

УДК 616.12-008.1-02:616.379-008.64-085.31:516.17-311]-055-092.9

М.Р. Хара1,

Н.А. Головач2

1Тернопільський національний педагогічний університет імені

В. Гнатюка,

2Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м. Тернопіль

ЧУТЛИВІСТЬ ХОЛІНОРЕЦЕПТОРІВ СЕРЦЯ ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ ПРИ РОЗВИТКУ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ НА ТЛІ ЗМІНЕНОЇ АКТИВНОСТІ СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ

Ключові слова: стрептозотоциновий діабет, серце, чутливість холінорецепторів, L-аргінін, аміногуанідин, стаття.

Резюме. У досліджах на щурах вивчені особливості впливу L-аргініну та аміногуанідину на чутливість холінорецепторів синусового вузла щурів різної статі в умовах стрептозотоцинового цукрового діабету (СД). Цукровий діабет моделювали одноразовим уведенням стрептозотоцину. Активність системи оксиду азоту змінювали шляхом щоденного інтраперитонеального введення прекурсора L-аргініну та блокатора - аміногуанідину. Чутливість холінорецепторів оцінювали за інтенсивністю брадикардії, яка виникала при подразненні *p.vagus* та внутрішньовенному введенні ацетилхоліну. Встановлено гендерну відмінність у здатності модуляторів синтезу оксиду азоту впливати на чутливість холінорецепторів серця при розвитку СД. Ефективність препаратів проявлялася переважно на рівні пресинаптичного відділу і меншою мірою - постсинаптичного. L-аргінін сприяв збільшенню ефективності відповіді серця на стимуляцію блукаючого нерва, особливо в самців, збільшенню чутливості постсинаптичних тільки у самок. Ефективність такого впливу зменшувалася при збільшенні часу маніфестації ЦД. Аміногуанідин тільки у самок з ЦД зменшував реакцію серця на стимуляцію блукаючого нерва і не впливав на чутливість постсинаптичних холінорецепторів у тварин обох статей.

Вступ

У переліку ендокринопатій, які домінують у щорічних звітах ВООЗ, домінуюче місце належить цукровому діабету, розповсюдженість якого неспинно зростає [2, 3, 12]. До найхарактерніших ускладнень захворювання належить діабетична кардіоміопатія, серед частих проявів якої є порушення ритмічної діяльності серця внаслідок автономної дисфункції та дистрофічних змін у міокарді [14]. На сьогоднішній день увагу вчених всього світу все частіше привертає гендерний аспект розвитку серцево-судинних захворювань у зв'язку з доведенням суттєвої ролі статевих гормонів в їх патогенезі. Порушення балансу як естрогенів, так і андрогенів стає підґрунтям для кардіальної дисфункції, розвитку в міокарді метаболічного дисбалансу на тлі судинних порушень [7]. Вивчення епідеміології цукрового діабету (ЦД) також дозволили виявити присутність гендерної складової [4], що пояснює зростаючий інтерес до дослідження цього аспекту проблеми. Серед факторів суттєвого впливу на перебіг патології серця в умовах гормонального дисбалансу важливу місце займає система оксиду азоту (NO), який здатний впливати на веге-

© М.Р. Хара, Н.А. Головач, 2015

тативну регуляцію цього органа [7]. Встановлено, що NO викликає зміни на пре- і постгангліонарному рівнях симпатичної нервової системи, регулює вивільнення ацетилхоліну (АХ), функціонування мускаринових рецепторів [9, 10, 13]. Варто зазначити, що ЦД вважається станом генералізованого дефіциту NO [11], що доводить важливість і перспективність наукових досліджень його участі в патогенезі діабетичної кардіоміопатії, в тому ж числі - залежно від статі.

Мета дослідження

Встановити статеві відмінності функціонування міокардіальних холінорецепторів при розвитку діабетичної кардіоміопатії на тлі зміненої активності системи оксиду азоту.

Матеріал і методи

В експеримент було залучено 108 статевозрілих білих лабораторних щурів обох статей - 54 самиці і 54 самці, яких поділили на 3 групи: 1 група - тварини, яким моделювали стрептозотоциновий цукровий діабет СД одноразовим інтраперитонеальним уведенням стрептозотоцину ("Sigma", США) з розрахунку 50 мг/кг, 2 група -

тварини, в яких відтворення СД відбувалося на тлі L-аргініну (25 мг/кг, напередодні та в подальшому щоденно інтраперитонеально до моменту виведення тварин з експерименту), 3 група - щурі із СД, який розвивався на фоні аміногуанідину (перший міс. - 10 мг/кг напередодні та щоденно інтраперитонеально, другий і третій місяці - 5 мг/кг щоденно інтраперитонеально). Щурів виводили з експерименту через 1, 2 і 3 місяці. Порівнювали та аналізували дані в підгрупах залежно від статі та застосованого модулятора оксиду азоту (L-аргінин і аміногуанідин). У піддослідних тварин вивчали чутливість холінорецепторів до ендogenous ацетилхоліну (АХ), оцінюючи інтенсивність брадикардії (ІБбн), якою відповідало серце на електричну стимуляцію блукаючого нерва (БН), та екзогенного - за інтенсивністю (ІБах) та тривалістю (ТБах) брадикардії, якою відповідало серце на внутрішньовенне введення АХ [6, 8]. У першому випадку наркотизованим тіопенталом натрію (40мг/кг) щурам подразнювали периферичний відрізок правого n. vagus протягом 60 с електричними імпульсами тривалістю 5 мс, частотою 50 Гц і амплітудою 10 В при затримці імпульсів, що дозволяло робити висновок про резерви ацетилхоліну в холінергічних терміналях синоатріального вузла.

Інтенсивність та тривалість брадикардичного ефекту у відповідь на одномоментне введення в яремну вену ацетилхоліну хлориду (50 мкг/кг) демонстрували чутливість постсинаптичних холінорецепторів та активність функціональної десенситизації рецепторів, що визначається швидкістю гідролізу АХ в синапсах міокарда. Статистичну обробку результатів досліджень проводили з використанням критерію Мана-Уїтні. Обробка результатів виконана у відділі системних статистичних досліджень ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України" в програмному пакеті Statsoft STATISTIKA. Усі втручання та забій тварин здійснювали з дотриманням принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, 1985 р.) та "Загальних принципів експериментів на тваринах", ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики [1].

Обговорення результатів дослідження

Аналіз показника ІБбн у динаміці розвитку діабету показав відмінність між самцями і самицями (табл.). Якщо в самців він збільшувався (через 2 місяці - на 20 %, через 3 місяці - на 47 % відносно першого терміну спостереження), то в

Таблиця

Показники чутливості серця самців і самиць щурів зі стрептозотоциновим цукровим діабетом, що розвивався на тлі L-аргініну та аміногуанідину (M±m, n=6)

Група	Стать	ЦД 1 міс	ЦД 2 міс	ЦД 3 міс
ІБбн				
1 група ЦД без корекції	самці	18,4±0,7 #	22,1±0,4 *	27,0±0,7 *#
	самиці	33,7±0,7 #	24,9±1,1 *	23,5±0,2 *#
2 група ЦД на тлі L-аргініну	самці	30,0±0,9 ^	29,3±1,4 ^	31,4±1,2 #^
	самиці	30,2±0,5 ^	29,8±0,8 ^	26,7±0,9 *#^
3 група ЦД на тлі АГ	самці	18,2±0,7 #	26,7±1,1 *#^	27,9±0,8 *#
	самиці	29,8±0,5 #^	19,3±0,8 *#^	18,7±0,6 *#^
ІБах				
1 група ЦД без корекції	самці	3,6±0,3 #	5,0±0,3 *#	5,8±0,2 *#
	самиці	1,6±0,1 #	2,8±0,1 *#	3,1±0,1 *#
2 група ЦД на тлі L-аргініну	самці	3,9±0,2 #	4,8±0,1 *#	5,9±0,2 *#
	самиці	2,0±0,1 #^	3,1±0,1 *#	4,1±0,1 *#^
3 група ЦД на тлі АГ	самці	3,3±0,1 #	4,9±0,2 *#	6,1±0,3 *#
	самиці	1,4±0,1 #	2,0±0,04 *#^	2,9±0,04 *#
ТБах				
1 група ЦД без корекції	самці	27,5±1,2	25,8±1,4 #	26,9±1,6
	самиці	24,7±0,7	32,9±0,7 *#	30,6±1,5 *
2 група ЦД на тлі L-аргініну	самці	23,8±1,2 #	30,8±1,3 *^	34,3±1,1 *^
	самиці	29,2±1,6 #	32,1±0,8	34,1±1,2 ^
3 група ЦД на тлі АГ	самці	23,3±0,3 ^	33,7±1,1 *^	32,0±1,1 *
	самиці	23,9±0,5	33,3±1,3 *	32,9±0,9 *

Примітка. Позначення * – достовірна (p<0,05) відмінність в динаміці розвитку ЦД, # – між тваринами різної статі, ^ – відносно показника 1-ї групи.

самиць зменшувався відповідно на 35 % та 43 %. Незважаючи на переважання значення ІБн в самиць на 83 % на 1-й міс експерименту, що свідчило про суттєвіші, ніж у самців, запаси АХ в пресинаптичному відділі, до 3-го місяця даний показник став менший на 15 %. Застосування L-аргініну мало позитивний вплив на здатність серця самиць відповідати на стимуляцію БН. Про це свідчило переважання абсолютних значень ІБн відносно такого в 1-й групі тварин на 1-й, 2-й та 3-й міс. спостереження відповідно на 63, 33 та 16 %. Разом із тим, дані показники демонстрували зменшення ефективності препарату стосовно досліджуваного явища зі збільшенням терміну спостереження незважаючи на його стабільність. У самиць 2-ї групи, попри аналогічну динаміку, значення ІБн на 1-й міс. розвитку СД було менше, ніж в особин 1-ї групи, через 2 та 3 міс. - більше на 20 та 14 % відповідно. За зазначених умов даний показник самиць також, як і в особин 1-ї групи, був менший, ніж у самців, і різниця становила 18 %, тобто була дещо більшою, ніж без корекції, що можна пояснити більшою чутливістю до ефектів модулятора організму самців. Покращення здатності серця відповідати на стимуляцію БН при розвитку СД на тлі прекурсора синтезу NO можна пояснити здатністю цієї речовини стимулювати на пресинаптичному рівні за участі нейрональної NO-синтази розчинну гуанілатциклазу, що призводить до збільшення вмісту внутрішньоклітинного цГМФ. Останній, пригнічуючи фосфодіестеразу 3, підвищує пресинаптичне цАМФ- та протеїнкіназа А-залежне фосфорилування кальцієвих каналів N-типу, що посилює екзоцитозне вивільнення АХ у синаптичну щілину [7].

Ефективність відповіді серця на стимуляцію БН значною мірою визначається станом холінорецепторів постсинаптичної мембрани. Оцінка цього процесу також показала значну відмінність між самцями і самицями (див. табл. 1). Значення ІБах в динаміці розвитку СД у тварин 1-ї групи зростало, зокрема, в самців на 2-й та 3-й місяці відносно 1-го відповідно на 39 та 61 %, а в самиць - на 75 та 94 %. В усі терміни розвитку СД ІБах самців переважав над показником у самиць, що склало відповідно 2,3 раза, 1,8 раза та 1,9 раза. Тривале введення L-аргініну не вплинуло на закономірність змін ІБах. Про це свідчило зростання значень показника в динаміці розвитку патології, що в самців через 2 та 3 міс. склало відповідно 23 та 51 %, а в самиць - 55 та 105 %. Аналогічно 1-й групі, приріст показника в самиць 2-ї групи був суттєво більшим, що могло відображати процес компенсації в умовах зменшення

вивільнення квантів АХ із пресинаптичного відділу БН і підтверджувалося більшим значенням ТБах. Варто зазначити, що і за даним показником перевага була в самців, значення ІБах в яких переважало значення самиць в усі терміни спостереження відповідно на 95 %, 55 % та 44 %. Це свідчило про вагомий позитивний вплив прекурсора на стан холінорецепторної системи серця самців в умовах розвитку діабетичної кардіоміопатії і мало позитивний вплив на стан міокарда. Адже за даними морфометричного аналізу відсоток некротизованих кардіоміоцитів за таких умов був суттєво меншим, ніж без корекції, і ступінь зменшення показника був також суттєвіший, ніж у самиць, що можна пов'язати зі здатністю АХ виступати в ролі фактора, який зменшує активність кисень-залежних метаболічних реакцій та ступінь окисного стресу за змодельованих умов [5].

Застосування аміногуанідину, на відміну від L-аргініну, не змінило закономірності динаміки ІБн у самців. Збільшення цього показника на 2-й та 3-й міс. експерименту в них склало відповідно 47 та 53 %. У самиць, як і в обох попередніх групах, у динаміці розвитку СД спостерігали зменшення ІБн, зокрема на 54 % - на 2-й міс. спостереження та на 59 % - на 3-й. Варто зазначити, що даний показник самців 3-ї групи майже не відрізнявся від такого в 1-й групі особин, а в самиць 3-ї групи був меншим, ніж 1-ї, на 1-й, 2-й та 3-й міс. розвитку СД на 13, 29 та 26 % відповідно. Останнє відображало суттєвішу чутливість самиць до ефектів препарату стосовно його впливу на здатність БН вивільняти АХ і свідчило про менші запаси медіатора в пресинаптичному відділі. Цікаво, що за застосування аміногуанідину значення ІБах та ТБах у тварин обох статей, що відображають чутливість холінорецепторів, практично не відрізнялися від таких в особин 1-ї групи. Це дозволяє стверджувати про суттєвіший вплив препарату на пресинаптичний відділ, що головним чином проявилось в самиць і могло бути результатом порушення ефективності нейрональної NO-синтази та недостатності ефектів кальцієвих каналів N-типу [6].

Висновки

1. Проведені дослідження вказують на присутність гендерної складової в здатності модуляторів синтезу оксиду азоту впливати на чутливість холінорецепторів серця в динаміці розвитку стрептозотоцинового цукрового діабету, їхня ефективність проявляється, головним чином, на рівні пресинаптичного відділу і меншою мірою - постсинаптичного.

2. L-аргінін сприяє збільшенню в умовах розвитку стрептозотоцинового цукрового діабету ефективності відповіді серця на стимуляцію блукаючого нерва, що є суттєвішим у самців шурів, збільшенню чутливості постсинаптичних холинорецепторів лише в самиць. Ефективність такого впливу зменшується зі збільшенням терміну маніфестації патології.

3. Аміногуанідин лише в самиць із цукровим діабетом зменшує ефективність відповіді серця на стимуляцію блукаючого нерва та не має суттєвого впливу на чутливість постсинаптичних холинорецепторів тварин обох статей.

Перспективи подальших досліджень

Полягають у встановленні особливостей метаболізму ацетилхоліну в серці шурів в динаміці розвитку діабетичної кардіоміопатії на тлі модуляторів синтезу оксиду азоту.

Література. 1. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // *Ендокринологія*. - 2003. - Т. 8, № 1. - С. 142-145. 2. Кирилюк М.Л. Сучасні клініко-патологічні аспекти цукрового діабету 2 типу / М.Л. Кирилюк, О.Д. Гавловський // *Інтегративна антропологія*. - 2009. - № 2 (14). - С. 40-44. 3. Литвинова Л.О. Сучасний стан поширеності цукрового діабету серед населення країн Європейського регіону ВООЗ / Л.О. Литвинова, О.Б. Тонковид // *Східноєвропейський журнал громадського здоров'я*. - 2008. - № 3. - С. 48-52. 4. Тронько М.Д. Епідеміологія цукрового діабету в Україні / М.Д. Тронько, А.Д. Чернобров // *Здоров'я України*. - 2005. - № 127. - С. 18-20. 5. Хара М.Р., Головач Н.А., Орел Ю.М. Морфометричні критерії пошкодження міокарда шурів різної статі в умовах стрептозотоцинового цукрового діабету на тлі різної активності системи оксиду азоту / М.Р. Хара, Н.А. Головач, Ю.М. Орел // *Вісник морфології*. - 2014. - № 2. - С. 324-327. 6. Хара М.Р. Вплив кастрації на холинєргічні реакції серця шурів різної статі в умовах розвитку адреналінової міокардіодистрофії / М.Р. Хара // *Вісн. наук. досл.* - 2004. - № 1. - С. 91-93. 7. Хара М.Р. Вплив модуляторів синтезу оксиду азоту на холинєргічну регуляцію серця самців і самок шурів до та після гонадектомії / М.Р. Хара, А.М. Дорохіна // *Клінічна та експериментальна патологія*. - 2010. - Т. 9, № 3 (33). - С. 109-112. 8. Хара М.Р. Вплив замісної гормонотерапії на метаболізм та холинєргічну регуляцію серця гонадектомованих самок за умов адреналінового пошкодження: матеріали конференції "Здобутки клінічної та експериментальної медицини", 17 червня 2010 р., Тернопіль / М.Р. Хара, В.С. Пелих. - Тернопіль: Укрмедкнига, 2010. - С. 158-159. 9. Autonomic regulation of pacemaker activity: role of heart nitric oxide synthases / A.L. Fellet, A.M. Balaszczyk, C. Arranz [et al.] // *Am J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* - 2006. - V. 291. - P. 1246-1254. 10. Herring N. Cholinergic Control of Heart Rate by Nitric Oxide is Site Specific / N. Herring, E.J.F. Danson, D.J. Paterson // *News Physiol. Sci.* - 2002. - V. 17, № 5. - P. 202-208. 11. Endothelial nitric oxide in diabetes mellitus: too much or not enough? / K. Farkas, B. Sarman, G. Jevmendi, A. Samogyi // *Diabetes Nutr. Metab.* - 2000. - 13 (5). - P. 287-297. 12. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030 / S. Wild, G. Roglic, A. Green [et al.] // *Diabetes Care.* - 2004. - Vol. 27 №5. - P. 1047-1053. 13. Sears C.E. NO-e-GMP pathway accentuates the decrease in heart rate caused by cardiac vagal nerve stimulation / C.E. Sears, J.K. Choate, D.J. Paterson // *J. Appl. Physiol.* - 1999. - V. 86. - P. 510-516. 14. Voulgari C. Diabetic cardiomyopathy: from the pathophysiology of the cardiac myocytes to current diagnosis and management strategies / C. Voulgari, D. Papadogiannis, N. Tentolouris // *Vascular Health and Risk Management.* - 2010. - Vol. 6. - P. 883-903.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ХОЛИНОРЕЦЕПТОРОВ СЕРДЦА КРЫС РАЗНОГО ПОЛА ПРИ РАЗВИТИИ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА ПРИ ИЗМЕНЕННОЙ АКТИВНОСТИ СИСТЕМЫ ОКСИДА АЗОТА

М.Р. Хара, Н.А. Головач

Резюме. В опытах на крысах изучены особенности влияния L-аргинина и амингуанидина на чувствительность холинорецепторов синусного узла крыс разного пола в условиях стрептозотоцинового сахарного диабета (СД). Сахарный диабет моделировали однократным введением стрептозоточина. Активность системы оксида азота изменяли путем ежедневного интраперитонеального введения прекурсора L-аргинина и блокатора амингуанидина. Чувствительность холинорецепторов оценивали по интенсивности брадикардии, которая возникала при раздражении n. vagus и внутривенном введении ацетилхолина. Было установлено наличие гендерного отличия в способности модуляторов синтеза окиси азота влиять на чувствительность холинорецепторов сердца при развитии СД. Эффективность препаратов проявлялась главным образом на уровне пресинаптического отдела и в меньшей степени - постсинаптического. L-аргинин способствовал увеличению эффективности ответа сердца на стимуляцию блуждающего нерва, особенно у самцов, увеличению чувствительности постсинаптических только у самок. Эффективность такого влияния уменьшалась при увеличении времени манифестации СД. Амингуанидин только у самок с СД уменьшал реакцию сердца на стимуляцию блуждающего нерва и не влиял на чувствительность постсинаптических холинорецепторов у животных обоего пола.

Ключевые слова: стрептозотоциновый диабет, сердце, чувствительность холинорецепторов, L - аргинин, амингуанидин, пол.

SENSITIVITY OF HOLINORECEPTORS OF THE HEART IN RATS OF DIFFERENT GENDERS IN STREPTOZOTOCININDUCED DIABETES WITH THE MODIFIED ACTIVITY OF NITROGEN OXIDE SYSTEM

M.R. Khara, N.A. Golovach

Abstract. Using experiments on rats of different sexes, it is studied features of influence of L-arginine and aminoguanidine on the sensitivity of nicotinic acetylcholine sinus receptors under the conditions of streptozotocin induced diabetes (DM). Diabetes mellitus is modeled by a one-time injection of streptozotocin. The activity of nitric oxide was changed daily by intraperitoneal injection of a precursor of L-arginine and aminoguanidine blocker. Cholinergic receptor sensitivity was evaluated based on the intensity of bradycardia that occurred during stimulation n. vagus and intravenous injection of acetylcholine. It has been established the existence of gender differences in the ability of nitric oxide synthesis modulators to affect the sensitivity of the nicotinic acetylcholine receptors of the heart with developing diabetes. The effectiveness of the drugs manifested mainly at the level of presynaptic department and to a lesser extent - the postsynaptic department. L-arginin helped increase the effectiveness of the response of the heart to the stimulation of the vagus nerve, especially in males, and increase the sensitivity postsynaptic only in females. The effectiveness of this effect decreases with increasing time of manifestation of diabetes. Only in females with diabetes aminoguanidine reduced the response of the heart to the stimulation of the vagus nerve and did not affect the sensitivity of the postsynaptic nicotinic acetylcholine receptors in animals of both sexes.

Key words: streptozotocin-induced diabetes, heart, sensitivity of cholinergic receptors, L-arginine, aminoguanidine, sex.

Ternopil National Pedagogical University named after V. Hnatyuk¹,

Ternopil State Medical University named after I. Horbachevskyy², Ukraine

Clin. and experim. pathol. - 2015. - Vol.14, №1 (51). - P.168-172.

Надійшла до редакції 01.03.2015

Рецензент – проф. С.С. Ткачук

© М.Р. Хара, Н.А. Головач, 2015
