

ВЛИЯНИЕ ДОНАТОРА NO НА ПАРАМЕТРЫ ГЕМОДИНАМИКИ И ФУНКЦИЮ ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ БЛОКАДЕ СВ1 РЕЦЕПТОРОВ КАННАБИНОИДОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Национальный университет физического воспитания и спорта Украины (г. Киев)

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» под номером государственной регистрации темы 019800026641.

Вступление. По современным представлениям, эндотелий представляет собой метаболически активный орган, который играет решающую роль в регуляции сосудистого гомеостаза и предотвращении развития патологии сердечно-сосудистой системы, контролируя тонус сосудов [11]. Участие эндотелия в вазодилатации опосредуется влиянием на него оксида азота, простаглицина и процесса эндотелийзависимой гиперполяризации [5, 12].

Данные последних исследований указывают на то, что оксид азота и эндоканнабиноидная система во время стрессовых ситуаций могут взаимодействовать [3,4]. Установлено, что активация СВ1 рецепторов каннабиноидов ведет к синтезу или высвобождению NO [6,7]. Введение агонистов СВ1 рецепторов вызывает расширение сосудов, снижение артериального давления и уменьшение периферического сопротивления, при этом эффект проявляется даже при удалении эндотелия [10]. Мишенями каннабиноидов в сосуде, являются эндотелиальные и гладкомышечные клетки и периваскулярные нервные волокна [9]. Кроме того известно, что антагонизм СВ1 рецепторов или ингибирование синтеза 2-арахидонилглицерина могут усиливать вазоконстрикторные эффекты ангиотензина II [10].

Однако, до сих пор актуальны исследования посвященные изучению влияния донаторов NO на функцию сосудов в условиях адаптации к блокаде рецепторов каннабиноидов.

Целью настоящего исследования было оценить изменения ультразвуковых характеристик гемодинамики и функции эндотелия брюшной аорты на модели сопровождения длительной блокады СВ1 рецепторов каннабиноидов непрямым донатором оксида азота L-аргинина аспаратом у экспериментальных животных.

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

В качестве модели блокады СВ1 рецепторов каннабиноидов было выбрано введение селектив-

ного антагониста СВ1 с центральным и периферическим действием – римонабанта гидрохлорида. В качестве непрямого донатора NO использовали препарат L-аргинина аспартата – тивортин аспартат. 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 группы по 10 в каждой: I группа – контрольная – животные, которым ежедневно *per os* вводили 1,0 мл 0,9% раствора NaCl, II группа – крысы, которым ежедневно *per os* вводили раствор римонабанта гидрохлорида из расчета 10 мг·кг⁻¹ и III группа – животные, которым ежедневно *per os* вводили раствор римонабанта гидрохлорида из расчета 10 мг·кг⁻¹ и раствор тивортина аспартата из расчета 100 мг L-аргинина аспартата на кг массы животного в сутки. Длительность эксперимента составила 10 дней. Животных на 10-е сутки выводили из эксперимента путем декапитации в состоянии наркоза (калипсол из расчета 16 мг·кг⁻¹ массы животного внутривентриально).

Перед началом и на 10-й день эксперимента проводили ультразвуковое исследование (УЗИ) брюшной 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 внутрисосудового 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: пиковую систолическую скорость кровотока (V_{ps}), максимальную конечную диастолическую скорость кровотока (V_{ed}), индекс резистентности (RI) и систолидиастолическое 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:

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

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 мг·кг⁻¹ массы животного) и нитроглицерина (из расчета 2 мг·кг⁻¹ 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 ($\pm m$); 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 во всех группах животных не отмечалось достоверной разницы.

На 10-й день эксперимента ультразвуковым исследованием брюшного отдела аорты у животных II группы было выявлено достоверное уменьшение внутрипросветного диаметра исследуемого сосуда, а комплекс интима-медиа визуализировался в виде гомогенной рыхлой структуры и не имел характерной двухслойности. В то время как у крыс III группы, также как и у животных I группы, сохранялись прежние размеры внутрипросветного диаметра брюшной аорты, а комплекс интима-медиа имел нормальную структуру, дифференцировку на слои, четкую линию поверхности и одинаковую толщину. Изменения значений параметров гемодинамики характеризовались достоверным, в сравнении с данными группы контроля, снижением значений Vps и Vm у крыс II и III групп, и повышением Ved у животных III группы. Значения индексов характеризующих периферическое сопротивление стенки сосуда были достоверно снижены во всех опытных группах по сравнению с группой контроля (**табл.**).

После болюсного введения ацетилхолина хлорида у животных II группы была выявлена выраженная вазоконстрикция брюшной аорты (KD < 0%), в то время как у животных I и III групп отмечалась дилатация сосуда в пределах нормы (KD > 10%). При оценке количественных характеристик кровотока во всех группах животных выявлялось снижение показателей Vps. Кроме того, оценка ЭЗД выявила досто-

верное снижение Ved и Vm во II и III группах животных, в то время как в группе контроля значения этих показателей увеличивались. Значения индексов, характеризующих периферическое сопротивление стенки сосуда в опытных группах повышались, в то время как в группе контроля эти индексы достоверно снижались (**табл.**).

Оценка ЭНЗД брюшной аорты выявила дилатацию исследуемого сосуда у животных всех групп, однако у крыс II группы увеличение внутрипросветного диаметра было недостаточным (KD < 10%), а у животных III группы отмечалась повышенная чувствительность к нитроглицерину и дилатация сосуда сохранялась в пределах нормы (KD > 10%). При оценке значений количественных характеристик кровотока выяснилось, что после введения нитроглицерина у всех исследуемых животных отмечалось снижение значений всех скоростных показателей. Кроме того, у животных I и II групп отмечалось достоверное снижение индексов, характеризующих периферическое сопротивление в сосуде, в то время как у животных III группы значения этих показателей, по сравнению с исходными данными, достоверно повышались (**табл.**).

Таким образом, в результате проведенного эксперимента (M) было установлено, что длительная блокада CB1 рецепторов каннабиноидов у стодневных самцов крыс линии Вистар приводит к развитию эндотелиальной дисфункции, уменьшению внутрипросветного диаметра брюшной аорты и снижению Vps и Vm при сохранении упруго эластических свойств сосудистой стенки. При этом нарушается чувствительность стенки сосуда к оксиду азота, что проявляется его недостаточной дилатацией после введения нитроглицерина.

При сопровождении длительной блокады CB1 рецепторов каннабиноидов введением L-аргинина аспартата внутрипросветный диаметр, структура и функция эндотелия брюшной аорты сохраняются, а чувствительность стенки сосуда к нитроглицерину повышается. Нарушение гемодинамики характеризуется снижением Vps и Vm на фоне повышения эластичности сосудистой стенки.

Имеются данные, что в условиях после инфаркта миокарда и при метаболическом синдроме блокада CB1 рецепторов каннабиноидов вызывает уменьшение артериальной жесткости и оказывает кардиопротекторное действие [8]. Результаты, полученные нами при моделировании длительной блокады CB1 рецепторов каннабиноидов, показали, что при отсутствии в организме патологического процесса блокада CB1 рецепторов вызывает структурные изменения в стенке брюшной аорты с утратой функции эндотелия и нарушением функции мезотелия. Эти нарушения отсутствуют при сопровождении блокады CB1 рецепторов введением L-аргинина, который взаимодействуя с молекулярным кислородом под влиянием NO-синтазы, образует оксид азота [1]. Этот факт подтверждает гипотезу о влиянии активации CB1 рецепторов на высвобождение NO, которая может меняться в зависимости от условий поддержания гомеостаза при развитии патологического процесса [2].

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

№ группы		D (мм)	КИМ (мм)	Vps (смЧ)	Ved (смЧ)	Vm (смЧ)	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	1,3±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*
III группа	Исходные	1,55±0,05	0,29±0,05	100,4±4,9*	19,1±0,9*	46,2±3,1*	0,81±0,02*	5,3±0,6*	–
	ЭЗД	1,77±0,06**	–	80,7±3,5***	8,2±0,8***	32,4±2,6***	0,89±0,02**	9,9±1,6**	17,2±3,3
	ЭНЗД	2,1±0,08**	–	89,9±4,1	8,9±0,7***	35,9±2,1**	0,9±0,01**	10,2±1,4**	32,2±4,8

Примечания: ЭЗД – эндотелийзависимая дилатация; ЭНЗД – эндотелийнезависимая дилатация; D – внутрипросветный 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.

Выводы

1. Длительная блокада CB1 рецепторов каннабиноидов в физиологических условиях вызывает у стодневных крыс грубые нарушения гемодинамики, развитие эндотелиальной дисфункции и ремоделирование брюшной аорты по констриктивному типу с повышением жесткости стенки сосуда и нарушением ЭНЗД.

2. Сопровождение длительной блокады CB1 рецепторов каннабиноидов введением L-аргинина аспартата из расчета 100 мг на кг массы животного в сутки сохраняет диаметр брюшной аорты, структуру

и функцию эндотелия и повышает чувствительность стенки сосуда к оксиду азота.

3. При сопровождении длительной блокады CB1 рецепторов каннабиноидов введением L-аргинина аспартата формируется нарушение гемодинамики и повышается эластичность сосудистой стенки.

Перспективы дальнейших исследований.

Для понимания механизмов развития дисфункции эндотелия при сочетании донаторов оксида азота с блокадой CB1 рецепторов каннабиноидов необходимо проведение дополнительных исследований.

Литература

- Bescos R. The Effect of Nitric-Oxide-Related Supplements on Human Performance / R. Bescos, A. Sureda, J.A. Tur, A. Pons // Sports Medicine. – 2012. – № 42 (3). – P. 1-19.
- 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.
- Lisboa S.F. Complex interaction between anandamide and the nitergic system in the dorsolateral periaqueductal gray to modulate anxiety-like behavior in rats / S.F. Lisboa, A.C. Magesto, J.C. Aguiar, L.B. Resstel, F.S. Guimaraes // Neuropharmacology. – 2013. – № 75. – P. 86-94.
- Lisboa S.F. Cannabinoid modulation of predator fear: involvement of the dorsolateral periaqueductal gray / S.F. Lisboa, L.H. Camargo, A.C. Magesto, L.B. Resstel, F.S. Guimaraes // Int J Neuropsychopharmacol. – 2014. – № 17. – P. 1193-1206.
- Mokhtar S.S. Role of Endothelium-Dependent Hyperpolarisation and Prostacyclin in Diabetes / S.S. Mokhtar, A.H.G. Rasool // The Malaysian Journal of Medical Sciences. – 2015. – № 22 (2). – P. 8-17.
- Poblete I.M. Anandamide elicits an acute release of nitric oxide through endothelial TRPV1 receptor activation in the rat arterial mesenteric bed / I.M. Poblete, M.L. Orliac, R. Briones, E. Adler-Graschinsky, J.P. Huidobro-Toro // J Physiol. – 2005. – № 568 (2). – P. 539-551.
- Sarac B. Effects of cannabinoid agonists on sheep sphincter of oddi in vitro / B. Sarac, N. Durmus, A. Altun, M. Turan, M. Sencan [et al.] // Pancreatology. – 2011. – № 11 (4). – P. 428-433.
- Slavic S. Cannabinoid receptor 1 inhibition improves cardiac function and remodelling after myocardial infarction and in experimental metabolic syndrome / S. Slavic, D. Lauer, M. Sommerfeld, U.R. Kemnitz, A. Grzesiak [et al.] // Journal of Molecular Medicine. – 2013. – № 7 (91). – P. 811-823.

9. Sverrisdottir Y.B. Muscle Sympathetic Nerve Activity Is Related to a Surrogate Marker of Endothelial Function in Healthy Individuals / Y.B. Sverrisdottir, L.M. Jansson, U. Hdg, L.-M. Gan // PLOS ONE. – 2010. – № 5 (2). – P. 9257.
10. 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. Soltesz-Katona, Z.E. Toth [et al.] // J Biol Chem. – 2012. – № 287 (37). – P. 31540-31550.
11. Villar I.C. Novel aspects of endothelium-dependent regulation of vascular tone / I.C. Villar, S. Francis, A. Webb, A.J. Hobbs, A. Ahluwalia // Kidney International. – 2006. – № 70. – P. 840-853.
12. Zhao Y. Vascular nitric oxide: Beyond eNOS / Y. Zhao, P.M. Vanhoutte, S.W. Leung // Pharmacol Sci. – 2015. – № 129 (2). – P. 83-94.

УДК 612.1:616-073.432.19

ВПЛИВ ДОНАТОРУ NO НА ПАРАМЕТРИ ГЕМОДИНАМІКИ І ФУНКЦІЮ ЕНДОТЕЛІУ ПРИ ТРИВАЛІЙ БЛОКАДІ СВ1 РЕЦЕПТОРІВ КАНАБІНОЇДІВ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Гаврелюк С. В., Гуніна Л. М.

Резюме. У роботі розглядаються актуальні питання вивчення механізмів адаптації серцево-судинної системи до дії блокади рецепторів канабіноїдів на тлі введення донатору оксиду азоту. Дослідження виконані на трьох порівнянних групах щодобових щурів, які обстежувалися методом ультразвукового сканування протягом десятидобового терміну експерименту. Було виявлено, що тривала блокада СВ1 рецепторів канабіноїдів у досліджуваних тварин призводить до розвитку ендотеліальної дисфункції, зменшенню внутрішньопросвітнього діаметра черевної аорти та зниження середньої швидкості кровотоку при збереженні пружно еластичних властивостей судинної стінки. При цьому порушується чутливість стінки судини до оксиду азоту, що проявляється його недостатньою дилатацією після введення нітрогліцерину. При супроводі тривалої блокади СВ1 рецепторів канабіноїдів введенням L-аргініну аспартату внутрішньопросвітній діаметр, структура і функція ендотелію черевної аорти зберігаються, а чутливість стінки судини до нітрогліцерину підвищується. Однак формується порушення гемодинаміки і підвищується жорсткість судинної стінки.

Ключові слова: рецептори канабіноїдів, дисфункція ендотелію, черевна аорта, оксид азоту.

УДК 612.1:616-073.432.19

ВЛИЯНИЕ ДОНАТОРА NO НА ПАРАМЕТРЫ ГЕМОДИНАМИКИ И ФУНКЦИЮ ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ БЛОКАДЕ СВ1 РЕЦЕПТОРОВ КАННАБИНОИДОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Гаврелюк С. В., Гунина Л. М.

Резюме. В работе рассматриваются актуальные вопросы изучения механизмов адаптации сердечно-сосудистой системы к воздействию блокады рецепторов каннабиноидов на фоне введения донатора оксида азота. Исследования выполнены на трех сопоставимых группах щодобовых крыс, которые обследовались методом ультразвукового сканирования на протяжении десятидневного срока эксперимента. Было выявлено, что длительная блокада СВ1 рецепторов каннабиноидов у исследуемых животных приводит к развитию эндотелиальной дисфункции, уменьшению внутрипросветного диаметра брюшной аорты и снижению средней скорости кровотока при сохранении упруго эластических свойств сосудистой стенки. При этом нарушается чувствительность стенки сосуда к оксиду азота, что проявляется его недостаточной дилатацией после введения нитроглицерина. При сопровождении длительной блокады СВ1 рецепторов каннабиноидов введением L-аргинина аспартата внутрипросветный диаметр, структура и функция эндотелия брюшной аорты сохраняются, а чувствительность стенки сосуда к нитроглицерину повышается. Однако формируется нарушение гемодинамики и повышается жесткость сосудистой стенки.

Ключевые слова: рецепторы каннабиноидов, дисфункция эндотелия, брюшная аорта, оксид азота.

UDC 612.1:616-073.432.19

EFFECT OF NO DONOR ON HEMODYNAMIC PARAMETERS AND ENDOTHELIAL FUNCTION WITH PROLONGED BLOCKADE OF CB1 RECEPTORS OF CANNABINOIDS IN THE EXPERIMENT

Gavreliuk S. V., Gunina L. M.

Abstract. In the paper, topical issues of studying the mechanisms of adaptation of the cardiovascular system to the effects of blockade of cannabinoid receptors against the background of the introduction of a nitric oxide donor.

The purpose of this study was to evaluate the changes in ultrasonic characteristics of hemodynamics and the function of the endothelium of the abdominal aorta on the model of accompanying the prolonged blockade of CB1 receptors of cannabinoids by the donor of nitric oxide tivortin aspartate in experimental animals.

The studies were performed on three comparable groups of hundred-day rats, which were examined by ultrasonic scanning during the ten-day period of the experiment. The first group consisted of intact animals; The second group – rats, daily injected with rimonabant hydrochloride solution at a rate of 10 mg·kg⁻¹; The third is the animals who received a solution of rimonabant hydrochloride at a rate of 10 mg·kg⁻¹ and a solution of tivortin aspartate at a dose of 100 mg of L-arginine aspartate per kg of animal weight per day per os daily.

During ultrasound in the B-mode, the intraluminal diameter of the vessel, the thickness of the intima-media complex, endothelium-dependent and endothelium-independent dilation were quantified. In the regime of pulsed wave Dopplerography, the quantitative characteristics of the blood flow were investigated: peak systolic blood flow

velocity, maximum terminal diastolic blood flow velocity, resistance index and systolodiastolic ratio. The average blood flow velocity was calculated by the formula. Changes in the diameter of the vessel were estimated as a percentage of the initial value.

Endothelium-dependent and endothelium-independent dilation was assessed as a change in the diameter of the abdominal aorta after bolus administration of the dilatation mediators to the femoral vein, respectively: acetylcholine chloride (at the rate of $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ animal weight) and nitroglycerin (based on $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ mass of the animal).

Based on the results of the variational analysis of hemodynamic parameters, some features of the restructuring of the vascular wall response are revealed depending on the blockade of the cannabinoid receptors and the maintenance of L-arginine with aspartate.

In particular, prolonged blockade of CB1 receptors of cannabinoids in the animals under study leads to the development of endothelial dysfunction, a decrease in the intraluminal diameter of the abdominal aorta and a decrease in the average blood flow velocity while maintaining the elastically elastic properties of the vascular wall. This affects the sensitivity of the vessel wall to nitrogen oxide, which is manifested by its insufficient dilatation after the administration of nitroglycerin. When accompanied by a prolonged blockade of CB1 receptors in cannabinoids by the administration of L-arginine aspartate, the intraluminal diameter, structure and function of the endothelium of the abdominal aorta persist, and the sensitivity of the vessel wall to nitroglycerin increases. However, a hemodynamic disorder is formed and the stiffness of the vascular wall is increased.

To understand the mechanisms of development of endothelial dysfunction with the combination of donors of nitric oxide with the blockade of CB1 receptors of cannabinoids, additional studies are needed.

Keywords: cannabinoid receptors, endothelial dysfunction, abdominal aorta, nitric oxide.

Рецензент – проф. Шерстюк О. О.

Стаття надійшла 05.06.2017 року