

Файфура В.В., Чарнош С.М., Потіха Н.Я., Грицуняк О.В.

**ВПЛИВ МЕТІОНІНУ НА ХРОНОТРОПНУ ФУНКЦІЮ СЕРЦЯ КОНТРОЛЬНИХ І ГІПОТИРЕО ДНИХ ЩУРІВ**

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

ВПЛИВ МЕТІОНІНУ НА ХРОНОТРОПНУ ФУНКЦІЮ СЕРЦЯ КОНТРОЛЬНИХ І ГІПОТИРЕО ДНИХ ЩУРІВ – У досліджах на 116 білих статевонезрілих щурах-самцях показано, що метіонін стимулює синтез ацетилхоліну в міокарді. Ця стимуляція більш виражена у гіпотирео дних тварин. Зроблено висновок, що головним механізмом розвитку синусово брадикардії при гіпотиреозі є надмірний синтез медіатора холінергічними нейронами передсердь.

ВЛИЯНИЕ МЕТИОНИНА НА ХРОНОТРОПНУЮ ФУНКЦИЮ СЕРДЦА КОНТРОЛЬНЫХ И ГИПОТИРЕОИДНЫХ КРЫС – В опытах на 116 белых половозрелых крысах-самцах показано, что метионин стимулирует синтез ацетилхолина в миокарде. Эта стимуляция более выражена у гипотиреоидных животных. Сделан вывод, что основным механизмом развития синусной брадикардии при гипотиреозе является избыточный синтез медиатора холинергическими нейронами предсердий.

INFLUENCE OF METHIONINE ON CHRONOTROPIC CARDIAC FUNCTION IN INTACT AND HYPOTHYROID RATS – It is shown in experiments on 116 white puberal rats-males, that methionine stimulates by the synthesis of acetylcholine in myocardium. This stimulation is more expressed in hypothyroid animals. It is concluded, that the basic mechanism of development of sinus bradycardia at hypothyroidism is an excessive synthesis of mediator by cholinergic neurons of atria.

**Ключові слова:** серце, гіпотиреоз, холінергічна регуляція.  
**Ключевые слова:** сердце, гипотиреоз, холинергическая регуляция.  
**Key words:** heart, hypothyroidism, cholinergic regulation.

**ВСТУП** При спонтанному чи експериментальному гіпотиреозі хронотропна функція серця зазнає дестабілізуючого впливу не тільки у зв'язку з дефіцитом тирео дних гормонів і прямим порушенням метаболізму в кардіоміоцитах провідної системи (сповільнення трансмембранного транспорту амінокислот, глюкози, кальцію [6]), але й вторинно внаслідок вегетативного дисбалансу. Сумарним результатом цих порушень є синусова брадикардія. Існують поодинокі дані, що в розвитку відіграє роль підсилення холінергічних впливів на серце [3, 4, 5, 7].

Синтез парасимпатичного медіатора ацетилхоліну відбувається у нервових закінченнях за допомогою ферменту холінацетилтрансферази. Суть цього процесу полягає у приєднанні активованого залишку оцтово кислоти (АКоА) до молекули аміоетилового спирту холіну. При достатньо високій активності холінацетилтрансферази фактором регуляції синтезу медіатора виступає вільний холін, кількість якого у нервових закінченнях незначна. Інтраневральний пул холіну потребує безперервного поповнення за рахунок надходження додаткових порцій із позаклітинного простору. Функціонує спеціальна ферментативна система швидкого захоплення холіну, яка забезпечує активне проникнення його через пресинаптичну мембрану навіть при загальному зменшенні вільного премоделіатора.

Існує два джерела холіну, які можуть бути використані в процесі синтезу: а) холін, який звільнюється в синаптичній щілині внаслідок гідролізу ацетилхоліну ацетилхолінестеразою і використовується повторно; б) холін, який утворюється de novo із залученням метильно групи від метіоніну (у складі S-аденозилметіоніну).

Мета роботи: встановити інтенсивність включення заново утвореного холіну в синтез ацетилхоліну у серці гіпотирео дних статевонезрілих щурів за умов гіпотиреозу, оскільки з'ясовано, що активність холінацетилтрансферази міокарда у них різко зростає (46) і може забезпечити значно вищий рівень синтезу ацетилхоліну, ніж у нормі.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ** Експерименти виконано на 116 білих статевонезрілих щурах-самцях лінії Вістар у віці 1,5-2,0 міс. Мерказоліл згодовували в дозі 75 мг, а метіонін – в дозі 0,5 г на 1 кг маси тіла. Для оцінки інтенсивності включення премоделіатора в синтез ацетилхоліну у міокарді використовували три показники: два непрямі – зміни частоти серцевих скорочень та інтенсивності негативно-хронотропних реакцій серця на електростимуляцію блукаючого нерва і прямий – зміни вмісту ацетилхоліну в міокарді. Електрокардіограму реєстрували на апараті ЭКГ-01. Периферичний кінець блукаючого нерва подразнювали прямокутними імпульсами змінного струму протягом 60 с. Характеристика подразнюючого струму формували за допомогою електростимулятора ЭСЛ-2: частота – 50 Гц, напруга – 5 і 10 В, тривалість стимулу – 1 мс, затримка – 1 мс. Перерва між подразненнями становила 15 хв. Аналіз отриманих результатів полягав у тому, що в кожному 10-секундному інтервалі від початку подразнення визначали максимальний ступінь брадикардії. Для цього знаходили найбільший за тривалістю інтервал R-R і вираховували його відношення до вихідного значення R-R ( $R-R_{\text{макс}}/R-R_{\text{вих}}.$ ). Порівнювали максимальну інтенсивність негативно-хронотропних ефектів електростимуляції у контрольних і гіпотирео дних щурів окремо для кожного 10-секундного інтервалу.

Вміст ацетилхоліну визначали біологічним методом [1] окремо в міокарді передсердь і шлуночків.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА Х ОБГОВОРЕННЯ** Насамперед було досліджено вплив метіоніну на частоту серцевих скорочень. З цією метою ми провели три серії дослідів. У першій серії контрольним тваринам згодовували метіонін в дозі 0,5 г/кг протягом 7 діб (електрокардіограму реєстрували до введення препарату, а також після 7-добового згодовування його). В другій серії у тварин викликали 14-добовий гіпотиреоз. У третій серії тваринам протягом 7 діб згодовували мерказоліл, а потім протягом наступних 7 діб додавали метіонін. Результати трьох серій подано в табл. 1.

**Таблиця 1. Вплив метіоніну на серцевий ритм (M±m)**

Серія	Частота скорочень серця, уд./хв	P
1. Контроль (11): вихідна частота на 7-у добу згодовування метіоніну	524±12 533±9	>0,25
2. Гіпотиреоз (12): вихідна частота на 7-у добу годування мерказолілом на 14-у добу годування мерказолілом	572±5 538±6 430±9	<0,05 <0,001
3. Гіпотиреоз (11): вихідна частота на 7-у добу (мерказоліл) на 14-у добу (мерказоліл + метіонін)	548±11 522±8 467±7	<0,05 <0,001

Примітки: 1. P – показник достовірності різниці, порівняно з вихідною частотою; 2. В дужках – кількість дослідів.

Було встановлено, що 7-добове згодкування метіоніну здоровим тваринам (1-а серія) не викликає у них змін серцевих скорочень. Пероральне введення мерказолілу (2-а серія) спричиняло брадикардію, добре виражену і на 7-у, і на 14-у доби гіпотиреозу. Додавання до мерказолілу метіоніну, починаючи з 7- доби (3-я серія), не поглибило вираженості брадикардії. Насичення організму щурів речовиною, яка є донатором метильних груп для синтезу ацетилхоліну і яка могла б справити стимулюючий вплив на цей процес, все ж не змінювало частоти серцевих скорочень ні в нормі, ні при гіпотиреозі.

Відсутність хронотропних реакцій серця на метіонін вказувала на вмикання компенсаторних механізмів пре- і постсинаптичного рівня, здатних нівелювати втручання додаткового метіоніну в синтез ацетилхоліну і стабілізувати частоту скорочень у цих умовах. Щоб скласти уявлення про інтенсивність вагусно імпульсації на провідну систему серця після введення метіоніну, дослідили вміст ацетилхоліну в міокарді, а також негативно-хронотропні ефекти електростимуляції блукаючого нерва на 14-у добу після експерименту.

Введення метіоніну викликало статистично достовірне зростання вмісту ацетилхоліну в обох відділах серця (табл. 2).

У передсердях контрольних тварин, яким вводили метіонін, вміст медіатора виявився в середньому у 3,6 раза вищим, ніж у тварин, яким не згодували метіонін. В міокарді шлуночків спостерігалася аналогічна закономірність: вміст ацетилхоліну у контрольних тварин, яких годували метіоніном, також виявився достовірно вищим, порівняно з тваринами, яких метіоніном не годували. Все ж ступінь нагромадження ацетилхоліну в міокарді шлуночків не досягав рівня передсердь. Кількість його зростає тільки в 2,6 раза. Ця перебудова має істотне значення. Як уже було сказано вище, вміст ацетилхоліну і в нормі у передсердях вищий, ніж у шлуночках (в наших дослідях – в 2,4 раза). Отже, насичення організму метіоніном стимулює синтез ацетилхоліну в передсердях більшою мірою, ніж у шлуночках.

Слід підкреслити, що ацетилхолін передсердь – це переважно медіаторний ацетилхолін, який знаходиться в холінергічних нервових закінченнях. Саме він регулює хро-

нотропну функцію серця і здійснює адаптаційні зміни частоти серцевих скорочень залежно від конкретних функціональних потреб. Ацетилхолін шлуночків – в основному не-медіаторний. Поряд з іншими біологічно активними речовинами він забезпечує трофіку кардіоміоцитів і регулює інотропну функцію серця. Його називають локальним тканинним гормоном.

В умовах насичення організму метіоніном медіаторний ацетилхолін передсердь проявляє більшу лабільність, ніж не-медіаторний ацетилхолін шлуночків. Отже, екстранейрональний синтез його в шлуночках менше залежить від субстрату, ніж інтранейрональний синтез у передсердях, можливо тому, що сам процес його синтезу в кардіоміоцитах повільніший, ніж у нейронах. Якщо хронотропні адаптаційні коливання вимагають негайних змін синтезу медіатора, то виконання ним трофічної функції не пов'язане із швидкими змінами концентрації.

Збільшення вмісту ацетилхоліну в міокарді гіпотиреодних тварин після введення м ацетилхоліну виявилось більш значним, ніж у контролі. У передсердях рівень його зріс у 6,3 раза, у шлуночках – в 3,0 рази. Відношення АХп/АХш зросло з 2,5 до 5,3 (в контролі – з 2,4 до 3,3).

Дослідження холінергічних впливів на хронотропну функцію серця шляхом електростимуляції блукаючого нерва показало наступне.

При напрузі струму 5 В (табл. 3) у контрольних тварин, яких годували метіоніном, спостерігалася брадикардія, яка за інтенсивністю стала меншою в кінці подразнення в 1,8 раза, порівняно з першим 10-секундним інтервалом. Індивідуальні реакції тварин виявилися дуже неоднорідними. Періодично (на 20-й, 40-й, 60-й секундах) спостерігалася зменшення ступеня брадикардії як прояв феномену вилізання.

У гіпотиреодних тварин, яких годували метіоніном, реакції виявилися більш вираженими, що свідчить про більший запас ацетилхоліну у нервових закінченнях. Це добре було помітно на початку подразнення, коли стався раптовий викид медіатора в синаптичну щілину. На 20-й секунді різниця між величиною реакцій в контролі і при

Таблиця 2. Вплив метіоніну на вміст ацетилхоліну в міокарді (M±m)

Серія	Вміст ацетилхоліну, мкмоль/кг		АХп/АХш
	передсердя	шлуночки	
Контроль	9,20±1,98 (5)	3,87±0,31 (10)	2,4
Контроль + метіонін P <sub>1</sub>	33,12±6,82 (5) <0,02	10,08± 1,32 (10) <0,001	3,3
Гіпотиреоз	29,58±8,15 (5)	11,84±2,51 (10)	2,5
Гіпотиреоз + метіонін P <sub>2</sub>	184,95±36,01 (5) <0,01	34,93±3,81 (10) <0,001	5,3

Примітки: 1. P<sub>1</sub> – достовірність різниці між серіями 1 і 2; 2. P<sub>2</sub> – між серіями 3 і 4; 3. В дужках – кількість дослідів; 4. АХп і АХш – ацетилхолін передсердь і шлуночків.

Таблиця 3. Негативно-хронотропні ефекти подразнення блукаючого нерва струмом напругою 5 В після введення метіоніну (M±m)

Серія	R-R вих, мс	R-R макс/ R-R вих					
		10 с	20 с	30 с	40 с	50 с	60 с
Контроль + метіонін (n=11) P <sub>1</sub>	124,7±10,6	12,3±2,6	8,0±1,1	8,4±1,6	7,7±1,6	8,4±1,8	6,9±1,2
Гіпотиреоз+метіонін (n=10) P <sub>1</sub>	183,4±10,4	17,7±3,8	17,0±3,0	14,4±3,3	11,8±3,7	8,0±1,6	6,5±1,0
P <sub>2</sub>	<0,001	>0,1	>0,5 <0,01	>0,5 >0,1	>0,25 >0,25	<0,05 >0,5	=0,01 >0,5

Примітки: 1. P<sub>1</sub> – достовірність різниці, порівняно з першим 10-секундним інтервалом; 2. P<sub>2</sub> – достовірність різниці між середніми показниками контрольних і гіпотиреодних тварин.

гіпотиреозі набула достовірності. Подальша динаміка реакцій являла собою прогресуюче зменшення інтенсивності брадикардії як наслідок вмикання компенсаторних механізмів, що протидіяли надмірному зрушенню частоти ритму. Показник останнього 10-секундного інтервалу став меншим від показника першого інтервалу в 2,7 раза.

При напрузі струму 10 В (табл. 4) у контрольних щурів, годуваних метіоніном, негативно-хронотропні ефекти були на початку подразнення інтенсивнішими, порівняно з попередньою серією, але швидко зменшувалися в процесі подразнення: на 40-й секунді – в 2,3 раза, на 50-й і 60-й

секундах – в 2,8 раза. Ці дані вказують на те, що в умовах дуже сильно вагусно імпульсації адекватно зростає потужність механізмів захисту серця від холінергічних впливів.

Годування метіоніном гіпотирео дних тварин призвело до зростання у них негативно-хронотропних ефектів на початку електростимуляції блукаючого нерва. В процесі подразнення відбувалося стрімке зменшення інтенсивності брадикардії. Високий ступінь брадикардії протягом першого 10-секундного інтервалу був пов'язаний із збільшенням вмісту ацетилхоліну у міокарді передсердь.

**Таблиця 4. Негативно-хронотропні ефекти подразнення блукаючого нерва струмом напругою 10 В після введення метіоніну (M±m)**

Серія	R-R вих, мс	R-R макс/ R-R вих					
		10 с	20 с	30 с	40 с	50 с	60 с
Контроль+метіонін (n=11) P <sub>1</sub>	124,7±10,6	16,9±3,3	12,2±3,2	9,4±1,7	7,2±0,7	6,1±1,4	6,0±0,8
			>0,25	>0,05	<0,01	<0,01	<0,01
Гіпотиреоз+метіонін (n=10) P <sub>1</sub>	183,4±10,4	20,5±3,1	9,8±2,5	11,0±2,2	10,0±3,0	7,8±3,0	6,0±1,9
P <sub>2</sub>	<0,001	>0,25	>0,5	=0,01	<0,02	<0,01	<0,001
			>0,5	>0,5	>0,25	>0,5	>0,5

Примітки: 1. p<sub>1</sub> – достовірність різниці, порівняно з першим 10-секундним інтервалом; 2. p<sub>2</sub> – достовірність різниці між середніми показниками контрольних і гіпотирео дних тварин.

Досліди з метіоніном показали, що в гіпотирео дному серці холінергічні нейрони набувають властивості не тільки посилено акумулювати готовий холін, який звільнюється в синаптичній щілині внаслідок гідролізу медіатора або надходить ззовні, але й активно нагромаджувати ацетилхолін за рахунок ендогенного синтезу його попередника. Ці дані підтверджують висловлене нами раніше положення про те, що головним механізмом розвитку синусово брадикардії при гіпотиреозі є надмірний синтез ацетилхоліну холінергічними нейронами міокарда.

**ВИСНОВКИ** 1. Насичення організму метіоніном збільшує вміст ацетилхоліну в міокарді передсердь і шлуночків контрольних і гіпотирео дних тварин.

2. У тварин з експериментальним гіпотиреозом стимуляція синтезу ацетилхоліну в міокарді була більш вираженою, ніж у контрольних.

3. У тварин з гіпотиреозом, яким вводили метіонін, динаміка негативно-хронотропних ефектів на подразнення блукаючого нерва відзначалася швидкою появою феномену вислизання, що запобігало надмірним вагусним впливам на гіпотирео дне серце.

4. Основним патогенетичним механізмом розвитку синусово брадикардії при гіпотиреозі є активація синтезу ацетилхоліну холінергічними нейронами передсердь.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Біологічний метод визначення вмісту ацетилхоліну в міокарді щурів / В.В. Файфура, Л.М. Сас, Н.Я. Потіха, С.В. Дзіга // Мед. хімія. – 2004. – Т. 6, № 4. – С. 118-121.
2. Потіха Н.Я. Синтез і гідроліз ацетилхоліну в міокарді статевозрілих щурів з експериментальним гіпотиреозом // Експер. і клін. мед. – 2004. – № 4. – С. 24-28.
3. Потіха Н.Я. Співвідношення між холінергічною і адренергічною регуляцією серцевого ритму у статевозрілих щурів з експериментальним гіпотиреозом // Клін. та експер. патол. – 2004. – Т. 3, № 4. – С. 55-58.
4. Foley C.M., McAllister R.M., Hasser E.M. Thyroid status influences baroreflex function and autonomic contributions to arterial pressure and heart rate // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2001. – V. 280, № 5. – P. 2061-2068.
5. Heart rate variability and its response to thyroxine replacement therapy in patients with hypothyroidism / H. Xing, Y. Shen, H. Chen et al. // Chin. Med. J. – 2001. – V. 114, № 9. – P. 906-908.
6. Kahaly G. J. Thyroid hormone action in the heart / G.J. Kahaly, W. H. Dillmann // Endocr. Rev. – 2005. – V. 26, № 5. – P. 704-728.
7. Power spectral analysis of variations in heart rate in patients with hyperthyroidism or hypothyroidism / T. Inukai, K. Takanashi, H. Kobayashi, Y. Fujiwara et al. // Horm. Metab. Res. – 1998. – V. 30, № 8. – P. 531-535.