje dalyvauja baroreflekso centrai pailgosiose smegenyse (1 pav.).

Kitos nutukimo ir SNS ryšį tiriančios studijos suteikia netiesioginius SNS padidėjimo įrodymus: (1) nustatomas didesnis nutukusių žmonių raumenų SNA, palyginti su normalaus kūno svorio žmonėmis, (2) nustatomas didesnis inkstų ir raumenų SNA dietos indukuotuose modeliniuose nutukusių graužikų organizmuose, (3) adrenalino receptorių antagonistų injekcija į simpatinius mazgus sukelia didesnę AKS kritimą nutukusiems, palyginti su normalaus kūno svorio pacientais, (4) nutukusių šunų organizme inkstų arterijų denervacija slopina AH išsivystymą (52, 55, 159–163).

1.5. Intervenciniai RAH gydymo būdai

Ettehad ir bendraautorių atlikta metaanalizė atskleidė, kad sistolinio AKS arba diastolinio AKS sumažėjimas atitinkamai 10 mmHg ar 5 mmHg sumažina kardiovaskulinių įvykių riziką 20 % (164). Esant RAH įtarimui ir įsitikinus, kad tai nėra PsAH, pacientui skiriami papildomi medikamentai: spironolaktonas ir (ar) kitas mineralokortikoidų antagonistas (165). Jei šis papildomas medikamentinis gydymas nepadeda pasiekti normotenzijos ir jei visos kitos gyvenimo būdo pokyčių priemonės yra išsemtos, gali būti taikomos dvi minimaliai invazyvios intervencijos – PIAD ir MABS.

1.5.1. Inkstų arterijų perkateterinė simpatinė denervacija

PIAD pasaulyje aprašyta 2009 metais, o Lietuvoje jau taikoma nuo 2012 metų (166). PIAD – tai minimaliai invazyvi procedūra, kurios metu per šlaunies arteriją įkišamas specialus radiodažnio bangų principu veikiantis abliatorius, padarantis smulkias inkstų arterijų simpatinių nervų pažaidas. Tokiu būdu yra slopinama inkstų SNA, noradrenalino išskyrimas, skatinama natriurezė ir palaipsniui mažinamas AKS. Publikavus sėkmingai atliktos PIAD rezultatus, juos patvirtino vėlesni „Simplicity HTN-1“ ir „Simplicity HTN-2“ tyrimai. Po to PIAD sėkmingai naudojama klinikinėje praktikoje (167, 168). Šių tyrimų metu buvo naudota komercinė „Simplicity“ (Ardian, Kalifornija, JAV) kateterio su radiodažnuminiu abliatoriumi sistema. 2014 metais publikuotas perspektyvusis viengubai aklas „Simplicity HTN-3“ tyrimas, kurio metu buvo naudotos netikros PIAD procedūros. Šio tyrimo metu nebuvo gauta statistiškai reikšmingo skirtumo tarp abiejų tiriamųjų grupių (169). Tyrimas vėliau buvo sukritikuotas dėl procedūrą atliekančių gydytojų patirties stokos ir mažo procedūrų skaičiaus, tenkančio vienam procedūrą atliekančiam gydytojui (170). Tolesni tyrimai, kuriuose buvo naudoti naujos kartos kateteriai, atliekant abliacijas iš karto 4 taškuose visgi patvirtino gerą PIAD metodo efektyvumą (171).

Su perkateterine inkstų arterijų denervacija susiję ir pagrindiniai šios procedūros trūkumai. Pirma, nėra paprasto, patikimo ir pasikartojančio mėginio, skirto žmonių simpatinei nervų veiklai išmatuoti. Todėl ankstyvuojų periodu negalima kiekybiškai įvertinti inkstų arterijos denervacijos laipsnio, taigi negalima prognozuoti ir hipotenzinio efekto. Antra, PIAD yra destruktivinis metodas, kai nervinės struktūros yra sunaikinamos, o padarytos žalos atkurti negalima. Trečia, nedomuliacinis tokios procedūros pobūdis neleidžia lengvai reguliuoti atliktos procedūros efekto. Ketvirta, inkstų arterijų reinervacija gali sumažinti procedūros efektyvumą laikui bėgant

(110). Inkstų arterijų denervacijai būdingos ir tos pačios perkutaninių arterinių intervencijų komplikacijos: kraujavimas ir hematomos ties punkcijos vieta, inkstų arterijos disekacija, trombinų embolų susiformavimo ir arterijų jatrogeninio pažeidimo rizika.

1.5.2. Baroreceptorių stimuliacija

Miego arterijų baroreceptorių stimuliacijos metu aplink miego arterijos ančius implantuojami elektrodai, kurie sujungiami su pulsų generatoriumi krūtinės ląstoje (172). Praėjus kelioms savaitėms po procedūros, pradedamas stimulatoriaus programavimas. Baroreflekso stimuliacija padidina simpatoinhibicinio ir kardioinhibicinio baroreflekso kelių aktyvumą, o tai sumažina periferinį kraujagyslių pasipriešinimą, ŠSD, galiausiai sumažėja ir AKS. Šis metodas pirmą kartą aprašytas ir jo poveikis įrodytas dvigubai aklo randomizuoto placebo kontroliuojamo „Rheos Pivotal“ tyrimo metu (172).

Procedūra, skirtingai negu PIAD, yra nedestrukcinė, be to, pooperaciniu periodu galima optimizuoti prietaiso veikimą, keičiant stimuliacijos parametrus (110). Tačiau procedūra yra gerokai brangesnė negu PIAD, o dėl invaziškesnio procedūros pobūdžio galimos dažnesnės infekcinės ir su implantuotu prietaisu susijusios komplikacijos (173). Kol kas šio stimulatoriaus negalima pakrauti, išsekus stimulatoriui reikalinga pakartotinė procedūra kas kelerius metus. Be to, baroreceptorių stimulatoriaus elektrodai implantuojami ties miego arterijomis, todėl galima teorinė tromboembolinės kilmės insulto rizika dėl aterosklerotinių plokštelių migracijos. Teoriškai baroreceptorių nuolatinė stimuliacija gali kelti dažnesnę sinkopių ir su tuo susijusių griuvimų riziką staiga keičiant kūno padėtį, nes barorefleksas nebegali reaguoti į staiga besikeičiantį AKS.

1.6. Intervenciniai RAH gydymo būdai

Gilioji smegenų stimuliacija (GSS) – tai minimaliai invazyvi procedūra, kurios metu labai tiksliai pro mažas trefinacines angas į iš anksto nustatytas smegenų struktūras įleidžiami ploni platinos ir iridžio lydinio elektrodai. Elektrodų tiksliam pozicionavimui reikalingas stereotaktinis rėmas prieš numatytą intervenciją fiksuojamas prie paciento galvos. Elektrodai po implantacijos per laidų sistemą yra sujungiami su stimulatoriumi, kuris per atskirą pjūvį implantuojamas krūtinės ląstos sienoje. Kelių savaičių bėgyje pradedamas stimulatoriaus programavimas (angl. *monopolar review*), parenkami efektyviausi parametrai, atrenkami plačiausiu terapiniu langu veikiančys elektrodų kontaktai.

GSS technologijos buvo „pasiskolintos“ iš širdies ritmo sutrikimų ligų gydymo metodų, kai implantuojami ritmo vedliai – stimulatoriai. Tai sena ir patikima technologija, klinikinėje praktikoje taikoma nuo 1958 metų. GSS pirmą kartą atlikta 1987 metais Grenoblyje. Sistema implantuota pacientui, sergančiam esencialiniu tremoru, į VIM branduolį gumburo srityje (174). Po šios sėkmės atliktos kitų judesio sutrikimų, tokių kaip Parkinsono ligos ir generalizuotos distonijos, operacijos (175, 176). Atsirado nauja pažangi funkcinės neurochirurgijos sritis. Iki 2013 metų pasaulyje jau buvo implantuota daugiau kaip 160 tūkst. GSS sistemų (177). Manoma, kad plečiantis indikacijoms ir senstant populiacijai GSS operacijų skaičius didės.

Dažniausiai (90 % atvejų) GSS pagalba gydoma Parkinsono liga, esencialinis tremoras ar generalizuota distonija (178–180). Giliąją smegenų stimuliacija taip pat gydomi pacientai, sergantys tam tikrais lėtinių skausmų sindromais, tokiais kaip neuropatinis skausmas, klasterinis galvos skausmas. Rečiau šis metodas naudojamas traukulių priepuoliams kontroliuoti (181, 182). Po teigiamo atsitiktinių imčių kontroliuojamo tyrimo, paskelbto 2008 metais, GSS operacija buvo patvirtinta CE (pranc. *Conformité Européene*) ženklu ir gavo JAV maisto ir vaistų tarnybos (FDA, angl. *Food and Drug Administration*) leidimą taip gydyti pacientus, sergančius sunkiai kontroliuojama obsesinio kompulsinio sindromo forma (8). Šiuo metu aktyviai tiriamos galimybės GSS taikyti vaistams atsparios depresijos, Alzheimerio ligos, Toureto sindromo, įvairių priklausomybių, valgymo sutrikimų ir šizofrenijos gydymui (12). Be to, GSS stengiamasi pritaikyti tokių ligų, sindromų ir simptomų, kaip galvos užimas, AH ar miego sutrikimai, gydymui (12).

Pati GSS technologija, palyginti su PIAD, išsiskiria keliais privalumais. Pirmą, GSS sistema nėra destruktinė procedūra, taigi nėra sunaikinamos nervinės struktūros, o tik pakeičiamas šių struktūrų veikimo būdas. Antra, perprogramuojant GSS galima moduluoti veikimo stiprumą ir taip lengvai sumažinti ar padidinti efektyvumą. Trečia, galima taikyti daug skirtingų programavimo metodikų: pulso amplitudės, poliariškumo, impulsų dažnio ir impulsų pločio, kontaktų skaičiaus ir aukščio elektrode korekciją. Ketvirta, su naujomis technologijomis palapsniui atsiranda galimybė automatiškai koreguoti GSS stimuliacijos parametrus, veikiant adaptyvios arba uždaro kontūro GSS režimais. Penkta, galima direkcinė stimuliacija (angl. *directional stimulation*), kuri padeda išvengti kai kurių šalutinių reiškinių, susijusių su elektros krūvio išplitimu į greta branduolių taikinių esančias nervines struktūras. Šešta, GSS veikia moduluodama CNS reguliacines grandines, o tai lemia didesnę efekto stabilumą nei trikdant afektorinių ir efektorinių reguliacinių grandinių darbą, kaip yra MABS ir PIAD atvejais. Tikimasi, kad

ateities elektrodų ir neurostimulatoriaus technologiniai patobulinimai, naujų stimuliavimo režimų pritaikymas, uždarojo ciklo ir adaptyvios stimuliacijos technologijų vystymasis bei ypač jutiminių technologijų proveržis reikšmingai padidins GSS efektyvumą ir saugumą. Artėjama prie tos ribos, kai visa GSS sistema su akumulatoriumi sutilps į kaukolės kaule išgręžtą mažą trefinacinę angą.

Nors GSS yra labai veiksminga technologija, tačiau tikslus GSS veikimo mechanizmas, nepaisant didelių mokslinės visuomenės pastangų, iki šiol nėra aiškus. Nuolatos diskutuojama dėl kelių GSS veikimo modelių, tačiau nė vienas iš jų negali visiškai paaiškinti sukeliama klinikinių efektų (7, 183). Geriausiai žinomas ir plačiausiai pripažįstamas slopinimo modelis leidžia teigti, kad dėl stimuliacijos aplink elektrodą vyksta nervinio audinio slopinimas (184). Žinoma, kad seniau judesio sutrikimų gydymui plačiai taikytų mechaninio pažeidimo procedūrų (angl. *lesioning procedures*), tokių kaip talamotomijų, palidotomijų klinikinis efektas yra labai panašus kaip ir GSS. Taip pat gerai žinomas pooperacinis trumpalaikio pažeidimo efektas (angl. *lesioning effect*), kai, dar neįjungus stimulatoriaus, o tik įleidus elektrodus, paciento simptomai trumpam laikui iš dalies ar visai regresuoja. Manoma, kad šį mechanizmą lemia aksonuose vykstanti Na⁺ kanalų inhibicija dėl nuolatinės depoliarizacijos. Remiantis aktyvinimo teorija, galima teigti, kad GSS tiesiogiai lemia aplink elektrodą esančio nervinio audinio aktyvumą ir įprastų veikimo potencialų formavimąsi ir plitimą. Tokiu būdu atkuriamas normalus impulso plitimas ir normali reguliacinės grandinės (talamokortikaliųjų kilpų) veikla (185). Ši teorija pagrįsta kelių skirtingų taikinių, kurių stimuliacijos poveikis labai panašus, egzistavimu, pavyzdžiui, Parkinsono ligos atveju panašus klinikinis efektas būna pagumburinio branduolio ir blyškiojo branduolio vidinės dalies stimuliacijos atvejais. Remiantis informacijos sutrikdymo teorija, elektrinė stimuliacija sutrikdo informacijos plitimą branduoliu, ši teorija grindžiama GSS gebėjimu slopinti žievinius sukeltuosius potencialus (183). Įdomi sinapsinio filtravimo teorija, kad stimuliacijos metu sinapsės tampa žemo dažnio filtrais, kurie neleidžia per reguliacines nervines grandines skverbtis aukšto dažnio osciliacijoms. Ši teorija gerai pagrindžia VIM branduolio stimuliacijos efektyvumą koreguojant esencialinio ir kitų tremoro rūšių simptomus (186). Be to, manoma, kad GSS gali veikti nervinio audinio plastiškumą: žinoma, kad eksperimentiniuose modeliuose GSS gali sukelti neurogenezę ir sinaptogenezę. Tai savo ruožtu gali lemti tam tikro laipsnio neuroprotekciją, tačiau klinikinių GSS neuroprotekcijos įrodymų kol kas nėra (187).

1.6.1. Klinikiniai arterinės hipertenzijos korekcijos GSS bandymai

Didžiojoje Britanijoje GSS sistemos centrinio neuropatinio skausmo kamuojamiems pacientams implantuojamos į centrinę pilkąją medžiagą (CPM, lot. *substantia grisea centralis*). Green ir bendraautorai dar 2005 metais pranešė, kad, implantavus GSS elektrodus į CPM pacientui, kenčiančiam neuropatinį skausmą, operacijos metu atliekant testines stimuliacijas gautas hipotenzinis efektas (23). Buvo nustatyta, kad 10 Hz dažnio pilvinės CPM kolonos stimuliacija sumažino sistolinį AKS 14,2 mmHg, o diastolinį AKS 4,9 mmHg. Stimuliuojant nugarinę CPM dalį gautas priešingas hipertenzinis efektas. Autoriai teigė, kad AKS kitimus lėmė SNS aktyvinimas ir slopinimas. 2007 metais ta pati mokslininkų grupė pakartojo GSS CPM stimuliaciją pacientui, kuriam buvo neuropatinės kilmės skausmas ir sunkiai kontroliuojama hipertenzija (24). Stimuliuojant 2 V amplitude ir 30 Hz dažniu paciento AKS nuo 157,4/87,6 mmHg sumažėjo iki 132,4/79,2 mmHg. Svarbu pažymėti, kad pacientas perioperaciniu periodu vartojo antihipertenzinius medikamentus, o tai galėjo iškreipti tyrimo rezultatus. 2010 metais ta pati grupė tyrė dar 6 pacientus, kuriems buvo implantuoti elektrodai į CPM (25). Jie naudojo širdies ritmo variabilumą kaip simpatinės ir parasimpatinės nervų sistemos tonusų netiesioginį rodiklį. Žinoma, kad aukšto dažnio širdies susitraukimų variabilumas susijęs su santykinai didesniu parasimpatiniu tonusu, o žemo – su didesniu simpatiniu tonusu (188). Tyrėjų grupė nustatė, kad pilvinės CPM kolonos stimuliacija padidino parasimpatinį tonusą. Visi šie tyrimai rodo efektyvią trumpalaikę CPM stimuliaciją.

Ilgalaikis hipotenzinis CPM GSS efektas taip pat yra aprašomas literatūroje. Visais atvejais pacientams GSS elektrodai buvo implantuojami dėl netoleruojamų skausmų, o tai galėjo reikšmingai pakeisti ir antihipertenzinį stimuliacijos efektą (29, 189). Patel ir kt. pristatydami įdomų atvejį aprašė pacientą, kuriam po CPM GSS implantavimo buvo gautas ryškus hipotenzinis ir analgezinis poveikis. Praėjus keliems mėnesiams po implantavimo, skausmas grįžo į pradinį priešprocedūrinį lygį, tačiau AKS išliko mažesnis. Po daugiau nei 2 metų, kai stimulatorius buvo išjungtas, paciento AKS vėl pakilo (190). Kitame, ne mažiau įdomiame O'Callaghan ir kt. atvejo pristatyme aprašoma pacientė, kuriai tikslingai dėl RAH ir negavus gydymo efekto taikant baroreceptorių stimuliaciją implantuota GSS sistema į CPM. Pacientės vidutinis AKS 3 savaites iki GSS implantavimo siekė 280/166 mmHg (15). Šeši mėnesiai po procedūros ir nuolatinės stimuliacijos jos kraujospūdis rodmenys tapo 210/130 mmHg ryte ir 230/130 mmHg vakare. Deja, tai paskutinis publikuotas straipsnis šia tema literatūroje. Iš šio

straipsnio autorių žinoma, kad planuota klinikinė studija, apimanti pacientus, sergančius RAH, vis dar planuojama.

1.6.2. Potencialūs GSS taikiniai hipertenzijai gydyti

Uodeginė pilvinė šoninė pailgųjų smegenų dalis (UPŠPSD, angl. *caudal ventrolateral medulla*) yra pagrindinis baroreflexą slopinantis centras, priklausantis tinkliniam dariniui (lot. *farmatio reticularis*). Dalis GASR produkuojančių ir, manoma, slopinantį poveikį lemiančių neuronų šioje pailgųjų smegenų dalyje yra susimaišę su kitais ne GASR neuronais, kurie į baroreflexo stimuliaciją veikimo potencialų generacija nereaguoja. Tai adrenerginių C1 neuronų grupė, kurių aksonų didžioji dalis siunčia tiesiogines projekcijas į smegenų žievę. Manoma, kad šie neuronai gali būti atsakingi už sudėtingas žievės nulemtas reakcijas (pvz.: maisto paieškos motyvacija) organizmui esant hipoglikeminės būklės (191).

Taikant UPŠPSD elektrinę stimuliaciją anestezijos sąlygomis gaunamas ryškus hipotenzinis efektas (58, 61, 192). Elektrodo implantavimo ir stimuliacijos eksperimentai praeityje padėjo tiksliai nustatyti įvairių gyvūnų pailgųjų smegenų centrus, atsakingus už skirtingą kardiovaskulinį poveikį. Poreikio atlikti ilgalaikes elektrines stimuliacijas su gyvūnų gaivinimu po operacijos nebuvo, nes GSS sistemos ir apskritai stimuliacijų elektros srove technikos dar nebuvo gerai išvystytos. Gana greitai, mokslininkams toliau aiškinantis pailgųjų smegenų centrų veiklos principus, elektrinę stimuliaciją pakeitė cheminė stimuliacija mikrokaniulėmis (193). Jos leido geriau suprasti vidinę centrų struktūrą, funkciją ir membranos receptorių sudėtį.

Didesnis UPŠPSD aktyvumas dėl baroreflexo stimuliacijos sukelia toninį ir fazinį SPŠPSD neuronų slopinimą (194, 195). Manoma, kad UPŠPSD slopinamasis poveikis SPŠPSD vyksta dėl GASR A tipo receptorių (192). Žinoma, kad, suleidus GASR A tipo receptorių antagonistų tiesiogiai į SPŠPSD, padidėja kraujospūdis, raumenų SNA aktyvumas ir plazmos noradrenalino koncentracija. Toks pat efektas gaunamas ir chemiškai slopinant UPŠPSD (196). Tikėtina, kad pagrindinis UPŠPSD veiklą skatinantis veiksnys, be baroreceptorių siunčiamų veikimo potencialų salvių ir PLB poveikio, yra PPB. Šio branduolio stimuliavimas gali sukelti panašius pokyčius kaip ir UPŠPSD tiesioginis cheminis stimuliavimas (197).

Kiek žemiau esanti, bet iš dalies sutampanti su UPŠPSD lokacija yra A1 neuronų grupė. Anksčiau dėl sutampančios lokalizacijos buvo manoma, kad šie neuronai ir yra atsakingi už hipotenzinį elektrinės stimuliacijos poveikį. Tačiau A1 neuronų grupei toninis aktyvumas nebūdingas, todėl tiesiogiai su baroreflexu ši ląstelių grupė nėra susijusi. A1 neuronų grupė lemia širdies ir

kraujagyslių funkcijos pokyčius per atokias projekcijas į pagumburio sritį, reguliuojančią neuroendokrinines funkcijas, ir per projekcijas į limbines sistemos centrus, koordinuojančius autonomines ir elgesio reakcijas. A1 neuronų grupė vaidina svarbų adaptacinį gelbstinį vaidmenį esant hemoraginio šoko situacijoms, kai skatina vazopresino išsiskyrimą iš užpakalinės hipofizės dalies (198). Manoma, kad neuroendokrininės reakcijos, reaguojant į šoką, yra sukeltos A1 neuronų projekcija į magnoceliulinius vazopresiną gaminančius neuronus, esančius PPB branduolyje (199). Dėl hemoraginio šoko per UPŠPSD aktyvinami A1 neuronai, kurie dėl minėtos projekcijos lemia vazopresino išsiskyrimą į kraujotaką ir tolesnę kompensacinių mechanizmų nukraujavus kaskadą. Taip pat manoma, kad A1 neuronai, veikdami kartu su PLB A2 neuronais, formuoja stambią noradrenerginę aksonų projekciją į vidurinį priekinį regos branduolį (lot. *nucleus praeopticus medianus*), esantį priekiniame pagumburio trečdalyje (200). Šis branduolys siunčia tiesiogines projekcijas į GPKO. GPKO savo ruožtu taip pat gali dalyvauti vazopresino sekrecijos procese kaip afektorinės grandinės komponentas, tiesiogiai gaudamas informaciją apie plazmos osmosinio slėgio pakitimus (201). Taip pat žinoma, kad A1 neuronų grupė siunčia projekcijas ir į kitus CAT centrus: šoninę pogumburio dalį, PPB, gretutinius kojųčių branduolius (lot. *nuclei parabrachiales*) ir PLB, kurie tiesiogiai lemia TŠB ikimazginių neuronų toninį aktyvumą.

Snapinė pilvinė šoninė pailgųjų smegenų dalis (SPŠPSD) kamieno išilginėje ašyje yra kiek aukščiau nei UPŠPSD (202). Dauguma ikisimpatinių SPŠPSD neuronų yra glutamaterginiai, tai rodo aktyvinantį jų aksonų potencialą (203). SPŠPSD tiesiogiai aktyvina TŠB ikimazginius neuronus. Įdomu tai, kad sąmoningų žiurkių staigus SPŠPSD slopinimas sumažina arterinį spaudimą, bet padidina širdies susitraukimų dažnį (204). Šis požymis rodo, kad nors SPŠPSD yra labai svarbi palaikant simpatinį kraujagyslių tonusą, tačiau kiti CNS centrai taip pat gali keisti širdies simpatinio tonuso lygį ir susitraukimų dažnį nepriklausomai nuo SPŠPSD.

Tarp SPŠPSD bulbospinaliniu ir toniniu aktyvumu pasižyminčių neuronų yra įsimaišę ir kitų ne glutamaterginių, bet adrenerginių neuronų, kurie taip pat formuoja gausias projekcijas į nugaros smegenis (205). Įdomu tai, kad selektyvus šios C1 neuronų grupės slopinimas susilpnina, tačiau visiškai nepanaikina SPŠPSD glutamaterginių neuronų toninės kraujagyslių kontrolės (206). Atrodo, kad didžioji dalis SPŠPSD neuronų, kurie projektuoja savo aksonus į nugaros smegenų TŠB, iš esmės savo funkcija ir architektonika skiriasi nuo SPŠPSD neuronų, kurių projekcijos keliauja į kitas smegenų dalis (207).

SPŠPSD neuronai pasižymi tuo, kad, kitaip nei kitos ikisimpatinių neuronų grupės, neturi jokių žinomų projekcijų į parasimpatinius ikimazginius neuronus. Manoma, kad tai vienintelis CAN centras, turintis išimtinai simpatinę funkciją (208). Todėl laikoma, kad SPŠPSD yra kritinis branduolys, lemiantis visos SNS tonusą, tenkantį kraujagyslėms. Taip pat manoma, kad SPŠPSD būdingas tam tikro laipsnio topografiškumas: skirtingi SPŠPSD neuronai atsakingi už skirtingo organo ar kūno dalies kraujagyslių tonusą.

Žinoma, kad aukšto dažnio GSS sukelia branduolių slopinimą, o žemo dažnio GSS sukelia aktyvinimą, todėl teoriškai SPŠPSD, kaip ir UPŠPSD, gali būti potencialus GSS taikynys hipotenziniam efektui sukelti. SPŠPSD elektrinės stimuliacijos poveikis žmonėms nežinomas. Yra atlikta pora intraoperacinių eksperimentų, kai neurochirurginių užpakalinės daubos operacijų metu pacientams būdavo silpna elektros srove dirginimos pailgosios smegenys (209, 210). Postuluota, kad AKS pokyčiai buvo dėl elektros srovės plitimo į SPŠPSD regioną. Ems ir kt. taip pat pripažįsta, kad SPŠPSD gali būti svarbus branduolys taikynys, kurio veikimo slopinimas galėtų sėkmingai mažinti AKS (18).

Centrinė pilkoji medžiaga (CPM). Kaip rašyta anksčiau, CPM yra vienintelis branduolys, į kurį kraujospūdžio reguliavimo tikslu GSS elektrodai jau buvo implantuoti (15). CPM susideda iš kelių funkciniu požiūriu skirtingų dalių. CPM, remiantis atliekama funkcija, citoarchitektūra, formuojamomis projekcijomis ir neuromediatorių sudėtimi, skirstomas į 4 skirtingas kolonas: nugarinė-vidurinė, nugarinė-šoninė, šoninė ir pilvinė-šoninė (211). Pilvinės-šoninės kolonos stimuliavimas sumažina sisteminį arterinį spaudimą ir širdies susitraukimų dažnį, šios kolonos stimuliacija yra naudojama klinikiniuose bandymuose. Tačiau šios ir kitų CPM kolonų stimuliacija gali sukelti sudėtingas elgesio reakcijas, apimančias ir adaptacinius autonominius mechanizmus. Pavyzdžiui, nugarinės-šoninės arba šoninės kolonų viršutinių segmentų stimuliavimas sukelia ryškias gynybines gyvūno reakcijas, o šoninės kolonos apatinio segmento stimuliacija sukelia gyvūno baimės ir bėgimo reakcijas. Manoma, kad CPM stimuliacija sukelia ne tik bradikardiją, bet sumažina ir kraujagyslių tonusą. Manoma, kad CPM gali moduluoti ne tik kraujagyslių rezistentiškumą, bet ir širdies minutinį tūrį, todėl šio branduolio stimuliacija gali būti efektyvesnė nei SPŠPSD stimuliacija (212). Pilvinė-šoninė CPM kolona turi plačias kylančias projekcijas į kitus CAT centrus (213). Pavyzdžiui, ši kolona gauna aferentinę informaciją iš šoninės pagumburio dalies, vidurinio priekinio regos branduolio, taip pat iš žievės struktūrų, tokių kaip akiduobinė smegenų žievės dalis ir polimbinė žievė (213). CPM eferentinės projekcijos formuoja atskiras projekcijas į SPŠPSD, PLB ir TŠB,

tokiu būdu veikiama ikimazginių neuronų funkcija tiesiogiai ar netiesiogiai per SPŠPSD (213). Taip pat manoma, kad CPM atsakingas už širdies ritmo moduliaciją, esant įsivaizduojamai ar tikėtinai situacijai (pvz., sportininkui stovint starto linijoje ir laukiant švilpuko, AKS ir širdies darbas padidėja dar nesant fiziologinio poreikio). Už šią ir panašias reakcijas atsakingas juostinio vingio ir CPM ryšys.

Nesenas eksperimentas, publikuotas 2022 metais, kurio metu buvo mėginama stimuliuoti CPM sąmoningoms ir laisvai judančioms žiurkėms (59). Elektrodo padėtis buvo patvirtinta pačios implantacijos metu gavus aiškų hipotenzinį efektą. Tačiau tyrėjai jokio aiškaus hipotenzinio efekto stimuliuojant CPM sąmoningoms žiurkėms negavo. Tai rodo, kad CAT branduolių funkcijos dubliuojamos ir vieno branduolio slopinimas gali sukelti kito branduolio kompensacinę reakciją. Pagrindinis CAT kolonų trūkumas, galintis trukdyti pritaikyti GSS, yra šio branduolio integracinė funkcija, kuri susijusi su aiškiais elgesio ir adaptacinėmis reakcijomis, bei artimas branduolio ryšys su akies judinamųjų nervų branduoliais.

Prieskilvelinio pagumburio branduolio (PPB) sandara yra išskirtinai sudėtinga. Šiame branduolyje susitelkia neuronai, kurie įvairių hormonų ir neuromediatorių sekrecija kontroliuoja pagumburio-hipofizės-antinksčių ašį (kortikotropiną atpalaiduojančio hormono sekrecija), skydliaukę (tirotropiną atpalaiduojančio hormono sekrecija), reprodukcinę funkciją (dopamino ir oksitocino sekrecija), augimo procesą (somatostatino sekrecija) ir skysčių pusiausvyrą organizme (vazopresino sekrecija) (214). Nemažai tyrimų rodo, kad PPB susijęs su padidėjusiu simpatiniu tonu esant AH (215, 216).

Vazopresinas funkcionuoja kaip skysčių pusiausvyrą gebantis palaikyti hormonas, jo sekrecija yra skatinama pogumburio srityje esančių osmoreceptorių. Manoma, kad net patys magnoceliuliniai PPB neuronai gali turėti osmoreceptorinių savybių (199). Vazopresino funkcija – skatinti vandens reabsorbiciją inkstų distaliniuose ir surenkamuosiuose kanalėliuose, taip pat susiaurinti kraujagyslių spindžius. Taip pat vazopresinas, be atokaus išskyrimo iš užpakalinės hipofizės dalies, gali būti sekretuojamas ir parakrininiu būdu bei gali aktyvinti PPB parvoceliulinius neuronus. Šie neuronai formuoja eferentines projekcijas į SPŠPSD ir TŠB ir taip tiesiogiai skatina SNA (217). PPB taip pat dalyvauja druskai jautrios hipertenzijos modelių patogenezėje, gaudamas informaciją tiesiogiai iš GPKO ir PSO.

Branduolys dėl savo ryškios neuroendokrininės funkcijos ir sudėtingos architektūros su šių laikų GSS technologija gali būti nelabai tinkamas hipertenzijos korekcijai.

Pagumburinis branduolys (PB). Šis branduolys taikyns klinikinėje praktikoje pasirenkamas dažniausiai, kai pacientas serga Parkinsono liga su

ryškiu rigidiškumu. Hyam ir bendraautoriai atkreipė dėmesį, kad pooperaciniu periodu pacientams stimuliuojant PB, pakildavo vidutinis AKS (5 mmHg) bei padažnėdavo pulsas (5 k/min.) (189). Parkinsono liga sergantiesiems būdingi ortostatinės hipotenzijos epizodai, dėl ko jie gali griūti ir susižeisti. Padidinus AKS, tokių ortostatinių reakcijų gali būti mažiau (189). Tyrime taip pat įrodyta, kad baroreceptorių jautrumas po PB GSS elektrodų implantacijos išliko, o kardiovaskulinės sistemos gebėjimas padidinti AKS staigiai pakėlus galvą pagerėjo (189). Kitame tyrime nustatyta, kad blyškiojo branduolio vidinės dalies GSS ortostatinės hipotenzijos požiūriu reikšmingai nesiskiria, lyginant su PB GSS (218). Tačiau lieka neaišku, ar PB GSS panaudojimas tik hemodinaminiam tikslui nesukeltų reikšmingų šalutinių reiškinių. Pagrindinis šio taikinio privalumas: labai gerai žinomas, ištirtas branduolys, kurio stimuliacija saugi ir efektyvi.

Priekinė apatinė didžiosios jungties sritis (PADJS) – tai kaktinės skilties vidinio paviršiaus dalis. PADJS sudaryta iš BA (Brodmanno zona) 25, BA 21, taip pat priekinės juostinio vingio (BA24, BA32, BA33) dalies. Didžiausia PADJS dalis, BA 25, formuoja aferentines ir eferentines projekcijas į CPM, šoninius pagumburio branduolius ir SPŠPSD (188). Šiuo metu klinikiniuose tyrimuose ši sritis aktyviai tiriama siekiant gydyti vaistams atsparią depresiją.

Neurochirurginių operacijų dėl epilepsijos metu šis regionas buvo stimuliuojamas 1-10 mA stiprumu (188). Pastebėta, kad stimuliuojant šią sritį sumažėjo pacientų sistolinis AKS, tačiau nepakito ŠSD ir diastolinis AKS. Tyrėjams tai leido daryti prielaidą, kad PADJS stimuliacija gali lemti širdies inotropines savybes, nekeičiant sistolinio tūrio.

Didžiausias šio taikinio pranašumas ir kartu trūkumas, kad tai yra paviršinis žievės taikinytis, todėl techniškai stimuliacija būtų nesudėtinga. Tačiau taikant žievės stimuliaciją galima išprovokuoti traukulius. Taip pat neretas žievės gliozės procesas, kas gali lemti stimuliacijos efekto silpnėjimą ir traukulius. Šio taikinio nauda gydant depresiją rodo, kad vienas iš pagrindinių šalutinių reiškinių gali būti emocinis labilumas.

Juostinis vingis – aukštasis CAT centras, atsakingas už gebėjimą keisti širdies ir kraujagyslių sistemos darbą be periferinių receptorių indėlio, esant numanomai situacijai (189). Manoma, kad šiame prognozuojamų situacijų ir ANS išankstinio paruošimo procese dalyvauja priekinė juostinio vingio dalis (189). Pagrindiniai šios srities stimuliacijos trūkumai ir pranašumai yra analogiški kaip ir PADJS atveju.

Salos žievė. Oppenheimer ir kt. dar 1992 metais pacientams, kuriems dėl gydymui atsparių traukulių buvo atliekamos neurochirurginės intervencijos, stimuliuodavo skirtingas salos žievės puses (219). Pastebėta, kad dešinės salos žievės stimuliacija sukelia trumpalaikę tachikardiją ir AKS padidėjimą, o

kairės salos žievės stimuliacija sukelia bradikardiją. Žinoma, kad salos žievė turi gausias aferentines ir eferentines projekcijas su likusios limbinės žievės dalimis, taip pat ir su CPM, todėl manoma, kad gali būti atsakinga už emocinės įtampos metu kylančias autonominės hemodinamines reakcijas (220). Eksperimentų nustatyta, kad Sprague-Dawley žiurkėms stimuliuojant salos žievę gaunamas reikšmingas analgezinis efektas (221). Deja, salos žievę, dėl jos padėties Silvijaus vagos gilumoje, pritaikyti elektrinei stimuliacijai būtų sudėtinga.

Akiduobinė-kaktinė žievė. Dar 1949 m. atliktų eksperimentų metu paaiškėjo, kad taikant kaktinių skilčių orbitalinio ir priekinio paviršiaus elektrinę stimuliaciją, šešioms iš devynių pacientų kraujospūdis padidėjo (18). Šiais laikais akiduobinė-kaktinė žievė aktyviai tiriama dėl galimybės gydyti depresiją ir obsesinį kompulsinį sutrikimą (222, 223). Manoma, kad orbitofrontalinė žievė atsakinga už hemodinamines reakcijas, kylančias dėl nuotaikos pokyčių (224). Pagrindinis šios žievės pranašumas yra lengvas priėjimas, be to, tokiai stimuliacijai nereikia pasitelkti stereotaktinių metodų.

Lankinis pagumburio branduolys (LB) yra svarbus kitų SNS CAT branduolių aktyvatorius, susijęs su nutukimo sukeltos hipertenzijos patogenezė (225). Jo pagrindinė funkcija aptarta prieš tai. Branduolys yra šalia kraujo-smegenų barjero stokojančių branduolių.

Pagrindinis trūkumas, susijęs su šiuo branduoliu, yra tai, kad šis branduolys dalyvauja vieno konkretaus tipo hipertenzijos patogenezėje, todėl jo stimuliacija negalėtų veikti visų hipertenzijos patogenezės grandžių. Be to, kaip ir CPM, LB pasižymi tam tikromis analgezinėmis savybėmis taikant elektrinę stimuliaciją (226). Pagrindinis branduolio pranašumas – gana lengvai prieinama implantacijos vieta.

1.6.3. Eksperimentinės GSS sistemos

Pagrindinė GSS pulsų generatoriaus funkcija yra pasikartojančiais elektros srovės impulsais sukelti funkcinis smegenų branduolių pokyčius ties neuronų ląstelių membranomis (227). Vienas iš svarbiausių veiksmingos stimuliacijos komponentų yra stimuliavimo režimas. Režimai apima skirtingą pulso formą (kvadrato, trikampio, bangos, vienfazį, dvifazį), poliariškumą (katodinis ir anodinis), pulso pasikartojimo dažnį, pulso amplitudę ir trukmę. Laikoma, kad katodinė stimuliacija yra veiksmingesnė stimuliuojant neuronų aksonus, anodinė – neuronų kūnus. Dvifazis arba subalansuoto krūvio pulsas susideda iš katodinės ir tokios pačios, tačiau mažesnės amplitudės bei ilgesnės anodinės impulso dalies. Šis stimuliacijos būdas svarbus norint pasiekti smegenų audiniui suteikiamo krūvio balansą. Krūvių disbalansas gali sukelti

reikšmingą elektrolizės procesą ties elektrodo ir smegenų audinio kontakto vieta, o tai palapsniui gali sugadinti elektrodą ir sužaloti aplinkines smegenų struktūras.

Graužikų modelių GSS sistemos yra svarbios *in vivo* eksperimentinės priemonės, skirtos naujų branduolių taikinių stimuliacijos efektyvumui tirti ir optimizuoti jau žinomo efekto branduolių stimuliacijos parametrus (228). Laisvai judančios žiurkės nauda GSS eksperimentuose buvo suprasta seniai (184). Žiurkei esant savo įprastoje laboratorinėje aplinkoje, be fiksuotų laidų ir kateterių, galima tikėtis gauti geresnius, ne streso būklę atspindinčius duomenis. Be to, naudojant laisvai judančias žiurkes tampa įmanomas ilgalaikis, nenutrūkstamas duomenų kaupimas, gyvūno nebereikia dėti į specialias kameras duomenims gauti.

Eksperimentuose techniniai GSS pritaikymo smulkiems graužikams aspektai yra sudėtingi dėl būtinybės maksimaliai sumažinti GSS sistemas. Nors mažesniai gyvūnui reikalingos stimuliacijos amplitudė sumažėja proporcingai gyvūno dydžiui, tačiau reikalingų stimuliacijai elektroninių grandinių dydžio tai reikšmingai nesumažina. Dauguma laboratorijoje naudojamų GSS sistemų yra skirtos dirbti su modeliniais judesio sutrikimų turinčiais graužikais (229–231). Pirmosios eksperimentinės GSS sistemos buvo išorinės, tvirtinamos laidais prie besisukančio konektoriaus narvelio viršuje (angl. *twister, swivel*), galinčios perduoti elektros impulsus ir kartu leisti žiurkei kažkiek judėti narvelyje nenulaužiant ir nesusukant laidų (232). Šios sistemos būdavo naudojamos kartu su didelių matmenų išoriniais pulsų generatoriais. Kiek naujesnės GSS sistemos tapo mažesnės, mobilesnes ir tilpdavo ant gyvūno nugaros, naudotos specialios kuprinės, į kurias būdavo dedamas stimulatorius ir maitinimo šaltinis (233). Kitų sistemų GSS stimulatoriai jau yra pakankamai maži, telpa gyvūnui ant galvos (234). Šių sistemų perprogramavimui atlikti dažnai reikia mechaniškai pakeisti tam tikras mikroschemos varžas ar kondensatorius. Dalies šių sistemų neįmanomas išplėstinis perprogramavimas, paliekant tik nedideles galimybes koreguoti amplitudę ar impulso plotį. Be to, dažnai, esant tokioms sistemoms, reikia prijungti išorinį laidą ir atlikti perprogramavimą. Kitos GSS sistemos sumažintos tiek, kad tampa tinkamos visai GSS sistemai implantuoti po oda (235). Visiškai implantuojamų sistemų pagrindiniai trūkumai – nuolatinio įkrovimo poreikis, tam pasitelkiamas belaidis krovimas, komplikuotas perprogramavimo procesas ir stimulatoriaus techninių galimybių regresas, todėl dėl dydžio tenka paaukoti dalį funkcijų.

Tarp dabartinių eksperimentinių GSS sistemų uždaro kontūro principu veikiančių sistemų, naudojamų laisvai judančių smulkių graužikų tyrimuose, nepasitaiko (236). Dažniausiai naudojamos epilepsijos ar Parkinsono ligos

eksperimentuose šios sistemos registruoja lokalaus lauko potencialus (LLP, angl. *local field potentials*), tačiau dėl papildomos sensorinės dalies šios sistemos yra gerokai didesnės, todėl eksperimentams atlikti yra naudojami ir stambesni gyvūnai. Su slėgio sensoriumi uždaro kontūro principu galinčių veikti sistemų pasaulyje nėra.

Dažnai GSS sistemų aprašymuose trūksta efekto patvirtinimo darbinėmis sąlygomis, būtent eksperimentuose *in vivo* (237). Dažnai stimulatorius išbandomas tik pasitelkiant 1000 Ω varžą, kuri turi imituoti smegenų rezistentiškumą, visiškai ignoruojant, kaip smegenų biopotencialai, kurie gali būti reikšmingai dideli, gali paveikti elektros srovės introdukciją į audinį.

1.7. Literatūros apibendrinimas

PAH yra pagrindinis mirštamumą lemiantis rizikos veiksnys pasaulyje. PAH mastai pasaulyje ateityje tik didės. Dauguma tyrimų, besiaiškinančių PAH patogenezę, aiškiai apibrėžia SNS reikšmę PAH patogenezės procese. Abi intervencinės procedūros šiuo metu aktyviai taikomos gydant RAH, PIAD ir MABS turi reikšmingų savo trūkumų.

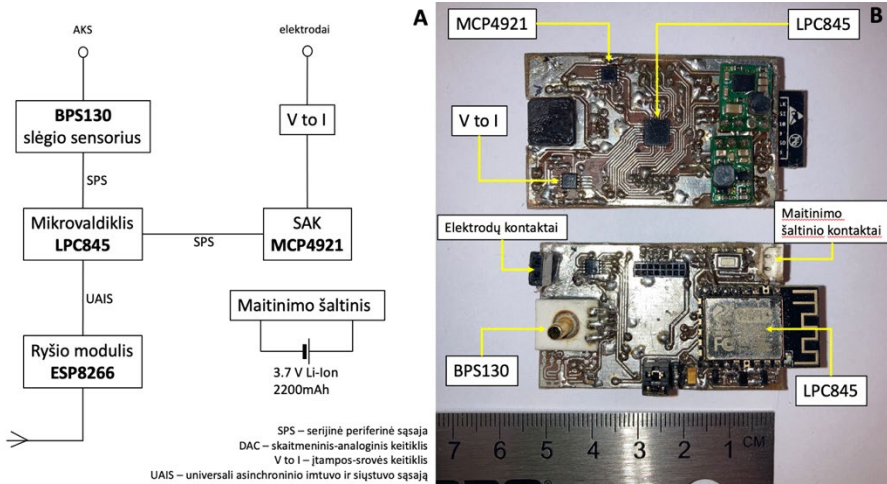
Manoma, kad pailgosiose smegenyse randami ikisimpatiniai neuronai, atsakingi už AKS palaikymą, gali sukelti hipotenziją, taikant elektrinę šių branduolių stimuliaciją. GSS yra neuromoduliacinė, nedestrukcinė procedūra, kurios metu įleidžiami elektrodai į giliąsias smegenų substancijas. Aptarus visus potencialius GSS taikinius, UPŠPSD galėtų būti efektyvus branduolys tiksliniam hipotenziniam efektui pasiekti. Šio branduolio, esančio apatinėje pailgųjų smegenų dalyje, stimuliacija gali būti pavojinga, ji gali provokuoti didelius šalutinius reiškinius dėl elektrodo įleidimo į kritinę smegenų dalį, atsakingą už sąmonę, kvėpavimą ir kardiovaskulinę funkciją. Tačiau šis taikynys apima abi arterinės hipertenzijos patogenezės (nutukimo sukeltos ir druskai jautrios) grandis ir neturi reikšmingų integracinių elgesnio, autonominių, neuroendokrininių, adaptyviųjų funkcijų.

Šiuo metu pasaulio laboratorijose naudojami eksperimentiniai pulsų generatoriai yra netinkami tirti ir pritaikyti GSS reikšmę AH gydymui. Šios sistemos neveikia uždaro kontūro principu su slėgio sensoriumi, didelę jų dalis negali būti perprogramuojama greitai ir visiškai nesiliečiant prie gyvūno. Eksperimentui reikalingas naujai sukurtas, uždaro kontūro principu galintis veikti pulsų generatorius su visiškai integruota invazinio AKS registravimo ir be laide sensoriaus duomenų bei stimulatoriaus komandų perdavimo sistema.

2. METODIKA

2.1. Pulsų generatorius su integruota slėgio matavimo sistema

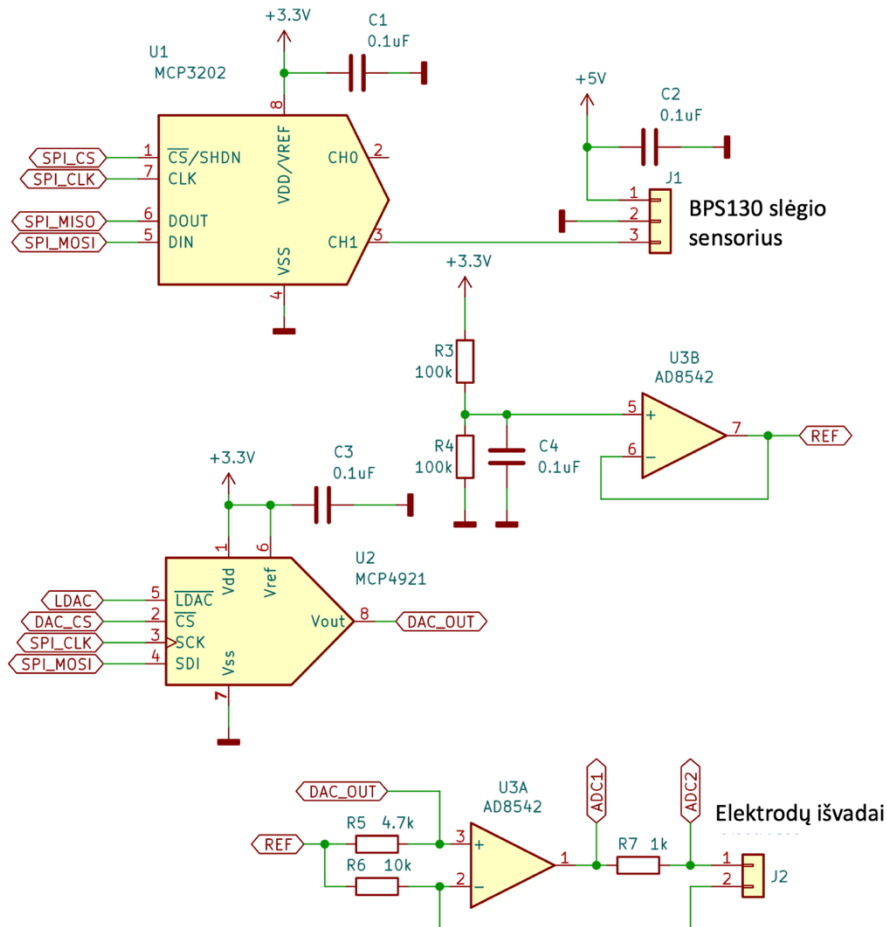
Tyrimo uždaviniams spręsti buvo sukurtas pulsų generatorius su integruota invazinio AKS stebėjimo ir belaide sensoriaus duomenų bei stimulatoriaus komandų perdavimo sistema. Šis pulsų generatorius susideda iš belaidžio duomenų perdavimo modulio, pulsų generatoriaus sistemos ir integruotos slėgio matavimo grandinės (2 ir 3 pav.).



2 pav. Prietaiso principinė elektroninė schema pavaizduota A. B dalyje pavaizduoti du pagaminti modeliai su svarbiausiomis komponentėmis, pažymėtomis rodyklėmis

AKS duomenims perduoti belaidžiu būdu buvo panaudotas komerciškai prieinamas ryšio modulis ESP8266 (*Espressif Systems*, Šanchajus, Kinija). Eksperimentų metu buvo naudojamas pilnos sudėties ESP8266 modulis, kartu su integruota duomenų perdavimo antena, radijo dažnio priėmimo ir perdavimo grandine bei *Flash* atmintimi. AKS duomenų perdavimas ir elektrinių pulsų generavimas buvo valdomi mikrovaldikliu LPC845 (*NXP Semiconductors*, Eindhovenas, Olandija). Šio mikrovaldiklio vidinis analoginis skaitmeninis keitiklis (ASK) buvo naudojamas smegenų stimuliacijos impulsams *in vivo* įrašinti. Siekiant užtikrinti belaidį kraujo spaudimo duomenų ir komandų tarp išorinės duomenų bazės bei valdymo konsolės ir pulsų generatoriaus perdavimo būdą tarp ryšio modulio ESP8266 ir mikrovaldiklio LPC845 buvo naudojama universaliosios asinchroninio imtuvo ir siųstuvo (UAIS) sąsaja. Kraujospūdžio matavimo grandinę sudarė slėgio

jutiklis BPS130 (*Bourns, Inc.*, Riversaidas, Kalifornija, JAV) ir išorinis ASK MCP3202 (*Microchip Technology Inc.*, Čandleris, Arizona, JAV). Serijinė periferinė sąsaja (SPS) buvo naudojama duomenims perduoti tarp kraujospūdžio matavimo grandinės ir mikrovaldiklio LPC845. Pagal „Bourns“ kompanijos pateikiamas jutiklio charakteristikas, BPS130 nulio poslinkis ir jautrumo poslinkis turi būti minimalus, todėl ties įprastu fiziologinių ir pataloginių kraujospūdžio reikšmių diapazonu kalibravimo procesas turėtų būti nereikalingas (238).



3 pav. Elektroninė detali pulsų generatoriaus su integruota invazinio AKS matavimo sistema schema

Elektrinių pulsų grandinė gali generuoti ir smegenų audiniui perduoti bet kokios pasirinktos formos programiškai aprašomą elektros impulsą. Šiame tyrime buvo naudojamas subalansuoto krūvio, nesimetriškas impulsas, kurio

neigiamo pulso dalies periodas 5 kartus ilgesnis nei teigiamo pulso dalies periodas. Elektrinių impulsų generavimo grandinę sudaro įtampos impulsų generatorius ir įtampos-srovės keitiklis. Elektros impulsai buvo generuoti LPC845 mikrovaldikliu ir skaitmeninio analoginio keitiklio (SAK) lustu (MCP4921, *Microchip Technology Inc.*, Čandleris, Arizona, JAV). Pulsų generatoriaus įtampos režimas buvo konvertuotas į srovės stiprio režimą, smegenų audinio varžos matavimo duomenis keliant į neigiamo grįžtamojo ryšio operacinį stiprintuvą AD8542 (*Analog Devices Inc.*, Vilmingtonas, Masačusetsas, JAV). Šis stiprintuvas pagal varžos pokyčius didindavo arba mažindavo smegenims perduodamą elektros įtampą, palaikė nuolatinį elektros srovės stiprį, tenkantį elektrodams. Veikimo diapazonai ir stimuliavimo parametrų žingsnių pločiai bei kitos svarbios įrenginio charakteristikos apibendrintos 1 lentelėje. Įrenginio maitinimo grandinė geba generuoti 5 V ir 3,3 V iš 3,7 V ličio jonų akumulatoriaus, kurio talpa 2200 mAh.

1 lentelė. Sukurto pulsų generatoriaus su integruota invazinio AKS registravimo sistema charakteristikos

Pulso amplitudė	0–140 μ A, žingsniai kas 1 μ A
Pulso trukmė	40–300 μ s, žingsniai kas 1 μ s
Pulso pasikartojimo periodas (dažnis)	2–500 ms (2–500 Hz), žingsniai kas 1 ms
Svoris (su apranga ir akumulatoriumi)	55 g
Dydis	5.5 cm x 3 cm x 2 cm
Veikimo laikas su visiškai pakrautu akumulatoriumi	20–75 val.
Programuojamas periodinis miego režimas energijai taupyti. Miego režime kraujospūdis nematuojamas ir duomenys neperduodami, tačiau pulsų generatorius veikia nustatytu režimu	
Sensoriaus reikšmių nurašymo periodai gali būti koreguojami nuotoliniu būdu programiškai ir būti iki 4 ms	

2.2. Pulsų generatoriaus invaziniai komponentai

Arteriniai kateteriai buvo pagaminti iš polietileno vamzdelių (*Smiths Medical International Ltd.*, Mineapolis, Minesota, JAV), kurių išorinis skersmuo 0,96 mm, vidinis skersmuo 0,58 mm, su papildomomis jungtimis kateterių užpildų tirpalams suleisti ir jutikliui kalibruoti. Speciali inkarinė manžetė buvo fiksuojama 24–26 mm atstumu nuo kateterio galiuko ir veikė kaip kateterį prie arterijos fiksuojanti priemonė, leidžianti kateterio galiuką pozicionuoti ties bendrosios miego arterijos ir aortos lanko sandūra. Kaip

kateterio pripildomieji tirpalai buvo naudojami arba 500 TV heparino/99,7 % glicerolio arba 500 TV heparino/40 % gliukozės tirpalai (239).

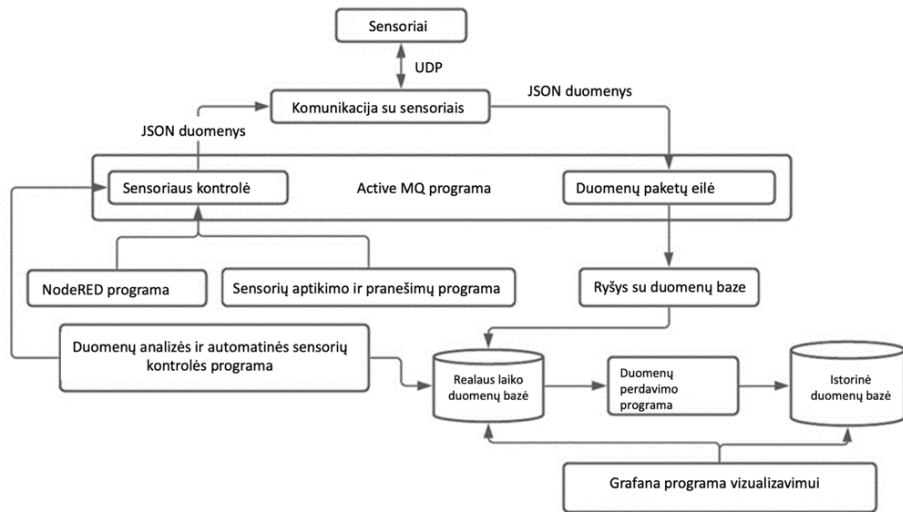
Eksperimentuose buvo naudojami elektrodai, pagaminti iš 100 µm skersmens nerūdijančio plieno vielos su 5 µm poliamido izoliacija (*Goodfellow Cambridge Ltd.*, Jungtinė Karalystė). Elektrodai buvo fiksuojami vienas šalia kito, kad veiktų bipoliniu principu, su 200 µm iškyša tarp neizoliuotų 100 µm galiukų.

Specialios žiurkės dydį atitinkančios petnešos, prie kurių buvo tvirtinamas pulsų generatoriaus apsauginis dėklas, buvo pagamintos iš tvirto, bet tamprus neopreno audinio, prisiuvant papildomas lipnias juosteles. Pulsų generatoriaus dėklas, apsaugantis elektrinę įrangą nuo vandens ir kito mechaninio poveikio, buvo atspausdintas 3D spausdintuvu *Ender-3 Pro* (*Creality*, Kinija) iš polilaktinės rūgšties plastiko (*Fiberology*, Lenkija).

2.3. Duomenų perdavimo ir analizės sistema

Duomenys buvo perduodami, įrašomi ir analizuojami kompiuteriu, kuriame įdiegta „Linux“ branduolio pagrindu veikianti operacinė sistema (*CentOS*), bei *PostgreSQL* duomenų bazė, su 8 Gb operatyviosios atminties ir 2,4 GHz taktiniu dažniu. Duomenims iš pulsų generatoriaus jutiklinės grandinės perduoti ir realiu laiku pavaizduoti buvo naudojama adaptuota laisvojo kodo programų sistema (4 pav.). *Python* programavimo kalba buvo naudojama ryšiui tarp pulsų generatorių ir duomenų bazės palaikyti. Šio ryšio duomenų perdavimo komponentas buvo sukurtas taip, kad galėtų apdoroti didelį informacijos kiekį (100 duomenų taškų per sekundę, koduotų 16 bitų eilute, iš vieno modulio, iš viso iki 10 modulių vienu metu). *Apache ActiveMQ* programa buvo naudojama kaip komandų mainų tarpininkas (angl. *message broker*) užtikrinti modulių komandų ir stimulatoriaus slėgio duomenų paketų perdavimą. Stimulatoriaus valdymo sistema sukurta *NodeRED* programa, ja galima koreguoti stimulatorių pulso amplitudę, plotį, dažnį, matavimo laiką ir dažnumą nuotoliniu būdu. Stimuliatorių aptikimo (įjungtas ar išjungtas stimulatoriaus modulis) ir pranešimų tarnybos (pranešimai apie akumuliatoriaus būklę) buvo atsakingos už duomenų transliacijos pranešimų siuntimą visiems jutikliams ir jutiklių būklės stebėjimą. *Grafana* programa buvo naudota realaus laiko ir istoriniams duomenims vizualizuoti. Pagalbinės programos (angl. *helper services*), kurios leisdavo perduoti duomenis tarp modulių ir realaus laiko arba tarp realaus laiko ir istorinės duomenų bazių, buvo parašytos naudojant *Python* programavimo kalbą. Kadangi gaunamų duomenų kiekis yra gana didelis ir labai apkrautų realaus laiko duomenų bazę, siekiant sumažinti šią apkrovą

vėlesnius nei paros laiko duomenis pagalbinės programos automatiškai perkeldavo į istorinę duomenų bazę. Išsamiai analizei buvo naudojama istorinė duomenų bazė.



4 pav. Duomenų perdavimo sistemos schema

Duomenų analizės komponentas, taip pat parašytas *Python* kalba, fiksavo ŠSD ir kvėpavimo dažnį iš invazinio AKS duomenų narkozės metu bei automatiškai kontroliavo sensorius viso eksperimento metu. ŠSD iš invazinio AKS duomenų buvo gaunamas naudojant 10 branduolio pločio Gauso filtro branduolį.

2.4. Eksperimentas 1: GSS stimulatoriaus veikimas

Pirmojo eksperimento uždaviniai:

1. Įvertinti eksperimentinių žiurkių išgyvenamumą.
2. Įvertinti eksperimentinių žiurkių grubios neurologinės simptomatikos po elektrodų implantacijos UPŠPSD branduolyje dažnį per 14 dienų eksperimentinį laikotarpį.
3. Įvertinti sukurto pulsų generatoriaus su integruota invazinio AKS matavimo sistema sensoriaus jautrumo pokytį 14 dienų laikotarpiu.
4. Įvertinti kateterio tirpalų lemiamą kateterių trombozavimosi dažnį.
5. Įvertinti pulsinės bangos perdavimo savybes.

2.4.1. Gyvūnai

Visi tyrimo eksperimentiniai etapai atlikti vadovaujantis 2010 m. rugsėjo 22 d. Europos Parlamento ir Tarybos direktyva 2010/63/ES ir Lietuvos Respublikos valstybinės maisto ir veterinarijos tarnybos direktoriaus 2012 m. spalio 31 d. įsakymo Nr. B1-866 su pakeitimais. Eksperimentams gautas Valstybinės maisto ir veterinarijos tarnybos leidimas Nr. G2-128, 2019-11-13 (10.1 priedas).

Prietaiso veikimas buvo išbandytas eksperimentuojant su dešimčia 12–16 savaičių amžiaus *Wistar* klonu žiurkių patinėlių, sveriančių 340–425 g, išveistų Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centro vivariume. Visi gyvūnai buvo laikomi atskiruose narveliuose, esant šiems kontroliuojamiems veiksniams: 12/12 valandų šviesos / tamsos ciklams, laisva prieiga prie maisto ir vandens *ad libitum*. Pratinant gyvūnus prie eksperimento sąlygų ir mažinant stresą, septynias dienas prieš implantaciją gyvūnams buvo uždedamos kuprinės su stimuliatorių dėklais, imituojančiais prietaiso dydį ir svorį.

2.4.2. Chirurginė intervencija

Chirurginės intervencijos buvo atliekamos naudojant sevoflurano įkvepiamųjų garų anesteziją (3–4 %, 100 % O₂ mišinyje, leidžiant per nosies kūginę kaukę). Kateterio ir elektrodo implantavimo procedūros buvo atliekamos tos pačios anestezijos metu naudojant chirurginį mikroskopą su x6,4 dydžio didinimu. Dėl mikrochirurginės technikos taikymo chirurginiai pjūviai tapo mažesni, buvo geriau matomos, taigi ir išsaugomos klajoklio nervo šakutės, mentinis poliežuviu raumuo, tiksliau buvo implantuojamas elektrodas.

Pradėjus anesteziją, buvo tikrinami žiurkės skausmo refleksai, operacinis laukas paruošiamas povidono-jodo tirpalu (*Egis Pharmaceuticals*). Tada atliekami du 1 cm ilgio viduriniai pjūviai ties viršugalviu, iškart kaudaliau ausų, kitas pjūvis – priekinėje kaklo dalyje, kiek aukščiau krūtinkaulio. Stimuliatoriaus kateteris prieš operaciją būdavo pripildomas vieno iš kateterių užpildų tirpalo, operacijos metu buvo tuneliuojamas po oda tarp abiejų pjūvių per kairę kaklo pusę. Tuneliuojama ypač atidžiai, nesužalojant kairiosios išorinės jungo venos. Vėliau bukuoju būdu buvo išdalijama apie 0,5 cm kairiosios bendrosios miego arterijos dalies, ji eksponuojama pakabinant proksimalinį ir distalinį arterijos galus ant laisvų siūlių. Bukos disekcijos metu *m. omohyoideus* buvo paliekamas šoniau miego arterijos. Arterija išdalijama labai kruopščiai, nes ventralinėje jos dalyje buvo išsaugomos mažos klajoklio nervo šakelės. Distalinis arterijos galas buvo nurišamas ir atliekamas 2 mm

išilginis pjūvis miego arterijos pilvinėje sienelėje, išlaikant įtempimą per laisvą proksimalinę siūlę. Ši technika leido implantuoti kateterį be hemodinamiškai reikšmingo kraujo netekimo. Kateteris buvo kišamas tol, kol inkarinė manžetė pasiekdavo miego arterijoje atliktą pjūvį, tada kateteris buvo pririšamas prie arterijos dviem papildomomis siūlėmis. Po implantacijos kaklo žaizda buvo užsiuvama 5-0 siūlu ištisine siūle.

Kateterio intravaskulinės dalies ilgis yra labai svarbus gyvūno išgyvenamumui. Jei kateterio intravaskulinė dalis yra per ilga, galiukas užkemša aortą ir gyvūnas žūsta. Jei kateteris per trumpas, jį užblokuoja kraujo krešulys likusioje miego arterijos dalyje ir tada matavimo duomenys būna netikslūs. Tyrimo metu pastebėta, kad kateterio intravaskulinės dalies ilgis priklausė nuo gyvūno ilgio matuojant nuo uodegos pagrindo iki nosies. Tai galėtų būti tikslesnis matavimo būdas nei gyvūno svėrimas, kaip yra įprasta kitose laboratorijose.

Implantavus kateterį, gyvūnai nedelsiant buvo perkeliama ant stereotaksinio rėmo sistemos (*Narishige Scientific Instrument Lab.*, Japonija). Elektrodo implantacijos metu AKS buvo registruojamas nuolat. Jau atliktas viršugalvio pjūvis buvo panaudojamas ir elektrodui implantuoti. Kadangi planuotas 14 dienų eksperimentas, elektrodo implantacijai buvo pasirinktas netiesioginis transcerebeliarinis kelias, kai elektrodai implantuojami per smegenėlių pusrutulį. Tokiu būdu užtikrinamas mažesnis chirurginės intervencijos pažaidos laipsnis nei šią operaciją atliekant atviru būdu iš dalies pašalinus smegenėlių migdolus ir vizualizavus IV skilvelio orientyrus. Gyvūno galva buvo pozicionuojama lygiagrečiai stereotaksinio rėmo bazei, lygiuojant su linija, nubrėžta per bregmos ir lambdos taškus. Dešinėje pusėje ties pakauškaulio ketera buvo išgręžiama apie 3 mm skersmens trefinacinė anga elektrodui įleisti. Užpakaliau labdoidinės siūlės buvo išgręžiamos dvi papildomos mažesnės angos sraigtams įsukti ir cementui fiksuoti. UPŠPSD koordinatės buvo parenkamos pagal Paxinos ir Goodchild: -4,40 mm užpakaliau, 2,10 mm į dešinę ir 9,90 mm gilyn nuo lambda taško (202,240). Įleidus elektrodą iki 8,5 mm z ašies žymos, buvo pradedama standartinė stimuliacija. Kraujospūdžio atsakas į elektrinę stimuliaciją buvo fiksuojamas kiekvieną kartą pozicionuojant elektrodą per 0,1 mm gylyn. Implantacijos vieta buvo patvirtinama, kai du 3 sekundžių trukmės stimuliacijos periodai (100 μ A, 50 Hz, 0, 1 ms) toje pačioje vietoje sukeldavo bent 20 mmHg hipotenzinį efektą. Prieš stimuliaciją kitoje vietoje buvo palaukiama apie 1 minutę, vertinant hemodinaminius kitimus. Elektrodas nebuvo pozicionuojamas žemiau negu 10,5 mm z ašyje nuo lambda taško. Po elektrodo implantacijos operuota galvos sritis būdavo padengiama specialiu cementu, pagamintu iš mikrohibridinio kompozito (FlowX, ORBIS).

2.4.3. Pooperacinis laikotarpis

Pooperacinis ir duomenų kaupimo laikotarpis truko 24 valandas per parą, 14 dienų. 24 valandas po procedūros žiurkės buvo atidžiai stebimos: sekama, ar gyvūnai nesielgia keistai, ar nėra patologinių laikysenos pozų, vertinama neurologinė simptomatika (parezės, ataksiški judesiai, vyzdžių fotoreakcijos defektai, voko padribimas, sumažėjusi reakcija į skausminį dirgiklį). Gyvūnai buvo tinkamai nuskausminami ketoprofenu į/v pagal kūno svorį. Jei kateterio veikla sutrikdavo, išnykdavo pulsinės bangos, kateterio užpildo tirpalas būdavo pakeičiamas iš anksto žinomu tūriu. Kateteriui funkcionuojant gerai, jo užpildo tirpalas vis vien būdavo pakeičiamas kas 24 valandas. AKS duomenys buvo registruojami perduodant pulsinę bangą per tuos pačius kateterių užpildo tirpalus, nenaudojant jokių papildomų heparino infuzijų registracijos metu. Užpildų tirpalams buvo naudojamas arba heparinizuotas 40 % dekstrozės tirpalas arba heparinizuotas 99,5 % glicerolio tirpalas. Į 1 ml užpildo tirpalo buvo pridedama 500 TV heparino.

Aštuntą eksperimento dieną buvo pradėdama nuolatinė stimuliacija (50 μ A, 50 Hz, 0,1 ms), kuri buvo tęsiama septynias dienas. Vėl buvo sekamas gyvūno elgesys, vertinama neurologinė simptomatika.

Slėgio sensoriaus duomenys (matuoti mV) buvo kalibruojami pagal žinomų reikšmių slėgio taškus 0, 50, 100, 150 ir 200 mmHg, naudojant pasigamintą vandens stulpelio slėgio kalibravimo sistemą. Kalibracija buvo atliekama prieš pat operaciją pirmąją eksperimento parą, eksperimento viduryje prieš stimuliaciją (7 paros pabaigoje) ir stimuliacijos pabaigoje (14 parą).

2.4.4. Duomenų analizė

Šapiro ir Vilko (Shapiro-Wilk) testas parodė, kad duomenys buvo pasiskirstę pagal normalųjį skirstinį. Duomenų analizė atlikta R programa.

Kateterio trombozės laikui įvertinti buvo matuojamas ir lyginamas laikas nuo kateterio užpildo tirpalo pakeitimo iki gyvūnų AKS kreivėse atsiradusių kateterio trombozės požymių. Kateterio trombozės laiku būdavo laikomas taškas, kai invazinio AKS kreivė netekdavo vizualiai matomos pulsinės bangos.

Norint įvertinti prietaiso sensoriaus nekalibruotų AKS slėgio reikšmių jautrumo pokytį 1-ąją, 7-ąją ir 14-ąją eksperimento parą, buvo naudojama vieno faktoriaus dispersijos analizė (ANOVA). Tik žiurkės, išgyvenusios visą eksperimento laikotarpį be neurologinės simptomatikos, buvo įtrauktos į

analizę. Skirtumas buvo laikomas patikimu, jei $P < 0,05$. Duomenys pateikti kaip vidurkis \pm standartinis vidurkio nuokrypis.

1. Eksperimentas 2: UPŠPSD ilgalaikės stimuliacijos efektas

Antrojo eksperimento uždavinys buvo įvertinti hipotenzinį efektą stimuliuojant žiurkių UPŠPSD nedidelės amplitudės srove ir palyginti šį efektą su kontrolinės grupės gyvūnų reakcija.

1.1. Gyvūnai

Gyvūnų laikymo sąlygos buvo tokios pat kaip ir pirmojo eksperimento metu. Buvo eksperimentuojama su dvidešimčia 12–16 savaičių amžiaus *Wistar* klonu žiurkių patinėlių, sveriančių 320–421 g. Gyvūnai buvo atsitiktine tvarka suskirstyti į eksperimentinę ($N = 10$) ir kontrolinę grupes ($N = 10$).

1.2. Chirurginė intervencija

Chirurginės intervencijos etapai abiejose grupėse buvo atliekami visiškai identišškai pirmajam eksperimentui. Vienintelis skirtumas tarp eksperimentinės ir kontrolinės grupės gyvūnų – galutinė elektrodų pozicionavimo vieta. Kontrolinės grupės gyvūnuose elektrodų galai buvo pozicionuoti 4 mm aukščiau negu pagal išankstines koordinates numatyto UPŠPSD. Eksperimentinės grupės gyvūnams elektrodų galai buvo pozicionuoti UPŠPSD kaip ir pirmajame eksperimente.

1.3. Pooperacinis laikotarpis

Pooperacinis laikotarpis vyko analogiškai pirmajam eksperimentui, išskyrus tai, kad kateterio užpildui buvo naudojamas tik heparinizuotas 99,5 % glicerolio tirpalas.

1.4. Duomenų analizė

Eksperimentas truko 14 dienų. Laikotarpis buvo suskirstytas į tris dalis. Ankstyvasis pooperacinis periodas (pirmosios keturios paros), kai AKS duomenys buvo registruojami, bet nebuvo naudojami analizei. Gyvūnų AKS kreivės šiuo periodu būdavo nestabilios, pasitaikydavo hipertenzijos epizodų, tai siejama su gyvūno gijimu po operacijos. Vidutinio AKS vertės apskaičiuotos naudojant `AVG()` SQL duomenų bazės (PostgreSQL) funkciją.

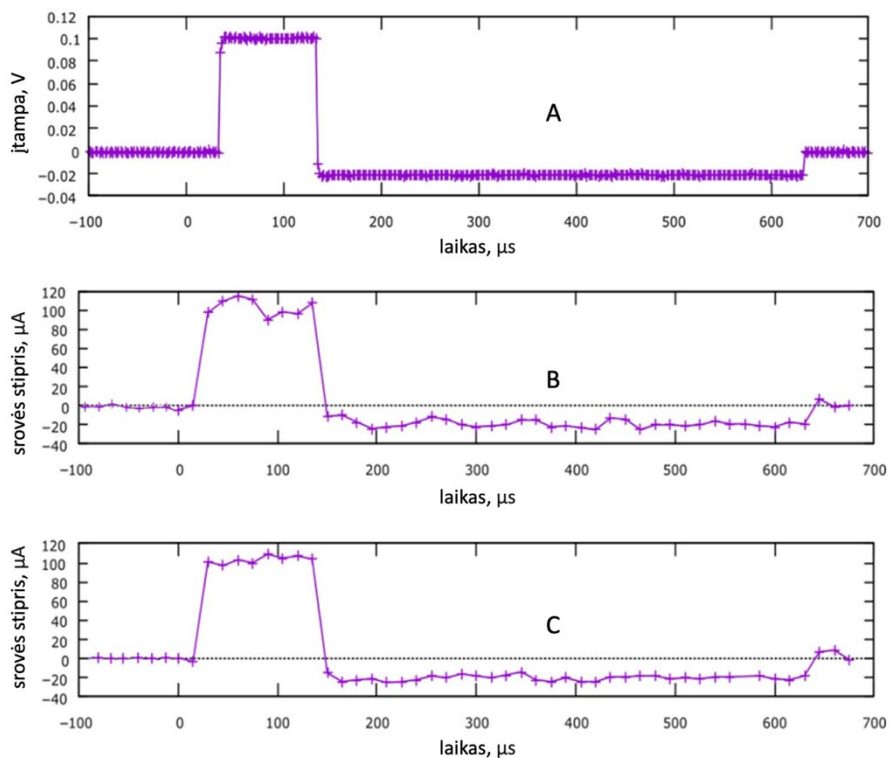
Vidutinis AKS buvo apskaičiuotas 5–7 parą (išjungtos stimuliacijos laikotarpis) ir 8–14 parą (įjungtos stimuliacijos laikotarpis). Šapiro ir Vilko testas parodė, kad duomenys buvo pasiskirstę pagal normalųjį skirstinį. Vidutinio kraujospūdžio skirtumui tarp „išjungtos stimuliacijos“ ir „įjungtos stimuliacijos“ laikotarpių įvertinti buvo naudojamas priklausomas Student t testas. Duomenų analizei buvo naudojami tik duomenys, gauti iš žiurkių, kurios išgyveno visą eksperimento laikotarpį be neurologinės simptomatikos ar elgsenos pakitimų. Skirtumas buvo statiškai patikimas, jei $P < 0,05$. Duomenys pateikiami kaip vidurkis \pm standartinis vidurkio nuokrypis.

3. REZULTATAI

3.1. Eksperimentas 1: GSS stimulatoriaus veikimas

3.1.1. Modulio veikimo patvirtinimas

Smegenų stimulatoriaus sukurtų impulsų įrašai skirtingomis aplinkybėmis vaizduojami 5 pav. Atkreiptinas dėmesys į trijų skirtingų įrašymo metodų impulsų kreivės panašumus. Tipiniai dešimties sekundžių AKS registravimo kalibruoti duomenys vaizduojami 6 pav.



5 pav. Stimulatoriaus generuojamų pulsų įrašai. A – stimulatoriaus įvadų įtampos pokytis osciloskopu su $1 \text{ k}\Omega$ varža; srovės stiprį galima apskaičiuoti padalijus įtampą iš naudotos varžos vertės. B ir C grafikai fiksuoti vertinant vidinio stimulatoriaus mikrovaldiklio LPC845 ASK įtampos pokytį, o srovės stiprio vertė apskaičiuota pagal R7 varžos įtampos pokytį. B grafikas gautas vertinant *ex vivo* prieš implantaciją su $1 \text{ k}\Omega$ varžą. C grafikas užfiksuotas smegenų stimuliacijos *in vivo* metu.



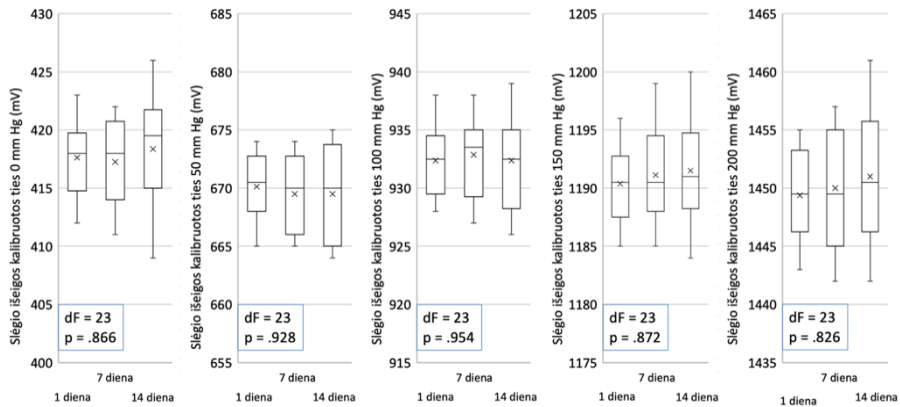
6 pav. AKS duomenų registravimas. Atkreiptintas dėmesys į kai kuriuose širdies ritmo perioduose matomas dikrotines įpjovas. Nors buvo naudojami net iki 100 duomenų taškų AKS bangai įvertinti per vieną sekundę, tačiau ne visuose perioduose galima išvelgti aiškia dikrotinę įpjovą.

3.1.2. Išgyvenamumas ir neurologinis deficitas

Devyni iš dešimties gyvūnų (90 %) išgyveno po operacijos ir atgavo budrumą. Viena žiurkė (10 %) staiga mirė sustojus kvėpavimui procedūros metu, kai elektrodas buvo įleistas tik 6 mm dorsoventralinėje koordinatėje (ir nesiekė kamieno stuktūrų). Autopsija atskleidė netipiškai aukštai kylantį aortos lanką ir kateterį, visiškai obturavusį aortą. Viena žiurkė (10 %), nors pabudo be akivaizdžios neurologinės židininės simptomatikos ir buvo hemodinamiškai stabili, tačiau mirė po aštuonių valandų dėl aiškios hipertenzinės krizės. Autopsijos metu buvo nustatytas 3 mm hemoraginis židiny elektrodą galiuko projekcijoje pailgosiose smegenyse. Kitų aiškių gyvūno žūties priežasčių nustatyta nebuvo. Vienai žiurkei (10 %) buvo laikini smegenėlių pažeidimo simptomai: ataksiški dešinės kūno pusės judesiai be akivaizdaus silpnumo su rotaciniu elementu į pažeidimo pusę, kurie pranyko per kitas 48 valandas. Kitoms septynioms žiurkėms (70 %) per visą pooperacinį laikotarpį nebuvo jokių akivaizdžių neurologinių komplikacijų požymių.

3.1.3. Kalibracijos duomenys

Prietaiso kalibravimo duomenys pateikti 7 pav. ANOVA testas parodė, kad visuose žinomo slėgio taškuose, kuriuose buvo atliktas prietaiso kalibravimas, nebuvo reikšmingo skirtumo tarp nekalibruoto kraujospūdžio (mV) ir eksperimento dienos, kai kalibracija buvo atlikta. Tai įrodo, kad naudojamo pulsų generatoriaus sensoriui veikiant 14 parų nenutrūkstamai *in vivo* nebūdingas reikšmingas jautrumo poslinkis.



7 pav. Prietaiso kalibravimo duomenys, pateikti penkiuose vertintuose žinomo slėgio (0, 50, 100, 150, 200 mmHg) taškuose.

3.1.4. Kateterių trombozė

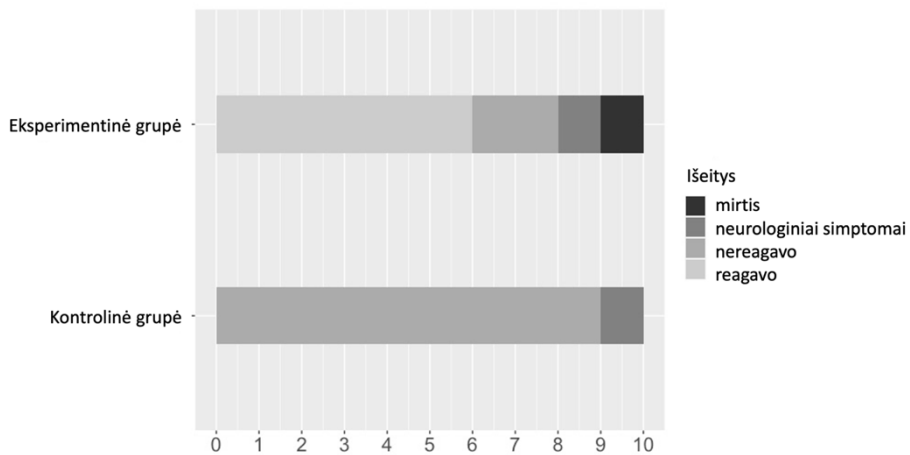
Vidutinis kateterių, pripildytų heparinizuoto dekstrozės tirpalo, trombozės laikas buvo $125,05 \pm 22,54$ min. nuo kateterio užpildo tirpalo pakeitimo. Vidutinis kateterių, pripildytų heparinizuoto glicerolio tirpalo, pulsinės bangos perdavimas buvo stabilus visą 24 valandų periodą iki planuoto kateterio įvertinimo ir užpildo tirpalo keitimo. Kateterių, pripildytų heparinizuoto glicerolio tirpalo, trombozė buvo ypač retas reiškinys, pastebėtas tik 2 kartus. Abiem atvejais tai įvyko per pirmas 48 val. po operacijos, kai buvo fiksuotos ryškios AKS fliuktuacijos. Nustatytas kateterių, pripildytų heparinizuoto glicerolio tirpalo, trombozės laikas gerokai ilgesnis negu kateterių, pripildytų heparinizuoto dekstrozės tirpalo, statistinių testų taikyti nebuvo prasminga. Antrajame eksperimente nuspręsta naudoti tik heparinizuoto glicerolio tirpalus.

3.2. Eksperimentas 2: UPŠPSD ilgalaikės stimuliacijos efektas

3.2.1. Išgyvenamumas ir neurologinis deficitas

Kontrolinės ir eksperimentinės grupių gyvūnų baigtys suskirstytos į grupes: gyvūnų, reagavusių į stimuliaciją pastebimu kraujospūdžio sumažėjimu (reagavo), nereagavo į stimuliavimą (nereagavo), neišgyveno eksperimento metu (mirtis) arba patyrė neurologinių komplikacijų (neurologiniai simptomai) (8 pav.). Kaip ir tikėtasi, nė viena žiurkė hemodinamiškai nereagavo į stimuliaciją kontrolinėje grupėje. Šešios žiurkės (60 %) reagavo į stimuliaciją pastebimu AKS kritimu eksperimentinėje

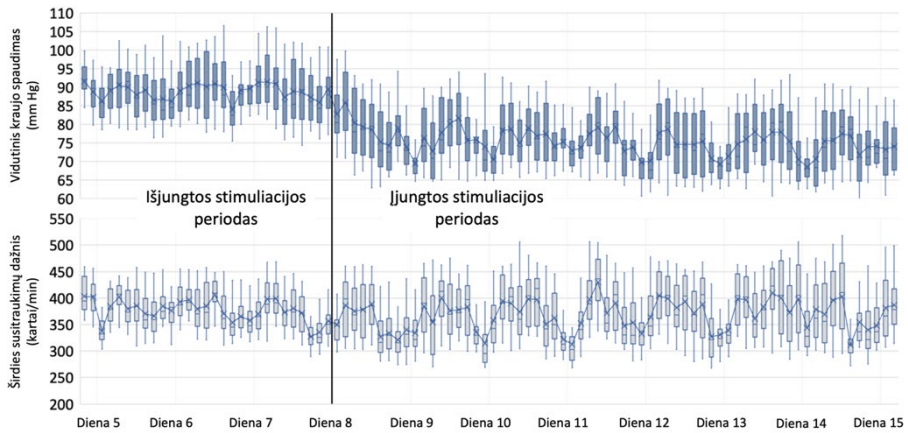
grupėje (9 pav.). Vienas gyvūnas eksperimentinėje grupėje žuvo praėjus 6 val. po operacijos progresuojant akivaizdžiai hipertenzinei krizei. Autopsijos metu rasta subdurinė hematoma virš abiejų smegenėlių pusrutulių ir nedidelė hemoragija elektrodo galo projekcijoje UPŠPSD srityje. Dviem žiurkėms (10 % visų antrojo eksperimento gyvūnų) pastebėtos neurologinės komplikacijos – dešiniųjų galūnių ataksija, susijusi su dešiniojo smegenėlių pusrutulio pažeidimu. Nors po kelių dienų neurologinė simptomatika ryškiai regresavo, ji išliko ir bebaigiant eksperimentą. Abi šios žiurkės nebuvo įtrauktos į galutinę hemodinamikos rodiklių analizę, o jų autopsijos metu hemoragijos ties elektrodo galu ar aplink smegenėlių pusrutulius nerasta. Įjungtos stimuliacijos laikotarpio metu abiejų žiurkių grupių gyvūnų elgsenos ar neurologinių komplikacijų pokyčių nepastebėta.



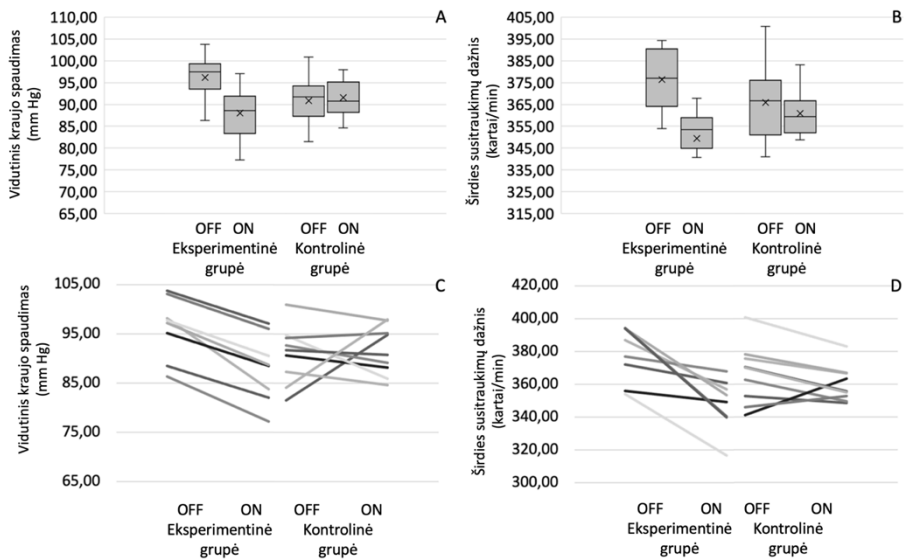
8 pav. Antrojo eksperimento abiejų grupių žiurkių baigčių duomenys

3.2.2. Arterinio kraujospūdžio pokyčiai

Tipiški vienos eksperimentinės grupės žiurkės vidutinio AKS ir vidutinio ŠSD pokyčiai išjungtos stimuliacijos ir įjungtos stimuliacijos laikotarpiais pateikti 9 pav. Kraujospūdis mažėjo pirmąją įjungtos stimuliacijos periodo dieną, vėliau stabilizavosi. Širdies susitraukimų dažnio pokytis šiuo konkrečiu atveju nebuvo toks pastebimas, tačiau yra akivaizdi tendencija link didesnio širdies susitraukimo dažnio variabilumo dėl ryškesnių bradikardijos epizodų gyvūno ramybės laikotarpiu.



9 pav. Tipinės eksperimentinės grupės žiurkės su aiškiu hipotenziniu atsaku vidutinio AKS ir ŠSD reikšmės pateiktos dėžinių grafikų su paklaidų intervalais laiko serija (angl. *box plot time series*)



10 pav. Vidutinio AKS (A) ir vidutinio ŠSD (B) palyginimas išjungtos stimuliacijos ir įjungtos stimuliacijos periodais eksperimentinėje ir kontrolinėje grupėse. Atskirų gyvūnų vidutinio AKS (C) ir vidutinio ŠSD (D) pokytis išjungtos stimuliacijos ir įjungtos stimuliacijos periodais kontrolinėse ir eksperimentinėse grupėse

Vidutinio AKS ir vidutinio ŠSD palyginimas išjungtos stimuliacijos ir įjungtos stimuliacijos periodų metu eksperimentinėje ir kontrolinėje grupėse pateiktas 10 pav. Išjungtos stimuliacijos periodo vidutinis AKS buvo

96,22±5,79 mmHg ir 90,84±5,55 mmHg atitinkamai eksperimentinėje ir kontrolinėje grupėse. Įjungtos stimuliacijos periode vidutinis AKS sumažėjo 8,23 mmHg (p reikšmė 0,001) eksperimentinėje grupėje ir padidėjo 0,75 (p reikšmė 0,78) kontrolinėje grupėje. Išjungtos stimuliacijos periode vidutinis širdies susitraukimų dažnis buvo 376,34±15,46 k/min. ir 365,94±18,26 k/min. atitinkamai eksperimentinėje ir kontrolinėje grupėse. Įjungtos stimuliacijos laikotarpiu vidutinis širdies susitraukimų dažnis sumažėjo 26,93 dūžių/min. (p reikšmė 0,008) eksperimentinėje grupėje ir 3,10 (p reikšmė 0,503) kontrolinėje grupėje.

4. REZULTATŲ APTARIMAS

4.1. Modulio veikimas ir veikimo patvirtinimas *in vivo*

Šis eksperimente sukurtas ir panaudotas prietaisas be laidų kraujospūdžio telemetriją ir elektrinių impulsų generatorių sujungia į vieną darniai uždaro kontūro principu galinčią veikti sistemą. Mūsų žiniomis, tai pirmasis toks kombinuoto veikimo pulsų generatorius pasaulyje, kuris yra pakankamo dydžio, kad būtų galima atlikti eksperimentus su laisvai judančiais gyvūnais.

Laboratorinių gyvūnų tiesioginis invazinis kraujospūdis gali būti registruojamas dviem principiniais metodais: implantuojamu komerciniu telemetriniu davikliu arba išoriniu davikliu, kai gyvūnas registravimo metu įdedamas į specialų narvelį ir intraarterinis kateteris sujungiamas su išorinio daviklio sistema (241). Nors pirmasis metodas yra patogus ir suteikia galimybę registruoti hemodinaminius rodiklius gyvūnui laisvai judant narvelyje, tačiau yra brangus, o uždaro kontūro stimuliacija, pasitelkiant šį metodą, yra neįmanoma. Antrojo metodo atveju neįmanomas laisvai judančios žiurkės modelis, tai ypač svarbu ilgalaikiuose GSS eksperimentuose, siekiant gauti tikslius nesuvaržyto ir nestresuojančio gyvūno hemodinaminius rodiklius. Dar viena galimybė matuoti AKS būtų pasinaudojant žiurkės uodegos manžetę (angl. *tail-cuff*), tačiau ši sistema matuoja neinvazinį AKS, gyvūną reikia labai suvaržyti, matavimai galimi tik iki keliolikos kartų per parą, todėl GSS hipotenzinio poveikio tyrimams ši metodika yra visiškai netinkama (242).

Mūsų įrenginio dydis palyginamas su senesnės kartos GSS sistemomis, naudojančiomis specialias kuprines, talpinančias išorėje esantį stimuliatorių ir maitinimo šaltinį (243). Nors modulis dėl kuprinės dalies neatrodo mažas, tačiau nė vieno gyvūno per visą tyrimų laikotarpį nebuvo pastebėta jokių suvaržytos elgsenos požymių (žaidimų, valgymo ar gėrimo įpročių pokyčių). Be abejo, prietaisas, kuris atlieka be laidų invazinio AKS duomenų perdavimo funkciją ir gali būti greitai nuotoliniu būdu perprogramuojamas, kol kas negali būti tokio dydžio, kad visa sistema būtų visiškai implantuota po oda. Mūsų tikslas buvo pagaminti laisvai judančios žiurkės modeliui ir prietaiso recalibracijai tinkamą sistemą, todėl visa sistemos implantacija, siekiant slėgio sensoriaus jautrumo validavimo *in vivo* sąlygomis, mūsų atveju būtų netgi neparanki. Tokių pusiau implantuojamų pulsų generatorių pagrindinis privalumas yra tai, kad stimuliatoriui esant išorėje ir mokslininkams susidūrus su stimulatoriaus defektais, galima nesudėtingai sistemą perprogramuoti ar, mūsų eksperimento atveju, atlikti recalibraciją. Be abejo, po šio tyrimo turės vykti tolesnis prietaiso minimizavimo procesas, siekiant pagaminti visiškai po

oda implantuojamą sistemą. Tuo tikslu reikės naudoti belaides akumuliatorių krovimo sistemas, tačiau tai leis ateityje atsisakyti masyvaus akumulatoriaus (244).

Pusiau implantuojamų sistemų trūkumai: infekcijos pavojus, stimulatoriaus apgadinimo ar gyvūno žūties pavojus, sudėtingos jungtys su elektrodais, kurioms reikia nuolatinės priežiūros, gyvūno petnešų nešiojimo problemos ir pragulos. Penetruojant vamzdeliams ar laidų sistemoms per odą, yra didesnė lokali ar sisteminė infekcijos tikimybė. Reikalingas nuolatinis antibakterinių medikamentų vartojimas. Mūsų eksperimentų metu per visą gyvūnų stimuliacijos periodą esame pastebėję tik vieną lokalią infekciją atvejį, kuris pasireiškė kaip padidėjusi sekrecija ties kateterio išėjimo vieta sprando srityje. Esant atviriems sistemos komponentams, yra didesnė tikimybė, kad pats gyvūnas padarys žalą stimulatoriui ar jo laidams. Šiuos trūkumus, susijusius su paties gyvūno ardomąja veikla, aiškiai pastebėjome atliktų eksperimentų metu, kai dėl pažeistų laidų ar intraarterinių vamzdelių kelis kartus teko gyvūną gelbėti ir keisti sistemas naujomis. Gyvūnų su tokiais stimulatoriais negalima laikyti grupėmis, bet gyvūnų laikymas atskirai gali turėti reikšmės elgsenos tyrimams ir iš dalies hemodinaminiais rodikliais. Dėl mūsų naudoto 2 savaičių stimuliacijos protokolo, tokių problemų, kaip odos erozijos, CNS infekcijos, elektrodų iškritimai, su kuriomis dažnai susiduria kelis mėnesius trunkančių eksperimentų mokslininkai, nebuvo pastebėta. Dar vienas iš dalies implantuotų sistemų trūkumas yra nuolatinis poreikis prižiūrėti stimulatoriaus kištukus, valdymo jungtis, o tai gali turėti įtakos gyvūnų elgsenai ir rezultatams. Mūsų eksperimento metu buvo atliekamas kasdienis kateterių užpildų tirpalų ir akumulatoriaus keitimas, kuris trukdavo kelias minutes ir labiau AKS reikšmių nelemdavo.

Mūsų prietaiso pagrindinis privalumas yra sistemos galimybė veikti uždaro kontūro principu. Nors šiame tyrimų etape tokia galimybė nebuvo pritaikyta, tačiau ateityje tai gali tapti labai svarbiu fiziologinių eksperimentų komponentu. Šių eksperimentų metu būtų siekiama sumažinti AKS iki tam tikros ribos, tada, pasitelkus uždaro kontūro grįžtamąjį ryšį, kaip ir fiziologinėse sistemose, stimulatorius būtų išjungiamas arba sumažinami stimuliacijos parametrai, tokiu būdu taupomi stimulatoriaus rezervai. Be to, mūsų stimulatoriaus parametru perprogramavimas trunka vos kelias sekundes ir vyksta nuotoliniu būdu. Perprogramavimo metu nereikia žiurkės laikyti, perkelti į specialų narvelį arba prisijungti prie stimulatoriaus tiesiogiai per programatorių. Dauguma šiuolaikinių eksperimentinių stimuliatorių tokios galimybės neturi (245). Mūsų atveju užkertamas kelias padidėjusiam gyvūno streso lygiui, AKS ir ŠSD trikdymui perprogramavimo metu, todėl GSS poveikiui hemodinaminiais rodikliais tirti šis stimulatorius yra ypač

tinkamas. Nors didelė dalis stimulatoriaus yra naudojama būtent duomenų tarp stimulatoriaus ir duomenų bazės ar nuotolinio perprogramavimo sistemų perdavimui užtikrinti, tačiau pačių stimuliacijos parametrų plotis ir rezoliucija yra tokia pati ar netgi platesnė nei kitų laboratorijose naudojamų stimuliatorių (66).

Visame pasaulyje laboratorijos naudoja daug pačių pagamintų stimuliatorių sistemų, o kiekviena sistema turi savų privalumų ir trūkumų (230, 246, 247). Net jeigu naudojant kitus stimulatorius ir būtų galimybė lengvai pritaikyti galimybę stebėti AKS, šie stimulatoriai vis tiek nebūtų tinkami GSS hipotenziniam efektui įvertinti. Millard ir Shepherd sukūrė visiškai implantuojamą stimuliatorių, kurio veiklai reikalingas stiprus magnetinis laukas, sukuriamas elektromagnetinėmis ritėmis (248). Dėl tokios unikalios elektros srovę stimulatoriaus grandinėje sukuriančios sistemos gyvūną reikia laikyti mažoje uždaroje kameroje, todėl sunkiai įmanoma tai teigti esant laisvai judančios žiurkės modeliu. Be to, tokia sistema pasižymi didelėmis energijos, kuri reikalinga stipriam magnetiniam laukui indukuoti ir elektros srovei stimuliatoriuje sukelti, sąnaudomis. Taip pat manoma, kad tai gali lemti šalutinius stimuliacijos efektus, nes gyvūnas gyvena stipraus nuolatinio magnetinio lauko sąlygomis. Haas ir kt. sukurtas stimulatorius, nors visomis kitomis stimuliacijos parametrų prasmėmis yra puikus ir pigiai pagaminamas prietaisas, perprogramavimui atlikti turi būti išjungtas, o kai kurie grandinės elementai, tokie kaip varžos ir kondensatoriai – pakeisti (245). Prietaisas pasižymi dar ir tuo, kad gali veikti vos kelias valandas, todėl ilgalaikiams AKS eksperimentams nėra netinkamas. Liu ir kt. modulis neturi stimuliacijos impulsų krūvio balansavimo galimybės, taip pat šiame prietaise negalima pakeisti stimuliacijos bangos poliariškumo, o tai gali sukelti elektrolitines reakcijas ties elektrodo ir smegenų audinio kontakto vieta ir indukuoti iš to atsirandančias komplikacijas (249). Kouzani ir kt. stimulatoriaus parametrų keisti neįmanoma. Tokia konstrukcija būtų tinkama eksperimentuose jau tiksliai žinant, kokios amplitudės ir dažnio parametrai yra tinkamiausi. Šie autoriai teigia, kad neįkrautas prietaisas gali veikti net 9 dienas (243). Atsižvelgiant į dabartinių naudojamų stimuliatorių trūkumus, akivaizdu, kad ateityje bus tikslinga kuo labiau sumažinti ir mūsų įrenginio dydį ir jo energijos suvartojimą.

Mūsų naudoto modulio veikimo *in vivo* sąlygomis patvirtinimas pateiktas 5 ir 6 pav. Įprasta laboratorinė praktika, kad straipsniuose, kuriuose pristatomi individualūs stimulatoriai, dažnai sukurto prietaiso testavimo dalis yra labai redukuota, praktiškai niekada neatliekama *in vivo* arba bandymai atliekami tik su 1 k Ω rezistoriais (246, 247). Mūsų prietaisas buvo išbandytas *in vivo*, siekiant patikrinti, ar kartais net iki 100 μ V siekiantys neuronų biopotencialai

negalėtų sutrikdyti elektros krūvio įvedimo į nervinį audinį. Pirmasis eksperimentas įrodė pulsų generatoriaus gebėjimą vienodai veikti tiek *in vivo* sąlygomis generuojant tokio paties srovės stiprio pagal smegenų varžą adaptuojamus elektros impulsus, tiek viekiant prijungtam prie standartinės 1 k Ω varžos.

4.2. Išgyvenamumas ir neurologinė simptomatika

UPŠPSD yra pagrindinis pailgųjų smegenų grandinės slopinamasis branduolys, atsakingas už AKS refleksinę kontrolę (58). UPŠPSD, o ypač SPŠPSD, turi daug aferentinių ir eferentinių ryšių su kitais SNS reguliaciniais centrais: pailgųjų smegenų kvėpavimo centrais, šoniniu dangčio lauku, vidurio siūlės branduoliais, tilto A5 ląstelių grupe, gretutiniais kojų kojų branduoliais, CPM, PPB, užpakaline pagumburio dalimi, kaktine žieve (92). Akivaizdu, kad tai yra kritinė AKS reguliacinių grandinių struktūra, todėl jos pažeidimas gali būti nesuderinamas su gyvūno išgyvenimu.

Anksčiau elektrodų ar mikrokanulių implantacija į UŽŠPSD sritį buvo atliekama tik ūmių eksperimentų sąlygomis be gyvūnų gaivinimo (58, 61, 192). Buvo manoma, kad nuolatinis judrios smegenų kamieno dalies poslinkis gyvūno judesių metu sukelia smegenų audinio pažeidimą aplink implantuotą elektrodą, dėl kurio tampa neįmanomi lėtiniai eksperimentai (62). Šis tyrimas atskleidė, kad UPŠPSD implantavimo procedūros nesukelia perteklinio gyvūnų mirštamumo. Mūsų žiniomis, tai pirmasis tokius didelius išgyvenamumo rezultatus pateikiantis tyrimas Lietuvoje ir pasaulyje. Taip pat tai pirmasis tyrimas, kuris nurodo, kad neurologinių komplikacijų dažnis, implantavus į UPŠPSD, praktiškai nesiskiria nuo komplikacijų dažnio implantavus elektrodus į smegenėlių pusrutulį. Dviejų gyvūnų praradimas, kuris gali būti susijęs su UPŠPSD pažeidimu, neturėtų būti priežastis nebeatlikti panašių eksperimentų ateityje. Be to, antrojo eksperimento metu stebėtas UPŠPSD pažeidimas ir gyvūno žūtis galėjo būti antrinis pokytis dėl didelės subdurinės hematomos aplink smegenis, kuri galėjo sukelti reikšmingą smegenų kamieno poslinkį ir UPŠPSD hemoragiją. Pati subdurinio kraujavimo priežastis gali būti susijusi su elektrodo trajektorija, kertančia užpakalinės apatinės smegenėlių arterijos šakos projekciją paramedianinėje įduboje, o tai turėtų būti vertinama kaip lengvai išvengiama komplikacija, pakeičiant elektrodo pozicionavimo kampą. Atkreiptinas dėmesys, kad dažnuose eksperimentuose, kuriuose naudojamos žiurkės ar kiti graužikai, apskritai ypač retai nurodoma, kiek gyvūnų sunaudota, kad būtų pasiekta eksperimente reikiama imtis (65).

4.3. Kalibracija

Kraujospūdžio daviklio kalibravimo duomenų analizė neparodė reikšmingo jautrumo poslinkio jokiam eksperimento kalibravimo taške. Tai atitinka BPS130 jutiklių duomenų charakteristikų pristatymą (238). Prietaisas yra stabilus ir gali būti naudojamas tolesniuose tyrimuose.

4.4. Kateterių trombozė

Kateterių trombozės dažnis buvo panašus į pateiktus Luo ir kt. straipsnyje (239). Šiame tyrime kateterio trombozė buvo vertinta vizualiai ir mechaniškai, nustačius, ar vis dar galima sistemą išplauti tirpalu. Mūsų darbe kateterių trombozė buvo nustatyta įvertinus, ar vizualiai vis dar matomas pulsinės AKS bangos perdavimas į slėgio sensorių. Nustatyta, kad heparinizuoto glicerolio tirpalo pripildyti kateteriai veikė gerokai ilgiau. Tai kiek prieštarauja Luo ir kt. duomenims: šių autorių tyrime glicerolinių ir dekstrozinių tirpalų efektyvumas buvo panašus (239).

AKS registracija buvo atliekama, kateterio sistemas pripildžius glicerolinio arba dekstrozinio tirpalo. Tai dažniausiai literatūroje aprašomi tirpalai, apsaugantys nuo kateterio trombozės. Maža to, eksperimente tirpalai buvo panaudoti ir kaip slėgį perduodantis kateterio komponentas. Kituose eksperimentuose dažnai naudojami specialūs infuzomatai, kurie lėtai papildo kateterį heparinizuotais tirpalais, tačiau pastovus papildomas slėgis neleidžia atlikti ilgalaikių tyrimų, tuo labiau nuolat registruoti AKS ir atlikti stimuliaciją. Mūsų darbe AKS bangos buvo panašios į didelę raišką pasižymėjusius kitus tyrimus, matuojančius invazinį AKS (250). Be to, žinoma, kad net ir be normalaus slėgio bangos signalo, vidutinį arterinį kraujospūdį nustatyti galima tol, kol yra matoma slėgio banga, rodanti, kad kateterio trombozė nėra pilna (241).

4.5. Hipotenzinis UPŠPSD stimuliacijos efektas

Ūminių eksperimentų metu elektrinė ar cheminė UPŠPSD srities stimuliacija sukelia staigų kraujospūdžio kritimą, bradikardiją ir SNA sumažėjimą (58, 192). Nors hemodinamikos pokyčiai nebuvo tokie ryškūs, kaip nesąmoningiems gyvūnams, mūsų tyrimas rodo veiksmingą stimuliaciją, kuri truko iki eksperimento pabaigos. Pažymėtina, kad stimuliacijos efektas pasireiškia ne iš karto, jis atsilieka ir užtrunka iki dviejų parų, kol pasiekia plato fazę (9 pav.). Vėliau atsirandantis hipotenzijos efektas gali būti nulemtas kelių veiksnių. Pirma, tai gali būti susiję su efektu ir fiziologiniu

mechanizmu, veikiančiu ne per UPŠPSD slopinimą. Gali būti, kad elektrinė stimuliacija sukelia poveikį A1 neuronų grupei, esančiai greta UPŠPSD, o tai gali sukelti AKS humoralinio reguliavimo pokyčius. Šie pokyčiai, susiję su vazopresino sekrecija, pasireiškia tik po poros parų parų. Šis uždelstas efektas verčia manyti, kad už jį atsakingas kitas, nei ūminis kraujagysles plečiantis poveikis, ar vazopresino poveikis. Ryšiai tarp baroreflekso lanko ir renino-angiotenzino-aldosterono sistemos yra tvirtai įkomponuoti į bendrą AKS reguliavimo grandinę (110). Mūsų tyrimo dizainas nebuvo skirtas UPŠPSD stimuliacijos poveikiui humoralinei kraujospūdžio kontrolei įvertinti, bet tai galėtų būti tolesnių tyrimų perspektyva.

Vėluojantis efektas galėtų paaiškinti, kodėl O'Callaghan ir kt. nerado hipotenzinio atsako, kai 20 min. trukmės elektrinė stimuliacija buvo taikoma CPM srityje panaudojant sąmoningų, laisvai judančių spontaniškai hipertenzinių žiurkių modelį, nors hipotenzinis efektas buvo gautas elektrodų implantacijos metu (59). Gana seniai žinoma, kad eksperimente narkozės metu SNS aktyvumas yra slopinamas, todėl lengviau išryškėja hipotenzinis efektas (251).

Yra žinoma, kad kai kurie širdies ir kraujagyslių kontrolės centrai smegenyse sutampa su gyvūnų lokomocijos centrais (252). Žiurkių kardiorespiraciniai ir lokomociniai centrai buvo nustatyti tuose pačiuose CPM regionuose, užpakalinėje pagumburio srityje, PLB ir SPŠPSD. Nors elgesio eksperimentai nebuvo planuoti mūsų tyrime, nepastebėjome jokių žiurkių aktyvumo ar elgesio pokyčių žiurkių grupėse ar tarp jų.

Labai mažai paskelbtų klinikinių ir eksperimentinių duomenų gali suponuoti UPŠPSD, kaip tinkamą RAH gydymui, branduolį taikinį (209, 210, 253). Jannetta, mikrovaskulinių dekompresijų pradininkas, dar 1985 metais pasiūlė neurogeninės hipertenzijos teoriją, pagal kurią pulsuojantis arterijų, dažniausiai slankstelinės arterijos, spaudimas į ventrolateralinę pailgųjų smegenų dalį gali paskatinti pacientus susirgti RAH (253). Šiame straipsnyje buvo pateikti duomenys apie 36 gydytus pacientus, kuriems mikrochirurginės operacijos metu slankstelinės arterijos buvo perkeltos toliau nuo SPŠPSD. Naujesnis tyrimas įvertino autonominės veiklos ir sisteminės kraujotakos pokyčius, atsirandančius dėl chirurginių manipuliacijų ar vietinės elektrinės stimuliacijos aplink smegenų kamieną neurochirurginių operacijų metu (209). Tai patvirtino kitas tyrimas, kurio metu panašūs rezultatai gauti lokaliai stimuliuojant pontomedulinės jungties paviršių. Autoriai pateikė prielaidą, kad elektros srovė, išplitusi į SPŠPSD, gali būti atsakinga už ūminį hipertenzinį poveikį stimuliacijos metu (210).

Pagrindinis UPŠPSD regiono trūkumas yra implantavimo požiūriu žema ir sudėtinga vieta smegenų kamieno išilginėje ašyje. Vertinant dabartinių

klinikinių GSS sistemų elektrodų dydį, galima teigti, kad atlikti sėkmingą klinikinę studiją implantuojant elektrodus pailgųjų smegenų srityje žmonėms yra labai sudėtinga. Literatūroje aptikome, kad melsvoji vieta (lot. *locus coeruleus*) ir gretutiniai kojųčių branduoliai (abi sritys yra apatinėje tilto dalyje) yra žemiausi žmogaus smegenų kamieno taikiniai, į kuriuos sėkmingai pavyko įterpti GSS elektrodus (254, 255). Šiais laikais tokiems drąsiems eksperimentams retas kuris ryžtųsi. Tačiau UPŠPSD padėtis prie pat smegenų kamieno paviršiaus gali būti ir labai naudinga aplinkybe, padėsiančia pritaikyti šios srities elektrinę stimuliaciją klinikoje. Vos 300 μm giliau nei švelnusis dangalas, esantis UPŠPSD, gali būti stimuliuojamas srove, sklindančia iš plokštelių elektrodų, tiesiogiai elektrodams nesiskverbiant į smegenų audinį (256), o minėti smegenų kamieno paviršiaus elektrinės stimuliacijos eksperimentai patvirtina tokią idėją (209, 210).

Klinikiniai duomenys, vertinantys galimą GSS naudą RAH gydyti, gauti iš kelių tyrimų, kurių metu GSS sistemos buvo implantuotos į CPM (15, 23–25). Žvelgiant iš fiziologinės teorinės perspektyvos, UPŠPSD yra sunkiau pasiekiamas taikynys, tačiau turi du esminius pranašumus lyginant su CPM. Pirma, UPŠPSD neturi žinomos tiesioginės neuroendokrininės, nociceptinės ar integracinės elgesio funkcijos. Jo pagrindinė funkcija yra refleksiniu būdu perduoti informaciją iš PLB į SPŠPSD (256). Antra, būdamas žemiausias ANS slopinimo centras, UPŠPSD turėtų moduluoti įvairias AH patogenetines grandines. Nepriklausomai nuo hipertenzijos priežasties, ar tai būtų nutukimo sukelta, druskai jautri hipertenzija ar hipertenzija, sukelta autonominių takų įjautrinimo, UPŠPSD stimuliacija turėtų veiksmingai sumažinti arterinį kraujospūdį (55).

IŠVADOS

1. Sukurtas laisvai judančios laboratorinės žiurkės su GSS pulsų generatoriumi ir integruota invazinio arterinio kraujo spaudimo matavimo bei belaidžio duomenų perdavimo sistema modelis, patvirtinantis pulsų generavimą ir arterinio kraujo spaudimo duomenų perdavimą *in vivo*. Pulsų generatorius su integruota invazinio AKS registravimo sistema yra stabilus ir suteikia galimybę registruoti invazinio AKS kitimus, tuo pačiu metu stimuliuojant taikinius pailgųjų smegenų srityje.
2. Modulio slėgio matavimo sistemos sensoriaus jautrumo ir nulio pokytis ilgalaikiame eksperimente *in vivo* yra nereikšmingas ir tinkamas tolesnei eksperimento plėtotei.
3. Heparinizuoto glicerolio pripildyti intraarteriniai kateteriai parodė gerokai ilgiau trunkantį AKS pulsinės bangos perdavimą, palyginti su heparinizuotos dekstrozės tirpalais.
4. Elektrodo implantavimas į UPŠPSD yra sąlygiškai saugi ir ryškių neurologinių komplikacijų nesukelianti intervencija žiurkės organizme.
5. Stimuliuojant UPŠPSD gaunamas hipotenzinis efektas ilgalaikiame laisvai judančios sąmoningos žiurkės modelyje.

TYRIMO TĘSTINUMAS

Hipotenzinio efekto įrodymas panaudojant laisvai judančios žiurkės modelį teikia galimybę patikrinti gautus rezultatus panaudojant stambesnius gyvūnus, o vėliau įtraukti ir į klinikinę praktiką, tuo suteikiant šiam tyrimui tolimas komercializacijos ir mokslo bei verslo partnerystės galimybes.

Naujų taikinių AKS korekcijai paieška. Ateityje būtų svarbu išsiaiškinti literatūros apžvalgoje paminėtų kitų, su AKS reguliavimu susijusių branduolių ilgalaikį elektrinės stimuliacijos poveikį, išmėginti abipusės stimuliacijos galimybę, tai galėtų padidinti suminį hipotenzijos efektą. Kaip taikinių hipotenzijai sukelti būtų galima išbandyti SPŠPSD stimuliaciją, tik vietoj branduolio aktyvinimo siekti branduolio slopinimo.

Aparatūrinis progresas. Stimuliatorius buvo sukurtas veikti uždaro kontūro principu, todėl natūralus tyrimo tęstinumas būtų išmėginti UPŠPSD ar kito hemodinaminio reguliacinio branduolio stimuliaciją, siekiant stimuliuoti tik iki tam tikros nustatytos AKS reikšmės. Galima natūrali šio tyrimo tąša UPŠPSD stimuliacijai pradėti naudoti paviršinius elektrodus. Tai gali leisti lengviau transliuoti šio tyrimo idėjas į klinikinę praktiką, nes elektrodams implantuoti nereikėtų jų dėti tiesiogiai į jautrias smegenų substancijas, lengviau išvengtume hemoraginių komplikacijų. Būsimų eksperimentų siekinys sumažinti turimą sistemą, kad ji būtų visiškai implantuota po odą. Gebėjimas realiu laiku analizuoti invazinio AKS duomenis panaudojant laisvai judančios žiurkės modelį ateityje leistų gauti daug papildomų svarbių mokslinių duomenų, o tai padėtų atskleisti dar ne iki galo suprantamus fiziologinius AKS ir širdies darbo nervinius reguliavimo mechanizmus. Žinoma, kad UPŠPSD – tai pailga pilkosios medžiagos kolona, ateityje pravartu svarstyti atitolusių elektrodų bipoliarinės stimuliacijos galimybę, vietoje taškinio elektrinio lauko stimuliacijos, kuri atliekama dabar. Ateities tyrimai taip pat turėtų apimti ne tik sveikas Wistar klonu žiurkes, bet ir žiurkes, linkusias į hipertenziją, pavyzdžiui, spontaniškai hipertenzija sergančius gyvūnus. Be to, taip pat turėtų būti išbandytas dvišalės CVLM stimuliacijos poveikis, nes tai gali sustiprinti slėgio pokyčio poveikį

Patologijos progresas. Kalbant apie pailgųjų smegenų stimuliaciją, galimi tokio pobūdžio eksperimentai, veikiant vegetacinę būklę, nocicepcijos ir narkolepsijos kontrolę. Kaip kardioakceleratoriaus centras UPŠPSD galėtų būti naudojamas pacientams, linkusiems į vazovagalinę sinkopę, gydyti. Be to, gali būti iširtos naujos galimybės gydyti tokias būkles kaip vegetacinė būseną po sunkaus trauminio ar kitokio smegenų audinio pažeidimo.

TYRIMO TRŪKUMAI

Pagrindinis šio tyrimo ribotumas yra histologiškai nepatvirtinta taikinio sritis. Nors elektrodo implantavimo metu naudojome fiziologinį patvirtinimą (AKS kritimą stimuliacijos metu), tačiau pooperacinis implantuotos srities histologinis vaizdas būtų buvęs naudingas įvertinant žalą, padarytą pailgosioms smegenims ilgalaikio eksperimento metu.

Antrasis tyrimo trūkumas yra eksperimentuose taikyta vienpusė pailgųjų smegenų stimuliacija. Planuodami tyrimą pagal literatūros duomenis nebuvo tikri, kad net vienpusė stimuliacija nesukels reikšmingų neurologinių defektų ar pavojaus bandomųjų gyvūnų gyvybei. Todėl buvo pasirinktas saugesnis kelias ir teoriškai mažiau šalutinių reiškinių galinti sukelti vienpusė stimuliacija, o ne abipusė stimuliacija.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Limousin P, Pollak P, Benazzouz A, Hoffmann D, Le Bas JF, Broussolle E, et al. Effect of parkinsonian signs and symptoms of bilateral subthalamic nucleus stimulation. *Lancet Lond Engl*. 1995 Jan 14;345(8942):91–5.
2. Krauss JK, Lipsman N, Aziz T, Boutet A, Brown P, Chang JW, et al. Technology of deep brain stimulation: current status and future directions. *Nat Rev Neurol*. 2021 Feb 1;17(2):75–87.
3. Peng L, Fu J, Ming Y, Zeng S, He H, Chen L. The long-term efficacy of STN vs GPi deep brain stimulation for Parkinson disease: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Aug;97(35):e12153.
4. Steigerwald F, Matthies C, Volkmann J. Directional Deep Brain Stimulation. *Neurother J Am Soc Exp Neurother*. 2019 Jan;16(1):100–4.
5. Rammo RA, Ozinga SJ, White A, Nagel SJ, Machado AG, Pallavaram S, et al. Directional Stimulation in Parkinson’s Disease and Essential Tremor: The Cleveland Clinic Experience. *Neuromodulation J Int Neuromodulation Soc*. 2022 Aug;25(6):829–35.
6. Cuschieri A, Borg N, Zammit C. Closed loop deep brain stimulation: A systematic scoping review. *Clin Neurol Neurosurg*. 2022 Dec;223:107516.
7. Lee DJ, Lozano CS, Dallapiazza RF, Lozano AM. Current and future directions of deep brain stimulation for neurological and psychiatric disorders. *J Neurosurg*. 2019 Aug 1;131(2):333–42.
8. Mallet L, Polosan M, Jaafari N, Baup N, Welter ML, Fontaine D, et al. Subthalamic nucleus stimulation in severe obsessive-compulsive disorder. *N Engl J Med*. 2008 Nov 13;359(20):2121–34.
9. Halpern CH, Wolf JA, Bale TL, Stunkard AJ, Danish SF, Grossman M, et al. Deep brain stimulation in the treatment of obesity. *J Neurosurg*. 2008 Oct;109(4):625–34.
10. Breit S, Lessmann L, Unterbrink D, Popa RC, Gasser T, Schulz JB. Lesion of the pedunclopontine nucleus reverses hyperactivity of the subthalamic nucleus and substantia nigra pars reticulata in a 6-hydroxydopamine rat model. *Eur J Neurosci*. 2006 Oct;24(8):2275–82.
11. Sani S, Jobe K, Smith A, Kordower JH, Bakay RAE. Deep brain stimulation for treatment of obesity in rats. *J Neurosurg*. 2007 Oct;107(4):809–13.
12. Harmsen IE, Elias GJB, Beyn ME, Boutet A, Pancholi A, Germann J, et al. Clinical trials for deep brain stimulation: Current state of affairs. *Brain Stimulat*. 2020;13(2):378–85.

13. Baumgartner AJ, Thompson JA, Kern DS, Ojemann SG. Novel targets in deep brain stimulation for movement disorders. *Neurosurg Rev.* 2022 Aug;45(4):2593–613.
14. Oterdoom DLM, Lok R, van Beek AP, den Dunnen WFA, Emous M, van Dijk JMC, et al. Deep Brain Stimulation in the Nucleus Accumbens for Binge Eating Disorder: a Study in Rats. *Obes Surg.* 2020 Oct;30(10):4145–8.
15. O’Callaghan EL, Hart EC, Sims-Williams H, Javed S, Burchell AE, Papouchado M, et al. Chronic Deep Brain Stimulation Decreases Blood Pressure and Sympathetic Nerve Activity in a Drug- and Device-Resistant Hypertensive Patient. *Hypertens Dallas Tex* 1979. 2017 Apr;69(4):522–8.
16. Formolo DA, Gaspar JM, Melo HM, Eichwald T, Zepeda RJ, Latini A, et al. Deep Brain Stimulation for Obesity: A Review and Future Directions. *Front Neurosci.* 2019;13:323.
17. Hsu TI, Nguyen A, Gupta N, Godbole N, Perisetla N, Hatter MJ, et al. Effectiveness of Deep Brain Stimulation in Treatment of Anorexia Nervosa and Obesity: A Systematic Review. *World Neurosurg.* 2022 Dec;168:179–89.
18. Ems R, Garg A, Ostergard TA, Miller JP. Potential Deep Brain Stimulation Targets for the Management of Refractory Hypertension. *Front Neurosci.* 2019;13:93.
19. Wu H, Hariz M, Visser-Vandewalle V, Zrinzo L, Coenen VA, Sheth SA, et al. Deep brain stimulation for refractory obsessive-compulsive disorder (OCD): emerging or established therapy? *Mol Psychiatry.* 2021 Jan;26(1):60–5.
20. Dougherty DD, Rezaei AR, Carpenter LL, Howland RH, Bhati MT, O’Reardon JP, et al. A Randomized Sham-Controlled Trial of Deep Brain Stimulation of the Ventral Capsule/Ventral Striatum for Chronic Treatment-Resistant Depression. *Biol Psychiatry.* 2015 Aug 15;78(4):240–8.
21. Holtzheimer PE, Husain MM, Lisanby SH, Taylor SF, Whitworth LA, McClintock S, et al. Subcallosal cingulate deep brain stimulation for treatment-resistant depression: a multisite, randomised, sham-controlled trial. *Lancet Psychiatry.* 2017 Nov;4(11):839–49.
22. Lozano AM, Fosdick L, Chakravarty MM, Leoutsakos JM, Munro C, Oh E, et al. A Phase II Study of Fornix Deep Brain Stimulation in Mild Alzheimer’s Disease. *J Alzheimers Dis.* 54(2):777–87.

23. Green AL, Wang S, Owen SLF, Xie K, Liu X, Paterson DJ, et al. Deep brain stimulation can regulate arterial blood pressure in awake humans. *Neuroreport*. 2005 Nov 7;16(16):1741–5.
24. Green AL, Wang S, Bittar RG, Owen SLF, Paterson DJ, Stein JF, et al. Deep brain stimulation: a new treatment for hypertension? *J Clin Neurosci Off J Neurosurg Soc Australas*. 2007 Jun;14(6):592–5.
25. Green AL, Hyam JA, Williams C, Wang S, Shlugman D, Stein JF, et al. Intra-operative deep brain stimulation of the periaqueductal grey matter modulates blood pressure and heart rate variability in humans. *Neuromodulation J Int Neuromodulation Soc*. 2010 Jul;13(3):174–81.
26. Whiting DM, Tomycz ND, Bailes J, de Jonge L, Lecoultre V, Wilent B, et al. Lateral hypothalamic area deep brain stimulation for refractory obesity: a pilot study with preliminary data on safety, body weight, and energy metabolism. *J Neurosurg*. 2013 Jul;119(1):56–63.
27. Kundu B, Brock AA, Englot DJ, Butson CR, Rolston JD. Deep brain stimulation for the treatment of disorders of consciousness and cognition in traumatic brain injury patients: a review. *Neurosurg Focus*. 2018 Aug;45(2):E14.
28. Chudy D, Deletis V, Almahariq F, Marčinković P, Škrilin J, Paradžik V. Deep brain stimulation for the early treatment of the minimally conscious state and vegetative state: experience in 14 patients. *J Neurosurg*. 2018 Apr;128(4):1189–98.
29. Pereira EAC, Wang S, Paterson DJ, Stein JF, Aziz TZ, Green AL. Sustained reduction of hypertension by deep brain stimulation. *J Clin Neurosci Off J Neurosurg Soc Australas*. 2010 Jan;17(1):124–7.
30. Mills KT, Bundy JD, Kelly TN, Reed JE, Kearney PM, Reynolds K, et al. Global Disparities of Hypertension Prevalence and Control: A Systematic Analysis of Population-Based Studies From 90 Countries. *Circulation*. 2016 Aug 9;134(6):441–50.
31. GBD 2017 Risk Factor Collaborators. Global, regional, and national comparative risk assessment of 84 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet Lond Engl*. 2018 Nov 10;392(10159):1923–94.
32. GBD 2017 Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet Lond Engl*. 2018 Nov 10;392(10159):1736–88.

33. Mills KT, Stefanescu A, He J. The global epidemiology of hypertension. *Nat Rev Nephrol.* 2020 Apr;16(4):223–37.
34. World Health Organization. Global health risks : mortality and burden of disease attributable to selected major risks. 2009 [cited 2023 Mar 4]; Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44203>
35. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in blood pressure from 1975 to 2015: a pooled analysis of 1479 population-based measurement studies with 19·1 million participants. *Lancet Lond Engl.* 2017 Jan 7;389(10064):37–55.
36. Lawes CMM, Vander Hoorn S, Rodgers A, International Society of Hypertension. Global burden of blood-pressure-related disease, 2001. *Lancet Lond Engl.* 2008 May 3;371(9623):1513–8.
37. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R, Prospective Studies Collaboration. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet Lond Engl.* 2002 Dec 14;360(9349):1903–13.
38. Cai A, Calhoun DA. Resistant Hypertension: An Update of Experimental and Clinical Findings. *Hypertens Dallas Tex 1979.* 2017 Jul;70(1):5–9.
39. Carey RM, Sakhujja S, Calhoun DA, Whelton PK, Muntner P. Prevalence of Apparent Treatment-Resistant Hypertension in the United States. *Hypertens Dallas Tex 1979.* 2019 Feb;73(2):424–31.
40. Esler M. Sympathetic nervous system moves toward center stage in cardiovascular medicine: from Thomas Willis to resistant hypertension. *Hypertens Dallas Tex 1979.* 2014 Mar;63(3):e25–32.
41. Tsioufis C, Kordalis A, Flessas D, Anastasopoulos I, Tsiachris D, Papademetriou V, et al. Pathophysiology of resistant hypertension: the role of sympathetic nervous system. *Int J Hypertens.* 2011 Jan 20;2011:642416.
42. Silva BV, Sousa C, Caldeira D, Abreu A, Pinto FJ. Management of arterial hypertension: Challenges and opportunities. *Clin Cardiol.* 2022 Nov 24;45(11):1094–9.
43. Yoruk A, Bisognano JD, Gassler JP. Baroreceptor Stimulation for Resistant Hypertension. *Am J Hypertens.* 2016 Dec 1;29(12):1319–24.
44. Denker MG, Cohen DL. Resistant Hypertension and Renal Nerve Denervation. *Methodist DeBakey Cardiovasc J.* 2015;11(4):240–4.
45. Berukstis A, Vajauskas D, Gargalskaite U, Misonis N, Burneikaite G, Zakarkaite D, et al. Impact of renal sympathetic denervation on cardiac sympathetic nerve activity evaluated by cardiac MIBG imaging.

- EuroIntervention J Eur Collab Work Group Interv Cardiol Eur Soc Cardiol. 2016 Jan 22;11(9):1070–6.
46. Palionis D, Berukstis A, Misonis N, Ryliskyte L, Celutkiene J, Zakarkaite D, et al. Could careful patient selection for renal denervation warrant a positive effect on arterial stiffness and left ventricular mass reduction? *Acta Cardiol*. 2016 Apr;71(2):173–83.
 47. Scheffers IJM, Kroon AA, de Leeuw PW. Carotid Baroreflex Activation: Past, Present, and Future. *Curr Hypertens Rep*. 2010;12(2):61–6.
 48. Mann SJ. Neurogenic hypertension: pathophysiology, diagnosis and management. *Clin Auton Res Off J Clin Auton Res Soc*. 2018 Aug;28(4):363–74.
 49. Grassi G. Sympathomodulatory Effects of Antihypertensive Drug Treatment. *Am J Hypertens*. 2016 Jun;29(6):665–75.
 50. King AJ, Novotny M, Swain GM, Fink GD. Whole body norepinephrine kinetics in ANG II-salt hypertension in the rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008 Apr;294(4):R1262-1267.
 51. Osborn JW, Fink GD. Region-specific changes in sympathetic nerve activity in angiotensin II-salt hypertension in the rat. *Exp Physiol*. 2010 Jan;95(1):61–8.
 52. Armitage JA, Burke SL, Prior LJ, Barzel B, Eikelis N, Lim K, et al. Rapid onset of renal sympathetic nerve activation in rabbits fed a high-fat diet. *Hypertens Dallas Tex 1979*. 2012 Jul;60(1):163–71.
 53. Bisognano JD, Bakris G, Nadim MK, Sanchez L, Kroon AA, Schafer J, et al. Baroreflex activation therapy lowers blood pressure in patients with resistant hypertension: results from the double-blind, randomized, placebo-controlled rheos pivotal trial. *J Am Coll Cardiol*. 2011 Aug 9;58(7):765–73.
 54. Mahfoud F, Schlaich MP, Lobo MD. Device Therapy of Hypertension. *Circ Res*. 2021 Apr 2;128(7):1080–99.
 55. DeLalio LJ, Sved AF, Stocker SD. Sympathetic Nervous System Contributions to Hypertension: Updates and Therapeutic Relevance. *Can J Cardiol*. 2020 May;36(5):712–20.
 56. Grassi G, Mark A, Esler M. The sympathetic nervous system alterations in human hypertension. *Circ Res*. 2015 Mar 13;116(6):976–90.
 57. Dampney RAL, Furlong TM, Horiuchi J, Iigaya K. Role of dorsolateral periaqueductal grey in the coordinated regulation of cardiovascular and respiratory function. *Auton Neurosci Basic Clin*. 2013 Apr;175(1–2):17–25.

58. Blessing WW, Reis DJ. Inhibitory cardiovascular function of neurons in the caudal ventrolateral medulla of the rabbit: relationship to the area containing A1 noradrenergic cells. *Brain Res.* 1982 Dec 16;253(1–2):161–71.
59. O’Callaghan EL, McBryde FD, Patel NK, Paton JFR. Examination of the periaqueductal gray as a site for controlling arterial pressure in the conscious spontaneously hypertensive rat. *Auton Neurosci Basic Clin.* 2022 Jul;240:102984.
60. Guyenet PG, Stornetta RL, Souza GM, Abbott SBG, Brooks VL. *Neuronal Networks in Hypertension: Recent Advances.* Hypertens Dallas Tex 1979. 2020 Aug;76(2):300–11.
61. Sved AF, Blessing WW, Reis DJ. Caudal ventrolateral medulla can alter vasopressin and arterial pressure. *Brain Res Bull.* 1985 Mar;14(3):227–32.
62. Mayorov DN, Head GA. Influence of rostral ventrolateral medulla on renal sympathetic baroreflex in conscious rabbits. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2001 Feb;280(2):R577–587.
63. Goyal K, Philip FA, Rath GP, Mahajan C, Sujatha M, Bharti SJ, et al. Asystole during posterior fossa surgery: Report of two cases. *Asian J Neurosurg.* 2012 Apr;7(2):87–9.
64. Keleş A, Harput MV, Türe U. Pontine cavernous malformation: microsurgery evading the floor of the fourth ventricle. *Neurosurg Focus Video.* 2019 Jul 1;1(1):V15.
65. Chen CY, Kuo TBJ, Hsieh IT, Yang CCH. Electrical stimulation of the rostral ventrolateral medulla promotes wakefulness in rats. *Sleep Med.* 2013 Nov;14(11):1076–84.
66. Knorr S, Musacchio T, Paulat R, Matthies C, Endres H, Wenger N, et al. Experimental deep brain stimulation in rodent models of movement disorders. *Exp Neurol.* 2022 Feb;348:113926.
67. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, et al. 2018 Practice Guidelines for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension. *Blood Press.* 2018 Dec;27(6):314–40.
68. Kućmierz J, Frąk W, Młynarska E, Franczyk B, Rysz J. Molecular Interactions of Arterial Hypertension in Its Target Organs. *Int J Mol Sci.* 2021 Sep 7;22(18):9669.
69. Saxena T, Ali AO, Saxena M. Pathophysiology of essential hypertension: an update. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2018 Dec;16(12):879–87.

70. Oparil S, Acelajado MC, Bakris GL, Berlowitz DR, Cífková R, Dominiczak AF, et al. Hypertension. *Nat Rev Dis Primer*. 2018 Mar 22;4:18014.
71. Rimoldi SF, Scherrer U, Messerli FH. Secondary arterial hypertension: when, who, and how to screen? *Eur Heart J*. 2014 May 14;35(19):1245–54.
72. Dudenbostel T, Siddiqui M, Gharpure N, Calhoun DA. Refractory versus resistant hypertension: Novel distinctive phenotypes. *J Nat Sci*. 2017 Sep;3(9):e430.
73. Noh J, Kim HC, Shin A, Yeom H, Jang SY, Lee JH, et al. Prevalence of Comorbidity among People with Hypertension: The Korea National Health and Nutrition Examination Survey 2007-2013. *Korean Circ J*. 2016 Sep;46(5):672–80.
74. Kennard L, O’Shaughnessy KM. Treating hypertension in patients with medical comorbidities. *BMJ*. 2016 Feb 16;352:i101.
75. Kuller LH, Sutton-Tyrrell K, Matthews KA. Blood pressure levels and measurement of subclinical vascular disease. *J Hypertens Suppl Off J Int Soc Hypertens*. 1999 Dec;17(5):S15-19.
76. Hunter PG, Chapman FA, Dhaun N. Hypertension: Current trends and future perspectives. *Br J Clin Pharmacol*. 2021 Oct;87(10):3721–36.
77. Zhou MS, Wang A, Yu H. Link between insulin resistance and hypertension: What is the evidence from evolutionary biology? *Diabetol Metab Syndr*. 2014 Jan 31;6(1):12.
78. Ramzy’ Ihab. Definition of hypertension and pressure goals during treatment (ESC-ESH Guidelines 2018) [Internet]. Vol. 17. [cited 2023 Mar 20]. Available from: <https://www.escardio.org/Journals/E-Journal-of-Cardiology-Practice/Volume-17/definition-of-hypertension-and-pressure-goals-during-treatment-esc-esh-guidelin>, <https://www.escardio.org/Journals/E-Journal-of-Cardiology-Practice/Volume-17/definition-of-hypertension-and-pressure-goals-during-treatment-esc-esh-guidelin>
79. Calhoun DA, Booth JN, Oparil S, Irvin MR, Shimbo D, Lackland DT, et al. Refractory hypertension: determination of prevalence, risk factors, and comorbidities in a large, population-based cohort. *Hypertens Dallas Tex 1979*. 2014 Mar;63(3):451–8.
80. Dudenbostel T, Acelajado MC, Pisoni R, Li P, Oparil S, Calhoun DA. Refractory Hypertension: Evidence of Heightened Sympathetic Activity as a Cause of Antihypertensive Treatment Failure. *Hypertens Dallas Tex 1979*. 2015 Jul;66(1):126–33.

81. Persell SD. Prevalence of resistant hypertension in the United States, 2003-2008. *Hypertens Dallas Tex* 1979. 2011 Jun;57(6):1076–80.
82. Lamirault G, Artifoni M, Daniel M, Barber-Chamoux N, Nantes University Hospital Working Group On Hypertension null. Resistant Hypertension: Novel Insights. *Curr Hypertens Rev.* 2020;16(1):61–72.
83. Achelrod D, Wenzel U, Frey S. Systematic review and meta-analysis of the prevalence of resistant hypertension in treated hypertensive populations. *Am J Hypertens.* 2015 Mar;28(3):355–61.
84. Ambrosius WT, Sink KM, Foy CG, Berlowitz DR, Cheung AK, Cushman WC, et al. The design and rationale of a multicenter clinical trial comparing two strategies for control of systolic blood pressure: the Systolic Blood Pressure Intervention Trial (SPRINT). *Clin Trials Lond Engl.* 2014 Oct;11(5):532–46.
85. SPRINT Research Group, Wright JT, Williamson JD, Whelton PK, Snyder JK, Sink KM, et al. A Randomized Trial of Intensive versus Standard Blood-Pressure Control. *N Engl J Med.* 2015 Nov 26;373(22):2103–16.
86. Hill LK, Sollers JJ, Thayer JF. RESISTANCE RECONSTRUCTED: ESTIMATION OF TOTAL PERIPHERAL RESISTANCE FROM COMPUTATIONALLY-DERIVED CARDIAC OUTPUT. *Biomed Sci Instrum.* 2013;49:216–23.
87. Sirs JA. The flow of human blood through capillary tubes. *J Physiol.* 1991 Oct;442:569–83.
88. Cinar Y, Senyol AM, Duman K. Blood viscosity and blood pressure: role of temperature and hyperglycemia. *Am J Hypertens.* 2001 May;14(5 Pt 1):433–8.
89. Seller H. Carl Ludwig and the localization of the medullary vasomotor center: old and new concepts of the generation of sympathetic tone. *Pflugers Arch.* 1996;432(3 Suppl):R94-98.
90. Reutersberg B, Pelisek J, Ouda A, de Rougemont O, Rössler F, Zimmermann A. Baroreceptors in the Aortic Arch and Their Potential Role in Aortic Dissection and Aneurysms. *J Clin Med.* 2022 Feb 22;11(5):1161.
91. Cutsforth-Gregory JK, Benarroch EE. Nucleus of the solitary tract, medullary reflexes, and clinical implications. *Neurology.* 2017 Mar 21;88(12):1187–96.
92. Dampney RAL, Polson JW, Potts PD, Hirooka Y, Horiuchi J. Functional organization of brain pathways subserving the baroreceptor reflex: studies in conscious animals using immediate early gene expression. *Cell Mol Neurobiol.* 2003 Oct;23(4–5):597–616.

93. Schreihof AM, Guyenet PG. The baroreflex and beyond: control of sympathetic vasomotor tone by GABAergic neurons in the ventrolateral medulla. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2002;29(5–6):514–21.
94. Guyenet PG. The sympathetic control of blood pressure. *Nat Rev Neurosci.* 2006 May;7(5):335–46.
95. Guertzenstein PG, Silver A. Fall in blood pressure produced from discrete regions of the ventral surface of the medulla by glycine and lesions. *J Physiol.* 1974 Oct;242(2):489–503.
96. Gourine AV, Machhada A, Trapp S, Spyer KM. Cardiac vagal preganglionic neurones: An update. *Auton Neurosci Basic Clin.* 2016 Aug;199:24–8.
97. Kurtz A. Control of Renin Synthesis and Secretion. *Am J Hypertens.* 2012 Aug 1;25(8):839–47.
98. Patel S, Rauf A, Khan H, Abu-Izneid T. Renin-angiotensin-aldosterone (RAAS): The ubiquitous system for homeostasis and pathologies. *Biomed Pharmacother Biomedecine Pharmacother.* 2017 Oct;94:317–25.
99. Navar LG. Physiology: hemodynamics, endothelial function, renin–angiotensin–aldosterone system, sympathetic nervous system. *J Am Soc Hypertens.* 2014 Jul 1;8(7):519–24.
100. DiBona GF, Kopp UC. Neural control of renal function. *Physiol Rev.* 1997 Jan;77(1):75–197.
101. Verdecchia P, Angeli F, Mazzotta G, Gentile G, Reboldi G. The renin angiotensin system in the development of cardiovascular disease: role of aliskiren in risk reduction. *Vasc Health Risk Manag.* 2008 Oct;4(5):971–81.
102. Bernstein KE, Gonzalez-Villalobos RA, Giani JF, Shah K, Bernstein E, Janjulia T, et al. Angiotensin-converting enzyme overexpression in myelocytes enhances the immune response. *Biol Chem.* 2014 Oct;395(10):1173–8.
103. Feener EP, Northrup JM, Aiello LP, King GL. Angiotensin II induces plasminogen activator inhibitor-1 and -2 expression in vascular endothelial and smooth muscle cells. *J Clin Invest.* 1995 Mar 1;95(3):1353–62.
104. Sahay M, Sahay R. Hyponatremia: A practical approach. *Indian J Endocrinol Metab.* 2014 Dec;18(6):760.
105. Sands JM, Layton HE. The Physiology of Urinary Concentration: An Update. *Semin Nephrol.* 2009 May 1;29(3):178–95.
106. Lim CT, Khoo B. Normal Physiology of ACTH and GH Release in the Hypothalamus and Anterior Pituitary in Man. In: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, Boyce A, Chrousos G, Corpas E, et al., editors.

- Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000 [cited 2023 Mar 22]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279116/>
107. Yvan-Charvet L, Quignard-Boulangé A. Role of adipose tissue renin–angiotensin system in metabolic and inflammatory diseases associated with obesity. *Kidney Int.* 2011 Jan 2;79(2):162–8.
 108. Yatabe J, Yoneda M, Yatabe MS, Watanabe T, Felder RA, Jose PA, et al. Angiotensin III Stimulates Aldosterone Secretion from Adrenal Gland Partially via Angiotensin II Type 2 Receptor But Not Angiotensin II Type 1 Receptor. *Endocrinology.* 2011 Apr 1;152(4):1582–8.
 109. Chioloro A, Maillard M, Nussberger J, Brunner HR, Burnier M. Proximal sodium reabsorption: An independent determinant of blood pressure response to salt. *Hypertens Dallas Tex* 1979. 2000 Oct;36(4):631–7.
 110. Sata Y, Head GA, Denton K, May CN, Schlaich MP. Role of the Sympathetic Nervous System and Its Modulation in Renal Hypertension. *Front Med.* 2018;5:82.
 111. Grimson KS. TOTAL THORACIC AND PARTIAL TO TOTAL LUMBAR SYMPATHECTOMY AND CELIAC GANGLIONECTOMY IN THE TREATMENT OF HYPERTENSION. *Ann Surg.* 1941 Oct;114(4):753–75.
 112. Kopp UC. Neural Control of Renal Function [Internet]. San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences; 2011 [cited 2023 Mar 21]. (Integrated Systems Physiology: from Molecule to Function to Disease). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK57113/>
 113. Kumagai H, Oshima N, Matsuura T, Iigaya K, Imai M, Onimaru H, et al. Importance of rostral ventrolateral medulla neurons in determining efferent sympathetic nerve activity and blood pressure. *Hypertens Res Off J Jpn Soc Hypertens.* 2012 Feb;35(2):132–41.
 114. Badoer E. Role of the hypothalamic PVN in the regulation of renal sympathetic nerve activity and blood flow during hyperthermia and in heart failure. *Am J Physiol - Ren Physiol.* 2010 Apr;298(4):F839–46.
 115. McAllen RM, May CN, Shafton AD. Functional anatomy of sympathetic premotor cell groups in the medulla. *Clin Exp Hypertens N Y N* 1993. 1995;17(1–2):209–21.
 116. AlMarabeh S, Abdulla MH, O’Halloran KD. Is Aberrant Reno-Renal Reflex Control of Blood Pressure a Contributor to Chronic Intermittent Hypoxia-Induced Hypertension? *Front Physiol* [Internet]. 2019 [cited 2023 Mar 27];10. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2019.00465>

117. Ye S, Ozgur B, Campese VM. Renal afferent impulses, the posterior hypothalamus, and hypertension in rats with chronic renal failure. *Kidney Int.* 1997 Mar;51(3):722–7.
118. Campese VM, Kogosov E. Renal afferent denervation prevents hypertension in rats with chronic renal failure. *Hypertens Dallas Tex* 1979. 1995 Apr;25(4 Pt 2):878–82.
119. Hall JE, Granger JP, do Carmo JM, da Silva AA, Dubinion J, George E, et al. Hypertension: physiology and pathophysiology. *Compr Physiol.* 2012 Oct;2(4):2393–442.
120. Padmanabhan S, Aman A, Dominiczak AF. Genomics of hypertension. *Pharmacol Res.* 2017 Jul;121:219–29.
121. Oliveira-Paula GH, Pereira SC, Tanus-Santos JE, Lacchini R. Pharmacogenomics And Hypertension: Current Insights. *Pharmacogenomics Pers Med.* 2019 Nov 22;12:341–59.
122. Princewel F, Cumber SN, Kimbi JA, Nkfusai CN, Keka EI, Viyoff VZ, et al. Prevalence and risk factors associated with hypertension among adults in a rural setting: the case of Ombe, Cameroon. *Pan Afr Med J.* 2019 Nov 14;34:147.
123. Mensah GA. Hypertension and Target Organ Damage: Don't Believe Everything You Think! *Ethn Dis.* 26(3):275–8.
124. Konukoglu D, Uzun H. Endothelial Dysfunction and Hypertension. *Adv Exp Med Biol.* 2017;956:511–40.
125. Münzel T, Sinning C, Post F, Warnholtz A, Schulz E. Pathophysiology, diagnosis and prognostic implications of endothelial dysfunction. *Ann Med.* 2008;40(3):180–96.
126. Kuwabara M, Hisatome I, Niwa K, Hara S, Roncal-Jimenez CA, Bjornstad P, et al. Uric Acid Is a Strong Risk Marker for Developing Hypertension From Prehypertension: A 5-Year Japanese Cohort Study. *Hypertens Dallas Tex* 1979. 2018 Jan;71(1):78–86.
127. Oscullo G, Sapiña-Beltrán E, Torres G, Zaldivar E, Barbé F, Martinez-Garcia MA. The Potential Role of Obstructive Sleep Apnoea in Refractory Hypertension. *Curr Hypertens Rep.* 2019 Jun 10;21(8):57.
128. Warren HR, Evangelou E, Cabrera CP, Gao H, Ren M, Mifsud B, et al. Genome-wide association analysis identifies novel blood pressure loci and offers biological insights into cardiovascular risk. *Nat Genet.* 2017 Mar;49(3):403–15.
129. King AJ, Osborn JW, Fink GD. Splanchnic circulation is a critical neural target in angiotensin II salt hypertension in rats. *Hypertens Dallas Tex* 1979. 2007 Sep;50(3):547–56.

130. Jacob F, Clark LA, Guzman PA, Osborn JW. Role of renal nerves in development of hypertension in DOCA-salt model in rats: a telemetric approach. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005 Oct;289(4):H1519-1529.
131. Nakata T, Takeda K, Itho H, Hirata M, Kawasaki S, Hayashi J, et al. Paraventricular nucleus lesions attenuate the development of hypertension in DOCA/salt-treated rats. *Am J Hypertens*. 1989 Aug;2(8):625–30.
132. Ito S, Hiratsuka M, Komatsu K, Tsukamoto K, Kanmatsuse K, Sved AF. Ventrolateral medulla AT1 receptors support arterial pressure in Dahl salt-sensitive rats. *Hypertens Dallas Tex* 1979. 2003 Mar;41(3 Pt 2):744–50.
133. Goto A, Ganguli M, Tobian L, Johnson MA, Iwai J. Effect of an anteroventral third ventricle lesion on NaCl hypertension in Dahl salt-sensitive rats. *Am J Physiol*. 1982 Oct;243(4):H614-618.
134. Sanders BJ, Johnson AK. Lesions of the anteroventral third ventricle prevent salt-induced hypertension in the borderline hypertensive rat. *Hypertens Dallas Tex* 1979. 1989 Dec;14(6):619–22.
135. Carmichael CY, Wainford RD. Hypothalamic Signaling Mechanisms in Hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2015;17(5):39.
136. Stocker SD, Monahan KD, Browning KN. Neurogenic and sympathoexcitatory actions of NaCl in hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2013 Dec;15(6):538–46.
137. He FJ, Markandu ND, Sagnella GA, de Wardener HE, MacGregor GA. Plasma sodium: ignored and underestimated. *Hypertens Dallas Tex* 1979. 2005 Jan;45(1):98–102.
138. O'Donoghuy TL, Qi Y, Brooks VL. Central action of increased osmolality to support blood pressure in deoxycorticosterone acetate-salt rats. *Hypertens Dallas Tex* 1979. 2006 Oct;48(4):658–63.
139. Suckling RJ, He FJ, Markandu ND, MacGregor GA. Dietary salt influences postprandial plasma sodium concentration and systolic blood pressure. *Kidney Int*. 2012 Feb;81(4):407–11.
140. Komiya I, Yamada T, Takasu N, Asawa T, Akamine H, Yagi N, et al. An abnormal sodium metabolism in Japanese patients with essential hypertension, judged by serum sodium distribution, renal function and the renin-aldosterone system. *J Hypertens*. 1997 Jan;15(1):65–72.
141. Kinsman BJ, Simmonds SS, Browning KN, Stocker SD. Organum Vasculosum of the Lamina Terminalis Detects NaCl to Elevate Sympathetic Nerve Activity and Blood Pressure. *Hypertens Dallas Tex* 1979. 2017 Jan;69(1):163–70.

142. Stocker SD, Lang SM, Simmonds SS, Wenner MM, Farquhar WB. Cerebrospinal Fluid Hypernatremia Elevates Sympathetic Nerve Activity and Blood Pressure via the Rostral Ventrolateral Medulla. *Hypertens Dallas Tex* 1979. 2015 Dec;66(6):1184–90.
143. Frithiof R, Xing T, McKinley MJ, May CN, Ramchandra R. Intracarotid hypertonic sodium chloride differentially modulates sympathetic nerve activity to the heart and kidney. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2014 Apr 15;306(8):R567-575.
144. Farquhar WB, Wenner MM, Delaney EP, Prettyman AV, Stillabower ME. Sympathetic neural responses to increased osmolality in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006 Nov;291(5):H2181-2186.
145. Kinsman BJ, Nation HN, Stocker SD. Hypothalamic Signaling in Body Fluid Homeostasis and Hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2017 Jun;19(6):50.
146. Collister JP, Nahey DB, Hartson R, Wiedmeyer CE, Banek CT, Osborn JW. Lesion of the OVLT markedly attenuates chronic DOCA-salt hypertension in rats. *Am J Physiol - Regul Integr Comp Physiol*. 2018 Sep 1;315(3):R568–75.
147. Collister JP, Olson MK, Nahey DB, Vieira AA, Osborn JW. OVLT lesion decreases basal arterial pressure and the chronic hypertensive response to AngII in rats on a high-salt diet. *Physiol Rep*. 2013 Oct;1(5):e00128.
148. Chen QH, Toney GM. AT(1)-receptor blockade in the hypothalamic PVN reduces central hyperosmolality-induced renal sympathoexcitation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2001 Dec;281(6):R1844-1853.
149. Ito S, Komatsu K, Tsukamoto K, Sved AF. Tonic excitatory input to the rostral ventrolateral medulla in Dahl salt-sensitive rats. *Hypertens Dallas Tex* 1979. 2001 Feb;37(2):687–91.
150. Simmonds SS, Lay J, Stocker SD. Dietary salt intake exaggerates sympathetic reflexes and increases blood pressure variability in normotensive rats. *Hypertens Dallas Tex* 1979. 2014 Sep;64(3):583–9.
151. Yamauchi K, Tsuchimochi H, Stone AJ, Stocker SD, Kaufman MP. Increased dietary salt intake enhances the exercise pressor reflex. *Am J Physiol - Heart Circ Physiol*. 2014 Feb 1;306(3):H450–4.
152. Muntzel MS, Crespo R, Joseph T, Onwumere O. Dietary salt loading exacerbates the increase in sympathetic nerve activity caused by intravenous insulin infusion in rats. *Metabolism*. 2007 Mar;56(3):373–9.

153. Tatasciore A, Renda G, Zimarino M, Soccio M, Bilo G, Parati G, et al. Awake systolic blood pressure variability correlates with target-organ damage in hypertensive subjects. *Hypertens Dallas Tex* 1979. 2007 Aug;50(2):325–32.
154. Lim K, Jackson KL, Sata Y, Head GA. Factors Responsible for Obesity-Related Hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2017 Jul;19(7):53.
155. do Carmo JM, da Silva AA, Wang Z, Fang T, Aberdein N, de Lara Rodriguez CEP, et al. Obesity-Induced Hypertension: Brain Signaling Pathways. *Curr Hypertens Rep*. 2016 Jul;18(7):58.
156. Luckett BS, Frielle JL, Wolfgang L, Stocker SD. Arcuate nucleus injection of an anti-insulin affibody prevents the sympathetic response to insulin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2013 Jun 1;304(11):H1538-1546.
157. Harlan SM, Morgan DA, Agassandian K, Guo DF, Cassell MD, Sigmund CD, et al. Ablation of the leptin receptor in the hypothalamic arcuate nucleus abrogates leptin-induced sympathetic activation. *Circ Res*. 2011 Apr 1;108(7):808–12.
158. Lim K, Burke SL, Head GA. Obesity-related hypertension and the role of insulin and leptin in high-fat-fed rabbits. *Hypertens Dallas Tex* 1979. 2013 Mar;61(3):628–34.
159. Alvarez GE, Beske SD, Ballard TP, Davy KP. Sympathetic neural activation in visceral obesity. *Circulation*. 2002 Nov 12;106(20):2533–6.
160. Muntzel MS, Al-Naimi OAS, Barclay A, Ajasin D. Cafeteria diet increases fat mass and chronically elevates lumbar sympathetic nerve activity in rats. *Hypertens Dallas Tex* 1979. 2012 Dec;60(6):1498–502.
161. Wofford MR, Anderson DC, Brown CA, Jones DW, Miller ME, Hall JE. Antihypertensive effect of alpha- and beta-adrenergic blockade in obese and lean hypertensive subjects. *Am J Hypertens*. 2001 Jul;14(7 Pt 1):694–8.
162. Shibao C, Gamboa A, Diedrich A, Ertl AC, Chen KY, Byrne DW, et al. Autonomic contribution to blood pressure and metabolism in obesity. *Hypertens Dallas Tex* 1979. 2007 Jan;49(1):27–33.
163. Kassab S, Kato T, Wilkins FC, Chen R, Hall JE, Granger JP. Renal denervation attenuates the sodium retention and hypertension associated with obesity. *Hypertens Dallas Tex* 1979. 1995 Apr;25(4 Pt 2):893–7.
164. Ettehad D, Emdin CA, Kiran A, Anderson SG, Callender T, Emberson J, et al. Blood pressure lowering for prevention of cardiovascular disease and death: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Lond Engl*. 2016 Mar 5;387(10022):957–67.

165. Acelajado MC, Hughes ZH, Oparil S, Calhoun DA. Treatment of Resistant and Refractory Hypertension. *Circ Res*. 2019 Mar 29;124(7):1061–70.
166. Schlaich MP, Sobotka PA, Krum H, Whitbourn R, Walton A, Esler MD. Renal denervation as a therapeutic approach for hypertension: novel implications for an old concept. *Hypertens Dallas Tex* 1979. 2009 Dec;54(6):1195–201.
167. Krum H, Schlaich M, Whitbourn R, Sobotka PA, Sadowski J, Bartus K, et al. Catheter-based renal sympathetic denervation for resistant hypertension: a multicentre safety and proof-of-principle cohort study. *Lancet Lond Engl*. 2009 Apr 11;373(9671):1275–81.
168. Symplicity HTN-2 Investigators, Esler MD, Krum H, Sobotka PA, Schlaich MP, Schmieder RE, et al. Renal sympathetic denervation in patients with treatment-resistant hypertension (The Symplicity HTN-2 Trial): a randomised controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 2010 Dec 4;376(9756):1903–9.
169. Bhatt DL, Kandzari DE, O’Neill WW, D’Agostino R, Flack JM, Katzen BT, et al. A Controlled Trial of Renal Denervation for Resistant Hypertension. *N Engl J Med*. 2014 Apr 10;370(15):1393–401.
170. Mortensen K, Franzen K, Himmel F, Bode F, Schunkert H, Weil J, et al. Catheter-based renal sympathetic denervation improves central hemodynamics and arterial stiffness: a pilot study. *J Clin Hypertens Greenwich Conn*. 2012 Dec;14(12):861–70.
171. Townsend RR, Mahfoud F, Kandzari DE, Kario K, Pocock S, Weber MA, et al. Catheter-based renal denervation in patients with uncontrolled hypertension in the absence of antihypertensive medications (SPYRAL HTN-OFF MED): a randomised, sham-controlled, proof-of-concept trial. *Lancet Lond Engl*. 2017 Nov 11;390(10108):2160–70.
172. Bakris GL, Nadim MK, Haller H, Lovett EG, Schafer JE, Bisognano JD. Baroreflex activation therapy provides durable benefit in patients with resistant hypertension: results of long-term follow-up in the Rheos Pivotal Trial. *J Am Soc Hypertens JASH*. 2012;6(2):152–8.
173. Mayyas F, Sturey T, Van Wagoner DR. Baroreflex stimulation vs. renal denervation for treatment of hypertension: what constitutes a logical comparison of these interventions on atrial electrophysiology? *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2013 Sep;24(9):1034–6.
174. Benabid AL, Pollak P, Gervason C, Hoffmann D, Gao DM, Hommel M, et al. Long-term suppression of tremor by chronic stimulation of the

- ventral intermediate thalamic nucleus. *Lancet Lond Engl.* 1991 Feb 16;337(8738):403–6.
175. Siegfried J, Lippitz B. Bilateral chronic electrostimulation of ventroposterolateral pallidum: a new therapeutic approach for alleviating all parkinsonian symptoms. *Neurosurgery.* 1994 Dec;35(6):1126–9; discussion 1129-1130.
 176. Krauss JK, Pohle T, Weber S, Ozdoba C, Burgunder JM. Bilateral stimulation of globus pallidus internus for treatment of cervical dystonia. *Lancet Lond Engl.* 1999 Sep 4;354(9181):837–8.
 177. Lozano AM, Lipsman N. Probing and regulating dysfunctional circuits using deep brain stimulation. *Neuron.* 2013 Feb 6;77(3):406–24.
 178. Limousin P, Foltynie T. Long-term outcomes of deep brain stimulation in Parkinson disease. *Nat Rev Neurol.* 2019 Apr;15(4):234–42.
 179. Moro E, LeReun C, Krauss JK, Albanese A, Lin JP, Wallester Autiero S, et al. Efficacy of pallidal stimulation in isolated dystonia: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Neurol.* 2017 Apr;24(4):552–60.
 180. Fasano A, Aquino CC, Krauss JK, Honey CR, Bloem BR. Axial disability and deep brain stimulation in patients with Parkinson disease. *Nat Rev Neurol.* 2015 Feb;11(2):98–110.
 181. Pereira EAC, Aziz TZ. Neuropathic pain and deep brain stimulation. *Neurother J Am Soc Exp Neurother.* 2014 Jul;11(3):496–507.
 182. Fontaine D, Vandersteen C, Magis D, Lanteri-Minet M. Neuromodulation in cluster headache. *Adv Tech Stand Neurosurg.* 2015;42:3–21.
 183. Chiken S, Nambu A. Mechanism of Deep Brain Stimulation. *The Neuroscientist.* 2016 Jun;22(3):313–22.
 184. Benazzouz A, Hallett M. Mechanism of action of deep brain stimulation. *Neurology.* 2000;55(12 Suppl 6):S13-16.
 185. Moran A, Stein E, Tischler H, Belevsky K, Bar-Gad I. Dynamic stereotypic responses of Basal Ganglia neurons to subthalamic nucleus high-frequency stimulation in the parkinsonian primate. *Front Syst Neurosci.* 2011;5:21.
 186. Montgomery EB, Baker KB. Mechanisms of deep brain stimulation and future technical developments. *Neurol Res.* 2000 Apr;22(3):259–66.
 187. McKinnon C, Gros P, Lee DJ, Hamani C, Lozano AM, Kalia LV, et al. Deep brain stimulation: potential for neuroprotection. *Ann Clin Transl Neurol.* 2019 Jan;6(1):174–85.
 188. Lacuey N, Hampson JP, Theeranaew W, Zonjy B, Vithala A, Hupp NJ, et al. Cortical Structures Associated With Human Blood Pressure Control. *JAMA Neurol.* 2018 Feb;75(2):194–202.

189. Hyam JA, Kringelbach ML, Silburn PA, Aziz TZ, Green AL. The autonomic effects of deep brain stimulation—a therapeutic opportunity. *Nat Rev Neurol*. 2012 Jul;8(7):391–400.
190. Patel NK, Javed S, Khan S, Papouchado M, Malizia AL, Pickering AE, et al. Deep brain stimulation relieves refractory hypertension. *Neurology*. 2011 Jan 25;76(4):405–7.
191. Ritter S, Dinh TT, Li AJ. Hindbrain catecholamine neurons control multiple glucoregulatory responses. *Physiol Behav*. 2006 Nov 30;89(4):490–500.
192. Blessing WW. Depressor neurons in rabbit caudal medulla act via GABA receptors in rostral medulla. *Am J Physiol*. 1988 Apr;254(4 Pt 2):H686-692.
193. Ruggeri P, Ermirio R, Molinari C, Calaresu FR. Role of ventrolateral medulla in reflex cardiovascular responses to activation of skin and muscle nerves. *Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol*. 1995 Jun;268(6):R1464–71.
194. Agarwal SK, Gelsema AJ, Calaresu FR. Neurons in rostral VLM are inhibited by chemical stimulation of caudal VLM in rats. *Am J Physiol*. 1989 Aug;257(2 Pt 2):R265-270.
195. Dempsey CW, Richardson DE, Fontana CJ. Cardiovascular sympathoinhibitory neurons form an extended longitudinal column in cat lateral medulla. *Brain Res*. 1993 Feb 19;603(2):328–32.
196. Schreihofer AM, Ito S, Sved AF. Brain stem control of arterial pressure in chronic arterial baroreceptor-denervated rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2005 Dec;289(6):R1746-1755.
197. Yang Z, Coote JH. The influence of the paraventricular nucleus on baroreceptor dependent caudal ventrolateral medullary neurones of the rat. *Pflugers Arch*. 1999 Jun;438(1):47–52.
198. Smith DW, Sibbald JR, Khanna S, Day TA. Rat vasopressin cell responses to simulated hemorrhage: stimulus-dependent role for A1 noradrenergic neurons. *Am J Physiol*. 1995 May;268(5 Pt 2):R1336-1342.
199. Et C, Pe S. Reflex control of magnocellular vasopressin and oxytocin secretion. *Trends Neurosci* [Internet]. 1991 Sep [cited 2023 Mar 26];14(9). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1720582/>
200. Kawano H, Masuko S. Synaptic inputs of neuropeptide Y-immunoreactive noradrenergic nerve terminals to neurons in the nucleus preopticus medianus which project to the paraventricular nucleus of the hypothalamus of the rat: a combined immunohistochemical and retrograde tracing method. *Brain Res*. 1993 Jan 8;600(1):74–80.

201. McKinley MJ, Mathai ML, McAllen RM, McClear RC, Miselis RR, Pennington GL, et al. Vasopressin secretion: osmotic and hormonal regulation by the lamina terminalis. *J Neuroendocrinol.* 2004 Apr;16(4):340–7.
202. Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates.* Elsevier; 2007. 456 p.
203. Stornetta RL, Sevigny CP, Schreihofer AM, Rosin DL, Guyenet PG. Vesicular glutamate transporter DNPI/VGLUT2 is expressed by both C1 adrenergic and nonaminergic presympathetic vasomotor neurons of the rat medulla. *J Comp Neurol.* 2002 Mar 12;444(3):207–20.
204. Menezes RCA, Fontes M a. P. Cardiovascular effects produced by activation of GABA receptors in the rostral ventrolateral medulla of conscious rats. *Neuroscience.* 2007 Jan 5;144(1):336–43.
205. Ross CA, Ruggiero DA, Park DH, Joh TH, Sved AF, Fernandez-Pardal J, et al. Tonic vasomotor control by the rostral ventrolateral medulla: effect of electrical or chemical stimulation of the area containing C1 adrenaline neurons on arterial pressure, heart rate, and plasma catecholamines and vasopressin. *J Neurosci Off J Soc Neurosci.* 1984 Feb;4(2):474–94.
206. Madden CJ, Sved AF. Cardiovascular regulation after destruction of the C1 cell group of the rostral ventrolateral medulla in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003 Dec;285(6):H2734-2748.
207. Verberne AJM, Stornetta RL, Guyenet PG. Properties of C1 and other ventrolateral medullary neurones with hypothalamic projections in the rat. *J Physiol.* 1999 Jun 1;517(Pt 2):477–94.
208. Nakamura K, Matsumura K, Hübschle T, Nakamura Y, Hioki H, Fujiyama F, et al. Identification of sympathetic premotor neurons in medullary raphe regions mediating fever and other thermoregulatory functions. *J Neurosci Off J Soc Neurosci.* 2004 Jun 9;24(23):5370–80.
209. Patel S, Krishna V, Nicholas J, Welzig CM, Vera C. Preliminary observations on the vasomotor responses to electrical stimulation of the ventrolateral surface of the human medulla. *J Neurosurg.* 2012 Jul;117(1):150–5.
210. Hamasaki T, Yamakawa T, Fujiwara K, Harashima H, Nakamura K, Ikuta Y, et al. Sympathetic hyperactivity, hypertension, and tachycardia induced by stimulation of the ponto-medullary junction in humans. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol.* 2021 Jun;132(6):1264–73.

211. Keay KA, Bandler R. Parallel circuits mediating distinct emotional coping reactions to different types of stress. *Neurosci Biobehav Rev.* 2001 Dec;25(7–8):669–78.
212. Carter HH, Dawson EA, Cable NT, Basnayake S, Aziz T, Green AL, et al. Deep Brain Stimulation of the Periaqueductal Grey (PAG) Induces Vasodilation in Humans. *Hypertension.* 2011 May;57(5):e24–5.
213. O’Callaghan EL, McBryde FD, Burchell AE, Ratcliffe LEK, Nicolae L, Gillbe I, et al. Deep brain stimulation for the treatment of resistant hypertension. *Curr Hypertens Rep.* 2014 Nov;16(11):493.
214. Ferguson AV, Latchford KJ, Samson WK. The Paraventricular Nucleus of the Hypothalamus A Potential Target for Integrative Treatment of Autonomic Dysfunction. *Expert Opin Ther Targets.* 2008 Jun;12(6):717–27.
215. Allen AM. Inhibition of the hypothalamic paraventricular nucleus in spontaneously hypertensive rats dramatically reduces sympathetic vasomotor tone. *Hypertens Dallas Tex 1979.* 2002 Feb;39(2):275–80.
216. Dampney RA, Michelini LC, Li DP, Pan HL. Regulation of sympathetic vasomotor activity by the hypothalamic paraventricular nucleus in normotensive and hypertensive states. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2018 Nov 1;315(5):H1200–14.
217. Savić B, Murphy D, Japundžić-Žigon N. The Paraventricular Nucleus of the Hypothalamus in Control of Blood Pressure and Blood Pressure Variability. *Front Physiol [Internet].* 2022 [cited 2023 Mar 26];13. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2022.858941>
218. Weaver FM, Follett KA, Stern M, Luo P, Harris CL, Hur K, et al. Randomized trial of deep brain stimulation for Parkinson disease: thirty-six-month outcomes. *Neurology.* 2012 Jul 3;79(1):55–65.
219. Oppenheimer SM, Gelb A, Girvin JP, Hachinski VC. Cardiovascular effects of human insular cortex stimulation. *Neurology.* 1992 Sep;42(9):1727–32.
220. Oppenheimer SM, Kedem G, Martin WM. Left-insular cortex lesions perturb cardiac autonomic tone in humans. *Clin Auton Res Off J Clin Auton Res Soc.* 1996 Jun;6(3):131–40.
221. Dimov LF, Toniolo EF, Alonso-Matielo H, de Andrade DC, Garcia-Larrea L, Ballester G, et al. Electrical stimulation of the insular cortex as a novel target for the relief of refractory pain: An experimental approach in rodents. *Behav Brain Res.* 2018 Jul 2;346:86–95.
222. Schlaepfer TE, Cohen MX, Frick C, Kosel M, Brodesser D, Axmacher N, et al. Deep brain stimulation to reward circuitry alleviates anhedonia

- in refractory major depression. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol*. 2008 Jan;33(2):368–77.
223. McCracken CB, Grace AA. High-frequency deep brain stimulation of the nucleus accumbens region suppresses neuronal activity and selectively modulates afferent drive in rat orbitofrontal cortex in vivo. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2007 Nov 14;27(46):12601–10.
 224. Kringelbach ML. The human orbitofrontal cortex: linking reward to hedonic experience. *Nat Rev Neurosci*. 2005 Sep;6(9):691–702.
 225. Rahmouni K. Cardiovascular Regulation by the Arcuate Nucleus of the Hypothalamus: Neurocircuitry and Signaling Systems. *Hypertens Dallas Tex* 1979. 2016 Jun;67(6):1064–71.
 226. Wang Q, Mao L, Han J. Analgesic electrical stimulation of the hypothalamic arcuate nucleus: tolerance and its cross-tolerance to 2 Hz or 100 Hz electroacupuncture. *Brain Res*. 1990 Jun 4;518(1):40–6.
 227. Brocker DT, Grill WM. Principles of electrical stimulation of neural tissue. *Handb Clin Neurol*. 2013;116:3–18.
 228. Benazzouz A, Gao DM, Ni ZG, Piallat B, Bouali-Benazzouz R, Benabid AL. Effect of high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus on the neuronal activities of the substantia nigra pars reticulata and ventrolateral nucleus of the thalamus in the rat. *Neuroscience*. 2000 Sep 11;99(2):289–95.
 229. Harnack D, Meissner W, Paulat R, Hilgenfeld H, Müller WD, Winter C, et al. Continuous high-frequency stimulation in freely moving rats: Development of an implantable microstimulation system. *J Neurosci Methods*. 2008 Jan 30;167(2):278–91.
 230. Forni C, Mainard O, Melon C, Goguenheim D, Kerkerian-Le Goff L, Salin P. Portable microstimulator for chronic deep brain stimulation in freely moving rats. *J Neurosci Methods*. 2012 Jul 30;209(1):50–7.
 231. Visanji NP, Kamali Sarvestani I, Creed MC, Shams Shoaie Z, Nobrega JN, Hamani C, et al. Deep brain stimulation of the subthalamic nucleus preferentially alters the translational profile of striatopallidal neurons in an animal model of Parkinson's disease. *Front Cell Neurosci*. 2015;9:221.
 232. Tan SK, Vlamings R, Lim L, Sesia T, Janssen ML, Steinbusch HW, et al. Experimental deep brain stimulation in animal models. *Neurosurgery*. 2010 Oct;67(4):1073–9; discussion1080.
 233. Farahmand S, Vahedian H, Abedinkhan Eslami M, Sodagar AM. Wearable, battery-powered, wireless, programmable 8-channel neural stimulator. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc IEEE Eng Med Biol Soc Annu Int Conf*. 2012;2012:6120–3.

234. Kölbl F, N’Kaoua G, Naudet F, Berthier F, Faggiani E, Renaud S, et al. An Embedded Deep Brain Stimulator for Biphasic Chronic Experiments in Freely Moving Rodents. *IEEE Trans Biomed Circuits Syst.* 2016 Feb;10(1):72–84.
235. Fleischer M, Endres H, Sendtner M, Volkmann J. Development of a Fully Implantable Stimulator for Deep Brain Stimulation in Mice. *Front Neurosci* [Internet]. 2020 [cited 2023 Apr 2];14. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnins.2020.00726>
236. Parastarfeizabadi M, Kouzani AZ. Advances in closed-loop deep brain stimulation devices. *J NeuroEngineering Rehabil.* 2017 Aug 11;14(1):79.
237. Adams SD, Bennet KE, Tye SJ, Berk M, Kouzani AZ. Development of a miniature device for emerging deep brain stimulation paradigms. *PLoS ONE.* 2019 Feb 21;14(2):e0212554.
238. Bourns I. BPS130 Series 10 mm Analog High Pressure Sensor.
239. Luo YS, Luo YL, Ashford EB, Morin RR, White WJ, Fisher TF. Comparison of Catheter Lock Solutions in Rats.
240. Goodchild AK, Moon EA. Maps of cardiovascular and respiratory regions of rat ventral medulla: focus on the caudal medulla. *J Chem Neuroanat.* 2009 Nov;38(3):209–21.
241. KURTZ TW, GRIFFIN KA, BIDANI AK, DAVISSON RL, HALL JE. Recommendations for blood pressure measurement in humans and experimental animals. Part 2: Blood pressure measurement in experimental animals a statement for professionals from the subcommittee of professional and public education of the american heart association council on high blood pressure research. *Recomm Blood Press Meas Hum Exp Anim Part 2 Blood Press Meas Exp Anim Statement Prof Subcomm Prof Public Educ Am Heart Assoc Council High Blood Press Res.* 2005;45(2):299–310.
242. Wilde E, Aubdool AA, Thakore P, Baldissera L, Alawi KM, Keeble J, et al. Tail-Cuff Technique and Its Influence on Central Blood Pressure in the Mouse. *J Am Heart Assoc.* 6(6):e005204.
243. Kouzani AZ, Abulseoud OA, Tye SJ, Hosain MK, Berk M. A Low Power Micro Deep Brain Stimulation Device for Murine Preclinical Research. *IEEE J Transl Eng Health Med.* 2013 Jun 4;2:1500109.
244. Cetin S, Yenil V, Dere UA. An Efficient Wireless Power Transfer System for An Implantable Deep Brain Stimulation. In: *2022 International Conference on Applied Electronics (AE).* 2022. p. 1–4.
245. de Haas R, Struikmans R, van der Plasse G, van Kerkhof L, Brakkee JH, Kas MJH, et al. Wireless implantable micro-stimulation device for high

- frequency bilateral deep brain stimulation in freely moving mice. *J Neurosci Methods*. 2012 Jul 30;209(1):113–9.
246. Ewing SG, Lipski WJ, Grace AA, Winter C. An inexpensive, charge-balanced rodent deep brain stimulation device: a step-by-step guide to its procurement and construction. *J Neurosci Methods*. 2013 Oct 15;219(2):10.1016/j.jneumeth.2013.08.003.
247. Fluri F, Mützel T, Schuhmann MK, Krstić M, Endres H, Volkmann J. Development of a head-mounted wireless microstimulator for deep brain stimulation in rats. *J Neurosci Methods*. 2017 Nov 1;291:249–56.
248. Millard RE, Shepherd RK. A fully implantable stimulator for use in small laboratory animals. *J Neurosci Methods*. 2007 Nov 30;166(2):168–77.
249. Liu HY, Jin J, Tang JS, Sun WX, Jia H, Yang XP, et al. Chronic deep brain stimulation in the rat nucleus accumbens and its effect on morphine reinforcement. *Addict Biol*. 2008 Mar;13(1):40–6.
250. Wang Y, Cong Y, Li J, Li X, Li B, Qi S. Comparison of invasive blood pressure measurements from the caudal ventral artery and the femoral artery in male adult SD and Wistar rats. *PloS One*. 2013;8(4):e60625.
251. Bradley DJ, Ghelarducci B, Paton JF, Spyer KM. The cardiovascular responses elicited from the posterior cerebellar cortex in the anaesthetized and decerebrate rabbit. *J Physiol*. 1987;383(1):537–50.
252. Nelson AJ, Juraska JM, Musch TI, Iwamoto GA. Neuroplastic adaptations to exercise: neuronal remodeling in cardiorespiratory and locomotor areas. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. 2005 Dec;99(6):2312–22.
253. Jannetta PJ, Segal R, Wolfson SK. Neurogenic hypertension: etiology and surgical treatment. I. Observations in 53 patients. *Ann Surg*. 1985 Mar;201(3):391–8.
254. Young RF, Tronnier V, Rinaldi PC. Chronic stimulation of the Kölliker-Fuse nucleus region for relief of intractable pain in humans. *J Neurosurg*. 1992 Jun;76(6):979–85.
255. Feinstein B, Gleason CA, Libet B. Stimulation of locus coeruleus in man. Preliminary trials for spasticity and epilepsy. *Stereotact Funct Neurosurg*. 1989;52(1):26–41.
256. Llewellyn-Smith IJ, Verberne AJM, editors. *Central Regulation of Autonomic Functions*, Second Edition. 2nd edition. New York: Oxford University Press; 2011. 432 p.

PRIEDAI

Etikos komiteto leidimas

VALSTYBINĖ MAISTO IR VETERINARIJOS TARNYBA

LEIDIMAS

ATLIKTI BANDYMO SU GYVŪNAIS PROJEKTĄ

2019-11-13 Nr. G2-128

Leidimo pakeitimo data: 2021-03-17

Vilnius

Vadovaujantis Lietuvos Respublikos gyvūnų gerovės ir apsaugos įstatymo 16 straipsnio 4 dalimi, Mokslo ir mokymo tikslais naudojamų gyvūnų laikymo, priežiūros ir naudojimo reikalavimais, patvirtintais Valstybinės maisto ir veterinarijos tarnybos direktoriaus 2012 m. spalio 31 d. įsakymu Nr. B1-866 „Dėl Mokslo ir mokymo tikslais naudojamų gyvūnų laikymo, priežiūros ir naudojimo reikalavimų patvirtinimo“, Europos konvencija dėl eksperimentiniais ir kitais mokslo tikslais naudojamų stuburinių gyvūnų apsaugos (OL 2004 m. specialusis leidimas, 15 skyrius, 4 tomas, p. 325) ir remiantis Lietuvos bandomųjų gyvūnų naudojimo etikos komisijos prie Valstybinės maisto ir veterinarijos tarnybos 2019-10-28 išvada Nr. 19 „Dėl leidimo atlikti bandymus su gyvūnais“;

l e i d ž i a m a toliau nurodytam ūkio subjektui atlikti bandymo su gyvūnais projektą.

Duomenys apie ūkio subjektą:

pavadinimas Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centras;

adresas: Saulėtekio al. 7, Vilnius;

kodas Juridinių asmenų registre 211950810.

Duomenys apie bandymo su gyvūnais projektą:

pavadinimas „Arterinio kraujospūdžio korekcijos, pritaikant giliosios smegenų stimuliacijos metodą gyvūnų modelyje, tyrimas“;

vadovas prof. Osvaldas Rukšėnas;

naudojami gyvūnai 91 žiurkė.

Duomenys apie bandymo su gyvūnais projekto atlikimo vietą:

pavadinimas Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centras;

adresas: Saulėtekio al. 7, Vilnius.

Duomenys apie veterinarinius vaistus, vaistinius preparatus ar kitas medžiagas (toliau – vaistai), kurie bus naudojami vykdant bandymo su gyvūnais projektą*:

Eil. Nr.	Vaisto pavadinimas	Gaminotojas	Vaistinė forma	Kiekis, reikalingas vykdant bandymo su gyvūnais projektą
1.	Sevofluranas (Sevorane)	Abbott Labs	Įkvėpiamieji garai (skystis)	750 ml
2.	Ketaminas (Brioketan)	Vetoquinol	Įvėpiamas tirpalas	3750 mg
3.	Peroksometakaino hidrohloridas (Alcaine)	Alcon Convergence	Įvėpiamas tirpalas	100 ml
4.	Paracetamolis (acetaminofenas)	Glaxo Smith Kline	Milteliai (patvirtuota forma)	90 g

Leidimas atlikti bandymo su gyvūnais projektą (toliau – leidimas) galioja iki 2024 m. sausio 2 d.

Direktorius

Darius Remeika

* – Nurodomi naudojami (ų) vaisto (ų) pavadinimas (ai), gamintojas (ai), vaistinė (es) forma (es), kiekis, reikalingas vykdant bandymo su gyvūnais projektą. Jei vykdomas bandymo su gyvūnais projektą vaistai gyvūnams nenaudojami, leidime įrašomas žodis „Nenaudojama“.

PUBLIKACIJOS

1. Chomanskis, Ž.; Jonkus, V.; Danielius, T.; Paulauskas, T.; Orvydaitė, M.; Melaika, K.; Rukšėnas, O.; Hendrixson, V.; Ročka, S. Remotely Programmable Deep Brain Stimulator Combined with an Invasive Blood Pressure Monitoring System for a Non-Tethered Rat Model in Hypertension Research. *Brain Sci.* **2023**, *13*, 504.
2. Chomanskis, Ž.; Jonkus, V.; Danielius, T.; Paulauskas, T.; Orvydaitė, M.; Melaika, K.; Rukšėnas, O.; Hendrixson, V.; Ročka, S. Hypotensive Effect of Electric Stimulation of Caudal Ventrolateral Medulla in Freely Moving Rats. *Medicina* **2023**, *59*, 1046.

KONFERENCIJŲ PRANEŠIMAI DISERTACIJOS TEMA

1. Chomanskis, Žilvinas; Jonkus, Vytautas; Danielius, Tadas; Paulauskas, Tomas; Orvydaitė, Monika; Melaika, Kazimieras; Ročka, Saulius; Rukšėnas, Osvaldas; Hendrixson, Vaiva. Wirelessly programmable deep brain stimulator combined with an invasive blood pressure monitoring system in a non-tethered rat model // Consciousness: XIII international conference of the Lithuanian Neuroscience Association, 26 November **2021**, Kaunas, Lithuania.
2. Chomanskis, Žilvinas; Jonkus, Vytautas; Danielius, Tadas; Paulauskas, Tomas; Orvydaitė, Monika; Melaika, Kazimieras; Ročka, Saulius; Rukšėnas, Osvaldas; Hendrixson, Vaiva. Wirelessly programmable closed-loop Deep Brain Stimulator combined with invasive blood pressure monitoring system in non-tethered rat model // 2nd expert summit on the future of deep brain stimulation, 7-9 March **2022**, Würzburg. Würzburg.
3. Chomanskis, Žilvinas; Jonkus, Vytautas; Danielius, Tadas; Paulauskas, Tomas; Orvydaitė, Monika; Melaika, Kazimieras; Ročka, Saulius; Rukšėnas, Osvaldas; Hendrixson, Vaiva. REMOTELY PROGRAMMABLE DEEP BRAIN STIMULATOR COMBINED WITH INVASIVE BLOOD PRESSURE MONITORING SYSTEM FOR NON-TETHERED RAT MODEL IN HYPERTENSION RESEARCH // 22nd EAA Congress, 15th ISGA Congress, 5th International Conference of Evolutionary Medicine, August 24-27 **2022**, Vilnius, Lithuania.
4. Jonkus, Vytautas; Chomanskis, Žilvinas; Danielius, Tadas. „Wireless DBS and blood pressure measurement system for experiments with animals“ // 27th International Conference ELECTRONICS **2023**, 19-21 June 2023, Palanga, Lithuania.

PADĖKA

Noriu padėkoti Tėveliams už tai, kad esu toks koks esu.

Docentui Vytautui Jonkui už puikius stimulatorius ir taip pat iš anksto dėkoju už kitus puikius stimulatorius.

Tadui Danieliui už kaip matematikui nebūdingą neišsemiamą kantrybę bendraujant su statistiškai reikšmingai mažesnių intelektinių galimybių medikais bei nuostabią duomenų perdavimo ir registravimo sistemą, kuri visada veikė, tik ne visada iš karto.

Tomui Paulauskui už visą laboratorijos išmintį bei sutrumpintą ir koncentruotą elgesio su graužikais kursą ir pagalbą operuojant.

Monikai Orvydaitei ir Kazimierui Melaikai už pagalbą prižiūrint operuotas žiurkes kartais net ir 4 val. ryte.

Bendradarbiams dr. Aidanui Preikšaičiui ir Gediminui Lukšiui už nuolatinį klausimą: „tai kaip disertacija sekasi“.

Profesorei Vaivai Hendrixson už tai, kad pastūmėjo eiti mokslo keliu.

Profesoriui Osvaldai Rukšėnui už patarimus, kurie lėmė, kad mokslinis eksperimentas nepatirtų nesėkmės.

Ir galiausiai noriu padėkoti profesoriui Sauliui Ročkai, kad davė visišką kūrybinę laisvę, kas turbūt ir buvo svarbiausias šio tyrimo sėkmės raktas.

TRUMPOS ŽINIOS APIE DISERTANTĄ

Vardas: Žilvinas
Pavardė: Chomanskis
Gimimo data: 1986-04-08
Gimimo vieta: Kaunas, Lietuva
El. paštas: zilvinas.chomanskis@mf.vu.lt

Išsilavinimas:
2004–2011 Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas,
medicinos gydytojas
2011–2016 Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas,
neurochirurgijos rezidentūra
2018–2022 Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas,
doktorantūros studijos

Profesinė patirtis:
2015–2016 Respublikinė Vilniaus universitetinė ligoninė,
medicinos gydytojas
2016–2019 Respublikinė Vilniaus universitetinė ligoninė,
gydytojas neurochirurgas
2017 – Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikos,
gydytojas neurochirurgas

Akademinė veikla:
2011–2018 Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas,
Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir
laboratorinės medicinos katedra, asistentas
2013– Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas,
Neurologijos ir neurochirurgijos klinika, jaunesnysis
mokslo darbuotojas

SANTRAUKA

INTRODUCTION

Deep brain stimulation (DBS) was developed as a modern, non-destructive neuromodulatory therapy for the treatment of patients suffering from Parkinson's disease in the early 1990s (1). As a relatively new therapy, DBS's clinical application boundaries have been constantly expanding (2, 7, 8-13). DBS animal models of Parkinson's disease or generalized dystonia are used to search for safer and more effective brain targets (10). Furthermore, animal DBS models are used to evaluate whether the application of electrical stimulation could be a viable treatment option for diseases not previously considered for this type of therapy (11, 14). The pathogenesis of primary arterial hypertension (PAH) is known to be associated with impaired nervous regulatory circuitry. Therefore, patients suffering from PAH are considered promising candidates for future treatment with DBS (15-18).

Based on 135 population-based studies involving 968,419 adults from 90 countries, Mills et al. estimated that the global age-standardized prevalence of hypertension was 31.1% of the adult population in 2010 (30). Hypertension, due to being the leading modifiable cardiovascular risk factor, is also a primary cause of preventable mortality worldwide, accounting for 13% of deaths in the adult population (31–35). The World Health Organization (WHO) estimated that high blood pressure (BP) is directly linked to 54% of strokes and 47% of cases of ischemic heart disease (36). For individuals aged between 40 to 69 years, even a moderate 20 mmHg increase in systolic arterial BP or 10 mmHg increase in diastolic BP is associated with a more-than-doubled risk of stroke or ischemic heart disease, irrespective of the baseline BP values (37).

Although the implementation of lifestyle changes and drug therapy has been shown to lower arterial BP effectively, more than a half of patients with primary arterial hypertension (PAH) are still failing to achieve adequate control due to an insufficient drug therapy or the presence of resistant arterial hypertension (RAH) (38, 39). It is postulated that the increased activity of the sympathetic nervous system (SNS) plays a pivotal role in the pathogenesis of RAH (40, 41).

There is a lot of data to suggest that DBS can be effective in treating PAH (48–54). Electrical or chemical stimulation of several nuclei of the autonomic nervous system (ANS) can cause a systemic decrease in the blood pressure (18). One of the most studied targets for DBS in preclinical and clinical research is the periaqueductal grey matter (PAG) (57). This area integrates

information from other nuclei of the central autonomic network (CAN) and is involved in the modulation of the blood pressure and the heart rate in real and expected stressful situations. PAG also exhibits specific antinociceptive properties and participates in autonomically derived fight-or-flight or relaxation reactions (18). Clinical evidence of the effectiveness of DBS in treating PAH has been documented in several case reports in which electrodes were implanted into the ventral column of PAG (15, 23–25). Other potential targets described in the literature include the Anterior Inferior Cingulate Region (AICR), Posterior Hypothalamus, Orbitofrontal Cortex, and Insular Cortex (18). Since all these targets are integrative rather than reflex centers, their hypotensive effect during stimulation may be marginal and complicated by unwanted neuroendocrine or behavioral changes. Therefore, it is necessary to search for other, more effective brain targets to apply DBS in controlling hypertension.

It has been well established that stimulating the caudal ventrolateral medulla (CVLM) electrically during acute animal experiments induces a significant decrease in the blood pressure (58). CVLM and the rostral ventrolateral medulla (RVLM) are the central nuclei of the baroreflex arc. CVLM directly inhibits the function of RVLM. RVLM is characterized by continuous tonic neuronal activity which stimulates the intermediolateral column of the spinal cord where preganglionic neurons responsible for maintaining the vascular tone are located (60).

However, there is no information in the literature about the effects of long-term electrical stimulation of CVLM in conscious and freely moving rats. Implants in this area are considered dangerous and can cause severe neurological complications in laboratory animals (58,61,62). These complications are believed to be caused by the additional damage occurring at the contact zone between the rigid fixed electrode and the partially mobile part of the brainstem inflicted during animal movement (62). Although the brainstem was once considered an inaccessible area, modern neurosurgery has made it possible to conduct delicate surgeries even in this complex area (64). While chronic animal experiments involving implanted electrodes or microcannulas in the RVLM have been described in the literature, they were conducted for reasons other than hemodynamic research purposes (65).

Considering the high prevalence of PAH, which is expected to increase in the future, the frequency of RAH, the occurrence of significant and fatal complications of PAH, and the importance of SNS in the pathogenesis of PAH, it is crucial to be in possession of more advanced and effective treatment options. Ideally, these options should be minimally invasive, safe, able to directly modulate the autonomic nervous system (ANS) activity at the

physiological regulatory circuit centers, non-destructive, and should also allow for easy titration of therapy during a routine visit to the doctor's office.

Modern experimental animal DBS pulse generators are frequently utilized in models of Parkinson's disease or dystonia (66). However, these generators lack a sensing component solution that can record invasive blood pressure (BP), which makes closed-loop stimulation impossible. Additionally, these stimulators lack wireless data transmission systems which are essential when recording such a labile and stress-dependent bodily parameter as BP. Remote reprogramming without touching the animal is impossible with many modern experimental stimulators, which is also problematic for experiments involving hemodynamics in conscious animals. Thus, it can be concluded that the current experimental DBS systems are inadequate for evaluating the possibility of arterial BP correction by applying the DBS method in a freely moving rat model. To address these limitations, a closed-loop pulse generator with a fully integrated invasive BP recording and wireless data and command transmission system is required.

Aim and objectives

The aim of the study is to assess the effect of electrical stimulation of CVLM on the alteration of blood pressure in a freely moving rat model by using the developed remotely programmable pulse generator combined with an invasive blood pressure monitoring system.

To achieve the goal of the research, the following objectives have been formulated:

1. To develop a pulse generator combined with invasive arterial blood pressure measurement and a wireless data transmission system and to test the device's performance *in vivo*.
2. To determine a pressure sensor's zero and sensitivity drift in a long-term *in vivo* experiment.
3. To assess the ability of catheter lock solutions to transmit blood pressure pulse waves to the pulse generator's pressure sensor.
4. To assess the survival rate of animals and the frequency of neurological complications during 14 days of CVLM stimulation in freely moving rats.
5. To evaluate the effect of electrical stimulation of CVLM on the mean BP and HR in a long-term *in vivo* experiment.

Scientific novelty

The introduction of a pulse generator which integrates an arterial blood pressure recording and transmission system represents the fact that this device would be the first of its kind used in a laboratory in Lithuania and the world. The potential benefits of using such a device in the clinical practice could be immense. It could reduce the need for medications, prevent side effects, and enable individualized blood pressure control for each patient based on their personal needs.

Long-term experiments involving the stimulation of CVLM in freely moving rats have not been conducted in Lithuania or anywhere else in the world. If sufficient animal survival is demonstrated after long-term stimulation of the medulla oblongata, it could pave the way for further research into complex conditions, such as vegetative states resulting from traumatic brain injury.

METHODS

Pulse generator with an invasive blood pressure monitoring system

To address the research needs, a pulse generator combined with an invasive arterial blood pressure measurement and wireless data transmission system has been developed. This DBS system comprises three main components: a wireless data transmission module, a pulse generator system, and an integrated pressure measurement circuit (Figure 1). A commercially available communication module *ESP8266* (*Espressif Systems*, Shanghai, China) was utilized to transmit BP data wirelessly. The module consisted of an integrated data transmission antenna, Flash memory, and radio frequency reception and transmission circuitry. The transmission of BP data and the generation of electrical pulses were controlled with an *LPC845* microcontroller (*NXP Semiconductors*, Eindhoven, Netherlands). The microcontroller's internal analog-to-digital converter (ADC) was used to record brain stimulation pulses *in vivo*. A universal asynchronous receiver and transmitter (UART) interface was used between the communication module *ESP8266* and the microcontroller *LPC845* to wirelessly transfer the blood pressure data and commands between the external database and the pulse generator. The blood pressure measurement circuitry consisted of a pressure sensor *BPS130* (*Bourns, Inc.*, Riverside, CA, USA) and an external ADC *MCP3202* (*Microchip Technology Inc.*, Chandler, Arizona, USA). A serial peripheral interface (SPI) was used for data transfer between the BP measurement circuit

and the *LPC845* microcontroller. According to the sensor specifications provided by Bourns, the zero and sensitivity drift of the *BPS130* unit should be minimal; hence, a calibration process is presumed to be unnecessary over the normal range of physiological and pathological blood pressure values (238).

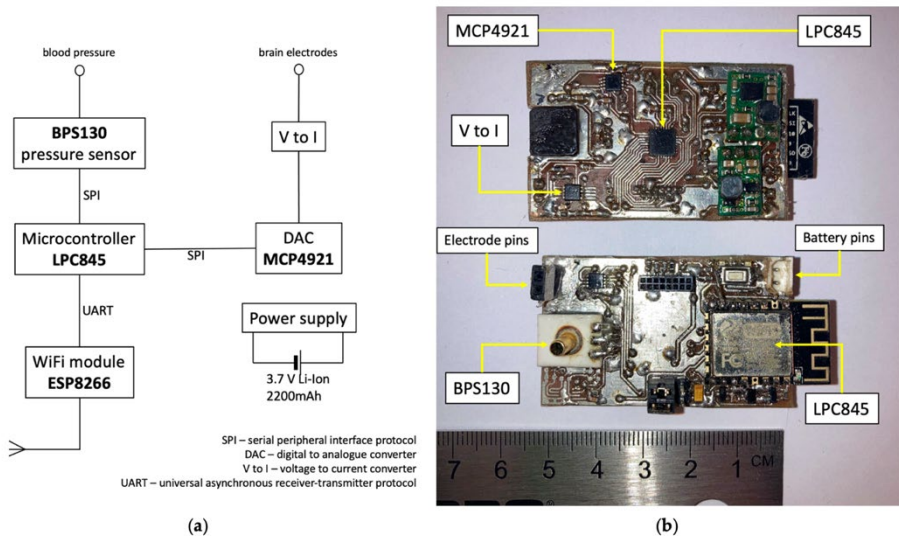


Figure 1. The device’s basic electronic diagram is displayed in part (a). Two manufactured models are shown in part (b) with arrows indicating the crucial components.

The electrical pulse circuit can produce and deliver electrical impulses of any desired shape to the brain tissue. For this study, a charge-balanced, asymmetric pulse was used, with the negative part of the pulse lasting five times longer than the positive part. The circuit generating these electrical pulses consists of a voltage pulse generator and a voltage-to-current converter. The electrical pulses were generated with an *LPC845* microcontroller and a digital-to-analog converter (DAC) chip (*MCP4921*, *Microchip Technology Inc.*, Chandler, AZ USA). The constant voltage stimulation mode of the pulse generator was transformed to the constant current stimulation mode by integrating the brain tissue impedance data to an *AD8542* negative feedback operational amplifier (*Analog Devices Inc.*, Wilmington, MA, USA). This amplifier modulated the electrical voltage delivered to the brain tissue based on the changes in resistance while maintaining a constant current applied to the electrodes. The device’s power supply circuit can generate 5V and 3.3V from a 3.7V Li-ion battery with a capacity of 2200mAh.

Device's peripherals

The arterial catheters were made of a polyethylene tube (*Smiths Medical International Ltd.*; external diameter 0.96 mm, internal diameter 0.58 mm) with additional ports to replace the lock solutions and sensor calibration. An anchor was fixed at 24–26 mm from the catheter tip. It acted as a stopper and a securing device to position the catheter tip exactly at the junction of the common carotid artery and the aortic arch. 500 IU heparin/99.7% glycerol or 500 IU heparin/50% dextrose solutions were used as catheter lock solutions.

The electrodes used in the experiment were made of stainless steel wire (*Goodfellow Cambridge Ltd.*, Huntingdon, UK). They were 100 μm in diameter and featured polyamide insulation of 5 μm . These electrodes were produced in a bipolar fashion, with a 200 μm overhang between the tips.

The jackets for the rats were made from neoprene fabric with *Velcro* straps, and the device case was 3D-printed (*Ender-3 Pro*, Creality, China) from polylactic acid plastic (*Fiberology*, Poland).

The data was recorded and analyzed with a PC running a *Linux*-based operating system with 8 GB of RAM and a processing power of 2.4 GHz. A specialized software was created for collecting and presenting the data (Figure 2).

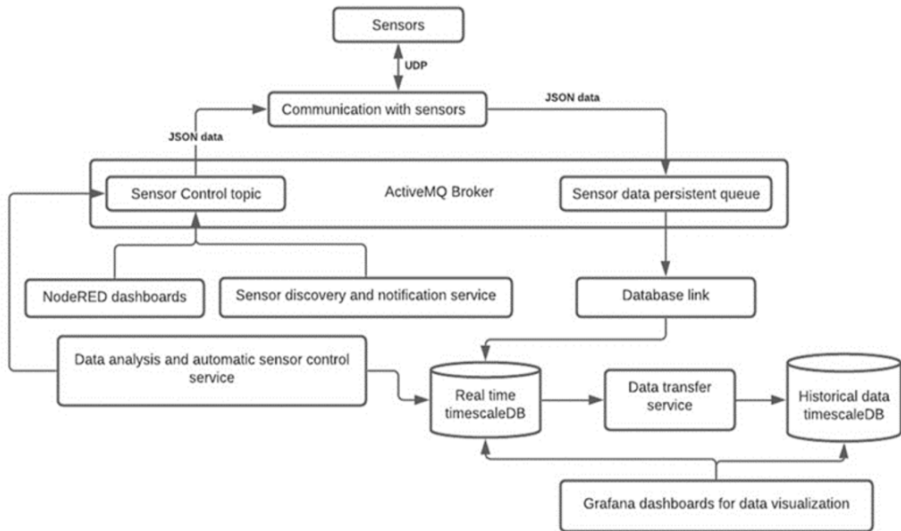


Figure 2. Software architecture.

Experiment 1. Validation of the device performance

Animals

All experimental stages of the study were carried out while following the Directive 2010/63/EU of the European Parliament and the Council as well as the Order of the State Food and Veterinary Service of the Republic of Lithuania No. B1-866. And the Permission of The State Food and Veterinary Service No. G2-128.

The experiment was conducted by using ten male Wistar clone rats aged 12–16 weeks weighing 340–425 g to test the device's performance. The rats were bred at the Life Sciences Center of Vilnius University. Each rat was housed individually in a cage with free access to food and water to ensure controlled conditions. The rats were exposed to 12-hour light and 12-hour dark cycles. To reduce the stress on the rats, they were acclimated to backpacks containing stimulator cases simulating the size and weight of the implant for seven days before the surgery.

Surgery

Surgical interventions were performed under *Sevoflurane (Baxter)* anesthesia (3–4%, in a 100% O₂ mixture administered through a nasal cone mask). The catheter and electrode implantation procedures were performed in one session under a surgical microscope with $\times 6.4$ magnification. This magnification allowed smaller surgical wound openings, better visualization and preservation of the vagal nerve and omohyoid muscle, and better control of the electrode entrance. After the induction of anesthesia, the rat's pain reflexes were tested, and the operative field was prepared with a povidone-iodine solution (*Egis Pharmaceuticals*). Then, two 1 cm long median incisions were made at the top of the head, immediately behind the ears, and another incision was made at the front of the neck, just above the sternum. The device's catheter filled with lock solution was inserted and tunneled subcutaneously between the incisions through the left side of the neck. Tunneling was carried out very carefully without injuring the left external jugular vein. The left common carotid artery was divided by blunt means, while exposing it through suspension of the proximal and distal ends utilizing suture techniques. Special care was taken while exposing the artery so as not to damage the small vagal nerve branches which usually run over the carotid artery. The distal end of the artery was tied off, and a 2 mm longitudinal incision in the ventral wall of the carotid artery was made while tension was kept on the loose proximal suture.

This technique allowed the catheter implantation without hemodynamically significant blood loss. The catheter was inserted until the anchor cuff reached the incision made in the carotid artery, and then the catheter was tied to the artery with two additional sutures. After the implantation, the neck wound was closed with a continuous 5-0 suture.

After the catheter implantation, the animals were immediately transferred onto a stereotaxic frame system (*Narishige Scientific Instrument Lab.*, Japan). During the electrode implantation, BP was being recorded continuously. The incision already made on the top of the head was used to implant the electrodes. To ensure a 14-day experiment, an indirect transcerebellar route was taken for the implantation, where the electrodes are implanted through the cerebellar hemisphere. In this way, less surgical intervention damage is ensured compared to the open partial removal of cerebellar tonsils and the visualization of IV ventricle landmarks. The animal's head was positioned parallel to the base of the stereotaxic frame, aligned with a line through bregma and lambda. At the occipital crest, a hole of a 3 mm diameter was trephined to introduce the electrode on the right side. Two smaller holes were drilled posterior to the lambdoid sutures for screw placement and cement fixation. The CVLM coordinates were selected according to Paxinos and Goodchild: -4.40mm posterior, 2.10mm to the right, and 9.90mm deep from the lambda point (202,240). The standard stimulation protocol was initiated after inserting the electrode to the 8.5 mm z-axis mark. The BP response to electrical stimulation was being recorded at 0.1 mm intervals as the electrode was being moved deeper. The implantation site was confirmed by inducing a hypotensive effect of at least 20 mmHg by using two 3-second trains of stimulation (100 μ A, 50 Hz, 0.1 ms) at the same site. Before stimulation at the other site, a waiting period of approximately one minute was utilized to evaluate hemodynamic changes. The electrode was not lowered beyond 10.5 mm from the lambda point in the z-axis. After implanting the electrodes, a micro-hybrid composite cement (*FlowX*, ORBIS) was applied to the surgical site.

Postoperative period

After the procedure, the rats were closely and continually monitored for any abnormal behavior and neurological symptoms for 24 hours a day for 14 days. This included observation for pathological postures, paresis, ataxic movements, pupillary photoreaction defects, drooping of the eyelid, and reduced reaction to a painful stimulus. The animals were given an appropriate dose of ketoprofen via intravenous injection, based on their body weight, to ensure proper analgesia. Catheter patency was maintained by replacing lock

solutions once per day with the known filling volume of the system. During the recording, the catheter was filled by using either a heparinized 50% dextrose solution or a heparinized 99.5% glycerol solution without additional heparin infusions. To prepare the heparinized solutions, 500 IU of heparin was added to 1 ml of the lock solution.

Continuous stimulation (50 μ A, 50 Hz, 0.1 ms) was initiated on the eighth day and continued for seven consecutive days while monitoring the animal's behavior and assessing neurological symptoms.

During the experiment, the pressure sensor readings in millivolts (mV) were calibrated against known pressure points of 0, 50, 100, 150, and 200 mmHg. This calibration was performed by using a water column pressure calibration system which was specially fabricated for this purpose. The calibration was carried out three times: once immediately before the surgery on the first day of the experiment, once in the middle of the experiment before the stimulation (on day 7), and once at the end of the stimulation period (on day 14).

Statistical analysis

The normal distribution of the data was confirmed with the Shapiro-Wilk test. Data analysis was conducted by using the *R* program.

To determine the time of catheter thrombosis, the duration between the replacement of the catheter lock solution and the appearance of signs of catheter thrombosis in the BP curves of the animals was measured and compared. The time of catheter thrombosis was defined as the point at which the invasive BP curve lost a visible pulse wave pattern.

One-way analysis of variance (ANOVA) was used to assess the change in sensitivity of the device sensor by comparing uncalibrated BP pressure values (in mV) on days 1, 7, and 14 of the experiment. Only those rats which survived the entire experimental period without neurological symptoms were included in the analysis. The difference was considered significant if $P < 0.05$. The data is presented as mean \pm standard deviation of the mean.

Experiment 2: Long-term CVLM stimulation effect

Animals

The second experiment involved testing twenty 12- to 16-week-old male Wistar clone rats weighing between 320 and 421 g. The animals were divided

into experimental (N=10) and control groups (N=10) and were housed in the same conditions as in the first experiment.

Surgery

The surgical intervention in both groups was performed by following exactly the same procedure as in the first experiment. The only difference between the experimental and the control groups was the final placement of the electrodes. In the control group, the tips of the electrodes were positioned 4 mm higher than the predicted CVLM based on the atlas coordinates. However, in the experimental group, the tips of the electrodes were positioned in the CVLM exactly as in the first experiment.

Postoperative period

The approach to the animals during the postoperative period was the same as during the first experiment. The only difference was that a heparinized solution of 99.5% glycerol was used to lock the catheter.

Statistical analysis

The experiment lasted for 14 days and was further divided into three parts. The early postoperative period, which lasted for the first four days, was the time when the blood pressure (BP) data was being recorded but not used for analysis. During this period, the BP curves of the animals were unstable, and episodes of hypertension occurred, which was associated with the animals' recovery after the surgery process. The mean BP values were calculated by using the AVG() SQL database (*PostgreSQL*) function. The mean BP was calculated for two different periods – days 5 to 7 (the 'OFF stimulation' period), and days 8 to 14 (the 'ON stimulation' period). The Shapiro-Wilk test was performed to check whether the data was normally distributed. The data obtained from these rats which survived the entire experimental period without any neurological symptoms or behavioral changes was used for analysis. A dependent Student's t-test was used to determine the difference in the mean blood pressure between the 'OFF stimulation' and 'ON stimulation' periods. A statistically significant difference was considered if $P < 0.05$. The data is presented as mean \pm standard deviation of the mean.

RESULTS

Experiment 1. Validation of the device performance

Device performance

Recordings of brain stimulation pulses are depicted in Figure 3. In plot (a), the voltage was recorded by using an oscilloscope on a 1,000-ohm resistor. Plots (b) and (c), on the other hand, were recorded by the ADC of the internal microcontroller, and the current value was calculated by measuring the voltage drop on R7 resistor. It is worth noting that plot (c) was recorded during *in vivo* brain stimulation. Despite the different recording methods, the stimulation pulses show similarities between all the three recordings.

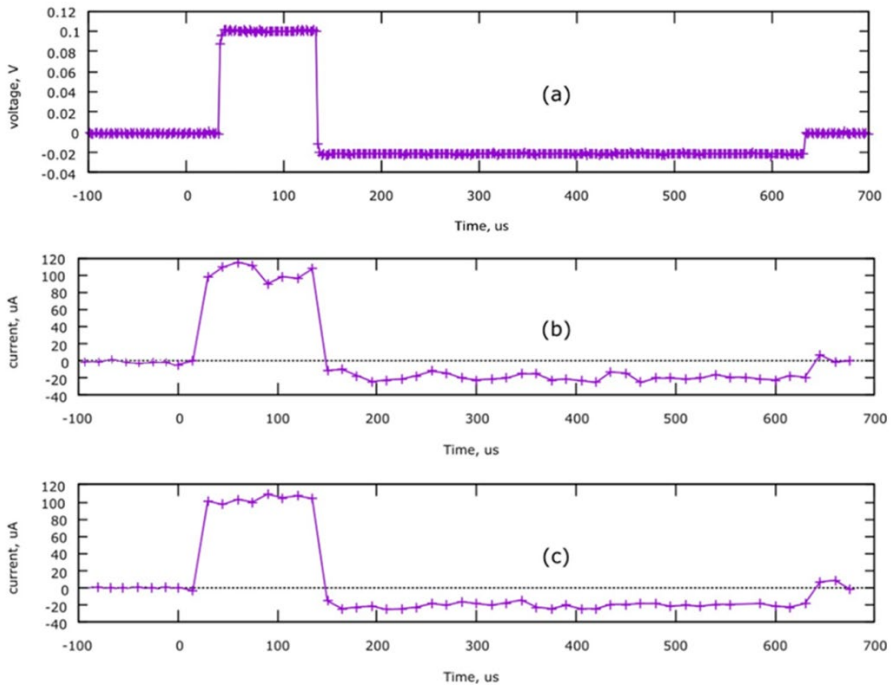


Figure 3. Brain stimulation pulse recordings. Pulse settings: $A_{\text{pulse}} = 100 \mu\text{A}$, $T_{\text{pulse}} = 100 \mu\text{s}$. **(a)** Oscilloscope recording on 1,000-ohm resistor; **(b)** Internal microcontroller's ADC recording on 1,000-ohm resistor; **(c)** *In vivo* internal microcontroller ADC recording.

Survivability and neurological compromise

Nine of the ten rats (90%) used in the study survived the surgery and regained wakefulness. One rat (10%) died during the procedure when the

electrode had been advanced only 6 mm in the dorsoventral coordinate. The autopsy revealed an unexpectedly high-riding aortic arch and the catheter occluding the aorta. One rat regained wakefulness without evident neurological compromise and was hemodynamically stable, only to die eight hours later. The autopsy revealed a minor, 3 mm hemorrhagic lesion in the dorsal medulla in the path of the electrode. One rat had transient cerebellar symptoms: ataxic movements of the right side with no evident weakness that subsided in 48 h. The other seven rats (70%) were free of any apparent neurological compromise during the entire postoperative period.

Zero and sensitivity drift of the sensor

The device calibration data is illustrated in Figure 4. The ANOVA scores showed that, at all pressure points where the calibration of the device was performed, there is no significant difference between the calibrated blood pressure output (in mV) and the day the calibration was done during the study, which means that there is no significant device sensitivity drift.

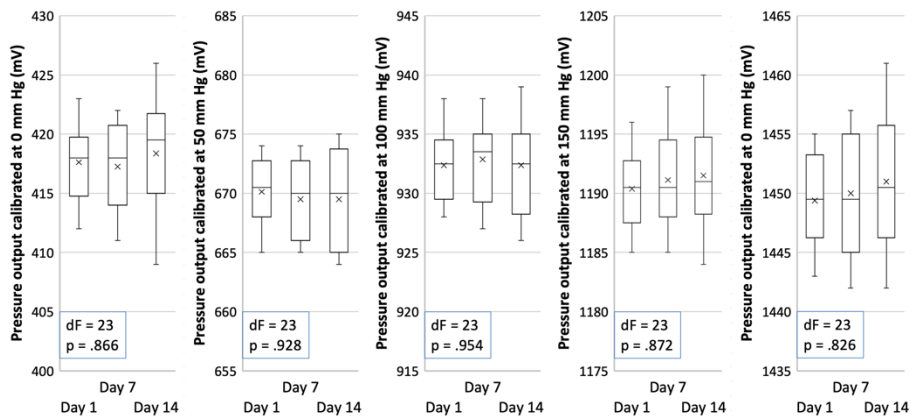


Figure 4. Device calibration data showing blood pressure output in mV on different experimental days. dF and p values of ANOVA are presented in the chart.

Catheter patency rates

The study found that the catheters filled with heparinized dextrose solution lasted an average of 125.05 ± 22.54 minutes before needing replacement. On the other hand, the catheters filled with heparinized glycerol solution remained patent for 24 hours until the daily maintenance and the replacement of the lock

solution was performed, as per the study protocol. It was found that the non-patency of the glycerol-filled catheters was extremely rare, and it only occurred during the first day after the surgery when the blood pressure fluctuations were evident. As the catheters filled with lock solutions explicitly outlasted the catheters filled with dextrose solutions by a significant margin, no statistical tests were performed.

Experiment 2. Long-term CVLM stimulation effect

Animal survivability and neurological compromise

Rats in both groups that responded to stimulation by a decrease in the blood pressure (responder), those that did not respond to the stimulation (non-responder), those that died during the experiment (death), and those that exhibited neurological side effects (neurological symptoms) are presented in Figure 5. As expected, none of the rats in the control group showed any hemodynamic response to the stimulation. In contrast, in the experimental group, 60% of the rats responded to the stimulation with a noticeable decrease in the blood pressure (Figure 6). One rat from the experimental group died six hours after the surgery with signs of hypertensive crisis. An autopsy showed the presence of a subdural hematoma around both cerebellar hemispheres, as well as a small hemorrhagic lesion at the electrode tip in the CVLM region. Two rats – one per group – had transitory neurological side effects: right limb ataxia attributable to the right cerebellar lesion. Although getting better after a few days, both rats were eliminated from the final hemodynamic data analysis. An autopsy showed no hemorrhagic lesions at the electrode tip or around the cerebellar hemispheres. During the stimulation phase, neither group of rats exhibited any observable changes in the behavioral or neurological functions.

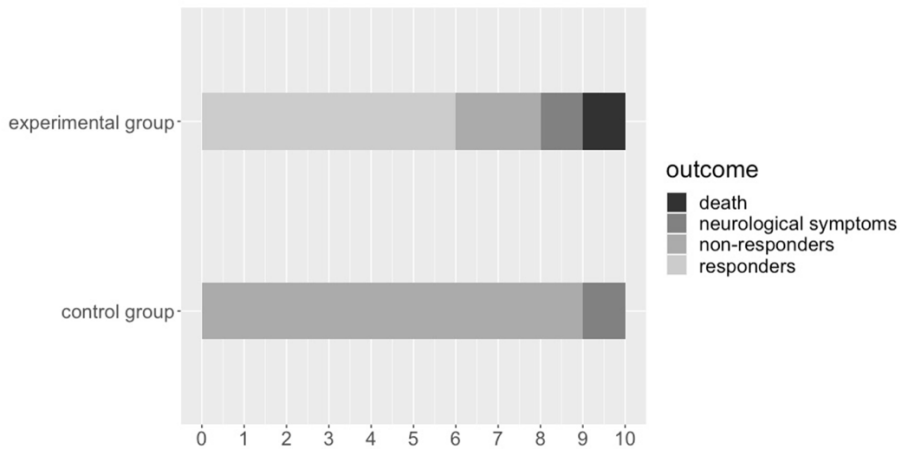


Figure 5. Outcomes of rats in the experimental and control groups.

Hemodynamic data

The baseline mean arterial pressure during the ‘OFF stimulation’ period was 96.22 ± 5.79 mmHg for the experimental group and 90.84 ± 5.55 mmHg for the control group, with no significant difference ($p = 0.08$) between the two groups (Figure 6). During the ‘ON stimulation’ period, the mean arterial pressure decreased by 8.23 mmHg ($p = 0.001$) in the experimental group, while it increased by 0.75 mmHg ($p = 0.78$) in the control group. The baseline average heart rate during the ‘OFF stimulation’ period was 376.34 ± 15.46 beats/min for the experimental group and 365.94 ± 18.26 beats/min for the control group, with no significant difference ($p = 0.297$) between the two groups. During the ‘ON stimulation’ period, the average heart rate decreased by 26.93 beats/min ($p = 0.008$) in the experimental group, while it decreased by 3.10 beats/min ($p = 0.503$) in the control group. There was no statistically significant difference between the two groups during the ‘ON stimulation’ periods in the mean arterial pressure ($p = 0.229$) and the blood pressure ($p = 0.139$).

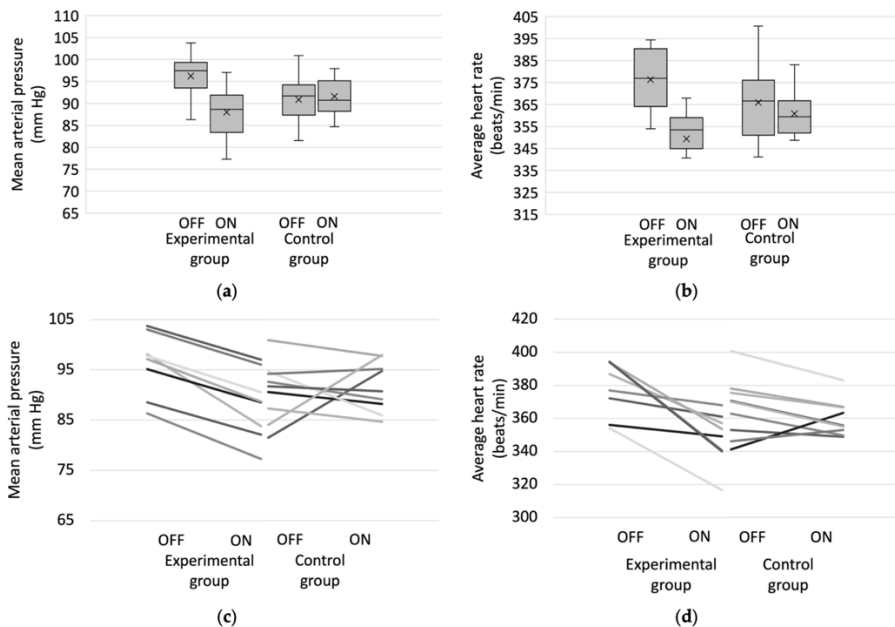


Figure 6. Comparison of mean arterial pressure (a) and average heart rate (b) during ‘ON stimulation’ and ‘OFF stimulation’ periods in experimental and control groups. The change in the mean arterial pressure (c) and the average heart rate (d) in individual Wistar rats in the control and experimental groups. OFF – ‘OFF stimulation’ period, ON – ‘ON stimulation’ period.

DISCUSSION

Evaluation of the module performance *in vivo*

This device, developed and used in the experiment, combines wireless blood pressure telemetry and an electric pulse generator into a single system capable of operating on the principle of closed-loop stimulation. To the best of our knowledge, this is the first combined device small enough for experiments in freely moving animals.

When articles discuss laboratory stimulators, the testing portion of the device is often limited to using 1kOhm resistors, and it is rarely tested *in vivo* (246, 247). During *in vivo* testing, we evaluated whether the electrical charge delivery to the neural tissue was affected by the presence of neuron biopotentials which can reach up to 100 μ V. Our testing did not show that the device worked differently *in vivo* compared to the conditions in which a resistor was used.

Animal survivability and neurological compromise

CVLM is the main inhibitory nucleus of the medulla oblongata circuit responsible for the reflex control of BP (58). CVLM, and especially RVLM, has many afferent and efferent connections with other regulatory centers of ANS: the respiratory centers of the medulla oblongata, the lateral tegmental field, the median raphe nuclei, the A5 cell group of the pons, the parasympathetic nuclei, PAG, the paraventricular nucleus, the posterior part of the hypothalamus, and the frontal cortex (92). Clearly, this is a critical structure in the BP regulatory circuitry, and its damage may be incompatible with the survival of the animal.

In the past, the implantation of electrodes or microcannulas into the region of CVLM was performed only under acute experimental conditions without animal resuscitation (58, 61, 192). It has been suggested that the displacement of the mobile part of the brainstem during the animal's movements causes damage to the brain tissue around the implanted electrode, thus making chronic experiments impossible (62). This study shows that the implantation of CVLM does not increase the animal mortality. To the best of our knowledge, this is the first study not only in Lithuania, but also in the world which has presented such high survival rates. Also, this study suggests that the implantation in CVLM results in neurological complications at a similar rate to the implantation in the cerebellar hemisphere. The loss of two animals, which may be related to some damage to CVLM, should not discourage similar experiments in the future. It is possible that, in the second experiment, the animal's death and the damage to CVLM may have been caused by a large subdural hematoma around the brain. This could have led to significant displacement of the brainstem and secondary hemorrhage in CVLM. The very cause of subdural bleeding could be attributable to an electrode trajectory being close to a branch of the posterior inferior cerebellar artery running in the paramedian sulcus, which is an easily avoidable complication. It is important to note that, in experiments using rats or other rodents, the number of animals used to achieve the necessary sample size is rarely specified (65).

Calibration of the device sensor

Upon analyzing the calibration data of the sphygmomanometer, it was found that there was no noticeable sensitivity or zero point drift at any measured calibration point during the experiment. This finding aligns with the presentation of data characteristics from the sensor *BPS130* (238). Therefore, it can be concluded that the device is stable, and that it can be utilized for further research purposes.

Catheter thrombosis

The incidence of catheter thrombosis was similar to that reported by Luo et al. in his article (239). This study assessed catheter thrombosis visually and mechanically by determining whether the system could still be flushed with the solution. In our work, catheter thrombosis was determined by evaluating whether the transmission of the pulsatile BP wave to the pressure sensor was still visually visible. Catheters filled with heparinized glycerol solution were found to work significantly longer. This is somewhat contradictory to Luo et al. data: glycerol and dextrose solutions worked similarly effectively in the study conducted by the aforementioned authors (239).

Hypotensive effect of stimulating CVLM

In acute experiments, the stimulation of the CVLM region causes a drop in the blood pressure, bradycardia, and a decreased sympathetic nerve activity (58, 192). Our study revealed that the hemodynamic changes were less prominent than those observed in unconscious animals. However, the stimulation we administered was effective and persisted until the end of the experiment. It is worth noting that the stimulation effect is not immediate, and that it takes up to two days to reach the plateau phase. Several factors can cause the subsequent hypotensive effect. It is possible that the decrease in the blood pressure is unrelated to the activation of CVLM. Electrical stimulation may impact the A1 group of neurons located next to CVLM, which leads to changes in the blood pressure regulation through humoral means. These changes, related to vasopressin secretion, appear only after a couple of days. Besides, connections between the baroreflex arc and the renin-angiotensin-aldosterone system are tightly integrated into the overall BP regulatory circuit (110). Our study design was not intended to evaluate the effect of CVLM stimulation on the humoral blood pressure control. However, this could be a perspective for further research.

A delayed effect could explain why O'Callaghan et al. found no hypotensive response when short-term electrical stimulation was applied to the PAG area when using a conscious, freely moving, spontaneously hypertensive rat model. However, a hypotensive effect was obtained during electrode implantation in anesthetized rats (59). It has been known for quite some time that the activity of SNS is inhibited during anesthesia in an experiment, which makes the hypotensive effect more pronounced (251).

Some cardiovascular control centers in the brain overlap with animal locomotion centers (252). In rats, the cardiorespiratory and locomotor centers

are located in the same regions of PAG, posterior hypothalamus, the nucleus of the solitary tract and RVLM. Although behavioral experiments were not planned in our study, we did not observe any changes in the rat activity or behavior within or between the groups of rats.

Very scant published clinical data may suggest that CVLM is a suitable effective target for RAH treatment (209, 210, 253). Jannetta, the pioneer of microvascular decompression, proposed the ‘neurogenic hypertension’ theory as early as in 1985, which states that pulsatile pressure from arteries, usually the vertebral artery, to the ventrolateral part of the medulla may predispose patients to RAH (253). This article presented data on 36 treated patients who underwent microsurgical repositioning of the vertebral arteries away from RVLM. A more recent study assessed changes in the autonomic activity and systemic blood flow resulting from surgical manipulation or local electrical stimulation around the brainstem during neurosurgery (209). This was confirmed by another study in which similar results were obtained by the local stimulation of the surface of the pontomedullary junction. The authors hypothesized that the electrical current propagating to RVLM may be responsible for the acute hypertensive effect during the stimulation (210).

Clinical data evaluating the potential benefit of DBS in treating RAH has come from several studies in which DBS systems were implanted in PAG (15,23–25). From an anatomical perspective, CVLM is a more challenging target, but it has two significant advantages over PAG. Firstly, CVLM has no known direct neuroendocrine, nociceptive, or integrative behavioral function. Its primary function is to transmit information from NTS to RVLM reflexively (256). Secondly, as the lowest center of inhibition of ANS, CVLM should impact different pathogenetic circuits of AH.

CONCLUSIONS

1. A pulse generator combined with an invasive arterial blood pressure measurement and wireless data transmission system has been developed. The device is stable and enables recording invasive BP while simultaneously stimulating targets in the medulla oblongata *in vivo*.
2. The change in sensitivity and zero drift of the pressure sensor in a long-term experiment *in vivo* is insignificant and suitable for further experimentation.
3. Intra-arterial catheters filled with heparinized glycerol showed a significantly longer BP pulse wave transmission duration than heparinized dextrose solutions.

4. Implantation of electrodes into CVLM is a relatively safe intervention which does not cause significant neurological complications or excessive deaths of laboratory animals.
5. Stimulation of CVLM produces a hypotensive effect in a freely moving conscious rat.

UŽRAŠAMS

UŽRAŠAMS

UŽRAŠAMS

Vilniaus universiteto leidykla
Saulėtekio al. 9, III rūmai, LT-10222 Vilnius
El. p. info@leidykla.vu.lt, www.leidykla.vu.lt
bookshop.vu.lt, journals.vu.lt
Tiražas 30 egz.