

**РЕАКТИВНІСТЬ СЕРЦЯ ДО ЕНДОГЕННОГО АЦЕТИЛХОЛІНУ В УМОВАХ
СЕЛЕКТИВНОЇ БЛОКАДИ КАРДІАЛЬНИХ M_1 -ХОЛІНОРЕЦЕПТОРІВ
ПІРЕНЗЕПІНОМ ПРИ ГІПОФУНКЦІЇ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ
У ЕКСПЕРИМЕНТІ**

**ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського» (м. Тернопіль)**

Робота виконувалася у ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського» у рамках комплексної теми «Клініко-патогенетичні та морфофункціональні особливості ішемічної хвороби серця при супутньому хронічному бронхіті, цукровому діабеті, експериментальному гіпертиреозі, гастродуоденальних виразках та їх диференційована терапія», номер державної реєстрації 0103U001017.

Вступ. Кардіальні прояви гіпотиреозу об'єднуються спільним терміном „гіпотиреоїдне (мікседематозне) серце” [5]. У механізмах його розвитку ключову роль відіграють функціональні [12, 15] та структурні [8, 9] зміни скоротливого міокарда та провідної системи серця. Розлади серцевого ритму, передусім, синусова брадикардія, є типовими для пацієнтів із гіпофункцією щитоподібної залози. [11]. У науковій літературі наявні повідомлення, що посилення парасимпатичних впливів на серце відіграє суттєву роль у її патогенезі [1]. Зокрема встановлено, що при гіпотиреозі в міокарді передсердь збільшується вміст парасимпатичного медіатора ацетилхоліну, що поєднується із зростанням активності ферменту його синтезу холінацетилтрансферази і підвищенням загальної холінестеразної активності міокарда [6].

З'ясування механізмів посилення холінергічних впливів на серце при гіпотиреозі важливе з огляду на те, що блукаючим нервам належить провідна роль в організації серцевого ритму в нормі та при патології [13]. Проте ефективність негативно-хронотропних впливів блукаючого нерва на серце залежить від стану М-холінорецепторів постсинаптичної мембрани, з якими взаємодіє ацетилхолін. Відомим є факт гетерогенності популяції М-холінорецепторів серця. Виділяють 5 підтипів, що відрізняються за розміщенням, конформацією та функціональними особливостями [3, 4]. Головним підтипом мускаринових рецепторів у серці є M_2 -холінорецептор [14]. Він у більшій мірі відповідальний за парасимпатичну регуляцію серцевої діяльності. Проте останнім часом нагромаджено цікаві експериментальні дані, які свідчать про те, що і інші підтипи М-холінорецепторів роблять суттєвий внесок у реалізацію холінергічних впливів. Цей факт підтверджений, зокрема, в досліджах на мутантних мишах з M_1 - M_5 -рецепторною недостатністю [10] або шляхом

блокади рецепторів специфічними лігандами [16]. Зокрема, за даними А. U. Trendelenburg et al. [17], у мишей з M_2 -рецепторною недостатністю ефекти M_2 -мускаринового агоніста карбахолу усуваються не повністю, а складають лише 41-72% від величини ефектів у нормальних мишей. Серед інших підтипів М-холінорецепторів найкраще досліджені M_1 і M_3 -рецептори [7].

Мета дослідження. Вивчити реактивність серця до ендogenous ацетилхоліну шляхом аналізу негативно-хронотропних ефектів електричної стимуляції правого блукаючого нерва на фоні блокади M_1 -холінорецепторів серця селективним M_1 -холіноблокатором пірензепіном та з'ясувати роль постсинаптичних механізмів у формуванні синусової брадикардії при гіпотиреозі.

Об'єкт і методи дослідження. Експерименти проведено на 37 статевонезрілих білих щурах-самців масою 0,08-0,12 кг віком 1,5-2,0 місяці. Експериментальний гіпотиреоз відтворювали щодобовим пероральним введенням мерказолілу („Здоров'я”, Україна) в дозі 75 мг/кг маси тіла протягом 14 діб. M_1 -холіноблокатор пірензепін (Гастроцепін® “Boehringer Ingelheim”, Іспанія) вводили одноразово внутрішньоочеревинно в дозі 7,5 мг/кг маси тіла. Вибір дози препарату був зроблений, виходячи з наступних міркувань. Введення пірензепіну в дозі 5 мг/кг маси тіла суттєво не позначалося на реакціях серця у відповідь на подразнення блукаючого нерва. Збільшення дози до 10 мг/кг супроводжувалося відсутністю реакцій у відповідь на стимуляцію нерва, що пояснюється атропіноподібною дією препарату.

Реактивність серця до ендogenous ацетилхоліну вивчали шляхом аналізу негативно-хронотропних ефектів електричної стимуляції периферичного кінця перерізаного правого блукаючого нерва імпульсами змінного струму частотою 50 Гц, напругою 5 В і 10 В протягом 1 хв через 1 год після введення пірензепіну. Перерва між подразненнями становила 15 хв. Реєстрували електрокардіограму при швидкості руху стрічки 50 мм/с. Визначали максимальну інтенсивність негативно-хронотропних реакцій у кожному 10-секундному інтервалі (окремо для 5 і 10 В) у контрольних і гіпотиреоїдних тварин як відношення $R-R_{\text{макс}}$ для кожного інтервалу до $R-R_{\text{вих}}$ (до подразнення). Результати досліджень було оброблено параметричними методами варіаційної статистики

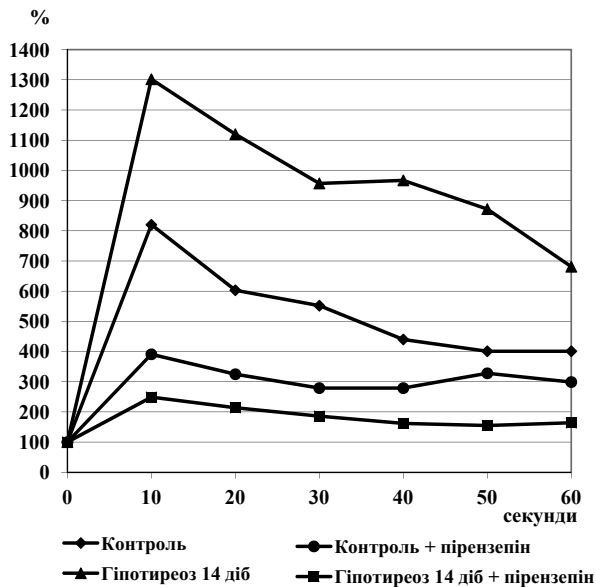


Рис. 1. Негативно-хронотропні реакції серця на подразнення блукаючого нерва струмом напругою 5 В на фоні попереднього введення пірензепіну (за 100% взято тривалість R-R до стимуляції нерва).

з визначенням t-критерію Стьюдента. Усі експериментальні дослідження проводилися згідно принципів „Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1985), ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) [2].

Результати досліджень та їх обговорення. У серії дослідів з пірензепіном вихідна частота серцевих скорочень у тварин контрольної групи становила (553±9) уд./хв. У щурів з експериментальним гіпотиреозом вона виявилася нижчою на 38,2% (P<0,001). Введення пірензепіну тваринам контрольної групи спричинило статистично недостовірне прискорення серцевого ритму – до 60-тої хвилини після ін’єкції частота серцевих скорочень збільшилася на 2,5%, порівняно з вихідною. У тварин з експериментальним гіпотиреозом, навпаки, через 1 год після введення препарату частота серцевих скорочень зменшилася на 18,1% (P<0,002).

Електрична стимуляція правого блукаючого нерва струмом напругою 5 В (**рис. 1**) викликала достовірне зменшення частоти серцевих скорочень у тварин усіх груп.

Введення пірензепіну призвело до обмеження парасимпатичних впливів на серце. Так, у тварин контрольної групи на фоні застосування селективного M₁-холіноблокатора інтенсивність брадикардії протягом перших 10 секунд стимуляції була в два рази нижчою, порівняно з аналогічним показником контрольних тварин, яким не вводили препарат (P<0,002). Ця закономірність утримувалася протягом усього періоду подразнення. Зміни виявилися достовірними до 30-тої секунди стимуляції. До 60-тої секунди інтенсивність брадикардії у тварин на

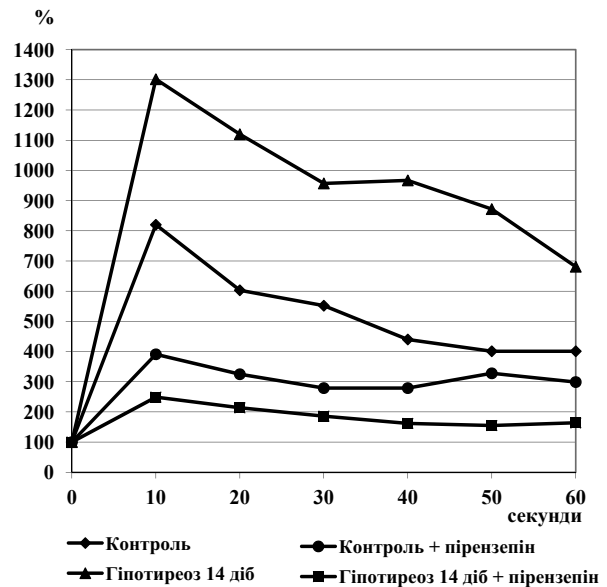


Рис. 2. Негативно-хронотропні реакції серця на подразнення блукаючого нерва струмом напругою 10 В на фоні попереднього введення пірензепіну (за 100% взято тривалість R-R до стимуляції нерва).

фоні введення пірензепіну була на 23,5% нижчою, порівняно з першим 10-секундним інтервалом і на 25,4% нижчою, порівняно з аналогічним показником контрольних тварин.

Схожа тенденція спостерігалася у групі тварин з експериментальним гіпотиреозом. Введення селективного M₁-холіноблокатора суттєво обмежило вагусні впливи на серце. На протязі перших 10 секунд інтенсивність реакції у гіпотиреодних тварин на фоні введення пірензепіну виявилася на 80,9% нижчою, порівняно з гіпотиреодними тваринами, яким не вводили даний препарат (P<0,001). На 20-тій секунді подразнення інтенсивність реакції у тварин на фоні пірензепіну була на 80,9% нижчою, порівняно з аналогічним показником гіпотиреодних тварин (P<0,001). Така закономірність утримувалася протягом усього періоду подразнення. До 60-тої секунди електростимуляції інтенсивність брадикардії була на 75,9% нижчою, порівняно з показником гіпотиреодних тварин, яким не вводили пірензепін (P<0,002). Звертає на себе увагу непропорційність змін у групі контрольних і гіпотиреодних тварин. Так, протягом першого 10-секундного інтервалу інтенсивність брадикардії на фоні введення пірензепіну в групі контрольних тварин зменшилася в 2,1 раза, в групі гіпотиреодних тварин – в 5,2 раза. На 20-тій секунді ці співвідношення склали відповідно – 1,9 і 5,2, на 30-тій – 2,0 і 5,2, на 40-вій – 1,6 і 6,0, на 50-тій 1,2 і 5,6, на 60-тій – 1,3 і 4,2.

Результати дослідів з подразненням нерва струмом напругою 10 В підтвердили встановлені раніше закономірності (**рис. 2**). Так, протягом перших 10 с стимуляції в групі контрольних тварин на фоні попереднього введення пірензепіну інтенсивність брадикардії була на 47,3% нижчою, порівняно з

контрольними тваринами, яким не вводили препарат ($P < 0,05$), тобто виявилася нижчою майже у 2 рази.

В групі гіпотиреоїдних щурів після введення препарату в аналогічному часовому проміжку ефективність стимуляції була меншою на 86,3% (в 7,3 рази) ($P < 0,001$). На 20-тій секунді в групі контрольних щурів на фоні попереднього введення пірензепіну інтенсивність брадикардії була меншою у 2,4 рази, в групі гіпотиреоїдних тварин – в 5,3 рази. На 30-тій секунді ці показники становили відповідно 2,3 і 5,0, на 40-вій – 2,2 і 4,5, на 50-тій – 1,5 і 4,0, на 60-тій – 1,1 і 3,0.

Отже, у наших дослідах блокада M_1 -холінорецепторів пірензепіном дала неоднозначні результати у групах контрольних і гіпотиреоїдних тварин. Селективний M_1 -холіноблокатор суттєвіше обмежив холінергічні впливи на серце у щурів з експериментальним гіпотиреозом. Зменшення ефектів електричної стимуляції блукаючого нерва після введення пірензепіну, яке спостерігалось у наших експериментах, нашоє думку, що у статевонезрілих щурів M_1 -холінорецептори відіграють істотну роль в реалізації вагусних впливів на серце. Порівняння інтенсивності негативно-хронотропних ефектів електричної стимуляції блукаючого нерва у контрольних і гіпотиреоїдних щурів засвідчило, що значення M_1 -холінорецепторів в умовах гіпофункції щитоподібної залози зростає. Ступінь вагусної брадикардії після введення пірензепіну стала суттєво нижчою в тварин обох груп, проте при гіпотиреозі це зниження було у кілька разів більшим, ніж у контролі.

Неоднотипність результатів у контрольних і гіпотиреоїдних тварин вимагає, звичайно, пояснення. З цього приводу можна висунути наступні міркування. Зокрема, дефіцит гормонів щитоподібної залози спричинив більш високу чутливість M_1 -холінорецепторів до пірензепіну і суттєвіше їх блокування, в результаті чого стимуляція блукаючого нерва стала менш ефективною. Водночас відомо, що у контрольних щурів густина M_1 -холінорецепторів на мембранах кардіоміоцитів

порівняно невелика (складають приблизно 4% від загальної кількості). Тому стимуляція блукаючого нерва у контрольних тварин на фоні введення селективного M_1 -холіноблокатора суттєво не відрізнялася від тих результатів, які були отримані в дослідах без його застосування. Цілком логічно припустити, що в умовах тривалої тиреоїдної недостатності відбувається кількісна перебудова рецепторної мускаринової системи. Відносна кількість M_1 -холінорецепторів збільшується, їх внесок у реалізацію парасимпатичних впливів на пейсмейкерні клітини серця зростає, тому при гіпотиреозі блокада M_1 -холінорецепторів пірензепіном зумовлює суттєвіше зменшення негативно-хронотропних ефектів, ніж у контролі. Цілком ймовірно також, що в умовах дефіциту тиреоїдних гормонів змінюється функціональний стан M_1 -холінорецепторів серця. В результаті цього, виключення одного з підтипів компенсаторно підвищує чутливість інших підтипів, особливо коли врахувати, що, за даними Н. Shi et al. [16], гетерогенність M -холінорецепторів у серці поєднується з такою ж гетерогенністю їх зв'язків з іонними каналами.

Висновки.

1. Введення селективного M_1 -холіноблокатора пірензепіну обмежує парасимпатичні впливи на серце, особливо у тварин з експериментальним гіпотиреозом.

2. Ефективність блокади M_1 -холінорецепторів свідчить про безсумнівну роль цих мембранних структур в реалізації вагусних впливів на серце в нормі та в умовах експериментального гіпотиреозу і ймовірність кількісної перебудови рецепторної мускаринової системи при гіпофункції щитоподібної залози.

Перспективи подальших досліджень. Доцільним є вивчення особливостей реактивності серця до ендogenous ацетилхоліну на фоні попереднього введення інших селективних M -холіноблокаторів з метою детального з'ясування механізмів синусової брадикардії в умовах експериментального гіпотиреозу.

Список літератури

1. Бонецкий А. А. Вегетативный статус детей, проживающих в условиях иодной недостаточности / А. А. Бонецкий, О. К. Обидина, Р. Б. Султаналиева [и др.] // Пробл. эндокринологии. – 1999. – Т. 45, № 6. – С. 18-20.
2. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142-145.
3. Космачев А. Б. Роль блокады отдельных подтипов M -холинорецепторов в возникновении тахикардии у крыс / А. Б. Космачев, А. В. Лычаков, Ю. А. Саункина [и др.] // Экспер. и клин. фармакол. – 1997. – Т. 60, № 5. – С. 44-46.
4. Музаффаров Д. У. Средство M -холиномиметиков к M -холинорецепторам различных тканей / Д. У. Музаффаров // Экспер. и клин. фармакол. – 2000. – Т. 63, № 1. – С. 24-28.
5. Нейко Е. М. Гипотиреозное сердце / Е. М. Нейко, Л. В. Глушко, В. І. Боцюрко [та ін.] // Укр. кардіол. ж. – 1996. – № 1. – С. 71-74.
6. Потіха Н. Я. Обмін ацетилхоліну в міокарді статевонезрілих щурів з експериментальним гіпотиреозом / Н. Я. Потіха, В. В. Файфура // Клін. та експер. патол. – 2004. – Т. 3, № 2. Ч. 1. – С. 35-36.
7. Borda E. Autoantibodies against neonatal heart M_1 muscarinic acetylcholine receptor in children with congenital heart block / E. Borda, L. Sterin-Borda // J. Autoimmun. – 2001. – V. 16, № 2. – P. 143-150.
8. Ciulla MM. Effects of thyroid hormones on cardiac structure: A tissue characterization study in patients with thyroid disorders before and after treatment / M. M. Ciulla, R. Paliotti, D. Cortelazzi [et al.] // Thyroid. – 2004. – V. 11. – P. 613-620.
9. Fazio S. Effects of thyroid hormone on the cardiovascular system / S. Fazio, E. A. Palmieri, G. Lombardi [et al.] // Recent. Prog. Horm. Res. – 2004. – V. 59. – P. 31-50.
10. Fisher J. T. Loss of vagally mediated bradycardia and bronchoconstriction in mice lacking M_2 or M_3 muscarinic acetylcholine receptors / J. T. Fisher, S. G. Vincent, J. Gomez [et al.] // FASEB. J. – 2004. – V. 18, № 6. – P. 711-713.

11. Gallowitsch H. J. Thyroid and cardiovascular system / H. J. Gallowitsch // Wien. Med. Wochenschr. – 2005. – V. 155, № 19-20. – P. 436-443.
12. Gatnar A. Thyroid hormones and the cardiomyocytes / A. Gatnar, B. Marek, D. Pakula [et al.] // Endokrynol. Pol. – 2006. – V. 57, № 2. – P. 144-148.
13. Lerebours G. Sinus rhythm: mechanisms and function / G. Lerebours // Med. Sci. – 2007. – Vol. 23, № 6-7. – P. 657 – 662.
14. Scarpero H. M. Muscarinic receptors: what we know / H. M. Scarpero, R. R. Dmochowski // Curr. Urol. Rep. – 2003. – V. 4, № 6. – P. 421-428.
15. Schenck J. B. Severe primary hypothyroidism manifesting with torsades de pointes / J. B. Schenck, A. A. Rizvi, T. Lin // Am. J. Med. Sci. – 2006. – V. 331. – P. 154-156.
16. Shi H. Electrophysiological characterization of cardiac muscarinic acetylcholine receptors: different subtypes mediate different potassium currents / H. Shi, B. Yang, D. Xu [et al.] // Cell. Physiol. Biochem. – 2003. – V. 13, № 2. – P. 59-74.
17. Trendelenburg A. U. Heterogeneity of presynaptic muscarinic receptors mediating inhibition of sympathetic transmitter release: a study with M₂- and M₄-receptor-deficient mice / A. U. Trendelenburg, J. Gomeza, W. Klebroff [et al.] // Br. J. Pharmacol. – 2003. – V. 138, № 3. – P. 469-480.

УДК 616.12-092.19-02:615.217.32-06:616.441-008.64]-092.9

РЕАКТИВНОСТЬ СЕРДЦА К ЭНДОГЕННОМУ АЦЕТИЛХОЛИНУ В УСЛОВИЯХ СЕЛЕКТИВНОЙ БЛОКАДЫ КАРДИАЛЬНЫХ M₁-ХОЛИНОРЕЦЕПТОРОВ ПИРЕНЗЕПИНОМ ПРИ ГИПОФУНКЦИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Потиха Н. Я.

Резюме. В работе представлены результаты исследования реактивности сердца к эндогенному ацетилхолину путем анализа интенсивности негативно-хронотропных эффектов электрической стимуляции блуждающего нерва в условиях блокады M₁-холинорецепторов сердца пирензепином при экспериментальном гипотиреозе. Установлено более существенное ограничение парасимпатических влияний на сердечный ритм у животных с экспериментальным гипотиреозом на фоне селективной блокады M₁-холинорецепторов, что свидетельствует о несомненной роли этих мембранных структур в реализации вагусных влияний на сердце и вероятности количественной перестройки рецепторной мускариновой системы при гиподисфункции щитовидной железы.

Ключевые слова: гипотиреоз, сердце, блуждающий нерв, эндогенный ацетилхолин, M₁-холинорецепторы.

УДК 616.12-092.19-02:615.217.32-06:616.441-008.64]-092.9

РЕАКТИВНІСТЬ СЕРЦЯ ДО ЕНДОГЕННОГО АЦЕТИЛХОЛІНУ В УМОВАХ СЕЛЕКТИВНОЇ БЛОКАДИ КАРДІАЛЬНИХ M₁-ХОЛІНОРЕЦЕПТОРІВ ПІРЕНЗЕПІНОМ ПРИ ГІПОФУНКЦІЇ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ У ЕКСПЕРИМЕНТІ

Потіха Н. Я.

Резюме. У роботі представлені результати дослідження реактивності серця до ендogenous ацетилхоліну шляхом аналізу інтенсивності негативно-хронотропних ефектів електричної стимуляції блукаючого нерва в умовах блокади M₁-холінорецепторів серця пірензепіном при експериментальному гіпотиреозі. Встановлено більш суттєве обмеження парасимпатичних впливів на серцевий ритм у тварин з експериментальним гіпотиреозом на фоні селективної блокади M₁-холінорецепторів, що свідчить про безсумнівну роль цих мембранних структур в реалізації вагусних впливів на серце і ймовірність кількісної перебудови рецепторної мускаринової системи при гіпофункції щитоподібної залози.

Ключові слова: гіпотиреоз, серце, блукаючий нерв, ендogenous ацетилхолін, M₁-холінорецептори.

UDC 616.12-092.19-02:615.217.32-06:616.441-008.64]-092.9

Reactivity of Heart to Endogenous Acetylcholine under Selective Blockade of Cardiac M₁-Cholinergic Receptors by Pirenzepin at Hypothyroidism in Experiment

Potikha N. Ya.

Summary. The results of an investigation of heart reactivity to endogenous acetylcholine by analyzing of the intensity of negative-chronotropic effects of electrical stimulation of the vagal nerve under blockade of hearts M₁-cholinergic receptors by pirenzepin at case of experimental hypothyroidism are presented in this paper. A deeper limitation of parasympathetic influences on heart rate in animals with experimental hypothyroidism on background of selective blockade of M₁-cholinergic receptors was established, suggesting about undoubted role of these membrane structures in realization of vagal effects on the heart and the likelihood of quantitative reconstruction of muscarinic receptor system in hypofunction of thyroid gland.

Key words: hypothyroidism, heart, vagal nerve, endogenous acetylcholine, M₁-cholinergic receptors.

Стаття надійшла 14.11.2012 р.
Рецензент – проф. Рибаків С. Й.