

© О. В. Денефіль, В. П. Фекета\*

УДК 616.127:577.175.522-06:616.839]-085.217.32

**О. В. Денефіль, В. П. Фекета\***

## ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ АВТОНОМНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ ПРИ РОЗВИТКУ АДРЕНАЛІНОВОЇ КАРДІОМІОПАТІЇ НА ФОНІ ДІЇ ХОЛІНУ ХЛОРИДУ

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

\*Ужгородський національний університет (м. Ужгород)

Робота виконана в межах міжкафедральної науково-дослідної роботи ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського» «Особливості вікової та статеві реактивності за змінених умов функціонування організму», № державної реєстрації 0107U004457.

**Вступ.** Реактивність – одна з найважливіших властивостей живої матерії. Вона визначає особливості життєдіяльності організму в змінних умовах середовища [8]. Від взаємодії основних ланок компенсаторно-приспосувальних реакцій, які виникають при дії надзвичайних чинників, залежать виникнення, перебіг та завершення патологічного процесу. Серед факторів, що визначають резистентність організму в умовах зміненого функціонування, є тривалість дії патогенного чинника. На сьогодні людина перебуває в стані постійного стресу, що спричинює зростання серцево-судинних захворювань [7, 10, 13]. Головним субстратом реалізації стресової реакції є катехоламіни, кардіотоксичні ефекти яких в умовах експерименту відтворюються шляхом введення пошкоджуючих доз адреналіну та його синтетичних аналогів [9]. Відомо, що активність парасимпатичного відділу автономної нервової системи (АНС) має захисний вплив на роботу серця [11]. Підсилення холінергічної регуляції має кардіопротекторний ефект і при стресах. Вияснення механізмів взаємодії адренергічної і холінергічної регуляції у роботі серцево-судинної системи в умовах гіперадреналінемії допомогло б у пошуку кардіопротекторних засобів.

**Мета дослідження.** Вивчити вплив холіну хлориду на зміни показників автономної нервової системи при розвитку адреналінової кардіоміопатії у статевому аспекті.

**Завдання дослідження.** 1. Встановити особливості функціонування АНС при підвищенні холінергічних впливів холіном хлориду у статевому аспекті. 2. Вивчити статеві особливості механізмів регуляції з боку АНС при адреналіновому ураженні міокарда на фоні введення холіну хлориду.

**Об'єкт і методи дослідження.** Досліди проведено на 16 білих безпородних щурах-самцях і 17 самицях віком 4-4,5 місяців. Щурам реєстрували електрокардіограми за допомогою приладу марки «ЭК1Т-04» у II стандартному відведенні

при швидкості руху паперу 50 мм/с, записували не менше 120 кардіоінтервалів.

Вивчали варіабельність серцевого ритму (варіаційна кардіоінтервалометрія). Цей метод дає можливість характеризувати стан системи управління синусовим вузлом в умовах стресу, чутливий до змін і порушень регуляції та функціонування органа на всіх рівнях організації біосистеми [1, 4]. За допомогою стереоскопічного мікроскопа «МБС-9» з окулярною сіткою аналізували 100 послідовно розташованих інтервалів R – R, визначали наступні показники [1]: моду (Mo) – значення інтервалу R – R, яке зустрічається найчастіше протягом досліджуваного часу (у мс); амплітуду моди (АМо) – число інтервалів R – R, які відповідають значенню моди (у %); варіаційний розмах ( $\Delta X$ ) – різницю між максимальним і мінімальним значеннями тривалості інтервалів R – R (у мс).

Використовуючи значення  $\Delta X$ , Mo та АМо, обчислювали додаткові показники: індекс напруження (ІН), індекс вегетативної рівноваги (ІВР), показник адекватності процесів регуляції (ПАПР), вегетативний показник ритму (ВПР). Вони характеризують відношення між симпатичним і парасимпатичним відділами АНС і застосовуються в клінічних та експериментальних дослідженнях для кількісної оцінки адренергічно-холінергічного балансу, оцінки мобілізаційного стану захисних механізмів, для прогнозування наслідків захворювання. ІН регуляторних систем, який є відображенням центральних регуляторних впливів на серце, визначали за формулою  $ІН = АМо / (2\Delta X Mo)$ . ІВР, який кількісно характеризує співвідношення між адренергічними та холінергічними впливами на серце, визначали за формулою  $ІВР = АМо / \Delta X$ . ПАПР, який відображає відповідність між функціонуванням синоатріального вузла і симпатичними впливами на нього, визначали за формулою  $ПАПР = АМо / Mo$ . ВПР визначали за формулою  $ВПР = 1 / (Mo \cdot \Delta X)$ . Він служить для оцінки ролі вагусного тону в формуванні ритму: чим менша ця величина, тим більше автономний тонус зміщений у бік парасимпатикотонії та навпаки.

Розчин холіну хлориду («Уральський завод хімреактивов», Росія) щурам вводили внутрішньоочеревинно з розрахунку 100 мг/кг маси тіла [6]. Через 10 хвилин після ін'єкції вводили 0,18 % розчин

адреналіну гідротартрату («Адреналін-Дарниця», Україна) з розрахунку 0,5 мг/кг маси тіла тварини [5].

Електрокардіограми записували у контролі, через 10 хв після введення холіну хлориду, через 30, 60 і 180 хв після введення адреналіну.

Усі втручання на щурах проводили з дотриманням принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), а також принципів, сформульованих і ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) [3].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням стандартного пакета комп'ютерних програм Microsoft Excel та за допомогою модулів системи «Statistica 6. 0» (ліцензійний № 31415926535897). При аналізі розподілу кількісних даних використовували двовибірковий F-тест для дисперсій. Розраховували t-критерій Стюдента для середніх значень двох вибірок при рівних і при не рівних дисперсіях. Для запису результатів використовували середнє арифметичне значення (M), похибку середнього арифметичного (m).

**Результати досліджень та їх обговорення.** Для оцінки інтенсивності синтезу ацетилхоліну інтрамуральними нейронами міокарда з використанням вільного премедіатора використали розчин холіну хлориду. Застосовували вдвічі меншу дозу препарату, ніж автори [6], оскільки спостерігалася 100% смертність щурів після введення адреналіну на фоні дії премедіатора у дозі 200 мг/кг маси тварини. Результати впливу холіну хлориду на математичний аналіз серцевого ритму подано у **таблиці 1**.

У щурів-самців через 10 хв після введення розчину холіну хлориду відмічено достовірне зменшення активності симпатичного відділу АНС центральними каналами, про що свідчило зниження значення АМо на 19,89% ( $p < 0,05$ ). У самиць відмічено тільки тенденцію до зменшення даного показника (на 15,25%,  $p < 0,1$ ). Також у самців спостерігалася достовірне зростання значення  $\Delta X$  на 45,88% ( $p < 0,05$ ), у самиць знов відмічено тільки тенденцію до його збільшення (на 27,59%,  $p < 0,1$ ).

У всіх тварин відмічено достовірне зниження розрахункових показників: ІН, ІВР, ПАПР, ВПР. Отримані результати свідчили про зростання тонуру парасимпатичної і зменшення симпатичної ланок АНС, тобто про включення холіну в синтез медіатора.

Виявлене більше включення холіну в синтез ацетилхоліну у самців можна пов'язати з тим, що у інтактних щурів-самців, згідно літературних даних [2],

менший вихідний тонуру парасимпатичного відділу АНС, порівняно з самицями. Очевидно, що у інтактних самців синтезується менше ацетилхоліну, а при екзогенному введенні холіну останній активно включається в синтез медіатора. У самиць – все навпаки – у вихідному стані переважає парасимпатична ланка АНС і при введенні холіну хлориду відповідь є меншою. Ці результати узгоджуються із законом «вихідного рівня»: чим вищий вихідний рівень, тим у більш дієвому і напруженому стані знаходиться система чи орган, тим менша відповідь можлива при дії подразника [12].

Після введення адреналіну на фоні впливу холіну спостерігалася смертність серед тварин: загинуло 12,5% самців і 17,6% самиць. Отже, введення холіну хлориду запобігає ураженню серця щурів-самців.

Результати математичного аналізу серцевого ритму при розвитку адреналінової кардіоміопатії подано в **таблиці 2**.

У самців після введення адреналіну не було статистично достовірних змін показників  $M_0$ ,  $AM_0$  та  $\Delta X$  відносно контролю протягом усього експерименту. Через 60 хв достовірно меншими були значення ІН, ІВР, ПАПР та ВПР. Також через 30 хв відмічено тенденцію до зменшення ПАПР (на 19,89%,  $p < 0,1$ ), через 60 хв – зростання  $M_0$  (на 6,64%,  $p < 0,1$ ) і  $\Delta X$  (на 98,82%,  $p < 0,1$ ), зниження –  $AM_0$  (на 14,80%,  $p < 0,1$ ). Отримані дані свідчать про довготривалий ефект після введення холіну хлориду, відсутність впливу адреналіну протягом дії останнього. Це відбувалося за рахунок зменшення гуморальних симпатичних та центральних адренергічних впливів на діяльність серця, зростання вагусної активності.

У самиць зміни виявлено вже через 30 хв після введення адреналіну. Вони полягали у зменшенні

Таблиця 1

**Показники математичного аналізу серцевого ритму в контрольних щурів та після введення холіну хлориду ( $M \pm m$ ), n = 14**

Показник	Стать	Умови експерименту	
		Контроль	Холін хлорид
Мода, с	Самці	0,1115 ± 0,0021	0,1176 ± 0,0043
	Самиці	0,1131 ± 0,0011	0,1164 ± 0,0020
Амплітуда моди, %	Самці	33,79 ± 2,26	27,07 ± 1,70*
	Самиці	31,86 ± 1,43	27,00 ± 1,88
Варіаційний розмах, с	Самці	0,0085 ± 0,0008	0,0124 ± 0,0015*
	Самиці	0,0087 ± 0,0006	0,0111 ± 0,0010
Індекс напруження, · 10 <sup>2</sup> , ум. од.	Самці	212,90 ± 121,54	112,17 ± 14,44*
	Самиці	171,02 ± 48,22	114,72 ± 11,34*
Індекс вегетативної рівноваги, ум. од.	Самці	4704,29 ± 687,82	2538,37 ± 290,23*
	Самиці	3885,92 ± 306,64	2669,17 ± 263,18*
Показник адекватності процесів регуляції, ум. од.	Самці	306,07 ± 23,23	233,99 ± 17,07*
	Самиці	281,26 ± 11,88	230,34 ± 13,25*
Вегетативний показник ритму, ум. од.	Самці	1193,06 ± 115,99	834,70 ± 92,40*
	Самиці	1066,36 ± 60,32	857,66 ± 70,36*

Примітка: \* – достовірність різниці порівняно з контролем.

**Показники математичного аналізу серцевого ритму в щурів при введенні адреналіну на фоні дії холіну ( $M \pm m$ ),  $n = 14$**

Показник	Стать	Умови експерименту		
		30 хв після введення адреналіну	60 хв після введення адреналіну	180 хв після введення адреналіну
Мода, с	Самці	0,1174 ± 0,0030	0,1189 ± 0,0033	0,1136 ± 0,0023
	Самиці	0,1237 ± 0,0035*	0,1193 ± 0,0028*	0,1172 ± 0,0023
Амплітуда моди, %	Самці	28,36 ± 1,92	28,79 ± 1,81	29,71 ± 2,38
	Самиці	27,50 ± 1,71	27,00 ± 0,94*	27,79 ± 2,01
Варіаційний розмах, с	Самці	0,0099 ± 0,0014	0,0169 ± 0,0047	0,0105 ± 0,0012
	Самиці	0,0102 ± 0,0007	0,0097 ± 0,0008	0,0110 ± 0,0012
Індекс напруження, ·10 <sup>2</sup> , ум. од.	Самці	154,07 ± 24,36	114,53 ± 17,67	153,90 ± 26,15
	Самиці	121,54 ± 13,70*	129,84 ± 13,08*	126,45 ± 17,32*
Індекс вегетативної рівноваги, ум. од.	Самці	3509,12 ± 514,92	2671,12 ± 391,03*	3509,80 ± 606,88
	Самиці	2924,84 ± 294,22*	3093,12 ± 327,40	2948,99 ± 394,14
Показник адекватності процесів регуляції, ум. од.	Самці	245,19 ± 19,29	245,07 ± 16,99*	261,04 ± 19,72
	Самиці	227,29 ± 17,63*	227,29 ± 8,18*	237,22 ± 17,01*
Вегетативний показник ритму, ум. од.	Самці	1075,42 ± 125,91	787,48 ± 99,60*	978,07 ± 105,93
	Самиці	854,91 ± 65,31*	948,48 ± 76,83	888,17 ± 83,65

**Примітка:** \* – достовірність різниці порівняно з контролем.

гуморальних симпатичних впливів і напруженості регуляторних механізмів. У цей термін дослідження також виявлено тенденцію до зниження показника АМо (на 13,69%,  $p < 0,1$ ). Через 60 хв ефекти поєднаного впливу холіну з адреналіном залишалися таким ж як у попередній термін дослідження: були меншими симпатичні впливи. Через 180 хв симпатична активність не відрізнялася від контрольних значень, хоча напруженість регуляторних механізмів залишалася меншою порівняно з контролем за рахунок більш вираженого зниження впливу симпатичної і зростання активності парасимпатичної ланки АНС.

Таким чином, у результаті аналізу представлених матеріалів стає очевидним, що існує статева відмінність у регуляторних механізмах автономного забезпечення тварин.

**Висновки.**

1. Уведення щурам холіну хлориду викликає зниження активності симпатичного відділу автономної нервової системи та підвищення парасимпатичного, що більше виражено у самців.

2. При адреналіновій кардіоміопатії холін хлорид проявляє протекторний вплив. Вираженіший ефект спостерігається у самців, що проявляється у меншій смертності тварин та більшій стабільності показників автономного балансу серцевого ритму.

**Перспективи подальших досліджень.** У подальшому буде проведено дослідження вмісту ацетилхоліну та активності ацетилхолінестерази у серці тварин різної статі при розвитку адреналінової кардіоміопатії на фоні впливу холіну хлориду.

**Література**

1. Баевский Р. М. Математический анализ изменений сердечного ритма при стрессе / Р. М. Баевский, О. И. Кириллов, С. З. Клецкин. – М.: Наука, 1984. – 221 с.
2. Денефіль О. В. Значення адрено- і холіноблокаторів у забезпеченні автономного балансу серцевого ритму за різних типів погоди / О. В. Денефіль // Фізіологічний журнал. – 2011. – Т. 57, № 2. – С. 66 – 75.
3. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142 – 145.
4. Колодийчук Е. В. Показатели кардиоинтервалограммы у крыс в зависимости от пола и фазы эстрального цикла / Е. В. Колодийчук, Е. Н. Макушкина, Э. Б. Арушанян // Физиол. ж. им. Сеченова. – 1991. – Т. 77, № 11. – С. 60 – 63.
5. Маркова Е. А. Показатели состояния перекисного окисления липидов в сердечной мышце взрослых и старых животных при развитии адреналиновой миокардиодистрофии / Е. А. Маркова, И. Р. Мисула // Проблемы старения и долголетия. – 1992. – Т. 2, № 1. – С. 14 – 16.
6. Чарнош С. М. Включення екзогенного холіну в синтез ацетилхоліну в серці контрольних і гіпотиреоїдних щурів / С. М. Чарнош, В. В. Файфура // Медична хімія. – 2008. – Т. 10, № 1. – С. 67 – 71.
7. Effect of escitalopram on mental stress-induced myocardial ischemia: results of the REMIT trial / W. Jiang, E. J. Velazquez, M. Kuchibhatla [et al.] // JAMA. – 2013. – Vol. 309 (20). – P. 2139 – 2149.
8. Effects of oxidative stress on vascular reactivity in the offspring of protein-restricted stroke-prone spontaneously hypertensive rats / K. Takemori, A., Tahara T. Murakami, T. Kometani // Biosci Biotechnol. Biochem. – 2013. – Vol. 77 (8). – P. 1689 – 1693.
9. Eiden L. E. Neuropeptide-catecholamine interactions in stress / L. E. Eiden // Adv. Pharmacol. – 2013. – Vol. 68. – P. 399 – 404.
10. Emerging role of oxidative stress in metabolic syndrome and cardiovascular diseases: important role of Rac/NADPH oxidase / M. T. Elnakish, H. H. Hassanain, P. M. Janssen [et al.] // J. Pathol. – 2013. – Vol. 231 (3). – P. 290 – 300.

11. Glutamate transporter type 3 knockout leads to decreased heart rate possibly via parasympathetic mechanism / J. Deng, J. Li, L. Li [et al.] // *Transgenic Res.* – 2013. – Vol. 22 (4). – P. 757 – 766.
12. Lacey J. I. The evaluation of autonomic responses: toward a general solution / J. I. Lacey // *Ann. New York Acad. Sci.* – 1956. – Vol. 67, № 5. – P. 123 – 164.
13. Redfors B. Stress-induced cardiomyopathy (Takotsubo) – broken heart and mind? / B. Redfors, Y. Shao, E. Omerovic // *Vasc. Health Risk Manag.* – 2013. – Vol. 9. – P. 149 – 154.

УДК 616. 127:577. 175. 522-06:616. 839]-085. 217. 32

### **ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ВЕГЕТАТИВНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ ПРИ РОЗВИТКУ АДРЕНАЛІНОВОЇ КАРДІОМІОПАТІЇ НА ФОНІ ДІЇ ХОЛІНУ ХЛОРИДУ**

**Денефіль О. В., Фекета В. П.**

**Резюме.** В досліджах на щурах 4-4,5 місяців було досліджено вплив холіну на вегетативний баланс серцевого ритму у щурів при розвитку адреналінової кардіоміопатії. Електрокардіограми для математичного аналізу записували в контролі, через 10 хвилин після введення холіну хлориду (100 міліграм/кг), 30, 60 і 180 хвилин після введення адреналіну (0,5 міліграм/кг). Виявлено, що введення щурам холіну хлориду викликає зниження активності симпатичного відділу вегетативної нервової системи і підвищення парасимпатичного, більш вираженого у самців. При адреналіновій кардіоміопатії холін хлорид проявляє протекторний вплив. Ефект значиміший у самців, що виявляється в меншій смертності і більшій стабільності показників вегетативного балансу. Таким чином, у тварин виявлені статеві відмінності при адаптації до пошкоджуючої дії адреналіну, які пов'язані з реактивністю холінорецепторів.

**Ключові слова:** холін, адреналін, щури, вегетативна нервова система.

УДК 616. 127:577. 175. 522-06:616. 839]-085. 217. 32

### **ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ РАЗВИТИИ АДРЕНАЛИНОВОЙ КАРДИОМИОПАТИИ НА ФОНЕ ДЕЙСТВИЯ ХОЛИНА ХЛОРИДА**

**Денефіль О. В., Фекета В. П.**

**Резюме.** В опытах на крысах 4-4,5 месяцев было исследовано влияние холина на вегетативный баланс сердечного ритма у крыс при развитии адреналиновой кардиомиопатии. Электрокардиограммы для математического анализа записывали в контроле, через 10 минут после введения холина хлорида (100 мг/кг), 30, 60 и 180 минут после введения адреналина (0,5 мг/кг). Выведено, что введение крысам холина хлорида вызывает снижение активности симпатического отдела вегетативной нервной системы и повышение парасимпатического, более выраженное у самцов. При адреналиновой кардиомиопатии холин хлорид проявляет протекторное влияние. Эффект более значим у самцов, что проявляется в меньшей смертности и большей стабильности показателей вегетативного баланса. Таким образом, у животных выявлены половые различия при адаптации к повреждающему действию адреналина, которые связаны с реактивностью холінорецепторів.

**Ключевые слова:** холин, адреналин, крысы, вегетативная нервная система.

UDC 616. 127:577. 175. 522-06:616. 839]-085. 217. 32

### **Change of Autonomic Nervous System Indexes during the Development of Adrenal Cardiomyopathy Via the Action of Choline Chloride**

**Denefil O. V., Feketa V. P.**

**Abstract.** The article deals with the findings of experiments performed on non-linear male and female rats aged 4-4.5 months. The aim was to study chloride choline effect on the changes of the autonomic nervous system (ANS) indices in developing adrenal cardiomyopathy, sex aspects considered.

Electrocardiograms were registered in control, 10 min after chloride choline injection and 30, 60 and 180 min after adrenaline injection. The cardiac rhythm variability was studied. 100 consecutive R-R intervals were analyzed for the purpose of determining mode (Mo), mode amplitude (AMo), range ( $\Delta X$ ). These taken as a basis, the tension index (TI), vegetative balance index (VBI), regulation adequacy index (RAI) and rhythm vegetative index (RVI) were calculated.

Chloride choline solution was injected intraperitoneally (100 mg/kg), 10 minutes after it 0.18% adrenaline hydrotartrate solution was injected (0.5 mg/kg).

All manipulations and methods of slaughtering animals met the requirements and principles of "European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes" (Strasbourg, 1985) adopted by the I National Congress on Bioethics (Kyiv, 2001).

Ten minutes after injection of the chloride choline solution, male rats revealed reliable decrease of the ANS sympathetic section activity in the central channels, confirmed by 19.89% ( $p < 0.05$ ) decrease of the AMo value. Besides, male rats revealed reliable 45.88% ( $p < 0.05$ ) increase of the  $\Delta X$ . All experimental animals revealed reliable decrease of the TI, VBI, RAI and RVI. Experimental findings were indicative of the increased ANS parasympathetic tone and decreased sympathetic tone.

More intensive choline involvement in acetylcholine synthesis may be associated with weaker ANS parasympathetic section output tone in intact male rats if compared with the females. Apparently, few acetylcholine is synthesized in intact males and the exogenous choline injection results in its active involvement in the mediator synthesis. On the contrary, in the females the ANS parasympathetic section prevails in the output and the response to chloride choline injection is weaker.

Adrenaline injection at the background of choline effect caused 12. 5% mortality in males and 17. 6% – in females.

Adrenaline injection in males revealed no statistically reliable changes in Mo, AMo and  $\Delta X$  as compared with experimental controls. In 60 min, TI, VBI, RAI and RVI values were found to be reliably lesser. The data obtained are indicative of the long-term effect of the chloride choline injection and neutralized adrenaline effect. This is due to the decreased humoral sympathetic and central adrenergic effects on the cardiac activity as well as to the increased vagus activity.

In females, changes in particular, decreased humoral sympathetic effects and intense regulatory mechanisms were found 30 min after adrenaline injection. Within this time, AMo index was tending to reduce. In 60 min, the combined choline and adrenaline effects were similar to those found in 30 min, the sympathetic effects being lower. In 180 min, the sympathetic activity was similar to control values. However, the intensity of regulatory mechanisms was less as compared with the control values due to more decreased effect of the ANS sympathetic and increased ANS parasympathetic activity.

Thus, experimental findings indicate the sex-related difference between the regulatory mechanisms of the autonomic maintenance. The chloride choline injection causes decreased ANS sympathetic section activity alongside with increased ANS parasympathetic activity what is more marked in males. In adrenaline cardiomyopathy chloride choline acts as a protector, more marked effect being found in males.

**Key words:** choline, adrenaline, rats, autonomic nervous system.

*Рецензент – проф. Міщенко І. В.*

*Стаття надійшла 17. 12. 2013 р.*