

ПАТОГЕНЕТИЧНА ОЦІНКА ПРОЦЕСІВ СИНТЕЗУ ТА ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГІДРОЛІЗУ АЦЕТИЛХОЛІНУ В МІОКАРДІ ЩУРІВ НА ЕТАПАХ РОЗВИТКУ ДИФУЗНОГО КАРДІОСКЛЕРОЗУ

У роботі проведено дослідження та аналіз адекватності процесів синтезу та ферментативного гідролізу ацетилхоліну в міокарді щурів за умов розвитку дифузного кардіосклерозу. Виявлено зменшення активності ферментативного гідролізу ацетилхоліну в міокарді тварин обох статей на етапах моделювання дифузного кардіосклерозу, що сприяє збереженню концентрації парасимпатичного медіатора, особливо його метаболічної фракції. Показано статеві відмінності у зміні метаболізму ацетилхоліну при дифузному кардіосклерозі.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **серце, ацетилхолін, ацетилхолінестераза, дифузний кардіосклероз.**

ВСТУП. Патологія серцево-судинної системи впродовж десятиліть продовжує займати перше місце у структурі захворюваності, інвалідизації та смертності. У даній галузі медицини регулярно проводять широкомасштабні різнопланові дослідження, та, незважаючи на величезні зусилля науковців і медиків усіх високорозвинених країн, на жаль, не вдається докорінно змінити цю ситуацію. Зокрема, досягнуто значних успіхів у галузі кардіохірургії, трансплантології, що дозволяє у багатьох випадках зберегти життя хворих, які в недалекому минулому були приреченими. Однак усе ще значне занепокоєння викликають хронічні захворювання серця, що маніфестують у кардіосклероз із розвитком серцевої недостатності. Ускладнює ситуацію той факт, що токсичні, ендокринно-обмінні, стресорні пошкодження міокарда здебільшого не мають в анамнезі гострого епізоду, а тому іноді залишаються непоміченими, недіагностованими, а отже, нелікованими. У результаті цього діагноз кардіосклерозу досить часто встановлюють на пізніх стадіях розвитку серцевої недостатності. Відомо, що серцева недостатність значно погіршує якість життя хворих аж до тяжкої інвалідизації. Тому надзвичайно актуальним є спрямування зусиль науковців на дослідження етіології та патогенезу кардіосклерозивних процесів [4]. У патогенезі розвитку серцевих захворювань парасимпатичній ланці вегетативної нервової системи відводять значну роль у регуляції серцевого ритму, зокрема завдяки її модулюючим впливам на серцевий ритм та суттєвим

впливам на метаболізм міокарда [9, 11], особливо за умов дії несприятливих чинників. Тому вивчення метаболізму ацетилхоліну (АХ) у міокарді на різних етапах патогенезу дифузного кардіосклерозу набуває особливої актуальності, зокрема важливим є з'ясування узгодженості процесів синтезу та ферментативного гідролізу АХ диференційовано у міокарді передсердь і шлуночків.

Метою даного дослідження було вивчити та проаналізувати процеси синтезу та ферментативного гідролізу АХ у міокарді передсердь і шлуночків статевозрілих щурів різної статі на різних етапах розвитку дифузного кардіосклерозу (ДКС), оцінити узгодженість цих процесів, а також їх відповідність зростаючим потребам пошкодженого серця.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди провели на 72 статевозрілих білих нелінійних щурах різної статі віком 4,0–5,0 місяців, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Дві групи тварин слугували контролем (самці й самки), а решту тварин було взято для моделювання ДКС [4, 8], в їх міокарді на різних етапах розвитку патології (на 7-му і 14-ту доби експерименту) досліджували вміст ацетилхоліну та інтенсивність ферментативного гідролізу АХ.

Вміст ацетилхоліну визначали біологічним методом окремо у міокарді передсердь і шлуночків [1, 5], оскільки на сьогодні біологічний метод продовжує залишатись одним із найбільш точних та інформативних методів визначення концентрації ацетилхоліну в тканині міокарда.

© Г. С. Сатурська, 2012.

Активність ферментативного гідролізу АХ визначали у міокарді передсердь та шлуночків модифікованим методом, адаптованим для визначення загальної холінестеразної активності (ЗХЕА) у тканинах, взявши за основу методику визначення активності холінестерази на фотоелектроколориметрі [6, 7].

Усі експерименти виконували з дотриманням принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985), ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) [3]. Статистичний аналіз отриманих даних проводили за допомогою методів варіаційної статистики [2] з визначенням t-критерію Стьюдента. Відмінність між величинами вважали достовірними при величині $p < 0,05$. Для розрахунків використовували комп'ютерну програму "Microsoft Excel 2007" (США).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати досліджень вмісту парасимпатичного медіатора АХ у міокарді передсердь і шлуночків при моделюванні ДКС показали, що через 7 діб у передсердях самців вказаний показник зменшився у 2,5 раза ($p < 0,001$) і утримувався на такому рівні до 14-ї доби спостереження (рис.).

У міокарді передсердь самок спостерігалася подібна реакція – відбулося зменшення досліджуваного показника у 2,4 раза ($p < 0,001$) на 7-му добу експерименту, проте на 14-ту добу прослідковувалася тенденція до незначного його зростання.

Аналіз результатів дослідження вмісту ацетилхоліну в міокарді шлуночків при моделюванні ДКС виявив незначне зниження даного показника у групах самців і самок на обох етапах експерименту, однак ці зміни були недовірними.

При порівнянні вмісту ацетилхоліну в передсердях та шлуночках тварин різної статі встановили, що достовірна відмінність за цим показником була лише у шлуночках на 7-му добу моделювання ДКС. У самок рівень ацетилхоліну виявився більшим на 45,2 % ($p < 0,001$), ніж у самців, на даному етапі спостереження.

Наявність більш вираженої динаміки вмісту ацетилхоліну в передсердях вказує на те, що зареєстровані зміни стосувалися більшою мірою медіаторної його фракції, клінічним проявом чого може слугувати зміна серцевого ритму. Метаболічна фракція ацетилхоліну, яка переважає у міокарді шлуночків, не зазнавала суттєвих змін. Враховуючи те, що при розвитку кардіосклеротичного процесу значна кількість кардіоміоцитів була пошкоджена і заміщена сполучнотканинними елементами [4, 8], слід розглядати факт збереження певної концентрації АХ у гомогенаті шлуночків як надзвичайно важливий компенсаторний механізм, що дозволяє серцю максимально зберігати функціональну здатність за даних умов.

Постало запитання, якими механізмами забезпечився майже стабільний вміст АХ у міокарді шлуночків при розвитку такої тяжкої патології, як ДКС. Щоб дати відповідь на це запитання, було проведено дослідження ферментативного гідролізу АХ за ЗХЕА передсердь і шлуночків в умовах розвитку ДКС. За допомогою цих досліджень встановлено, що на 7-му добу моделювання ДКС у самців ЗХЕА передсердь зменшилась на 31,8 % ($p < 0,05$), а у самок ЗХЕА передсердь на даному етапі спостереження знизилась на 39,3 % ($p < 0,05$). Очевидно, більш виражене пригнічення активності холінестерази у самок сприяло збереженню більшого вмісту АХ у передсердях тварин цієї статі. При аналізі результатів дослідження ЗХЕА

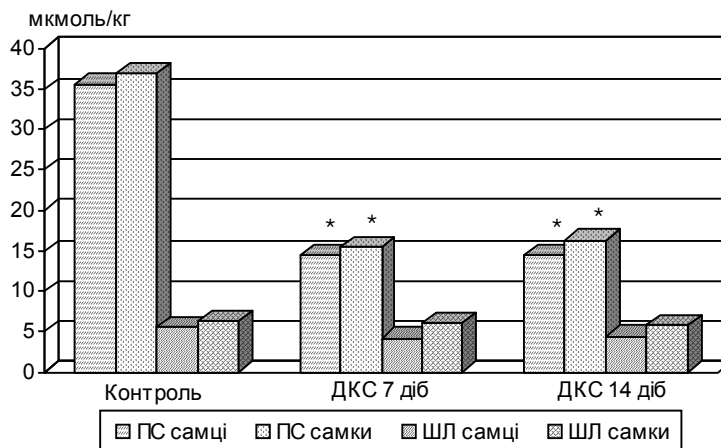


Рис. Динаміка вмісту ацетилхоліну в міокарді передсердь і шлуночків щурів різної статі на різних етапах розвитку дифузного кардіосклерозу. Примітка. * – достовірна відмінність показників порівнюваних груп тварин.

передсердь самців і самок щурів на 14-ту добу модельованої патології відмічено тенденцію до подальшого зменшення активності досліджуваного ферменту. Зокрема, на даному етапі розвитку ДКС холінергетична активність передсердь самців була меншою на 33,5 % ($p < 0,001$), ніж у групі контролю, а в самок – на 45,7 % меншою ($p < 0,001$), ніж у групі контрольних самок.

ЗХЕА у міокарді шлуночків самців і самок щурів була значно меншою, ніж у контрольних тварин. Так, у самців на 7-му добу розвитку ДКС ЗХЕА була нижчою в 1,9 раза ($p < 0,001$), а в самок – у 2,3 раза ($p < 0,001$), ніж в аналогічних групах контрольних тварин. На другому етапі спостереження відзначали подальше пригнічення активності даного ферменту. Так, у самців показник ЗХЕА зменшився у 2,4 раза ($p < 0,001$), а у самок – у 2,8 раза ($p < 0,001$).

При зіставленні отриманих даних про активність холінергетичної на цих етапах розвитку ДКС із даними про вміст АХ у передсердях та шлуночках серця очевидним є те, що в пошкодженому міокарді на 7-му добу, завдяки адекватній зміні активності холінергетичної, створюються умови для підтримання концентрації АХ на достатньому рівні, особливо його метаболічної фракції. Саме цей компенсаторно-адаптаційний механізм у патогенезі розвитку ДКС забезпечує адекватне функціонування парасимпатичної ланки вегетативної нервової системи в міокарді шлуночків, що, як відомо [8], найбільше пошкоджуються при ДКС.

Результати експериментів виявили також статеві відмінності у метаболізмі АХ при розвитку ДКС, зокрема спостерігалось більш виражене пригнічення ЗХЕА в самок, що сприяло збереженню вищої концентрації парасимпатичного медіатора у міокарді тварин цієї статі на обох етапах розвитку ДКС.

Детальний патофізіологічний аналіз процесів синтезу та ферментативного гідролізу АХ у міокарді передсердь і шлуночків за умов розвитку ДКС показав, що саме ЗХЕА є чинником, який при даній патології значною мірою визначає інтенсивність парасимпатичних впливів на серце і робочу концентрацію АХ у синапсах інтрамуральних гангліїв, а також між закінченням постгангліонарних волокон і клітинами провідної системи серця. Активність ферментативного гідролізу АХ впливає на ефективність вагусної імпульсації, регулюючи

кількість нейротрансмітера, що досягає постсинаптичної мембрани [10, 12]. Вона своєрідний обмежувач надмірної парасимпатичної імпульсації на пейсмекери синоатріального вузла. За умов розвитку ДКС спостерігається послаблення механізмів обмеження холінергічних впливів на міокард, що створює сприятливі умови для збереження робочої концентрації АХ у міокарді передсердь і шлуночків самців та самок щурів.

ВИСНОВКИ. 1. Розвиток дифузного кардіосклерозу в статевозрілих самців і самок щурів супроводжується зменшенням вмісту медіаторної фракції ацетилхоліну на 7-му та 14-ту доби модельованої патології.

2. Зниження активності ферментативного гідролізу ацетилхоліну в міокарді шлуночків щурів обох статей на етапах моделювання дифузного кардіосклерозу сприяє збереженню концентрації метаболічної фракції парасимпатичного медіатора, що слугує патогенетичним підґрунтям для компенсаторно-адаптаційних та протекторних парасимпатичних впливів при дифузному кардіосклерозі.

3. Статеві відмінності у зміні метаболізму ацетилхоліну при дифузному кардіосклерозі проявляються більш вираженим пригніченням загальної холінергетичної активності у міокарді передсердь і шлуночків самок, ніж самців, що сприяє збереженню більшого вмісту холінергічного медіатора у міокарді самок.

Перспективи подальших досліджень.

Незважаючи на те, що збереження відносно стабільного вмісту АХ у шлуночках розцінюють позитивно, спостерігається зменшення природного градієнта концентрацій АХ, що на даному етапі досліджень неможливо трактувати однозначно, адже за певних умов це може слугувати протекторним механізмом від аритмогенних впливів, посилюючи електричну стабільність кардіоміоцитів провідної системи, або ж навпаки – підґрунтям для аритмій. Тому доцільно виконувати подальші дослідження патогенетичних особливостей холінергічної регуляції серця при ДКС на різних етапах розвитку даної патології. Для комплексної оцінки впливів холінергічної регуляції на серце за умов розвитку ДКС необхідно провести математичний аналіз серцевого ритму, а також дослідити чутливість міокардіальних холінергетичних рецепторів при даній патології.

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. Гланц С. Медико-биологическая статистика / Стентон Гланц ; пер. с англ. Ю. А. Данилов, Н. Е. Бузикашвили, Д. В. Самойлова. – М. : Практика, 1998. – 459 с.
3. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2003. – **8**, № 1. – С. 142–145.
4. 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 імені І. Я. Горбачевського. – № у 2011 08088 ; заявл. 29.06.11 ; опубл. 26.12.11, Бюл. № 24.
5. Пелих В. Є. Удосконалення способу визначення ацетилхоліну біологічним методом / В. Є. Пелих, Р. С. Усинський, Г. С. Сатурська // Здобутки клінічної та експериментальної медицини : збірник матеріалів підсумкової науково-практичної конференції, 17 квітня 2012 року. – С. 205.
6. Пушкина Н. Н. Биохимические методы исследования / Н. Н. Пушкина. – М. : Наука, 1963. – 223 с.
7. Сатурська Г. С. Визначення інтенсивності ферментативного гідролізу ацетилхоліну в міокарді щурів в умовах розвитку серцевої та ендокринної патології / Г. С. Сатурська, Н. Я. Потіха, В. Є. Пелих // Буковин. мед. вісник. – 2012. – **16**, № 3. – С. 95–98.
8. Сатурська Г. С. Сучасні патофізіологічні аспекти моделювання дифузного кардіосклерозу в щурів / Г. С. Сатурська // Здобутки клініч. та експер. мед. – 2012. – **16**, № 1. – С. 124–127.
9. Тучек С. Синтез ацетилхолина в нейронах. – М. : Мир, 1981. – 284 с.
10. Duysen E. G. Induction of plasma acetylcholinesterase activity in mice challenged with organophosphorus poisons / E. G. Duysen, O. Lockridge // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2011. – **255**, № 2. – P. 214–220.
11. Lerebours G. Sinus rhythm: mechanisms and function / G. Lerebours // Med. Sci. – 2007. – **23**, № 6–7. – P. 657–662.
12. Vlk J. Pre- and postnatal development of the autonomic innervation of the heart in rats / J. Vlk // Cesk. Fysiol. – 1989. – **38**, № 3. – P. 199–221.

А. С. Сатурская

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПРОЦЕССОВ СИНТЕЗА И ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА АЦЕТИЛХОЛИНА В МИОКАРДЕ КРЫС НА ЭТАПАХ РАЗВИТИЯ ДИФФУЗНОГО КАРДИОСКЛЕРОЗА

Резюме

В работе проведено исследование и анализ адекватности процессов синтеза и ферментативного гидролиза ацетилхолина в миокарде крыс в условиях развития диффузного кардиосклероза. Выявлено уменьшение активности ферментативного гидролиза ацетилхолина в миокарде животных обоих полов на этапах моделирования диффузного кардиосклероза, что способствует сохранению концентрации парасимпатического медиатора, особенно его метаболической фракции. Показано половые различия в изменении метаболизма ацетилхолина при диффузном кардиосклерозе.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **сердце, ацетилхолин, ацетилхолинэстераза, диффузный кардиосклероз.**

H. S. Saturska

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

PATHOGENETIC ESTIMATION OF SYNTHESIS PROCESSES AND ENZYMATIC HYDROLYSIS OF ACETYLCHOLINE IN THE MYOCARDIUM OF RATS IN THE DEVELOPMENT PHASES OF DIFFUSE CARDIOSCLEROSIS

Summary

In the article, the research and analysis of the adequacy of the synthesis processes and enzymatic hydrolysis of acetylcholine in the myocardium of rats was studied in the development of diffuse cardiosclerosis. It was revealed the decreased activity of enzymatic hydrolysis of acetylcholine in the myocardium of rats of both sexes on the modelling phases of diffuse cardiosclerosis that promotes to keep parasympathetic neurotransmitter concentration, especially its metabolic fraction. The gender differences in the change of acetylcholine metabolism in diffuse cardiosclerosis are shown.

KEY WORDS: **heart, acetylcholine, acetylcholinesterase, diffuse cardiosclerosis.**

Отримано 25.09.12

Адреса для листування: Г. С. Сатурська, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.