# Streszczenie w języku polskim

**Tytuł:** Wpływ wazopresyny i receptora V1a na odpowiedź krążeniową i oddechową u szczurów normo- i hipertensyjnych.

**Wstęp:** Wazopresyna (AVP), określana również jako hormon antydiuretyczny, poza swoim działaniem nerkowym związanym z utrzymaniem równowagi wodno-elektrolitowej, jest ważnym neurohormonem zaangażowanym w adaptację do zaburzeń homeostazy organizmu. Odruch z chemoreceptorów tętniczych jest kluczowym odruchem biorącym udział w odpowiedzi krążeniowej i oddechowej na hipoksję. Najważniejsza grupa chemoreceptorów tętniczych znajduje się w kłębkach szyjnych umiejscowionych w rozwidleniu tętnicy szyjnej wspólnej. Nadciśnienie tętnicze (NT) jest jednym z głównych czynników ryzyka zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych. Ma ono najczęściej postać nadciśnienia pierwotnego o wieloczynnikowym i nie w pełni poznanym podłożu. W nadciśnieniu tętniczym wykazano obecność nasilonego odruchu z chemoreceptorów tętniczych, a także zmiany w regulacji układu wazopresynergicznego. Powszechnie stosowanym w badaniach przedklinicznych modelem zwierzęcym nadciśnienia tętniczego pierwotnego są szczury SHR (*Spontaneously Hypertensive Rat*)z genetycznie uwarunkowanym NT, dla których najczęściej stosowaną kontrolą są normotensyjne szczury WKY (*Wistar-Kyoto*).

**Cele:** Badanie miało na celu ocenę, jaki jest udział AVP, jej receptora typu 1a (V1a) oraz kłębków szyjnych w regulacji krążeniowo-oddechowej w warunkach nadciśnienia tętniczego pierwotnego. Do szczegółowych celów pracy należała odpowiedzenie na następujące pytania badawcze: (1) Czy odpowiedzi krążeniowa i oddechowa na farmakologiczne wywołanie odruchu z chemoreceptorów tętniczych są nasilone u hipertensyjnych szczurów SHR w porównaniu do normotensyjnych szczurów WKY? (2) Czy kłębki szyjne i toniczna aktywność odruchu z chemoreceptorów tętniczych biorą udział w utrzymaniu spoczynkowych wartości parametrów krążeniowych i oddechowych u szczurów SHR i szczurów WKY? (3) Czy odpowiedzi krążeniowa i oddechowa na obwodowo podaną AVP różnią się pomiędzy hipertensyjnymi szczurami SHR a normotensyjnymi szczurami WKY? (4) Czy odpowiedzi krążeniowa i oddechowa na AVP podaną w okolicę kłębków szyjnych różnią się pomiędzy hipertensyjnymi szczurami SHR a normotensyjnymi szczurami WKY? (5) Czy kłębki szyjne biorą udział w odpowiedziach krążeniowej i oddechowej na obwodowo podaną AVP u szczurów SHR i szczurów WKY? (6) Czy receptor V1a dla AVP bierze udział w utrzymaniu spoczynkowych wartości parametrów krążeniowych i oddechowych u szczurów SHR i szczurów WKY? (7) Czy odpowiedzi krążeniowa i oddechowa na podanie AVP obwodowe i miejscowe w okolicę kłębka szyjnego zależą od receptora V1a u szczurów SHR i szczurów WKY? (8) Czy receptory V1a dla AVP występują na komórkach chemowrażliwych (typu I) kłębków szyjnych u szczurów SHR i szczurów WKY?

**Materiał i metody:** Doświadczenia przeprowadzono zgodnie z przepisami krajowymi oraz Dyrektywą Rady 2010/63/UE z dnia 22 września 2010 r. w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych, po uzyskaniu zgody wydanej przez II Lokalną Komisję Etyczną ds. Doświadczeń na Zwierzętach przy Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie [nr zgody WAW2/096/2019]. Badanie przeprowadzono na dorosłych samcach hipertensyjnych szczurów SHR i kontrolnych normotensyjnych szczurów WKY, w wieku 12- 14 tygodni. W doświadczeniach użyto: n = 36 szczurów SHR i n = 36 szczurów WKY. W pierwszej części doświadczeń wykonano pomiar ciśnienia tętniczego na tętnicy ogonowej metodą nieinwazyjną u czuwających zwierząt. W drugiej części doświadczeń wykonano pomiary zmiennych krążeniowo-oddechowych u zwierząt znieczulonych uretanem, w ramach których rejestrowano parametry hemodynamiczne (średnie ciśnienie tętnicze - MABP, częstość serca - HR, przepływ przez tętnicę udową - FABF) i oddechowe (wentylacja minutowa - MV, częstotliwość oddechów - RR oraz końcowo-wydechowe stężenie dwutlenku węgla - ETCO2). W celu przeprowadzenia pomiarów, szczurom wszczepiano cewniki do tętnicy i żyły udowej, które służyły odpowiednio do pomiarów hemodynamicznych i podań dożylnych. Zakładano także sondę dopplerowską na tętnicę udową celem oceny przepływu obwodowego. Następnie wykonywano tracheostomię z założeniem rurki tchawiczej oraz dołączeniem do niej sondy kapnografu w celu rejestracji pomiarów oddechowych. U części zwierząt wykonywano implantację cewnika do tętnicy szyjnej zewnętrznej, który umożliwiał miejscowe podawanie AVP w okolicę kłębka szyjnego. U wybranych szczurów wykonywano także obustronne odnerwienie kłębka szyjnego lub zabieg pozorowany. Zwierzęta podzielono na następujące 6 serii doświadczalnych: (1) wywołanie odruchu z chemoreceptorów tętniczych poprzez dożylne podanie cyjanku potasu (KCN) (30 μg/100 μL); (2)  wywołanie odruchu z chemoreceptorów tętniczych poprzez dożylne podanie KCN (30 μg/100 μL) po odnerwieniu kłębków szyjnych; (3) dożylne podanie AVP (10 ng/100 μL) po pozorowanym odnerwieniu kłębków szyjnych; (4)  podanie dożylne AVP (10 ng/100 μL) po odnerwieniu kłębków szyjnych; (5) dożylne podanie selektywnego antagonisty receptora V1a (d(CH2)51,Tyr(Me)2,Arg8) Vasopressin (5 μg/100 μL) i podanie dożylne AVP (10 ng/100 μL); (6) podanie dotętnicze w okolicę kłębka szyjnego AVP (4 ng/50 μL), przed i po dożylnym podaniu selektywnego antagonisty receptora V1a (d(CH2)51,Tyr(Me)2,Arg8) Vasopressin (5 μg/100 μL). Po przeprowadzeniu pomiarów krążeniowo-oddechowych zwierzęta poddano eutanazji. Od szczurów pobrano rozwidlenia tętnic szyjnych z kłębkami szyjnymi i oceniono ekspresję receptora V1a w komórkach chemoreceptorowych z wykorzystaniem barwień immunofluorescencyjnych z użyciem pierwszorzędowych przeciwciał przeciw receptorowi V1a i przeciwciał przeciw hydroksylazie tyrozynowej (markerowi komórek chemoreceptorowych typu I). Preparaty obrazowano następnie w mikroskopii konfokalnej.

**Wyniki:** Szczury hipertensyjne SHR miały istotnie wyższe spoczynkowe wartości skurczowego, rozkurczowego i średniego ciśnienia tętniczego. Także u znieczulonych zwierząt wartości średniego ciśnienia tętniczego i wentylacji minutowej były istotnie wyższe niż u normotensyjnych szczurów WKY. Odpowiedzi krążeniowa i oddechowa na wywołanie odruchu z chemoreceptorów tętniczych były także istotnie większe u zwierząt hipertensyjnych niż u normotensyjnej kontroli. Obustronne odnerwienie kłębków szyjnych nie spowodowało istotnej zmiany parametrów krążeniowych i oddechowych u szczurów SHR i szczurów WKY, a także u obu grup wiązało się ono z zahamowaniem odpowiedzi na farmakologiczne wywołanie odruchu z chemoreceptorów tętniczych. Odpowiedź presyjna na podanie dożylne AVP wystąpiła w obu grupach, była jednak istotnie wyższa u szczurów SHR. Tylko u szczurów hipertensyjnych w odpowiedzi na podaną AVP wystąpiło zmniejszenie wentylacji płuc. Dożylne podanie antagonisty receptora V1a obniżyło ciśnienie tętnicze w obu grupach, a spadek ten był istotnie bardziej zaznaczony u szczurów hipertensyjnych. Zablokowanie receptora V1a prowadziło też do zwiększenia wentylacji płuc, który obserwowane było jedynie u zwierząt z NT. Obustronne odnerwienie kłębków szyjnych zmniejszyło odpowiedź presyjną na AVP u normotensyjnych szczurów WKY, lecz nie miało istotnego wpływu na zależny od AVP wzrost ciśnienia u szczurów SHR. Natomiast u szczurów hipertensyjnych SHR odnerwienie kłębków szyjnych znosiło zahamowanie wentylacji płuc w odpowiedzi na podanie AVP, które było obserwowane u zwierząt bez odnerwienia. Podanie AVP w okolicę kłębka szyjnego powodowało niewielki wzrost ciśnienia tętniczego podobny w obu grupach, jednak prowadziło do istotnego zmniejszenia wentylacji płuc jedynie u szczurów SHR. Zablokowanie receptora V1a znosiło odpowiedzi krążeniową i oddechową zarówno na dożylne jak i dotętnicze podanie AVP. Barwienia immunofluorescencyjne potwierdziły obecność receptora V1a dla wazopresyny na komórkach chemowrażliwych (typu I) kłębków szyjnych zarówno u szczurów hipertensyjnych SHR i normotensyjnych WKY.

**Wnioski:**

1. Składowa krążeniowa i oddechowa odruchu z chemoreceptorów tętniczych są wzmożone u hipertensyjnych szczurów SHR w porównaniu do normotensyjnych szczurów WKY, co potwierdza zwiększoną czułość tego odruchu w warunkach nadciśnienia tętniczego.
2. Odruch z chemoreceptorów tętniczych nie wykazuje tonicznej spoczynkowej aktywności u hipertensyjnych szczurów SHR i normotensyjnych szczurów WKY w badanym układzie doświadczalnym w warunkach znieczulenia ogólnego.
3. Odpowiedzi krążeniowa i oddechowa na dożylne podanie AVP są nasilone u hipertensyjnych szczurów SHR w porównaniu do normotensyjnych szczurów WKY, co wskazuje na zwiększoną aktywność układu wazopresynergicznego w regulacji krążeniowo-oddechowej w warunkach nadciśnienia tętniczego.
4. Odpowiedź presyjna na miejscowo podaną AVP w okolicę kłębka szyjnego jest podobna zarówno u szczurów hipertensyjnych SHR jak i normotensyjnych szczurów WKY, co wskazuje na brak nasilenia mechanizmów presyjnych zależnych od AVP na poziomie kłębków szyjnych w warunkach nadciśnienia tętniczego.
5. Odpowiedź oddechowa na miejscowo podaną AVP w okolicę kłębka szyjnego jest obecna jedynie u szczurów hipertensyjnych SHR, co wskazuje na udział AVP w regulacji składowej oddechowej zależnej od kłębków szyjnych w warunkach nadciśnienia tętniczego.
6. Obustronne odnerwienie kłębków szyjnych hamuje odpowiedź presyjną na dożylnie podaną AVP jedynie u szczurów normotensyjnych WKY, co wskazuje na udział kłębków szyjnych w regulacji układu krążenia przez AVP w warunkach normotensji i silnie wyrażone mechanizmy presyjne niezależne od kłębków szyjnych u zwierząt hipertensyjnych.
7. Obustronne odnerwienie kłębków szyjnych zapobiega wywoływanemu przez dożylnie podaną AVP zahamowaniu wentylacji płuc u szczurów hipertensyjnych SHR, co wskazuje na udział kłębków szyjnych w regulacji składowej oddechowej odpowiedzi na AVP w warunkach nadciśnienia tętniczego.
8. Odpowiedzi krążeniowo-oddechowe na zablokowanie receptora V1a są obecne jedynie u hipertensyjnych szczurów SHR, co wskazuje na udział tego receptora i AVP w utrzymywaniu spoczynkowych wartości parametrów hemodynamicznych i oddechowych w warunkach nadciśnienia tętniczego.
9. Odpowiedzi krążeniowo-oddechowe na AVP zależą od receptora V1a, gdyż jego zablokowanie zapobiegało zmianom wywołanym przez dożylne (systemowe) i dotętnicze (miejscowe) podanie AVP.
10. Receptor V1a znajduje się na komórkach chemowrażliwych (typu I) w kłębkach szyjnych normotensyjnych szczurów WKY i hipertensyjnych szczurów SHR, co wskazuje na możliwość oddziaływania AVP na chemoreceptory tętnicze.

**Podsumowanie:** Wyniki przedstawionych doświadczeń dostarczają nowej wiedzy dotyczącej odruchu z chemoreceptorów tętniczych, w szczególności zlokalizowanych w kłębkach szyjnych oraz udziału wazopresyny w regulacji krążeniowo-oddechowej w nadciśnieniu tętniczym pierwotnym. Obserwowane zmiany parametrów krążeniowych i oddechowych pod wpływem dożylnego oraz miejscowego podania wazopresyny sugerują, że hormon ten oddziałuje na czynność układu krążenia i układu oddechowego również poprzez kłębki szyjne, wpływ ten jest bardziej nasilony u zwierząt hipertensyjnych i zależy od receptorów V1a dla wazopresyny. Wyniki te wskazują na zwiększone zaangażowanie układu wazopresynergicznego w regulację krążeniowo-oddechową u szczurów hipertensyjnych SHR, co potencjalnie może stanowić punkt wyjścia dla poszukiwania nowych sposobów leczenia nadciśnienia tętniczego.