

НЕГАТИВНІ ХРОНОТРОПНІ РЕАКЦІЇ СЕРЦЯ НА ЕНДОГЕННИЙ І ЕКЗОГЕННИЙ АЦЕТИЛХОЛІН У РАНЬОМУ ПЕРІОДІ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ДИФУЗНОГО КАРДІОСКЛЕРОЗУ

НЕГАТИВНІ ХРОНОТРОПНІ РЕАКЦІЇ СЕРЦЯ НА ЕНДОГЕННИЙ І ЕКЗОГЕННИЙ АЦЕТИЛХОЛІН У РАНЬОМУ ПЕРІОДІ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ДИФУЗНОГО КАРДІОСКЛЕРОЗУ – у статті детально описано методики визначення чутливості серця щурів до екзо- та ендogenous ацетилхоліну на основі узагальнення наукових даних і власного досвіду, набутого при експериментальних дослідженнях холінореактивності серця в умовах моделювання серцевої патології. В експериментах на щурах різної статі вивчали здатність серця реагувати на холінергічні стимули у ранньому періоді при моделюванні дифузного кардіосклерозу.

ОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ ХРОНОТРОПНЫЕ РЕАКЦИИ СЕРДЦА НА ЭНДОГЕННЫЙ И ЭКЗОГЕННЫЙ АЦЕТИЛХОЛИН В РАННЕМ ПЕРИОДЕ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ДИФУЗНОГО КАРДИОСКЛЕРОЗА – В статье подробно описано методики определения чувствительности сердца крыс к экзо- и эндогенному ацетилхолину на основании обобщения научных данных и собственного опыта, приобретенного при экспериментальных исследованиях холинореактивности сердца в условиях моделирования сердечной патологии. В экспериментах на крысах обоего пола изучали способность сердца реагировать на холинэргические стимулы в раннем периоде при моделировании дифузного кардиосклероза.

THE NEGATIVE CHRONOTROPIC REACTIONS OF THE HEART COURSED BY ENDOGENOUS AND EXOGENOUS ACETYLCHOLINE IN THE EARLY PERIOD OF DIFFUSE CARDIOSCLEROSIS – The article detailed methodology for determining the sensitivity of the rats' hearts to exogenous and endogenous acetylcholine on the basis of scientific data and personal experience, which was acquired in experimental studies of anticholinergic reactivity of the heart in cardiac modeling. In experiments on rats of both sexes the heart's ability to respond to cholinergic stimuli was studied in the early period of the diffuse cardiosclerosis.

Ключові слова: серце, ацетилхолін, холінорецептори, дифузний кардіосклероз.

Ключевые слова: сердце, ацетилхолин, холинорецепторы, дифузный кардиосклероз.

Key words: heart, acetylcholine, cholinergic receptors, diffuse cardiosclerosis.

ВСТУП Патологія серцево-судинної системи є пріоритетним напрямком досліджень для науковців нашої країни і зарубіжжя, адже протягом останніх десятиліть продовжує спостерігатись тенденція до зростання частки некрозогенних захворювань у структурі смертності, тривалості втрати працездатності та інвалідизації. В урбанізованому суспільстві все більш помітними стають наслідки руйнівної дії хронічного стресу і зриву адаптаційних механізмів [1, 2], які маніфестують у дифузний кардіосклероз із розвитком серцевої недостатності та значним зниженням якості життя хворих. Для вирішення цієї проблеми перспективним є більш глибоке дослідження саме тих ланок препаратів, що змінюють активність регуляторних впливів з боку автономної нервової системи, зокрема парасимпатичної її ланки, як надзвичайно важливої стрес-лімітувальної системи організму.

Вплив холінергічної ланки автономної регуляції суттєво залежить від статі тварини, що підтверджувалося нашими попередніми дослідженнями [2, 3]. Зокрема досліджено, що інтенсивніший парасимпатичний контроль діяльності серця притаманний тваринам-самкам в умовах некротичних змін у міокарді [3]. Однак при дифузних склеротичних змінах у міокарді, які часто, спочатку перебігаючи безсимптомно, непомітно для хворого, в наступному ведуть до тяжких необоротних змін у серці й супроводжуються розвитком серцевої недостатності, аритмій або призводять до раптової серцевої смерті, роль та особливості функціонування холінергічної ланки вегетативної нервової системи ще не вивчалися. Залишається також нерозкритою проблема ролі холінергічної регуляції серця при дифузному кардіосклерозі залежно від статі. При дослідженні цієї патології слід враховувати, що за патологічних умов може змінюватися не тільки ацетилхолінсинтезуюча здатність міокарда та інтенсивність ферментативного гідролізу ацетилхоліну (АХ), а й локальна чутливість міокардіальних холінорецепторів, яку можна дослідити за допомогою методик із внутрішньовенним введенням нейротрансмітера парасимпатичної ланки вегетативної нервової системи АХ та шляхом електричної стимуляції блукаючого нерва. Тому метою дослідження стало вивчення чутливості міокарда щурів різної статі до екзо- та ендogenous ацетилхоліну в ранньому періоді при моделюванні дифузного кардіосклерозу.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Досліди провели на 38 статевозрілих білих нелінійних щурах різної статі масою 190–250 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію.

Визначення чутливості серця щурів до екзогенного АХ здійснювали за наступною методикою. Тваринам інтраперитонеально вводили розчин натрію тіопенталу в дозі 40 мг/кг (загальний тіопенталовий наркоз), налагоджували запис ЕКГ, реєстрували вихідні дані. Внутрішньовенно струминно у напрямку до серця вводили розчин ацетилхоліну хлориду (“Мосмед-препараты”, Росія), приготовлений на основі 0,9 % розчину натрію хлориду з розрахунку 50 мкг/кг маси в об'ємі не більше 0,5 мл, попередньо здійснивши доступ до зовнішньої яремної вени хірургічним шляхом. Проводили запис ЕКГ з моменту введення АХ і продовжували реєстрацію до зникнення негативного хронотропного ефекту (відновлення серцевого ритму на ЕКГ). Негативний хронотропний ефект оцінювали за показниками інтенсивності та тривалості брадикардії. Інтенсивність брадикардії (IB_{AX}) обчислювали за формулою: $IB_{AX} = R - R_{max} / R - R_{вих}$, де $R - R_{вих}$ – середнє значення інтервалу R-R на ЕКГ до введення АХ, $R - R_{max}$ – максимальне значення R-R після введення АХ. Тривалість брадикардії (TB_{AX}) дорівнювала часовому відрізьку (в секундах) між появою та зникненням негативного хронотропного ефекту.

Для вивчення чутливості серця до ендogenous АХ проводили електричну стимуляцію правого блукаючого нерва і оцінювали показник інтенсивності брадикардії ($IB_{n,v}$). Методика вивчення чутливості серця до ендogenous ацетилхоліну полягає в аналізі змін частоти серцевих скорочень у відповідь на електричне подразнення периферичного відрізка правого блукаючого нерва. Після використання загального тіопенталового наркозу (як вказано вище) тварину фіксували в станку спиною донизу. Робили розріз по середній лінії шиї і виділяли правий блукаючий нерв (маніпуляцію слід проводити дуже обережно, щоб не пошкодити артерію), перерізували його на рівні нижнього хряща гортані. Вибір правого блукаючого нерва аргументований тим, що у щурів він здійснює переважну іннервацію правого передсердя і синоатріального вузла та справляє більш виражений вплив на автоматизм серця, ніж лівий нерв [4]. Периферичний кінець нерва фіксували шовковою ниткою і поміщали на мідні електроди (міжполюсна відстань 4 мм). Електричну стимуляцію проводили приладом ЭСЛ-2 протягом 60 с електричними імпульсами тривалістю 5 мс, частотою 50 Гц, амплітудою 5 В, затримка імпульсів 0,1 с. Ефективним вважали подразнення, що зменшувало частоту серцевих скорочень не менше ніж на 20 ударів за 1 хвилину. Ефект оцінювали за інтенсивністю брадикардії ($IB_{n,v}$), величину якої обчислювали за формулою: $IB_{n,v} = L_1/L_0$, де L_0 – середнє значення

величини R-R на ЕКГ до електричного подразнення нерва, L_1 – максимальне значення R-R, що реєструвалося при стимуляції нерва.

Використовуючи дані методики, провели дослідження реакції серця щурів на екзо- та ендogenous АХ у ранньому періоді при моделюванні ДКС [5]. Спостереження проводили на 1 та 24 год після останньої ін'єкції препаратів для моделювання ДКС.

Всі експерименти та евтаназію тварин проводили з дотриманням "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.) [6]. Результати оброблено параметричними методами варіаційної статистики з визначенням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ При моделюванні дифузного кардіосклерозу аналіз отриманих даних показав, що у ранньому періоді розвитку патології у групі самців IB_{Ax} , що виникала при внутрішньовенному введенні АХ, зазнавала незначних коливань і достовірно не відрізнялася від аналогічного показника у контрольних тварин на обох етапах спостереження (рис. 1). У самок на 1 год ДКС спостерігали зменшення IB_{Ax} у 2,0 рази ($p < 0,001$) та подальше зростання до величини інтактних особин на 24 год ДКС. TB_{Ax} у самців на 1 год ДКС зменшилася на 31,6 % ($p < 0,05$), а на 24 год ДКС достовірно не відрізнялася від показника інтактних самців (рис. 2). У самок

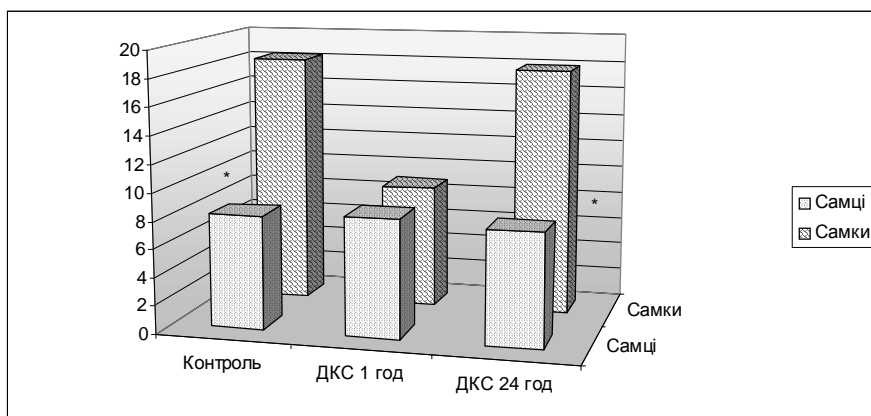


Рис. 1. Інтенсивність брадикардії при введенні ацетилхоліну в самців і самок щурів в умовах розвитку дифузного кардіосклерозу. Примітка. * – достовірна відмінність показників порівнюваних груп тварин.

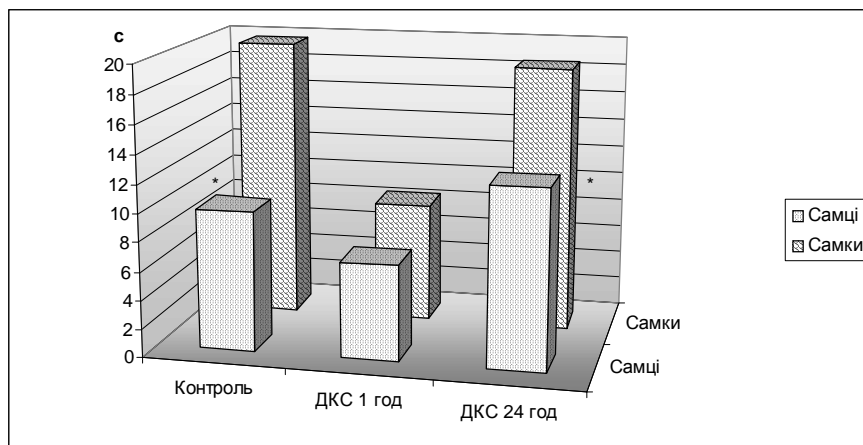


Рис. 2. Тривалість брадикардії при введенні ацетилхоліну в самців і самок щурів в умовах розвитку дифузного кардіосклерозу. Примітка. * – достовірна відмінність показників порівнюваних груп тварин.

спостерігали аналогічну, але більш інтенсивну динаміку $TБ_{АХ}$. Зокрема, на 1 год ДКС зменшення $TБ_{АХ}$ становило 2,3 рази ($p < 0,001$), а на 24 год експерименту відбулося відновлення до величини вихідного показника.

Порівнюючи інтенсивність реакцій між тваринами різної статі, виявлено, що $ІБ_{АХ}$ у контрольних щурів-самок була більшою у 2,2 рази ($p < 0,01$), ніж у самців (рис. 1), а $TБ_{АХ}$ переважала аналогічний показник самців у 2,0 рази ($p < 0,001$) (рис. 2). Це вказує на більшу холінореактивність серця самок, а саме – більшу чутливість холінорецепторів постсинаптичного відділу пейсмеркерів синусового вузла у щурів-самок.

Вивчення реакції серця піддослідних тварин на електричну стимуляцію блукаючого нерва показало (табл. 1), що у групі контрольних самок ступінь брадикардії був на 57 % більший, ніж у самців. Це могло бути наслідком більших запасів медіатора в пресинаптичному відділі та більшої чутливості холінорецепторів постсинаптичного відділу пейсмеркерів синусового вузла.

Таблиця 1. Чутливість серця щурів різної статі до ендogenous ацетилхоліну в ранньому періоді моделювання дифузного кардіосклерозу ($M \pm m$)

Показник		Контроль	ДКС 1 год	ДКС 24 год
$ІБ_{n,v}$	самці	n=6 9,1±0,8 ₁	n=6 9,5±1,1 ₂	n=7 4,3±0,7 ₃
	самки	n=6 14,5±1,4 ₄	n=6 18,1±2,2 ₅	n=7 11,3±3,1 ₆

Примітка. $p_{1-3} < 0,001$; $p_{1-4} < 0,01$; $p_{2-5} < 0,001$; $p_{3-6} < 0,05$; $p_{4-5} < 0,05$.

У ранньому періоді моделювання ДКС у самців виявили наступні зміни досліджуваних показників. На 1 год розвитку кардіосклеротичного процесу показник $ІБ_{n,v}$ у самців не змінився, але на 24 год зменшився відносно контролю в 1,8 рази ($p < 0,001$). У самок даний показник зріс у 1,3 рази ($p < 0,001$) на 1 год ДКС та повернувся до вихідного рівня на 24 год розвитку модельованої патології.

Зважаючи на отримані результати, можна узагальнити, що моделювання кардіосклеротичного процесу в ранньому періоді супроводжується активною перебудовою функціональної здатності холінорецепторів серця. Виявлена статеві відмінності негативно-хронотропних реакцій на введення АХ та електричну стимуляцію блукаючого нерва могла бути зумовлена більшою чутливістю холінорецепторів постсинаптичного відділу пейсмеркерів синусового вузла у щурів-самок. При інтерпретації результатів, отриманих за вказаними методиками, не слід забувати, що на показники $ІБ$ і $TБ$ опосередковано впливає активність холінестерази в міокарді [2, 7]. Тому для глибшого аналізу чутливості постсинаптичних холінорецепторів доцільно використовувати поєднання

даної методики з визначенням холінестеразної активності міокарда.

ВИСНОВКИ 1. Наведено точні та інформативні методики визначення чутливості серця щурів до екзо- та ендogenous ацетилхоліну.

2. При моделюванні дифузного кардіосклерозу в ранньому періоді виявлено статеву відмінність негативно-хронотропних реакцій на введення ацетилхоліну та електричну стимуляцію блукаючого нерва, яка зумовлена більшою чутливістю холінорецепторів постсинаптичного відділу пейсмеркерів синусового вузла у статевозрілих щурів-самок.

3. Дослідження холінергічних процесів за описаними методиками створює можливість для кількісної оцінки особливостей холінергічного контролю серцевої діяльності та чутливості міокардіальних холінорецепторів при вивченні серцевої патології.

Перспективи подальших досліджень Зважаючи на результати, отримані за методиками визначення чутливості серця щурів до екзо- та ендogenous ацетилхоліну при моделюванні дифузного кардіосклерозу, необхідно продовжувати подальші дослідження холінореактивності міокарда у самців і самок щурів в умовах даної патології, доповнюючи дослідження холінореактивності іншими методиками. Це дозволить створити цілісне уявлення про патогенез дифузного кардіосклерозу. В подальшому також доцільно визначити холінестеразну активність міокарда на різних етапах моделювання дифузного кардіосклерозу, адже на показники інтенсивності та тривалості брадикардії опосередковано впливає активність холінестерази у міокарді.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Хара М. Р. Роль опіоїдної системи в реалізації адаптаційних механізмів при кардіоваскулярній патології / М. Р. Хара, Г. С. Сатурська // Здобутки клініч. та експер. мед. – 2009. – Т. 11, № 2. – С. 14–18.
- Сатурська Г. С. Особливості холінергічної регуляції серця тварин різної статі при адреналіновому пошкодженні міокарда за застосування модуляторів опіатних рецепторів : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук / Г. С. Сатурська. – Тернопіль, 2009. – 20 с.
- Хара М. Р. Холінергічні реакції серця, їх статеві диференціація, роль у механізмах пошкодження міокарда / М. Р. Хара, Г. С. Сатурська, Р. С. Усинський // Здобутки клініч. та експер. мед. – 2010. – Т. 12, № 1. – С. 20–25.
- Ганонг В. Ф. Фізіологія людини / Вільям Ф. Ганонг [пер. з англ. наук. ред. перекладу М. Гжегоцький, В. Шевчук, О. Заячківська]. – Львів : БаК, 2002. – 784 с.
- Пат. 66297 Україна, МПК G 09 B 23/28. Спосіб моделювання дифузного кардіосклерозу / Хара М. Р., Боднар Я. Я., Сатурська Г. С., Пелих В. Є.; заявник і патентовласник Терн. держ. мед. університет ім. І. Я. Горбачевського. – № u 2011 08088 ; заявл. 29.06.11 ; опубл. 26.12.11, Бюл. № 24.
- Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142–145.
- Duysen E. G. Induction of plasma acetylcholinesterase activity in mice challenged with organophosphorus poisons / E. G. Duysen, O. Lockridge // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2011. – Vol. 255, № 2. – P. 214–220.

Отримано 20.06.12