

**СТАТЕВІ ВІДМІННОСТІ МЕТАБОЛІЗМУ АЦЕТИЛХОЛІНУ
ТА СТРУКТУРНИХ ЗМІН У МІОКАРДІ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ
ГІПЕРТИРЕОЗІ**

У самців і самок щурів моделювали L-тироксिनний гіпертиреоз за умов функціонування гонад, після видалення гонад та при застосуванні замісної терапії статевими гормонами. У міокарді визначали вміст ацетилхоліну, активність ферментативного гідролізу ацетилхоліну та ступінь структурного пошкодження міокарда шлуночків. Було встановлено, що розвиток гіпертиреозу супроводжувався накопиченням ацетилхоліну в міокарді передсердь та шлуночків на тлі зменшення активності ферментативного його гідролізу. За збережених гонад порушення в системі синтез-гідроліз парасимпатичного медіатора суттєвішими були в самців, за відсутності гонад та при застосуванні замісної терапії статевими гормонами – в самок. Розвиток гіпертиреозу викликав пошкодження міокарда, ступінь якого за збережених гонад та при використанні замісної терапії статевими гормонами є суттєвим у самок, а за відсутності гонад – у самців.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіпертиреоз, стать, ацетилхолін, міокард.

ВСТУП. Частота захворювань, пов'язаних із патологією щитоподібної залози, у світі та, особливо, в Україні є високою. Цьому сприяють невчасна діагностика порушень тиреоїдної активності на ранніх етапах її розвитку [3, 5] та антропогенні впливи [4, 6]. Відомо, що надмірна концентрація тиреоїдних гормонів викликає порушення діяльності серця, вираження яких тісно пов'язане з тяжкістю ендокринопатії [9]. Серед причин таких розладів – порушення балансу адренергічних та холінергічних впливів [7, 8]. Встановлена на сьогодні чітка статева різниця захворюваності на серцево-судинну патологію прослідковується і за умов гіпертиреозу. Разом із тим, на сьогодні залишаються невідомими механізми, які лежать в її основі, та невивченими залишаються механізми холінергічної регуляції серця при гіпертиреозі залежно від статі, зокрема ті, що стосуються метаболізму парасимпатичного медіатора і залежності його порушень та ступеня вираження гіпертиреоїдної кардіоміопатії.

Метою роботи було дослідити особливості метаболізму ацетилхоліну в міокарді при експериментальному гіпертиреозі залежно від

статі та встановити взаємозв'язок цих порушень і ступеня структурного пошкодження міокарда.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди провели на 144 статевозрілих самцях (♂) та самках (♀) щурів, у яких моделювали гіпертиреоз шляхом щоденного, протягом 15-ти днів, згодовування L-тироксину (500 мг/кг). Тварин досліджували через 15 діб від початку експерименту. В міокарді передсердь (ПС) та шлуночків (ШЛ) визначали вміст ацетилхоліну (АХ) та активність ферментативного його гідролізу, оцінюючи загальну холінергічну активність (ЗХЕА) цих тканин [1, 2]. Інтенсивність структурного пошкодження міокарда шлуночків оцінювали за результатами мікроскопії мікропрепаратів, забарвлених за Гейденгайном. Усіх щурів поділили на 3 групи: 1-ша – тварини зі збереженими гонадами (ЗГ); 2-га – гонадектомовані (ГЕ) тварини, яким за 4 тижні до основного експерименту здійснили двобічну гонадектомію; 3-тя – ГЕ тварини, яким до початку основного експерименту провели замісну терапію статевими гормонами (ЗТСГ). Усі втручання та евтаназію тварин проводили з

дотриманням принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), ухвалених на Першому національному конгресі з біоетики (Київ, 2001). Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень університету в програмному пакеті Statsoft STATISTIKA.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Експериментальне відтворення гіпертиреозу викликало подібні за характером зміни вмісту АХ у міокарді щурів обох статей. У передсердях самців вміст АХ зріс на 60 %, в самок – на 57 % (табл. 1). У міокарді шлуночків самців приріст показника склав 12,4 раза, а в самок – лише 2 рази. Важливо, що така динаміка відбувалася

на тлі зменшення ЗХЕА. У міокарді передсердь самців це становило 3,2 раза, в самок – 2,7 раза, а в шлуночках – 3,4 та 3,2 раза відповідно (табл. 2). Останнє свідчило про порушення балансу між утворенням та розщепленням медіатора за умов гіпертиреозу. Як свідчать зазначені дані, інтенсивність таких змін була суттєвою як у передсердях, так і в шлуночках та більшою мірою в самців щурів.

Ураховуючи той факт, що в міокарді передсердь домінує медіаторна фракція АХ, а в шлуночках – метаболічна, було проаналізовано також динаміку показника, який відображав співвідношення вмісту АХ в обох відділах серця (АХпс/АХшл). У самців це співвідношення, яке в контролі становило 3,28, через 15 днів гіпертиреозу зменшилося до рівня 0,43, у самок з 1,49 зменшилося до 1,19. Асинегічність описа-

Таблиця 1 – Вміст ацетилхоліну (мкмоль/кг) у міокарді при розвитку гіпертиреозу ($M \pm m$, n=6)

Тварини зі збереженими гонадами				
Стать	передсердя		шлуночки	
	контроль	гіпертиреоз	контроль	гіпертиреоз
♂	140,6±1,0	225,5±2,1*	42,9±1,2	532,2±2,7 *
♀	90,7±1,4 [#]	142,8±3,5* [#]	61,0±1,2 [#]	120,4±1,1**
Гонадектомовані тварини				
Стать	передсердя		шлуночки	
	контроль	гіпертиреоз	контроль	гіпертиреоз
♂	120,2±1,4 [^]	188,8±2,5* [^]	36,3±1,1 [^]	203,2±2,5* [^]
♀	113,0±1,4 ^{#^}	40,4±4,8* ^{#^}	49,6±1,1 ^{#^}	60,4±0,6** [^]
Тварини, які отримували замісну гормонотерапію				
Стать	передсердя		шлуночки	
	контроль	гіпертиреоз	контроль	гіпертиреоз
♂	135,1±1,4 [^]	251,9±1,2* [^]	48,3±1,1 [^]	75,1±2,2* [^]
♀	98,4±1,4 ^{#^}	54,1±4,9* ^{#^}	61,8±1,3 [#]	96,9±0,8** [^]

Примітки. Тут і в таблиці 2:

1. * – достовірна відмінність відносно контролю.
2. # – достовірна відмінність між тваринами різної статі.
3. ^ – достовірна відмінність відносно тварин зі збереженими гонадами.

Таблиця 2 – Загальна холінеразна активність (ммоль/(кг·год) міокарда при розвитку гіпертиреозу ($M \pm m$, n=6)

Тварини зі збереженими гонадами				
Стать	передсердя		шлуночки	
	контроль	гіпертиреоз	контроль	гіпертиреоз
♂	361,0±3,4	112,7±1,6*	159,0±4,6	46,6±1,0*
♀	357,6±4,6	132,1±2,6 [#]	138,1±2,5 [#]	42,7±1,1 [#]
Гонадектомовані тварини				
Стать	передсердя		шлуночки	
	контроль	гіпертиреоз	контроль	гіпертиреоз
♂	281,3±1,4 [^]	133,9±2,4* [^]	181,1±0,4 [^]	35,0±1,5* [^]
♀	276,8±2,3 [^]	211,7±2,4* ^{#^}	168,4±0,8 ^{#^}	151,9±1,2* ^{#^}
Тварини, які отримували замісну гормонотерапію				
Стать	передсердя		шлуночки	
	контроль	гіпертиреоз	контроль	гіпертиреоз
♂	258,1±1,9* [^]	86,8±3,0* [^]	124,9±1,5 [^]	83,3±0,3* [^]
♀	230,3±1,9 [^]	149,2±5,8* ^{#^}	199,7±0,6 ^{#^}	225,4±1,6* ^{#^}

ної вище динаміки вмісту АХ у передсердях такої за показником АХпс/АХшл свідчила про те, що встановлені зміни відбувалися, головним чином, за рахунок метаболічної фракції АХ у тварин обох статей, що узгоджувалося зі зменшенням ЗХЕА.

У ГЕ особин закономірність динаміки досліджуваних показників за умов гіпертиреозу зберігалася лише в самців. Збільшення вмісту АХ у міокарді передсердь тварин цієї статі склало 57 %, в міокарді шлуночків – 5,6 раза (табл. 1). Зміни, як видно, були значно меншими за амплітудою коливань. У міокарді передсердь самок при розвитку гіпертиреозу за відсутності гонад динаміка вмісту АХ була протилежною за спрямуванням до такої у тварин зі збереженими гонадами. Зменшення показника становило 2,3 раза. У міокарді шлуночків при цьому характер змін був аналогічний такому у тварин зі збереженими гонадами. Щоправда, зростання було значно меншим і склало лише 22 %. Звідси видно, що видалення гонад у самців вплинуло тільки на ступінь змін за збереження характеру динаміки вмісту АХ, а в самок змінило цей характер у передсердях. Зокрема, це стосувалося передсердного вмісту АХ. Важливо зазначити, що у самців зберігався і характер динаміки ЗХЕА. Про це свідчило зменшення даного показника в передсердях у 2,1 раза, в шлуночках – у 5,2 раза. У самок ЗХЕА досліджуваних тканин знижувалася, зокрема в передсердях – на 31 %, у шлуночках – на 11 %.

За змодельованих умов показник АХпс/АХшл у ГЕ самців, який в контролі становив 3,31, зменшився до 0,93, а в самок з 2,28 – до 0,67. Останнє показало, що в ГЕ самців розвиток гіпертиреозу супроводжувався змінами вмісту АХ, головним чином, за рахунок метаболічної фракції, а в самок – медіаторної, що свідчило про принципову відмінність між тваринами стосовно досліджуваного процесу та суттєвий дисбаланс у системі синтез–розщеплення.

Про суттєвіші зміни метаболізму АХ у передсердях ГЕ самок свідчив і той факт, що за відсутності гонад вміст АХ, роль якого при гіпертиреозі пов'язана зі стримуванням надмірної симпатичної активності, був у 3,5 раза меншим, ніж за збережених гонад. У самців такий дефіцит становив лише 19 %. При цьому ЗХЕА міокарда передсердь самок була на 60 % більшою, ніж за збережених гонад, а в самців – на 19 %, що також підтверджувало відмінність між тваринами за умов підвищеної тиреоїдної активності.

Застосування ЗТСГ мало різний коригувальний вплив на досліджувані процеси. У самців, аналогічно групі тварин зі збереженими гонадами, вміст АХ зростав, зокрема в передсердях – на 86 %, у шлуночках – на 56 %. Останнє було значно меншим за порівнювану динаміку. В самок зміни вмісту АХ, зумовлені розвитком гіпертиреозу, нагадували такі в ГЕ тварин. У передсердях вміст АХ зменшився на 82 %, а в шлуночках збільшився на 58 %. При застосуванні ЗТСГ у тварин обох статей досліджувані показники не відновилися, що свідчило про порушення реалізації природних ефектів статевих гормонів за відсутності гонад. Більш суттєвими встановлені порушення залишалися в самок.

ЗХЕА при застосуванні ЗТСГ у самців зменшувалася: в передсердях – у 3 рази, в шлуночках – в 1,5 раза. За цих умов обидва показники відрізнялися від значень тварин зі збереженими гонадами. У самок ЗХЕА в передсердях знижувалася на 54 %, у шлуночках зростала на 13 %. У передсерді самок пригнічення ЗХЕА було дещо меншим, ніж за збережених гонад, а в шлуночках даний показник збільшувався на відміну від порівнюваної групи тварин, що загалом свідчило про збереження суттєвіших змін у даній системі.

Показник АХпс/АХшл у самців, які отримували ЗТСГ, з 2,80 в контролі зріс при гіпертиреозі до 3,35, а в самок з 2,35 зменшився до 0,55. Такі зміни показали, що, незважаючи на застосування терапії, не вдалося відновити встановленої для тварин зі збереженими гонадами закономірності. Динаміка цього показника як у самців, так і в самок показала, що зміни вмісту АХ відбувалися, головним чином, за рахунок медіаторної фракції АХ.

Дослідження структури міокарда шлуночків підтвердило розвиток гіпертиреоїдної кардіоміопатії, про що свідчила наявність у мікропрепаратах даного відділу серця, забарвлених за Гейденгайном, вогнищ некрозу, кількість яких суттєво збільшувалася до 15 дня спостереження (табл. 3). За збережених гонад даний показник в самців зріс у 3,9 раза, в самок – у 12 разів, при відсутності гонад – в 9,2 та 5,0 рази, за умов застосування ЗТСГ – у 2,9 та 6,4 раза відповідно. Варто зазначити, що попри різний приріст даного показника у тварин різних експериментальних груп ступінь пошкодження міокарда в ГЕ самців при розвитку гіпертиреозу збільшувався, а в самок за усіх модельних умов залишався аналогічним. Саме в ГЕ особин чоловічої статі вміст АХ у міокарді шлуночків при розвитку гіпертиреозу був най-

Таблиця 3 – **Об'ємний відсоток некротизованих кардіоміоцитів у міокарді шлуночків щурів при гіпертиреозі (M±m, n=6)**

Стать	Контроль	Гіпертиреоз
Тварини зі збереженими гонадами		
♂	0,56±0,02	2,18±0,59*
♀	0,61±0,01	7,34±1,03*#
Гонадектомовані тварини		
♂	1,49±0,06^	13,64±1,06*^
♀	1,68±0,12^	8,40±1,23*#
Тварини, які отримували замісну терапію статевими гормонами		
♂	0,67±0,08	1,95±0,25*
♀	0,98±0,04#^	6,28±1,34*#

Примітки:

- * – достовірна (p<0,05) відмінність відносно контролю.
- # – між самцями і самками.
- ^ – відносно тварин зі збереженими гонадами.

нижчим, що, ймовірно, спровокувало дефіцит киснезберігального та стреслімітувального ефектів парасимпатичного медіатора.

ВИСНОВКИ. 1. Розвиток гіпертиреозу супроводжується накопиченням ацетилхоліну в міокарді передсердь та шлуночків на тлі зменшення активності ферментативного його гідролізу. За збережених гонад суттєвішими пору-

шення в системі синтез–гідроліз парасимпатичного медіатора є в самців, за відсутності гонад та при застосуванні замісної терапії статевими гормонами – в самок.

2. Розвиток гіпертиреозу викликає пошкодження міокарда, ступінь якого за збережених гонад та при застосуванні замісної терапії статевими гормонами суттєвіший у самок, а за відсутності гонад – у самців.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Біологічний метод визначення вмісту ацетилхоліну в міокарді щурів / В. В. Файфура, Л. М. Сас, Н. Я. Потіха [та ін.] // Мед. хімія. – 2004. – **6**, № 4. – С. 118–121.
2. Визначення активності холінестерази в міокарді щурів / М. А. Хара, Л. М. Сас, Н. Я. Потіха [та ін.] // Здоб. клін. і експер. мед. – 2006. – № 2. – С. 110–112.
3. Калинин А. П. Современные аспекты тиреотоксикоза / А. П. Калинин, В. С. Лукьянчиков, Н. К. Вьет // Пробл. эндокринолог. – 2000. – **46**, № 4. – С. 23–26.
4. Лушников Е. Ф. Десятилетие после Чернобыля: последствия аварии и актуальные проблемы радиационной патологии / Е. Ф. Лушников // Арх. патол. – 1997. – **59**, № 4. – С. 42–46.
5. Олійник В. А. Сучасні проблеми тиреоїдології в Україні / В. А. Олійник // Ендокринологія. – 2001. – **6**, дод. – С. 216.
6. Очередыко О. М. Епідеміологічне дослідження моделей поширення хвороб ендокринної системи серед жителів села за різних екологічних умов / О. М. Очередыко, О. Г. Процек // Лік. справа. – 2000. – № 7–8. – С. 15–18.
7. Depressed respiratory sinus arrhythmia: additional evidence for impairment of vagal activity in human hyperthyroidism / B. C. Maciel, J. Gallo Junior, J. A. Marin-Neto, L. M. Zanini-Maciel // Braz. J. Med. Biol. Res. – 1990. – **23**, № 2. – P. 195–197.
8. Gajek J. Studies on the relationship between beta-adrenergic receptor density on cell wall lymphocytes, total serum-catecholamine level and heart rate in patients with hyperthyroidism / J. Gajek, I. Zieba, D. Zysko // Pol. Merkurusz. Lek. – 2000. – **9**, № 50. – P. 541–543.
9. Yu Y.H. Tachycardia-induced cardiomyopathy secondary to thyrotoxicosis: a young man with previously unrecognized Graves' disease / Y. H. Yu, J. P. Bilezikian // Thyroid. – 2000. – **10**, № 10. – P. 923–927.

ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ МЕТАБОЛИЗМА АЦЕТИЛХОЛИНА И СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В МИОКАРДЕ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГИПЕРТИРЕОЗЕ

Резюме

У самцов и самок крыс моделировали L-тироксировый гипертиреоз в условиях функционирования гонад, после удаления гонад и при применении заместительной терапии половыми гормонами. В миокарде определяли содержание ацетилхолина, активность ферментативного гидролиза ацетилхолина и степень структурного повреждения миокарда желудочков. Было установлено, что развитие гипертиреоза сопровождалось накоплением ацетилхолина в миокарде предсердий и желудочков на фоне уменьшения активности ферментативного его гидролиза. С сохранившимися гонадами нарушения в системе синтез-гидролиз парасимпатического медиатора существеннее были у самцов, с отсутствующими гонадами и при применении заместительной терапии половыми гормонами – у самок. Развитие гипертиреоза вызывало повреждение миокарда, степень которого с сохраненными гонадами и при использовании заместительной терапии половыми гормонами существеннее у самок, а при отсутствии гонад – у самцов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гипертиреоз, пол, ацетилхолин, миокард.

M. R. Khara¹, V. A. Havryso²
V. HNATYUK TERNOPII NATIONAL PEDAGOGICAL UNIVERSITY¹
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPII STATE MEDICAL UNIVERSITY²

GENDER DISTINCTIONS OF ACETYLCHOLINE METABOLISM AND STRUCTURAL MUTATIONS IN MYOCARDIUM AT EXPERIMENTAL HYPERTHYROIDISM

Summary

L-thyroxin type of hyperthyroidism was modeled in male and female rats in conditions of gonads functioning, after gonadectomy and application of hormone replacement therapy. The content of acetylcholine, the activity of acetylcholine enzymic hydrolysis and degree of myocardium ventricles' structural lesion was measured. The following results were detected. The development of hyperthyroidism was accompanied by acetylcholine accumulation in the myocardium of atriums and ventricles and by reduction of acetylcholine enzymic hydrolysis activity. In case of saved gonads more substantial violations in the system of synthesis-hydrolysis of parasympathetic mediator were detected in male rats than in female ones. In case of honadectomy more substantial violations in the system of synthesis-hydrolysis of parasympathetic mediator were detected in female rats. At hormone raplacement therapy more substantial violations in the system of synthesis-hydrolysis of parasympathetic mediator were detected in female rats than in male rats. The development of hyperthyroidism caused the damage of myocardium. The extent of myocardium lesion was more substantial in female rats than in male rats in case of saved gonads and application of hormone raplacement therapy, in case of gonadectomy – in male rats.

KEY WORDS: hyperthyroidism, gender, acetylcholine, myocardium.

Отримано 05.12.13

Адреса для листування: В. А. Гаврысьо, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.