

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА ТА БІОЛОГІЯ

УДК612.1:616-073.432.19

Гаврелюк С.В., Левенец С. В.

### ВЛИЯНИЕ ВАГОТОНИИ НА ПАРАМЕТРЫ ГЕМОДИНАМИКИ И ФУНКЦИЮ ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ БЛОКАДЕ СВ1 РЕЦЕПТОРОВ КАННАБИНОИДОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко, г. Старобельск  
Кабинет ультразвуковой диагностики, г. Славянск

*В работе рассматриваются актуальные вопросы изучения механизмов адаптации сердечно-сосудистой системы к воздействию ваготонии на фоне длительной блокады СВ1 рецепторов каннабиноидов. Исследования выполнены на четырех сопоставимых группах стодневных крыс линии Вистар, которые обследовались методом ультразвукового сканирования на протяжении десятидневного срока воздействия блокады СВ1 рецепторов каннабиноидов на фоне ваготонии. В результате проведенного эксперимента было установлено, что длительная ваготония у стодневных самцов крыс вызывает уменьшение внутрипросветного диаметра брюшной аорты, нарушение функции эндотелия и повышение жесткости сосудистой стенки. Длительная блокада СВ1 рецепторов каннабиноидов в сопоставимом эксперименте вызывает уменьшение внутрипросветного диаметра брюшной аорты, утрату реакции эндотелия на ацетилхолин и повышение жесткости стенки сосуда с нарушением ЭНЗД. Сопровождение же длительной блокады СВ1 рецепторов каннабиноидов ваготонией сохраняет функцию эндотелия, эластичность сосудистой стенки и нормальную реакцию на нитроглицерин, однако не предотвращает развития нарушений гемодинамики и уменьшения внутрипросветного диаметра брюшной аорты.*

Ключевые слова: рецепторы каннабиноидов, дисфункция эндотелия, брюшная аорта, параметры гемодинамики.

*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» под номером государственной регистрации темы 019800026641.*

С момента открытия фитоканнабиноидов в 1960-х годах и идентификации эндоканнабиноидов в начале 1990-х годов изучается влияние каннабиноидов на функцию сердечно-сосудистой системы (ССС) [7]. Установлено участие эндоканнабиноидной системы в регуляции сердечного выброса, контроле системного артериального давления и регионального сосудистого сопротивления [10]. Мишенями каннабиноидов в сосуде являются периваскулярные нервные волокна, эндотелиальные и гладкомышечные клетки [4,12]. Активация СВ1 рецепторов каннабиноидов вызывает расширение сосудов и гипотензию, при этом эффект проявляется даже при удалении эндотелия [11]. Однако, некоторые исследователи считают, что доминирующим механизмом действия каннабиноидов на ССС является модуляция вегетативной нервной системы (ВНС) на пресинаптическом уровне [6].

Известно, что в норме парасимпатический отдел ВНС не участвует в иннервации кровеносных сосудов, а нервная регуляция их просвета осуществляется преимущественно симпатическим отделом. При патологии ССС вегетативный баланс смещается в сторону симпатиче-

ского преобладания [1,2], поэтому в последние годы для коррекции этих нарушений как одно из новых стратегических направлений изучается стимуляция парасимпатической нервной системы [3,8]. Описаны результаты благоприятного воздействия на ССС и эндотелий кратковременного введения пиридостигмина, который смещает вегетативный баланс в сторону парасимпатического преобладания [9,13].

Однако, до сих пор мало исследований, посвященных непосредственно изучению сосудистой функции в условиях блокады рецепторов каннабиноидов на фоне ваготонии.

#### Цель исследования

Оценить изменения ультразвуковых характеристик гемодинамики и функции эндотелия брюшной аорты на модели ваготонии при длительной блокаде СВ1 рецепторов каннабиноидов в эксперименте.

#### Объект и методы исследования

Данное исследование было проведено у 40 стодневных самцов лабораторных крыс линии Wistar массой 180–200 г.

Блокада рецепторов каннабиноидов достига-

лась введением селективного антагониста CB1 с центральным и периферическим действием – римонабанта гидрохлорида, ваготония моделировалась введением антихолинэстеразного препарата обратимого действия – пиридостигмина бромидом.

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 4 группы по 10 в каждой: I группа – контрольная – животные, которым ежедневно *per os* вводили 1 мл 0,9 % раствора NaCl, II группа – крысы, которым ежедневно *per os* вводили свежеприготовленный раствор пиридостигмина бромидом из расчета 0,15 мг·кг<sup>-1</sup> массы в сутки, III группа – животные, которым ежедневно *per os* вводили раствор римонабанта гидрохлорида из расчета 10 мг·кг<sup>-1</sup> массы в сутки и IV группа – животные, которым ежедневно вводили: *per os* раствор римонабанта гидрохлорида из расчета 10 мг·кг<sup>-1</sup> и раствор пиридостигмина бромидом из расчета 0,15 мг·кг<sup>-1</sup> массы в сутки. Длительность эксперимента составила 10 дней. Животных на 10-е сутки выводили из эксперимента путем декапитации в состоянии наркоза (калпосол из расчета 16 мг·кг<sup>-1</sup> массы животного внутрибрюшинно).

Перед началом и на 10-й день эксперимента проводили ультразвуковое исследование (УЗИ) брюшного отдела аорты, используя стационарный сканер «Харіо» (Toshiba, Япония) с широкополосным линейным датчиком с рабочей апертурой 40 мм и частотой 5-12 МГц. В В-режиме проводили количественную оценку внутрипросветного диаметра сосуда (D), толщины комплекса интима – медиа (КИМ), эндотелийзависимую (ЭЗД) и эндотелийнезависимую (ЭНЗД) дилатацию. В режиме импульсноволновой доплерографии (PW-режим) осуществляли исследование количественных характеристик кровотока: пиковую систолическую скорость кровотока (V<sub>ps</sub>), □ максимальную конечную диастолическую скорость кровотока (V<sub>ed</sub>), □ индекс резистентности (RI) и систолодиастолическое отношение (S/D). Среднюю скорость кровотока (V<sub>m</sub>) рассчитывали по формуле:

$$V_m = \frac{V_{ps} + 2V_{ed}}{3}$$

где V<sub>ps</sub> – пиковая систолическую скорость кровотока, V<sub>ed</sub> – максимальная конечная диастолическая скорость кровотока.

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

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

где D<sub>1</sub> – диаметр брюшной аорты после введения медиатора дилатации, D<sub>0</sub> – 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 мг·кг<sup>-1</sup> массы животного) и нитроглицерина (из расчета 2 мг·кг<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 InStat (США). Определяли среднюю арифметическую выборки (M), стандартную ошибку средней арифметической (±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 во всех группах животных не отмечалось достоверной разницы.

На 10-й день эксперимента ультразвуковым исследованием брюшного отдела аорты у животных II, III и IV групп было выявлено достоверное уменьшение внутрипросветного диаметра исследуемого сосуда. Во всех опытных группах отмечалось снижение (p < 0,05) значений V<sub>ps</sub> и V<sub>m</sub> в сравнении с данными I группы. Значения индексов, характеризующих периферическое сопротивление стенки сосуда, были достоверно снижены во всех опытных группах по сравнению с группой контроля (табл. 1).

Данные таблицы 1 свидетельствуют, что после болюсного введения ацетилхолина хлорида у животных III группы была выявлена выраженная вазоконстрикция брюшной аорты (KD < 0 %), в то время как у животных I, II и IV групп отмечалась дилатация сосуда. При этом в I и IV группах расширение брюшной аорты было в пределах нормы (KD > 10 %), а во II группе отмечалась недостаточная дилатация исследуемого сосуда (KD < 10 %). При оценке количественных характеристик кровотока у животных I, III и IV групп выявлялось снижение показателей V<sub>ps</sub>, в то время как у крыс II группы значения этого показателя достоверно увеличивались. Кроме того, оценка ЭЗД выявила достоверное снижение V<sub>ed</sub> и V<sub>m</sub> в III и IV группах животных, в то время как во II группе значение показателя

Ved не менялось, а Vm – достоверно увеличилось. В контрольной же группе отмечалось повышение значения показателя Ved, при этом Vm – не изменялось. Значения индексов, характеризующих периферическое сопротивление

стенки сосуда, имели тенденцию к повышению во всех опытных группах, что характеризовало повышение жесткости сосудистой стенки. В группе контроля RI и S/D достоверно снижались (см. табл. 1).

Таблица 1

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

№ группы		D (мм)	КИМ (мм)	Vps (см·с <sup>-1</sup> )	Ved (см·с <sup>-1</sup> )	Vm (см·с <sup>-1</sup> )	RI	S/D	KD (%)
I группа	Исходные	1,52±0,08	0,28±0,04	159,4±2,1	11,4±1,6	59,6±2,7	0,93±0,01	15,0±2,2	-
	ЭЗД	1,83±0,1**	-	135,8±3,2**	21,5±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**	12,4±1,0	38,0±1,9**	0,87±0,01**	7,8±1,5**	22,3±4,5
II группа	Исходные	1,2±0,08*	0,32±0,04	57,3±2,3*	10,1±0,9	25,8±1,8*	0,82±0,01*	5,8±0,7*	-
	ЭЗД	1,3±0,08*	-	104,0±7,8**	9,8±1,8*	41,2±1,5**	0,9±0,02**	10,6±1,1**	9,3±3,1*
	ЭНЗД	1,5±0,08**	-	83,4±4,1**	5,5±1,3**	31,5±2,3**	0,91±0,02**	15,2±1,2**	25,3±2,7
III группа	Исходные	1,3±0,05*	0,3±0,04	81,0±4,0*	14,2±0,9	36,5±1,5*	0,83±0,02*	5,7±0,6*	-
	ЭЗД	1,1±0,05**	-	48,9±3,4**	7,9±1,5**	21,5±1,4**	0,85±0,03	6,3±1,2	- 10,3±3,7*
	ЭНЗД	1,4±0,04*	-	39,9±3,1**	7,7±0,9**	18,4±1,5**	0,82±0,01	5,2±0,9	9,0±1,3*
IV группа	Исходные	1,1±0,08*	0,3±0,05	83,1±6,3*	14,0±2,8	37,0±2,6*	0,83±0,01*	6,0±1,3*	-
	ЭЗД	1,2±0,1*	-	47,3±3,7**	5,6±1,3**	19,5±2,1**	0,88±0,02**	8,8±2,9	10,5±2,7
	ЭНЗД	1,25±0,1*	-	35,0±2,5**	8,6±1,9*	17,4±1,7**	0,76±0,01**	4,1±0,8*	13,7±4,9

Примечания: ЭЗД – эндотелийзависимая дилатация; ЭНЗД – эндотелийнезависимая дилатация; D – внутрисосудистый диаметр брюшного отдела аорты; КИМ – комплекс интима-медиа; Vps – пиковая систолическая скорость кровотока; Ved – максимальная конечная диастолическая скорость кровотока; Vm – 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.

Оценка ЭНЗД брюшной аорты выявила дилатацию исследуемого сосуда у животных всех групп, однако у крыс III группы увеличение внутрисосудистого диаметра было недостаточным (KD <10 %). При оценке значений количественных характеристик кровотока выяснилось, что после введения нитроглицерина у животных I, III и IV групп отмечалось снижение значений Vps и Vm, в то время как во II группе значения этих показателей достоверно повышались. Значения Ved снижались лишь во II и III группах. Индексы, характеризующие периферическое сопротивление в сосуде после введения нитроглицерина, снижались в I, III и IV группах, в то время как во II группе было выявлено их повышение (см. табл. 1).

Существует гипотеза, что устойчивая чрезмерная симпатическая активация разрушительна, а хроническая парасимпатическая активация – защитна [1]. Однако результаты наших исследований в моделировании длительной ваготонии у здоровых животных свидетельствуют о развитии нарушений функции эндотелия и повышения жесткости сосудистой стенки. В то же время, сопровождение ваготонией длительной блокады СВ1 рецепторов каннабиноидов сохраняет функцию эндотелия и эластичность стенки сосуда, но не предотвращает развития нарушений гемодинамики и уменьшения внутрисосудистого диаметра брюшной аорты. Повидимому, это связано с тем, что активность рецепторов каннабиноидов в отношении сосудов меняется в зависимости от условий гомеостаза при развитии патологического процесса [5,14].

### Выводы

Таким образом, в результате проведенного

эксперимента было установлено, что длительная ваготония у стодневных самцов крыс линии Вистар приводит к уменьшению внутрисосудистого диаметра брюшной аорты, нарушению функции эндотелия и повышению жесткости сосудистой стенки. Длительная блокада СВ1 рецепторов каннабиноидов в сопоставимом эксперименте вызывает уменьшение внутрисосудистого диаметра брюшной аорты, развитие эндотелиальной дисфункции с повышением жесткости стенки сосуда и нарушением ЭНЗД. Сопровождение длительной блокады СВ1 рецепторов каннабиноидов ваготонией сохраняет функцию эндотелия, эластичность сосудистой стенки и нормальную реакцию на нитроглицерин, однако не предотвращает развития нарушений гемодинамики и ремоделирования сосуда по рестриктивному типу.

Для понимания механизмов развития дисфункции эндотелия при сочетании вегетативных нарушений с блокадой СВ1 рецепторов каннабиноидов необходимо проведение дополнительных исследований.

### Литература

1. Abboud F.M. The Walter B. Cannon Memorial Award Lecture. Physiology in perspective: the wisdom of the body. In search of autonomic balance: the good, the bad, and the ugly. / F.M. Abboud // Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. – 2010. – №298. – P.1449-1467.
2. Abboud F.M. Autonomic neural regulation of the immune system: implications for hypertension and cardiovascular disease. / F.M. Abboud, S.C. Harwani, M.W. Chapleau // Hypertension. – 2012. – №59. – P.755-762.
3. 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.
4. Lipez-Miranda V. Vasorelaxation caused by cannabinoids. Mechanisms in different vascular beds. / V. Lipez-Miranda, E. Herradon, M.I. Martin // Curr. Vasc. Pharmacol. – 2008. - №6. – P.335-346.

5. Lobato N.S. Reduced endothelium-dependent relaxation to anandamide in mesenteric arteries from young obese Zucker rats. / N.S. Lobato, F.P. Filgueira, R. Prakash, F.R. Giachini, A. Ergul et al. // *PLoS One*. – 2013. – №8 – P.63449.
6. Malinowska B. Triphasic blood pressure responses to cannabinoids: do we understand the mechanism? / B. Malinowska, M. Baranowska-Kuczko, E. Schlicker // *Br. J. Pharmacol.* – 2012. – № 165. – P. 2073-2088.
7. Montecucco F. At the heart of the matter: the endocannabinoid system in cardiovascular function and dysfunction. / F. Montecucco, V. Di Marzo // *Trends Pharmacol.* – 2012. – №33. – P.331-340.
8. 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. – C. 431-435.
9. Sabino J.P.J. The treatment with pyridostigmine improves the cardiocirculatory function in rats with chronic heart failure. / J.P.J Sabino, C.A.A. da Silva CAA, R.F. de Melo, R.Jr. Fazan, H.C. Salgado // *Auton Neurosci Basic Clin.* – 2013. – №173. – P.58-64.
10. Stanley C. Vascular targets for cannabinoids: animal and human studies. / C. Stanley, S.E. O'Sullivan // *Br J Pharmacol.* – 2014. – №171. – P.1361-1378.
11. Szekeres M. Angiotensin II induces vascular endocannabinoid release, which attenuates its vasoconstrictor effect via CB1 cannabinoid receptors. / M. Szekeres, G.L. Nadasy, G. Turu, E. Soltész-Katona, Z.E. Toth et al. // *J Biol Chem.* – 2012. – № 287(37). – P. 31540-31550.
12. Tiyerili V. CB1 receptor inhibition leads to decreased vascular AT1 receptor expression, inhibition of oxidative stress and improved endothelial function. / V. Tiyerili, S. Zimmer, S. Jung, K. Wassmann, C.P. Naehle [et al.] // *Basic Res Cardiol.* – 2010. – № 105(4). – P. 465-477.
13. 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.
14. Wheal A.J. Effects of chronic nitric oxide synthase inhibition on the cardiovascular responses to cannabinoids in vivo and in vitro. / A.J. Wheal, T. Bennett, M.D. Randall, S.M. Gardiner // *Br. J. Pharmacol.* – 2007. – №150 – P.662-671.

### Реферат

ВПЛИВ ВАГОТОНІЇ НА ПАРАМЕТРИ ГЕМОДИНАМІКИ І ФУНКЦІЮ ЕНДОТЕЛІЇ ЗА ТРИВАЛОЇ БЛОКАДИ СВ1 РЕЦЕПТОРІВ КАНАБІНОЇДІВ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Гаврелюк С.В., Левенець С.В.

Ключові слова: рецептори канабіноїдів, дисфункція ендотелію, черевна аорта, параметри гемодинаміки.

У роботі розглядаються актуальні питання вивчення механізмів адаптації серцево-судинної системи до дії ваготонії на тлі тривалої блокади СВ1 рецепторів канабіноїдів. Дослідження виконані на чотирьох порівнянних групах стодобових щурів лінії Вістар, які обстежувалися методом ультразвукового сканування протягом десятидобового терміну дії блокади СВ1 рецепторів канабіноїдів на тлі ваготонії. В результаті проведеного експерименту було встановлено, що тривала ваготонія у стодобових самців щурів викликає зменшення внутрішньопросвітнього діаметру черевної аорти, порушення функції ендотелію і підвищення жорсткості судинної стінки. Тривала блокада СВ1 рецепторів канабіноїдів в порівняльному експерименті викликає зменшення внутрішньопросвітнього діаметру черевної аорти, втрату реакції ендотелію на ацетилхолін і підвищення жорсткості стінки судини з порушенням ЕНЗД. Супровід же тривалої блокади СВ1 рецепторів канабіноїдів ваготонією зберігає функцію ендотелію, еластичність судинної стінки і нормальну реакцію на нітрогліцерин, проте не запобігає розвитку порушень гемодинаміки і зменшення внутрішньопросвітнього діаметру черевної аорти.

### Summary

IMPACT OF VAGOTONIA ON HEMODYNAMIC PARAMETERS AND FUNCTIONS OF ENDOTHELIUM UNDER PROLONGED CB1 CANNABINOID RECEPTOR BLOCKADE IN EXPERIMENT

Havrelyuk S.V., Levenets S.V.

Key words: cannabinoid receptors, endothelial dysfunction, abdominal aorta, hemodynamic parameters.

This article describes the issues on the adaptation mechanisms of cardiovascular system to vagotonia against the prolonged blockade of CB1 cannabinoid receptors. The study involved four groups of comparable 100-day old Wistar rats, which were examined by ultrasound scan for 10-day blockade of CB1 cannabinoid receptors under vagotonia. The results of the experiment have showed prolonged vagotonia in 100-day old male rats causes a narrowing of diameter in the abdominal aorta, endothelial dysfunction and increased rigidity of the vascular wall. The prolonged blockade of the CB1 cannabinoid receptors in comparable groups results in luminal narrowing of the abdominal aorta, the loss of endothelial response to acetylcholine and increased vessel wall stiffness. Prolonged blockade of the CB1 cannabinoid receptor under vagotonia preserves endothelial function, elasticity of the vascular walls and normal reaction to nitro-glycerine, but does not prevent the development of hemodynamic impairments and narrowing of the abdominal aorta diameter.