

© Гаврелюк С. В.

УДК 612.1:616-073.432.19

**Гаврелюк С. В.**

## **ВЛИЯНИЕ ВАГОТОННИИ НА ПАРАМЕТРЫ ГЕМОДИНАМИКИ И ФУНКЦИЮ ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ СТРЕССЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

**Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко  
(г. Старобельск, Луганская область)**

**doctsvit@gmail.com**

Данная работа является фрагментом общей темы кафедры анатомии, физиологии человека и животных Луганского национального университета имени Тараса Шевченко «Механизмы адаптации организма при влиянии эндогенных и экзогенных факторов среды», № государственной регистрации 019800026641.

**Вступление.** Устойчивость организма к стрессорным воздействиям, сохранение постоянства внутренней среды во многом зависят от состояния регуляторных механизмов вегетативной нервной системы (ВНС), взаимодействия симпатического и парасимпатического ее отделов [4]. Известно, что нервная регуляция просвета периферических сосудов осуществляется преимущественно симпатической частью ВНС, а парасимпатический ее отдел в норме не участвует в иннервации кровеносных сосудов. Считается, что воздействие катехоламинов на эндотелий проявляется в торможении синтеза оксида азота и усилении образования эндотелина-1, приводящее к повышению общего периферического сосудистого сопротивления. Однако, когда тормозится производство NO, высвобождающийся парасимпатическими нервами ацетилхолин, приводит к сужению сосудов [1].

В последние годы стимуляция парасимпатической нервной системы изучается как одно из новых стратегических направлений при патологии сердечно-сосудистой системы и отдельных заболеваниях сосудов [8,13]. Получены результаты предотвращения желудочковой дисфункции [9,12] и периферической сосудистой эндотелиальной дисфункции [14] в экспериментах с введением антихолинэстеразных препаратов животным при моделировании инфаркта миокарда.

Другие данные свидетельствуют о большей значимости низкой активности парасимпатического отдела ВНС в повышении жесткости артерий или дисбаланса между симпатическими или парасимпатическими влияниями [3,5].

Однако, до сих пор мало исследований посвященных непосредственно изучению взаимосвязи между ваготонией и сосудистой функцией в условиях адаптации к стрессу.

**Целью** настоящего **исследования** было оценить изменения ультразвуковых характеристик гемодинамики и функции эндотелия брюшной аорты

на модели хронического стресса при длительной ваготонии.

**Объект и методы исследования.** Данное исследование было проведено у 30 стодневных самцов лабораторных крыс линии Wistar массой 180-200 г.

В качестве модели была выбрана ваготония, которая достигалась введением антихолинэстеразного препарата обратимого действия – пиридостигмина бромидом. Как метод стрессорного воздействия был выбран иммобилизационный стресс, поскольку он является наиболее часто используемой в научных исследованиях моделью эмоционального стресса, а также одним из важных стрессорных факторов, приводящих к ускоренному старению организма [6]. Иммобилизационный стресс моделировали, помещая крыс в специальную пластиковую камеру-пенал, ограничивающую их движения в течение четырех часов при комнатной температуре окружающего воздуха.

Животные содержались в обычных условиях вивария на стандартном рационе по 10 особей в клетке при естественном освещении и свободном доступе к воде и пище.

Крысы были разделены на 3 сопоставимые группы по 10 в каждой: I группа – контрольная – интактные животные, II группа – животные, которых подвергали иммобилизационному стрессу и III группа – крысы, которым ежедневно с питьевой водой *per os* вводили свежеприготовленный раствор пиридостигмина бромидом из расчета 0,15 мг·кг<sup>-1</sup> массы животного в сутки и подвергали иммобилизационному стрессу. Длительность эксперимента составила 10 дней. Животных на 10-е сутки выводили из эксперимента путем декапитации в состоянии наркоза (калипсол из расчета 16 мг·кг<sup>-1</sup> массы животного внутривенно).

Перед началом и на 10-й день эксперимента проводили ультразвуковое исследование (УЗИ) брюшного отдела аорты, используя стационарный сканер «Xario» (Toshiba, Япония) с широкополосным линейным датчиком с рабочей апертурой 40 мм и частотой 5-12 МГц [2]. В В-режиме проводили количественную оценку внутрисосудистого диаметра сосуда (D), толщины комплекса интима – медиа (КИМ), эндотелийзависимую (ЭЗД) и эндотелийнезависимую (ЭНЗД) дилатацию. В режиме импульсно-волновой доплерографии (PW-режим) осуществляли исследование количественных характеристик кровотока:

## КЛІНІЧНА ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

пиковую систолическую скорость кровотока ( $V_{ps}$ ), максимальную конечную диастолическую скорость кровотока ( $V_{ed}$ ), индекс резистентности (RI) и систолодиастолическое отношение (S/D). Среднюю скорость кровотока ( $V_m$ ) рассчитывали по формуле:

$$V_m = \frac{V_{ps} + 2V_{ed}}{3} \text{ см} \cdot \text{с}^{-1},$$

где  $V_{ps}$  – пиковая систолическую скорость кровотока,  $V_{ed}$  – максимальная конечная диастолическая скорость кровотока.

Изменения диаметра сосуда оценивали в процентном отношении к исходной величине. Коэффициент дилатации (KD) брюшной аорты вычислялся по формуле:

$$KD = \frac{(D_1 - D_0)}{D_0} \cdot 100\%$$

где  $D_1$  – диаметр брюшной аорты после введения медиатора дилатации,  $D_0$  – исходный диаметр брюшной аорты.

ЭЗД и ЭНЗД оценивали как изменение диаметра брюшной аорты после болюсного введения в бедренную вену медиаторов дилатации, соответственно: ацетилхолина хлорида (из расчета 40 мгЧкг<sup>-1</sup> массы животного) и нитроглицерина (из расчета 2 мгЧкг<sup>-1</sup> массы животного).

Все манипуляции в ходе содержания и постановки эксперимента проводили в соответствии с биоэтическими принципами, изложенными в «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей» (Страсбург, 2005), «Общих этических принципах экспериментов на животных», принятых V Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2013).

Полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с помощью лицензионного компьютерного пакета программ Microsoft Excel 2007 и лицензионной программы GraphPad in Stat (США). Определяли среднюю

Таблица.

**Показатели гемодинамики в брюшной аорте крыс на 10-й день эксперимента при эндотелийзависимой и эндотелийнезависимой дилатации (ультразвуковое исследование)**

№ группы		D (мм)	КИМ (мм)	$V_{ps}$ (смЧс <sup>-1</sup> )	$V_{ed}$ (смЧс <sup>-1</sup> )	$V_m$ (смЧс <sup>-1</sup> )	RI	S/D	KD (%)
I группа	Исходные	1,52±0,1	0,28±0,04	159,4±2,1	11,37±1,6	59,6±2,7	0,93±0,01	15,0±2,2	-
	ЭЗД	1,83±0,1 **	-	135,8±3,2 **	21,53±2,3 **	60,4±3,2	0,84±0,02 **	6,4±1,2 **	21,2±5,5
	ЭНЗД	1,85±0,1 **	-	93,8±2,2 **	12,38±1,0	38,0±1,9 **	0,87±0,01 **	7,8±1,5 **	22,3±4,5
II группа	Исходные	1,85±0,1 *	0,35±0,06	72,1±2,5 *	19,3±0,8 *	36,9±2,7 *	0,73±0,02 *	3,7±0,6 *	-
	ЭЗД	1,47±0,1 ***	-	47,4±4,5 ***	6,8±1,6 ***	20,3±2,3 ***	0,85±0,03 ***	6,8±1,2 ***	-20,5±7,6 *
	ЭНЗД	2,23±0,1 ***	-	64,9±4,2 *	11,4±0,8 **	29,2±1,1 ***	0,82±0,01 ***	5,6±0,9 ***	20,7±2,8
III группа	Исходные	1,15±0,05 *	0,3±0,05	91,0±3,7 *	16,3±1,2 *	41,2±2,4 *	0,83±0,01 *	5,6±0,9 *	-
	ЭЗД	1,38±0,08 ***	-	39,6±2,1 ***	5,2±0,8 ***	16,6±1,3 ***	0,87±0,01 ***	7,6±1,4	20,3±4,5
	ЭНЗД	1,45±0,06 ***	-	34,8±2,4 ***	5,8±0,9 ***	15,4±1,1 ***	0,84±0,01 *	6,0±1,1	26,0±5,2

**Примечания:** ЭЗД – эндотелийзависимая дилатация; ЭНЗД – эндотелийнезависимая дилатация; D – внутрисосудистый диаметр брюшного отдела аорты; КИМ – комплекс интима-медиа;  $V_{ps}$  – пиковая систолическая скорость кровотока;  $V_{ed}$  – максимальная конечная диастолическая скорость кровотока;  $V_m$  – средняя скорость кровотока; RI – индекс резистентности; S/D систолодиастолическое отношение; \* – достоверно ( $p < 0,05$ ) в сравнении с данными в контрольной группе; \*\* – достоверно ( $p < 0,05$ ) в сравнении с исходными данными.

арифметическую выборки (M), стандартную ошибку средней арифметической ( $\pm m$ ); достоверность различий (p) между выборками оценивали с использованием критерия Стьюдента, поскольку по критерию Шапиро-Уилка полученные данные отвечали нормальному закону распределения.

### Результаты исследований и их обсуждение.

Оценка изучаемых показателей свидетельствовала, что до начала эксперимента в обеих группах животных не отмечалось достоверной разницы.

На 10-й день эксперимента УЗИ брюшного отдела аорты у животных II группы, которых подвергали иммобилизационному стрессу, выявило достоверное, в сравнении с исходными данными и группой контроля, увеличение внутрипросветного диаметра исследуемого сосуда (**табл.**) и изменения со стороны КИМ в виде утолщения и отсутствия характерной двухслойности. В то время как у животных III группы, которых подвергали иммобилизационному стрессу на фоне ваготонии, было выявлено достоверное уменьшение внутрипросветного диаметра исследуемого сосуда (**табл.**), при этом, КИМ имел нормальную структуру, дифференцировку на слои, четкую линию поверхности и одинаковую толщину, как и в I группе.

Кроме того, во II группе животных, было выявлено достоверное снижение Vps, Vm и индексов, характеризующих периферическое сопротивление в сосуде и повышение Ved. У животных III группы отмечалось достоверное снижение Vps, Vm и повышение Ved. Индексы, характеризующие периферическое сопротивление также были снижены (**табл.**).

Данные **таблицы** свидетельствуют, что оценка ЭЗД во II группе животных выявила выраженную вазоконстрикцию брюшной аорты (KD < 10%), в то время как у животных III группы дилатация сосуда сохранялась в пределах нормы (KD > 10%). При оценке количественных характеристик кровотока у животных II и III группы было выявлено снижение показателей Vps, Ved и Vm, и увеличение RI и S/D. Полученные результаты указывали на развитие у животных II группы эндотелиальной дисфункции и жесткости стенки брюшной аорты. В то время как у животных III группы функция эндотелия была сохранена, однако отмечалась снижение упруго-эластических свойств стенок сосуда (**табл.**).

Оценка ЭЗД брюшной аорты выявила дилатацию исследуемого сосуда у животных всех групп, однако у крыс II группы значения внутрипросветного диаметра были достоверно выше, в сравнении с исходными данными и группой контроля, а у крыс III группы – ниже. При оценке значений количествен-

ных характеристик кровотока выяснилось, что после введения нитроглицерина у животных всех групп отмечалось снижение всех скоростных показателей. Кроме того, у животных II группы отмечалось достоверное увеличение индексов, характеризующих периферическое сопротивление в сосуде, в то время как у крыс III группы отмечалась лишь тенденция к увеличению, а у интактных крыс эти показатели снижались (**табл.**).

Общепринятой является концепция, что причиной ремоделирования сосудов могут выступать изменения условий гемодинамики или активности тканевых и гуморальных факторов [7]. Выявленные нами изменения гемодинамики в группах животных, которых подвергали только иммобилизационному стрессу и иммобилизационному стрессу на фоне ваготонии, не имели значимых различий, а сформировавшиеся изменения внутрипросветного диаметра, КИМ и функции эндотелия были достоверно значимыми, позволяют предположить, что ваготония изменяет активность тканевых или гуморальных факторов или чувствительность сосудистой стенки к ним. Это возможно через стимуляцию A7 никотиновых рецепторов ацетилхолина ( $\alpha 7nAChR$ ), которые широко представлены в центральной и периферической нервной системах, а также находится в некоторых не нейрональных тканях, в том числе в эндотелиальных клетках и в миоцитах сосудов [10]. Недавние исследования показывают, что через  $\alpha 7nAChR$  стимуляция блуждающего нерва вызывает ингибирование продукции провоспалительных цитокинов [11].

**Выводы.** Результаты наших исследований относительно ответа эндотелия сосудистой стенки свидетельствуют, что сопровождение хронического иммобилизационного стресса ваготонией у здоровых стодневных лабораторных крыс сохраняет структуру и функцию эндотелия и компенсаторные способности стенки сосуда. Однако, не предотвращает развития нарушений гемодинамики и центрального ремоделирования сосуда.

Хронический иммобилизационный стресс без введения антихолинэстеразного препарата приводит к развитию эндотелиальной дисфункции, ремоделированию сосуда по эксцентрическому типу, потере сосудистой стенкой упруго-эластических свойств и способности к компенсации патологических изменений.

### Перспективы дальнейших исследований.

Для понимания механизмов развития реакции стресс и дисфункции эндотелия при разных формах вегетативного дисбаланса необходимо проведение дополнительных исследований.

## Литература

1. Бабийчук Л.В. Влияние криоконсервированных ядросодержащих клеток кордовой крови на уровень конечных продуктов обмена оксида азота в сыворотке крови крыс различных возрастных групп на фоне стресс-индуцированной артериальной гипертензии / Л.В. Бабийчук, В.Г. Бабийчук, Л.А. Сиротенко [и др.] // Экспериментальна і клінічна медицина. – 2015. – № 3 (68). – С. 5-9.
2. Гаврелюк С.В. Возможности ультразвукового исследования сосудистого тонуса брюшного отдела аорты у лабораторных животных / С.В. Гаврелюк // Science Rise. — 2016. — № 10 (6). — С. 4-8.
3. Семенкин А.А. Недифференцированная дисплазия соединительной ткани как независимый предиктор структурно-функциональных изменений артерий / А.А. Семенкин, О.В. Дрокина, Г.И. Нечаева, Л.А. Живилова, А.Б. Женатов // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. — 2013. — Т. 12, № 3. — С. 29-34.

4. Судаков К.В. Эволюция концепции стресса / К.В. Судаков // Вестник РАМН. — 2008. — № 11. — С. 59-67.
5. Chumaeva N. Early atherosclerosis and cardiac autonomic responses to mental stress: a population-based study of the moderating influence of impaired endothelial function / N. Chumaeva, M. Hintsanen, T. Hintsala, N. Ravaja, M. Juonala [et al.] // BMC Cardiovascular Disorder. — 2010. — № 10. — P. 16.
6. Daviu N. Comparison of the effects of single and daily repeated immobilization stress on resting activity and heterotypic sensitization of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis / N. Daviu, C. Rabasa, R. Nadal, A. Armario // Stress. — 2014. — № 17 (2). — P. 176-185.
7. Gibbons H.H. The emerging concept of vascular remodeling / H.H. Gibbons, V.J. Dzau // N Engl J Med. — 1994. — Vol. 330. — P. 1431-1438.
8. He X. Novel strategies and underlying protective mechanisms of modulation of vagal activity in cardiovascular diseases / X. He, M. Zhao, X. Bi, L. Sun, X. Yu [et al.] // Br. J. Pharmacol. — 2015. — № 172. — P. 5489-5500.
9. Lataro R.M. Increase in parasympathetic tone by pyridostigmine prevents ventricular dysfunction during the onset of heart failure / R.M. Lataro, C.A. Silva, R. Fazan Jr., M.A. Rossi, C.M. Prado [et al.] // American Journal of Physiology — Regulatory, Integrative and Comparative Physiology Published. — 2013. — Vol. 305, № 8. — P. 908-916.
10. Li X.W. Non-neuronal nicotinic alpha 7 receptor, a new endothelial target for revascularization / X.W. Li, H. Wang // Life Sci. — 2006. — № 78 (16). — P. 1863-1870.
11. Liu C. Nicotinic acetylcholine receptor  $\alpha 7$  subunit: a novel therapeutic target for cardiovascular diseases / C. Liu, D. Su // Front Med. — 2012. — № 6 (1). — P. 35-40.
12. Lu Y. Pyridostigmine ameliorates cardiac remodeling induced by myocardial infarction via inhibition of the transforming growth factor- $\beta 1$ /TGF- $\beta 1$ -activated kinase pathway / Y. Lu, J.J. Liu, X.Y. Bi, X.J. Yu, S.S. Kong [et al.] // J. Cardiovasc. Pharmacol. — 2014. — № 63. — P. 412-420.
13. Payrits T. Vagal stimulation – a new possibility for conservative treatment of peripheral arterial occlusion disease / T. Payrits, A. Ernst, E. Ladits, H. Pokorny, I. Viragos [et al.] // Zentralbl Chir. — 2011. — № 136. — P. 431-435.
14. Qin F. Pyridostigmine prevents peripheral vascular endothelial dysfunction in rats with myocardial infarction / F. Qin, Y. Lu, X. He, M. Zhao, X. Bi [et al.] // Clin Exp Pharmacol Physiol. — 2014. — № 41. — P. 202-209.

УДК 612.1:616-073.432.19

### ВПЛИВ ВАГОТОНІЇ НА ПАРАМЕТРИ ГЕМОДИНАМІКИ І ФУНКЦІЮ ЕНДОТЕЛІЮ ПРИ ХРОНІЧНОМУ СТРЕСІ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Гаврелюк С. В.

**Резюме.** У роботі розглядаються актуальні питання вивчення механізмів адаптації серцево-судинної системи до дії іммобілізаційного стресу на тлі підвищеного тону парасимпатичного відділу ВНС. Дослідження виконані на трьох порівнянних групах щодобових щурів, які обстежувалися методом ультразвукового сканування протягом десятидобового терміну експерименту. Було виявлено, що супровід хронічного іммобілізаційного стресу ваготонією у здорових щодобових лабораторних щурів зберігає структуру і функцію ендотелію і компенсаторні можливості стінки судини. Однак, не запобігає розвитку порушень гемодинаміки і ремоделювання судини. У той час як хронічний іммобілізаційний стрес без введення антихолінестеразного препарату призводить до розвитку ендотеліальної дисфункції, ремоделюванню судини по ексцентричному типу, втраті судинної стінкою пружно-еластичних властивостей і здатності до компенсації патологічних змін.

**Ключові слова:** ваготонія, дисфункція ендотелію, черевна аорта, параметри гемодинаміки.

УДК 612.1:616-073.432.19

### ВЛИЯНИЕ ВАГОТОНИИ НА ПАРАМЕТРЫ ГЕМОДИНАМИКИ И ФУНКЦИЮ ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ СТРЕССЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Гаврелюк С. В.

**Резюме.** В работе рассматриваются актуальные вопросы изучения механизмов адаптации сердечно-сосудистой системы к воздействию иммобилизационного стресса на фоне повышенного тону парасимпатического отдела ВНС. Исследования выполнены на трех сопоставимых группах щодобовых крыс, которые обследовались методом ультразвукового сканирования на протяжении десятидневного срока эксперимента. Было выявлено, что сопровождение хронического иммобилизационного стресса ваготонией у здоровых щодобовых лабораторных крыс сохраняет структуру и функцию эндотелия и компенсаторные способности стенки сосуда. Однако не предотвращает развития нарушений гемодинамики и ремоделирования сосуда. В то время как хронический иммобилизационный стресс без введения антихолинэстеразного препарата приводит к развитию эндотелиальной дисфункции, ремоделированию сосуда по эксцентрическому типу, потере сосудистой стенкой упруго-эластических свойств и способности к компенсации патологических изменений.

**Ключевые слова:** ваготония, дисфункция эндотелия, брюшная аорта, параметры гемодинамики.

UDC 612.1:616-073.432.19

### EFFECT OF THE VAGOTONIA ON THE PARAMETERS HEMODYNAMICS AND ENDOTHELIAL FUNCTION IN THE EXPERIMENT WITH CHRONIC STRESS

Gavreliuk S. V.

**Abstract.** The paper deals with topical issues in the study of the mechanisms of adaptation of the cardiovascular system to the emotional stress on the background of the increased tone of the parasympathetic division of the ANS.

*The aim of this study* was to evaluate changes in the ultrasonic characteristics of hemodynamics and abdominal aorta endothelial function on vagotonia prolonged chronic stress model.

The studies were performed on the three hundred day comparable groups of rats that were examined by ultrasound scan during the ten-day period of experiment. The first group consisted of intact animals, the second group — animals that were subjected to immobilization stress and third group — rats, which were subjected to immobilization stress on the background of the increased tone in parasympathetic division of the ANS, which is achieved by introducing a reversible anticholinesterase drug action — pyridostigmine bromide.

During the ultrasound B-mode research we've conducted a quantitative estimate of the intraluminal diameter of the vessel, the thickness of the intima of the complex — media, endothelium and endothelium dilation. The pulsed wave Doppler mode, quantitative study was carried out blood flow characteristics: peak systolic velocity of blood flow, maximal end-diastolic flow velocity, resistance index and systolic ratio. FAQ blood flow rate calculated according to the formula.

As a result of analysis in variance hemodynamic revealed some features of the restructuring of the reaction vessel wall, depending on the vegetative support immobilization stress.

In particular, immobilization stress on the 10<sup>th</sup> day caused an increase in intraluminal diameter of the abdominal aorta and changes in the CMM as a thickening, lack of typical double-layer and perverse response to acetylcholine chloride. Also developed hemodynamic changes speed performance that characterized the decline in the average flow velocity and the loss of the vessel wall elastic properties. While support immobilization stress anticholinesterase drug administration caused by a reduction of abdominal aortic intraluminal diameter while maintaining the structure and thickness of the CMM and sensitivity to acetylcholine chloride. However, developed hemodynamic instability and a tendency to increase the stiffness of the abdominal aorta wall.

To understand the reaction mechanisms of stress and endothelial dysfunction in vegetative imbalance is necessary to conduct additional studies. The results of our studies on the response of the endothelium of the vascular wall demonstrate that maintenance of chronic immobilization stress vagotonia healthy laboratory rats hundred day keeps the structure and function of the endothelium and compensatory ability of the vessel wall. However, it does not prevent the development of hemodynamic and vascular remodeling.

Chronic administration without immobilization stress anticholinesterase drug leads to the development of endothelial dysfunction, vascular remodeling in an eccentric type, vascular wall loss elastic properties and the ability to compensate for pathological changes.

**Keywords:** vagotonia, endothelial dysfunction, abdominal aorta, hemodynamic parameters.

*Рецензент — проф. Костенко В. О.*

*Стаття надійшла 12.12.2016 року*