

ХАРАКТЕРИСТИКА ЗМІН ЧУТЛИВОСТІ МІОКАРДІАЛЬНИХ ХОЛІНОРЕЦЕПТОРІВ САМЦІВ І САМИЦЬ ЩУРІВ У ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО ДІАБЕТУ

ХАРАКТЕРИСТИКА ЗМІН ЧУТЛИВОСТІ МІОКАРДІАЛЬНИХ ХОЛІНОРЕЦЕПТОРІВ САМЦІВ І САМИЦЬ ЩУРІВ У ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО ДІАБЕТУ – В експериментах на статевозрілих самцях і самицях щурів моделювали цукровий діабет 1 типу одномоментним введенням стрептозотоцину в дозі 60 мг/кг у черевну порожнину. Тварин досліджували через 15, 30, 60 та 90 днів від моменту введення стрептозотоцину. Вивчали чутливість холінорецепторів синусового вузла за інтенсивністю брадикардії при внутрішньовенному введенні ацетилхоліну та електричному подразненні периферичного відрізка правого блукаючого нерва. Встановили, що інтенсивність негативного хронотропного ефекту серця самців при електричній стимуляції блукаючого нерва, яка залежить від запасів ацетилхоліну в пресинаптичному відділі та чутливості постсинаптичних холінорецепторів, зростала поступово і через 90 днів переважала вихідне значення в 2,2 раза. Це відбувалося на тлі збереженої чутливості холінорецепторів. У самок максимальне збільшення (в 4,4 раза) інтенсивності негативного хронотропного ефекту при стимуляції блукаючого нерва спостерігали через 30 днів від початку експерименту. Через 90 днів даний показник переважав контрольний в 3,3 раза, що відбувалося на тлі зменшення реакції серця на екзогенний ацетилхолін (у 1,7 раза). Отримані результати дозволяють стверджувати про більш суттєві зміни стану холінорецепторної системи міокарда самиць, порівняно з самцями, в динаміці розвитку стрептозотоцинового цукрового діабету.

ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗМЕНЕНИЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИОКАРДИАЛЬНЫХ ХОЛИНОРЕЦЕПТОРОВ САМЦОВ И САМОК КРЫС В ДИНАМИКЕ РАЗВИТИЯ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО ДИАБЕТА – В экспериментах на половозрелых самцах и самках крыс моделировали сахарный диабет 1 типа одномоментным введением стрептозотоцина в дозе 60 мг/кг в брюшную полость. Животных исследовали через 15, 30, 60 и 90 дней с момента введения стрептозотоцина. Изучали чувствительность холинорецепторов синусового узла оценивая интенсивность брадикардии при внутривенном введении ацетилхолина и электрическом раздражении периферического отрезка правого блуждающего нерва. Установили, что интенсивность отрицательного хронотропного эффекта сердца самцов при электрической стимуляции блуждающего нерва, которая зависит от запасов ацетилхолина в пресинаптическом отделе и чувствительности постсинаптических холинорецепторов увеличивалась постепенно и через 90 дней была больше исходного значения в 2,2 раза. Это происходило на фоне незначительных колебаний чувствительности холинорецепторов. У самок максимальное увеличение (в 4,4 раза) отрицательного хронотропного эффекта при стимуляции блуждающего нерва наблюдали через 30 дней с начала эксперимента. Через 90 дней данный показатель превышал контрольный в 3,3 раза, что происходило на фоне уменьшения реакции сердца на экзогенный ацетилхолин (в 1,7 раза). Полученные результаты позволяют утверждать о более существенных изменениях состоянии холинорецепторной системы миокарда самок по сравнению с самцами в динамике развития стрептозотоцинового сахарного диабета.

CHARACTERISTICS OF CHANGES OF MALE AND FEMALE RATS MYOCARDIAL CHOLINORECEPTORS SENSITIVITY IN THE DYNAMICS OF STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES – In experiments on adult male and female rats, type 1 diabetes by momentary introduction of streptozotocin at a dose of 60 mg/ kg

into the peritoneal cavity was modeled. Animals were examined after 15, 30, 60 and 90 days after introduction of streptozotocin. We studied the sensitivity of cholinoreceptors of sinus node by the intensity of bradycardia with intravenous injection of acetylcholine and electrical stimulation of the peripheral segment of the right vagus nerve. It was established that the intensity of the negative chronotropic effect of heart of males by electric stimulation of the vagus nerve, which depends on the reserves of acetylcholine in the presynaptic section and sensitivity of postsynaptic cholinoreceptors, increased gradually and after 90 days prevailed the output value in 2.2 times. This occurred at the background of a slight (10 %) decrease in response to exogenous acetylcholine that reflected the decrease in sensitivity of cholinoreceptors. In females the maximum increase (in 4.4 times) of the intensity of the negative chronotropic effect of vagus nerve stimulation was observed after 30 days from the start of the experiment. After 90 days, this indicator prevailed the controlled one in 3.3 times, which occurred at the background of heart response decreasing to exogenous acetylcholine (in 1.7 times). Obtained results suggest a more significant change in state of cholinoreceptors system of myocardium of females compared with males in the dynamics of development of streptozotocin-induced diabetes.

Ключові слова: цукровий діабет, стать, серце, холінорецептори.

Ключевые слова: сахарный диабет, пол, сердце, холинорецепторы.

Key words: diabetes mellitus, sex, heart, cholinoreceptors.

ВСТУП Недостатність інсулінопродукуючої функції підшлункової залози на сьогодні є однією з найпоширеніших причин розвитку кардіоміопатії, тяжкість якої визначає здатність серця забезпечувати адекватну гемодинамію та функціонування організму загалом. Чільне місце в патогенезі діабетичних уражень системи кровообігу належить порушенням нейрогормональної регуляції, сутність яких зводиться до порушення балансу адренергічних та холінергічних механізмів у діяльності серця, ступінь якого залежить від тяжкості ендокринопатії [1–3]. З даних літератури відомо, що при легкому та середньої тяжкості перебігах цукрового діабету спостерігається збільшення виразності М-холінергічних і бета-адренергічних реакцій розширення коронарних судин, послаблення негативних рефлексорних холінергічних і посилення позитивних адренергічних іно- і хронотропних реакцій серця. За умов тяжкого перебігу діабету послаблюються М-холінергічні й бета-адренергічні реакції серця і коронарних судин, а також обмежуються, або повністю відсутні від’ємні іно- і хронотропні реакції серця. Більшість наукових досліджень присвячена вивченню участі адренергічних механізмів у патогенезі діабетичної кардіоміопатії [4, 5]. Зважаючи на наявність статевої складової в статистиці захворюваності на серцево-судинну патологію, яка прослідковується і за показником захворюваності на цукровий діабет [6], залишаються незрозумілими окремі ланки патогенезу розвитку діабетичної кардіоміопатії в частині тракту-

вання статевих особливостей холінергічної регуляції серця та її порушень при прогресуванні цукрового діабету.

Метою роботи стало з'ясувати характер змін чутливості серця до холінергічних впливів при розвитку цукрового діабету залежно від статі.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Досліди провели на 60 статевозрілих самцях (♂) та самицях (♀) щурів (0,17–0,22 кг). У частини з них (48) викликали розвиток цукрового діабету введенням стрептозотоцину в черевну порожнину (60 мг/кг). Через 15, 30, 60 та 90 днів від початку відтворення експериментальної моделі діабету досліджували чутливість міокардіальних холінергічних рецепторів. Аналізували показник інтенсивності (ІБах) та тривалості (ТБах) брадикардії, що виникала при внутрішньовенному введенні ацетилхоліну (АХ, 50 мкг/кг). Крім того, оцінювали реакцію серця на електричне подразнення периферичного відрізка блукаючого нерва (БН) за величиною інтенсивності брадикардії (ІБн). ІБах та ІБн обраховували за фор-

мулою $R-R_{\max}/R-R_0$, де $R-R_0$ – середня тривалість кардіоінтервалів (с), реєстрованих на електрокардіограмі до електричного подразнення блукаючого нерва чи введення ацетилхоліну внутрішньовенно, а $R-R_{\max}$ – максимальне значення кардіоінтервалу (с), що реєструвався після вищезазначених функціональних впливів. Показник ТБах визначали за тривалістю в секундах брадикардичного ефекту, який виникав після внутрішньовенного введення ацетилхоліну в яремну вену [7]. Розвиток цукрового діабету контролювали за рівнем глюкози в крові (табл.). Усі дослідження та евтаназію тварин провели з використанням тіопенталу натрію (40 мг/кг), що узгоджується з принципами Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985), ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Статистичний аналіз отриманих результатів передбачав використання параметричних методів із визначенням t-критерію Стьюдента та значення р.

Таблиця. Зміни реакції холінергічних рецепторів синусового вузла щурів на функціональні впливи в динаміці розвитку стрептозотоцинового цукрового діабету

| Показник | | К | ЦД 15 днів | ЦД 30 днів | ЦД 60 днів | ЦД 90 днів |
|----------|---|----------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|
| ІБн | ♂ | 9,13±0,12 | 14,28±0,45 * ** | 17,21±0,78 * ** | 18,30±0,56 * ** | 20,46±1,83 * |
| | ♀ | 7,97±0,09 | 20,22±0,83 * | 34,82±1,18 * | 32,04±0,96 * | 26,80±2,74 * |
| ІБах | ♂ | 4,64±0,17 | 4,50±0,22 ** | 4,11±0,05 * ** | 4,06±0,14 * ** | 4,24±0,47 ** |
| | ♀ | 4,26±0,14 | 3,06±0,05 * ** | 2,04±0,0* ** | 1,52±0,12 * ** | 2,51±0,12 * ** |
| ТБах | ♂ | 18,6±0,3 | 18,9±1,2 | 19,7±1,0 | 18,8±1,7 | 24,3±3,2 * |
| | ♀ | 23,0±1,1 ** | 21,6±1,3 | 23,2±0,6 ** | 22,8±1,9 | 27,5±3,0 |

Примітки: 1). * – достовірна ($p \leq 0,05$) відмінність відносно контролю;
2) ** – між тваринами різної статі.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Оцінка отриманих результатів показала, що розвиток цукрового діабету викликав різну в самців і самиць за характером динаміку показника інтенсивності брадикардії, яку реєстрували при електричній стимуляції блукаючого нерва. Зокрема, в самців через 15 днів спостереження за розвитком цукрового діабету даний показник збільшився на 56 %. Така ж тенденція зберігалася впродовж усіх наступних термінів спостереження. Перевага над контрольним показником через 30 днів спостереження склала 88 %, через 60 днів – 100 %, а через 90 днів – 124 %. Інтенсивність відповіді серця на холінергічні впливи залежить від кількох складових. Зокрема, від кількості квантів ацетилхоліну, що виділяється з пресинаптичного відділу блукаючого нерва та чутливості холінергічних рецепторів постсинаптичної мембрани. Останнє оцінювали за інтенсивністю брадикардії, яка виникала при введенні внутрішньовенно екзогенного ацетилхоліну. Було встановлено, що через 15 днів від моменту введення

стрептозотоцину даний показник в самців достовірно не змінився. Проте абсолютне його значення демонструвало тенденцію до зменшення, яке стало достовірним через 30 днів спостереження і склало 13 %, через 60 днів – 14 %. Через 90 днів від початку спостереження даний показник достовірно не відрізнявся від контрольного.

Стан постсинаптичної мембрани пейсмейкерів синусового вузла залежить від швидкості гідролізу парасимпатичного медіатора в синаптичній щілині та активності функціональної десенситизації холінергічних рецепторів для збереження серцевого індексу [8]. Оцінка даного процесу за показником тривалості брадикардії, якою відповідало серце на внутрішньовенне введення ацетилхоліну, показало, що в самців впродовж двох місяців маніфестації стрептозотоцинової моделі цукрового діабету даний показник не змінювався. Достовірно його збільшення на 31 %, що спостерігали лише через 90 днів від початку експерименту, могло свідчити про сповільнення процесу де-

сенситизації та реполяризації постсинаптичної мембрани. Зважаючи на зростання на даному етапі спостереження показника інтенсивності вагусної брадикардії при одночасному збільшенні частоти серцевих скорочень (з 429 ± 12 уд./хв до 501 ± 7 уд./хв) такі зміни, найімовірніше, демонстрували синергічний процес полегшеного вивільнення обох медіаторів – симпатичного та парасимпатичного в даних умовах для збереження не лише серцевого викиду, але й венозного повернення [9, 10].

Холінорецепторна система самиць на розвиток цукрового діабету реагувала по іншому. Реакція на стимуляцію блукаючого нерва у тварин цієї статі наросла суттєвіше вже на ранніх термінах спостереження. Через 15 днів від початку спостереження інтенсивність брадикардії, яка виникала при електричній стимуляції нерва, збільшилася в 2,5 рази. Через 30 днів ця різниця зросла до 4,4 рази, через 60 днів – 4 рази. Зважаючи на те, що на перших двох етапах спостереження частота серцевих скорочень суттєво збільшувалася, описана динаміка демонструвала синергічне полегшення вивільнення ацетилхоліну, що, найімовірніше, носило компенсаторний характер і сприяло відновленню ритму серця до 60 доби спостереження. Одночасно з цим інтенсивність реакції серця самиць на внутрішньовенне введення ацетилхоліну зменшувалася: через 15 днів експерименту – в 1,4 рази, через 30 днів – у 2,1 рази, через 60 днів – в 2,8 рази, що також можна було розцінити як прояв високого ступеня синергізму, який ґрунтується на здатності альфа-адренорецепторів при взаємодії з катехоламінами гальмувати виникнення потенціалів дії у водії ритму та виникненні гіперполяризації мембран нейронів симпатичних гангліїв [11]. Менша відмінність від контролю обох показників через 90 днів спостереження на тлі зменшення частоти серцевих скорочень можна розцінити як прояв регулярних порушень, що виникали на даному етапі розвитку цукрового діабету.

Порівняння даних показників у самців і самиць показало, що характер змін чутливості міокардіальних холінорецепторів в умовах розвитку цукрового діабету суттєво відрізнявся як у часі прояву, так і за ступенем. У самців відбувалося наростання реакції серця на стимуляцію блукаючого нерва на тлі незначних коливань чутливості постсинаптичних холінорецепторів, що супроводжувало таке ж поступове до 90 дня спостереження наростання частоти серцевих скорочень. У самиць зміни були хвилеподібними відповідно до змін ритму серця та суттєвішими. Розвиток брадикардії на тлі зменшення вивільнення квантів ацетилхоліну із закінчень блукаючого нерва та в 1,7 рази меншої, ніж в самців, чутливості холінорецепторів свідчив про гірші умови контролю синусового

вузла з боку нервових структур, що можна оцінити як прояв нейропатії.

ВИСНОВОК Розвиток стрептозотоцинового цукрового діабету викликає залежні від статі зміни реакції серця на холінергічні впливи, що в самців характеризуються поступовим наростанням чутливості до стимуляції блукаючого нерва, а в самиць – різким зростанням лише в початковому періоді спостереження на тлі суттєвого зменшення чутливості постсинаптичних холінорецепторів.

Перспективи подальших досліджень Для встановлення сутності виявлених порушень доцільним є вивчення характеру структурних змін в міокарді за даної моделі діабету в тварин різної статі.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гончар І. В. Порушення адренергічної регуляції енергетичного метаболізму міокарда при експериментальному цукровому діабеті / І. В. Гончар, О. П. Нещерет, А. І. Хомазюк // Ендокринологія. – 1996. – № 1. – С. 30–39.
2. Урбанович А. М. Метаболічні порушення при автономній нейропатії серця у хворих на цукровий діабет першого і другого типу та їх корекція : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук. – К., 2002. – 20 с.
3. Сергієнко О. О. Діабетична автономна нейропатія серця / О. О. Сергієнко, А. М. Урбанович. – Львів : Атлас, 1999. – 94 с.
4. Scognamiglio R. Myocardial dysfunction and adrenergic cardiac innervation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus / R. Scognamiglio, A. Avogaro, D. Casara // J. Am. Coll. Cardiol. – 1998. – Vol. 31, № 2. – P. 404–412.
5. Burachinsky B. Myofibrillar degeneration in older patients with diabetes mellitus / B. Burachinsky, J. Kiyak // 16th Osterreichischer Geriatriekongress. Salzburg (Austria). – 1997. – P. 7.
6. Phillips G. B. Relationships in men of sex hormones, insulin, adiposity, and risk factors for myocardial infarction / G. B. Phillips, T. Jing, S. B. Heymsfield // Metabolism. – 2003. – Vol. 52, № 6. – P. 784–790.
7. Хара М. Р. Особливості холінергічної регуляції серця інтактних і кастрованих самців та самок щурів / М. Р. Хара // Буков. мед. вісник. – 2004. – Т. 8, № 1. – С. 153–155.
8. Гиниатуллин Р. А. Десенситизация постсинаптической мембраны нервно-мышечного синапса, вызванная спонтанной квантовой секрецией медиатора / Р. А. Гиниатуллин, Л. Г. Магазаник // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 1997. – Т. 83, № 3. – С. 67–72.
9. Смирнов В. М. Некоторые аспекты биохимического механизма синергизма отделов вегетативной нервной системы / В. М. Смирнов, А. Э. Лычкова // Росс. кардиол. журнал. – 2002. – № 4. – С. 64–69.
10. Евлахов В. И. О роли измененной легочной и кардиогемодинамики в уменьшении венозного возврата при экспериментальной ишемии миокарда левого желудочка / В. И. Евлахов, И. З. Поясов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2011. – № 10. – С. 396–399.
11. Смирнов В. М. Механизм синергизма симпатической и парасимпатической нервной системы в регуляции деятельности сердца и желудка / В. М. Смирнов, А. Э. Лычкова // Вестник рос. акад. мед. наук. – 2002. – № 4. – С. 16–20.

Отримано 20.03.13