

РОЛЬ СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ ТА ХОЛІНЕРГІЧНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ В МЕХАНІЗМАХ НЕКРОТИЧНОГО ПОШКОДЖЕННЯ МІОКАРДА У ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ

В експериментах на статевозрілих щурах вивчено патогенетичну роль системи оксиду азоту та холінергічної регуляції в механізмах пошкодження міокарда щурів при гіперадреналінемії залежно від статі. Як донатор, так і неселективний блокатор синтаз оксиду азоту порушували метаболізм холінергічного медіатора ацетилхоліну в міокарді, але зміни переважали в його шлуночках і залежали від статі тварин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: серце, холінергічна регуляція, стать, оксид азоту, ацетилхолін.

ВСТУП. Різке зростання стресових перевантажень у житті людей сприяє підвищенню захворюваності на серцево-судинну патологію. Патологія серцево-судинної системи залишається однією з найбільш актуальних проблем сучасної медицини як одна з основних причин смертності та інвалідизації людей працездатного віку. Згідно з даними ВООЗ, смертність від цієї патології в нашій країні становить понад 50 %. За показниками захворюваності більшість становлять чоловіки, проте смертність є вищою в жінок, особливо в осіб похилого віку [6]. Така статистика не лише доводить важливу роль статевих гормонів у регуляції діяльності серця та судин, але й визначає необхідність детальнішого вивчення механізмів розвитку та особливостей перебігу серцево-судинної патології залежно від статі [5, 7, 9]. Доведено, що відмінності у чинниках ризику, клінічних проявах, діагностичних і лікувальних підходах для чоловіків та жінок найбільш виражені саме при серцево-судинних захворюваннях. Серед природних захисних факторів серця за таких умов особливу роль відіграють холінергічні механізми та система оксиду азоту, синергічні ефекти яких є предметом наукових досліджень. Вони проявляють стреслімітуючі ефекти. Безумовно, універсальним регулюючим фактором мікроциркуляції є оксид азоту (NO). Дефіцит оксиду азоту призводить до порушення судинного тонуусу з розвитком вазоконстрикції, підвищення агрегації тромбоцитів, проліферативних змін у судинній стінці, вивільнення прозапальних цитокінів [8, 11].

© К. Є. Юрїїв, Ю. І. Бондаренко, 2013.

Ця молекула є важливим регулятором метаболізму в міокарді. Нез'ясованим залишається механізм взаємозв'язку даних компонентів за умов пошкодження міокарда, яким чином вони доповнюють чи, можливо, обмежують ефекти один одного. Для з'ясування цього питання було вирішено провести кореляційний аналіз між вмістом нітрит-аніона та ацетилхоліну в міокарді передсердь та шлуночків самців і самок щурів при розвитку некротичного процесу в міокарді за умов зміни активності системи оксиду азоту.

Метою даного дослідження було з'ясувати патогенетичні взаємозв'язки між системою оксиду азоту та вегетативною регуляцією серця при некротичному його пошкодженні.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти провели на 108 білих щурах обох статей (175–210 г), в яких моделювали адреналінове пошкодження міокарда (АПМ) шляхом внутрішньом'язового введення адреналіну (1 мг/кг). Активність синтезу оксиду азоту змінювали введенням L-аргініну (600 мг/кг) в черевну порожнину за 15 хв до відтворення АПМ або L-NAME (NG-Nitro-L-arginine-methyl ester hydrochloride, 25 мг/кг) за аналогічною схемою [9]. В експерименті виділено три серії досліджень (перша – щури з АПМ, друга – щури з АПМ, що розвивалося на тлі прекурсора оксиду азоту L-аргініну, третя – щури з АПМ, що розвивалося на тлі неселективного блокатора синтаз оксиду азоту L-NAME). Тварин досліджували на 1 та 24 год [2, 9]. У міокарді передсердь та шлуночків визначали вміст ацетилхоліну (АХ)

біологічним методом [2] та нітрит-аніона (NO_2^-) за високоспецифічним спектрофотометричним методом Гріна на основі кольорової реакції з реактивом Гріса [10]. Усі експерименти проводили відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [4]. Результати досліджень піддавали математичній обробці з визначенням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. В експериментах на щурах встановлено, що розвиток АПМ на 1 та 24 год супроводжувався зменшенням вмісту NO_2^- в міокарді передсердь та шлуночків тварин обох статей (табл. 1). Введення L-аргініну інтактним тваринам призвело до зниження вмісту NO_2^- в обох відділах серця. Подальше зменшення вмісту NO_2^- за даних умов відбувалося і на 1 год розвитку АПМ, особливо в міокарді шлуночків. На 24 год експерименту даний показник у міокарді передсердь дещо підвищився, проте не відновився до вихідного значення, натомість у шлуночках він перевищив його. При порівнянні вмісту NO_2^- в міокарді шлуночків тварин різної статі було виявлено, що у самок його концентрація менша, ніж у самців.

Неселективна блокада синтаз оксиду азоту шляхом введення L-NAME призвела до ще більш значного зменшення даного метаболіту в міокарді. При цьому чутливішим до блокатора оксиду азоту виявився міокард шлуночків самців. Розвиток АПМ на тлі L-NAME супроводжувався також зменшенням NO_2^- , що особливо було виражено на 1 год спостереження. На 24 год експерименту вміст NO_2^- в міокарді

шлуночків тварин обох статей нормалізувався, а в міокарді передсердь залишався зниженим. Чутливішими до такого впливу виявилися самки.

Досліджуючи вміст ацетилхоліну в серці тварин, ми встановили, що L-аргінін та L-NAME суттєво впливають на вміст даного медіатора й активність його ферментативного гідролізу в міокарді передсердь і шлуночків (табл. 2). Пошкодження серця адреналіном на тлі прекурсора оксиду азоту відбулось за умови збереження високого рівня АХ у передсердях та без зміни його вмісту в шлуночках. L-NAME проявив сильніший вплив на інтенсивність ферментативного гідролізу АХ, особливо в міокарді шлуночків, змінюючи характер динаміки досліджуваних показників у процесі розвитку некротичного процесу. Більш чутливими до модулюючого впливу на метаболізм АХ виявилися самки щурів.

Кореляційний аналіз підтвердив зв'язок між рівнями NO_2^- і АХ, при цьому існували дуже сильна пряма залежність між даними показниками в першій серії досліджень у групі самців – $r=0,9988$ ($p<0,05$) та сильна у самок – $r=0,8918$ ($p<0,05$). Аналогічні зміни були як у міокарді передсердь, так і в міокарді шлуночків. При порівнянні результатів дослідження пошкодження міокарда на тлі прекурсора NO (друга серія тварин) спостерігали іншу закономірність. Так, у даному випадку в міокарді передсердь виявили сильну пряму залежність між рівнями NO_2^- і АХ у самців – $r=0,8364$ ($p<0,05$) та сильну зворотну залежність у самок – $r=-0,7126$ ($p<0,05$). У міокарді шлуночків відзначено слабкий кореляційний зв'язок між рівнями NO_2^- і АХ ($r=-0,2260$ у самців та

Таблиця 1 – Вміст нітрит-аніона в міокарді передсердь та шлуночків щурів при пошкодженні міокарда адреналіном на тлі L-аргініну і L-NAME (ммоль/кг, $M \pm m$, $n=6$)

Серія		Стать	Контроль	АПМ 1 год	АПМ 24 год
Передсердя	Перша (без впливу на NO)	♂	4,39±0,09	2,82±0,11*	0,96±0,07*
		♀	4,24±0,06	3,03±0,08*	0,90±0,06*
	Друга (L-аргінін)	♂	2,39±0,08	2,03±0,03*	2,11±0,02*
		♀	2,34±0,04	2,07±0,02*	2,10±0,04*
	Третя (L-NAME)	♂	2,26±0,04	0,91±0,02*	1,60±0,15**
		♀	2,25±0,10	0,94±0,03*	1,19±0,05**
Шлуночки	Перша (без впливу на NO)	♂	4,22±0,10	2,97±0,17*	0,66±0,06*
		♀	4,42±0,22	2,98±0,12*	0,70±0,06*
	Друга (L-аргінін)	♂	2,43±0,04	1,77±0,03*	3,20±0,10**
		♀	2,33±0,04	1,79±0,03*	2,68±0,12**
	Третя (L-NAME)	♂	2,06±0,28	0,70±0,03*	2,03±0,17
		♀	2,29±0,13	0,72±0,04*	2,09±0,12

Примітки:

- 1) * – достовірна ($p \leq 0,05$) відмінність у межах статі;
- 2) # – достовірна відмінність між тваринами різної статі.

Таблиця 2 – Вміст ацетилхоліну в міокарді передсердь та шлуночків щурів при пошкодженні міокарда адреналіном на тлі L-аргініну і L-NAME (мкмоль/кг, M±m, n=6)

	Серія	Стать	Контроль	АПМ 1 год	АПМ 24 год
Передсердя	Перша (без впливу на NO)	♂	13,1±0,23 [#]	11,1±0,27 ^{*#}	9,1±0,19 ^{*#}
		♀	14,6±0,11 [#]	10,7±0,06 ^{*#}	9,6±0,08 ^{*#}
	Друга (L-аргінін)	♂	18,2±0,19 ^{**}	16,4±0,15 ^{*#}	15,3±0,19 ^{*#}
		♀	25,0±0,15 ^{**}	28,0±0,35 ^{*#}	25,5±0,27 ^{*#}
	Третя (L-NAME)	♂	14,1±0,32 ^{**}	11,6±0,15 ^{*#}	9,6±0,18 ^{*#}
		♀	10,2±0,03 ^{**}	10,7±0,10 ^{*#}	10,2±0,05 ^{*#}
Шлуночки	Перша (без впливу на NO)	♂	5,5±0,32	3,4±0,13 ^{*#}	2,0±0,21 [*]
		♀	5,8±0,16	2,2±0,11 ^{*#}	2,2±0,23 [*]
	Друга (L-аргінін)	♂	5,1±0,15 [#]	3,0±0,19 ^{*#}	2,5±0,13 [*]
		♀	6,2±0,10 [#]	2,6±0,11 ^{*#}	2,7±0,19 [*]
	Третя (L-NAME)	♂	4,6±0,06 ^{**}	3,1±0,08 ^{*#}	2,0±0,03 ^{*#}
		♀	6,6±0,16 ^{**}	2,5±0,11 ^{*#}	3,0±0,13 ^{*#}

Примітки:

- 1) * – достовірна ($p \leq 0,05$) відмінність у межах статі;
- 2) # – достовірна відмінність між тваринами різної статі;
- 3) · – достовірна відмінність відносно показника тварин першої серії.

$r=0,1606$ у самок ($p < 0,05$)), що свідчило про втрату за умови пошкодження міокарда взаємодії холінергічної і нітритергічної регуляції серця.

Кореляційний зв'язок між рівнями нітритів і ацетилхоліну на тлі L-NAME у міокарді передсердь самців був значним – $r=0,5407$ ($p < 0,05$), а в самок зворотно пропорційним – $r=-0,6497$ ($p < 0,05$). У міокарді шлуночків самців сильної залежності не виявили, а в самок вона була значною – $r=0,6692$ ($p < 0,05$).

ВИСНОВКИ. 1. Некротичне пошкодження міокарда при експериментальній гіперадреналінемії супроводжується зниженням вмісту оксиду азоту та ацетилхоліну в міокарді передсердь і шлуночків.

2. Активація синтезу оксиду азоту при введенні L-аргініну тваринам з некротичним пошкодженням міокарда призводить до порушень метаболізму холінергічного медіатора АХ, зокрема його зниження в міокарді шлуночків тварин обох статей у ранні періоди розвитку некрозу.

3. Неселективна блокада синтаз оксиду азоту у тварин з некротичним пошкодженням міокарда викликає зменшення вмісту АХ у міокарді як передсердь, так і шлуночків щурів обох статей у всі періоди дослідження.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні впливу донаторів і блокторів системи оксиду азоту на холінергічну регуляцію серця тварин залежно від статі та розвитку патологічного процесу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Адреналінова міокардіодистрофія і реактивність організму / О. О. Маркова, І. Л. Попович, А. В. Церковнюк, Л. Г. Бариліак. – К. : Комп'ютерпрес, 1997. – 126 с.
2. Біологічний метод визначення вмісту ацетилхоліну в міокарді щурів / В. В. Файфура, Л. М. Сас, Н. Я. Потіха, С. В. Дзига // Мед. хімія. – 2004. – 6, № 4. – С. 118–121.
3. Бурлака А. П. Радикальні форми кисню та оксиду азоту при пухлинному процесі [Текст] / А. П. Бурлака, Є. П. Сидорик. – К. : Наукова думка, 2006. – 228 с.
4. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2003. – 8, № 1. – С. 142–145.
5. Марков Х. М. L-аргінін – оксид азота в терапії болезней сердца и сосудов / Х. М. Марков // Кардиология. – 2005. – 45, № 6. – С. 87–95.
6. Ратманова А. Сердечно-сосудистая заболеваемость и смертность – статистика по европейским странам / А. Ратманова // Medicine Review. – 2009. – № 1. – С. 6–12.
7. Сагач В. Ф. Роль ендотелію в регуляції кровообігу / В. Ф. Сагач // Фізіол. журн. – 1998. – 44, № 3. – С. 115–116.

8. Соловьев А. И. Фармакология и токсикология оксида азота: два лица одной и той же молекулы / А. И. Соловьев, А. В. Стефанов // *Соврем. пробл. токсикологии*. – 1998. – № 1. – С. 35–38.

9. Хара М. Р. Оксид азоту та серцево-судинна система (огляд літератури) / М. Р. Хара, А. М. Дорохіна // *Здобутки клініч. та експер. мед.* – 2010. – **12**, № 1. – С. 14–19.

10. Analysis of nitrate, nitrite and (¹⁵N) nitrate in biological fluids / C. Green, A. W. David, J. Golawski [et al.] // *Anal. Biochem.* – 1982. – **126**, № 1 – P. 131–138.

11. Monkada S. Nitric oxide: Physiology, patophysiology and pharmacology / S. Monkada, R. M. J. Palmer, E. A. Higgs // *Pharmacol. Rev.* – 1991. – **43**, № 2. – P. 109–142.

Е. Е. Юриив, Ю. И. Бондаренко

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

РОЛЬ СИСТЕМЫ ОКСИДА АЗОТА И ХОЛИНЭРГИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ В МЕХАНИЗМАХ НЕКРОТИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ МИОКАРДА У КРЫС РАЗНОГО ПОЛА

Резюме

В экспериментах на половозрелых крысах изучено патогенетическую роль системы оксида азота и холинэргической регуляции в механизмах повреждения миокарда крыс при гипердреналинемии в зависимости от пола. Как донатор, так и неселективный блокатор синтаз оксида азота нарушали метаболизм холинэргического медиатора ацетилхолина в миокарде, но изменения преобладали в его желудочках и зависели от пола животных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сердце, холинэргическая регуляция, пол, оксид азота, ацетилхолин.

K. Ye. Yuriyiv, Yu. I. Bondarenko

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

ROLE OF NITRIC OXIDE AND REGULATION IN CHOLINERGIC MECHANISMS NECROTIC MYOCARDIAL INJURY IN RATS OF DIFFERENT SEX

Summary

In the experiments on mature rats there was studied the pathogenic role of nitric oxide and parasympathetic regulation mechanisms of myocardial damage in rats at hyperadrenalinaemia depending on sex differences. Both donor and nonselective blocker of nitric oxide synthase violated the cholinergic neurotransmitter acetylcholine metabolism in the myocardium, but changes in the ventricles dominated and depended on animal sex.

KEY WORDS: heart, cholinergic regulation, sex nitric oxide, acetylcholine.

Отримано 15.01.13

Адреса для листування: К. Є. Юріїв, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.