

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
„ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО”

На правах рукопису

САТУРСЬКА ГАННА СТЕПАНІВНА

УДК 616.127-001:577.175.522-085.212.7]-092.9-055

ОСОБЛИВОСТІ ХОЛІНЕРГІЧНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ СЕРЦЯ ТВАРИН
РІЗНОЇ СТАТІ ПРИ АДРЕНАЛІНОВОМУ ПОШКОДЖЕННІ МІОКАРДА ЗА
ЗАСТОСУВАННЯ МОДУЛЯТОРІВ ОПІАТНИХ РЕЦЕПТОРІВ

14.03.04 – патологічна фізіологія

ДИСЕРТАЦІЯ
на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Науковий керівник
Хара Марія Романівна
доктор медичних наук,
професор

Тернопіль – 2009

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, символів, одиниць, скорочень і термінів	5
Вступ	7
Розділ 1. Особливості холінергічної регуляції функцій та метаболізму міокарда при катехоламіновому пошкодженні залежно від статі. роль опіоїдної системи в адаптації міокарда до пошкодження (огляд літератури)	15
1.1. Патогенетичні аспекти катехоламінового пошкодження міокарда	15
1.2. Холінергічні реакції серця в нормі та їх статева диференціація при пошкодженні міокарда	22
1.3. Роль опіоїдної системи в реалізації адаптаційних механізмів при кардіоваскулярній патології	34
Розділ 2. Матеріал і методи дослідження	41
2.1. Відбір і групування тварин для дослідження	41
2.2. Опис експериментальних моделей	42
2.3. Дослідження холінергічних процесів	43
2.4. Морфометричне дослідження	48
2.5. Вивчення особливостей функціонування системи про- та антиоксидантів у міокарді	49
2.6. Статистичний аналіз результатів досліджень	52
Розділ 3. Особливості холінергічних процесів при пошкодженні серця самців і самок щурів адреналіном на тлі активації опіатних рецепторів	53
3.1. Математичний аналіз серцевого ритму при моделюванні адреналінового пошкодження серця щурів різної статі на тлі даларгіну	53
3.2. Чутливість серця тварин різної статі до ендогенного та екзогенного ацетилхоліну при моделюванні адреналінового	

	3
пошкодження на тлі даларгіну	59
3.3. Метаболізм ацетилхоліну в міокарді різностатевих щурів при його пошкодженні адреналіном за застосування даларгіну	67
Розділ 4. Особливості структурних та метаболічних змін у пошкодженому адреналіном міокарді самців і самок щурів в умовах активації опіатних рецепторів	72
4.1. Аналіз відсотка загиблих тварин та ступеня некротичного пошкодження серця самців і самок адреналіном на тлі даларгіну	72
4.2. Активність ліпопероксидації та стан антиоксидантної системи при розвитку адреналінового пошкодження міокарда на тлі даларгіну	76
Розділ 5. Особливості холінергічних процесів у пошкодженому адреналіном серці самців і самок щурів в умовах блокади опіатних рецепторів	88
5.1. Математичний аналіз серцевого ритму при моделюванні адреналінового пошкодження серця щурів різної статі на тлі налоксону	88
5.2. Чутливість серця тварин різної статі до ендogenous та екзогенного ацетилхоліну в експериментальному дослідженні адреналінового пошкодження міокарда на тлі налоксону	94
5.3. Метаболізм ацетилхоліну в міокарді різностатевих щурів при його пошкодженні адреналіном за застосування налоксону	102
Розділ 6. Особливості структурних та метаболічних змін у пошкодженому адреналіном міокарді самців і самок щурів в умовах блокади опіатних рецепторів	108
6.1. Аналіз відсотка загиблих тварин та ступеня некротичного пошкодження серця самців і самок адреналіном на тлі налоксону	108
6.2. Вплив налоксону на процеси ліпопероксидації та стан антиоксидантної системи при адреналіновому пошкодженні серця тварин різної статі	112

	4
Розділ 7. Аналіз і узагальнення результатів дослідження	121
Висновки	143
Список використаних джерел	146
Додатки	175

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ,
СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

- 1 год АПМ – адреналінове пошкодження міокарда на 1-шу год експерименту
- 1 год АПМ_{ДАЛ} – адреналінове пошкодження міокарда, що розвивалося на тлі даларгіну, 1-ша год експерименту
- 1 год АПМ_{НАЛ} – адреналінове пошкодження міокарда, що розвивалося на тлі налоксону, 1-ша год експерименту
- 24 год АПМ – адреналінове пошкодження міокарда на 24-ту год експерименту
- 24 год АПМ_{ДАЛ} – адреналінове пошкодження міокарда, що розвивалося на тлі даларгіну, 24-та год експерименту
- 24 год АПМ_{НАЛ} – адреналінове пошкодження міокарда, що розвивалося на тлі налоксону, 24-та год експерименту
- АВ-вузол – атріовентрикулярний вузол
- АМо – амплітуда моди
- АНС – автономна нервова система
- АОС – антиоксидантна система
- АПМ – адреналінове пошкодження міокарда
- АТФ – аденозинтрифосфат
- АХ – ацетилхолін
- ДАЛ – даларгін
- ДК – дієнові кон'югати
- ЕКГ – електрокардіограма
- ІБ_{n.v} – інтенсивність брадикардії при подразненні блукаючого нерва
- ІБ_{АХ} – інтенсивність брадикардії при введенні ацетилхоліну
- ІН – індекс напруження (за Р.М. Басєвським)
- К_{ДАЛ} – контрольна група тварин, яким вводили тільки даларгін
- К_{НАЛ} – контрольна група тварин, яким вводили тільки налоксон
- КАТ – каталаза

МДА – малоновий діальдегід

Мо – мода

НАЛ – налоксон

ПС – передсердя

ПОЛ – пероксидне окиснення ліпідів

СА-вузол – синоатріальний вузол

СОД – супероксиддисмутаза

ТБ_{АХ} – тривалість брадикардії, що виникає при введенні ацетилхоліну

ХЕА – холінестеразна активність

цАМФ – циклічний аденозинмонофосфат

цГМФ – циклічний гуанозинмонофосфат

ЧСС – частота серцевих скорочень

ШЛ– шлуночки

Ca²⁺-АТФаза – кальцієва аденозинтрифосфатаза

Na⁺,K⁺-АТФаза – натрій-калієва аденозинтрифосфатаза

NO – оксид азоту

SH-групи – сульфгідрильні групи

ΔX – варіаційний розмах величин кардіоінтервалів

♂ – самець

♀ – самка

ВСТУП

Боротьба з захворюваннями серцево-судинної системи – одна з актуальних проблем сучасної медицини [4, 85]. Дані світової статистики свідчать про зростання частки захворювань серця і судин у загальній структурі захворюваності та смертності [85]. В Україні хвороби системи кровообігу посідають перше місце, що складає 25,9 % у структурі захворюваності. Фактично кожний четвертий пацієнт в Україні має серцево-судинну патологію [61]. Зазначені показники щорічно зростають.

Найпоширеніше захворювання серцево-судинної системи – ішемічна хвороба серця. Найбільшу небезпеку становить найважча її форма – інфаркт міокарда, що призводить до втрати працездатності, часто стійкої інвалідності та високої смертності. Особливу тривогу викликає та обставина, що в останні роки ішемічна хвороба серця реєструється в осіб молодого віку [4].

Значне поширення ішемічної хвороби серця, її своєрідна епідемія в промислово-розвинених країнах, високий рівень смертності та інвалідизації від цього захворювання змушують шукати чинники, що здатні впливати на етіологію, патогенез та прогноз захворювання. Результати сучасних досліджень дають підстави стверджувати, що в генезі ішемічної хвороби серця важливим моментом є надмірні психоемоційні навантаження протягом життя [99, 216]. Різке збільшення темпів життя, проникнення автоматизації в усі сфери життя і виробництва, інтенсивна урбанізація призводять до появи невідрагованих емоцій. Саме психоемоційний стрес часто передуює розвитку гіпертонічної кризи, інфаркту міокарда, раптової серцевої смерті [99, 158].

Наукові дослідження переконливо доводять, що основною патогенетичною ланкою некротичного пошкодження серця є стрес-індукована активність симпато-адреналової системи [216] і, як наслідок цього, кардіотоксичний вплив на міокард надлишку ендогенних катехоламінів [3, 68]. Саме тому увага деяких наукових колективів звернена на ендогенну опіюїдну систему, як на основну серед стрес-лімітуючих систем

організму [25, 34, 47]. Значна частина досліджень стосується впливу модуляторів опіатних рецепторів на перебіг патологічних процесів в міокарді, зокрема вивченню ролі ендогенної опіоїдної системи в підвищенні резистентності серця до аритмогенних впливів [25, 34, 47, 58, 60, 65, 86]. Після того, як в тканині серця були виявлені ендогенні опіоїдні пептиди (енкефаліни і динорфіни) і опіатні рецептори, локалізовані на сарколеммі кардіоміоцитів [149], значно зріс інтерес дослідників до прямого впливу модуляторів опіатних рецепторів на іно- і хронотропну функцію міокарда, зокрема з'явилися наукові праці, які присвячені вивченню ролі опіатних рецепторів в аритмогенезі [25, 47, 58, 60], однак роль останніх у патогенезі некротичного ушкодження міокарда ще не вивчено. Існує припущення, що кардіотропні ефекти ендогенної опіоїдної системи реалізуються через симпатичну та парасимпатичну ланки автономної нервової системи [138].

Вченими доведено, що важливе значення у розвитку пошкодження міокарда відіграє стан автономної нервової системи, зокрема, при переважанні активності холінергічної ланки автономної регуляції патологічний процес в міокарді, що виникає на ґрунті гіпоксії, ішемії чи метаболічного дисбалансу, має більш сприятливий перебіг і наслідки [69, 123, 126].

Посилення холінергічної активності сповільнює вивільнення норадреналіну з симпатичних терміналей та знижує реактивність постсинаптичних адренергічних структур [29, 136]. Активовані М-холінорецептори через калієві канали сприяють виходу калію з клітини й одночасно обмежують входження іонів кальцію з екстрацелюлярного простору. Це зменшує збудливість кардіоміоцитів, їх функціональну активність та потребу в кисні [29, 164], забезпечує електричну гомогенність міокарда [23, 47]. Проте в деяких випадках, через надмірну вагусну активність пригнічується автоматизм синусового вузла і можуть виникати аритмії [48, 110]. Отже, особливості автономного контролю діяльності серця в патології залишаються актуальним і перспективним напрямком досліджень.

Окрім співвідношення між активністю симпатичної і парасимпатичної нервової системи, суттєвий вплив на перебіг патологічного процесу в міокарді має вік [39], а також рівень статевих гормонів [52, 216]. Доведено, що більша резистентність серця самок до адреналіну зумовлена домінуванням холінергічних механізмів у комплексі адаптаційних змін [129]. Також встановлено, що чоловіки частіше хворіють на серцево-судинну патологію і помирають від інфаркту міокарда [49], в той час, як у жінок репродуктивного віку інфаркт міокарда трапляється значно рідше [46]. Доведено істотний вплив статевих гормонів на серцево-судинну систему, а саме – кардіопротекторні, антиоксидантні та антиаритмічні властивості естрогенів [12].

Зважаючи на складність механізмів регуляції діяльності серця за участю статевих гормонів та ендогенних опіоїдних пептидів, надзвичайно важливим завданням для науковців залишається з'ясування взаємовідносин між згаданими стрес-лімітуючими системами організму.

Актуальність теми. На сьогодні не встановлено статевих відмінностей у перебігу некротичного процесу в міокарді в умовах активації та блокади опіатних рецепторів. Не досліджувались особливості регуляції діяльності серця самців і самок щурів автономною нервовою системою при розвитку некротичного процесу в міокарді на тлі зміненої активності опіатних рецепторів та вплив модуляторів опіатних рецепторів на чутливість міокардіальних холінорецепторів у самців і самок в умовах некротичного пошкодження міокарда. Не з'ясовано вплив модуляторів опіатних рецепторів на ступінь порушень метаболізму в міокарді за умов некротизування залежно від статі тварини. Не було досліджено вплив модуляторів опіатних рецепторів на інтенсивність структурних змін міокарда та не піддавались аналізу дані про загибель тварин при реалізації кардіотоксичного ефекту адреналіну за використання модуляторів опіатних рецепторів, а також не досліджувався статевий аспект цього питання. Проведення таких досліджень допоможе розширити рамки розуміння механізмів пошкодження серця

катехоламінами, визначити, яку лепту в патогенез некротизування міокарда вносять холінергічні процеси у чоловічому та жіночому організмі, зрозуміти статеві особливості реалізації захисних реакцій організму та вплив на ці процеси модуляторів активності опіатних рецепторів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота є фрагментом комплексної науково-дослідної теми Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського „Медико-інформаційне дослідження експериментальної патології внутрішніх органів при різних функціональних умовах та її корекція” (номер державної реєстрації 0107U114462). Дисертант є співвиконавцем названої теми. Тема дисертації затверджена Проблемною комісією МОЗ України та АМН України „Патологічна фізіологія та імунологія” 12 грудня 2007 року (протокол № 62).

Мета дослідження. Встановити закономірності розвитку некротичного процесу в міокарді та холінергічної регуляції серцевої діяльності у тварин різної статі при зміненій активності опіатних рецепторів.

Завдання дослідження:

а) встановити особливості регуляції діяльності серця самців і самок щурів автономною нервовою системою при розвитку некротичного процесу в міокарді на тлі зміненої активності опіатних рецепторів;

б) оцінити вплив модуляторів опіатних рецепторів на чутливість міокардіальних холінорецепторів у самців і самок в умовах некротичного пошкодження міокарда;

в) вивчити метаболізм ацетилхоліну при некротичному пошкодженні міокарда в самців і самок в умовах використання модуляторів опіатних рецепторів;

г) встановити ступінь некротичних змін міокарда залежно від статі при реалізації кардіотоксичного ефекту адреналіну на тлі зміненої активності опіатних рецепторів;

д) з'ясувати вплив модуляторів опіатних рецепторів на ступінь порушень метаболізму в міокарді в умовах некротизування залежно від статі тварини.

Об'єкт дослідження. Холінергічна регуляція серця при розвитку адреналінового пошкодження міокарда.

Предмет дослідження. Патогенетичні механізми змін холінергічної регуляції серця в умовах експериментального адреналінового некрозу міокарда тварин різної статі, що розвивається на тлі активації та блокади опіатних рецепторів.

Методи дослідження: електрофізіологічні – для вивчення реактивності міокардіальних холінорецепторів та активності ланок автономної нервової системи; біологічний – для вивчення концентрації ацетилхоліну в міокарді передсердь та шлуночків, біохімічні методи – для вивчення активності ферментативного гідролізу ацетилхоліну в міокарді передсердь та шлуночків, а також для оцінки системи про- та антиоксидантів у міокарді шлуночків; морфометричний метод – для дослідження ступеня некротичних змін пошкодженого адреналіном міокарда, математичні методи – для проведення математичного аналізу серцевого ритму та обробки цифрових даних методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше встановлено, що активатор опіатних рецепторів даларгін у дозі 0,01 мг/кг посилює участь холінергічної ланки автономної нервової системи в регуляції серцевого ритму, сприяє збільшенню чутливості міокарда до подразнення блукаючого нерва та екзогенного ацетилхоліну, дещо більш виражено в самців щурів. Активація периферичних опіатних рецепторів збільшує вміст та активність ферментативного гідролізу ацетилхоліну в передсердях, більш інтенсивно в самок щурів. Уперше з'ясовано, що розвиток некротичного процесу в міокарді на тлі активованих опіатних рецепторів супроводжується зниженням тонуусу парасимпатичної ланки автономної регуляції діяльності серця, чутливості холінорецепторів та вмісту ацетилхоліну в передсердях, нівелюючи початкові ефекти даларгіну. Активатор опіатних рецепторів

даларгін зменшує відсоток загиблих тварин та ступінь структурного пошкодження міокарда адреналіном, сприяє менш інтенсивному нагромадженню продуктів ліпопероксидації. Встановлені закономірності інтенсивніше проявляються у самок.

Уперше встановлено, що неселективний блокатор опіатних рецепторів налоксон в дозі 1 мг/кг викликає в самців обмеження холінергічних, а в самок – посилення адренергічних впливів автономної нервової системи, знижує чутливість холіорецепторів до подразнення блукаючого нерва та введення ацетилхоліну, що інтенсивніше проявляється в самок. Доведено, що блокування опіатних рецепторів викликає зростання вмісту та активності ферментативного гідролізу ацетилхоліну в міокарді передсердь, зниження активності його гідролізу в міокарді шлуночків, що також інтенсивніше проявляється в самок. Уперше показано, що налоксон зменшує інтенсивність негативних хронотропних ефектів серця при розвитку некротичного процесу, більш виражено в самок. Вміст та активність гідролізу ацетилхоліну при розвитку некротичного процесу в міокарді на тлі блокування опіатних рецепторів зменшується. Інтенсивніші зміни в серці самок нівелюють вихідну відмінність між тваринами різної статі. Встановлено, що пошкодження серця адреналіном на тлі блокування опіатних рецепторів налоксоном викликає меншу, ніж за відсутності такого впливу, загибель тварин, дещо менший ступінь пошкодження міокарда, менше накопичення метаболітів ліпопероксидації та напруження антиоксидантної системи, що краще проявляється в самок.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані дані поглиблюють знання про роль опіоїдної системи в патогенезі адреналінового пошкодження міокарда. Результати проведених досліджень довели, що модулятори опіатних рецепторів суттєво впливають на холінергічні процеси в серці, змінюють активність холінергічної ланки автономної регуляції та визначають наслідки негативного впливу адреналіну на міокард, що залежить від статі тварини. Одночасно встановлено, що зміна активності опіатних

рецепторів суттєво не впливає на закономірність природних адаптаційно-компенсаторних реакцій серця в умовах реалізації кардіотоксичного ефекту адреналіну.

Отримані дані можуть бути використані при подальших дослідженнях складних механізмів взаємодії ендогенної опіоїдної системи та холінергічної ланки автономної нервової системи з метою пошуку адекватних засобів кардіопротекції.

Результати роботи впроваджені в практику наукових досліджень та навчальний процес на кафедрі фізіології Буковинського державного медичного університету, на кафедрі загальної і клінічної патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького Одеського державного медичного університету, на кафедрах патологічної фізіології Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського, Донецького Національного медичного університету імені М. Горького, Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова, Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, Луганського державного медичного університету, Кримського державного медичного університету імені С.І. Георгієвського, ВДНЗУ „Українська медична стоматологічна академія”.

Особистий внесок здобувача. Дисертант самостійно здійснила науковий пошук відповідно до теми дослідження та оформила огляд літератури. Опанувала заплановані методи досліджень, самостійно виконала всі експерименти, провела статистичний та науковий аналіз отриманих результатів і, спільно з науковим керівником, сформулювала висновки. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належать результати експериментальних досліджень, їх статистичний та науковий аналіз і теоретичне узагальнення фактичного матеріалу. У тій частині актів впроваджень, що стосується науково-практичної новизни, викладено дані, отримані автором при виконанні дисертаційного дослідження.

Апробація результатів дисертації. Результати експериментальних досліджень і основні положення дисертації оприлюднені на XI і XII Міжнародних медичних конгресах студентів і молодих учених (Тернопіль 2007, 2008), науково-практичній конференції „Роль месенджерних систем” (Тернопіль, 2007), підсумковій науково-практичній конференції (Тернопіль, 2008), VII з’їзді ендокринологів України (Київ, 2007), V національному Конгресі патофізіологів України „Сучасні проблеми патофізіології: від молекулярно-генетичних до інтегративних аспектів” (Запоріжжя, 2008), VII читаннях імені В.В. Підвисоцького (Одеса, 2008), науково-практичній конференції „Безпечна фармакотерапія в Україні” (Тернопіль, 2008), науково-практичній конференції „Наукові дослідження – теорія і експеримент 2008” (Полтава, 2008), 1-й науково-практичній конференції „Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм” (Тернопіль, 2008). Дисертація пройшла апробацію на спільному засіданні кафедр патологічної фізіології, нормальної фізіології, загальної гігієни та екології людини, фармакології з клінічною фармакологією, клінічної фармації, патологічної анатомії з секційним курсом та судової медицини, анатомії людини, військової медицини і медицини катастроф, гістології та ембріології, фармакогнозії з медичною ботанікою. Протокол засідання затверджено вченою радою 24 лютого 2009 року.

Публікації. Результати дисертаційного дослідження викладено в 15 наукових працях, з яких 4 опубліковано у фахових виданнях (1 у моноавторстві), рекомендованих ВАК України, і 11 – у матеріалах і тезах наукових конгресів, з’їздів і конференцій.

РОЗДІЛ 1
ОСОБЛИВОСТІ ХОЛІНЕРГІЧНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ ФУНКЦІЙ ТА
МЕТАБОЛІЗМУ МІОКАРДА ПРИ КАТЕХОЛАМІНОВОМУ
ПОШКОДЖЕННІ ЗАЛЕЖНО ВІД СТАТІ. РОЛЬ ОПОЇДНОЇ
СИСТЕМИ В АДАПТАЦІЇ МІОКАРДА ДО ПОШКОДЖЕННЯ
(огляд літератури)

1.1. Патогенетичні аспекти катехоламінового пошкодження міокарда

Однією з найважливіших медико-соціальних проблем є патологія серцево-судинної системи [4, 51, 61, 139, 147, 189], яка впродовж багатьох років займає перше місце серед головних причин в структурі смертності [61]. Захворювання серця, що ускладнюються некрозом міокарда, набувають характеру епідемії [85]. Складність проблеми пов'язана з урбанізацією життя та зростанням ролі постійного стресу як фактора ризику [99, 152], а також із застосуванням нових методів лікування патології серця, які не дають бажаних результатів. Тому одним із найважливіших завдань сучасних наукових досліджень є розкриття тонких патогенетичних аспектів захворювань, що ускладнюються некрозом міокарда, що дало б змогу впливати на ключові ланки патогенезу. Вченими доведено, що суттєве значення у розвитку некротичних змін міокарда має токсичний вплив катехоламінів, а серед головних причин підвищення симпатoadреналової активності – дія на організм тривалого стресу [9, 67, 68, 158]. Наукові дослідження переконливо доводять, що основною патогенетичною ланкою пошкодження серця являється стрес-індукована активність симпатoadреналової системи і, як наслідок цього, кардіотоксичний вплив на міокард надлишку ендогенних катехоламінів [158].

Стесорне пошкодження серця реалізується шляхом надмірного посилення та своєрідної фіксації нормального адренергічного ефекту [26].

При цьому, детерміноване збудженням вищих симпатичних центрів, збільшення концентрації катехоламінів веде до реалізації двох пов'язаних між собою механізмів. Перший механізм реалізації катехоламінами свого токсичного впливу на кардіоміоцити відбувається через β -адренорецептори, що веде до активації аденілатциклази і проявляється різким збільшенням в кардіоміоцитах діючої концентрації циклічного аденозинмонофосфату (цАМФ) та пришвидшенням входження іонів Ca^{2+} через повільний канал сарколеми. Більшість кальцій-залежних процесів у міокарді забезпечуються як кальцієм зовнішньоклітинного походження, так і кальцієм із саркоплазматичного ретикулуму, за винятком процесу скорочення міофібрил, який запускається зовнішньоклітинним пулом. Серед усіх існуючих типів кальцієвих каналів у серці розрізняють два: Т-канали (від англ. transient – тимчасовий) і L-канали (від англ. long lasting – довготривалий) [29]. У патогенезі адреналінового пошкодження міокарда (АПМ) найважливішу роль відіграють кальцієві канали L-типу, оскільки ефект катехоламінів, що проявляється активацією кальмодулін-кінази реалізує можливість активного входження кальцію саме через L-тип кальцієвих каналів [176, 170]. Основна частина кальцію входить у клітину за рахунок електрохімічного градієнта без затрат енергії, так як концентрація цього іона в позаклітинному просторі в 12 000 разів більша, ніж всередині клітини, тому концентраційний та електричний градієнти мають чітке внутрішнє спрямування [29]. В умовах гіперкатехоламінемії кількість цих іонів різко збільшується і це сприяє реалізації так званої „ліпідної тріади”, одним із патологічних наслідків якої є пошкодження клітинних мембран, зокрема цитолемальної та саркоплазматичного ретикулуму [209].

Внаслідок цього у цих клітинах збільшується вміст головного природного активатора фізіологічної функції та процесів перетворення енергії – активного кальмодуліну. Його дія реалізується через ферменти фосфорилування – протеїнкінази, та потенціюється цАМФ. Циклічний АМФ через протеїнкіназу фосфорилує низку ферментів і значно активує обмінні

процеси [66, 193]. Це закономірно призводить до мобілізації гліколізу, інгібування ресинтезу глікогену, активації скорочення міофібрил, збільшення витрат аденозинтрифосфату (АТФ) та споживання кисню. Одночасно під дією кальмодуліну виникає активація видалення іонів Ca^{2+} у сховище сарколеми і саркоплазматичного ретикулу, пригнічення активності аденілциклази та активація фосфодіестерази, яка руйнує цАМФ. Таким чином реалізуються процеси, які зазвичай обмежують тривалість та інтенсивність адренергічного ефекту. Однак при стресі, що супроводжується значним та тривалим збільшенням діючої концентрації катехоламінів, цей модуляторний самообмежуючий компонент іонів Ca^{2+} адренергічного ефекту відсутній. Причина такої неефективності механізму самообмеження та розвитку адренергічних пошкоджень полягає в надмірному збільшенні ліпотропного ефекту катехоламінів. Це друге явище, яке спостерігається при стресорному адренергічному ефекті в умовах цілого організму полягає в тому, що катехоламіни безпосередньо, через аденілциклазу і кальмодулін, та через інші регуляторні системи активують основні процеси поновлення ліпідного бішару мембран. Тобто збільшують активність фосфоліпаз, ліпаз пероксидного окиснення ліпідів. При важких та тривалих стресорних впливах ці фактори призводять не просто до пришвидшеного поновлення, а до реалізації так званої „ліпідної тріади” пошкодження біомембран. Тріада складається з активації фосфоліпаз і ліпаз, активації пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і детергентної дії лізофосфатидів та надлишку жирних кислот. Руйнівна дія детергентів полягає в тому, що вони здатні порушувати будову ліпідного бішару мембран, чим відкривають доступ вільних радикалів до, звичайно прихованих у гідрофобному шарі, ненасичених жирних кислот. Це призводить до глибоких зрушень в ліпідному оточенні мембранозв'язаних клітинних білків, а саме: ферментів, рецепторів та каналів іонної проникності. Активність цих життєво-важливих білків знижується. В міокарді тварин, які перенесли стрес, це відображається у зниженні

активності іонів Na,K-АТФази, Са-АТФази і виникненні надлишку іонів Са²⁺ [215, 220], а отже, і кальмодуліну [155].

Внаслідок такої фіксації первинного адренергічного ефекту реалізуються різноманітні пошкодження, спричинені надлишком іонів Са²⁺: знижується вміст глікогену, ресинтез якого є порушеним, а також ефективність окиснювального фосфорування у збагачених іонами Са²⁺ мітохондріях, порушується виведення іонів Са²⁺ з міофібрил. Внаслідок цього виникає своєрідний феномен – постстресорна ригідність міокарда, знижується резистентність серця до гіпоксії [64]. Вільнорадикальні продукти ПОЛ можуть спричиняти пошкодження також і ДНК клітинних ядер, запускаючи при цьому нуклеїнові механізми пошкодження клітини. Деякі дослідники вважають накопичення продуктів ПОЛ маркером ступеня пошкодження міокарда [35].

Існує ще механізм прямого кардіотоксичного впливу адреналіну, що зумовлений особливостями його метаболічних перетворень. У результаті окиснення надлишку адреналіну в адренохром утворюється семіхінон адреналіну, який може „скидати” електрон на кисень і сприяти накопиченню супероксидрадикалу [64, 68]. Ці процеси залежать від генетично запрограмованих механізмів, що визначають наслідки адреналінової атаки на серце.

В організмі існує система, що здатна протидіяти процесам ПОЛ, запобігаючи їх надмірній активації та забезпечувати рівновагу про- та антиоксидантних реакцій в нормі. Серед представників цієї лімітуючої системи найважливішими визнані ферменти супероксиддисмутаза (СОД) та каталаза (КАТ). Із недостатністю цієї ланки в першу чергу пов'язують негативні наслідки процесу ліпопероксидації [35, 55, 73, 76, 109]. У наукових джерелах, присвячених вивченню ролі ліпопероксидації у патогенезі катехоламінового пошкодження кардіоміоцитів, є багато результатів, що дуже різняться. Головним чином це стосується показників антиоксидантного захисту. Наприклад, у відповідь на гострий больовий стрес в кардіоміоцитах

кроликів збільшується активність лише каталази, в той час як дія хронічного стресу на них не викликає суттєвої реакції антиоксидантної системи (АОС), що автори досліджень пояснюють меншим нагромадженням вільних радикалів. При пошкодженні ізопротеренолом міокарда у мишей було виявлено значну активацію СОД і пригнічення активності КАТ [162]. Усе це свідчить про складність цієї важливої системи захисту та велике розмаїття притаманних їй функцій.

Окрім пошкодження катехоламінами скоротливого апарату, суттєвих змін зазнає провідна система серця, що характеризується швидким виснаженням депо глікогену, порушенням функцій мітохондрій та навіть некрозами. Це, без сумніву, відіграє ключову роль у виникненні блоків проведення електричного імпульсу, постстресорних порушень електричної стабільності та гомогенності міокарда, що сприяє розвитку аритмій [67, 68, 117]. Аритмії є найчастішим ускладненням стресорних ушкоджень серця, що провокують раптову смерть [68].

Треба зважити на те, що катехоламіни навіть при короткочасній, але потужній дії на міокард, викликають формування в серцевому м'язі стійких структурних змін, які проявляються формуванням вогнищового фіброзу, зниженням здатності кардіоміоцитів розтягуватися [44]. Відмінними від коронарогенних структурними проявами катехоламінових некрозів є домінування контрактурних змін [143]. Ступінь контрактурних змін кардіоміоцитів дозволяє прогнозувати важкість перебігу патологічного процесу, адже його найважчим завершенням є розвиток некробіозу [81, 82] з наступним міоцитолізом [82, 208]. При морфологічному дослідженні міокарда в умовах гострого його пошкодження в тварин Л.М. Непомнящих и соавт. [82] реєстрували основні типи пошкоджень кардіоміоцитів: сегментарні і субсегментарні контрактури, внутрішньоклітинний міоцитолізис, первинний грудочковий розпад міофібрил і цитоліз. При великих зонах пошкодження міокарда значна кількість кардіоміоцитів з ознаками внутрішньоклітинного цитолізу потрапляє в умови, які

перешкоджають регенерації. Тоді через 4-6 год з'являються „ядра-тіні”, з ослабленим зафарбуванням ядер, аж до повного їх зникнення, саркоплазма розріджується (колікваційний некроз). При повному лізисі структур вміст клітини, очевидно, дифундує в міжклітинний простір. При дрібновогнищевих розсіяних пошкодженнях міокарда майже всі клітини з внутрішньоклітинним міоцитолізом відновлюють структуру протягом 1-2 діб. Внутрішньоклітинна регенерація починається в перші години після появи міоцитолізу. Морфологічні картини, що відповідають цим контрактурним типам пошкодження, описувались в літературі як „білкова дистрофія”, „еозинофільна дегенерація”, „фуксинофільна дегенерація” і застосовувались до коагуляційного некрозу, що виникає після імбібіції пошкодження клітин з сегментарною контрактурою III-го ступеня або первинним грудочковим розпадом міофібрил білками плазми крові. Автори допускають зворотність цих змін, що є справедливим тільки по відношенню до субсегментарних контрактур. Субсегментарні контрактури та первинний грудочковий розпад мають деяку зовнішню схожість, однак доля клітин різна: субсегментарні контрактури – зворотнє явище, тоді як первинний грудочковий розпад завжди закінчується коагуляційним некрозом [79-82].

Деструкція лізомального апарату кардіоміоцитів сприяє розвитку некротичного процесу в серці, як найважчого прояву метаболічного дисбалансу, а пошкодження та збільшення проникності мітохондріальної мембрани запускають механізм апоптозу [30, 80, 82, 108, 165]. Головною умовою включення механізмів безнекротичної руйнації кардіоміоцитів є нагромадження іонів кальцію. Цей процес включає в себе активацію фосфодіестерази-5, виділення з мітохондрій цитотоксичних протеїнів, що є активаторами каспаз. Встановлено, що даний ефект опосередкується через систему оксиду азоту (NO), а саме через активацію індукцибельної NO-синтази [54].

Одним із провідних механізмів порушення утворення енергетичних субстратів і настання незворотніх змін у кардіоміоцитах є руйнування

мітохондрій, які є найчутливішими до гіперкатехоламінемії. В умовах катехоламінового, гіпоксичного чи ішемічного [151, 160, 163] пошкодження міокарда через кальцієве перевантаження клітин відбувається значне його нагромадження в мітохондріях [78, 165]. Іони кальцію, активуючи фосфоліпази, сприяють деградації мітохондріальних мембран [82]. Як наслідок, кальцій-залежне збільшення проникності мітохондрій спричинює вивільнення цитохрому С та стимуляцію апоптичного пошкодження кардіоміоцитів [53, 81, 82, 108]. Чималий інтерес науковців викликає фактор, який вивільнюється під час реперфузії ішемізованого серця. Вважають, що він може бути маркером відкриття мітохондріальної пори [100, 101]. Одним із небезпечних наслідків руйнації мітохондрії є не тільки вихід ферментів, а й втрата електронів із утворенням великої кількості активних форм кисню та азоту і розвитку оксидативного стресу [16].

Останніми роками з'явилися дані, що свідчать про наявність в організмі стрес-лімітуючої системи, пов'язаної з функціонуванням NO [38, 40, 120]. Встановлено, що стресорна реакція на тлі блокування синтезу NO супроводжується значним зростанням рівня адреналіну у крові [27] та ішемією міокарда [40]. З іншого боку відомо, що катехоламіни утворюють з NO сполуки (6-нітродофамін і 6-нітронорадреналін), яким притаманна властивість модифікувати продукцію цього важливого метаболіта за умов стресу [194]. Підвищення синтезу NO стримує нагромадження продуктів вільнорадикального окиснення [224]. Донатори NO зменшують скоротливу активність кардіоміоцитів, сприяючи зменшенню розмірів некрозу. Позитивний ефект метаболіта полягає також у зменшенні викидання норадреналіну з симпатичних терміналей [54].

Ще одним важливим захисним компонентом є активація мітохондріальних АТФ-залежних калієвих каналів, що в деякій мірі визначає ступінь пошкодження міокарда, сприяючи захисту клітини від загибелі [115]. Функціонування цих структур передбачає спочатку фосфорилування мембранних білків, що виникає після переміщення протеїнкінази С від

цитоплазми до мембрани, та наступне відкриття цих каналів [68]. Оксид азоту частково реалізує свій кардіопротекторний ефект через ці канали [188, 195]. Саме в умовах ішемії відбувається значне пригнічення активності АТФ-залежних калієвих каналів через інактивацію протеїнкінази С, що сприяє зниженню порога фібриляції шлуночків при ішемічному пошкодженні [23, 43, 144].

Незважаючи на багаточисельні наукові дослідження катехоламінового ураження міокарда, не всі ланки патогенезу можна вважати достатньо вивченими. Про це свідчать відкриття нових механізмів регуляції функціональних та метаболічних процесів у кардіоміоцитах на молекулярному рівні.

З огляду на те, що головним етіологічним чинником катехоламінових уражень міокарда є інтенсивні гострі та хронічні стреси [67, 68, 152], які зумовлюють невинне зростання серцево-судинної патології, набувають особливої актуальності наукові дослідження, пов'язані з обмеженням дії цього чинника на організм. Серед природних факторів, здатних захистити міокард у таких умовах, особливу роль відіграють холінергічна ланка автономної нервової системи [93, 123-129, 142, 164, 187], статеві стероїди [12, 52, 140, 167] та ендогенні опіоїдні пептиди [13, 25, 41, 47, 58, 60, 200, 202], які справедливо віднесені до основних стрес-лімітуючих систем організму.

1.2. Холінергічні реакції серця в нормі та їх статева диференціація при пошкодженні міокарда

Доведено, що кардіоваскулярна активність навіть у стані спокою демонструє нерегулярний характер коливань [6, 14, 15, 171], що є результатом взаємодії складних регуляторних механізмів, які включають нервові, гуморальні та клітинні системи контролю діяльності серцево-судинної системи [6, 19, 20, 93, 142, 183, 199].

Такі взаємовідносини забезпечуються нейрогуморальними механізмами, що включають в себе здатність автономної нервової системи здійснювати регуляторні впливи за посередництва нейротрансмітерів. Однак при дії на організм надмірних стресорних чинників, їх наслідки будуть залежати від здатності холінергічної ланки автономної нервової системи (АНС) ефективно протидіяти надмірній активації адренергічної ланки. За посередництва свого нейромедіатора, ацетилхоліну, парасимпатична ланка АНС забезпечує відповідний до потреб серця ритм, регулює екстра- та інтракардіальну гемодинаміку, впливає на скоротливу функцію кардіоміоцитів, захищає мембрани від пошкодження, приймає участь в регуляції метаболізму міокарда. Тому важко переоцінити важливість адекватного функціонування холінергічної ланки АНС при патології серця, зумовленої гіперкатехоламінемією [64, 93, 122].

У зв'язку з розвитком нового напрямку досліджень у галузі експериментальної кардіології з використанням стовбурових клітин, трансплантології, широким застосуванням оперативних втручань при кардіоваскулярній патології та завдяки впровадженню більш прогресивних гістохімічних та імунофлюоресцентних методик, внутрішньосерцева нервова система ґрунтовно досліджувалася вітчизняними та зарубіжними вченими [29]. Проводились дослідження вегетативної та пептидергічної регуляції серця різних біологічних видів [166, 169, 197, 198, 204].

Відомо, що різні біологічні види мають певні відмінності в анатомічній будові та іннервації серця ланками АНС, тому для експериментальних досліджень рекомендовано вибирати той біологічний вид, який має найбільшу подібність у будові та функціонуванні з об'єктом дослідження людського організму [37]. Так, для експериментального вивчення холінергічної регуляції серця ідеально підходять білі щурі, оскільки холінергічна регуляція серця в них є дуже подібною до такої в організмі людини, також у щурів внутрішньосерцева нервова система вивчена найкраще з усіх лабораторних тварин, оскільки цей біологічний вид

найчастіше використовують як модель для електрофізіологічних досліджень [206].

Іннервація провідної системи серця забезпечується холінергічними та адренергічними нервами АНС [93, 148]. Густина залягання цих волокон зменшується від основи до верхівки серця [180], тому в передсердях їх більше, ніж у шлуночках. Найбільша густина залягання нервових волокон різних типів спостерігається в ділянках синоатріального (СА) і атріовентрикулярного (АВ) вузлів, дещо менша – в пучку Гіса, ще менша – в ніжках пучка Гіса та міокарді.

Провідна система утворена атиповими кардіоміоцитами, які мають менше виражену посмугованість і нечіткі краї. СА-вузол та менше АВ-вузол містять також маленькі округлі клітини з малою кількістю органел, що з'єднані за допомогою щілинних контактів. Можливо, що це справжні пейсмейкерні клітини, тому їх називають Р-клітинами. СА-вузол розвивається зі структур правого боку ембріона, а АВ-вузол – зі структур лівого боку. Тому в дорослих людей правий блукаючий нерв іннервує переважно СА-вузол, а лівий – АВ-вузол. Подібно до цього симпатичні нерви правого боку підходять до СА-вузла, а симпатичні нерви лівого боку – до АВ-вузла. З обох боків більшість симпатичних волокон відходить від зірчастого вузла. Норадренергічні волокна є епікардіальними, тоді як волокна блукаючого нерва – ендокардіальні. Однак є сполучення між парасимпатичними і симпатичними нервами серця, які забезпечують реципрокні гальмівні ефекти. Наприклад, ацетилхолін діє пресинаптично, пригнічуючи виділення норадреналіну симпатичними нервами; а нейропептид У, що його виділяють норадренергічні нервові закінчення, може пригнічувати виділення ацетилхоліну.

З урахуванням описаних вище особливостей іннервації серця, стимулювання правого блукаючого нерва сповільнює частоту скорочення серця внаслідок пригнічення СА-вузла, тоді як стимулювання лівого блукаючого нерва головно сповільнює АВ-провідність. Саме тому, в

експериментах з електричним подразненням блукаючого нерва при дослідженні впливу АНС на регуляцію роботи серця, слід використовувати правий n. Vagus. Подібно до цього, стимулювання правого зірчастого вузла прискорює роботу серця, а стимулювання лівого зірчастого вузла прискорює АВ-провідність і зменшує рефрактерність [29].

Реполаризацію пояснюють тим, що виділений нервовими закінченнями ацетилхолін підвищує K^+ -провідність вузлової тканини. Цей ефект відбувається через M_2 -холінорецептори, які за участю β -, γ -субодиниць G-білка зумовлюють відкриття K^+ -каналів. Крім того, активування M_2 -холінорецепторів знижує рівень цАМФ у клітинах, що веде до сповільненого відкриття Ca^{2+} -каналів, і, як наслідок, частота імпульсів зменшується. Значне стимулювання блукаючого нерва може на деякий час припинити спонтанне генерування імпульсів [29]. Холінергічна регуляція серця має здатність до саморегуляції, що забезпечує відновлення стану постсинаптичної мембрани. Таким механізмом саморегуляції є гідроліз її нейромедіатора ацетилхолінестеразою [132], присутність у крові ендогенних блокатора та сенсibilізатора M-холінорецепторів [42] та десенситизація холінергічних рецепторів (зменшення реагування рецепторної системи в умовах тривалої стимуляції). Вважають, що десенситизація полягає в зменшенні реактивності постсинаптичної мембрани внаслідок високоафінного зв'язування холінорецепторів вільним ацетилхоліном, або є проявом механізму компенсації недостатньої активності ацетилхолінестерази [31].

Антиаритмічний та кардіопротекторний ефекти помірного холінергічного домінування у регуляції серцевої діяльності довели Столярчук А.А. и соавт. в експериментах з перерізанням блукаючого нерва, де показано, що відсутність фонові активності призводить до зниження порогу фібриляції, в той час як електрична симуляція цього ж нерва запобігає розвитку аритмії [114]. Клінічні спостереження також свідчать про те, що важкі пошкодження міокарда у хворих часто виникають саме на ґрунті недостатньої парасимпатичної активності [36].

На сучасному етапі пошуків інформативних методів діагностики та прогнозування перебігу захворювань серця значна увага приділяється показнику варіабельності ритму серця, що, на думку більшості авторів, є самостійним і незалежним критерієм можливого порушення автономного контролю [139, 217]. Зменшення варіативності ритму серця спостерігається при ослабленні холінергічних впливів на роботу серця і вважається небезпечним передвісником погіршення стану чи раптової смерті після перенесеного інфаркту міокарда [62, 219], ознакою ураження синусового вузла [19], часто супроводжує нестабільну стенокардію [17] та розвиток недостатності серця [172].

До кардіопротекторних механізмів парасимпатичної ланки АНС можна віднести здатність ацетилхоліну при збільшенні його концентрації в міокарді запобігати вивільненню катехоламінів, зокрема норадреналіну, з симпатичних терміналей [93, 145, 222]. Це, в свою чергу, пригнічує стимульований катехоламінами трансмембранний потік кальцію з позаклітинного простору та його негативні ефекти і зменшує відповідь серця на рефлекторні реакції системи кровообігу через меншу активність вазомоторного центру та гіпосенситизацію рецепторного апарату кардіоміоцитів [57].

За рахунок негативного іно- та хронотропного ефектів, опосередкованих ацетилхоліном, суттєво зменшується споживання кисню, що сприяє збереженню макроергічних сполук у кардіоміоцитах [3, 77].

Позитивні метаболічні та функціональні ефекти ацетилхоліну, що є протилежними до катехоламінових, на внутрішньоклітинному рівні опосередковуються циклічним гуанозинмонофосфатом (цГМФ), вміст якого збільшується завдяки активації гуанілатциклази. Крім того, активація M_2 -холінорецепторів знижує активність аденілатциклази та синтез цАМФ, що в кінцевому результаті зміщує баланс вторинних посередників в бік цГМФ [92]. Ще одним із встановлених позитивів посилення парасимпатичного контролю серця при дії катехоламінів є попередження альтерації

кардіоміоцитів завдяки зменшенню скоротливої активності, споживання кисню та макроергів.

Важливим, але не єдиним посередником кардіопротекторних ефектів ацетилхоліну є NO [120, 133]. З допомогою цього фактора, а також зменшення синтезу ангіотензину II [207], може реалізуватися холінергічна дилатація вінцевих судин через активацію АТФ-чутливих калієвих каналів, що супроводжується зменшенням проникнення кальцію через L-канали [156, 115]. Висловлюється думка, що за участі NO також реалізується негативний іотропний ефект блукаючих нервів [54, 63].

Клінічні та експериментальні спостереження показали, що адренергічно-холінергічний дисбаланс в умовах β -адренергічної стимуляції іноді може виникати внаслідок неефективної регуляції діяльності серця гуморальними факторами, які здатні збільшувати калієву провідність та знижувати вхідний кальцієвий струм через гальмівні G білки, зв'язані з аденілатциклазною системою [5, 45]. Такі властивості притаманні соматостатину, що розміщений разом з ацетилхоліном у вагусних терміналях [90], енкефалінам [89, 90] та нейротензину [24]. Кардіопротекторні ефекти останніх опосередковуються через контроль за виділенням ендогенних катехоламінів.

Статеві гормони також беруть активну участь у регуляції впливів автономної нервової системи на серце. Така особливість їх дії проявляється вже на етапі статевого дозрівання, що зумовлює становлення певного адренергічно-холінергічного балансу [5]. Щодо ролі статевих гормонів у формуванні адренергічних механізмів регуляції серцевої діяльності, то виявлено, що недостатність статевих гормонів у жінок призводить до збільшеного синтезу катехоламінів та адреночутливості судин і серця [49].

Про диференціацію холінергічних процесів залежно від статі свідчать і популяційні дослідження активності холінестерази крові здорових людей. Встановлено, що тільки в жінок активність ферменту зазнає значних коливань, що значним чином залежить від змін рівня статевих гормонів.

Деякі зміни в метаболізмі ацетилхоліну (АХ) залежно від статі виявлено й у тварин [11].

Дослідження чоловіків з ішемічною хворобою серця та тих, що перенесли інфаркт міокарда, показали пряму залежність між зростанням у крові вільної фракції тестостерону та посиленням активності парасимпатичних впливів на серце, що, на думку авторів дослідження, вважається позитивним у першу чергу для функціонування системи циркуляції крові [213, 214].

Важливу роль статевих гормонів у холінергічних процесах доведено в експериментах, виконаних на гонадектомованих щурах [127-129]. Введення гонадектомованим тваринам естрогенів, викликало збільшення густини М-холінорецепторів у міокарді при збереженні їхньої чутливості. Також у експериментах доведено, що гонадектомія в самців не впливає на ступінь структурних та метаболічних розладів у міокарді, зумовлених адреналіном, а в самок – сприяє збільшенню смертності, ступеня некрозоутворення і нівелює статеву відмінність у перебігу некротичного процесу [128].

В експериментах на щурах з урахуванням та без урахування фаз естрального циклу доведено, що серед тварин-самок домінують особини з нормо- та парасимпатикотонією, тоді як у когорті самців переважають тварини нормо- та симпатикотоніки [10, 11, 127-129]. Залежність активності ланок автономної регуляції від змін рівня гормонів була доведена також в експериментах на оваріектомованих самках. Гіпоестрогенемія та відсутність естральних циклів, спричинені кастрацією, призвели до повної інертності регуляторних впливів на серце з боку автономної нервової системи, що головним чином проявилось обмеженням парасимпатичного компонента [128, 129]. В клінічних умовах проводились спостереження за жінками, в яких гормонозамісна терапія впливала на відновлення регуляції серця при ішемічній хворобі серця. Але використання такої терапії затруднене через наявність негативних побічних ефектів на організм [203].

В експериментах на щурах-самках виявлено підвищену адренкортикальну чутливість до стресів [11, 95, 96], яка поєднується з більш високою в них стійкістю серцево-судинної системи до емоційних перенапружень. Доведено, що в основі статевих відмінностей у стрес-реактивності лежать статеві особливості холінергічного статусу [11, 216]. Холінергічні механізми не тільки викликають стресорну активацію гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи, але й підвищують стійкість серцево-судинної системи до тривалих та інтенсивних стресів. У дослідях на щурах різної статі виявили, що базальний рівень активності холінестерази в крові самок достовірно вищий, ніж у самців. Стійкість до негативного впливу хлорофосу є також більшою в самок, що відображає підвищені в них функціональні резерви холінергічної системи порівняно з самцями [11]. Ці відмінності можуть відігравати вирішальну роль у забезпеченні підвищеної в жінок, порівняно з чоловіками, стійкості серцево-судинної системи до тривалих та інтенсивних стресів за рахунок переважання активації в жінок холінергічних, а в чоловіків – адренергічних механізмів. Важлива роль глюкокортикоїдів у системній регуляції кардіогемодинамічних зсувів дозволяє припустити, що позитивний вплив холінергічних механізмів на стійкість до стресорних впливів серцево-судинної системи в жінок у значній мірі опосередковується через підвищену в них адренкортикальну чутливість до стресів. Ця гіпотеза підтверджується тим, що в межах однієї статі – чоловічої – переважання парасимпатичного типу регуляції також корелює з підвищеною амплітудою глюкокортикоїдної відповіді та більш високою стійкістю до стресорних впливів [11, 216].

Пошуки чинників, які детермінують статеві відмінності в глюкокортикоїдній чутливості до стресів [95], не можна обмежувати рамками нейроендокринної системи. Велику роль у цьому плані відіграють статеві особливості кардіодинамічних зсувів.

У системних механізмах, що забезпечують статеві відмінності в кардіоваскулярній стрес-резистентності [8], важливу роль може відігравати

оксид азоту. NO приймає участь в регуляції серцево-судинної системи, посилюючи холінергічні та пригнічуючи адренергічні впливи, здійснює регіональні вазодилатуючі ефекти і має стрес-лімітуючі властивості, а його нестача супроводжується розвитком NO-дефіцитної гіпертонії. Експериментальні дані, отримані здебільшого в досліджах *in vitro*, відображають підвищену продукцію NO в ендотелії різних судин, включаючи вінцеві, в жіночому організмі, порівняно з чоловічим. В досліджах на самцях і самках статевозрілих щурів О.В. Глушкова-Семячкина і др. отримали результати, що засвідчили вищий базальний рівень NO в крові самок, ніж у самців [33]. В умовах іммобілізаційного стресу [97] співвідношення NO було також на користь самок, хоча в самців даний показник також збільшувався. З цих даних автор робить висновок, що активність NO-ергічної системи в жіночому організмі є вищою, ніж у чоловічому, в умовах фізіологічного спокою і стресу, норми і патології, про що свідчать більш високі базальні і стресорні рівні NO як у здорових, так і в гіпертензивних самок, порівняно з самцями [173]. Підвищена активність NO-ергічної системи в жіночому організмі в значній мірі визначається естрогенами, які потенціюють утворення NO-синтази і ендотелійзалежні ефекти ацетилхоліну, синтез якого в свою чергу посилюється NO [97]. Взаємостимулюючі ефекти NO і АХ, збільшуючи в самок продукцію NO, лежать в основі і більш виражених у самок, порівняно з самцями, холінергічних впливів на серцево-судинну систему, які обмежують її активність при стресі і тим самим знижують ризик кардіоваскулярних порушень. Механізм холінергічної вазодилатації та кардіопротекції за участі NO, який реалізується через активацію калієвих каналів, вивчався також у експериментах *in vitro*, де було встановлено, що естрадіолу та тестостерону притаманна властивість безпосередньо контролювати активність цих каналів, по-різному змінюючи їхню функціональну активність [158].

Доведено, що статеві гормони в фізіологічних і фармакологічних концентраціях можуть здійснювати прямий вплив на серце. Зокрема,

виявлено зменшення скоротливої активності ізольованого серця і стрічки міокарда при дії на них 17β -естрадіолу, виявлено ефект коронарної вазодилатації під впливом естрогенів, наявність у естрадіолу антиангінальної і протиішемічної активності [12]. На моделі постішемічної реперфузії серця показано антиаритмічний ефект естрогенів [12]. При внутрішньовенному введенні гормону суттєво зменшувалася частота виникнення ектопічних ритмів і загрожуючих тахіаритмій, що поєднувалося з покращенням коронарної перфузії при ішемії [12]. Патогенез ішемії міокарда [87, 151, 163] та реперфузійний синдром [13, 41, 160] вивчався й в інших експериментах на тваринах.

Вивчалися особливості холінергічної регуляції залежно від рухової активності в експериментах на тваринах [1] та за допомогою аналізу показників метаболізму АХ у людей, які ведуть сидячий спосіб життя та в спортсменів [161].

Присутність жіночих статевих гормонів у організмі самок або самців із перебудованим гормональним фоном збільшує здатність серця самостійно виходити з режиму фібриляції (спонтанно дефібрилювати). Ведуться перспективні дослідження нового препарату, потенційного донора NO – нітрату естрадіолу. Так, при моделюванні аконітинової аритмії у щурів-самців виявлено виражений антиаритмічний ефект жіночих статевих гормонів [12]. Відомо, що механізм виникнення аритмії під впливом аконітину пов'язаний із зміною властивостей „швидких” натрієвих каналів збудливої мембрани та збільшенням їх провідності. За механізмом антиаритмічної дії естрон, естріол та естрадіолу валеат відносять до I класу антиаритмічних засобів, які блокують „швидкі” натрієві потоки. Не виключено, що антиаритмічний ефект естрогенів може бути пов'язаний з їх впливом на кальцієві канали. В експериментах підтверджено, що естрадіол і синтетичний естроген диетилстильбестрол мають здатність викликати швидке інгібування кальцієвих каналів L-типу кардіоміоцитів. В ізольованих

кардіоміоцитах естрадіол у мікромольних концентраціях зменшував потік кальцію на 80 % [12].

Активно проводяться дослідження з вивчення ролі чоловічих статевих гормонів. Так, В.Н. Ярыгин и соавт. вводили тестостерон новонародженим самкам щурів, що викликало збільшення кількості нейронів, пришвидшення темпів їх росту і підвищення матричної активності хроматину в краніальному шийному ганглії. Ймовірно, що тестостерон пришвидшує диференціювання нейронів, що дозволяє окремим клітинам зберігати менш напружений ритм матричної активності [140]. А.И. Гладкова и др. досліджували механізми передачі особливостей формування стрес-реактивності потомству по чоловічій лінії та наслідки впливу стресового чинника на продукцію тестостерону [32].

У ранньому періоді постнатального онтогенезу частина нейронів гине в результаті апоптозу, причому в самок цей процес протікає інтенсивніше. Доведено, що екзогенний тестостерон, введений неонатально самкам щурів, пригнічує природньопротікаючу клітинну загибель [225], а отже, проявляє ефект пригнічення апоптозу.

Досліджуючи мембранні механізми дії тестостерону, В.В. Фролькис и др. довели, що під впливом ряду стероїдних гормонів розвивається гіперполяризація плазматичних мембран клітин [118]. Дослідники припустили, що механізми гіперполяризуючої дії тестостерону на клітини наднирників зумовлені не впливом на калієві канали мембран, а опосередковані активацією мембранного ферменту Na,K-АТФази. В окремих серіях експериментів було встановлено, що сам по собі тестостерон не впливає на активність мембранного ферменту Na,K-АТФази. Ці дані дозволили зробити висновок, що в результаті активації біосинтезу білка в цитозолі клітин з'являється фактор, який активує Na,K-АТФазу мембран. Було висловлено припущення, що під дією цих гормонів синтезується специфічний гіперполяризуючий фактор [119]. Гіперполяризацію вивчали й інші дослідники, зокрема в експериментах з ізопротеронолом [174].

З огляду на можливу роль цитозольної рецепції в реалізації ефектів естрогенів у серці, вищевказані результати досліджень свідчать про важливе значення мембранних процесів у механізмі їх дії. Це також підтверджується даними А.І. Матюшина [12] про пряму дію естрадіолу на мембрани кардіоміоцитів шлуночків серця, що впливає на тривалість потенціалів дії.

Важливими з точки зору клінічної практики є дані про статеву диференціацію інтенсивності больових відчуттів, адже останнім часом спостерігається тенденція до зростання кількості реєстрації безбольових форм ішемії міокарда [150]. Доведено, що естрогени можуть покращувати заживлення ран, а також можуть зумовлювати аналгезію. Подібні висновки було зроблено й стосовно тестостерону, так як деякі больові симптоми, наприклад, стенокардія, стають більш вираженими в чоловіків із віком, коли рівень цього гормону зменшується. У дослідях на тваринах показано, що статеві гормони, зокрема естрогени і прогестерон, впливають на ендогенну опіоїдну систему, яка бере участь в механізмах ноцицепції [150, 157, 167, 181, 211].

Стійкість до стрес-індукованих кардіоваскулярних пошкоджень вища в самок, ніж у самців [95, 201]. Статеві відмінності відповіді на гострий стрес проявляються не тільки в реакції серцево-судинної системи, а й стосуються інших органів і систем [212], що іноді має вирішальний вплив на розвиток серцевих захворювань та їх наслідків.

Незважаючи на наявність численних досліджень, що підтверджують кардіопротекторні властивості жіночих статевих гормонів, головним чином естрогенів, що частково пояснює причини меншої захворюваності жінок на серцеву патологію [22], та таких, що висвітлюють негативні моменти замісної естроген-терапії [203], залишається доволі складною в кожному конкретному випадку інтерпретація отриманих закономірностей. Це спонукає науковців до подальших пошуків та розкриття тонких патогенетичних механізмів перебігу серцево-судинної патології з диференційованим підходом до цього питання залежно від статі.

Маловивченою залишається роль статевого фактора в холінергічній регуляції серця та взаємозв'язок із іншими стрес-лімітуючими системами організму. Подальші дослідження ролі статевих гормонів у перебігу серцево-судинної патології дозволять відкрити невідомі на сьогоднішній день ланки патогенезу некротичних процесів у міокарді.

1.3. Роль опіоїдної системи в реалізації адаптаційних механізмів при кардіоваскулярній патології

Традиційні уявлення про забезпечення вегетативної регуляції функцій органів та систем за допомогою холінергічної та адренергічної ланок АНС останнім часом підлягають значному перегляду. Стосовно механізмів регуляції діяльності серця це знаходить відображення в появі великої кількості досліджень, спрямованих на вивчення кардіотропних ефектів, опосередкованих введенням факторів пептидної природи, а також речовин, що модулюють активність опіатних рецепторів (ОР) [13, 41, 58, 91, 177, 178, 205, 221, 223, 226].

Опіум використовується в медицині понад п'ять тисячоліть. Ще стародавні цивілізації шумерів і єгиптян використовували його наркотичні, знеболюючі та антидіарейні властивості. Лише в 1973 році було встановлено, що на мембранах головного мозку ссавців є рецептори, які здатні специфічно зв'язуватися з морфіном [218]. Чому в ссавців є рецептори до алкалоїдів, які синтезуються в рослинах? Незабаром ученими було дано відповідь на це питання, коли в 1975 році в екстрактах мозку ссавців було виявлено речовини пептидної природи, що здатні взаємодіяти з цими рецепторами [196].

На теперішній час фармакологічно і біохімічно охарактеризовано п'ять типів опіатних рецепторів: мю-, дельта-, каппа-, епсилон- і сигма- рецептори. Можливо це ще не повний їх список, оскільки ще тривають дослідження в цьому напрямку, і в науковій літературі зустрічаються повідомлення про

нові, до кінця не охарактеризовані, ОР (наприклад, опіюдоподібні рецептори). А що стосується ендогенних опіюїдних пептидів, то їх на даний час виявлено вже декілька десятків. Вони синтезуються в складі високомолекулярних попередників, розщеплення яких призводить до утворення цілого ряду біологічно активних фрагментів, у тому числі й опіюїдних пептидів [29, 91].

Результати імуногістохімічних досліджень та експерименти на ізольованих органах [41, 146, 153, 179, 192, 217] свідчать про існування імунореактивності до ряду регуляторних пептидів у різних структурах серця. У нейронах внутрішньосерцевої нервової системи пептиди часто співіснують із класичними медіаторами – АХ і норадреналіном. При цьому пептидні посередники локалізуються переважно у великих гранулярних везикулах, тоді як класичні медіатори – в синаптичних везикулах, менших за розміром та електронною щільністю. Остання обставина, очевидно, створює передумови для диференційованої відповіді елементів внутрішньосерцевої нервової системи на імпульсацію, що поступає по нервових провідниках. Це проявляється у вибіркового виділенні того чи іншого ко-трансмітера. Наприклад, експериментально доведено, що характер медіаторної відповіді нейрона в кожному конкретному випадку визначається частотою стимуляції [91, 93]. Також була встановлена локалізація регуляторних пептидів у нейронах внутрішньосерцевої нервової системи, а також можливість ізольованого, або сумісного з класичними медіаторами, виділення регуляторних пептидів при стимуляції екстракардіальних нервів. Регуляторні пептиди мають здатність до прямої та опосередкованої через модуляцію вегетативних впливів дію на автоматизм серця. Існує припущення про існування різних шляхів реалізації пептидергічної ваготропної дії, що передбачає не тільки зміни вираженості парасимпатичної ваготропної дії, але й зміни її функціональної організації [91, 168, 178, 205].

На даний час зібрано експериментальні докази того, що на діяльність серця впливають такі регуляторні пептиди: нейропептид У, вазоактивний

інтестинальний пептид, соматостатин, нейротензин, опіюїдні пептиди та ін. [91]. Зокрема встановлено, що μ -опіюїдні рецептори у великій кількості розташовані в еферентних волокнах блукаючого нерва [83]. Інтерес до цих досліджень викликаний тим, що в багатьох хворих на інфаркт міокарда зниження вмісту β -ендорфінів у крові супроводжувалося ускладненим перебігом [138, 185]. З цього був зроблений висновок, що збільшення активності опіюїдної системи в умовах гострої патології серця має неспецифічний характер і спрямоване власне проти адренергічної гіперактивності, бо супроводжує лише гіперкатехоламінемію (спостерігається на першу добу після інфаркту міокарда) [74, 138]. Деякі експерименти доводять, що кардіопротекторна властивість агоністів опіюїдних рецепторів зумовлена активацією парасимпатичних впливів на серце [34, 47]. При ваготомії чи блокуванні холінорецепторів атропіном агоністи опіюїдних рецепторів не виявляють позитивних змін у роботі серця, що знову підтверджує їх взаємодію з холінергічною ланкою АНС [25, 58, 116].

Опіюїдні пептиди, за даними науковців, здатні змінювати передачу збудження в симпатичних гангліях, викликаючи розвиток повільних гальмівних постсинаптичних потенціалів і обмежувати вивільнення норадреналіну з симпатичних нервових закінчень, діючи на пресинаптичні ОР [47, 113, 175]. Деякі інші дослідники, зокрема М.А. Barlow et al., вважають, що ваготонічні ефекти енкефаліну не реалізуються через симпатолітичні механізми [223].

Вченими вивчалися антиішемічні ефекти опіюїдів [41], виявлено захисний ефект агоніста опіюїдних рецепторів даларгіну на частоту розвитку ішемічних порушень ритму серця в умовах зміненої симпатичної іннервації. Так, провівши правосторонню симпатектомію, та, використовуючи даларгін в дозі, що не проникає через гемато-енцефалічний бар'єр, отримано кардіопротективний ефект даларгіну, який автори пов'язують не тільки з гальмуванням активності симпато-адреналової системи, але з посиленням парасимпатичних впливів на серце, які підвищують електричну стабільність

міокарда. Також було отримано результати, які свідчать, що введення даларгіну тваринам при розвитку інфаркту міокарда на тлі двосторонньої симпатектомії знижує частоту розвитку фібриляції шлуночків у два рази [47]. Разом з тим необхідно зазначити, що в даних умовах, захисний ефект препарату на розвиток фібриляції шлуночків менш виражений, ніж при збереженій іннервації зони інфаркту міокарда [47]. Таким чином, отримані дані в цілому свідчать про те, що механізм захисного ефекту даларгіну на частоту розвитку фібриляції шлуночків при інфаркті міокарда зумовлений його модулюючим впливом як на симпатичну, так і на парасимпатичну регуляцію діяльності серця. Останнє сприяє підвищенню електричної стабільності міокарда в умовах порушеного коронарного кровотоку. Посилення парасимпатичних впливів при введенні даларгіну може бути пов'язане з рефлекторною активацією центральних рецепторів за рахунок його дії на μ - та δ -опіатні рецептори, які розташовані на аферентних волокнах блукаючих нервів. Опіодні пептиди, які містяться в симпатичних нервах здатні гальмувати вивільнення норадреналіну [47].

У дослідях на кішках, показано, що даларгін в умовах посилення симпатичних впливів на зону ішемії проявляв антиаритмічну дію, стримуючи розвиток ішемічних аритмій серця [25]. Отримані результати свідчать про те, що введення даларгіну знижує кількість ідіовентрикулярних ішемічних порушень, включаючи випадки незворотньої фібриляції шлуночків. Отже, агоністи μ - і δ -опіатних рецепторів викликають серцеві ефекти, пов'язані зі зниженням симпатичних впливів на серце [182].

В літературі є дані про те, що опіодна система організму приймає участь у регуляції активності гіпоталамо-гіпофізарно-адренкортикальної системи в умовах стресу. Зокрема, Т.А. Обут и др. проводили експерименти з вивчення стрес-реактивності у самців та впливу на ці процеси гормонів андрогенної природи дегідроепіандростерону та дегідроепіандростерон-сульфату, які синтезуються як у сітчастій зоні кори наднирників, так і в центральній нервовій системі, де їх класифікують як нейростероїди. Вчені довели, що ці

гормони приймають участь в адаптаційних реакціях організму, підвищуючи одночасно стійкість до стрес-індукованої патології. Вони здійснюють антионкогенну, антиатерогенну, імуностимулюючу, гіпотензивну та ряд інших впливів. У щурів-самців дегідроепіандростерон-сульфат здійснює впливи на стрес-реактивність, додатково знижуючи в них стрес-індукований рівень кортикостерону плазмі крові. Проте, даний ефект проявляється лише при багаторазовому стресорному впливі, а не при одноразовому. Автори висловили гіпотезу про можливий опіатний механізм цього впливу [84].

Інші дослідження доводять, що ендогенні опіоїди здійснюють інгібуючий вплив на секрецію кортикотропін-релізінг фактора, адренкортикотропного гормону та кортикостерону [58, 59]. Разом з тим, зустрічаються повідомлення іншого характеру, в яких говориться про те, що опіоїдним нейропептидам притаманна стимулююча дія на активність гіпоталамо-гіпофізарно-адренкортикальної системи [154]. Відсутність однозначних уявлень про складні взаємовідносини може бути зумовлена відмінностями в дозуванні, способах введення препаратів, методах індикації, якими користувалися різні автори. Разом з тим, є точка зору про існування реципрокного антагонізму між компонентами всередині самої опіатної системи. Також показано, що взаємовідносини ендокринних залоз і опіоїдної системи визначаються вихідним станом експериментальних тварин: інтактний або стресований [58]. На теперішній час накопичена достатня кількість фактів, які дозволяють говорити про активну участь опіоїдної системи в розвитку стрес-реакції. Однак поки що немає однозначної думки про її роль в умовах фізіологічного та патологічного стресу й адаптації. Більшість дослідників вважають, що опіоїдна система приймає участь в пригніченні реакції гіпоталамо-гіпофізарно-адренкортикальної системи на стресорні впливи, тим самим обмежуючи стресорну гіперфункцію всіх основних її ланок.

Деякі дослідження свідчать про те, що в дану регуляцію можуть бути втягнені опіатні рецептори [84]. Також показано, що опіатні рецептори

локалізовані переважно в структурах, які мають пріоритет у формуванні стрес-реакції: емоціогенних зонах мозку, в відділах ЦНС, відповідальних за регуляцію больових рефлексів і ендокринні функції, в залозах внутрішньої секреції. Питання ролі окремих типів опіатних рецепторів при різних стресорних впливах і адаптації на сьогоднішній день до кінця не вирішене. Вважають, що в зниженні відповіді гіпоталамо-гіпофізарно-адренкортикальної системи на стресорні впливи приймають участь мю- і сигма- опіатні рецептори [58].

Ріст стресорних навантажень, лідируюче місце хвороб адаптації серед причин смертності, підвищена схильність чоловіків до цих захворювань диктують необхідність пошуку оптимізації захисних реакцій, що передбачає поглиблене дослідження статевих особливостей адаптивних систем на всіх рівнях реалізації захисних реакцій. Модулятори опіатних рецепторів виявляють кардіопротекторні ефекти, запобігаючи пошкодженню мітохондрій та розвитку контрактур кардіоміоцитів, зменшуючи апоптичну активність і ймовірність розвитку аритмій.

Вирішення проблеми статевого диморфізму в формуванні стрес-стійкості серцево-судинної системи, надзвичайно-важливої в медичному та соціальному плані, передбачає пошук нових методів для оцінки реакцій серця на різні патологічні впливи.

Резюме

Враховуючи дані, отримані в результаті наукових інформаційних і патентних досліджень, можна стверджувати, що, незважаючи на чисельні дослідження, спрямовані на розкриття механізмів реалізації дії модуляторів опіатних рецепторів, залишається до кінця не з'ясованою їх роль у перебігу холінергічних реакцій при некротичному ушкодженні міокарда в статевому аспекті. Стан холінергічної регуляції серця при катехоланіновому пошкодженні міокарда на тлі модуляторів ОР не піддавався глибокому систематичному дослідженню і залишається маловивченою проблемою

клінічної і експериментальної кардіології. Дослідниками не встановлено статевих відмінностей холінергічної регуляції серця при АПМ на тлі модуляторів ОР, оскільки різні експерименти проводились окремо на самцях чи на самках, що не дозволяє порівнювати результати, а лише дозволяє давати характеристику змін, характерних для певної статі. У науковій літературі майже відсутні дані про пряму оцінку холінергічних реакцій серця та особливостей метаболізму парасимпатичного медіатора при розвитку некротичного процесу в серці на тлі модуляторів активності опіатних рецепторів. На сьогодні не встановлено роль модуляторів опіатних рецепторів у вираженості структурних змін міокарда при розвитку адреналінового пошкодження, а також не з'ясована залежність метаболічного дисбалансу при формуванні некротичних уражень міокарда від статі. Модулятори активності опіатних рецепторів є порівняно новим класом засобів у кардіологічній практиці, дія яких на серце в умовах патології недостатньо вивчена.

Оскільки метою даної роботи є з'ясування ролі модуляторів опіатних рецепторів у формуванні холінергічних реакцій серця в умовах гіперадреналемії з урахуванням статі досліджуваних тварин, то отримані експериментальні дані дадуть можливість для створення нових, патогенетично обґрунтованих, напрямків досліджень, профілактики і лікування некротичних уражень міокарда.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Відбір і групування тварин для дослідження

Для з'ясування ролі модуляторів опіатних рецепторів у формуванні холінергічних процесів при пошкодженні міокарда адреналіном в експерименти відбирали статевозрілих самців і самок нелінійних лабораторних щурів віком 5-6 місяців та масою 190-210 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Тварин поділили на експериментальні групи (табл. 2.1) для проведення запланованих досліджень.

Таблиця 2.1

Розподіл тварин у групах

№	Назва експериментальної групи тварин	Умовні позначення, скорочення	Кількість тварин
1.	Інтактні		12 ♂ 12 ♀
2.	Адреналінове пошкодження міокарда на 1-шу год експерименту	1 год АПМ	16 ♂ 14 ♀
3.	Адреналінове пошкодження міокарда на 24-ту год експерименту	24 год АПМ	16 ♂ 15 ♀
4.	Контроль (тварини яким вводили даларгін)	К _{ДАЛ}	12 ♂ 12 ♀
5.	Адреналінове пошкодження міокарда, що розвивалося на тлі даларгіну, 1-ша год експерименту	1 год АПМ _{ДАЛ}	13 ♂ 12 ♀
6.	Адреналінове пошкодження міокарда, що розвивалося на тлі даларгіну, 24-та год експерименту	24 год АПМ _{ДАЛ}	14 ♂ 14 ♀
7.	Контроль (тварини яким вводили налоксон)	К _{НАЛ}	12 ♂ 12 ♀
8.	Адреналінове пошкодження міокарда, що розвивалося на тлі налоксону, 1-ша год експерименту	1 год АПМ _{НАЛ}	14 ♂ 14 ♀
9.	Адреналінове пошкодження міокарда, що розвивалося на тлі налоксону, 24-та год експерименту	24 год АПМ _{НАЛ}	14 ♂ 12 ♀

Загалом у досліді було взято 240 тварин, з них 123 самці (♂) і 117 самок (♀). Вибір тварин саме цього віку зумовлений тим, що щурі у віці 5-6 місяців є статевозрілими, що відповідає репродуктивному періоду життя людини [61].

Всі експерименти та евтаназію тварин проводили з дотриманням „Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) [37].

2.2. Опис експериментальних моделей

2.2.1. Експериментальна модель адреналінового пошкодження міокарда. Шляхом внутрішньом'язового одноразового введення 0,18 % розчину адреналіну гідротартрату („Дарниця”, Україна) в кардіонекрозогеній дозі з розрахунку 1 мг/кг [64, 122] викликали АПМ. Спостереження та всі дослідження проводили на 1-шу та 24-ту год після ін'єкції, оскільки початок некротизування кардіоміоцитів спостерігається через 1 год після введення адреналіну, а через добу досягає повного розвитку [64, 70, 122].

2.2.2. Моделювання адреналінового пошкодження міокарда на тлі активації опіатних рецепторів. В якості активатора опіатних рецепторів використовували даларгін (ДАЛ) („Біолік”, Україна) – синтетичний аналог лей-енкефаліну. Препарат активно досліджується в експериментальній та практичній кардіології як кардіопротектор [47], проте його роль у модулюванні холінергічних процесів у серці недостатньо вивчена.

Даларгін вводили внутрішньоочеревинно в дозі 0,01 мг/кг за 30 хвилин до моделювання АПМ. Даларгін є гексапептидом і, у вказаній дозі, не проникає через гемато-енцефалічний бар'єр [47, 141], що створює оптимальні умови для дослідження його впливу на периферичні опіатні рецептори. Вибір дози препарату ґрунтувався на даних літератури, які відображають дослідження антиаритмічних ефектів в гострому експерименті

на тваринах [25, 47]. Паралельно проводилось дослідження контрольних груп самців і самок, яким вводили тільки даларгін, для вивчення ізольованого впливу препарату на холінергічну регуляцію серця самців та самок щурів.

2.2.3. Моделювання адреналінового пошкодження міокарда в умовах блокади опіатних рецепторів. Для встановлення закономірностей розвитку некротичного процесу в міокарді та холінергічної регуляції серцевої діяльності у тварин різної статі в умовах блокади ОР за 30 хвилин до моделювання АПМ тваринам внутрішньоочередивно вводили неселективний конкурентний блокатор ОР налоксон („Здоров'я народу”, Україна) в дозі 1 мг/кг [34]. Паралельно проводили експерименти на контрольних тваринах самців і самок, яким вводили тільки налоксон, для вивчення ізольованого впливу препарату на холінергічну регуляцію серця самців та самок щурів.

2.3. Дослідження холінергічних процесів

Згідно з найсучаснішими даними наукових досліджень, холінергічні механізми регуляції серцевої діяльності в патогенезі некротизування міокарда відіграють надзвичайно важливу роль як фактори, що здатні обмежувати пошкодження. Окрім того, експериментально доведено, що існує відмінність у функціонуванні парасимпатичної ланки автономної нервової системи в самців і самок щурів [10, 122, 123, 126-129]. Тому для з'ясування ролі холінергічної регуляції в патогенезі некрозу міокарда на тлі зміненої активності опіатних рецепторів використали методи варіаційної кардіоінтервалометрії, дослідження чутливості серця до екзогенного та ендogenous ацетилхоліну. Це дозволило кількісно оцінити особливості холінергічного контролю серцевої діяльності, чутливість міокардіальних холінорецепторів. Вивчали також метаболізм ацетилхоліну в тканинах серця.

2.3.1. Варіаційна кардіоінтервалометрія. Метод варіаційної кардіоінтервалометрії [6, 14, 15, 20], як один з найпоширеніших методів дослідження варіабельності серцевого ритму, надає можливість визначити

стан регуляторних систем та кількісно оцінити баланс активності адренергічної та холінергічної ланок АНС в регуляції синусового вузла. Електрокардіограму (ЕКГ) реєстрували у II стандартному відведенні (швидкість руху стрічки 50 мм/с). За допомогою стереоскопічного мікроскопа МБС-9 з окулярною сіткою визначали тривалість 100 послідовно розташованих кардіоінтервалів R-R з точністю до 0,05 с. Обчислювали такі показники:

а) ΔX – варіаційний розмах варіант, обчислюється як різниця між найбільшим і найменшим значеннями тривалості R-R, виражали в секундах (с);

б) M_0 – мода, тривалість інтервалу R-R, який на досліджуваному відрізку електрокардіограми зустрічається найчастіше, виражали в секундах (с);

в) AM_0 – амплітуда моди, кількість кардіоінтервалів, які відповідають значенню моди. При об'ємі вибірки, що дорівнює 100, число значень автоматично виражається у відсотках (%);

г) $И$ – індекс напруження, обчислювали за формулою $И = AM_0 / (2 \cdot \Delta X \cdot M_0)$, показник, який відображає ступінь централізації управління серцевим ритмом.

2.3.2. Дослідження чутливості серця до екзогенного ацетилхоліну. Тваринам, що знаходилися під легким ефірним наркозом, хірургічним шляхом здійснювали доступ до зовнішньої яремної вени, в яку вводили струминно в напрямку до серця розчин ацетилхоліну хлориду („Мосмедпрепараты”, Росія), приготовлений на основі 0,9 % розчину натрію хлориду з розрахунку 50 мкг/кг маси в об'ємі не більше 0,5 мл [129]. Хронотропний ефект оцінювали за показниками інтенсивності та тривалості брадикардії. Інтенсивність брадикардії ($И_{АХ}$) обчислювали за формулою: $И_{АХ} = L_1 / L_0$, де L_0 – середнє значення величини R-R на ЕКГ до введення ацетилхоліну, L_1 – максимальне значення R-R після введення АХ. Тривалість

брадикардії (TB_{AX}) дорівнювала часовому відрізку (в секундах) між появою та зникненням негативного хронотропного ефекту.

2.3.3. Вивчення чутливості серця до ендogenous ацетилхоліну. Ці дослідження проводилися з метою вивчення негативних хронотропних реакцій серця на електричне подразнення блукаючого нерва, з допомогою яких можна скласти орієнтовне уявлення про резерви медіатора в холінергічних терміналях, які підходять до кардіоміоцитів синоатріального вузла, а також про чутливість холінорецепторів та, опосередковано, про холінестеразну активність міокарда.

Методика вивчення чутливості серця до ендogenous ацетилхоліну полягає в аналізі змін частоти серцевих скорочень у відповідь на електричне подразнення периферичного відрізка правого блукаючого нерва [29, 129]. При використанні легкого ефірного наркозу фіксували тварину в станку спиною донизу. Робили розріз по середній лінії шиї і виділяли правий блукаючий нерв, перерізали його на рівні нижнього хряща гортані. Вибір правого блукаючого нерва аргументований тим, що у щурів він здійснює переважну іннервацію правого передсердя і синоатріального вузла і справляє більш виражений вплив на автоматизм серця, ніж лівий нерв. 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.

2.3.4. Визначення вмісту та ферментативного гідролізу ацетилхоліну. Вміст ацетилхоліну визначали біологічним методом [18] у міокарді передсердь і шлуночків. Після декапітації розкривали грудну порожнину,

забирали серце і переносили його в чашку Петрі з охолодженим розчином Рінгер-езерину, приготованим *ex tempore*, який має наступний склад: KCl 10 % – 1,4 мл; CaCl₂ 10 % – 1,2 мл; NaHCO₃ 5 % – 4 мл; NaCl – 6,5 г, езерин саліциловокислий – 60 мг, вода бідистильована – до 1 л. У цьому розчині серце відмивали від крові, відділяли передсердя і шлуночки, просушували на фільтрувальному папері і зважували на торзійній вазі.

Виготовляли гомогенати тканин на основі охолодженого безбікарбонатного розчину Рінгера (pH=3,8) з езериним із молярною концентрацією $6 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Пропорція тканини і розчину Рінгера була такою: для передсердь – 0,4 мл розчину на 10 мг тканини, для шлуночків – 1 мл розчину на 100 мг тканини. Центрифужну пробірку з гомогенатом 5 хв витримували в киплячій водянній бані, охолоджували в пробірках під проточною водою та 2 год екстрагували при кімнатній температурі. Екстракти центрифугували 30 хв при 3000 об./хв і відбирали надосадову рідину пастерівською піпеткою. Безпосередньо перед тестуванням екстракти передсердь розводили Рінгер-фосфатним розчином у 15 разів, а екстракти шлуночків – у 10 разів. Тестували екстракт на прямому м'язі живота жаби, попередньо витриманої не менше, ніж 24 год при температурі 4 °C для збільшення чутливості м'яза. Препарат прямого м'яза живота жаби готували наступним способом. Жабу децеребрували, руйнували спинний мозок і обережно розрізали шкіру черевної стінки, щоб не пошкодити прямий м'яз живота. Прошивали ниткою краніальний (разом із мечовидним відростком грудної кістки) та каудальний кінці прямого м'яза живота, відрізали його разом із мечовидним відростком і переносили в чашку Петрі, заповнену Рінгер-фосфатним буфером. Цей препарат фіксували в скляній камері об'ємом 12 мл, заповненій Рінгер-фосфатним буфером, і залишали на 1 год для розслаблення при аерації кімнатним повітрям із швидкістю 60 пухирців повітря за 1 хвилину.

Спочатку визначали чутливість м'яза до приготованих *ex tempore* стандартних розчинів АХ. М'яз реагував скороченням, що реєстрували у

вигляді кімограми на барабані кімографа. Максимум скорочення спостерігали через 2,5 хв. Після 3 хв контакту м'яза з АХ рідину в камері заміняли свіжим розчином Рінгера для відмивання та розслаблення м'яза, що тривало 5 хв. Пробу повторювали 4-6 разів до появи постійного за амплітудою скорочення. Використовували м'яз, що був чутливий до концентрації АХ не менше $1 \cdot 10^{-8}$ моль/л. Для визначення концентрації медіатора вимірювали величину скорочення м'яза під дією екстракту та двох суміжних скорочень на стандартні концентрації ацетилхоліну і будували графік. На графіку знаходили проекцію на вісь абсцис. Досліджувана величина була проекцією на осі абсцис точки, що знаходилася на прямій, яка з'єднувала відомі величини. Кількість речовини виражали в мкмоль/кг свіжої тканин передсердь або шлуночків.

Активність ферментативного гідролізу АХ визначали в міокарді передсердь та шлуночків, оцінюючи загальну холінестеразну активність (ХЕА) [98]. Метод ґрунтується на взаємодії АХ з лужним розчином гідроксиламінхлориду з утворенням ацетилгідроксамової кислоти, яка в кислому розчині дає з хлорним залізом кольорову реакцію. Інтенсивність забарвлення залежить від концентрації АХ. 10 % гомогенат на основі фосфатного буфера (рН=7,2) екстрагували 1 год при кімнатній температурі, 30 хв центрифугували при 3000 об./хв і використовували надосадову рідину. Контрольна і дослідна пробірки містили по 0,8 мл бідистильованої води та 0,2 мл екстракту. У дослідну пробірку додавали ще 1 мл 0,07 % розчину ацетилхоліну хлориду, приготовленого на основі фосфатного буферу, що містив 4 мкмоль АХ. Проби інкубували 1 год в термостаті при температурі 38 °С. Далі в дослідну пробірку для припинення реакції додавали 4 мл лужного гідроксиламіну, ретельно перемішуючи, а вміст контрольної переливали в заготовлену пробірку з сумішшю 4 мл лужного гідроксиламіну і 1 мл 0,07 % розчину АХ хлориду. Через 3 хв послідовно водили по 2 мл НСІ та FeCl₃, а ще через 10 хв фільтрат фотоколориметрували при довжині хвилі 540 нм. Контроль на колір реактивів містив усі реагенти додані в

зворотньому порядку. Спочатку розраховували відсоток гідролізу АХ за формулою: $ВГ = (E_K - E_D) / E_K \cdot 100$, де ВГ – відсоток гідролізу АХ; E_K – екстинція контролю; E_D – екстинція дослідної проби. Потім визначали кількість гідролізованого АХ в ммоль/(кг·год), що була пропорційною активності гідролізу, знаючи, що 1 мл 0,07 % розчину АХ хлориду, приготовленого на основі фосфатного буфера, містив 4 мкмоль АХ.

2.4. Морфометричне дослідження

Найважчим проявом токсичної дії адреналіну у високій концентрації на кардіоміоцити є некротичні зміни в міокарді. Як справедливо вважають деякі дослідники [79, 80, 134], морфологічним субстратом АПМ є дрібновогнищеві некрози, які локалізуються головним чином у шлуночках, а саме – в ділянці верхівки, папілярних м'язів, субендокардіальному шарі лівого шлуночка та міжшлуночкової перегородці. Можливо, це пояснюється тим, що на ці відділи припадає велике функціональне навантаження і в умовах токсичної дії препарату настає швидке пошкодження [64]. Для кількісної оцінки цих змін застосували морфометричний аналіз, який дає можливість кількісно оцінити ступінь структурного пошкодження серця. Для цього серце дослідних тварин після декапітації швидко фіксували в 10 % розчині формаліну нейтрального та підготували до фарбування [71]. Витримували в такому ж розчині 3-10 днів, потім вимочували в спиртових розчинах різної концентрації (в порядку наростання концентрації від 40° до 96° спирту етилового). Матеріал поміщали в термостат при температурі 57 °С, потім у суміш Нікіфорова, що складається з ефіру та 96° спирту етилового (співвідношення 1:1) на 1 годину. Після цього тканину заливали в парафінові блоки. Орієнтацію кусочків здійснювали так, щоб можна було отримати поперечні зрізи товщиною 5-6 мкм правого і лівого шлуночків на рівні фіксації та проходження папілярних м'язів [82]. Отримані зрізи фарбували за Гейденгайном. У 20 випадково вибраних полях зору мікропрепарату

(збільшення $\times 200$) підраховували кількість некротизованих кардіоміоцитів, які забарвлювалися в чорний колір. При проведенні підрахунків використовували стереометричну окулярну вставку за Г.Г. Автанділовим із 100 рівномірно віддаленими точками [2]. Суму некротизованих клітин ділили на 20, визначаючи відсоток некротизованих кардіоміоцитів.

2.5. Вивчення особливостей функціонування системи про- та антиоксидантів у міокарді

2.5.1. Визначення продуктів пероксидного окиснення ліпідів. Дослідження вмісту гідропероксидів ліпідів у крові та гомогенатах досліджуваних тканин і органів має важливе діагностичне значення для оцінки активації ПОЛ, що спостерігається при розвитку ряду захворювань, зокрема, при ішемічній хворобі серця, при інфаркті міокарда [28]. ПОЛ є одним із провідних механізмів некротизування кардіоміоцитів адреналіном [55, 64, 128], тому активність даного процесу дозволяє оцінити інтенсивність руйнівних процесів у кардіоміоцитах. Для кількісної оцінки цих процесів використовували визначення вмісту дієнових кон'югатів (ДК) та малонового діальдегіду (МДА) в міокарді шлуночків.

Вміст ДК визначали за методом, принцип якого ґрунтується на здатності до інтенсивного УФ-поглинання кон'югованих дієнових структур гідропероксидів ліпідів у діапазоні 232-234 нм [28]. До 0,4 мл 10 % гомогенату тканини додавали 4 мл гептано-ізопропанолової суміші (1:1), екстрагували досліджуваний метаболіт при температурі 20 °С протягом 15 хвилин. Після цього в пробірку додавали 1 мл розчину кислоти хлорводневої (рН=2,0) і 2 мл гептану. Інтенсивно струшували та, після відстоювання та розшарування суміші, через 30 хвилин, відділену гептанову фазу тестували на спектрофотометрі СФ-46, вимірюючи оптичну густину при довжині хвилі 233 нм. Результати підраховуються за формулою: $K = D_{232} \cdot V_E / V_G$, де K – концентрація, D – оптична густина, V_E – об'єм гептанового екстракту, V_G – об'єм гомогенату. Оскільки об'єм гептанового екстракту був

однаковим для всіх досліджень і становив 4 мл, а об'єм гомогенату шлуночків становив 0,4 мл, то підрахунки проводились за формулою: $K=D_{232} \cdot 10$ і отримані дані відображали вміст ДК у міокарді шлуночків та вимірювалися у відносних одиницях (відн. од.)

Визначення вмісту МДА проводили за методом, що ґрунтується на здатності МДА взаємодіяти в кислому середовищі з кислотою тіобарбітуровою [7]. При цьому утворюється забарвлений триметиновий комплекс з максимумом поглинання при довжині хвилі 535 нм. Фотоколориметрували відділену верхню фазу проти контролю, яким слугувала вода дистильована. Вміст продукту розраховували за формулою: $K=0,4 \cdot E_d$, де K – концентрація, E_d – екстинція дослідної проби, при умові, що коефіцієнт молярності екстинції $1,56 \cdot 10^5 / \text{см}$. Отримані дані виражали в ммоль/кг.

2.5.2. Дослідження стану антиоксидантної системи. Активні форми кисню є небезпечними для клітин, тому існують захисні механізми, які реалізуються через функціонування антиоксидантної системи, яка підтримує на постійному рівні окисні процеси в організмі. В умовах патології, зокрема при гіпоксії, ішемії, некротичних процесах міокарда, активність АОС відображає адекватність компенсаторно-приспосувальної реакції тканини на нагромадження перекисних метаболітів. Тому нашим завданням було також вивчення потужності антиоксидантного захисту міокарда шлуночків при АПМ. Стан АОС оцінювали за активністю СОД, КАТ та вмістом сульфгідрильних груп (SH-групи). Ключовим ферментом цієї системи є СОД, яка каталізує реакцію знешкодження двох молекул супероксиданіону, перетворюючи одну з них у молекулярний кисень, а іншу – в пероксид водню (менш сильний окиснювач, ніж супероксиданіон). Тому СОД працює в парі з КАТ. SH-група цистеїну входить у склад глутатіону і, віддаючи атом водню, приймає участь в пероксидазній реакції. Тому наявність достатнього вмісту SH-груп свідчить про наявність резервних можливостей АОС, спрямованих на захист організму від вільних радикалів.

Для визначення активності СОД в міокарді шлуночків використовували метод, що ґрунтується на здатності ферменту конкурувати з нітротетразолієм синім за супероксидні аніони, які утворюються внаслідок аеробної взаємодії відновленої форми нікотинамідаденіннуклеотиду та феназин метасульфату [135]. В результаті реакції нітротетразолій синій відновлюється з утворенням гідразин-тетразолію. У присутності ферменту відсоток відновлення нітротетразолію синього зменшується [191]. Кількісні параметри цієї реакції визначають шляхом вимірювання оптичної густини реакційної суміші на спектрофотометрі при довжині хвилі 540 нм. Досліджували 1 мл 10 % гомогенату, приготовленого на фосфатному буфері (рН=7,4). У контрольну пробу замість гомогенату брали 0,2 мл фосфатного буферу. Підрахунки активності ферменту проводили за формулою: $A=(E_K-E_D) \cdot 100/E_K$, де А – активність ферменту, E_K – екстинція контрольної проби, E_D - екстинція дослідної проби. Кількість ферменту, що викликала інгібування відновлення нітротетразолію синього на 50 %, приймали за 1 умовну одиницю активності (од. акт.).

Каталаза належить до класу оксидоредуктаз, ферментів, що каталізують окисно-відновні процеси. КАТ розкладає H_2O_2 на $H_2O+1/2O_2$. Активність КАТ визначали за методом, який ґрунтується на здатності пероксиду водню утворювати з амонію молібдатом стійкий забарвлений комплекс [72]. Досліджували 10 % гомогенат шлуночків на основі тріс-буфера (рН 7,8) з молярною концентрацією 0,05 ммоль/л. Інтенсивність забарвлення вимірювали при довжині хвилі 410 нм. Каталазну активність визначали за формулою: $A=(E_X-E_D)/E_X \cdot V \cdot t \cdot K$, де А – активність каталази в мкат/кг, E_X – екстинція холостої проби, E_D – екстинція дослідної проби, V – об'єм проби (0,1 мл), t – тривалість інкубації (10 хв), K – коефіцієнт екстинції перекису водню $22,2 \cdot 10^{-3}/(\text{ммоль} \cdot \text{см})$.

Пероксидази окиснюють речовини, використовуючи пероксид водню як акцептор атомів. Так, глутатіонпероксидаза каталізує реакцію відновлення пероксидів жирних кислот глутатіоном (Г-SH), а окиснена форма глутатіону

переходить у відновлену під дією глутатіонредуктази. Виходячи з цього, залежно від концентрації SH-груп у міокарді, можна оцінювати стан цієї ланки АОС. Вміст SH-груп визначали колориметричним методом, який полягає у взаємодії 5,5-дитіобіс (2-нітробензойної) кислоти (реактив Елмана) з SH-групами досліджуваного субстрату [21]. При цьому утворюється тіонітрофенильний аніон, кількість якого прямо пропорційна вмісту SH-груп. Розрахунок вмісту продукту проводили з урахуванням коефіцієнта молярної екстинкції 11400 і результат виражали в ммоль/кг.

2.6. Статистичний аналіз результатів досліджень

Усі результати експериментів оброблено параметричними методами варіаційної статистики [137]. Визначали такі основні статистичні величини:

а) M – середнє арифметичне;

б) m – стандартну похибку середнього арифметичного;

в) t – критерій Стьюдента;

г) p – показник достовірності різниці між середніми величинами (відмінність між середніми арифметичними величинами вважали достовірною при значенні $p \leq 0,05$).

РОЗДІЛ 3

ОСОБЛИВОСТІ ХОЛІНЕРГІЧНИХ ПРОЦЕСІВ ПРИ ПОШКОДЖЕННІ СЕРЦЯ САМЦІВ І САМОК ЩУРІВ АДРЕНАЛІНОМ НА ТЛІ АКТИВАЦІЇ ОПІАТНИХ РЕЦЕПТОРІВ

При АПМ розвивається цілий комплекс компенсаторно-приспосувальних реакцій, важливим компонентом якого є реакція основних стрес-лімітуючих систем організму, а саме ендогенної опіоїдної системи та холінергічної ланки АНС. Виникає запитання – як взаємопов’язані ефекти впливу цих систем, чи їхні впливи сумуються, чи взаємно потенціюються, а чи, можливо, й обмежують кардіопротекторні ефекти один одного в умовах серцевої патології. Ще одним логічним запитанням постає роль статі у формуванні кардіопротекторних механізмів за участі системи опіатів. Наукові дослідження переконливо доводять, що холінореактивність самців і самок при АПМ суттєво відрізняється [73]. Враховуючи неоднозначність поглядів на функціональний стан ендогенної опіоїдної системи організму при моделюванні серцевої патології та її взаємодію з парасимпатичною ланкою АНС, про що було сказано в огляді літератури, було поставлено завдання дослідити холінергічну регуляцію серця самців і самок щурів при АПМ в умовах активації ОР синтетичним аналогом лей-енкефаліну даларгіном.

3.1. Математичний аналіз серцевого ритму при моделюванні адреналінового пошкодження серця щурів різної статі на тлі даларгіну

Для вивчення стану автономного контролю за діяльністю серця та оцінки функціонування холінергічної ланки АНС на тлі підвищеної активності ОР, а отже, і взаємодії цих двох систем, кожна з яких має здатність обмежувати негативні стресорні впливи на організм, був використаний метод математичного аналізу серцевого ритму. Аналізували динаміку частоти серцевих скорочень, а при вивченні особливостей

варіаційної кардіоінтервалометрії враховували показники M_0 , AM_0 , ΔX та інтегральний показник $И$.

Щоб дати співставну оцінку досліджуваних показників без впливу лігандів ОР з аналогічними показниками за застосування ДАЛ, спочатку моделювали АПМ у статевозрілих самців і самок щурів без зовнішнього впливу на активність ОР.

Таблиця 3.1

Показники математичного аналізу серцевого ритму самців і самок при розвитку адреналінового пошкодження міокарда ($M \pm m$)

Показник		Інтактні (самці – n=6) (самки – n=6)	АПМ 1 год (самці – n=6) (самки – n=6)	АПМ 24 год (самці – n=6) (самки – n=7)
ЧСС, хв ⁻¹	♂	469±7 1	472±7 2	491±6 3
	♀	446±6 4	453±7 5	469±6 6
M_0 , с	♂	0,116±0,002 7	0,113±0,004 8	0,109±0,003 9
	♀	0,126±0,003 10	0,122±0,006 11	0,116±0,004 12
AM_0 , %	♂	22,9±1,1 13	21,1±1,0 14	18,9±1,1 15
	♀	18,1±1,0 16	16,8±1,1 17	17,5±1,1 18
ΔX , с	♂	0,0165±0,0004 19	0,0148±0,0005 20	0,0193±0,0008 21
	♀	0,0193±0,0006 22	0,0131±0,0004 23	0,0217±0,0007 24
$И$	♂	5982±412 25	7410±473 26	4492±386 27
	♀	3692±328 28	5256±435 29	3476±392 30
Примітка. $p_{1-3}<0,05$; $p_{4-6}<0,05$; $p_{1-4}<0,05$; $p_{3-6}<0,05$; $p_{7-10}<0,02$; $p_{13-15}<0,05$; $p_{13-16}<0,01$; $p_{14-17}<0,02$; $p_{19-20}<0,05$; $p_{19-21}<0,002$; $p_{20-23}<0,05$; $p_{22-23}<0,001$; $p_{22-24}<0,05$; $p_{19-22}<0,01$; $p_{21-24}<0,05$; $p_{20-21}<0,001$; $p_{23-24}<0,001$; $p_{25-26}<0,05$; $p_{25-27}<0,05$; $p_{28-29}<0,02$; $p_{25-27}<0,002$; $p_{26-29}<0,01$.				

В цій та наступних таблицях p_{a-b} означає достовірну відмінність між значеннями, поданими в пронумерованих комірках таблиці (наприклад: $p_{1-3}<0,05$ – достовірна відмінність між показниками, розміщеними в першій і третій комірках).

Вивчення динаміки ЧСС показало, що в інтактних самок даний показник був на 4,9 % менший, ніж у самців (табл. 3.1). Розвиток АПМ сприяв виникненню тахікардії в обох групах тварин. Приріст ЧСС на 24 год

експерименту в самців становив 4,7 %, у самок – 5,2 %, внаслідок чого ЧСС самців була достовірно більшою, порівняно з самцями, на 4,5 %.

За модельованої патології показник M_0 на 1 та 24 год АПМ достовірних змін не зазнав у тварин обох статей, незважаючи на те, що вихідний рівень цього показника у самок був більшим на 8,6 %.

Величина AM_0 у самців на 24 год АПМ зменшилася на 17,5 %. У самок цей показник був адинамічний. Порівняння тварин різної статі показало, що в інтактних самок та на 1 та 24 год АПМ величина AM_0 була достовірно меншою за показник самців на 21,0 та 20,4 % відповідно. Завдяки зменшенню даного параметру у самців на 24 год АПМ вихідна різниця між різностатевими тваринами зникла.

Досить динамічним виявився показник варіаційного розмаху (ΔX). В обох групах тварин спрямування змін було однакове, зокрема, на 1 год АПМ відбулося зменшення (в самців на 23,6 %, у самок на 32,1 %), а на 24 год АПМ – збільшення даного показника, порівняно з інтактними, у самців на 17,0 %, в самок на 12,4 %. Слід зазначити, що вихідна перевага за даним параметром у самок становила 17,0 %, а на 1 та 24 год АПМ на 11,5 та 12,4 % відповідно. Динаміка цього показника, який відображає активність автономного контуру регуляції з боку АНС, показує, що на 1 год АПМ відбулося обмеження рефлексорних парасимпатичних впливів дещо більше у самок, а на 24 год АПМ холінергічний контроль діяльності серця активувався. Ступінь даної активації був інтенсивнішим у самок. Про це свідчать відсоткові значення приросту ΔX порівняно з попереднім етапом дослідження, зокрема, у самців – 30,4 %, у самок – 65,6 %.

Динаміка вищеописаних показників сприяла зміні інтегрального, яким є ІН. На 1 год АПМ в самців ІН зріс на 23,9 %, у самок – на 42,3 %, а на 24 год АПМ зменшився в самок до вихідного рівня, в самців – на 24,9 % нижче за вихідний. У контролі та на 1 год АПМ ІН був більший у самців (38,7 та 29,1 %).

Як видно з отриманих даних, розвиток некротичного процесу в міокарді тварин супроводжувався реагуванням автономного контуру регуляції, особливо на етапі максимально виражених змін. Значний внесок в ці зміни вносить посилення впливу блукаючих нервів. Слід зазначити, що процес адаптації організму самців і самок за участі АНС дещо відрізнявся. У самок домінуючим механізмом була активація холінергічної ланки регуляції, про що свідчило суттєве збільшення ΔX . Адаптація самців в даних умовах (24 год АПМ) характеризувалася ще й обмеженням адренергічного рефлекторного впливу на серце з боку АНС, про що свідчило зменшення АМо.

Подальше дослідження моделі АПМ в умовах активації ОР потребувало також вивчення ізолюваного впливу ДАЛ на досліджувані параметри. Введення ДАЛ контрольним тваринам викликало зменшення ЧСС у самців на 5,5 % (табл. 3.2), в самок – на 5,2 %.

Таблиця 3.2.

Показники математичного аналізу серцевого ритму самців і самок при розвитку адреналінового пошкодження міокарда на тлі даларгіну ($M \pm m$)

Показник		Інтактні	$K_{\text{ДАЛ}}$	$\text{АПМ}_{\text{ДАЛ}}$ 1 год	$\text{АПМ}_{\text{ДАЛ}}$ 24 год
		(самці – n=6) (самки – n=6)	(самці – n=6) (самки – n=6)	(самці – n=6) (самки – n=6)	(самці – n=6) (самки – n=7)
ЧСС, хв^{-1}	♂	469±7 ₁	443±6 ₂	456±8 ₃	464±7 ₄
	♀	446±6 ₅	423±6 ₆	435±7 ₇	448±8 ₈
Мо, с	♂	0,116±0,002 ₉	0,127±0,002 ₁₀	0,124±0,004 ₁₁	0,119±0,003 ₁₂
	♀	0,126±0,003 ₁₃	0,137±0,003 ₁₄	0,128±0,004 ₁₅	0,121±0,004 ₁₆
АМо, %	♂	22,9±1,1 ₁₇	19,6±1,2 ₁₈	20,1±1,1 ₁₉	19,3±1,3 ₂₀
	♀	18,1±1,0 ₂₁	16,4±1,1 ₂₂	15,7±1,2 ₂₃	18,6±1,2 ₂₄
ΔX , с	♂	0,0165± 0,0004 ₂₅	0,0187± 0,0008 ₂₆	0,0181± 0,0011 ₂₇	0,0176± 0,0009 ₂₈
	♀	0,0193± 0,0006 ₂₉	0,0216± 0,0007 ₃₀	0,0206± 0,0017 ₃₁	0,0198± 0,0013 ₃₂
ІН	♂	5982±412 ₃₃	4126±368 ₃₄	4478±394 ₃₅	4608±389 ₃₆
	♀	3722±328 ₃₇	2771±362 ₃₈	2977±345 ₃₉	3882±373 ₄₀
Примітка. $p_{1-2} < 0,02$; $p_{1-5} < 0,05$; $p_{2-6} < 0,05$; $p_{5-6} < 0,05$; $p_{9-10} < 0,01$; $p_{9-13} < 0,02$; $p_{10-14} < 0,02$; $p_{13-14} < 0,001$; $p_{17-21} < 0,05$; $p_{18-22} < 0,05$; $p_{19-23} < 0,05$; $p_{25-26} < 0,05$; $p_{25-29} < 0,05$; $p_{26-30} < 0,05$; $p_{29-30} < 0,05$; $p_{33-34} < 0,01$; $p_{33-35} < 0,05$; $p_{33-36} < 0,05$; $p_{33-37} < 0,05$; $p_{34-38} < 0,05$; $p_{35-39} < 0,05$.					

В умовах патології цей показник підвищувався й на 1 год АПМ_{ДАЛ} достовірно не відрізнявся від аналогічного показника в групах інтактних самців і самок. Подальше спостереження (24 год АПМ_{ДАЛ}) не виявило достовірних змін ЧСС у тварин обох статей.

На активацію ОР відреагували й інші досліджувані показники. Зокрема, спостерігали зростання Мо (самці – 9,5 %, самки – 8,7 %), ΔХ (самці – 13,3 %, самки – 11,9 %). Інтегральний показник ІН достовірно зменшився лише у самців на 31,0 %, що свідчило про посилення вагусного впливу на діяльність серця.

Незважаючи на більш інтенсивні зміни досліджуваних параметрів у тварин-самців, загальна картина демонструвала переважання холінергічного контролю діяльності серця саме у самок, про що свідчило на 7,9 % більше, ніж у тварин протилежної статі, значення Мо, на 15,5 % – величини ΔХ та на 32,8 % – менше значення ІН.

Розвиток АПМ на тлі даларгіну не викликав подальших суттєвих змін досліджуваних показників у тварин обох статей. Але у самців достовірно меншим, ніж показник інтактних тварин виявився ІН (1 год АПМ_{ДАЛ} – на 25,1 %, 24 год АПМ_{ДАЛ} – на 23,0 %), що відображало посилення ролі блукаючого нерва у формуванні ритму серця. Разом з тим, даний показник самок залишався меншим, ніж у самців, на 1 год АПМ_{ДАЛ} відповідно на 50,4 %, що свідчило про потужніший, ніж у самців, холінергічний контроль діяльності серця на початковому етапі некротичних змін, при подальшому прогресуванні патології статева відмінність за показником ІН була недостовірною.

Порівнюючи показники математичного аналізу серцевого ритму при АПМ у групах самців без корегуючих впливів та в умовах активації ОР, виявлено, що ДАЛ сповільнив зростання ЧСС при реалізації пошкоджувального ефекту адреналіну. Так, на 24 год АПМ_{ДАЛ} значення ЧСС у самців було на 5,5 % ($p < 0,02$) менше, ніж у тварин, яким корекція не

проводилася, а величина M_o була на 9,2 % ($p < 0,05$) більшою, ніж аналогічний показник у групі самців без корегуючих впливів. Величина ΔX (рис. 3.1) на 1 год АПМ_{ДАЛ} була на 39,6 % більшою ($p < 0,002$), ніж без активації ОР, а ІН (рис. 3.2) – на 39,6 % менший ($p < 0,001$).

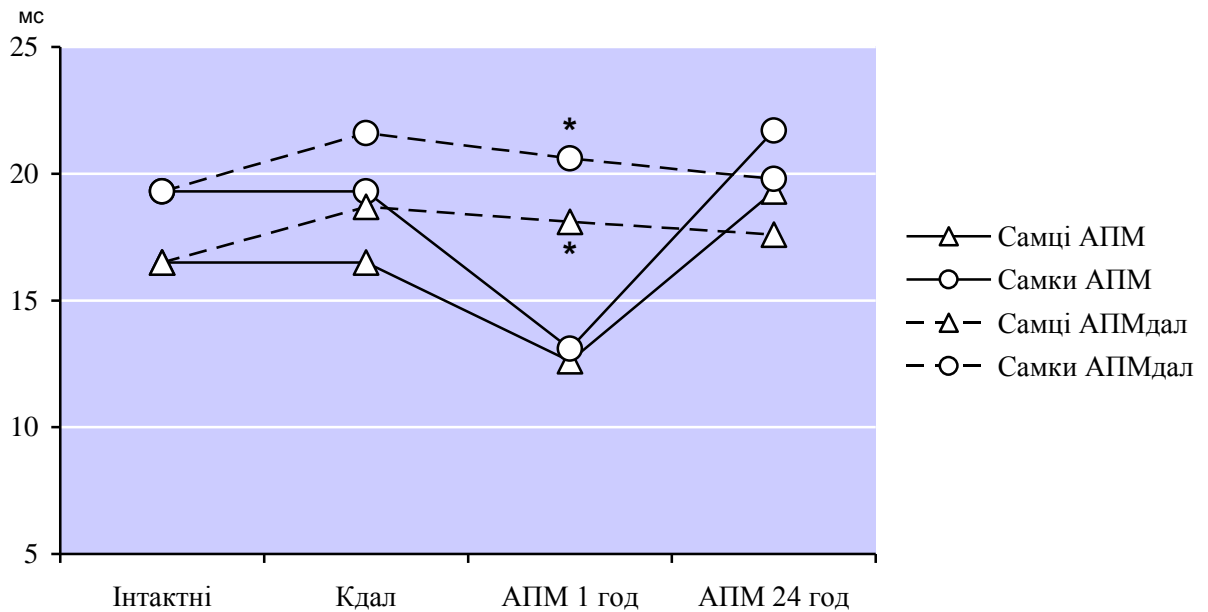


Рис. 3.1. Порівняння динаміки показника варіаційного розмаху кардіоінтервалів (ΔX , мс) у самців і самок при адреналіновому пошкодженні міокарда без корекції та за застосування даларгіну (Примітка. * – достовірна відмінність показників порівнюваних груп тварин).

У самок аналогічний аналіз виявив відмінність лише на 1 год АПМ_{ДАЛ} (рис. 3.1), зокрема, величина ΔX була на 57,3 % більшою, ніж порівнюваний показник у групі самок без корегуючих впливів ($p < 0,002$), а ІН (рис. 3.2) – на 43,3 % меншою ($p < 0,01$), ніж у тварин, де ДАЛ не використовувався.

Даний аналіз показав, що, незважаючи на значне посилення впливу холінергічної ланки АНС на регуляцію серця самців при дії адреналіну на тлі ДАЛ, активність цього адаптаційного процесу залишалася вищою у самок.

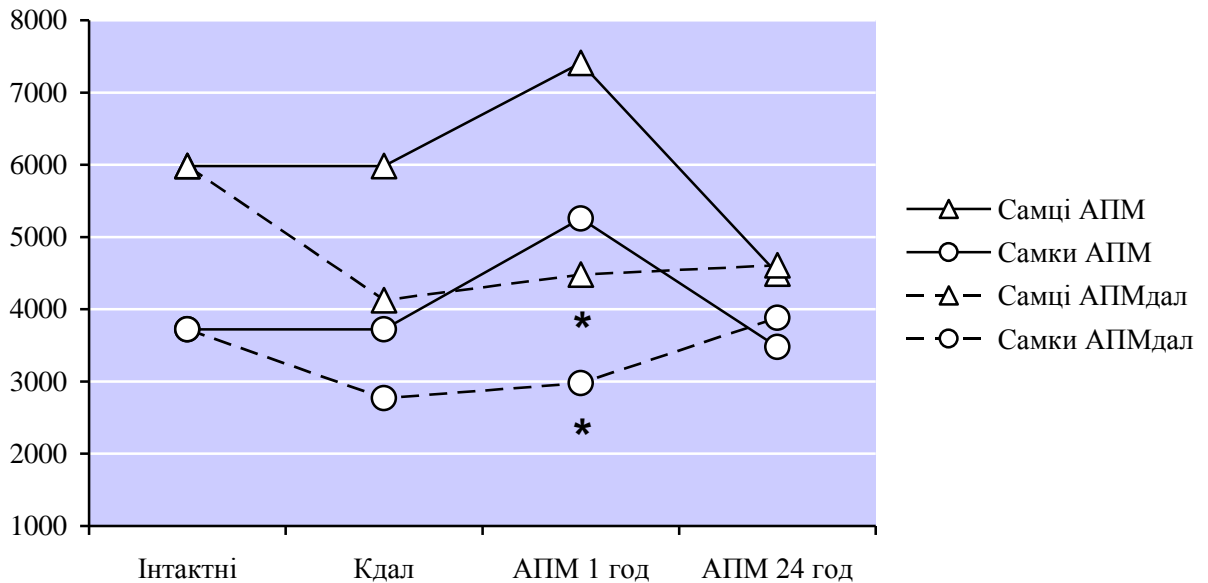


Рис. 3.2. Порівняння динаміки індексу напруження (ІН) у самців і самок при адреналіновому пошкодженні міокарда без корекції та за застосування даларгіну. (Примітка. * – достовірна відмінність показників порівнюваних груп тварин).

3.2. Чутливість серця тварин різної статі до ендogenous та екзогенного ацетилхоліну при моделюванні адреналінового пошкодження на тлі даларгіну

Встановлена відмінність між тваринами різної статі за показниками варіаційної кардіоінтервалометрії може ґрунтуватися на різній реактивності міокардіальних холінорецепторів синусового вузла самців і самок. Для вивчення механізму таких змін провели дослідження чутливості серця до ендogenous та екзогенного АХ, що дозволяє скласти орієнтовне уявлення про резерви медіатора в холінергічних терміналях, які підходять до кардіоміоцитів синоатріального вузла, чутливість постсинаптичних холінорецепторів та, опосередковано, про холінестеразну активність міокарда. Чутливість холінорецепторів до ендogenous АХ оцінювали за інтенсивністю брадикардії, що виникала у відповідь на електричне

подразнення n.Vagus ($IB_{n.v}$), а реакцію серця на внутрішньовенне введення АХ – за інтенсивністю (IB_{AX}) та тривалістю (TB_{AX}) брадикардії.

Моделювання АПМ у самців виявило наступні зміни досліджуваних показників. На 1 год розвитку АПМ показник $IB_{n.v}$ у самців достовірно не змінився, а на 24 год АПМ зменшився відносно контролю в 2,1 раза (табл.3.3). У самок даний показник збільшився у 2,0 раза на 1 год АПМ, а на 24 год некрозоутворення зменшився до рівня інтактних особин.

Таблиця 3.3.

Показники негативних хронотропних ефектів серця самців і самок щурів при розвитку адреналінового пошкодження міокарда ($M \pm m$)

Показник		Інтактні (самці – n=6) (самки – n=6)	АПМ 1 год (самці – n=6) (самки – n=6)	АПМ 24 год (самці – n=6) (самки – n=7)
$IB_{n.v}$	Самці	9,2±0,8 ₁	9,5±1,1 ₂	4,3±0,7 ₃
	Самки	14,5±1,4 ₄	28,1±2,2 ₅	11,3±3,1 ₆
IB_{AX}	Самці	8,2±1,1 ₇	8,5±1,4 ₈	8,1±0,9 ₉
	Самки	18,2±1,6 ₁₀	8,9±1,2 ₁₁	17,9±2,4 ₁₂
$TB_{AX,c}$	Самці	9,8±0,8 ₁₃	6,7±0,9 ₁₄	12,5±1,0 ₁₅
	Самки	19,7±1,9 ₁₆	8,4±1,2 ₁₇	18,6±2,2 ₁₈
Примітка. $p_{1-3} < 0,001$; $p_{1-4} < 0,01$; $p_{2-5} < 0,001$; $p_{3-6} < 0,05$; $p_{4-5} < 0,001$; $p_{7-10} < 0,01$; $p_{9-12} < 0,01$; $p_{10-11} < 0,001$; $p_{13-14} < 0,05$; $p_{13-16} < 0,001$; $p_{15-18} < 0,001$; $p_{16-17} < 0,001$.				

Показник інтенсивності брадикардії, що виникала при внутрішньовенному введенні АХ, був адинамічний у групі самців на обох етапах експерименту. У самок на 1 год АПМ спостерігали зменшення IB_{AX} в 2,0 раза та подальше зростання до величини інтактних особин на 24 год АПМ. Тривалість брадикардії у самців на 1 год АПМ зменшилася на 31,6 %, а на 24 год АПМ не відрізнялася від показника інтактних самців. У самок спостерігали аналогічну, але більш інтенсивну динаміку TB_{AX} , зокрема, на 1 год АПМ зменшення становило 2,3 раза, на 24 год експерименту – зростання до величини вихідного показника.

Порівнюючи досліджувані показники тварин різної статі, було виявлено, що інтенсивність брадикардії при електричній стимуляції блукаючого нерва

в самок була більшою, ніж у самців на всіх етапах експерименту, зокрема, в інтактних – на 57,6 %, при моделюванні АПМ на 1 год – у 2,9 раза, на 24 год експерименту – у 2,6 раза. Виявлена відмінність могла бути зумовлена наявністю більших запасів медіатора в пресинаптичному відділі та більшою чутливістю холінорецепторів постсинаптичного відділу пейсмеркерів синусового вузла. Останнє твердження частково підкріпилося результатами отриманими при порівнянні показників IB_{AX} та TB_{AX} . IB_{AX} у інтактних самок була більшою в 2,2 раза, а тривалість брадикардії – у 2,0 раза. На 1 год АПМ достовірних відмінностей за цими показниками між тваринами різної статі не було виявлено, проте на 24 год експерименту інтенсивність брадикардії при введенні АХ в самок була більшою у 2,0 раза, ніж у самців, а TB_{AX} – на 48,8 % більшою.

Для вивчення ролі ОР у формуванні холінергічних реакцій серця в умовах АПМ, експериментальним тваринам за 30 хвилин до моделювання патології серця вводили ДАЛ. Контрольним самцям і самкам вводили тільки ДАЛ.

ДАЛ збільшив $IB_{n.v}$ у самців на 53,3 % (табл. 3.4.), а в самок – на 32,4 %, що сприяло зменшенню вихідної різниці між різностатевими тваринами до 36,2 % (проти 57,6 % у інтактних тварин). На тлі активації ОР у самців показник IB_{AX} збільшився на 50,0 %, порівняно з інтактними, а в самок – на 30,2 %, що також сприяло зменшенню вихідної різниці між тваринами різної статі до 1,9 раза.

На тлі активації ОР показник TB_{AX} у самців збільшився в 2,5 раза, а в самок – у 1,7 раза. У результаті більш інтенсивної динаміки цього показника в самців, достовірна різниця між тваринами різної статі, яка була виявлена в інтактних особин, зникла.

Отримані дані показали, що активація ОР суттєвіше посилює вивільнення АХ пресинаптичними терміналями парасимпатичних нервових волокон та чутливість постсинаптичних холінорецепторів міокарда у самців, хоча за абсолютними величинами ці показники не перевищують аналогічні в

самок. Так, величина $I_{B_{n,v}}$ у самців, яким ввели ДАЛ, залишалася меншою на 26,6 %, ніж у самок в аналогічних умовах, а $I_{B_{Ax}}$ – в 1,9 раза меншою.

Таблиця 3.4.

**Показники негативних хронотропних ефектів
серця самців і самок щурів при розвитку адреналінового пошкодження
міокарда на тлі активації опіатних рецепторів даларгіном ($M \pm m$)**

Показник		Інтактні (самці – n=6) (самки – n=6)	$K_{ДАЛ}$ (самці – n=6) (самки – n=6)	АПМ _{ДАЛ} 1 год (самці – n=6) (самки – n=6)	АПМ _{ДАЛ} 24 год (самці – n=6) (самки – n=6)
$I_{B_{n,v}}$	Самці	9,2±0,8 ₁	14,1±1,5 ₂	16,1±2,4 ₃	4,9±1,2 ₄
	Самки	14,5±1,4 ₅	19,2±1,8 ₆	16,3±3,1 ₇	5,3±0,9 ₈
$I_{B_{Ax}}$	Самці	8,2±1,1 ₉	12,3±1,6 ₁₀	4,2±0,9 ₁₁	5,1±0,8 ₁₂
	Самки	18,2±1,6 ₁₃	23,7±1,9 ₁₄	18,1±2,4 ₁₅	8,6±0,9 ₁₆
$T_{B_{Ax,c}}$	Самці	9,8±0,8 ₁₇	24,6±2,4 ₁₈	44,2±5,6 ₁₉	21,5±2,8 ₂₀
	Самки	19,7±1,9 ₂₁	33,1±5,4 ₂₂	36,2±6,3 ₂₃	31,2±3,3 ₂₄
Примітка. $p_{1-2} < 0,02$; $p_{1-5} < 0,01$; $p_{1-3} < 0,02$; $p_{1-4} < 0,02$; $p_{3-4} < 0,001$; $p_{2-6} < 0,05$; $p_{5-6} < 0,05$; $p_{5-8} < 0,001$; $p_{7-8} < 0,001$; $p_{9-10} < 0,05$; $p_{9-11} < 0,02$; $p_{9-12} < 0,05$; $p_{9-13} < 0,001$; $p_{10-11} < 0,001$; $p_{10-14} < 0,001$; $p_{11-15} < 0,001$; $p_{12-16} < 0,02$; $p_{13-14} < 0,05$; $p_{13-16} < 0,001$; $p_{17-18} < 0,001$; $p_{17-21} < 0,001$; $p_{17-19} < 0,001$; $p_{17-20} < 0,001$; $p_{20-24} < 0,05$; $p_{21-22} < 0,01$; $p_{21-23} < 0,05$; $p_{21-24} < 0,02$.					

Розвиток АПМ на тлі активації ОР у самців супроводжувався збільшенням показника $I_{B_{n,v}}$, порівняно з інтактними, на 75,0 %, що спостерігали, зокрема, на 1 год АПМ_{ДАЛ}. На 24 год АПМ_{ДАЛ} реєстрували значно нижче значення $I_{B_{n,v}}$, величина якого стала меншою в 3,3 раза, порівняно з попереднім етапом експерименту, та в 1,9 раза, порівняно з інтактними тваринами, що свідчило про суттєве зменшення кількості медіатора, який викидався в синаптичну щілину при подразненні блукаючого нерва.

У самок на 1 год АПМ_{ДАЛ} величина $I_{B_{n,v}}$ не зазнала суттєвих змін і не відрізнялась від величини інтактних особин. Проте, на 24 год АПМ_{ДАЛ} спостерігали суттєве зменшення брадикардичного ефекту від подразнення блукаючого нерва, величина $I_{B_{n,v}}$ була в 2,7 раза меншою, ніж показник інтактних самок.

Реакція серця тварин на введення АХ також суттєво зменшилася на обох етапах модельованої патології. Зокрема, у самців IB_{AX} на 1 год АПМ_{ДАЛ} зменшилася в 2,9 раза проти попереднього етапу спостереження (контроль ДАЛ) і була меншою, ніж аналогічний параметр інтактних особин у 2,0 раза. Подальшої динаміки показника до 24 год АПМ_{ДАЛ} не спостерігали, хоча його абсолютне значення було в 1,6 раза меншим, ніж в інтактних особин.

У самок спостерігали зменшення величини IB_{AX} на обох етапах модельованої патології, завдяки чому на 1 год АПМ_{ДАЛ} значення IB_{AX} досягло величини показника інтактних самок, а до 24 год АПМ_{ДАЛ} було меншим за це значення в 2,1 раза.

Величина TB_{AX} у самців зазнала хвилеподібних змін. На 1 год АПМ_{ДАЛ} TB_{AX} збільшилася, порівняно з показником інтактних особин у 4,5 раза. На 24 год АПМ_{ДАЛ} відбулося зменшення абсолютного значення TB_{AX} у 2,0 раза, разом з тим, його переважання над вихідним рівнем залишалось і становило 2,2 раза.

Хоча в самок TB_{AX} не зазнала достовірних змін в динаміці розвитку некротичного процесу на тлі ДАЛ, проте абсолютні значення TB_{AX} залишалися більшими, ніж в інтактних особин, у 1,8 раза на 1 год АПМ_{ДАЛ} та в 1,6 раза на 24 год АПМ_{ДАЛ}.

Аналіз статевих відмінностей даних, які були отримані при електричному подразненні n.Vagus, не виявив достовірних відмінностей у реалізації негативного хронотропного ефекту. Проте серце самок виявилось чутливішим до внутрішньовенного введення АХ. Величина IB_{AX} самок, незважаючи на більш інтенсивні зміни цього показника при розвитку АПМ на тлі ДАЛ у самців, переважала показник останніх на 1 та 24 год відповідно в 4,3 та 1,7 раза. Завдяки більш інтенсивній динаміці TB_{AX} у самців відмінність між тваринами різної статі зменшилася. На 1 год АПМ достовірної різниці за цим показником не було, а на 24 год АПМ тривалість брадикардичного ефекту у самок переважала показник самців лише на 45,1 %.

Порівняльний аналіз абсолютних значень та динаміки змін досліджуваних показників у тварин, яким моделювали АПМ на тлі даларгіну, з тими, що попередньо не отримували препарат, показав суттєву різницю. Так у самців величина $ІБ_{n.v}$ на 1 год АПМ_{ДАЛ} не тільки зростала відносно інтактних особин, але й була на 69,5 % ($p < 0,05$) більшою (рис. 3.3), ніж у групі, де корекція не проводилася. На 24 год АПМ_{ДАЛ} динаміка та абсолютні показники $ІБ_{n.v}$ в тварин порівнюваних груп були аналогічними.

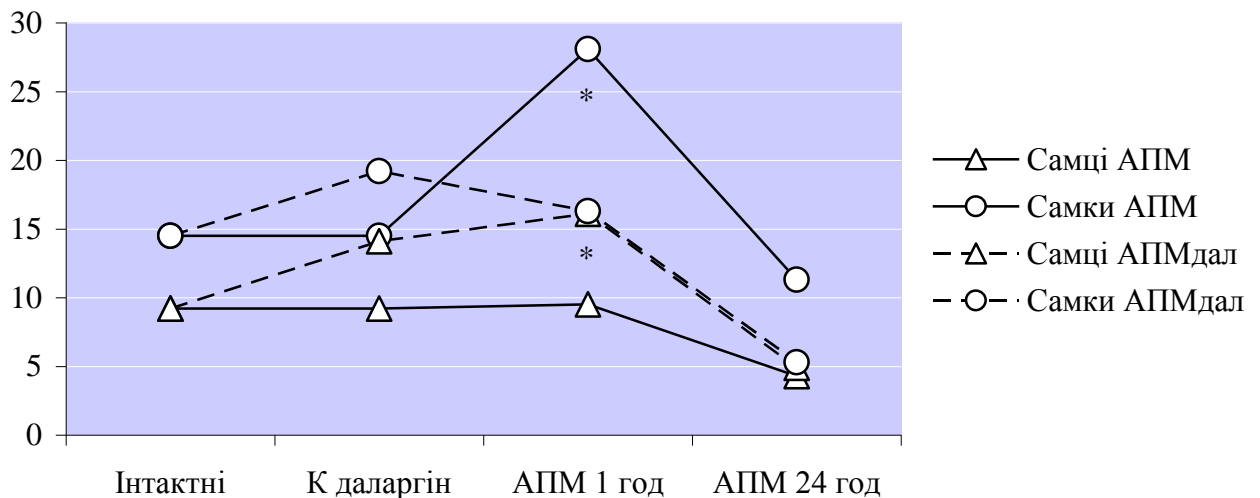


Рис. 3.3. Порівняльна динаміка показника інтенсивності брадикардії ($ІБ_{n.v}$) при електричному подразненні *n. Vagus* у самців і самок щурів при розвитку адреналінового пошкодження міокарда на тлі даларгіну та без впливу модулятора опіатних рецепторів. (Примітка. * – достовірна відмінність показників порівнюваних груп тварин.)

У самок 1 год розвитку АПМ на тлі активації ОР виникав зовсім інший пристосувальний ефект. В той час, як у некорегованих особин $ІБ_{n.v}$ різко зростала, у тварин, яким попередньо вводили ДАЛ, вона зменшувалася і абсолютне значення цього показника виявилось в 1,7 раза ($p < 0,02$) меншим, ніж порівнювана величина інтактних тварин. На 24 год експерименту за обох моделей динаміка $ІБ_{n.v}$ була аналогічною, зокрема $ІБ_{n.v}$ зменшувалася. Слід сказати, що, хоча й інтенсивність описаних змін за моделі АПМ_{ДАЛ} була

значно меншою, абсолютне значення показника виявилося в 2,1 раза меншим, ніж у некорегованих самок, що може свідчити про суттєве пригнічення ефекту виділення медіатора в синаптичну щілину за умов високої активності ОР.

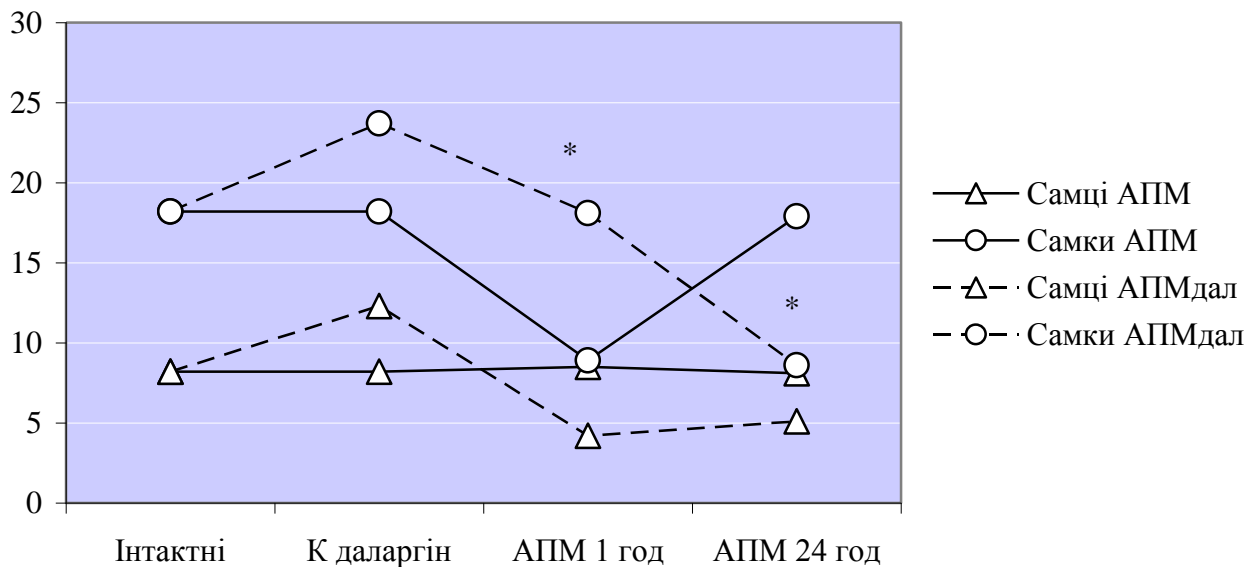


Рис. 3.4. Порівняльна динаміка показника інтенсивності брадикардії при введенні ацетилхоліну ($ІБ_{АХ}$) у самців і самок щурів при розвитку адреналінового пошкодження міокарда на тлі даларгіну та без впливу модулятора ОР. (Примітка. * – достовірна відмінність показників порівнюваних груп тварин.)

Аналогічний порівняльний аналіз реакції серця самців на внутрішньовенне введення АХ показав (рис. 3.4), що на відміну від групи тварин, яким корекція не проводилася, показник $ІБ_{АХ}$ за моделі АПМ_{дал} був динамічний, разом з тим, його абсолютне значення було меншим на 50,6 % ($p < 0,05$) та 37,0 % ($p < 0,05$) відповідно на 1 та 24 год патологічного процесу.

У самок за обох модельних ситуацій даний параметр змінювався односпрямовано на 1 год АПМ та протилежно на 24 год АПМ. Абсолютна величина $ІБ_{АХ}$ за моделі АПМ_{дал} на 1 год була в 2,0 раза ($p < 0,01$) більшою, а

на 24 год – на 52,0 % ($p < 0,01$) меншою, ніж показник порівнюваної групи самок. Така відмінність може відобразити інші механізми адаптації рецепторної системи серця самок до токсичної дії адреналіну на тлі активованих ОР.

Динаміка показника тривалості брадикардії показала (рис. 3.5), що за застосування ДАЛ розвиток некротичного процесу на 1 год АПМ викликав зростання даної величини та наступне зменшення на 24 год спостереження в тварин обох статей. Абсолютна величина ТБ була на 1 год АПМ при застосуванні ДАЛ більшою в самців у 6,6 раза ($p < 0,001$) і в самок у 4,3 раза ($p < 0,002$), ніж за відсутньої корекції. Перевага корегованих тварин за даним показником збереглася до 24 год АПМ і становила в самців 72,0 % ($p < 0,05$), у самок – 67,7 % ($p < 0,05$).

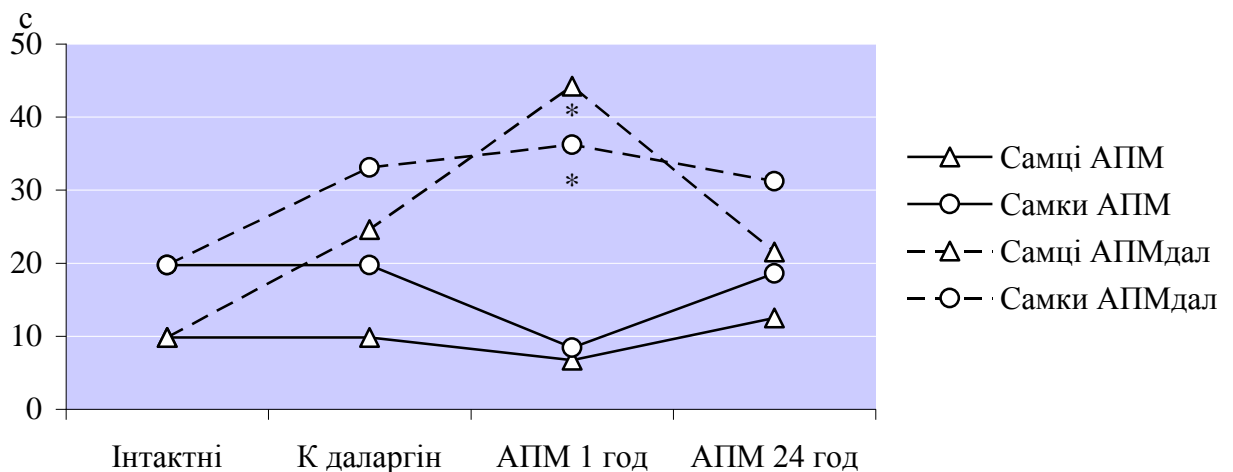


Рис. 3.5. Порівняльна динаміка показника тривалості брадикардії при введенні ацетилхоліну (TB_{AX} , с) у самців і самок щурів при розвитку адреналінового пошкодження міокарда на тлі даларгіну та без впливу модулятора ОР. (Примітка. * – достовірна відмінність показників порівнюваних груп тварин.)

В цілому можна узагальнити, що моделювання некротичного процесу на тлі активованих ОР сприяє більш активній перебудові та участі холінорецепторної системи серця самців. Разом з тим, незважаючи на

інтенсивнішу динаміку аналізованих показників у них, перевага самок за більшістю з параметрів залишається очевидною.

3.3. Метаболізм ацетилхоліну в міокарді різностатевих щурів при пошкодженні адреналіном на тлі даларгіну

Як видно з попередніх досліджень, відмінність у холінореактивності серця між самцями і самками при розвитку АПМ на тлі активації периферичних ОР, зумовлена різною чутливістю холінорецепторів постсинаптичної мембрани синоатріального вузла, різницею у кількості медіатора, що виділяється при активації блукаючого нерва. Разом з тим, для повної уяви ролі холінергічних процесів у формуванні стрес-лімітуючих реакцій за участі парасимпатичної ланки АНС в умовах активації ОР слід врахувати метаболізм АХ в кардіоміоцитах. Результати досліджень вмісту та активності ферментативного гідролізу АХ передсердь і шлуночків показали, що після введення ДАЛ вміст АХ в передсердях самців зріс на 58,8 % (табл. 3.5). Розвиток на цьому тлі АПМ супроводжувався зменшенням показника до рівня інтактних особин вже на 1 год АПМ_{ДАЛ}. Даний ефект зберігався й на 24 год експерименту. В шлуночках самців достовірних змін кількості АХ не відбулося.

Реакція міокарда передсердь самок на введення ДАЛ також проявилася зростанням вмісту АХ (в 2,5 раза). На 1 год АПМ_{ДАЛ} вміст медіатора зменшився, однак перевищував показник інтактних самок на 47,8 %. На стадії максимальних патологічних змін в серці (24 год АПМ_{ДАЛ}) рівень АХ знизився до величини інтактних самок. В шлуночках цих тварин зміни вмісту АХ були недостовірними.

При порівнянні вмісту АХ в передсердях та шлуночках у групах тварин різної статі встановили, що в інтактних тварин достовірна відмінність за цим показником була лише у шлуночках. У самок рівень АХ виявився більшим на 65,2 %. Після введення ДАЛ вміст медіатора виявився більшим також у

самок, зокрема, в передсердях – на 59,6 %, а в шлуночках – на 50,6 %. На 1 год АПМ_{ДАЛ} ця закономірність збереглася і перевага становила відповідно 47,8 та 47,0 %. Проте на 24 год АПМ_{ДАЛ} різниця між різностатевими тваринами за аналізованим показником була відсутня.

Таблиця 3.5.

Вміст ацетилхоліну та холінестеразна активність міокарда передсердь та шлуночків щурів при розвитку адреналінового пошкодження міокарда на тлі даларгіну (M±m)

Показник		Інтактні	К _{ДАЛ}	АПМ _{ДАЛ} 1 год	АПМ _{ДАЛ} 24 год
		n=6	n=6	n=6	n=6
АХ _{ПС} , мкмоль/кг	♂	55,6±2,4 ₁	88,3±6,4 ₂	52,3±5,4 ₃	47,9±4,3 ₄
	♀	56,9±3,1 ₅	140,9±9,8 ₆	77,3±6,4 ₇	54,2±4,6 ₈
АХ _{ШЛ} , мкмоль/кг	♂	13,5±1,7 ₉	17,2±1,6 ₁₀	16,4±1,9 ₁₁	15,2±2,3 ₁₂
	♀	22,3±3,1 ₁₃	25,9±3,2 ₁₄	24,1±2,6 ₁₅	17,0±1,3 ₁₆
ХЕА _{ПС} , ммоль/(кг·год)	♂	73,3±2,1 ₁₇	92,6±2,4 ₁₈	68,9±2,1 ₁₉	65,4±2,1 ₂₀
	♀	70,0±2,3 ₂₁	104,8±2,2 ₂₂	83,6±2,1 ₂₃	71,4±2,2 ₂₄
ХЕА _{ШЛ} , ммоль/(кг·год)	♂	45,1±1,5 ₂₅	36,8±1,7 ₂₆	34,7±1,8 ₂₇	33,5±1,3 ₂₈
	♀	39,8±1,4 ₂₉	31,9±1,3 ₃₀	28,6±1,4 ₃₁	24,8±1,4 ₃₂

Примітка. p₁₋₂<0,001; p₂₋₆<0,002; p₃₋₇<0,02; p₅₋₆<0,001; p₅₋₇<0,02; p₉₋₁₃<0,05; p₁₀₋₁₄<0,05; p₁₁₋₁₅<0,05; p₁₇₋₁₈<0,001; p₁₇₋₂₀<0,05; p₁₈₋₂₂<0,01; p₁₉₋₂₃<0,001; p₂₁₋₂₂<0,001; p₂₁₋₂₃<0,002; p₂₅₋₂₆<0,001; p₂₅₋₂₇<0,001; p₂₅₋₂₈<0,001; p₂₅₋₂₉<0,05; p₂₆₋₃₀<0,05; p₂₇₋₃₁<0,05; p₂₈₋₃₂<0,001; p₂₉₋₃₀<0,001; p₂₉₋₃₁<0,001; p₂₉₋₃₂<0,001.

ХЕА міокарда передсердь після введення ДАЛ достовірно збільшилася в самців і самок відповідно на 26,3 та 49,7 % (табл. 3.5). Однак в умовах розвитку патології на тлі ДАЛ цей показник зменшився і на 1 год АПМ_{ДАЛ} у самців не відрізнявся від групи інтактних тварин, а в самок – переважав аналогічний показник інтактних лише на 19,4 %. Подальше прогресування патології зумовило зменшення ХЕА передсердь, яка в групі самців на 24 год АПМ_{ДАЛ} стала меншою, ніж в інтактних самців на 10,9 %, а в самок – не відрізнялася від аналогічного показника групи інтактних тварин.

ХЕА міокарда шлуночків зменшилася після введення ДАЛ у самців на 18,4 %, у самок на 19,7 %. Ця ж закономірність збереглася при моделюванні патології. Тому на 1 год АПМ_{ДАЛ} ХЕА міокарда шлуночків була меншою,

порівняно з інтактними особинами, на 23,2 % у самців та на 28,1 % в самок, а на 24 год АПМ_{ДАЛ} – на 25,9 та 37,7 % відповідно.

Порівняльний аналіз між групами тварин різної статі виявив достовірно більшу активність ХЕА шлуночків самців, порівняно з самками, на всіх етапах експерименту. Так, у групах інтактних тварин ХЕА шлуночків у самок була меншою, ніж у самців, на 11,8 %, після введення ДАЛ – ця відмінність становила 13,1 %, на 1 год АПМ_{ДАЛ} – 17,4 %, а на 24 год АПМ_{ДАЛ} – 25,9 % .

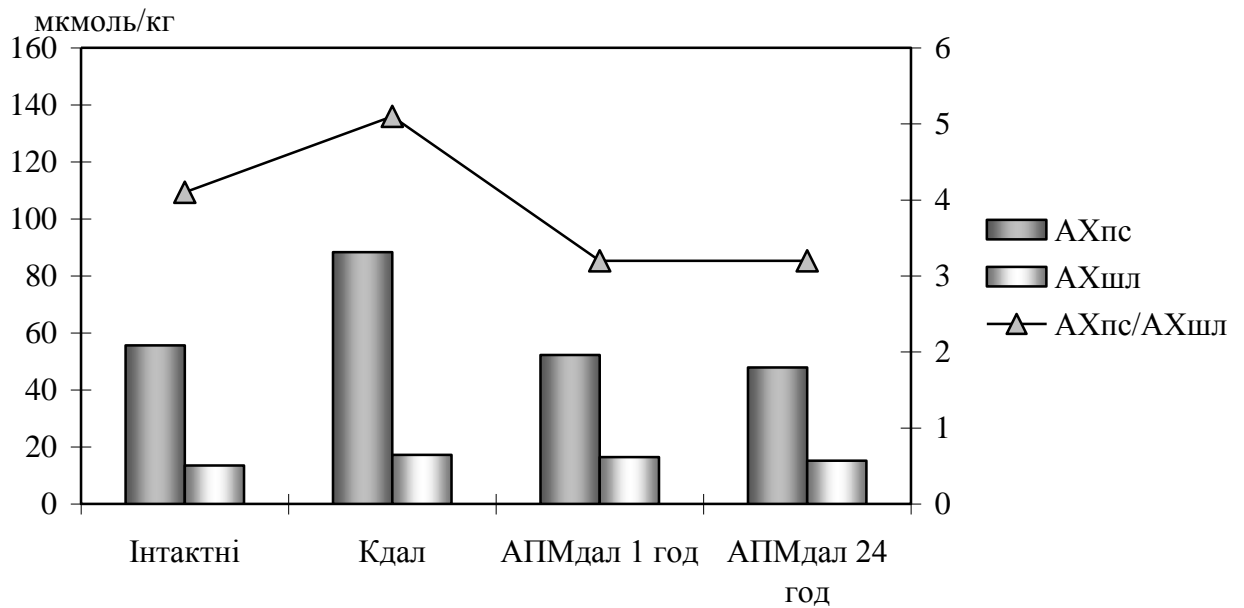


Рис. 3.5. Порівняльна динаміка вмісту ацетилхоліну в передсердях, шлуночках (ліва вісь) та їхнього співвідношення (права вісь) в самців при розвитку адреналінового пошкодження міокарда на тлі даларгіну.

Наявність більш вираженої динаміки вмісту та ферментативного гідролізу АХ в передсердях дозволяє думати, що зареєстровані зміни стосувалися більшою мірою медіаторної фракції АХ. Даний факт підтверджується аналізом співвідношення вмісту АХ в передсердях та шлуночках, яке визначалося таким чином: АХ_{пс}/АХ_{шл} (рис. 3.5; 3.6).

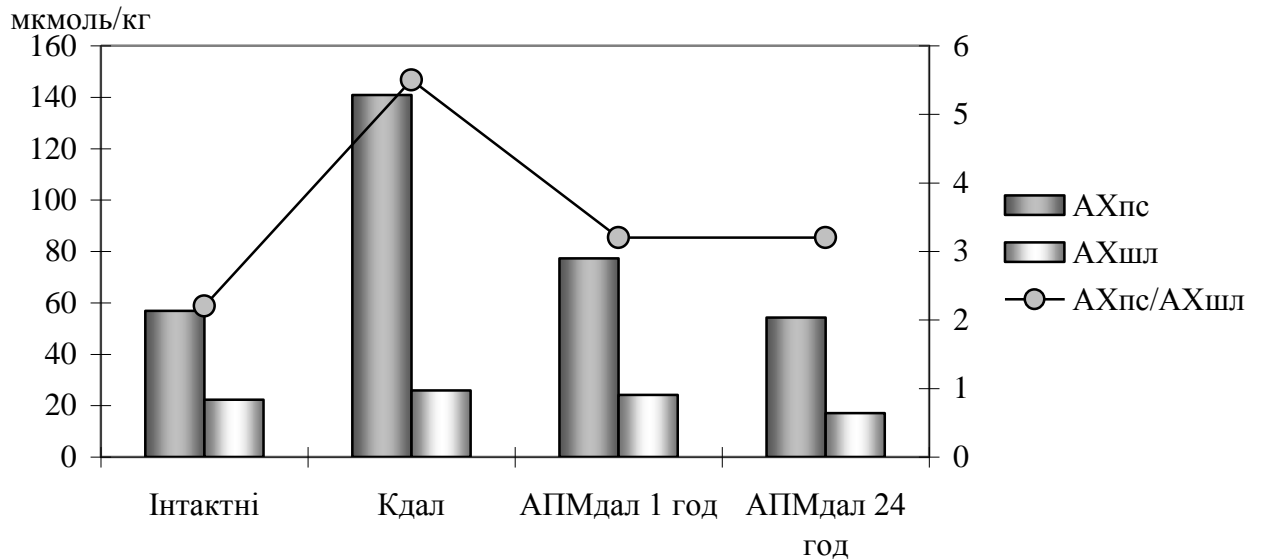


Рис. 3.6. Порівняльна динаміка вмісту ацетилхоліну в передсердях, шлуночках (ліва вісь) та їхнього співвідношення (права вісь) в самок при розвитку адреналінового пошкодження міокарда на тлі даларгіну.

Отже, між тваринами різної статі існує відмінність у метаболізмі АХ, окрім того введення піддослідним тваринам ДАЛ супроводжується змінами метаболізму медіатора різного ступеня. Розвиток некротичного процесу в серці самців на тлі активації периферичних ОР, завдяки зменшенню активності гідролізу, супроводжується збереженням достатнього рівня АХ в міокарді передсердь і шлуночків. У самок при активнішому пригніченні холінергічної активності вміст медіатора в передсердях зберігається, а в шлуночках зменшення його рівня відбувається повільніше. Завдяки цьому у самок рівень АХ в міокарді шлуночків залишається більший, ніж у самців.

На підставі аналізу результатів, які відображають особливості холінергічних процесів в серці при моделюванні некротичного процесу на тлі активації периферичних опіатних рецепторів, можна зробити наступні проміжні висновки:

а) адреналіни в кардіотоксичній дозі викликає суттєві зміни холінергічних процесів в серці, більшою мірою в самок щурів. Активатор

опіатних рецепторів даларгін посилює участь парасимпатичної ланки автономної регуляції серцевого ритму в умовах пошкодження адреналіном, особливо у самців тварин;

б) незважаючи на застосування даларгіну, роль парасимпатичного відділу автономної нервової системи у формуванні серцевого ритму у тварин самок відіграє більшу роль, ніж у самців;

в) активація опіатних рецепторів даларгіном в дозі 0,01 мг/кг викликає зростання реакції серця щурів на подразнення блукаючого нерва та введення ацетилхоліну дещо більше в самців, ніж у самок. Ваготонічний ефект даларгіну свідчить про здатність периферичних опіатних рецепторів модулювати холінореактивність міокарда щурів;

г) розвиток некротичного процесу в міокарді на тлі даларгіну характеризується зменшенням холінореактивності пейсмейкерів синусового вузла. Ступінь зменшення інтенсивності брадикардії, яка виникає у відповідь на холінергічні стимули, інтенсивніше проявляється в самок, що свідчить про залежність ефектів препарату від статі;

д) більша чутливість міокардіальних холінорецепторів до ендogenous та екзогенного АХ та більший вміст ацетилхоліну в серці самок сприяє менш інтенсивному пошкодженню міокарда;

е) розвиток некротичного процесу в серці самців на тлі даларгіну супроводжується збереженням достатнього рівня ацетилхоліну в міокарді передсердь і шлуночків завдяки зменшенню активності гідролізу. У самок при активнішому пригніченні ХЕА активності вміст медіатора в передсердях зберігається, а в шлуночках зменшення його рівня відбувається повільніше. Завдяки цьому у самок рівень АХ в міокарді шлуночків залишається більший, ніж у самців.

Результати досліджень, наведені в даному розділі, опубліковані в роботах [102, 103, 105, 107, 111, 124, 125, 130].

РОЗДІЛ 4

ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНИХ ТА МЕТАБОЛІЧНИХ ЗМІН У ПОШКОДЖЕНОМУ АДРЕНАЛІНОМ МІОКАРДІ САМЦІВ І САМОК ЩУРІВ В УМОВАХ АКТИВАЦІЇ ОПІАТНИХ РЕЦЕПТОРІВ

У ході досліджень холінергічної регуляції серця самців і самок не міг залишитися поза увагою факт зменшення кількості загиблих тварин при моделюванні адреналінового пошкодження міокарда на тлі активації опіатних рецепторів даларгіном. Ця деталь потребувала детальнішого вивчення, оскільки в доступних нам літературних джерелах це питання взагалі не висвітлено. З цією метою були проведені аналіз відсотка загиблих тварин за різних модельних умов, вивчення ступеня некротичного пошкодження та функціонування про- та антиоксидантних систем міокарда, що в даних умовах є тканиною-мішенню.

4.1. Аналіз відсотка загиблих тварин та ступеня некротичного пошкодження адреналіном міокарда самців і самок при застосуванні даларгіну

При проведенні експериментів з моделювання адреналінового пошкодження міокарда, частина тварин загинула, здебільшого в перші 5-30 хвилин з моменту введення адреналіну в кардіотоксичній дозі. У деяких особин спостерігали ознаки набряку легень, у інших – макроскопічних змін не виявляли. З усіх самців, яким моделювали АПМ, загинуло 25 % тварин (рис. 4.1). В когорті самок даний показник становив 13,3 %, що було в 1,9 раза менше, ніж у самців.

При моделюванні некротичного процесу в міокарда на тлі активації опіатних рецепторів даларгіном відсоток загиблих самців склав лише 7,4. У когорті самок в аналогічних умовах загибелі тварин не спостерігали.

Співставивши відсотки загиблих тварин за різних модельних умов, виявилось, що даний показник у самців при корекції перебігу АПМ даларгіном став меншим у 3,4 раза (рис. 4.1). Щодо самок, то ефект препарату виявився достатнім, щоб забезпечити виживання всіх тварин цієї статі.

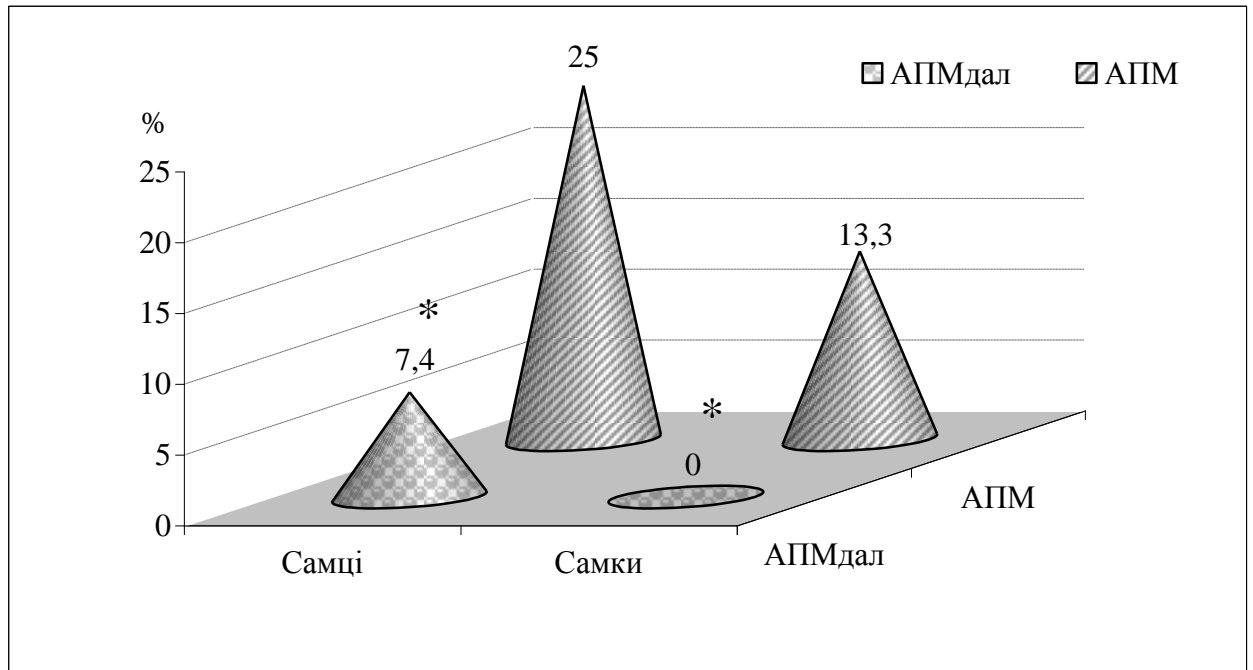


Рис. 4.1. Відсоток загиблих самців і самок при моделюванні адреналінового пошкодження міокарда в умовах активації опіатних рецепторів та без корекції. (Примітка. * – достовірна відмінність показників на тлі даларгіну та без корекції.)

Отже, попередня активація опіатних рецепторів даларгіном при моделюванні адреналінового пошкодження міокарда мала суттєвіший позитивний вплив за даним показником на самок.

Для визначення ступеня пошкодження кардіоміоцитів при моделюванні АПМ без та за застосування ДАЛ було проведено морфометричний аналіз. Дослідили гістологічні зрізи міокарда шлуночків, забарвлених за Гейденгайном. Для цього було використано 74 щурів, з них – 37 самців і 37 самок. Некротизованих кардіоміоцитів у мікропрепаратах міокарда

інтактних тварин (табл. 4.1) та контрольних, яким вводили тільки даларгін (табл. 4.2), виявлено не було.

При моделюванні некротичного процесу без застосування ДАЛ на 1 год АПМ в міокарді самців ушкодженими виявилось 16,0 % кардіоміоцитів (табл. 4.1). Через 24 год від моменту введення адреналіну кількість пошкоджених клітин становила 23,8 %, що було на 49,0 % більше у порівнянні з попереднім етапом.

Таблиця 4.1.

Відсоток некрозів у мікропрепаратах шлуночків самців і самок щурів при моделюванні адреналінового пошкодження міокарда ($M \pm m$)

Модель	Інтактні	АПМ 1 год	АПМ 24 год
	n=6	n=6	n=6
Самці	0	16,0±1,1 ₁	23,8±1,3 ₂
Самки	0	9,5±0,7 ₃	16,8±0,8 ₄
Примітка. $p_{1-2} < 0,01$; $p_{3-4} < 0,01$; $p_{1-3} < 0,05$; $p_{2-4} < 0,01$.			

У самок на 1 год АПМ кількість пошкоджених кардіоміоцитів склала 9,5 %. На 24 год АПМ дана величина становила вже 16,8 %. Збільшення показника, яке було достовірним, становило 77,2 %.

При порівнянні тварин різної статі, виявлено, що на 1 та 24 год АПМ кількість пошкоджених кардіоміоцитів у шлуночках самців була більшою, ніж у самок, на 40,6 та 29,4 % відповідно, що підтвердило попередньо встановлену при аналізі відсотка загиблих тварин закономірність інтенсивнішого пошкоджуючого впливу адреналіну на організм самців.

Вивчення стану міокарда при моделюванні АПМ на тлі активованих опіатних рецепторів виявило наступні результати. У шлуночках самців на 1 год АПМ_{ДАЛ} ушкодженими були 11,3 % кардіоміоцитів (табл. 4.2). На 24 год АПМ_{ДАЛ} даний показник становив 18,7 %. У порівнянні з попереднім етапом він збільшився на 64,7 %.

У самок на 1 год АПМ_{ДАЛ} кількість некрозів становила 6,3 % (табл. 4.2). На 24 год АПМ_{ДАЛ} показник дорівнював 11,2 %, що переважало попередню величину на 76,3 %.

Таблиця 4.2.

Відсоток некрозів у мікропрепаратах шлуночків самців і самок щурів при моделюванні адреналінового пошкодження міокарда на тлі активації опіатних рецепторів даларгіном (M±m)

Модель	Контроль _{ДАЛ}	АПМ _{ДАЛ} 1 год	АПМ _{ДАЛ} 24 год
	n=6	n=6	n=7
Самці	0	11,3±1,5 ₁	18,7±1,6 ₂
Самки	0	6,3±0,9 ₃	11,2±1,1 ₄

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

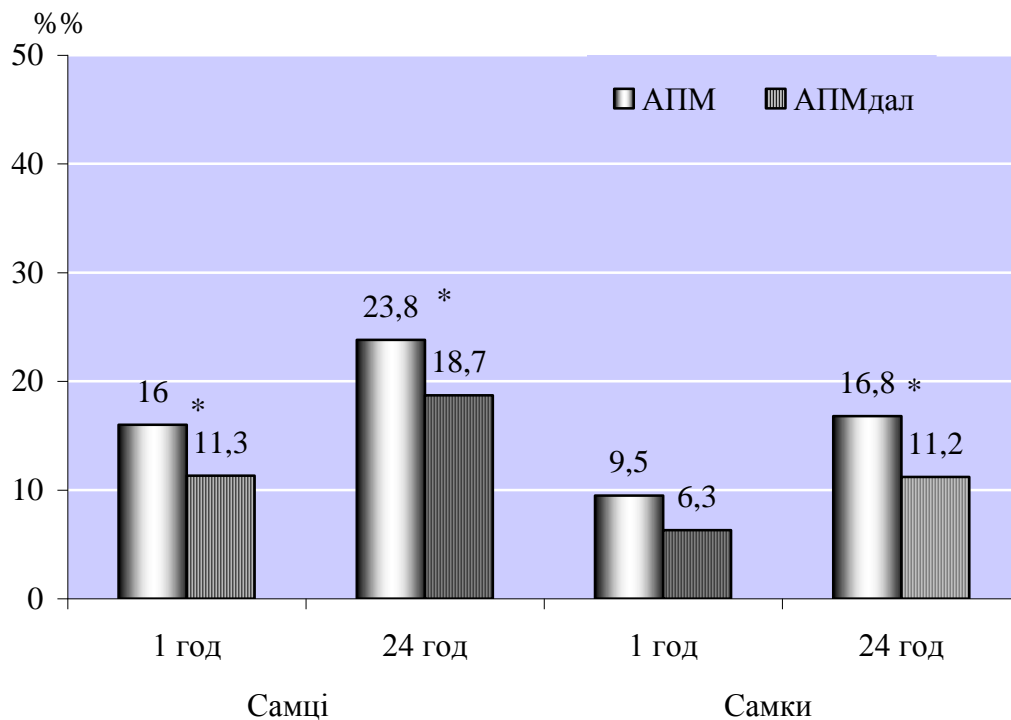


Рис. 4.2. Відсоток некротизованих кардіоміоцитів шлуночків при моделюванні адреналінового пошкодження міокарда без та за застосування даларгіну. (Примітка. * – достовірна відмінність між показниками за різних модельних умов.)

Аналіз відсотка некротизованих кардіоміоцитів в шлуночках тварин різної статі показав, що на 1 год АПМ_{ДАЛ} у самок даний показник виявився на 44,1 % меншим, ніж у самців. Через добу ця закономірність збереглася і різниця між тваринами дорівнювала 40,2 % .

Не менш інформативними виявилися результати вивчення кардіопротекторного ефекту даларгіну (рис. 4.2). В самців на 1 год АПМ завдяки попередній активації ОР кількість некротизованих кардіоміоцитів виявилася на 29,2 % меншою ($p < 0,05$), а на 24 год патології – на 21,7 % ($p < 0,05$). У самок на 1 год АПМ ступінь пошкодження міокарда адреналіном був менший при застосуванні ДАЛ на 33,3 % ($p < 0,05$), а на 24 год АПМ_{ДАЛ} – на 33,7 % ($p < 0,01$). Проведений аналіз підтвердив кардіопротекторні властивості даларгіну. Разом з тим, слід зазначити, що більш виражений захисний ефект препарату проявлявся у самок.

4.2. Активність ліпопероксидації та стан антиоксидантної системи при розвитку адреналінового пошкодження міокарда на тлі даларгіну

Співставивши вираженість протекторного впливу ДАЛ за відсотком загиблих тварин та результатами морфометрії помітно, що немає прямо пропорційної залежності між відсотком некрозів та відсотком загиблих тварин у групах, що різняться за статтю. Це, очевидно, зумовлено багатогранністю ефектів ДАЛ, зокрема таких як, антиаритмічного, антигіпоксичного, метаболічного, мембраностабілізуючого. Відомо, що провідна роль у механізмах деструкції кардіоміоцитів, викликаній адреналіном, відводиться порушенню балансу між системами про- та антиоксидантів, тобто активації так званих ліпідних механізмів. Для глибшого розуміння патогенезу адреналінового пошкодження міокарда на тлі даларгіну вважали за доцільне вивчити ці процеси, визначаючи вміст

дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду, активність супероксиддисмутази, каталази та вміст SH-груп.

Результати, наведені в таблиці 4.3, свідчать, що на 1 год АПМ в міокарді самців рівень ДК зріс на 21,9 %, МДА – на 23,5%. До 24 год відмінність від контролю за показником ДК збільшилася до 28,6 %, а за рівнем МДА – до 59,3 %.

Таблиця 4.3.

Вміст ДК та МДА в міокарді шлуночків самців і самок при розвитку адреналінового пошкодження міокарда ($M \pm m$)

Показник	Самці			Самки		
	Інтактні	АПМ 1 год	АПМ 24 год	Інтактні	АПМ 1 год	АПМ 24 год
	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=7
ДК, відн.од.	146,8±2,4 1	179,0±4,2 2	188,8±5,0 3	142,8±3,9 4	157,8±4,4 5	175,7±4,8 6
МДА, ммоль/кг	4,13±0,18 7	5,10±0,19 8	6,58±0,24 9	3,92±0,16 10	5,07±0,26 11	5,63±0,29 12
Примітка. $p_{1-2} < 0,001$; $p_{1-3} < 0,001$; $p_{4-5} < 0,05$; $p_{4-6} < 0,001$; $p_{2-5} < 0,01$; $p_{7-8} < 0,01$; $p_{7-9} < 0,001$; $p_{10-11} < 0,01$; $p_{10-12} < 0,001$; $p_{9-12} < 0,05$.						

В міокарді самок на 1 год АПМ рівень ДК збільшився на 10,5 % (табл. 4.3), МДА – на 29,3 %. Через 24 год спостереження концентрація ДК переважала вихідний показник на 23,0 %, МДА – на 43,6 %.

Дані вивчення стану АОС оцінювали за показниками активності ферментів СОД, КАТ та вмісту SH-груп.

При моделюванні АПМ у самців реакція АОС на початковому етапі розвитку патології (1 год АПМ) проявилася зростанням активності СОД на 12,3 % (табл. 4.4), каталази – на 34,8 %, а вмісту SH-груп – на 10,2 %. На 24 год АПМ активність СОД була більшою за показник інтактних особин лише на 14,5 %, активність каталази – на 40,2 %, а вміст SH-груп на даному етапі достовірно не відрізнявся від аналогічного показника інтактних самців.

Про активацію АОС в міокарді самок на 1 год розвитку АПМ свідчило зростання активності СОД на 15,9 % і каталази – на 36,5 %, вмісту SH-груп –

на 40,9 %, порівняно з відповідними показниками інтактних тварин. На 24 год АПМ активність СОД достовірно переважала показник інтактних самок лише на 8,3 %. Активність каталази була більшою за вихідне значення на 39,7 %. Концентрація SH-груп залишалася на рівні попереднього етапу досліджень та переважала рівень інтактних самок на 44,2 %.

Таблиця 4.4.

Показники активності АОС міокарда шлуночків самців і самок при розвитку адреналінового пошкодження міокарда ($M \pm m$)

Показник	Самці			Самки		
	Інтактні	АПМ 1 год	АПМ 24 год	Інтактні	АПМ 1 год	АПМ 24 год
	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=7
СОД, од.акт.	13,8±0,4 1	15,5±0,4 2	15,8±0,5 3	14,5±0,2 4	16,8±0,3 5	15,7±0,3 6
КТ, мкат/кг	64,7±2,4 7	87,2±2,1 8	90,7±2,7 9	66,8±3,7 10	91,2±3,6 11	93,3±3,4 12
SH, ммоль/кг	3,15±0,08 13	3,47±0,10 14	4,33±0,15 15	3,28±0,15 16	4,62±0,18 17	4,73±0,18 18
Примітка. $p_{1-2} < 0,01$; $p_{1-3} < 0,01$; $p_{2-5} < 0,02$; $p_{4-5} < 0,001$; $p_{4-6} < 0,01$; $p_{7-8} < 0,001$; $p_{7-9} < 0,001$; $p_{10-11} < 0,001$; $p_{10-12} < 0,001$; $p_{13-14} < 0,05$; $p_{13-15} < 0,001$; $p_{14-17} < 0,001$; $p_{16-17} < 0,001$; $p_{16-18} < 0,001$.						

При порівнянні показників інтактних самців і самок достовірної відмінності за вмістом продуктів ПОЛ та активністю АОС не виявили. Однак, при розвитку некротичного процесу проявилися достовірні відмінності між різностатевими тваринами як за вмістом метаболітів ПОЛ, так і за показниками активності системи антиоксидантів. Так, на 1 год АПМ в шлуночках самців вміст ДК був більший, ніж у самок, на 11,8 % (табл. 4.1), але на 24 год АПМ достовірної різниці за даним показником не було. За рівнем МДА тварини відрізнялися лише на 24 год АПМ, зокрема, в самців вміст метаболіту був на 14,4 % більший, ніж у самок. Ці дані в повній мірі підтверджують результати морфометрії, згідно яких у самців спостерігали суттєвіші руйнівні процеси на обох етапах модельованої патології.

Порівнюючи реакцію АОС самців і самок на етапі ініціації патологічних змін (1 год АПМ) помітно, що вона була потужнішою в самок, адже активність ключового ферменту антиоксидантного захисту кардіоміоцитів СОД у них була на 8,4 % більшою, ніж у самців (табл. 4.4). Активність каталази в обох групах тварин була однаковою. Дані про концентрацію SH-груп в міокарді порівнюваних тварин показували переважання цього показника в самок на 33,1 %. На 24 год АПМ за всіма показниками, що відображали активність АОС, самці і самки достовірно не відрізнялися.

Отримані дані засвідчили, що введення адреналіну в кадіотоксичній дозі зумовлює відчутну перебудову функціонування системи про- та антиоксидантів у тварин обох статей. Однак більш інтенсивне та прогресуюче нагромадження продуктів ліпопероксидації в міокарді шлуночків самців свідчить про більшу вразливість міокарда тварин цієї статі до патогенного впливу адреналіну. В свою чергу менша активність АОС відображає меншу здатність системи антиоксидантів до швидкого та адекватного по силі захисту міокарда за даних умов.

Для визначення ролі даларгіну в розвитку АПМ, попередньо дослідили вплив препарату на функціонування системи про- та антиоксидантів (табл. 4.5). Введення ДАЛ контрольним тваринам не викликало достовірних змін вмісту ДК і МДА в шлуночках тварин обох статей. Реакція АОС на введення ДАЛ проявилася підвищенням активності СОД на 10,1 % у самців та 8,9 % у самок, КАТ на 19,8 % у самців і на 35,2 % у самок. Вміст SH-груп збільшився в міокарді самців на 14,3 %, а в самок – на 19,5 %. Порівняння отриманих показників у статевому аспекті виявило відмінність лише за активністю КАТ. Даний фермент в серці самок був на 16,5 % активніший, ніж в самців.

Моделювання некротичного процесу в міокарда на тлі ДАЛ виявило наступні зміни (табл. 4.5). У самців на 1 год АПМ_{ДАЛ} концентрація ДК зросла на 15,1 %. Подальше прогресування патології (24 год АПМ_{ДАЛ}) характеризувалося нагромадженням цього метаболіту, вміст якого збільшився на 22,6 %. Рівень МДА у міокарді самців на 1 год АПМ_{ДАЛ}

збільшився на 20,6 %, а на момент максимальних некротичних змін у міокарді (24 год АПМ_{ДАЛ}) був більшим, ніж у інтактних особин на 22,6 %.

В міокарді самок приріст цих метаболітів був дещо меншим. Так, на 1 год АПМ_{ДАЛ} вміст ДК переважав аналогічний показник групи інтактних тварин на 7,7 %, а на 24 год АПМ_{ДАЛ} – на 17,1 %. Концентрація МДА була більшою на 17,3 % на 1 год АПМ_{ДАЛ}, а через добу після введення адреналіну в кардіотоксичній дозі (24 год АПМ_{ДАЛ}) відмінність від групи інтактних самок становила 21,2 %.

Таблиця 4.5.

Показники активності ПОЛ та АОС міокарда шлуночків самців і самок при розвитку адреналінового пошкодження міокарда на тлі даларгіну (M±m)

Показник		Інтактні	К _{ДАЛ}	АПМ 1 год	АПМ 24 год
		n=6	n=6	n=6	n=7
ДК, відн.од.	♂	146,8±2,4 ₁	140,8±1,3 ₂	168,0±2,9 ₃	180,0±2,9 ₄
	♀	142,8±3,9 ₅	137,8±2,9 ₆	153,8±2,1 ₇	167,2±4,7 ₈
МДА, ммоль/кг	♂	4,13±0,18 ₉	3,90±0,19 ₁₀	4,98±0,21 ₁₁	5,23±0,23 ₁₂
	♀	3,92±0,16 ₁₃	3,58±0,16 ₁₄	4,60±0,18 ₁₅	4,75±0,23 ₁₆
СОД, од.акт.	♂	13,8±0,3 ₁₇	15,2±0,2 ₁₈	18,3±0,5 ₁₉	20,7±0,4 ₂₀
	♀	14,5±0,2 ₂₁	15,8±0,3 ₂₂	20,9±0,3 ₂₃	29,9±0,6 ₂₄
КТ мкат/кг	♂	64,7±2,4 ₂₅	77,5±3,2 ₂₆	82,8±3,9 ₂₇	77,3±2,1 ₂₈
	♀	66,8±3,7 ₂₉	90,3±2,3 ₃₀	92,2±2,6 ₃₁	86,2±2,4 ₃₂
SH, ммоль/кг	♂	3,15±0,08 ₃₃	3,60±0,10 ₃₄	4,90±0,13 ₃₅	5,10±0,18 ₃₆
	♀	3,28±0,15 ₃₇	3,92±0,16 ₃₈	5,82±0,19 ₃₉	5,90±0,21 ₄₀
Примітка. p ₁₋₃ <0,001; p ₁₋₄ <0,001; p ₃₋₇ <0,01; p ₄₋₈ <0,05; p ₅₋₇ <0,05; p ₅₋₈ <0,01; p ₉₋₁₁ <0,02; p ₉₋₁₂ <0,01; p ₁₃₋₁₅ <0,02; p ₁₃₋₁₆ <0,02; p ₁₇₋₁₈ <0,002; p ₁₇₋₁₉ <0,001; p ₁₇₋₂₀ <0,001; p ₁₉₋₂₃ <0,001; p ₂₀₋₂₄ <0,001; p ₂₁₋₂₂ <0,02; p ₂₁₋₂₃ <0,001; p ₂₁₋₂₄ <0,001; p ₂₅₋₂₆ <0,01; p ₂₅₋₂₇ <0,01; p ₂₅₋₂₈ <0,01; p ₂₆₋₃₀ <0,01; p ₂₈₋₃₂ <0,02; p ₂₉₋₃₀ <0,001; p ₂₉₋₃₁ <0,001; p ₂₉₋₃₂ <0,002; p ₃₃₋₃₄ <0,01; p ₃₃₋₃₅ <0,001; p ₃₃₋₃₆ <0,001; p ₃₅₋₃₉ <0,01; p ₃₆₋₄₀ <0,02; p ₃₇₋₃₈ <0,02; p ₃₇₋₃₉ <0,001; p ₃₇₋₄₀ <0,001.					

Порівняння тварин різної статі показало, що за моделі АПМ_{ДАЛ} вміст метаболітів, що відображають активність мембраноруйнівних процесів в міокарді, був більший у самців, ніж у самок. Зокрема, на 1 год АПМ_{ДАЛ} різниця за вмістом ДК становила 8,4 %, а на 24 год експерименту – 7,1 %. За

рівнем МДА, як кінцевого продукту пероксидного окиснення ліпідів, достовірної відмінності між тваринами різної статі на обох етапах експерименту не спостерігали, проте активність приросту, як бачимо з наведених відсотків, була більшою в самок на 1 та 24 год експерименту.

Моделювання АПМ на тлі ДАЛ спричинило наступні зміни активності системи антиоксидантів (табл. 4.5). У щурів-самців на 1 та 24 год АПМ_{ДАЛ} активність СОД була більшою, ніж аналогічний показник інтактних тварин, на 32,6 і 50,0 % відповідно. Активність КАТ на 1 год АПМ_{ДАЛ} зросла на 28,0 % порівняно з групою інтактних самців, а через добу цей показник дещо зменшився і був лише на 19,5 % більшим, ніж показник інтактних тварин. Вміст SH-груп на 1 та 24 год АПМ_{ДАЛ} переважав показник інтактних особин на 55,6 і 61,9 % відповідно.

У самок реакція АОС була ще потужнішою. Так, на на 1 год АПМ_{ДАЛ} активність СОД переважала показник інтактних особин на 44,1%, на 24 год АПМ_{ДАЛ} – в 2,1 раза. Активність КАТ збільшилася на 1 год АПМ_{ДАЛ} на 38,0 %, а через добу (24 год АПМ_{ДАЛ}) переважала показник інтактних самок на 29,0 %. Досить потужну захисну реакцію кардіоміоцитів від негативного впливу адреналіну продемонструвала неферментативна ланка АОС за участі SH-груп цистеїну, що виступає в якості донатора атомів водню, таким чином приймаючи участь в пероксидазній реакції. Вміст SH-груп у самок на 1 та 24 год АПМ_{ДАЛ} переважав аналогічний показник інтактних самок на 77,4 та 79,9 % відповідно. Достатньо висока концентрація SH-груп свідчила про наявність резервних можливостей АОС, спрямованих на захист організму від вільних радикалів.

Порівнюючи показники активності АОС між групами тварин різної статі, отримали дані про достовірну перевагу самок на момент початкових некротичних змін (1 год АПМ_{ДАЛ}) за показником активності СОД. Активність даного ензиму в них була на 14,2 % більшою. На 24 год АПМ_{ДАЛ} ця відмінність між самцями і самками становила 44,4 % на користь самок. Активність КАТ у самців і самок достовірно не відрізнялася на 1 год

АПМ_{ДАЛ}, а на 24 год – переважала у самок на 11,5 %. Вміст SH-груп був більшим на обох етапах експерименту в самок і відрізнявся від аналогічного показника самців на 1 та 24 год АПМ_{ДАЛ} відповідно на 18,8 та 15,7 %.

Щоб скласти уяву про механізми та ступінь кардіопротекторного впливу ДАЛ при моделюванні АПМ у самців і самок щурів, порівняли показники активності процесу ліпопероксидації та стану АОС без впливу модулятора активності ОР та за застосування ДАЛ (рисунки 4.3 - 4.7).

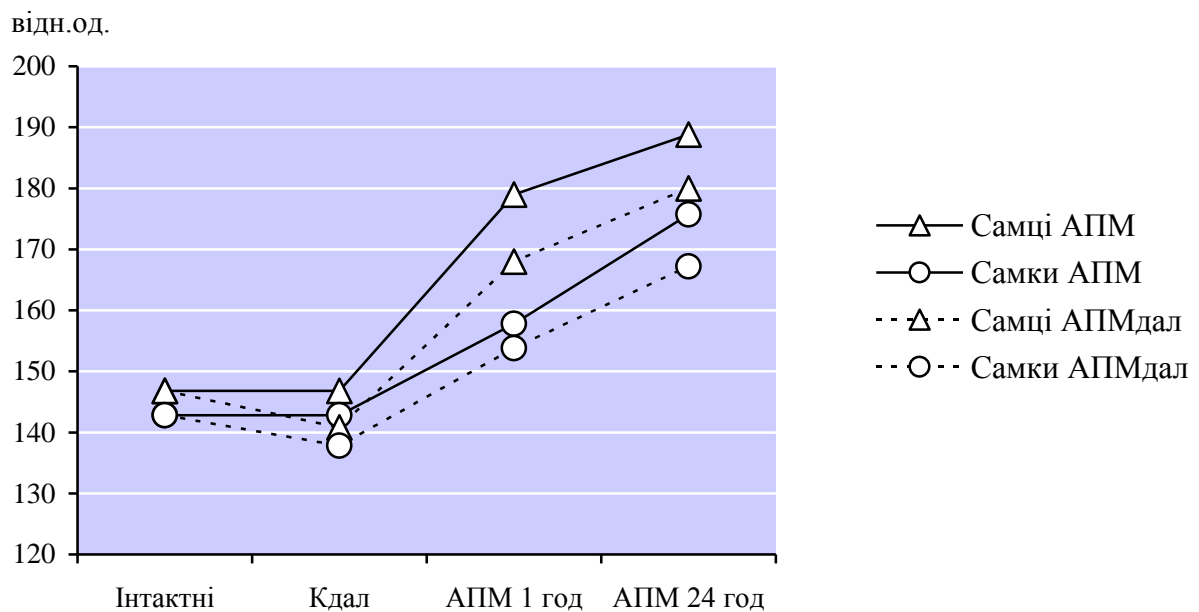


Рис. 4.3. Динаміка вмісту дієнових кон'югатів в міокарді шлуночків самців і самок при розвитку адреналінового пошкодження міокарда без та при застосуванні даларгіну.

Співставлення результатів біохімічного дослідження міокарда за вмістом ДК показало, що ДАЛ суттєво не вплинув на динаміку вмісту цього метаболіту при моделюванні АПМ (рис. 4.3) на жодному з етапів експерименту.

Щодо МДА (рис. 4.4), то його вміст в міокарді шлуночків самців і самок на 1 год АПМ_{ДАЛ} достовірно не відрізнявся від аналогічного показника за моделі АПМ. Але попереднє введення ДАЛ суттєво стримало нагромадження цього метаболіту на 24 год АПМ_{ДАЛ}. Порівняно з показниками тварин, у яких

даний препарат не використовувався, вміст МДА в серці самців був менший на 20,5 % ($p < 0,01$), а в самок – на 15,6 % ($p < 0,05$).

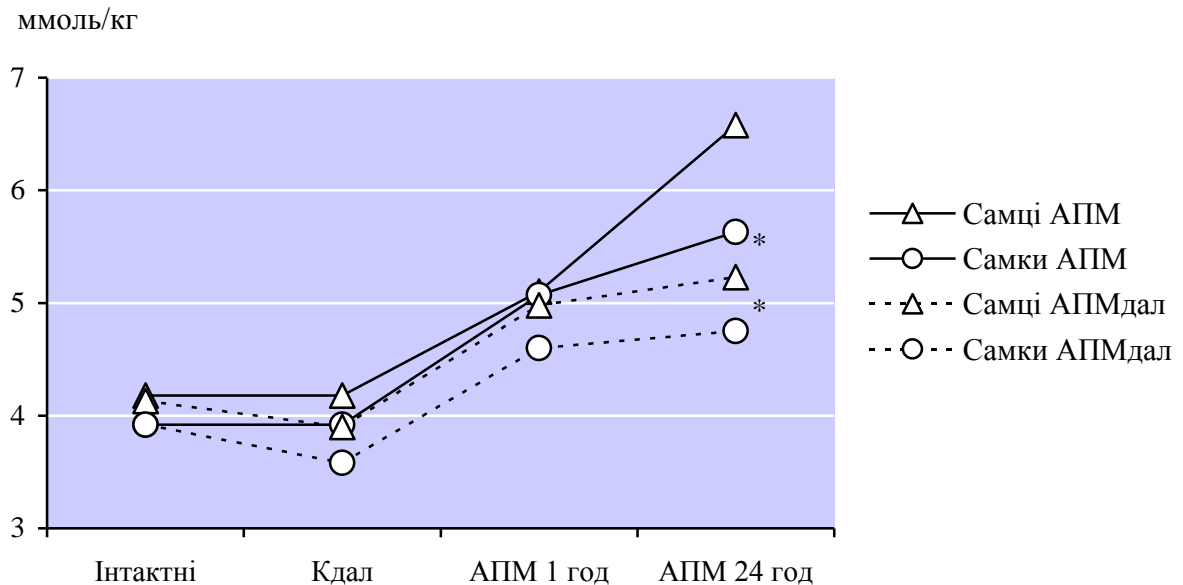


Рис. 4.4. Динаміка вмісту малонового діальдегіду в міокарді шлуночків самців і самок при розвитку адреналінового пошкодження міокарда без та при застосуванні даларгіну. (Примітка. * – достовірна відмінність між показниками порівнюваних груп.)

Аналогічний аналіз впливу ДАЛ на функціонування системи антиоксидантів в умовах модельованої патології показав, що препарат сприяв суттєвому зростанню активності СОД, особливо у самок (рис. 4.5). Тому за моделі АПМ_{ДАЛ} активність ферменту була у них на 24,4 % ($p < 0,001$) більшою на 1 год патології та в 1,9 раза ($p < 0,001$) – на 24 год експерименту, порівняно з показниками самок, яким препарат не вводили.

У самців при застосуванні ДАЛ активність СОД на 1 год модельованої патології була більшою, ніж аналогічний показник порівнюваної групи (АПМ без корекції) на 18,1 % ($p < 0,002$), а на 24 год АПМ за застосування ДАЛ – на 31,0 % ($p < 0,001$), ніж відповідний показник у самців з некорегованою патологією.

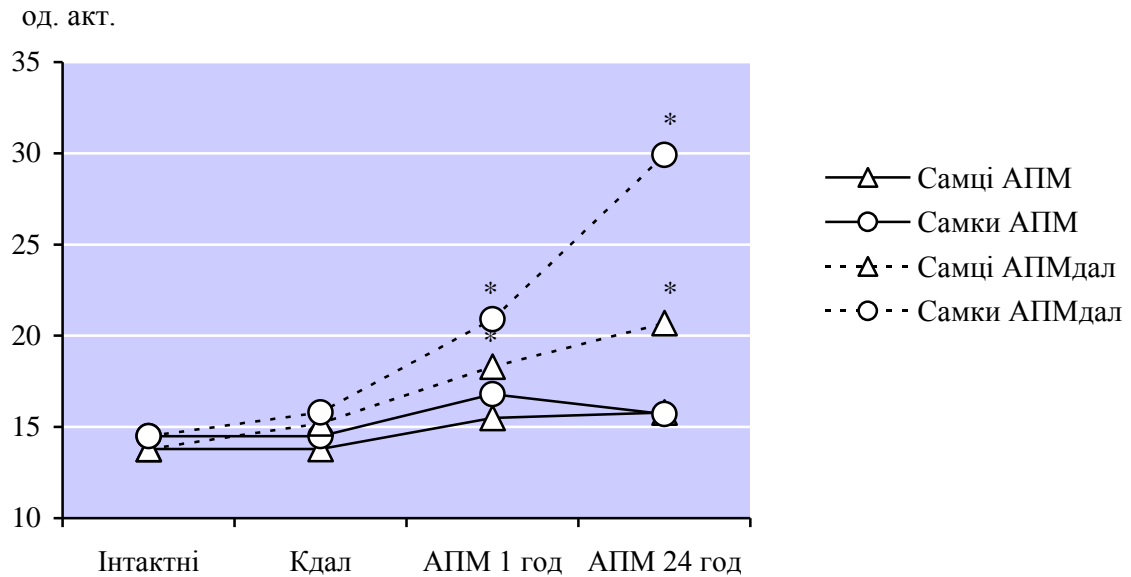


Рис. 4.5. Динаміка активності супероксиддисмутази в міокарді шлуночків самців і самок при розвитку адреналінового пошкодження міокарда без та при застосуванні даларгіну. (Примітка. * – достовірна відмінність між показниками порівнюваних груп.)

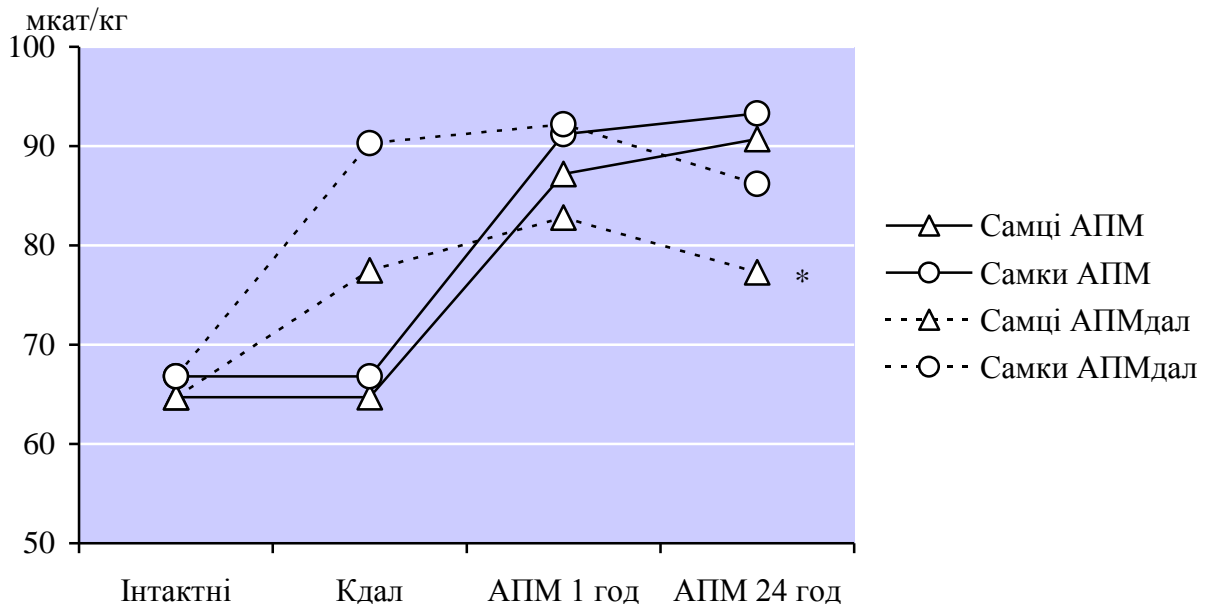


Рис. 4.6. Динаміка активності каталази в міокарді шлуночків самців і самок при розвитку адреналінового пошкодження міокарда без та при застосуванні даларгіну. (Примітка. * – достовірна відмінність між показниками порівнюваних груп.)

Активність КАТ (рис. 4.6) у самців на 1 год АПМ_{ДАЛ} достовірно не відрізнялася від аналогічного показника некорегованої групи тварин, але через 24 год з моменту введення адреналіну в кардіотоксичній дозі активність КАТ при застосуванні ДАЛ була на 14,8 % ($p < 0,01$) меншою, ніж відповідний показник, який реєстрували при моделюванні АПМ без корекції.

В порівнюваних групах самок достовірної відмінності за показником активності КАТ в міокарді на обох етапах експерименту не виявили.

Як видно з графіків динаміки вмісту SH-груп в міокарді шлуночків (рис. 4.7), даларгін позитивно вплинув на неферментативну ланку АОС серця на обох етапах експерименту. Про це свідчив той факт, що у самців на 1 год АПМ_{ДАЛ} цей показник був на 41,2 % ($p < 0,001$) більший, а через 24 год – на 17,8 % ($p < 0,01$) за показники порівнюваних груп (розвиток АПМ без корекції).

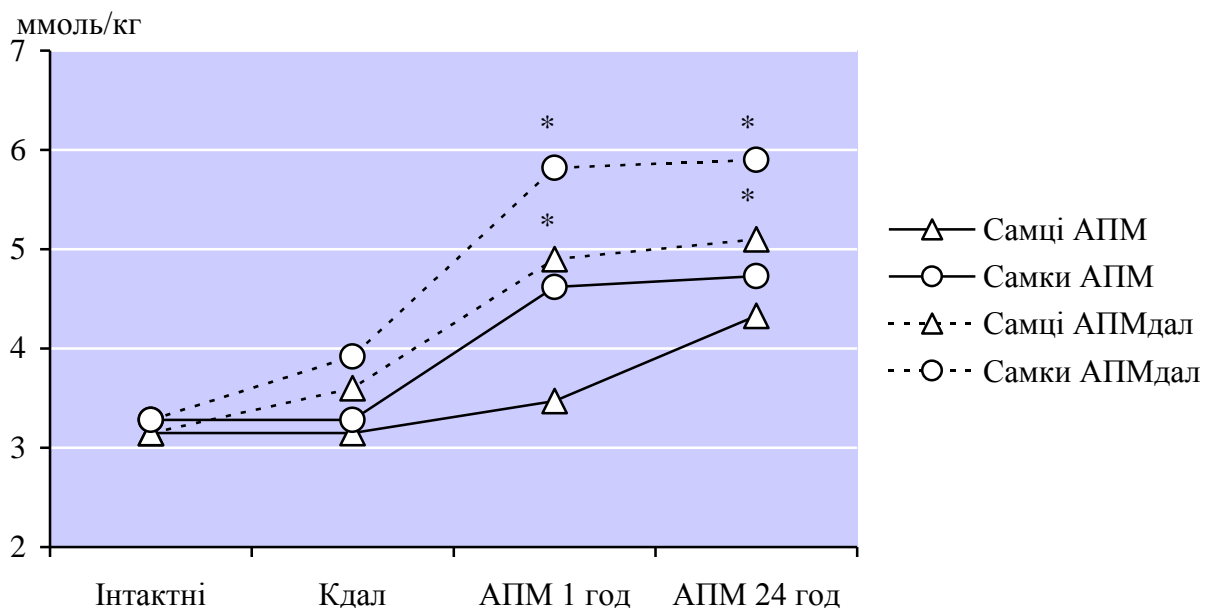


Рис. 4.7. Порівняння між некорегованим перебігом АПМ та в умовах корекції даларгіном за показником вмісту SH-груп в міокарді шлуночків самців і самок щурів. (Примітка. * – достовірна відмінність показників без корекції та на тлі даларгіну.)

У самок вміст SH-груп в міокарді шлуночків при розвитку АПМ на тлі ДАЛ був більший, ніж при розвитку АПМ без застосування препарату, на

обох етапах експерименту. Так, на 1 год АПМ_{ДАЛ} даний показник перевищував аналогічний при АПМ без корекції на 26,0 % ($p < 0,002$), на 24 год патології різниця була майже такою ж – 24,7 % ($p < 0,002$). Даний аналіз показав здатність даларгіну сповільнювати нагромадження продуктів ПОЛ завдяки підвищенню активності ферментативної ланки АОС та збільшенню ролі неферментативної ланки при реалізації кардіотоксичного ефекту адреналіну, особливо в самок.

Отримані результати показують, що реалізація кардіотоксичного ефекту адреналіну на тлі активації опіатних рецепторів даларгіном характеризується накопиченням токсичних продуктів ПОЛ як у самців, так і в самок щурів. Хоча й у запропонованій дозі ДАЛ не проявляв абсолютного кардіопротекторного впливу на міокард експериментальних тварин, ступінь накопичення продуктів ліпопероксидації був менш вираженим, ніж у групах тварин, де ДАЛ не використовувався. Крім того була встановлена закономірність, яка показувала, що більш інтенсивно відбувалося накопичення ДК та МДА в міокарді шлуночків самців. Це може свідчити, що ДАЛ у запропонованій дозі виявляє більш виражений кардіопротекторний ефект у самок щурів, що підтверджувалося результатами морфометрії.

Одним із механізмів стримування надмірної активації ліпопероксидації у особин жіночої статі була потужніша, ніж у самців, активація СОД та КАТ. Наростаюче збільшення активності СОД на обох етапах експерименту показує наявність захисних резервів системи антиоксидантів міокарда тварин обох статей. Аналіз активності КАТ, який показує позитивну динаміку лише на 1 год АПМ, дозволяє зробити висновок про достатню ефективність СОД для нейтралізації продуктів ПОЛ, які накопичувалися в даних умовах. Суттєвий приріст активності СОД саме на цьому етапі АПМ можна пояснити необхідністю нейтралізації не лише продуктів ліпопероксидації. Відомо, що при окисненні адреналіну в адренохром утворюється семихінон адреналіну. Він може переносити електрон на кисень, сприяти утворенню супероксидрадикалу та додатково активувати ПОЛ. Враховуючи той факт,

що приріст активності як СОД, так і КАТ був інтенсивніший у самок щурів, можна думати про створення даларгіном кращого фону для захисту міокарда від токсичного впливу адреналіну саме у тварин цієї статі. Окрім того, в самок спостерігався стабільно підвищений вміст SH-груп в міокарді шлуночків при розвитку АПМ на тлі ДАЛ на обох етапах експерименту, що може свідчити про здатність препарату підвищувати стабільність та збільшувати резервні можливості функціонування АОС в умовах патології.

У даному розділі представлені результати дослідження впливу попередньої активації опіатних рецепторів міокарда на перебіг некротичного процесу. В якості критеріїв інтенсивності токсичного впливу адреналіну було взято відсоток загиблих тварин, відсоток некротизованих кардіоміоцитів та особливості метаболічних процесів у серці, зокрема ліпопероксидації та стан антиоксидантної системи. За результатами проведених досліджень можна зробити наступні висновки:

а) загибель самців, наявність некротизованих кардіоміоцитів, накопичення продуктів ПОЛ та активація АОС в міокарді шлуночків тварин обох статей в умовах введення кардіотоксичної дози адреналіну на тлі даларгіну (0,01 мг/кг) свідчить про реалізацію негативного ефекту катехоламіну;

б) застосування активатора опіатних рецепторів даларгіну показало протекторні властивості препарату, що проявлялися меншим відсотком загиблих самців та відсутністю загибелі самок при введенні адреналіну в кардіотоксичній дозі, меншим відсотком некрозів у міокарді шлуночків, а також менш інтенсивним нагромадженням продуктів ліпопероксидації та значною активацією системи антиоксидантів;

в) ступінь кардіопротекторного впливу даларгіну більш виражений у самок, що свідчить про залежність ефектів препарату від статі.

Результати досліджень, наведені в даному розділі, опубліковані в роботах [103, 106, 112, 121].

РОЗДІЛ 5

ОСОБЛИВОСТІ ХОЛІНЕРГІЧНИХ ПРОЦЕСІВ У ПОШКОДЖЕНОМУ АДРЕНАЛІНОМ СЕРЦІ САМЦІВ І САМОК ЩУРІВ В УМОВАХ БЛОКАДИ ОПІАТНИХ РЕЦЕПТОРІВ

У попередніх експериментах було досліджено вплив активації периферичних ОР на особливості холінергічних процесів у серці тварин різної статі при моделюванні АПМ. Проте, для повного розуміння ролі системи опіатів у формуванні холінергічних реакцій серця при розвитку у ньому некротичного процесу, доцільним видаються дослідження впливу блокади ОР. На відміну від лігандів ОР, у яких ідентифіковано природні аналоги, такі як лей-енкефалін, мет-енкефалін та ін., у блокаторів цієї групи рецепторів не виявлено природних аналогів в організмі людини та тварин. У більшості наукових досліджень розглядаються ефекти налоксону, як блокатора ОР, який здатний нейтралізувати дію ліганда ОР. При цьому також помітними є й кардіотропні ефекти препарату. Але наукових даних, які б відображали особливості холінергічної регуляції серця при некротичному його пошкодженні за вказаних умов, немає. Саме вирішенню цього завдання було присвячено наші подальші дослідження.

5.1. Математичний аналіз серцевого ритму при моделюванні адреналінового пошкодження серця щурів різної статі на тлі налоксону

Вплив конкурентного антагоніста ОР налоксону на функціонування холінергічної ланки АНС при моделюванні АПМ вивчали за допомогою математичного аналізу серцевого ритму, як одного з основних методів вивчення варіабельності серцевого ритму. Аналіз стану автономного контролю за діяльністю серця та оцінку функціонування холінергічної ланки АНС на тлі блокади ОР, а отже, взаємозв'язок цих двох систем, кожна з яких має здатність обмежувати негативні стресорні впливи на організм,

використовували показники ЧСС, Мо, АМо, ΔХ та інтегрального показника ІН.

Щоб дати оцінку ролі НАЛ в розвитку адреналінового пошкодження міокарда, був проведений порівняльний аналіз даних, які висвітлені в розділі 3.1 (моделювання АПМ у статевозрілих самців і самок щурів без зовнішнього впливу на активність ОР) з тими, що були отримані при моделюванні некротичного процесу в серці на тлі блокування ОР налоксоном. Результати дослідження впливу НАЛ на модельовану патологію представлені в таблиці 5.1.

Таблиця 5.1.

**Показники математичного аналізу серцевого ритму самців і самок
при розвитку адреналінового пошкодження міокарда
на тлі налоксона ($M \pm m$)**

Показник		Інтактні	$K_{\text{НАЛ}}$	$\text{АПМ}_{\text{НАЛ}}$ 1 год	$\text{АПМ}_{\text{НАЛ}}$ 24 год
		n=6	n=6	n=6	n=6
ЧСС, хв^{-1}	♂	469±7 ₁	479±8 ₂	481±8 ₃	468±7 ₄
	♀	446±6 ₅	457±7 ₆	454±7 ₇	458±8 ₈
Мо, с	♂	0,116±0,002 ₉	0,112±0,003 ₁₀	0,111±0,003 ₁₁	0,114±0,004 ₁₂
	♀	0,126±0,003 ₁₃	0,118±0,002 ₁₄	0,117±0,003 ₁₅	0,119±0,003 ₁₆
АМо, %	♂	22,9±1,1 ₁₇	23,4±1,3 ₁₈	23,8±1,2 ₁₉	19,6±1,1 ₂₀
	♀	18,1±1,0 ₂₁	21,6±1,2 ₂₂	20,8±1,4 ₂₃	17,8±1,3 ₂₄
ΔХ, с	♂	0,0165± 0,0004 ₂₅	0,0152± 0,0004 ₂₆	0,0147± 0,0007 ₂₇	0,0156± 0,0008 ₂₈
	♀	0,0193±	0,0187±	0,0182±	0,0171±

		0,0006 ²⁹	0,0005 ³⁰	0,0009 ³¹	0,0012 ³²
ІН	♂	5982±412 ³³	6873±429 ³⁴	7293±453 ³⁵	5511±406 ³⁶
	♀	3692±328 ³⁷	4894±421 ³⁸	4884±395 ³⁹	4374±387 ⁴⁰
Примітка. $p_{3-7}<0,05$; $p_{19-20}<0,05$; $p_{21-22}<0,05$; $p_{25-26}<0,05$; $p_{25-27}<0,05$; $p_{25-29}<0,001$; $p_{26-30}<0,02$; $p_{33-35}<0,02$; $p_{33-37}<0,01$; $p_{34-38}<0,01$; $p_{37-38}<0,05$; $p_{37-39}<0,05$; $p_{35-39}<0,01$; $p_{36-40}<0,05$.					

Спочатку слід проаналізувати динаміку досліджуваних показників при ізольованому введенні налоксону контрольним тваринам різної статі, оскільки в подальшому, при моделюванні патології АПМ на тлі НАЛ потрібно диференціювати зміни, спричинені препаратом від змін, зумовлених власне розвитком некротичного процесу.

Введення НАЛ контрольним самцям достовірно не вплинуло на ЧСС (табл. 5.1), не зазнали змін і величини Мо та АМо. Проте виявилася достовірною зміна показника варіаційного розмаху ΔX , яка зменшилася на 7,9 %. Інтегральний показник ІН у самців зазнавав збільшення, проте зміни були недостовірними.

При оцінюванні динаміки показників математичного аналізу серцевого ритму на введення блокатора ОР налоксону в самок, не спостерігали достовірних змін ЧСС та Мо. Показник АМо зазнав збільшення на 19,3 %, величина варіаційного розмаху кардіоінтервалів (ΔX) достовірно не змінилася. Відповідно до описаних змін, інтегральний показник ІН достовірно збільшився на 32,5 %, порівняно з аналогічним показником інтактних самок. Це свідчило як про обмеження ролі вагуса в регуляції серцевого ритму, так і про посилення адренергічних впливів на серцевий ритм.

Порівнюючи вищевказані показники самців і самок, отримані після введення НАЛ, не виявили достовірної відмінності за більшістю з них (ЧСС, Мо та АМо). Разом з тим результати аналізу динаміки показників у

статевому аспекті за інтенсивністю та спрямованістю змін привертають увагу. Як видно з наведених даних, організм самок реагує головним чином змінами показників, які відображають посилення адренергічного контролю діяльності серця з боку АНС (збільшення АМо). У самців на введення препарату виникають зміни, які демонструють послаблення холінергічних впливів АНС (зменшення ΔX). Незважаючи на те, що ΔX у самок групи $K_{\text{НАЛ}}$ переважала аналогічну у самців на 23,0 % (у інтактних вона становила лише 17,0 %), відмінність за інтегральним показником ІН зменшилася з 62,0 до 40,4 %, що свідчить про збільшення напруження регуляторних механізмів саме в особин жіночої статі.

Розвиток АПМ на тлі блокади ОР налоксоном у самців викликав достовірні зміни різних показників кардіоінтервалометрії залежно від періоду спостереження. Так, на 1 год АПМ_{НАЛ} величина ΔX зменшилася, порівняно з аналогічною в інтактних особин, на 12,2 %, а ІН збільшився на 21,9 %. На 24 год АПМ_{НАЛ} спостерігали достовірно, порівняно з попереднім етапом дослідження, зменшення величини АМо на 21,4 % та зменшення ІН на 32,2 %. Обидва показники на даному етапі досліду не відрізнялися від величин інтактних самців.

Щодо показника ІН, то в самців він реагував вираженою динамікою на 1 год АПМ (на 21,9 % більший, ніж у інтактних тварин), але через велику похибку ця зміна виявилася недостовірною. Це свідчить про значну індивідуальну варіативність впливу центрального контура регуляції серцевого ритму в самців за модельованих умов. На 24 год АПМ_{НАЛ} ІН не відрізнявся від показника інтактних самців.

У самок при розвитку АПМ на тлі блокування ОР налоксоном достовірних змін показників ЧСС, Мо, АМо та ΔX не виявили. Проте, слід зазначити, що спостерігалася чітка тенденція до зменшення величини ΔX , що сприяло достовірному на 7,2 % збільшенню показника ІН. Відсутність достовірних змін показника можна пояснити значною індивідуальною варіабельністю ΔX в групі обстежуваних тварин.

Співставлення показників математичного аналізу серцевого ритму в групах тварин різної статі за моделі АПМ_{НАЛ} показало, що у самок ЧСС на 1 год АПМ на тлі НАЛ була меншою на 5,7 %, ніж у самців, а на 24 год модельованої патології ця різниця нівелювалася. За показниками Мо та АМо достовірної відмінності на обох етапах експерименту не спостерігалось. Величина ΔX на етапі початкових некротичних змін на тлі НАЛ була більшою в самок на 23,8 %, а через добу не було достовірної відмінності за даним показником між тваринами різної статі. Інтегральний показник ІН у самців на 1 год АПМ_{НАЛ} був більший, ніж у самок, на 49,3 %, а на 24 год АПМ_{НАЛ} ця відмінність була меншою і становила 26,0 %.

Моделювання АПМ на тлі блокатора ОР налоксону показало деякі відмінності за показниками математичного аналізу серцевого ритму в перебігу цієї патології, порівняно з відповідними показниками в групах тварин, яким моделювали таку ж патологію, але без корегуючих впливів (розділ 3.1). Виявилось, що при розвитку АПМ на тлі налоксону ЧСС у самців на 1 год з моменту введення адреналіну в кардіотоксичній дозі була такою ж, як і без корекції, а на 24 год модельованої патології стала меншою на 4,7 % ($p < 0,05$), ніж без корекції.

Показники Мо та АМо (рис. 5.1) у самців достовірно не відрізнялися на обох етапах експерименту при попередньому введенні блокатора ОР налоксону від аналогічних показників без цього впливу. Показник ΔX на 1 год АПМ_{НАЛ} був тотожний з відповідним показником без впливу налоксону, проте на 24 год модельованої патології був меншим, ніж без корекції на 19,2 % ($p < 0,01$) (рис. 5.2). За показником ІН у самців, яким моделювали АПМ без корекції та на тлі налоксону на обох етапах експерименту достовірної різниці не було.

У самок співставлення аналогічних показників ЧСС та Мо не виявило статистично значимої відмінності на 1 та 24 год модельованої патології при попередньому введенні НАЛ та без корекції. Значення АМо (рис. 5.1) на 1 год АПМ_{НАЛ} у них було більшим на 23,8 % ($p < 0,05$), ніж відповідний

показник без впливу блокатора ОР, а на 24 год патології ці показники не відрізнялися. Величина ΔX у самок на 1 год АПМ_{НАЛ} була на 38,9 % більшою ($p < 0,001$), ніж без блокади ОР (рис. 5.2), а на етапі виражених некротичних змін була меншою, ніж відповідний показник без впливу на ОР, на 21,2 % ($p < 0,01$). Інтегральний показник ІН на 1 та 24 год модельованої патології на тлі НАЛ у самок достовірно не відрізнявся від аналогічного показника в тварин з некорегованою патологією.

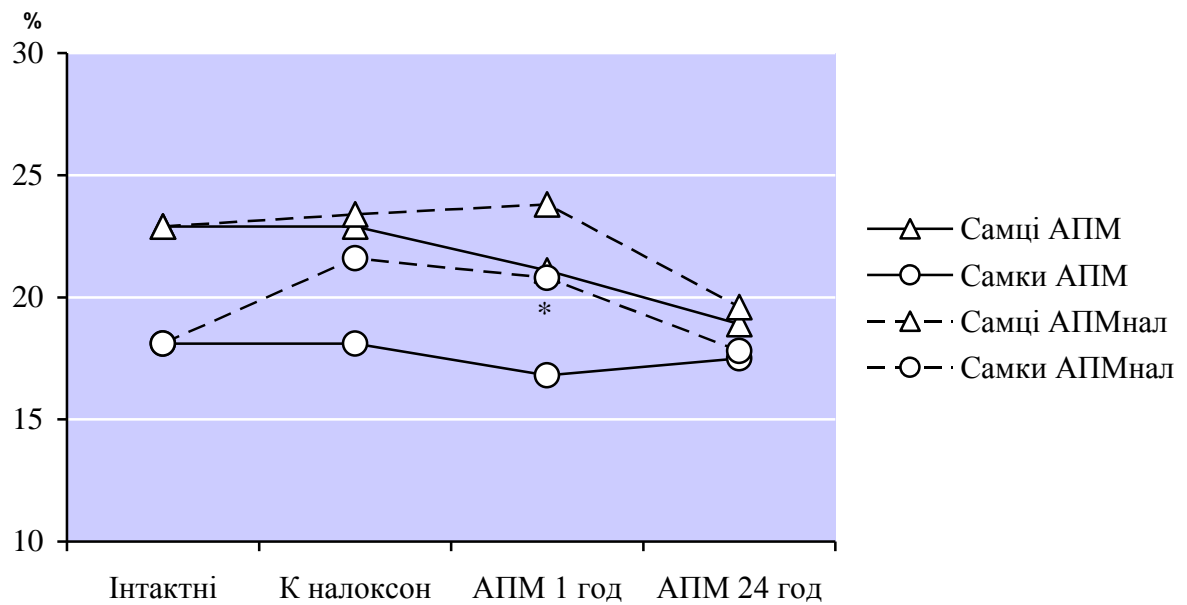


Рис. 5.1. Динаміка величини АМо у самців і самок при адреналіновому пошкодженні міокарда без корекції та за застосування налоксону. (Примітка. * – достовірна відмінність показників порівнюваних груп.)

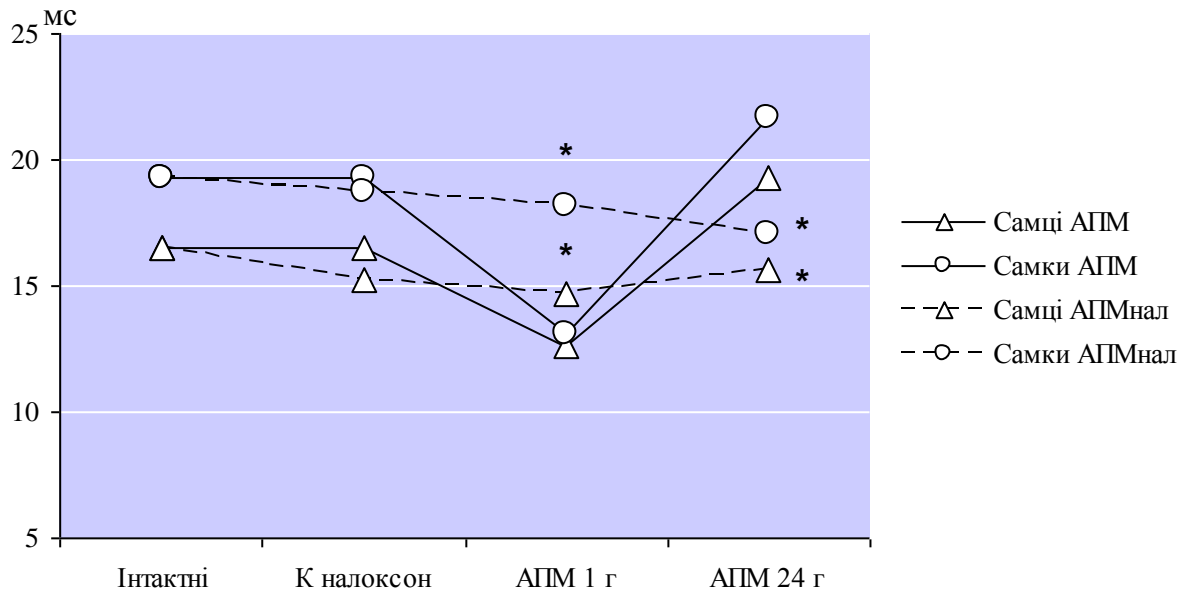


Рис. 5.2. Динаміка величини варіаційного розмаху кардіоінтервалів (ΔX) у самців і самок при адреналіновому пошкодженні міокарда без корекції та за застосування налоксону (Примітка. * – достовірна відмінність показників порівнюваних груп.)

Ці дослідження показали, що попереднє введення налоксону при моделюванні АПМ зумовлює суттєвіші відмінності показників активності АНС у самок. А саме, початок реалізації кардіотоксичного впливу адреналіну на тлі НАЛ відбувався в умовах потужнішого адренергічного впливу з боку АНС, на що вказувало збільшення величини АМо, з одночасним активнішим (очевидно контррегуляторним) впливом вагуса, про що свідчило більше значення ΔX . У самців при застосуванні НАЛ перевага виявилася лише за показником ΔX . Отже, НАЛ моделює перебіг некротичного процесу в серці самок шляхом збільшення ролі обох ланок автономної нервової системи в регуляції діяльності серця, а в самців – лише парасимпатичної, на етапі початкових змін у міокарді.

На застосування НАЛ при моделюванні АПМ суттєвіші відмінності показників активності АНС у порівнюваних групах зафіксували у самок. А саме, початок реалізації кардіотоксичного впливу адреналіну на тлі НАЛ відбувався в умовах потужнішого адренергічного впливу з боку АНС, про що свідчило збільшення величини АМо, з одночасним активнішим (очевидно

контррегуляторним) впливом вагуса, про що свідчило більше значення ΔX . У самців при застосуванні НАЛ перевага виявилася лише за показником ΔX . Враховуючи, що НАЛ, хоча й меншою мірою, ніж ДАЛ, виявив кардіопротекторний ефект, встановлені відмінності в регуляції серця з боку АНС слід вважати доцільними.

5.2. Чутливість серця тварин різної статі до ендogenous та екзогенного ацетилхоліну в експериментальному дослідженні адреналінового пошкодження міокарда на тлі налоксону

Отримані результати, які висвітлюють особливості функціонування АНС у тварин різної статі в умовах гіперкатехоламіемії на тлі пригнічення активності ОР за показниками варіаційної кардіоінтервалометрії можуть ґрунтуватися на різній реактивності міокардіальних холінорецепторів синусового вузла самців і самок. Щоб глибше вивчити патогенетичні механізми цих змін провели дослідження чутливості серця до ендogenous та екзогенного АХ. Ці методики, що традиційно використовуються для отримання інформації про запаси нейронального АХ в холінергічних терміналях та чутливість постсинаптичних холінорецепторів, у даному випадку необхідні також для виявлення потенційних можливостей функціонування парасимпатичної ланки АНС у міокарді самців і самок. Окрім того, за результатами таких досліджень орієнтовно можна судити про холінестеразну активність міокарда. Враховували показники: $ІБ_{n.v}$ – при електричному подразненні n.Vagus; $ІБ_{АХ}$ та $ТБ_{АХ}$ – при внутрішньовенному введенні АХ.

В одному з попередніх розділів (розділ 3.2) вже проводилося вивчення реакцій серця на ендо- та екзогенний АХ при АПМ в самців і самок щурів. Для вивчення ролі блокаторів ОР у формуванні холінергічних реакцій серця в природних умовах контрольним групам самців і самок вводили тільки НАЛ. Іншим групам експериментальних тварин НАЛ вводили за 30 хвилин

до моделювання АПМ. Результати цих експериментальних досліджень занесені до таблиці 5.2.

НАЛ зменшив $IB_{n,v}$ у самців у 2,2 рази (табл. 5.2), а в самок – у 3 рази, що нівелювало відмінність за даним показником між різностатевими тваринами. На тлі блокованих ОР у самців показник IB_{AX} зменшився в 2 рази, порівняно з групою інтактних тварин, а в самок – у 5,3 рази, що призвело до відсутності статистично-значимої різниці між самцями та самками за даним показником. На тлі блокади ОР показник TB_{AX} у самців зменшився в 2,9 рази, а в самок – у 6 разів. В результаті більш інтенсивної динаміки цього показника у самок, достовірна різниця між тваринами різної статі, яка була виявлена у інтактних особин, зникла.

Отримані дані показали, що введення блокатора ОР налоксону пригнічувало негативні хронотропні реакції серця контрольних самців і самок щурів при електричному подразненні блукаючого нерва та при довенному введенні АХ з більш вираженим ефектом у самок, що зумовило нівелювання статевої диференціації цих реакцій.

Моделювання АПМ на тлі НАЛ зумовило певні зміни в реакціях серця самців і самок на електричну стимуляцію п. Vagus. Розвиток АПМ на тлі блокади ОР у самців супроводжувався зменшенням $IB_{n,v}$ у 2 рази на 1 год $АПМ_{НАЛ}$ порівняно з аналогічним показником групи інтактних тварин. На 24 год $АПМ_{НАЛ}$ спостерігали тенденцію до збільшення цього показника, але він не досягнув вихідного рівня і, порівняно з інтактними тваринами, був меншим на 39,1 %, що свідчило про суттєве зменшення чутливості постсинаптичних холінорецепторів до ендogenous АХ.

Таблиця 5.2.

Показники негативних хронотропних ефектів серця самців і самок щурів при розвитку адреналінового пошкодження міокарда за умов блокади опіатних рецепторів налоксоном ($M \pm m$)

Показник	Інтактні	$K_{НАЛ}$	$АПМ_{НАЛ}$	$АПМ_{НАЛ}$
----------	----------	-----------	-------------	-------------

				1 год	24 год
		n=6	n=6	n=6	n=6
ІБ _{n.v}	Самці	9,2±0,8 ₁	4,2±0,7 ₂	4,7±0,8 ₃	5,6±0,7 ₄
	Самки	14,5±1,4 ₅	4,8±0,8 ₆	4,5±0,7 ₇	6,1±1,2 ₈
ІБ _{АХ}	Самці	8,2±1,1 ₉	4,0±0,9 ₁₀	5,3±0,8 ₁₁	4,2±0,9 ₁₂
	Самки	18,2±1,6 ₁₃	3,4±1,2 ₁₄	2,3±0,9 ₁₅	5,2±0,7 ₁₆
ТБ _{АХ, с}	Самці	9,8±0,8 ₁₇	3,4±0,8 ₁₈	6,8±0,9 ₁₉	7,3±1,2 ₂₀
	Самки	19,7±1,9 ₂₁	3,2±0,8 ₂₂	2,3±1,1 ₂₃	13,6±1,3 ₂₄
Примітка. p ₁₋₂ <0,001; p ₁₋₃ <0,002; p ₁₋₄ <0,01; p ₁₋₅ <0,01; p ₅₋₆ <0,001; p ₅₋₇ <0,001; p ₅₋₈ <0,001; p ₉₋₁₀ <0,02; p ₉₋₁₁ <0,02; p ₉₋₁₂ <0,01; p ₉₋₁₃ <0,01; p ₁₁₋₁₅ <0,05; p ₁₃₋₁₄ <0,001; p ₁₃₋₁₅ <0,001; p ₁₃₋₁₆ <0,001; p ₁₇₋₁₈ <0,001; p ₁₇₋₁₉ <0,02; p ₁₇₋₂₁ <0,001; p ₁₈₋₁₉ <0,02; p ₁₉₋₂₃ <0,01; p ₂₀₋₂₄ <0,01; p ₂₁₋₂₂ <0,001; p ₂₁₋₂₃ <0,001; p ₂₁₋₂₄ <0,05; p ₂₃₋₂₄ <0,001.					

У самок на 1 год АПМ_{НАЛ} величина ІБ_{n.v} була меншою у 3,2 раза, а через добу – у 2,4 раза, ніж відповідна величина інтактних особин. Між тваринами різної статі на обох етапах експерименту достовірної відмінності за даним показником не було.

Реакція серця тварин на екзогенний АХ також суттєво зменшилася на обох етапах модельованої патології на тлі блокатора ОР налоксону. Зокрема, у самців ІБ_{АХ} на 1 год АПМ_{ДАЛ} була меншою на 35,4 % порівняно з інтактними тваринами, а на етапі виражених некротичних змін – у 4,2 раза меншою, ніж аналогічний показник інтактних особин.

У самок спостерігали зменшення величини ІБ_{АХ} на 1 год АПМ_{НАЛ} у 7,9 раза порівняно з інтактними тваринами. Подальший розвиток патології характеризувався деяким зростанням ІБ_{АХ} відносно попереднього етапу дослідження (1 год АПМ_{НАЛ}), проте вихідного значення цей показник не досягнув, а був меншим у 3,5 раза, ніж у інтактних самок.

Порівняння тварин різної статі показало, що на 1 год АПМ_{НАЛ} у самок ІБ_{АХ} була меншою у 2,3 раза, ніж у самців. Через добу після введення адреналіну в кардіотоксичній дозі на тлі НАЛ між самцями та самками достовірної відмінності не було.

Тривалість брадикардії при введенні АХ у самців на 1 год $АПМ_{НАЛ}$ збільшилася щодо показника контрольних тварин ($K_{НАЛ}$) у 2 рази і була меншою, ніж у інтактних, на 30,6 %. Ця тенденція зберігалася і через добу після введення адреналіну, що зумовило відновлення показника на 24 год $АПМ_{НАЛ}$ майже до вихідного рівня.

В самок $ТБ_{АХ}$ з розвитком патології на тлі НАЛ на 1 год АПМ була меншою, ніж у інтактних тварин у 8,6 рази, проте вже через добу цей показник підвищився в 5,9 рази, порівняно з попереднім етапом досліджень (1 год $АПМ_{НАЛ}$) і був лише на 31,0 % меншим, ніж у інтактних тварин, чим продемонстрував значну мобільність реакцій та здатність до швидкого відновлення.

Аналіз показника тривалості брадикардії при введенні АХ в статевому аспекті виявив значні відмінності між самцями та самками. Так на 1 год $АПМ_{НАЛ}$ $ТБ_{АХ}$ в самок була достовірно меншою в 2,9 рази, а через добу співвідношення цього показника між тваринами різної статі становило 1,9 і було майже таким, як у інтактних тварин.

Порівняльний аналіз абсолютних значень та динаміки змін досліджуваних показників у тварин, яким моделювали АПМ на тлі налоксону, з тими, що попередньо не отримували препарат, показав деякі особливості при дослідженні чутливості серця до ендogenous АХ (рис. 5.3).

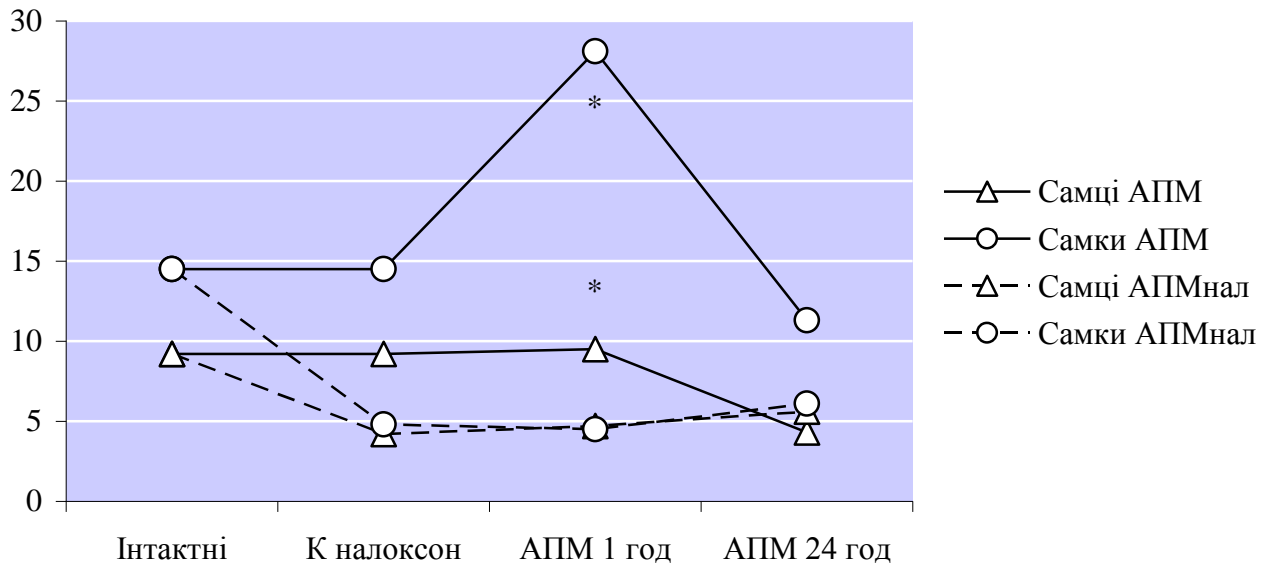


Рис. 5.3. Порівняльна динаміка показника інтенсивності брадикардії ($IB_{n.v}$) при електричному подразненні п. Vagus у самців і самок щурів при розвитку адреналінового пошкодження міокарда на тлі налоксону та без впливу модулятора ОР. (Примітка.* – достовірна відмінність показників порівнюваних груп тварин.)

У самців величина $IB_{n.v}$ на 1 год АПМ_{НАЛ} не тільки зменшувалася відносно інтактних особин, але й була на 50,5 % ($p < 0,01$) меншою, ніж у групі, де корекція не проводилася. На 24 год АПМ_{НАЛ} показники $IB_{n.v}$ в порівнюваних групах тварин були ідентичними.

Дуже схожою виявилася динаміка та абсолютні величини досліджуваного показника на тлі НАЛ в самок, проте, порівняно з некорегованою патологією, спостерігали дещо іншу реакцію. Так, на 1 год розвитку АПМ на тлі блокади ОР тоді, як у некорегованих особин $IB_{n.v}$ різко зростала, у тварин, яким попередньо вводили НАЛ, вона різко зменшилася, тобто відбувалися протилежно-спрямовані реакції. Співставлення показало переважання $IB_{n.v}$ у некорегованих самок у 6,2 раза ($p < 0,001$), ніж відповідний показник у групі самок, яким попередньо вводили НАЛ. На

24 год експерименту за обох моделей динаміка $IB_{n,v}$ була спрямованою на відновлення показника до рівня інтактних тварин.

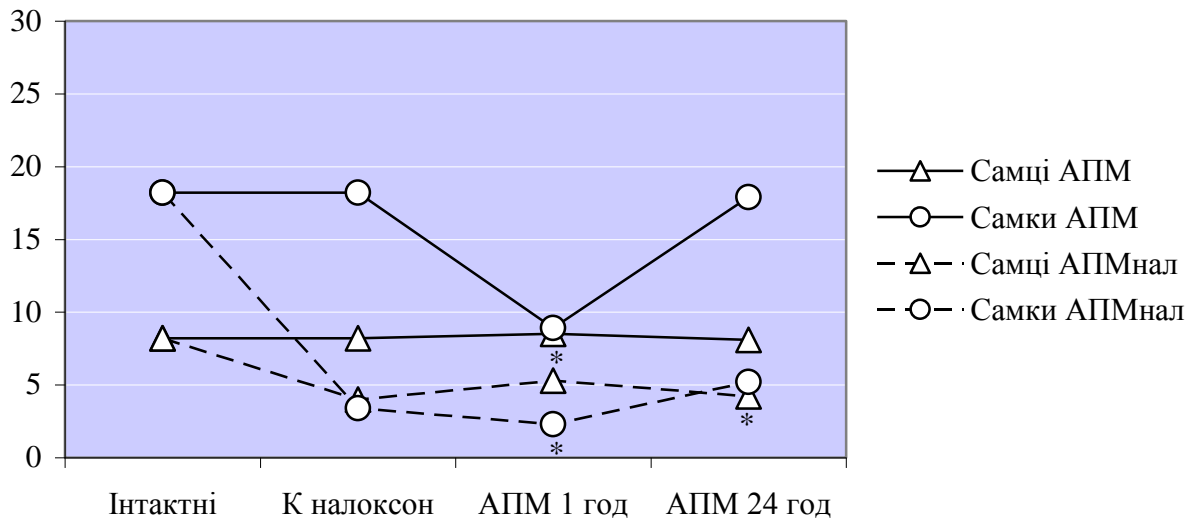


Рис. 5.4. Порівняльна динаміка показника інтенсивності брадикардії при введенні ацетилхоліну (IB_{AX}) у самців і самок щурів при розвитку адреналінового пошкодження міокарда на тлі налоксону та без впливу модулятора ОР. (Примітка.* – достовірна відмінність показників порівнюваних груп тварин.)

Аналогічний порівняльний аналіз реакції серця самців на внутрішньовенне введення АХ показав, що подібно до груп тварин, яким корекція не проводилася, показник IB_{AX} за моделі АПМ_{НАЛ} був малодинамічний (рис. 5.4), однак утримувався на нижчому рівні за абсолютними величинами. Відмінність від некорегованої патології на 1 год АПМ_{НАЛ} була недостовірною, а на 24 год за моделі АПМ_{НАЛ} величина IB_{AX} була меншою на 48,1 % ($p < 0,02$), ніж без корекції.

У самок за обох модельних ситуацій даний показник змінювався односпрямовано на обох етапах експерименту. Проте, абсолютна величина IB_{AX} за моделі АПМ_{НАЛ} на 1 год була в 3,9 раза ($p < 0,01$), а на 24 год – у 3,4 раза ($p < 0,001$) меншою, ніж відповідні показники порівнюваних груп самок. Така різниця в реакціях тварин різної статі може відображати

відмінність у механізмах адаптації рецепторної системи серця самців і самок до токсичної дії адреналіну в умовах блокади ОР.

Динаміка показника тривалості брадикардії показала (рис. 5.5), що за застосування НАЛ розвиток АПМ на 1 год АПМ в самців викликав зростання даної величини відносно контрольної групи тварин, яким вводили тільки блокатор ОР, та утримування на цьому рівні до 24 год спостереження.

Абсолютна величина ТБ була на 1 год АПМ при застосуванні НАЛ в групі самців такою ж як без корекції, а на 24 год АПМ_{НАЛ} була меншою на 41,6 % ($p < 0,01$), ніж аналогічний показник групи тварин цієї статі, яким не вводили НАЛ.

У самок показник ТБ при внутрішньовенному введенні АХ в умовах моделювання АПМ на тлі НАЛ проявив більш виражену динаміку на початковому етапі модельованої патології.

Так, на 1 год АПМ_{НАЛ} у них спостерігалось зменшення ТБ_{АХ} відносно групи інтактних тварин і досліджуваний показник став меншим у 3,7 раза ($p < 0,01$), ніж без корекції, незважаючи на те, що ТБ_{АХ} в групі самок, яким не проводилась корекція також знижувалася на даному етапі досліджень.

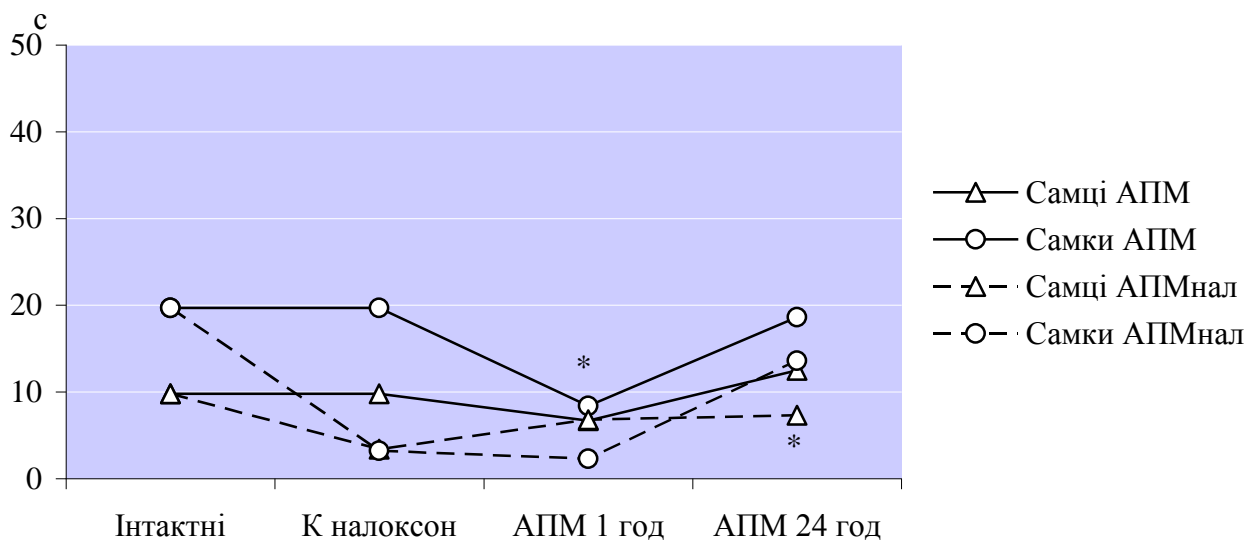


Рис. 5.5. Порівняльна динаміка показника тривалості брадикардії при введенні ацетилхоліну (ТБ_{АХ}, с) у самців і самок щурів при розвитку адреналінового пошкодження міокарда на тлі налоксону та без впливу налоксону.

модулятора ОР. (Примітка.* – достовірна відмінність показників порівнюваних груп тварин.)

Подальший розвиток патології супроводжувався зростанням TB_{AX} в обох порівнюваних групах самок. Проте, при корекції НАЛ динаміка цього показника була більш інтенсивною, що зблизило абсолютні величини ТБ на 24 год експерименту, достовірної відмінності вже не спостерігалось.

В цілому можна узагальнити, що введення блокатора ОР налоксону зумовлює ослаблення негативних хронотропних реакцій серця самців і самок з нівелюванням відмінностей у виразності цих реакцій, порівняно з інтактними тваринами різної статі. Ця тенденція пригнічення чутливості серця до ендо- та екзогенного АХ спостерігалася і при розвитку модельованого АПМ на тлі НАЛ, проте, поява відмінностей між самцями та самками за досліджуваними показниками на початковому етапі токсичної дії адреналіну вказує на відмінність у формуванні реакції адаптації у тварин залежно від статі.

5.3. Метаболізм ацетилхоліну в міокарді різностатевих щурів при його пошкодженні адреналіном за застосування налоксону

В попередніх досліджень було виявлено відмінність у холінореактивності серця між самцями і самками при розвитку АПМ на тлі блокади ОР. Для з'ясування патогенетичних механізмів формування стрес-лімітуючих реакцій за участі парасимпатичної ланки АНС в умовах блокади ОР необхідно дослідити метаболізм АХ в кардіоміоцитах. Результати досліджень вмісту та активності ферментативного гідролізу АХ передсердь і шлуночків у тварин різної статі при моделюванні АПМ на тлі блокатора ОР налоксону представлені в таблиці 5.3.

Таблиця 5.3.

Вміст ацетилхоліну та холінестеразна активність міокарда передсердь та шлуночків щурів при розвитку адреналінового пошкодження міокарда на тлі налоксону ($M \pm m$)

Показник		Інтактні	$K_{\text{НАЛ}}$	$\text{АПМ}_{\text{НАЛ}}$ 1 год	$\text{АПМ}_{\text{НАЛ}}$ 24 год
		n=6	n=6	n=6	n=6
$\text{АХ}_{\text{ПС}}$, мкмоль/кг	♂	55,6±2,4 ₁	77,3±5,8 ₂	20,3±1,7 ₃	20,1±1,5 ₄
	♀	56,9±3,1 ₅	112,8±7,2 ₆	80,6±6,3 ₇	29,4±2,6 ₈
$\text{АХ}_{\text{ШЛ}}$, мкмоль/кг	♂	13,5±1,7 ₉	12,4±1,2 ₁₀	4,1±1,5 ₁₁	4,1±1,9 ₁₂
	♀	22,3±3,1 ₁₃	25,8±2,3 ₁₄	5,2±1,6 ₁₅	4,4±1,8 ₁₆
$\text{ХЕА}_{\text{ПС}}$, ммоль/(кг·год)	♂	73,3±2,1 ₁₇	84,5±2,6 ₁₈	38,3±2,5 ₁₉	43,1±1,6 ₂₀
	♀	70,0±2,3 ₂₁	81,9±2,8 ₂₂	66,1±2,7 ₂₃	47,7±2,3 ₂₄
$\text{ХЕА}_{\text{ШЛ}}$, ммоль/(кг·год)	♂	45,1±1,5 ₂₅	35,1±1,8 ₂₆	22,6±1,0 ₂₇	20,5±1,8 ₂₈
	♀	39,8±1,4 ₂₉	29,8±1,3 ₃₀	18,8±1,4 ₃₁	18,1±1,1 ₃₂
Примітка. $p_{1-2} < 0,01$; $p_{1-3} < 0,001$; $p_{1-4} < 0,001$; $p_{2-6} < 0,001$; $p_{3-7} < 0,001$; $p_{4-8} < 0,02$; $p_{5-6} < 0,001$; $p_{5-7} < 0,01$; $p_{5-8} < 0,001$; $p_{6-7} < 0,01$; $p_{7-8} < 0,001$; $p_{9-11} < 0,001$; $p_{9-12} < 0,01$; $p_{9-13} < 0,05$; $p_{10-14} < 0,001$; $p_{13-15} < 0,001$; $p_{13-16} < 0,001$; $p_{17-18} < 0,01$; $p_{17-19} < 0,001$; $p_{17-20} < 0,001$; $p_{19-23} < 0,001$; $p_{21-22} < 0,01$; $p_{21-24} < 0,001$; $p_{25-26} < 0,001$; $p_{25-27} < 0,001$; $p_{25-28} < 0,001$; $p_{25-29} < 0,05$; $p_{26-30} < 0,05$; $p_{27-31} < 0,05$; $p_{29-30} < 0,001$; $p_{29-31} < 0,001$; $p_{29-32} < 0,001$.					

При плануванні експериментів з визначенням вмісту АХ біологічним методом у міокарді передсердь та шлуночків, було вирішено провести паралельно дослідження вмісту цього медіатора в інтактних самців і самок (розділ 3.3), а також у групах тварин різної статі, яким вводили тільки налоксон, з метою вивчення ізольованого впливу блокатора ОР на метаболізм АХ в серці різностатевих тварин, оскільки таких даних в науковій літературі не було знайдено.

Реакція міокарда передсердь самців на введення НАЛ проявилася збільшенням вмісту АХ на 39,0 % (табл. 5.3), порівняно з групою інтактних самців. У міокарді шлуночків статистично-значущої зміни не відбулося.

Вміст АХ в міокарді передсердь у самок після введення НАЛ збільшився у 1,9 раза порівняно з інтактними самками, а в міокарді шлуночків практично не змінився.

При порівнянні тварин різної статі за досліджуваним показником встановили, що вміст АХ в передсердях самок при введенні НАЛ переважав показник самців на 45,9 %, а в міокарді шлуночків – в 2,1 раза.

Отже, з наведених даних видно, що введення НАЛ контрольним тваринам супроводжувалося зростанням вмісту холінергічного медіатора в передсердях тварин обох статей, але більш інтенсивно в самок щурів. В той час, як міокард шлуночків достовірно не зреагував на введення блокатора ОР ні в самців, ані в самок.

В умовах розвитку АПМ на тлі НАЛ вміст АХ в міокарді передсердь у самців був меншим на 1 та 24 год АПМ_{НАЛ} у 2,7 та 2,8 раза порівняно з аналогічним показником групи інтактних тварин. У міокарді шлуночків також спостерігали різке зменшення вмісту АХ на обох етапах експерименту в 3,3 раза порівняно з групою інтактних самців.

У самок динаміка концентрації АХ в міокарді передсердь була дещо іншою. Так, на 1 год АПМ_{НАЛ} спостерігали зростання показника на 41,7 % відносно інтактних тварин, але, порівняно з аналогічним показником контрольних самок, він був меншим на 28,5 %. Через добу з моменту введення адреналіну в кардіотоксичній дозі (24 год АПМ_{НАЛ}) вміст АХ в міокарді передсердь був менший, ніж у інтактних самок у 1,9 раза, а порівняно з попереднім етапом досліджень – у 2,7 раза. У шлуночках самок вміст АХ з розвитком патології також зменшився у 4,3 раза на 1 год АПМ_{НАЛ} та в 5,1 раза на 24 год АПМ_{НАЛ} порівняно з відповідною величиною групи інтактних самок.

При порівнянні груп тварин різної статі за вмістом АХ в передсердях та шлуночках встановили, що на 1 та 24 год АПМ_{НАЛ} достовірна відмінність за цим показником була лише в передсердях. У самок рівень АХ_{ПС} виявився більшим у 3,9 раза, ніж у самців на 1 год АПМ_{НАЛ}, а через добу ця відмінність становила лише 46,3 % за рахунок зменшення показника у самок.

Введення НАЛ контрольним тваринам зумовило наступні зміни холінергічної активності передсердь та шлуночків: у самців даний

показник у передсердях збільшився на 15,2 %, а в шлуночках – зменшився на 35,1 %. У міокарді передсердь самок цей показник збільшився на 17,0 %, а шлуночків – зменшився на 25,1 %. Порівняння тварин різної статі показало меншу холінергічну активність міокарда шлуночків у самок, ніж у самців на 15,2 %. У міокарді передсердь не було виявлено достовірної різниці за досліджуваним показником між контрольними самцями та самками при введенні НАЛ.

Розвиток патології на тлі НАЛ супроводжувався зменшенням ХЕА міокарда передсердь у самців на 1 та 24 год АПМ_{НАЛ} відповідно на 47,7 та 41,3 % (табл. 5.3), порівняно з інтактними тваринами. В шлуночках також спостерігалось пригнічення ХЕА на обох етапах експерименту відповідно на 52,8 і 54,5 % відносно інтактних самців.

Самки достовірно не зреагували змінами ХЕА міокарда передсердь на розвиток патології на 1 год АПМ_{НАЛ}, а на 24 год АПМ_{НАЛ} спостерігали зменшення ХЕА на 31,9 %, порівняно з аналогічним показником інтактних самок. В міокарді шлуночків на 1 та 24 год АПМ_{НАЛ} відбувалося зменшення ХЕА відповідно на 49,9 і 54,7 %, порівняно з інтактними тваринами.

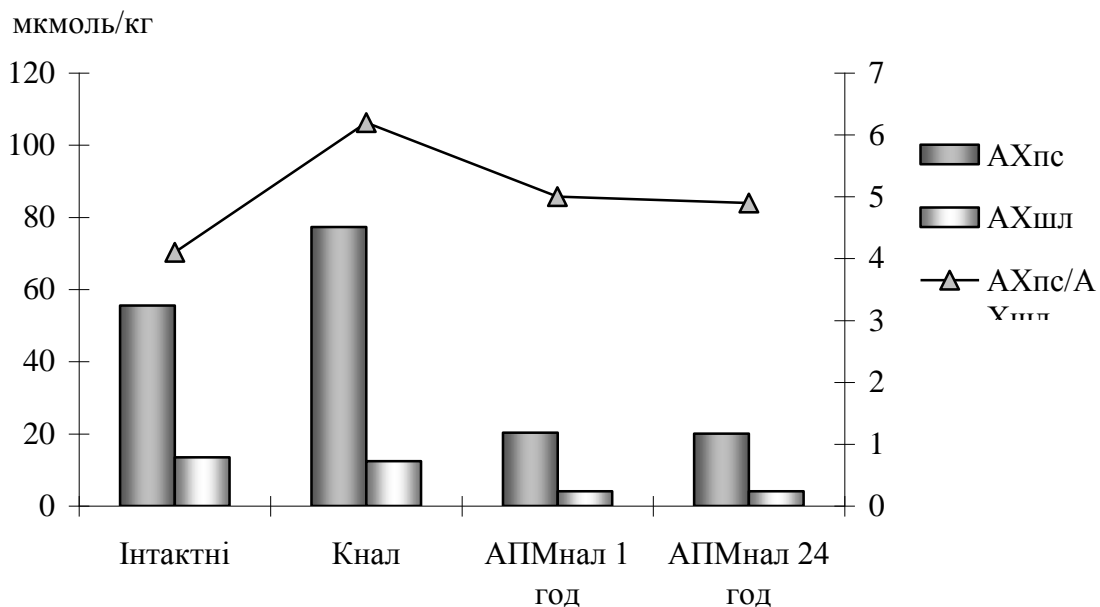


Рис. 5.6. Порівняльна динаміка вмісту ацетилхоліну в передсердях, шлуночках (ліва вісь) та їхнього співвідношення (права вісь) в самців при розвитку адреналінового пошкодження міокарда на тлі налоксону

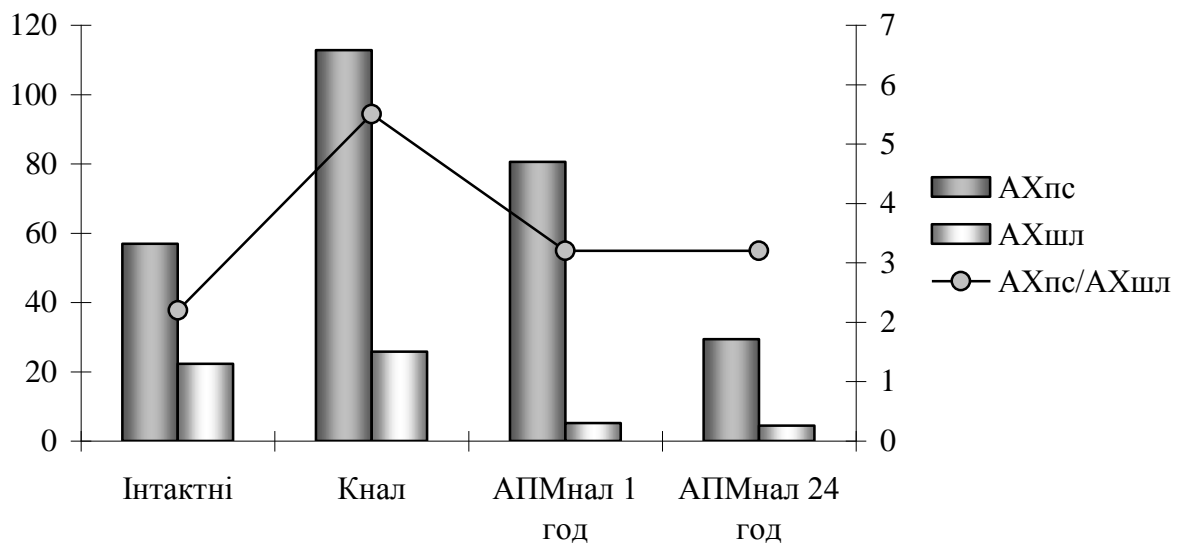


Рис. 5.7. Порівняльна динаміка вмісту ацетилхоліну в передсердях, шлуночках (ліва вісь) та їхнього співвідношення (права вісь) в самок при розвитку адреналінового пошкодження міокарда на тлі налоксону

Аналіз досліджуваного показника в тварин різної статі при моделюванні патології на тлі НАЛ виявив достовірно більшу ХЕА передсердь та шлуночків самок на 72,3 % та 16,9 % відповідно, порівняно з аналогічними показниками в самців на етапі початкових некротичних змін, а через добу відмінності між різностатевими тваринами за даним показником у міокарді передсердь і шлуночків не було виявлено.

Співвідношення вмісту АХ в передсердях та шлуночках самців (АХ_{пс}/АХ_{шл}) становило після введення НАЛ – 6,2, на 1 та 24 год АПМ_{НАЛ} – 5,0 та 4,9 відповідно (рис. 5.6). В самок аналогічний аналіз виявив наступні величини: контроль НАЛ – 4,4; 1 год АПМ_{НАЛ} – 15,5; 24 год АПМ_{НАЛ} – 6,7 (рис. 5.7). Як видно з рисунків, коливання величини співвідношення було аналогічним, як і коливання вмісту АХ в передсердях, де переважає медіаторна фракція АХ.

Таким чином, проведені дослідження та наведені дані показали, що:

а) налоксон викликає обмеження холінергічного контролю діяльності серця самців з боку АНС, а в самок – посилення адренергічного; в умовах розвитку АПМ у самців реакція АНС характеризується обмеженням холінергічних впливів на серцевий ритм, а в самок – посиленням адренергічних;

б) блокування ОР викликає пригнічення негативних хронотропних реакцій серця контрольних самців і самок щурів при електричному подразненні блукаючого нерва та введенні АХ з більш вираженим ефектом у самок, що зумовлює нівелювання вихідної статевої різниці;

в) налоксон не змінює закономірність динаміки негативних-хронотропних ефектів серця самців в умовах розвитку некротичного процесу, лише частково зменшуючи їх інтенсивність, а в самок – суттєво зменшує холінореактивність міокарда і викликає іншу закономірність змін реакції серця на електричне подразнення блукаючого нерва в умовах кардіонекрозу;

г) налоксон викликає збільшення вмісту та активності ферментативного гідролізу ацетилхоліну в міокарді передсердь в тварин обох статей з більше вираженою динамікою у самок, суттєво не впливаючи на активність метаболізму медіатора в шлуночках;

д) при розвитку некротичного процесу вміст та активність гідролізу АХ зменшується в міокарді обох відділів серця незалежно від статі тварин, дані зміни у самців виявляється в ранньому період некротичного процесу, а в самок – на етапі максимального некрозоутворення. Інтенсивніша динаміка встановлених змін у самок нівелює статеву відмінність абсолютних величин вмісту та активності гідролізу АХ.

Результати досліджень, наведені в даному розділі, опубліковані в роботах [102, 105, 130].

РОЗДІЛ 6

ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНИХ ТА МЕТАБОЛІЧНИХ ЗМІН У ПОШКОДЖЕНОМУ АДРЕНАЛІНОМ МІОКАРДІ САМЦІВ І САМОК ЩУРІВ В УМОВАХ БЛОКАДИ ОПІАТНИХ РЕЦЕПТОРІВ

6.1. Аналіз відсотка загиблих тварин та ступеня некротичного пошкодження серця самців і самок адреналіном на тлі налоксону

Розвиток патології АПМ на тлі налоксону призводив до загибелі деяких тварин. Частина самців і самок у перші пів-години після введення адреналіну в кардіотоксичній дозі на тлі НАЛ гинула. У тварин, що загинули, макроскопічних змін не було. З усіх самців, яких було взято в експеримент для моделювання АПМ на тлі НАЛ, загинуло 10,7 % (рис. 6.1), а з усіх самок, що були задіяні в даних експериментах, – 7,7 %.

За даними, наведеними в розділі 4, проведено порівняння відсотків загиблих тварин при моделюванні АПМ на тлі НАЛ з відповідними показниками самців і самок при моделюванні АПМ у них без корекції.

Співставивши відсотки загиблих тварин при моделюванні АПМ без впливу на активність ОР та за застосування блокатора ОР налоксону, виявилось, що на відміну від некорегованої патології, відсоток загиблих самців при корекції перебігу АПМ налоксоном став меншим у 2,3 раза (рис. 6.1), а відсоток загиблих самок зменшився в 1,7 раза. Отже, попереднє введення налоксону при моделюванні АПМ сприяло кращому виживанню тварин під час експерименту.

Для визначення ступеня пошкодження та некротизування кардіоміоцитів при моделюванні АПМ на тлі НАЛ дослідили гістологічні зрізи міокарда шлуночків 37 щурів (з них 19 самців і 18 самок (по 6-7 тварин у кожній групі)). Отримані зрізи фарбували за Гейденгайном та підраховували кількість некротизованих кардіоміоцитів, які забарвлювалися в чорний колір у 20 випадково вибраних полях зору (збільшення x 200).

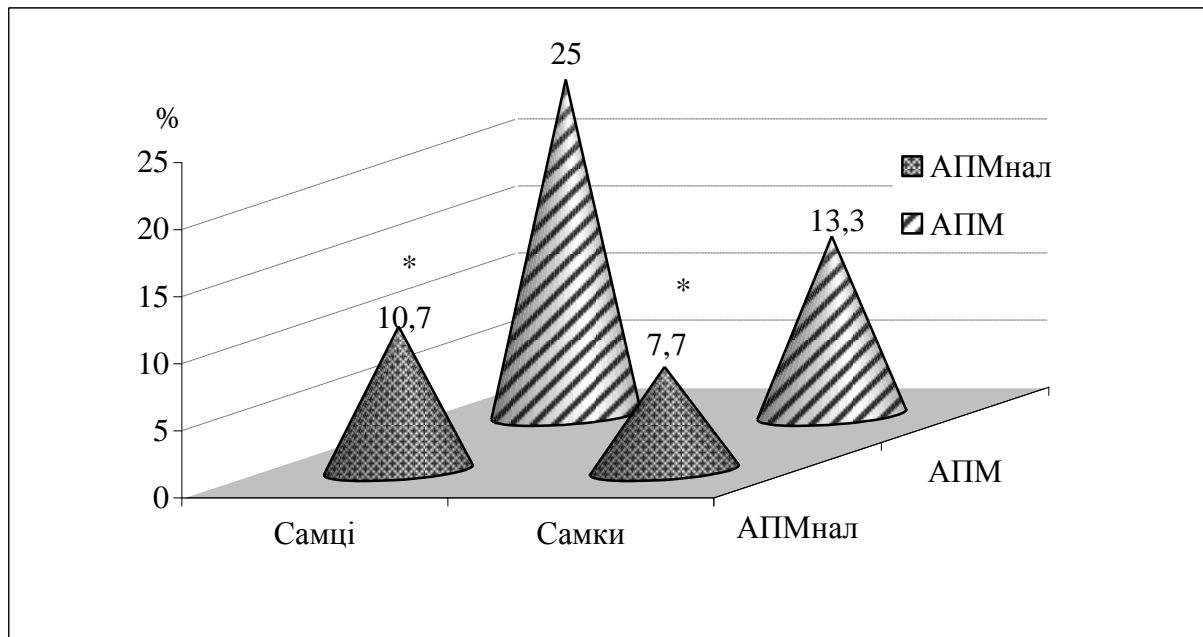


Рис. 6.1. Відсоток загиблих самців і самок при моделюванні адреналінового пошкодження міокарда в умовах блокади опіатних рецепторів та без корекції. (Примітка. * – достовірна відмінність між показниками порівнюваних груп.)

Паралельно проводились дані дослідження на інтактних самцях і самках, про що було сказано в розділі 4.1, та на контрольних тваринах, яким вводили тільки НАЛ. При мікроскопії мікропрепаратів, зафарбованих за Гейденгайном, не було виявлено некротизованих кардіоміоцитів у мікропрепаратах міокарда контрольних самців і самок (табл. 6.1).

Через 1 год після введення адреналіну в кардіотоксичній дозі на тлі блокади ОР налоксоном у самців 14,3 % кардіоміоцитів (табл. 6.1) були ушкодженими. Через 24 год показник збільшився на 41,3 % і становив 20,2 % некротизованих кардіоміоцитів.

У самок кількість пошкоджених клітин в міокарді шлуночків на 1 год АПМ на тлі налоксону становила 8,5 %, а через добу відсоток некротизованих клітин став 13,8, що було більше від попереднього етапу дослідження на 62,4 %.

Відсоток некрозів у мікропрепаратах міокарда шлуночків самців і самок щурів при моделюванні адреналінового пошкодження міокарда на тлі блокади опіатних рецепторів налоксоном (M±m)

Модель	Контроль _{НАЛ} (самці – n=6) (самки – n=6)	АПМ _{НАЛ} 1 год (самці – n=6) (самки – n=6)	АПМ _{НАЛ} 24 год (самці – n=7) (самки – n=6)
Самці	0	14,3±1,3 ₁	20,2±1,4 ₂
Самки	0	8,5±0,5 ₃	13,8±1,0 ₄
Примітка. $p_{1-2}<0,001$; $p_{3-4}<0,001$; $p_{1-3}<0,02$; $p_{2-4}<0,001$.			

При порівнянні тварин різної статі, виявлено, що на 1 та 24 год патології кількість пошкоджених кардіоміоцитів у самок була меншою, ніж у самців, на 40,6 та 31,7 % відповідно.

Отже, дані морфометрії підтверджують попередньо встановлену при аналізі відсотків загиблих тварин закономірність інтенсивнішого пошкодження адреналіном серця самців, порівняно з самками, яка зберігається в умовах патології на тлі блокади ОР.

Порівняння відсотків некротизованих кардіоміоцитів за різних модельних умов, зокрема АПМ без впливу препарату (розділ 4.1) з відповідними показниками, які отримали при застосуванні налоксону, показало, що у самців на 1 год АПМ_{НАЛ} (рис 6.2) відсоток некротизованих клітин не відрізнявся від такого за моделі АПМ. На момент максимальних некротичних змін (24 год АПМ) попереднє введення НАЛ сприяло меншому некротизуванню у них на 15,1 % ($p<0,05$), ніж без корекції.

У самок на 1 год АПМ на тлі НАЛ також не було достовірної відмінності за відсотком некротизованих кардіоміоцитів, порівняно з некорегованою патологією, а на 24 год АПМ_{НАЛ} препарат сприяв меншому некротизуванню міокарда при введенні кардіотоксичної дози адреналіну на 17,9 % ($p<0,05$).

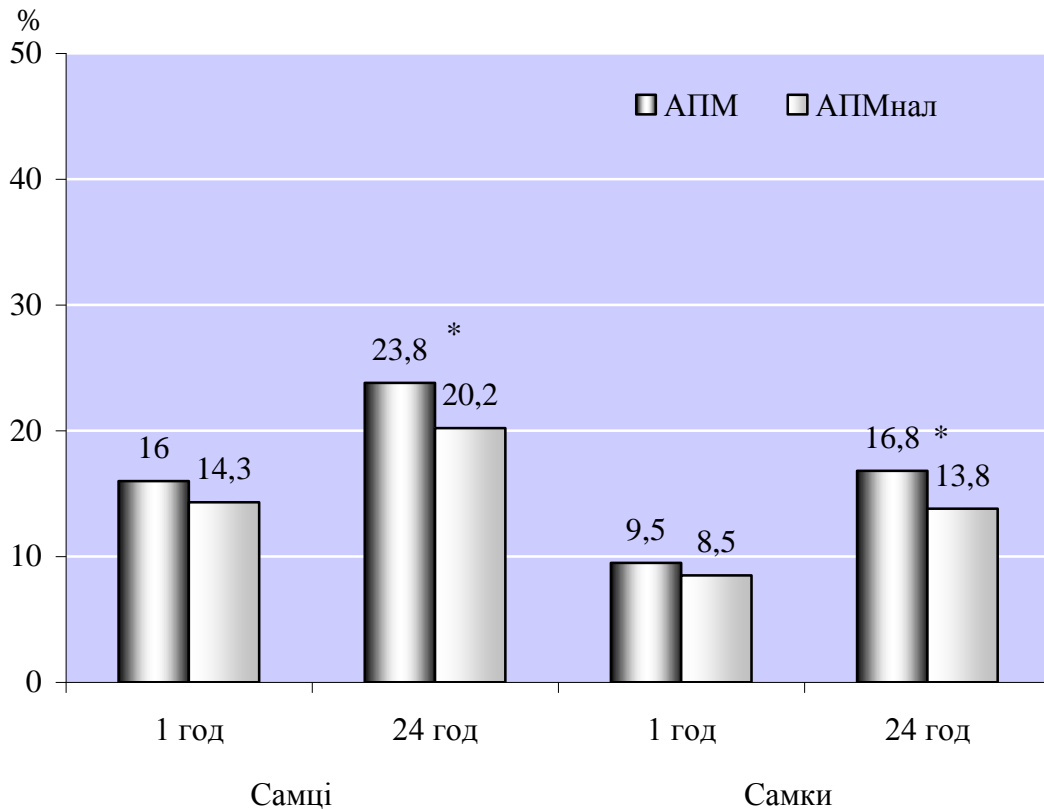


Рис. 6.2. Порівняння відсотків некротизованих кардіоміоцитів шлуночків серця самців і самок при адреналіновому пошкодженні міокарда в умовах блокади опіатних рецепторів налоксоном та без корекції. (Примітка. * – достовірна відмінність показників без корекції та на тлі налоксоноу.)

З аналізу даних, отриманих в результаті проведеного морфометричного дослідження, видно, що попередня блокада ОР налоксоном сприяла менш інтенсивному некротизуванню тканини міокарда в самців та самок щурів, що статистично достовірно проявилось на етапі максимальних некротичних змін (через добу з моменту введення адреналіну). Щодо статевого аспекту цього ефекту, то інтенсивність впливу НАЛ на перебіг АПМ за показником відсотка некротизованих кардіоміоцитів у самок виявилася дещо більшою, ніж у самців, що узгоджується з даними аналізу відсотка загиблих тварин різної статі при моделюванні АПМ на тлі блокованих ОР налоксоном та підтверджує важливе значення фактора статі в формуванні адаптаційно-компенсаторних реакцій в умовах патології на тлі блокади ОР.

6.2. Вплив налоксону на процеси ліпопероксидації та стан антиоксидантної системи при адреналіновому пошкодженні серця тварин різної статі

Попередніми дослідженнями (розділ 4.2) встановлено, що при некротизуванні кардіоміоцитів за умов підвищення активності ОР відбуваються певні зміни вмісту продуктів ліпопероксидації в міокарді та активності системи антиоксидантів, проте недостатньо вивченим залишається стан про- та антиоксидантної систем в умовах блокади ОР.

Ще більший інтерес до цього питання виникає після проведеного аналізу результатів морфометрії та відсотка загиблих тварин при моделюванні АПМ у самців і самок щурів на тлі налоксону, де стало очевидним, що в даних умовах також, як і в випадку з активатором ОР даларгіном, хоч і в меншій мірі, та все ж проявилися кардіопротекторні властивості препарату. Щоб з'ясувати патогенетичні особливості цього впливу, необхідно дослідити зміни метаболізму міокарда тварин різної статі при розвитку адреналінового пошкодження міокарда за застосування блокатора ОР налоксону.

Найважливішими механізмами пошкодження кардіоміоцитів при АПМ вважаються ліпідні механізми, активність яких було досліджено за такими критеріями, як вміст дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду в міокарді самців і самок при АПМ на тлі блокади ОР налоксоном.

Насамперед необхідно було дослідити вплив НАЛ на процеси ПОЛ та антиоксидантний захист серця контрольних самців і самок. Як показують результати експериментальних досліджень (табл. 6.2), введення тваринам НАЛ достовірно не вплинуло на вміст ДК, МДА та показники активності АОС в шлуночках самців і самок. Однак, при розвитку модельованої патології в умовах неселективної блокади ОР налоксоном вже на етапі початку некротизування кардіоміоцитів виявлено певні зміни показників, що відображають процеси ліпопероксидації та стан АОС в міокарді тварин різної статі. Так, на 1 год АПМ_{НАЛ} концентрація ДК в міокарді самців зросла на

16,9 %, вміст МДА збільшився на 21,8 % порівняно з аналогічними показниками групи інтактних тварин. Прогресування змін до 24 год АПМ_{НАЛ} характеризувалося подальшим нагромадженням ДК та МДА і відмінність від досліджуваних показників інтактних самців збільшилася відповідно до 24,1 і 35,1 %.

У самок на 1 год модельованого АПМ на тлі НАЛ вміст ДК в міокарді збільшився на 8,4 %, а вміст МДА – на 21,7 %. Через добу прогресування некротичних змін у міокарді супроводжувалося подальшим нагромадженням ДК та МДА і відмінність від показника інтактних самок збільшилася відповідно до 19,5 і 26,8 %.

Таблиця 6.2.

Вплив налоксону на показники ПОЛ та АОС міокарда шлуночків самців і самок при адреналіновому пошкодженні міокарда на тлі налоксону (M±m)

Показник		Інтактні	К _{НАЛ}	АПМ _{НАЛ} 1 год	АПМ _{НАЛ} 24 год
		n=6	n=6	n=6	n=6
ДК, відн.од	♂	146,8±2,4 ₁	145,5±2,6 ₂	171,7±2,9 ₃	182,2±3,4 ₄
	♀	142,8±3,9 ₅	145,2±3,7 ₆	154,8±2,6 ₇	170,7±3,4 ₈
МДА, ммоль/кг	♂	4,13±0,18 ₉	4,15±0,19 ₁₀	5,03±0,19 ₁₁	5,58±0,26 ₁₂
	♀	3,92±0,16 ₁₃	3,87±0,21 ₁₄	4,77±0,18 ₁₅	4,97±0,13 ₁₆
СОД, од.акт.	♂	13,8±0,3 ₁₇	14,0±0,4 ₁₈	16,9±0,4 ₁₉	16,3±0,4 ₂₀
	♀	14,5±0,2 ₂₁	14,3±0,3 ₂₂	18,1±0,3 ₂₃	18,0±0,4 ₂₄
КТ, мкат/кг	♂	64,7±2,4 ₂₅	64,2±2,3 ₂₆	82,2±2,6 ₂₇	77,5±2,6 ₂₈
	♀	66,8±3,7 ₂₉	67,5±3,6 ₃₀	90,7±3,9 ₃₁	90,0±4,0 ₃₂
SH, ммоль/кг	♂	3,15±0,08 ₃₃	3,03±0,11 ₃₄	3,75±0,18 ₃₅	4,42±0,16 ₃₆
	♀	3,28±0,15 ₃₇	3,33±0,16 ₃₈	4,85±0,18 ₃₉	4,90±0,19 ₄₀
Примітка. p ₁₋₃ <0,001; p ₁₋₄ <0,001; p ₅₋₇ <0,05; p ₅₋₈ <0,001; p ₃₋₇ <0,002; p ₄₋₈ <0,05; p ₉₋₁₁ <0,01; p ₉₋₁₂ <0,001; p ₁₂₋₁₆ <0,05; p ₁₃₋₁₅ <0,02; p ₁₃₋₁₆ <0,001; p ₁₇₋₁₉ <0,001; p ₁₇₋₂₀ <0,001; p ₂₁₋₂₃ <0,001; p ₂₁₋₂₄ <0,001; p ₁₉₋₂₃ <0,05; p ₂₀₋₂₄ <0,02; p ₂₅₋₂₇ <0,001; p ₂₅₋₂₈ <0,01; p ₂₉₋₃₁ <0,002; p ₂₉₋₃₂ <0,002; p ₂₈₋₃₂ <0,05; p ₃₃₋₃₅ <0,02; p ₃₃₋₃₆ <0,001; p ₃₇₋₃₉ <0,001; p ₃₇₋₄₀ <0,001; p ₃₅₋₃₉ <0,001.					

Порівняння інтенсивності процесів ПОЛ у тварин різної статі за вмістом даних метаболітів показує достовірне переважання вже на 1 год АПМ_{НАЛ}. Вміст ДК був більший на 9,8 % у самців, ніж аналогічний показник самок.

Прогресування патології зумовило подальше зростання концентрації ДК і на 24 год модельованої патології кількість цього метаболіту була більшою також у самців на 6,3 %. Відмінність концентрації МДА між тваринами різної статі проявилася лише в період піку некрозоутворення і склала 11,0 %, з переважанням цього показника в самців.

Отже, як впливає з наведених результатів, при моделюванні АПМ на тлі блокади ОР налоксоном спостерігалось посилення процесів ліпопероксидації в міокарді самців і самок щурів, з достовірним переважанням вмісту метаболітів у міокарді шлуночків самців щурів на обох етапах експерименту.

Моделювання АПМ на тлі НАЛ у щурів-самців спричинило наступні зміни активності АОС. На 1 год активність СОД була більшою, ніж показник інтактних самців на 22,7 %, активність КАТ збільшилася на 27,1 %, а вміст SH-груп також збільшився на 19,0 %. На 24 год експерименту активність СОД дещо зменшилися, проте залишалася більшою, ніж показник інтактних самців, на 18,4 %, активність КАТ дещо знизилася, але була більшою, ніж аналогічний показник інтактних тварин, на 19,8 %, а концентрація SH-груп продовжувала наростати і відрізнялася від показника інтактних самців на 40,2 %.

Когорта самок на модельовану патологію на тлі налоксону зреагувала дещо інтенсивнішими змінами функціонування АОС в період початкових некротичних змін. А саме, збільшенням активності СОД на 24,3 %, КАТ – на 35,7 % проти аналогічного показника інтактних самок та зростанням вмісту SH-груп на 47,7 %, порівняно з концентрацією даного метаболіту інтактних тварин. У період піку некрозоутворення активність СОД та КАТ залишалася на попередньому рівні і перевищувала контрольні показники відповідно на 23,9 та 34,7 %, а вміст SH-груп утримувався на попередньому рівні та був вищим на 49,2 %, ніж у групі інтактних самок.

Порівнюючи інтенсивність реакції АОС і тварин різної статі, виявлено, що ця ланка захисної реакції міокарда зреагувала на розвиток АПМ

інтенсивніше у самок, про що свідчить на 6,8 % більша активність СОД у них на 1 год АПМ_{НАЛ} і збільшення цього розриву до 10,3 % на етапі максимальних некротичних змін. Активність КАТ виявилася також вищою у самок на 16,1 %, порівняно з самцями, на початковому етапі некрозоутворення (1 год АПМ_{НАЛ}). Вміст SH-груп на 1 год АПМ в умовах блокади ОР був вищим у самок щурів на 29,3 % та подальше наростання цього показника було інтенсивнішим у самців, що призвело до нівелювання статевої диференціації за даним показником через добу спостережень за розвитком патології і, станом на 24 год експерименту, достовірної відмінності між тваринами різної статі за вмістом SH-груп вже не було.

Врахування статевих відмінностей у динаміці компенсаторно-адаптаційних змін функціонування АОС необхідне, так як допомагає уникнути в патогенез більш узагальнених закономірних відмінностей між самцями та самками, які спостерігалися при морфометричному дослідженні міокарда та при аналізі відсотка загиблих тварин за моделі, що досліджується.

При аналізі даних, було помічено, що накопичення продуктів ліпопероксидації було менш вираженим, ніж у групах тварин, де НАЛ не використовувався (розділ 4.2). Тому доцільно провести детальний аналіз динаміки показників ПОЛ та АОС за різних модельних умов.

Співставлення результатів біохімічного дослідження міокарда за вмістом ДК показало, що НАЛ істотно не вплинув на динаміку вмісту цього метаболіта при моделюванні АПМ (рис. 6.3) на жодному з етапів експерименту.

Концентрація кінцевого продукту пероксидного окиснення ліпідів МДА в міокарді шлуночків (рис. 6.4) на 1 год АПМ_{НАЛ} також достовірно не відрізнялася від аналогічного показника при некорегованій патології як у самців, так і в самок, але на 24 год АПМ попереднє введення НАЛ дещо стримувало зростання вмісту цього метаболіту в самців на 15,1 % ($P < 0,02$), а в самок на даному етапі – на 11,7 %, порівняно з аналогічним показником

при некорегованій патології, проте ця відмінність виявилася статистично недостовірною через значні індивідуальні коливання досліджуваного показника в межах однієї групи тварин.

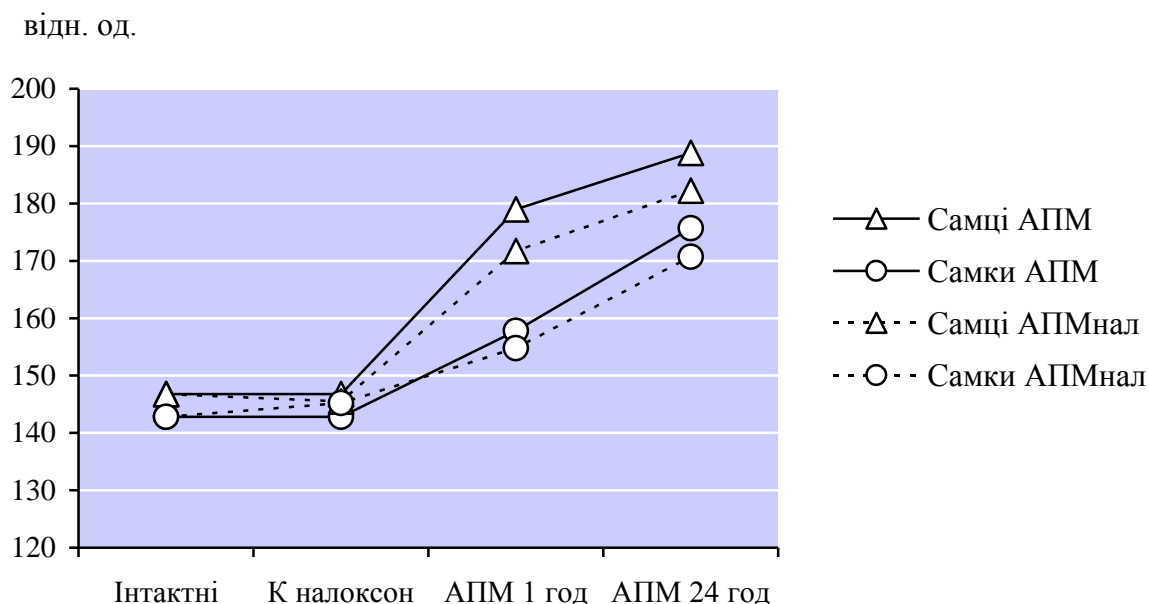


Рис. 6.3. Порівняння динаміки вмісту ДК в міокарді шлуночків самців і самок щурів при розвитку АПМ без та за застосування налоксону.

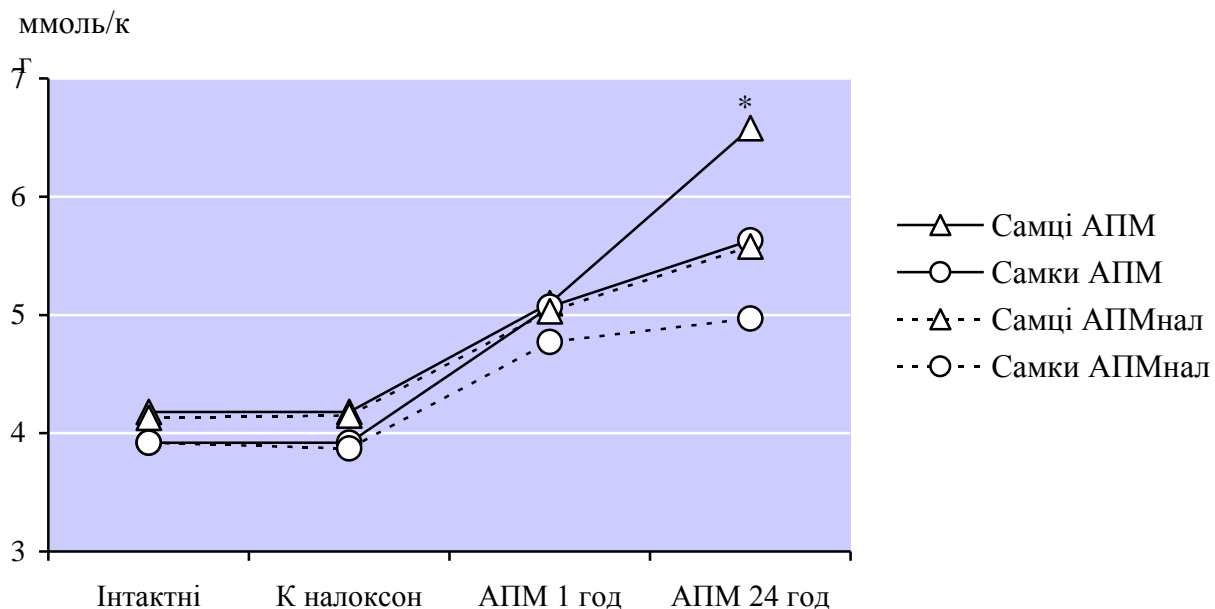


Рис. 6.4. Порівняння динаміки вмісту МДА в міокарді шлуночків самців і самок щурів при розвитку АПМ без та за застосування налоксону. (Примітка. * – достовірна відмінність показників порівнюваних груп.)

Оцінюючи вплив НАЛ на реакцію АОС щурів різної статі при моделюванні АПМ без корекції та на тлі налоксону, виявилось, що на 1 год АПМ_{НАЛ} активність ключового ферменту антиоксидантного захисту СОД в самців була вищою на 9,1 % ($p < 0,05$) (рис. 6.5), ніж аналогічний показник при некорегованій патології. Через 24 год розвиток патологічного процесу на тлі блокади ОР зумовив зменшення цього показника і відмінність від некорегованої патології вже нівелювалася.

од. акт.

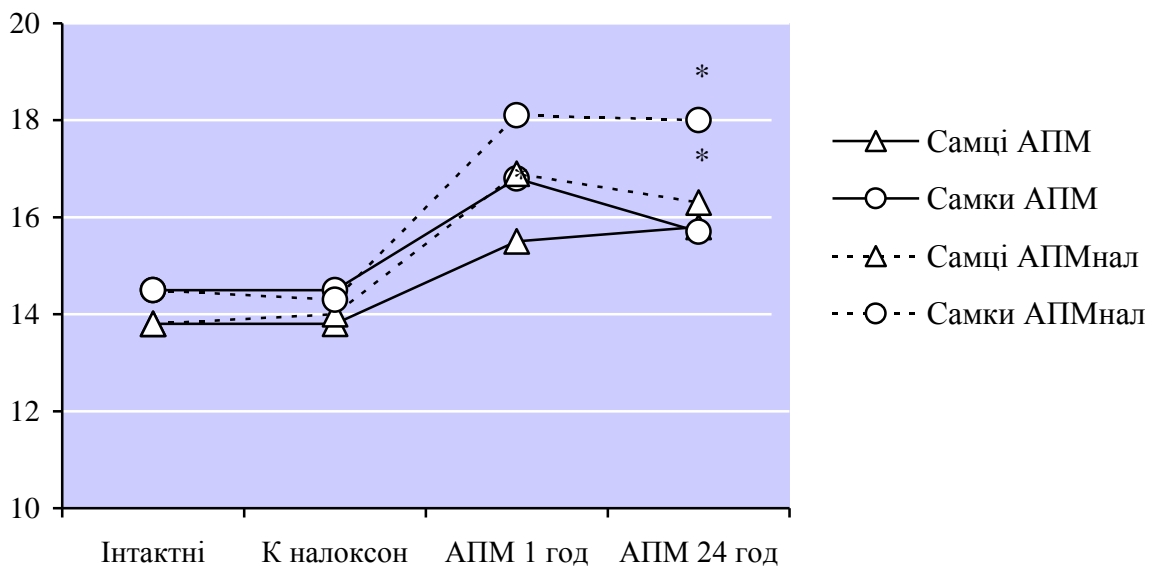


Рис. 6.5. Порівняння динаміки активності СОД в міокарді шлуночків самців і самок щурів при розвитку АПМ без та за застосування налоксону. (Примітка. * – достовірна відмінність показників порівнюваних груп.)

Реакція АОС самок на тлі НАЛ була подібною, однак більш вираженою та стабільною. Як свідчить порівняння корегованої та некорегованої патології, активність СОД у них переважала на 7,6 % ($p < 0,01$) на 1 год АПМ_{НАЛ}, а через добу активність цього ферменту утримувалася на попередньому рівні при корекції налоксоном в той час, як без корегуючих впливів спостерігалось зменшення цього показника. Ця відмінність у динаміці активності ключового ферменту антиоксидантного захисту міокарда

при розвитку корегованої та некорегованої патології спричинила збільшення розриву за даним показником до 14,6 % ($p < 0,001$).

На 1 год АПМ_{НАЛ} активність КАТ у самців достовірно не відрізнялася від аналогічного показника при некорегованій патології, але через 24 год з моменту введення кардіотоксичної дози адреналіну в умовах блокади ОР активність КАТ була на 14,6 % ($p < 0,01$) меншою (рис. 6.6), ніж відповідний показник при моделюванні АПМ без корекції.

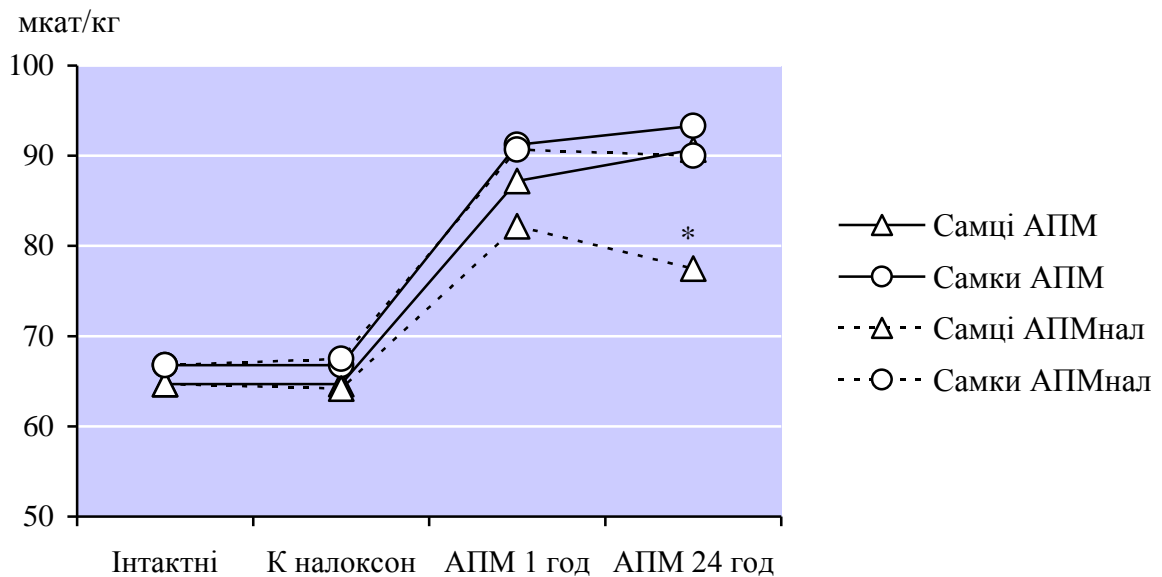


Рис. 6.6. Порівняння динаміки активності КАТ в міокарді шлуночків самців і самок щурів при розвитку АПМ без та за застосування налоксону. (Примітка. * – достовірна відмінність показників порівнюваних груп.)

В когорті самок не було достовірної відмінності за показником активності КАТ в міокарді на обох етапах експерименту без та за застосування налоксону.

Порівнюючи показники вмісту SH-груп в міокарді шлуночків тварин різної статі при розвитку патології в умовах блокади ОР налоксоном та без корекції (рис. 6.7), не було виявлено достовірної відмінності на жодному з етапів експерименту в групах тварин обох статей. Отже, налоксон не вплинув на неферментативну ланку антиоксидантного захисту серця в умовах модельованої патології.

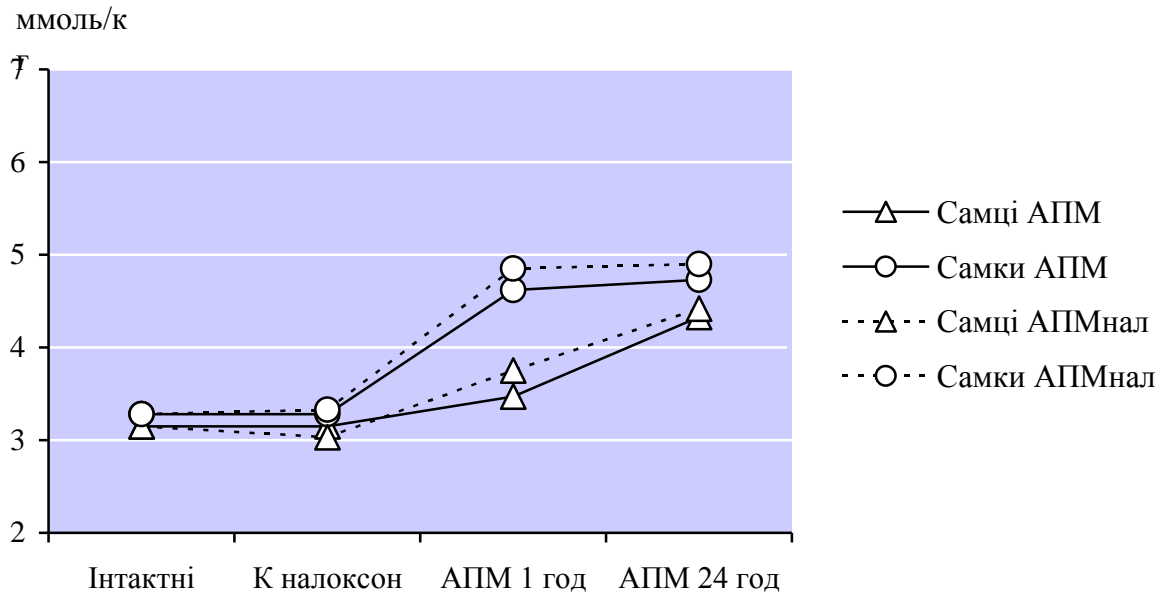


Рис. 6.7. Порівняння динаміки вмісту SH-груп в міокарді шлуночків самців і самок щурів при розвитку АПМ без та за застосування налоксону

Отримані результати показують, що розвиток АПМ на тлі блокади опіатних рецепторів налоксоном супроводжується накопиченням токсичних продуктів ПОЛ у тварин обох статей, проте, в більшій мірі в самців, ніж у самок. При аналізі динаміки показників системи антиоксидантів була встановлена закономірність, яка показувала, що більш інтенсивно ця система функціонувала в міокарді шлуночків самок, що пояснило менш інтенсивне накопичення кінцевого метаболіту ПОЛ – МДА. Отримані дані узгоджуються з результатами морфометрії.

У даному розділі представлені результати дослідження впливу блокатора ОР НАЛ на перебіг АПМ. В якості критеріїв інтенсивності цього процесу в даних умовах було взято відсоток загиблих тварин, ступінь структурних змін та особливості метаболічних процесів у серці, зокрема ліпопероксидації та стан АОС тварин різної статі. За результатами проведених досліджень можна стверджувати, що:

а) введення кардіотоксичної дози адреналіну за умов блокади ОР налоксоном в дозі 1 мг/кг супроводжується появою ознак, які свідчать про

реалізацію негативного ефекту катехоламіну в заданих умовах: загибель частини задіяних у експерименті тварин, наявність некротизованих кардіоміоцитів, накопичення продуктів ПОЛ та активація АОС;

б) моделювання АПМ при застосуванні блокатора опіатних рецепторів налоксону супроводжується менш інтенсивними метаболічними та структурними змінами в міокарда на 24 год АПМ, зменшенням відсотка загиблих тварин;

в) інтенсивність впливу блокади ОР налоксоном на функціонування про- та антиоксидантної систем міокарда самок більш виражена, ніж у самців, що узгоджується з відмінностями між тваринами різної статі за показниками відсотків загиблих тварин і некротизованих кардіоміоцитів.

Результати досліджень, наведені в даному розділі, опубліковані в роботі [104].

РОЗДІЛ 7

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для науковців нашої країни і зарубіжжя впродовж останніх десятиліть залишається надзвичайно актуальним напрямком досліджень патологія серцево-судинної системи, адже, за даними ВООЗ, продовжує спостерігатись тенденція до зростання частки некрозогенних захворювань серця в структурі смертності, тривалої втрати працездатності та інвалідизації. В урбанізованому суспільстві все більш помітними стають наслідки руйнівного впливу хронічного стресу на організм людини [4, 9, 33, 68, 99]. Відбувається зрив адаптаційних механізмів, що призводить до виникнення важкої патології серцево-судинної системи, іноді з кардіонекротичними ускладненнями та фатальними наслідками. Саме цим можна пояснити факт неспинного зростання серцевої патології серед працездатної частини населення як в Україні, так і за рубежом. Немаловажне значення має фактор статі, адже в цих статистичних звітах впевнено „лідирують” чоловіки. Так, експерти ВООЗ встановили закономірність, що кількість чоловіків, які страждають та помирають від гострої серцевої патології в декілька разів більша, ніж жінок [46, 49, 85]. Вітчизняна статистика свідчить, що ця закономірність властива також для України [61].

Причин такої статевої диференціації епідеміології серцево-судинних захворювань є багато, однак найважливішими з точки зору патогенезу цих захворювань, є більша вразливість чоловічого організму до негативного впливу різноманітних стресів [9, 33, 96, 97] та менш виражені компенсаторно-адаптаційні можливості. Домінування в чоловічому організмі адренергічних механізмів, а в жіночому – холінергічних, зумовлює й певні особливості формування реакції-відповіді на вплив патологічного чинника. В особин жіночої статі виявлено підвищену адренкортикальну чутливість до стресів [9], яка поєднується з більш високою в них стійкістю серцево-судинної системи до емоційних перенапружень [33]. Доведено, що в основі

статевих відмінностей в стрес-реактивності лежать статеві особливості холінергічного статусу. Холінергічні механізми не тільки визивають стресорну активацію гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи, але й підвищують стійкість серцево-судинної системи до тривалих та інтенсивних стресів. У досліджах на щурах різної статі Анищенко Т.Г. и др. виявили [11], що базальний рівень активності холінестерази в крові самок був достовірно вищим, ніж у самців. Стійкість до негативного впливу хлорофосу була також вищою в самок, що відображає підвищені функціональні резерви холінергічної системи у самок порівняно з самцями. Ці відмінності можуть відігравати вирішальну роль у забезпеченні підвищеної у жінок, порівняно з чоловіками, стійкості серцево-судинної системи до тривалих та інтенсивних стресів за рахунок переважання активації в жінок холінергічних, а в чоловіків – адренергічних механізмів [126].

Важлива роль глюкокортикоїдів у системній регуляції кардіогемодинамічних зсувів дозволяє припустити, що позитивний вплив холінергічних механізмів на стійкість до стресорних впливів серцево-судинної системи в жінок в значній мірі опосередкується через підвищену в них адренкортикальну чутливість до стресів. Ця гіпотеза підтверджується тим, що в межах однієї статі – чоловічої – переважання парасимпатичного типу регуляції також корелює з підвищеною амплітудою глюкокортикоїдної відповіді та більш високою стійкістю до стресорних впливів [9].

Відомо, що важливу роль у цьому процесі відіграють статеві гормони [12, 203] та особливості функціонування стрес-лімітуючих систем [67], зокрема таких, як холінергічна ланка АНС [11, 36] та ендогенна опіїдна система організму [25, 179, 185].

За останні роки спостерігається значне зростання інтересу вчених до ендогенної опіїдної системи, яка є основною серед стрес-лімітуючих систем організму, та її роль у проблематиці кардіології вивчена недостатньо. Модулятори активності опіатних рецепторів є порівняно новим класом

засобів у кардіологічній практиці, дія яких на серце за умов катехоламінового пошкодження в статевому аспекті не вивчалася.

Вивчення автономного контролю діяльності серця експериментальних інтактних тварин загалом показало, що в когорті самців для переважної більшості особин характерною є норма- та симпатикотонія, а в самок переважають норма- та ваготоніки [150]. З огляду на існування суттєвої різниці холінергічних процесів у життєдіяльності серця тварин різної статі при некротичному пошкодженні [126-128], виявлені деякими науковцями кардіопротекторні властивості естрогенів та опіодних пептидів, можна припустити існування статевих відмінностей у реакції серця тварин на введення кардіонекрозогенної дози адреналіну на тлі активації та блокади ОР. Однак, у доступних літературних джерелах не вдалося знайти інформацію, яка б відображала результати досліджень такого спрямування. Саме цьому питанню присвячене наше дослідження.

Насамперед нами було встановлено особливості регуляції діяльності серця самців і самок щурів автономною нервовою системою при розвитку некротичного процесу в міокарді на тлі активації опіатних рецепторів даларгіном. Для цього було використано метод варіаційної кардіоінтервалометрії, як один з найпоширеніших і досить інформативних методів дослідження варіабельності серцевого ритму [6, 14, 15], що дало можливість визначити стан регуляторних систем та кількісно оцінити баланс активності адренергічної та холінергічної ланок АНС в регуляції синусового вузла в умовах активації ОР.

В якості активатора ОР використовували даларгін – синтетичний аналог лей-енкефаліну. Препарат активно використовується в гастроентерології як такий, що здатний впливати на метаболічні процеси, а також останнім часом ДАЛ досліджується в експериментальній та практичній кардіології в якості кардіопротектора [25, 47], проте його роль у модулюванні холінергічних процесів та залежність ефектів цього препарату від статі недостатньо вивчена.

Даларгін вводили внутрішньоочеревинно в дозі 0,01 мг/кг за 30 хвилин до моделювання АПМ. Даларгін є гексапептидом і, у вказаній дозі, не проникає через гемато-енцефалічний бар'єр [141], що створює оптимальні умови для дослідження його впливу на периферичні (локалізовані на сарколемі кардіоміоцитів) опіатні рецептори. Для коректного порівняння досліджуваних показників, проводили моделювання АПМ в самців і самок без впливів на активність ОР та моделювання АПМ на тлі ДАЛ. Окрім вказаних груп, проводились визначення всіх показників у групах самців і самок, яким вводили лише ДАЛ, для вивчення ізольованого впливу препарату.

Аналіз показників варіаційної кардіоінтервалометрії показав, що розвиток некротичного процесу в міокарді тварин без впливу на функціонування ОР, супроводжувався реагуванням автономного контура регуляції, особливо на етапі максимально виражених змін (24 год АПМ). Значний внесок у ці зміни вносить посилення впливу блукаючих нервів. Слід зазначити, що процес адаптації організму самців і самок за участі АНС дещо відрізнявся. У самок домінуючим механізмом була активація холінергічної ланки регуляції, про що свідчило суттєве збільшення ΔX . Адаптація самців у даних умовах (24 год АПМ) характеризувалася ще й обмеженням адренергічного рефлекторного впливу на серце з боку АНС, про що свідчило зменшення АМо.

Введення ДАЛ контрольним тваринам викликало незначне, проте достовірне зменшення ЧСС. На активацію ОР відреагували і показники кардіоінтервалометрії, а саме: збільшення варіаційного розмаху в самців на 13,3 % ($p < 0,05$), у самок – на 11,9 % ($p < 0,05$), зменшення індексу напруження в самців на 31,0 % ($p < 0,01$). Ці зміни можна розцінювати, як такі, що вказують на посилення вагусного впливу на діяльність серця. Незважаючи на більш інтенсивні зміни досліджуваних параметрів у тварин-самців, загальна картина демонструвала переважання холінергічного контролю діяльності серця саме у самок. На нашу думку, це ще раз підтверджує факт природнього

домінування в самок холінергічних механізмів у регуляції серцевої діяльності [122, 123, 126-129].

Привертає увагу аналіз розвитку АПМ на тлі даларгіну, адже важливо було дослідити, як зреагує ритм серця на нашарування впливів активатора ОР даларгіну та кардіотоксичної дози адреналіну. Слід зазначити, що розвиток АПМ на тлі даларгіну не викликав подальших суттєвих змін досліджуваних показників у тварин обох статей, відносно показників інтактних тварин. Але в самців достовірно нижчим, ніж у інтактних тварин, виявився ІН (1 год АПМ_{ДАЛ} – на 25,1 % ($p < 0,05$), 24 год АПМ_{ДАЛ} – на 23,0 % ($p < 0,05$)), що відображало посилення ролі блукаючого нерва у формуванні ритму серця в особин чоловічої статі. Разом з тим, даний показник самок залишався меншим, ніж у самців, на 1 год АПМ_{ДАЛ} на 50,4 % ($p < 0,05$), що свідчило про потужніший, ніж у самців, холінергічний контроль діяльності серця на початковому етапі некротичних змін. Можна передбачити, що такі зміни сприятимуть кардіопротекції.

Аналізуючи показники математичного аналізу серцевого ритму при АПМ у групах самців і самок без корегуючих впливів та в умовах активації ОР виявлено, що ДАЛ сповільнив зростання ЧСС при реалізації пошкоджуючого ефекту адреналіну в самців, а величина M_0 в них була дещо більшою, ніж без корекції. Збільшення цього показника в даних умовах можна розцінювати як прояв деякого посилення ролі наднирників при формуванні реакції на стрес, що підтверджується результатами інших дослідників. Зокрема, в дослідях на самцях і самках щурів Т.Г. Анищенко и др. виявили, що холінергічні механізми викликають стресорну активацію гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи та підвищують стійкість серцево-судинної системи до тривалих та інтенсивних стресів [11].

Варіаційний розмах кардіоінтервалів був значно більшим при корекції АПМ даларгіном, що добре видно при порівнянні цього показника з відповідним без корекції (у самців ця різниця становила 39,6 % ($p < 0,002$), у самок – 57,3 % ($p < 0,002$)). Ці дані свідчать про посилення впливу блукаючого

нерва на СА-вузол при активації ОР, що зберігається в умовах патології і сприяє створенню кращого фону для подолання організмом негативного впливу адреналіну в кардіотоксичній дозі. Цей вплив був більш виражений у самок щурів.

Інтегральний показник ІН при моделюванні АПМ на тлі ДАЛ був меншим на період початкових некротичних змін у міокарді в тварин обох статей – на 39,6 % ($p < 0,002$) у самців і на 43,3 % ($p < 0,01$) у самок. Зменшення цього показника, який розраховують на підставі всіх трьох первинних показників математичного аналізу серцевого ритму (M_0 , AM_0 , ΔX), свідчить про те, що роль центрального контура регуляції за модельованих умов зменшується і синусовий ритм формується, головним чином, за допомогою периферичних механізмів регуляції, представлених постгангліонарними холінергічними закінченнями і пейсмейкерами СА-вузла.

Як видно з наведених даних, на застосування ДАЛ змінами більшої кількості показників активності впливу АНС на серцевий ритм реагували самці, порівняно з групами тварин, де розвиток АПМ не був корегований модуляторами ОР. Загальна картина зафіксованих змін демонструвала посилення ролі блукаючого нерва в діяльності серця (збільшення ΔX) та, можливо, наднирників (збільшення M_0) у загальній адаптації організму. У порівнюваних групах самок суттєва відмінність зафіксована лише в динаміці ΔX , що відповідно вплинуло й на ІН. Це свідчить про те, що роль п. Vagus у формуванні серцевого ритму особин жіночої статі була все ж таки суттєвішою. В умовах розвитку патології ДАЛ стримував надмірне зростання центральних впливів на регуляцію серцевого ритму, що створювало кращі умови для кардіоміоцитів і сприяло зменшенню ступеня некротичного пошкодження їх адреналіном. Найяскравіше цей ефект проявлявся на 1 год АПМ_{ДАЛ}, що стає очевидним при порівнянні показників морфометрії з аналогічними в умовах некорегованої патології. Це, на нашу думку, свідчить про здатність ДАЛ в умовах патології посилювати впливи блукаючого нерва на регуляцію ритму серця і могло стати одним з механізмів

кардіопротекторного ефекту ДАЛ. Цей вплив спостерігався як у самців, так і в самок, однак в останніх проявився в більшій мірі.

Наступним нашим завданням було дослідити вплив активатора ОР даларгіну на чутливість міокардіальних холінорецепторів у самців і самок в умовах некротичного пошкодження міокарда, оскільки встановлена відмінність між тваринами різної статі за показниками варіаційної кардіоінтервалометрії може ґрунтуватися на різній реактивності даних структур синусового вузла. Для вивчення механізму таких змін провели дослідження чутливості серця до ендogenous (подразнення правого блукаючого нерва) та екзогенного (внутрішньовенне введення) АХ, що дозволяє скласти уявлення про резерви медіатора в холінергічних пресинаптичних терміналях, які підходять до кардіоміоцитів синоатріального вузла, чутливість постсинаптичних холінорецепторів та, опосередковано, про холінестеразну активність міокарда.

Результати досліджень показали, що активація ОР суттєвіше посилює вивільнення АХ пресинаптичними терміналями парасимпатичних нервових волокон та чутливість постсинаптичних холінорецепторів міокарда в самців, хоча за абсолютними величинами ці показники не перевищували відповідні в самок. Розвиток АПМ на тлі активованих ОР у самців на 1 год АПМ_{ДАЛ} супроводжувався зростанням $I_{B_{n,V}}$, порівняно з інтактними, а на 24 год АПМ_{ДАЛ} реєстрували значно нижче значення $I_{B_{n,V}}$, що свідчило про суттєве зменшення кількості медіатора, який викидався в синаптичну щілину. Це твердження є справедливим, враховуючи незмінність на даному етапі дослідження чутливості постсинаптичних рецепторів, про що свідчила відсутність динаміки показника $I_{B_{AX}}$. У самок на 1 год АПМ_{ДАЛ} величина $I_{B_{n,V}}$ не зазнала істотних змін і не відрізнялась від величини інтактних особин. Проте на 24 год АПМ_{ДАЛ} спостерігали суттєве зменшення негативного хронотропного ефекту від подразнення блукаючого нерва. Реакція серця самок на введення АХ також суттєво зменшувалася на обох етапах модельованої патології. Подібна динаміка показників у самців і самок

може бути ознакою адаптації міокарда до можливої гіперполяризації, враховуючи той факт, що тривалість брадикардії, яку реєстрували при введенні АХ на 1 год АПМ_{ДАЛ} збільшувалася в самців у 6,6 раза ($p < 0,001$), в самок – у 4,3 раза ($p < 0,002$). Очевидно, достатні запаси медіатора та економний режим його використання забезпечували ефективну реалізацію холінергічних впливів за даних умов.

Узагальнюючи отримані результати можна сказати, що моделювання некротичного процесу на тлі активованих ОР сприяє більш активній перебудові та участі холінорецепторної системи серця самців. Разом з тим, незважаючи на інтенсивнішу динаміку аналізованих показників у них, перевага самок за більшістю з параметрів активності холінергічної ланки АНС, залишається очевидною.

У даних результатах привертає увагу факт різноспрямованого впливу ДАЛ на холінореактивність серця здорових тварин та в умовах патології. Так, у контрольних тварин ДАЛ в дозі 0,01 мг/кг викликає зростання реакції серця на подразнення блукаючого нерва та введення АХ. Це свідчить, що ДАЛ виявляє ваготонічний ефект і узгоджується з результатами кардіоінтервалометрії та частково пояснює їх. Слід сказати, що ваготонічний ефект агоністів ОР підтверджується результатами інших наукових досліджень [168]. Разом з тим, в умовах нашого експерименту (АПМ) чутливість холінорецепторів до ендо- та екзогенного АХ зменшувалася, що, очевидно, відображало включення компенсаторно-адаптаційних механізмів, спрямованих на підтримання гомеостазу.

Останнім часом в науковій літературі з'являються дані про бімодальні ефекти агоністів ОР [168]. При вивченні ефектів стимуляції блукаючого нерва на анестезованих собаках використовували агоніст та блокатор сигма-ОР. Використовуючи агоніст ОР (метіонін-енкефалін-аргінін-фенілаланін) у малих дозах, було отримано результати, що вказували на ваготонічний ефект, який пов'язували з стимуляцією сигма-1-ОР. У великих дозах той самий препарат виявляв ваголітичний ефект, зумовлений, на думку вчених, із

активацією сигма-2-ОР [168]. В наших експериментах використовувався активатор ОР тільки в малій дозі, тому отримані результати могли бути опосередковані дією на специфічні субпопуляції ОР. Так, отриманий ваготонічний ефект можна гіпотетично вважати результатом активації сигма-1 та інших субпопуляцій ОР, тоді як ваголітичний ефект міг бути спричинений додатковим вивільненням власних опіодних пептидів організму у відповідь на введення адреналіну. Адже за результатами досліджень людей, що хворіли на ішемічну хворобу серця, було зроблено висновок, що в початковий період захворювання, під час приступів стенокардії вміст опіодних пептидів зростає [47, 59, 60, 141].

Спрямованість цього впливу залежить і від стану організму, зокрема, активності адренергічних впливів. Ще однією особливістю є те, що розвиток АПМ на тлі даларгіну в самок характеризується більш інтенсивним зменшенням холінореактивності пейсмейкерів синусового вузла, можливо, через вищу природну чутливість холінорецепторів до різноманітних впливів. Це також доводить залежність ефектів препарату від статі. На нашу думку, такий вплив агоніста ОР в умовах патології є доцільним і спрямованим на підтримку серцевого викиду, та попереджує розвиток аритмій від надмірного вагусного впливу [48, 110].

Наступним нашим завданням було дослідити метаболізм ацетилхоліну при АПМ в самців і самок за умов використання активатора ОР, оскільки відмінність у холінореактивності серця між самцями і самками при моделюванні АПМ на тлі активації периферичних ОР, може бути зумовлена крім різної чутливості холінорецепторів на постсинаптичній мембрані, різницею в кількості запасів медіатора в пресинаптичних терміналях та певними особливостями метаболізму АХ, що, на рівні кардіоміоцитів, приймає участь у регуляції метаболічних процесів. Виходячи з уявлень про метаболізм АХ в серці, для створення цілісної картини необхідно було дослідити його вміст та активність ферментативного гідролізу на етапі

початкових некротичних змін (1 год АПМ) та піку некротизування (24 год АПМ).

Введення ДАЛ контрольним тваринам викликало збільшення вмісту АХ в передсердях самців у 1,6 раза ($p < 0,001$) і самок у 2,5 раза ($p < 0,001$), що відображало значний вплив активатора ОР на метаболізм АХ, вивільнення цього нейромедіатора в синаптичну щілину пресинаптичними нервовими закінченнями, а також меншою, порівняно з самцями, ХЕА міокарда. Розвиток на цьому тлі АПМ супроводжувався зменшенням концентрації АХ. Зокрема, в самців – до рівня інтактних особин, що спостерігали вже на 1 год АПМ_{ДАЛ}. У самок на 1 год АПМ_{ДАЛ} концентрація АХ в передсердях також дещо зменшилася, але перевищувала показник інтактних самок на 47,8 % ($p < 0,02$). На стадії максимальних некротичних змін у серці (24 год АПМ_{ДАЛ}) рівень АХ достовірно не відрізнявся від величини інтактних у особин обох статей. У шлуночках цих тварин зміни вмісту АХ були недостовірними.

При порівнянні груп тварин різної статі за вмістом АХ в передсердях та шлуночках встановили, що в інтактних тварин достовірна відмінність за цим показником була лише у шлуночках. Після введення ДАЛ вміст медіатора в передсердях та шлуночках виявився більшим також у самок. Ця закономірність збереглася і при розвитку патології. Проте на 24 год АПМ_{ДАЛ} різниця між різностатевими тваринами за аналізованим показником нівелювалася.

Наявність більш вираженої динаміки вмісту та ферментативного гідролізу АХ в передсердях дозволяє думати, що зареєстровані зміни стосувалися більшою мірою медіаторної фракції АХ. Даний факт підтверджується аналізом співвідношення вмісту АХ в передсердях та шлуночках (АХ_{пс}/АХ_{шл}). Динаміка цього показника корелювала з тією, що відображала зміни вмісту медіатора саме в передсердях.

Незважаючи на розвиток модельованої патології (АПМ_{ДАЛ}) та зменшення концентрації АХ в передсердях в динаміці некрозоутворення, його абсолютне значення зафіксувалося на рівні інтактних тварин як у

самців, так і в самок, цьому сприяло синергічне зменшення активності гідролізу. Слід сказати, що за таких умов завдяки інтенсивнішому пригніченню холінестеразної активності міокарда в самок, вміст АХ в міокарді їхніх передсердь на етапі максимальних патологічних змін виявився більшим, ніж у самців. Збереження сталої концентрації АХ в даних умовах у шлуночках самок відбувалося при більш інтенсивному, ніж у самців, пригніченню його гідролізу, що могло вказувати на забезпечення адекватних умов метаболізму АХ.

Логічно припустити, що більша чутливість міокардіальних холінорецепторів до ендогенного та екзогенного АХ та більший вміст ацетилхоліну в серці самок сприяє менш інтенсивному пошкодженню міокарда в тварин цієї статі. Для підтвердження даної думки було вивчено ступінь некротичних змін у міокарда при реалізації кардіотоксичного ефекту адреналіну на тлі активованих опіатних рецепторів. Морфометричний аналіз гістологічних зрізів міокарда шлуночків, забарвлених за Гейденгайном, на 1 год АПМ_{ДАЛ} виявив, що кількість некротизованих кардіоміоцитів у самців виявилася на 29,2 % ($p < 0,05$), а на 24 год АПМ_{ДАЛ} – на 21,7 % ($p < 0,05$) меншою, ніж без корекції. У самок на 1 год АПМ ступінь пошкодження міокарда адреналіном був менший при застосуванні ДАЛ на 33,3 % ($p < 0,05$), а на 24 год АПМ_{ДАЛ} – на 33,7 % ($p < 0,01$). Проведений аналіз підтвердив наше припущення про кардіопротекторні властивості даларгіну. Разом з тим слід зазначити, що більш виражений захисний ефект препарату виявлявся в самок.

Згідно даних Л.Н. Маслова и др. [75], активація периферичних мю-ОР ефективно попереджує стрес-індуковану деструкцію мембран кардіоміоцитів та сприяє послабленню стрес-індукованої контрактури кардіоміоцитів, що опосередковано вказує на зменшення перевантаження їх Ca^{2+} [76]. Окрім того є дані, що антиадренергічний ефект опіодних пептидів реалізується і на постсинаптичному рівні [60]. Це пов'язано з конкуренцією опіодів і катехоламінів за аденілатциклазу кардіоміоцитів. Катехоламіни, як відомо,

активують синтез цАМФ в міокарді, а опіюїдні пептиди інгібують аденілатциклазу, знижують біосинтез цАМФ та мають антиадренергічну дію [78], що, очевидно, сприяє зміщенню балансу циклічних нуклеотидів у бік переважання ролі цГМФ, головного посередника реалізації внутрішньоклітинних ефектів АХ в клітинах міокарда.

У ході досліджень холінергічної регуляції серця самців і самок не міг залишитися поза увагою факт зменшення кількості загиблих тварин при моделюванні адреналінового пошкодження міокарда на тлі активованих опіатних рецепторів. Ця деталь потребувала детальнішого вивчення, оскільки в доступних нам літературних джерелах це питання взагалі не висвітлено. З цією метою було проведено аналіз відсотка загиблих тварин при моделюванні АПМ без впливу модуляторів та за застосування даларгіну.

При моделюванні АПМ без впливу модуляторів ОР самок загинуло в 1,9 раза менше, ніж самців. Застосування даларгіну зменшило відсоток загиблих самців у 3,4 раза, а щодо самок, то ефект препарату виявився достатнім, щоб забезпечити виживання всіх тварин цієї статі. Разом з тим, прямо пропорційної залежності між відсотком некрозів та відсотком загиблих тварин у групах, що різняться за статтю не було. Очевидно, що це зумовлено багатогранністю ефектів опіюїдних пептидів, зокрема, таких як антиаритмічного [13, 25, 146], антигіпоксичного, метаболічного та мембраностабілізуючого [41].

Відомо, що провідна роль у механізмах деструкції кардіоміоцитів, викликаній адреналіном, відводиться порушенню балансу між системами про- та антиоксидантів, тобто активації так званих „ліпідних” механізмів пошкодження клітини. Для глибшого розуміння патогенезу адреналінового пошкодження міокарда на тлі даларгіну, ми вважали за доцільне вивчити ці процеси, визначаючи вміст дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду, активність супероксиддисмутази, каталази та вміст SH-груп.

Отримані дані показали, що введення адреналіну в кадіотоксичній дозі зумовлює суттєву перебудову функціонування системи про- та

антиоксидантів у тварин обох статей. Однак, більш інтенсивне та прогресуюче нагромадження продуктів ліпопероксидації в міокарді шлуночків самців свідчить про більшу вразливість міокарда тварин цієї статі до патогенного впливу адреналіну. В свою чергу, менша активність АОС відображає меншу здатність системи антиоксидантів до швидкого та адекватного по силі захисту міокарда за даних умов.

При моделюванні АПМ на тлі активації ОР даларгіном порівняння тварин різної статі показало, що вміст метаболітів, які відображають активність мембраноруйнівних процесів у міокарді, був більший у самців, ніж у самок. Важливу роль у адаптації серця до пошкодження відіграла активація системи антиоксидантів, адже вона продемонструвала досить потужну динаміку – в самців на 1 та 24 год АПМ_{ДАЛ} активність СОД та вміст SH-груп були більшими, ніж аналогічні показники інтактних тварин. Активність КАТ на 1 год АПМ_{ДАЛ} зросла, а на 24 год АПМ_{ДАЛ} – зменшилася до рівня інтактних особин. Це явище може вказувати на недоцільність значної активації цього ферменту на даному етапі досліджень, що може бути внаслідок відсутності великої кількості пероксиду водню, який знешкоджується каталазою. Адже, як видно з попередніх результатів, адаптаційна захисна реакція холінергічної ланки АНС на етапі максимальних некротичних змін була менш вираженою і, за багатьма показниками, її стан повернувся до рівня інтактних тварин. Окрім цього, дія даларгіну триває близько доби, отже, на 24 год АПМ_{ДАЛ} рівень опіюйдних пептидів у міокарді був меншим, що зумовило зменшення кардіопротекторних впливів препарату. Ще одним переконливим доказом цього факту є суттєвий приріст активності КАТ на початковому етапі АПМ, який можна пояснити необхідністю нейтралізації не лише продуктів ліпопероксидації. Відомо, що при окисненні адреналіну в адренохром утворюється семихінон адреналіну [64]. Він може переносити електрон на кисень, сприяти утворенню супероксидрадикалу та додатково активувати ПОЛ. Слід думати, що саме з

нейтралізацією пероксиду водню, що посилено утворюється в даних умовах, у деякій мірі пов'язана динаміка ферментативної ланки АОС.

У самок реакція АОС продемонструвала ще кращу готовність до захисту міокарда від продуктів ПОЛ. Всі досліджувані показники при моделюванні АПМ на тлі ДАЛ були більшими, ніж при перебігу АПМ без корекції даларгіном. Досить потужну захисну реакцію кардіоміоцитів від негативного впливу адреналіну продемонструвала також неферментативна ланка АОС за участі SH-груп цистеїну, що виступає в якості донатора атомів водню, таким чином приймаючи участь у пероксидазній реакції. Наявність достатнього вмісту SH-груп свідчила про наявність резервних можливостей АОС, спрямованих на захист міокарда від вільних радикалів.

Враховуючи той факт, що приріст активності як СОД, так і КАТ був інтенсивніший у самок щурів, можна думати про створення даларгіном кращого фону для захисту міокарда від токсичного впливу адреналіну саме в тварин цієї статі.

З отриманих даних випливає, що попередня стимуляція ОР, у значній мірі, покращує функціонування ферментативної ланки АОС. Однак така активація СОД при розвитку АПМ, очевидно, виявилася недостатньою для того, щоб захистити міокард у повній мірі від пошкодження адреналіном, а саме, від активних форм кисню. Підтвердженням цього були дані морфометричного дослідження. Стимулюючий вплив активатора ОР на активність СОД і каталази міокарда самок, на наш погляд, забезпечив більшу толерантність серця до окисного стресу в умовах адреналінового пошкодження, що сприяло зменшенню кількості продуктів ПОЛ у міокарді. Ці результати пояснюють відмінність між тваринами різної статі за відсотком некротизованих кардіоміоцитів.

Отримані результати, що свідчать про меншу стійкість самців до стресорного гормону адреналіну навіть за застосування даларгіну, підтверджуються дослідженнями інших науковців. Було показано, що підвищена кардіоваскулярна стрес-активність у щурів-самців зумовлена

природнім підвищенням активності симпато-адреналової системи і чутливості серцево-судинної системи до її впливів. У наших експериментах саме завдяки даларгіну роль холінергічних процесів у адаптації серця самців зростала, про що свідчили збільшення на 1 год АПМ_{дал} чутливості серця до подразнення блукаючого нерва та тривалості брадикардії, яка виникала при введенні АХ в вену. У самок, очевидно, розвиток патологічних змін у серці в значній мірі стримується за рахунок вищих функціональних резервів холінергічної системи та більш виражених її впливів на серцево-судинну систему [9].

Таким чином, за застосування активатора ОР, динаміка показників, що відображають обмеження негативного впливу катехоламіну, більш сприятливою виявилася в самок-щурів з точки зору стійкості до кардіонекрозогенного впливу адреналіну.

На відміну від лігандів ОР, у яких ідентифіковано природні аналоги в організмі людини та інших ссавців, зокрема такі як лей-енкефалін, мет-енкефалін та ін., у синтетичних блокаторів цієї групи рецепторів на даний час не виявлено природних аналогів в організмі людини та тварин. Деякі науковці пропонували називати опіоїдами як агоністи, так і антагоністи ОР, оскільки в них виявлялися іноді протилежно спрямовані ефекти. Існує думка, що окремі з них можуть виступати одночасно в ролі агоністів і антагоністів по відношенню до різних субпопуляцій ОР, та мати протилежні ефекти, залежно від дози препарату, що доводять експериментально та пояснюють їх впливом на різні субпопуляції ОР [168]. У більшості досліджень розглядаються ефекти налоксону, як блокатора ОР, який здатний нейтралізувати дію ліганда ОР [65]. Однак при застосуванні НАЛ помітними є й кардіотропні ефекти препарату [184, 190]. Але наукових даних, які б відображали особливості холінергічної регуляції серця при некротичному його пошкодженні, немає. Саме вирішенню цього завдання було присвячено наші подальші дослідження.

За аналогічною, як і при вивченні впливу активатора ОР даларгіну, схемою та в тій самій послідовності було вивчено вплив блокатора ОР налоксону на особливості холінергічної регуляції серця в тварин різної статі при моделюванні АПМ.

Результати варіаційної кардіоінтервалометрії показали, що введення НАЛ достовірно не вплинуло на більшість показників тварин обох статей. У самців (контрольна група тварин) змінився лише показник варіаційного розмаху (зменшився на 7,9 % ($p < 0,05$)), що свідчило про обмеження ролі вагуса в регуляції серцевого ритму. У самок змін зазнав показник АМо (збільшився на 19,3 % ($p < 0,05$)) та інтегральний показник ІН, який зріс на 32,5 % ($p < 0,05$), порівняно з аналогічним показником інтактних тварин і свідчив про посилення адренергічних впливів на серцевий ритм.

Реалізація кардіотоксичного впливу адреналіну на тлі НАЛ відбувалася в умовах переважання адренергічних впливів з боку АНС за рахунок обмеження холінергічних, на що вказувало не тільки зменшення величини ΔX в динаміці некротичного процесу, але й менше його значення, порівняно з групою тварин, яким налоксон не вводили. Така відмінність була особливо помітною у самок. Крім того, автономна регуляція серцевого ритму останніх демонструвала ще й більшу роль адренергічної ланки, про що свідчило більше, порівняно з тваринами некорегованої групи, значення АМо. Разом з тим, застосування НАЛ та зміни показників кардіоінтервалографії, які реєструвалися в умовах розвитку некротичного процесу, не вплинули на інтегральний показник – ІН.

Враховуючи, що НАЛ, хоча й меншою мірою, ніж ДАЛ, виявив кардіопротекторний ефект, встановлені відмінності в регуляції серця з боку АНС слід вважати доцільними. Загальновідомо, що НАЛ вільно проникає через гематоенцефалічний бар'єр, отже наявні особливості його ефектів можна розглядати як своєрідну сумачію периферичних та центральних впливів на регуляцію серця з боку АНС. Разом з тим, суттєвіше зменшення ролі холінергічної ланки автономної регуляції за застосування налоксону

саме в самок суттєво зменшило статеву відмінність за відсотком загиблих у експерименті тварин.

Подальше вивчення реакцій серця на ендо- та екзогенний АХ при введенні НАЛ контрольним тваринам показало зменшення $ІБ_{n.v}$ інтенсивніше у самок, що нівелювало відмінність за даним показником між різностатевими тваринами. Така ж закономірність була справедливою і для показника $ІБ_{АХ}$. На тлі блокади ОР показник $ТБ_{АХ}$ в самців зменшився у 2,9 раза, а в самок – у 6 разів. У результаті більш інтенсивної динаміки цього показника в самок, достовірна різниця між тваринами різної статі, яка була виявлена в інтактних особин, зникла. Отримані дані показали, що введення блокатора ОР налоксону пригнічує негативні хронотропні реакції серця тварин. Більш інтенсивна динаміка цих змін у самок є підтвердженням не тільки участі опіоїдної системи в реалізації холінергічних механізмів, але й залежності ступеня їх прояву від статі.

Моделювання АПМ на тлі НАЛ також зумовило певні зміни в реакціях серця самців і самок на електричну стимуляцію n. Vagus. Розвиток АПМ на тлі блокади ОР супроводжувався зменшенням $ІБ_{n.v}$ у тварин обох статей у динаміці розвитку некротичного процесу, але амплітуда змін була суттєвішою в самок. Так, у самців $ІБ_{n.v}$ на 1 год АПМ_{НАЛ} зменшилася в 2,0 раза, а в самок – у 3,3 раза, порівняно з аналогічними показниками інтактних тварин. На 24 год АПМ_{НАЛ} у самців спостерігали тенденцію до зростання $ІБ_{n.v}$, відмінність від показника інтактних тварин зменшилася до 39,1 %. У самок на даному етапі модельованої патології $ІБ_{n.v}$ була меншою, ніж відповідна величина інтактних особин, у 2,4 раза.

Порівняння показника $ІБ_{n.v}$ при різних експериментальних моделях (АПМ та АПМ_{ДАЛ}) також засвідчило суттєвіший вплив препарату на організм самок. Так, за моделі АПМ_{ДАЛ} у самців лише на 1 год спостереження значення $ІБ_{n.v}$ було в 2,0 раза меншим, ніж порівнювана величина в некорегованих тварин. У самок на обох етапах розвитку АПМ (1 та 24 год) відмінність становила 6,2 та 1,9 раза відповідно.

Аналогічну відмінність виявили при дослідженні реакції серця на внутрішньовенне введення АХ. У самців за моделі АПМ_{НАЛ}, подібно до груп тварин, яким корекція не проводилася, показник ІБ_{АХ} був малодинамічний і абсолютні величини різнилися лише на 24 год некрозоутворення. Зокрема, за моделі АПМ_{НАЛ} величина ІБ_{АХ} була меншою на 48,1 % ($p < 0,02$), ніж порівнювана величина в групі самців без корекції. У самок за обох модельних ситуацій даний показник змінювався односпрямовано. Проте абсолютна величина ІБ_{АХ} за моделі АПМ_{НАЛ} на 1 год була в 3,9 раза ($p < 0,01$), а на 24 год – у 3,4 раза ($p < 0,001$) меншою, ніж відповідний показник порівнюваної групи.

Величина тривалості брадикардії, що виникає у відповідь на введення АХ, є досить інформативним показником здатності рецепторів через реакцію десенситизації регулювати ефекти парасимпатичного медіатора. Слід сказати, що, незважаючи на суттєве зменшення величини ТБ під впливом налоксону, подальший розвиток некротичного процесу супроводжувався збільшенням даного показника.

Так, в самців на 1 год АПМ_{ДАЛ} спостерігали зростання ТБ до рівня показника контрольної групи тварин, яким вводили тільки блокатор ОР, та збереження на цьому ж рівні до 24 год спостереження. Абсолютна величина ТБ у них була на 1 год АПМ_{НАЛ} такою ж, як без корекції, а на 24 год АПМ_{НАЛ} – меншою на 41,6 % ($p < 0,01$) ніж показник тварин, яким НАЛ не вводили.

У самок даний показник демонстрував більш виражену динаміку, ніж у самців, яка чітко виявлялася на етапі максимального некрозоутворення (24 год АПМ_{НАЛ}). Розвиток некротичного процесу викликав зростання ТБ в 5,9 раза, що можна розцінити як адаптаційно-компенсаторну реакцію організму в умовах суттєвого зниження чутливості холінорецепторів, спровокованої НАЛ. Доказом є те, що значення та динаміка зміни ТБ на даному етапі некрозоутворення не відрізнялися від таких в групі самок, де НАЛ не використовували. Одним із механізмів збільшення ТБ може бути

зменшення активності гідролізу АХ в передсердях (у 1,7 раза відносно групи контрольних тварин та в 1,5 раза порівняно з інтактними).

Слід зазначити, що не тільки активність гідролізу, а й вміст АХ змінювався після введення НАЛ. Блокування ОР зумовило нагромадження АХ в передсердях. Це відбулося, очевидно, за рахунок медіаторної фракції, враховуючи важливу функціональну роль пейсмеркерів даного відділу серця, синергічне зростання активності гідролізу АХ та відсутність динаміки показника в шлуночках. За даними показниками також прослідковується чітка статева різниця. Якщо в самців приріст медіатора становив 39,0 %, то в самок – 90,0 % при майже аналогічному збільшенні активності гідролізу медіатора.

У динаміці розвитку некротичного процесу вміст АХ в передсердях та шлуночках суттєво зменшувався, незважаючи на пригнічення активності його гідролізу. Це в однаковій мірі стосувалося тварин обох статей і могло свідчити про значні зміни синтезу АХ. Проте, якщо в самців дане явище мало домінуючий характер вже на 1 год АПМ_{НАЛ}, то в самок – на 24 год АПМ_{НАЛ}. Незважаючи на різний часовий пік виявлених змін, загальна картина показує, що, завдяки інтенсивнішій динаміці характеризованих показників у самок, статева відмінність, яка виникла між тваринами після введення НАЛ, стерлася.

Незважаючи на здавалося б негативну динаміку показників, які відображали метаболізм АХ в серці та холінореактивність міокарда, експериментальні дані продемонстрували протекторні властивості НАЛ. Виявилось, що попереднє введення НАЛ зменшило кількість загиблих самців при моделюванні АПМ в 2,3 раза, а самок – у 1,7 раза. Разом з тим, кардіопротекторний ефект не був вираженим. Відсоток некротизованих кардіоміоцитів дійсно виявився меншим, ніж у тварин, яким не вводили НАЛ, але ця відмінність була лише на 24 год АПМ і становила у самців 15,1 % ($p < 0,05$), а в самок – 17,9 % ($p < 0,05$).

Аналіз досліджуваних показників у статевому аспекті показав, що на 1 та 24 год АПМ_{НАЛ} кількість пошкоджених кардіоміоцитів у самок була меншою, ніж у самців відповідно на 40,6 % ($p < 0,02$) та 31,7 % ($p < 0,001$). Разом з тим, ця різниця виявилася меншою, ніж при моделюванні АПМ без будь-яких інших втручань. До прикладу, за моделі АПМ у самок відсоток некрозів на 1 та 24 год патології був меншим, ніж у самців, на 68,4 та 41,7 % відповідно. Пояснення цьому криється в динаміці показників, які відображають активність систем про- та антиоксидантів.

За обох моделей (АПМ та АПМ_{НАЛ}) відбувалося аналогічне за ступенем нагромадження ДК та МДА. Останній дещо менш інтенсивно накопичувався при застосуванні НАЛ в міокарді самців (24 год спостереження). Разом з тим, в межах однієї моделі (АПМ_{НАЛ}) більшу концентрацію метаболітів ліпопероксидації (ДК та МДА) виявили в міокарді самців.

Оцінюючи вплив НАЛ на реакцію АОС при порівнянні різних моделей патології (АПМ без корекції та на тлі налоксону) виявили, що в самців активність ключового ферменту антиоксидантного захисту СОД була вищою на 9,1 % ($p < 0,05$), ніж аналогічний показник некорегованої патології. Ця різниця реєструвалася лише на 1 год АПМ_{НАЛ}. У самок на 1 год АПМ_{НАЛ} активність СОД була більшою на 7,6 % ($p < 0,01$), ніж за моделі АПМ, а на 24 год при корекції розвитку АПМ налоксоном активність цього фермента утримувалася на попередньому рівні, в той час як без корегуючих впливів спостерігалось зменшення даного показника. Це зумовило збільшення різниці до 14,6 % ($p < 0,001$), тобто саме на таку величину активність СОД за моделі АПМ_{НАЛ} була більшою. Активність КАТ у самців на 24 год з моменту введення адреналіну в кардіотоксичній дозі в умовах блокади ОР була на 14,6 % ($p < 0,01$) меншою, ніж відповідний показник при моделюванні АПМ без корекції, а в самок за обох моделей динаміка та абсолютні значення не відрізнялися. На неферментативну ланку АОС застосування налоксону не вплинуло. І в самців, і в самок за обох експериментальних моделей динаміка та вміст SH-груп були аналогічними.

Порівнюючи динаміку показників активності процесів ліпопероксидації в тварин різної статі, слід сказати, що розвиток АПМ на тлі блокованих ОР викликав суттєвіші негативні зміни в самців. Антиоксидантна система більш інтенсивно функціонувала в міокарді шлуночків самок, що в деякій мірі пояснює менш інтенсивне накопичення кінцевого метаболіту ПОЛ – МДА.

Отримані дані підтверджують зроблені нами узагальнення попередніх результатів, що менша природжена чутливість серця самців до холінергічних впливів при розвитку некротичного процесу на тлі модуляторів ОР створює передумови до інтенсивнішого, ніж у самок, прогресування кардіонекротичних змін. Разом з тим, у блокатора ОР налоксону виявлено загальний протекторний вплив, про що свідчив менший відсоток загиблих тварин, та, хоч і незначний, але кардіопротекторний ефект (менший відсоток некротизованих кардіоміоцитів). Вищевказані ефекти блокування опіатних рецепторів налоксоном проявлялися на тлі суттєвого зниження холінореактивності міокарда та зменшення вмісту АХ в тканинах серця, зокрема в самок. На нашу думку, це пов'язано з наступною (після короткочасної блокади ОР) активацією власної опіоїдної системи організму, посиленням утворенням ендогенних опіоїдних пептидів та опіатних рецепторів. Серед чинників, що визначають регуляторну значимість посередників пептидної природи, є такі, як співіснування регуляторних пептидів із класичними медіаторами – ацетилхоліном і норадреналіном – в одних і тих самих нейронах, можливість ізольованого та сумісного з класичними медіаторами виділення пептидів в залежності від характеру імпульсації, що поступає з ЦНС, наявність у регуляторних пептидів здатності до прямої та опосередкованої через модуляцію вегетативних впливів дії на автоматизм серця [13, 25, 34]. У науковій літературі вітчизняних та зарубіжних авторів є дані про певну складність інтерпретації деяких ефектів модуляторів ОР. Це пов'язано, насамперед, з наявністю у них дозозалежних бімодальних ефектів [168], а також з існування реципрокного антагонізму між компонентами всередині самої опіоїдної системи. Є наукові дані, що

взаємовідносини ендокринних залоз (в тому числі статевих), досліджуваних органів та систем організму – з одного боку, і опіоїдної системи – з іншого, здебільшого визначаються вихідним станом експериментальних тварин: інтактний або стресований [59]. Деякі науковці вважають, що опіоїдна система приймає участь в пригніченні реакції гіпоталамо-гіпофізарно-адренкортикальної системи на стресорні впливи, тим самим обмежуючи стресорну гіперфункцію всіх основних її ланок [59].

Усі наведені дані підтвердили висловлене припущення про важливу модулюючу роль ендогенної опіоїдної системи в реалізації стрес-лімітуючих ефектів за участі холінергічних механізмів та виявили статеві особливості холінергічних впливів при формуванні компенсаторно-адаптаційних реакцій міокарда в умовах некротичного процесу.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення наукової задачі, що полягає у вивченні ролі опіатних рецепторів у формуванні холінергічних механізмів захисту серця в умовах пошкодження його адреналіном та встановленні статевих відмінностей ефективності реалізації кардіотоксичного ефекту адреналіну за високої та низької активності опіатних рецепторів.

1. Активація опіатних рецепторів даларгіном посилює участь холінергічної ланки автономної нервової системи в регуляції серцевого ритму, збільшує чутливість міокардіальних холінорецепторів, вміст ацетилхоліну в передсердях (за рахунок медіаторної фракції) та активність його гідролізу. Ефекти препарату інтенсивніше проявляються в самців, за винятком показників активності метаболізму ацетилхоліну (вміст медіатора в передсердях самців збільшився в 1,6 раза, $p < 0,001$, самок – у 2,5 раза, $p < 0,001$), не нівелюючи статевої відмінності, яка відображає переважання холінергічних механізмів у діяльності серця самок.

2. Розвиток некротичного процесу в міокарді на тлі активованих опіатних рецепторів характеризується поступовим зниженням тону парасимпатичної ланки автономної регуляції серцевого ритму, чутливості холінорецепторів та вмісту ацетилхоліну в передсердях, нівелюючи початкові ефекти даларгіну. Дана закономірність інтенсивніше проявляється в самок, чутливість міокарда яких до екзогенного ацетилхоліну залишається більшою, ніж у самців (у 4,3, $p < 0,001$ та 1,7 раза, $p < 0,001$ на 1 та 24 год некротизування міокарда), та тварин, яким попередньо не вводили даларгін (у 2,0 раза, $p < 0,01$ на 1 год розвитку некротичного процесу). Збереження вмісту ацетилхоліну в шлуночках відбувається завдяки зниженню активності його гідролізу, що в самок проявляється в більшій мірі.

3. Активатор опіатних рецепторів даларгін виявляє протекторні властивості, що підтверджується меншим відсотком загиблих самців та

відсутністю загибелі самок при реалізації кардіонекрозогенного ефекту адреналіну, меншим відсотком некрозів у міокарді, а також менш інтенсивним нагромадженням продуктів ліпопероксидації та потужнішою активацією системи антиоксидантів. Ступінь кардіопротекторного впливу даларгіну більш виражений у самок, що свідчить про залежність ефектів препарату від статі.

4. Неселективна блокада опіатних рецепторів налоксоном змінює вплив автономної нервової системи на серцевий ритм, що в самців проявляється обмеженням холінергічних, а в самок – посиленням адренергічних впливів. Чутливість холінорецепторів до подразнення блукаючого нерва та введення ацетилхоліну знижується (в самців у 2,2, $p < 0,001$ та 2,0, $p < 0,001$ рази відповідно, а в самок – у 3,0, $p < 0,001$ та в 5,4 рази, $p < 0,001$). Інтенсивніші зміни у самок нівелюють статеву відмінність. Блокування опіатних рецепторів викликає зростання вмісту та активності ферментативного гідролізу ацетилхоліну в міокарді передсердь, зниження активності його гідролізу в міокарді шлуночків, що також активніше проявляється в самок.

5. Блокування опіатних рецепторів не змінює закономірність динаміки та дещо зменшує інтенсивність негативних хронотропних ефектів серця самців при розвитку некротичного процесу, в самок – суттєво зменшує холінореактивність міокарда і викликає іншу закономірність змін реакції серця на холінергічні стимули при некротизуванні міокарда. Вміст та активність гідролізу ацетилхоліну за таких умов зменшується в міокарді передсердь та шлуночків, що в самців проявляється на 1 год, а в самок – на 24 год розвитку некротичного процесу. Більша інтенсивність цього процесу в самок нівелює вихідну відмінність між тваринами різної статі.

6. Введення кардіотоксичної дози адреналіну на тлі блокування опіатних рецепторів налоксоном викликає меншу, ніж за відсутності такого впливу, загибель тварин, дещо менший ступінь пошкодження міокарда, що проявляється лише на 24 год розвитку некротичного процесу. Це демонструє протекторні властивості налоксону, які краще проявляються в самок, про що

свідчить суттєвіше, ніж у самців, зменшення відсотка загиблих тварин, менший приріст кількості некротизованих кардіоміоцитів у динаміці некротичного процесу, менше накопичення метаболітів ліпопероксидації та напруження антиоксидантної системи.

7. Зміни метаболізму ацетилхоліну, чутливості серця до подразнення блукаючого нерва та екзогенного ацетилхоліну, зумовлені активацією та блокуванням опіатних рецепторів, свідчать про здатність опіоїдної системи впливати на активність холінергічних процесів у серці, суттєво не змінюючи закономірності природних адаптаційно-компенсаторних змін в умовах реалізації кардіотоксичного ефекту адреналіну.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абзалов Р. А. Содержание ацетилхолина и активность холинэстераз в тканях крыс, развивающихся в условиях различных двигательных режимов / Р. А. Абзалов, Р. Р. Нигматуллина, И. Г. Хурамшин // Бюлл. exper. биол. и мед. – 1997. – Т. 124, № 12. – С. 625–628.
2. Автандилов Г. Г. Проблемы патогенеза и патологоанатомической диагностики болезней в аспектах морфометрии / Г. Г. Автандилов // Москва : Медицина. – 1984. – С. 10–57.
3. Адреналінова міокардіодистрофія і реактивність організму / О. О. Маркова, І. Л. Попович, А. В. Церковнюк [та ін.] – Київ : Комп'ютерпрес, 1997. – 126 с.
4. Алейникова Л. И. Кому угрожает инфаркт миокарда. / Л. И. Алейникова – Киев : Здоров'я, 1981. – 80 с.
5. Алипов Н. Н. Пейсмекерные клетки сердца: электрическая активность и влияние вегетативных нейромедиаторов / Н. Н. Алипов // Успехи физиол. наук. – 1993. – Т. 24, № 2. – С. 37–69.
6. Анализ вариабельности сердечного ритма при использовании различных электрокардиографических систем / Р. М. Баевский, Г. Г. Иванов, Л. В. Чирейкин [и др.] // Вестн. аритмол. – 2001. – № 24. – С. 65–87.
7. Андреева Л. И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л. И. Андреева, Л. А. Кожемякин, А. А. Кишкун // Лабораторное дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
8. Анищенко Т. Г. Нормированная энтропия в оценке половых различий кардиоваскулярной чувствительности к атропину и пропранололу у интактных и стрессированных крыс [Електр. ресурс] / Т. Г. Анищенко, О. В. Глушкова-Семячкина // Математика.

- Компьютер. Образование. – 2001. – Вып. 8. – Режим доступа до журналу : <http://www.library.biophys.msu.ru/mce/20012801.htm>
9. Анищенко Т. Г. Половые аспекты стресса и адаптации / Т. Г. Анищенко // Успехи соврем. биол. – 1991. – Т. 111, вып. 3. – С. 460–475.
 10. Анищенко Т. Г. Половые различия в чувствительности белых крыс к адреналину / Т. Г. Анищенко, Е. В. Гудкова // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1992. – Т. 113, № 6. – С. 627–629.
 11. Анищенко Т. Г. Половые различия холинергического статуса у белых крыс / Т. Г. Анищенко, Б. Н. Мамонтов, А. Н. Шорина // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1992. – Т. 114, № 10. – С. 351–353.
 12. Антиаритмические свойства эстрогенов / А. И. Матюшин, Н. В. Каверина, Н. Л. Шимановский [и др.] // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 2006. – Т. 143, № 3. – С. 312–315.
 13. Антиаритмический эффект (-)-U-50.488 в условиях острой ишемии и реперфузии сердца связан с активацией каппа-1-опиоидных рецепторов / Л. Н. Маслов, А. Ю. Лишманов, Н. В. Соленкова [и др.] // Эксперим. клин. фармакология. – 2005. – Т. 68, № 1. – С. 25–29.
 14. Баевский Р. М. Вариабельность сердечного ритма: теоретические аспекты и возможности клинического применения / Р. М. Баевский, Г. Г. Иванов // Ультразвук. и функцион. диагностика. – 2001. – № 3. – С. 108–127.
 15. Баевский Р. М. Математический анализ изменений сердечного ритма при стрессе / Р. М. Баевский, О. И. Кириллов, С. З. Клецкин – М. : Наука, 1984. – 221 с.
 16. Балаболкин М. И. Роль окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений диабета / М. И. Балаболкин, Е. М. Клебанова // Пробл. эндокрин. – 2000. – Т. 46, № 6. – С. 29–34.

- 17.Белялов Ф. И., Вариабельность сердечного ритма при многодневном наблюдении за течением нестабильной стенокардии / Ф. И. Белялов. С. Г. Куклин // Кардиология. – 2002. – Т. 42, № 1. – С. 48–51.
- 18.Біологічний метод визначення вмісту ацетилхоліну в міокарді щурів / В. В. Файфура, Л. М. Сас, Н. Я. Потіха [та ін.] // Мед. хімія. – 2004. – Т. 6, № 4. – С. 118–121.
- 19.Вариабельность и спектральный анализ сердечного ритма в диагностике дисфункций синусового узла / И. М. Воронин, Ю. А. Говша, Т. А. Истомина [и др.] // Кардиология. – 1999. – Т. 39, № 10. – С. 32–34.
- 20.Вариабельность ритма сердца: представления о механизмах / С. А. Котельников, А. Д. Ноздрачев, М. М. Одинак [и др.] // Физиол. человека. – 2002. – Т. 28, № 1. – С. 130–143.
- 21.Веревкина Н. В. Колориметрический метод определения SH-групп и SS-связей в белках при помощи 5,5-дитиобис (2-нитробензойной) кислоты / Н. В. Веревкина, А. И. Точилкин, Н. А. Попова // Современ. методы в биохимии. – Москва : Медицина, 1977. – С. 223–231.
- 22.Влияние 17 β -эстрадиола и его изомера 17 α -эстрадиола на обучение крыс с хроническим холинергическим дефицитом в мозге / Н. Н. Лермонтова, В. К. Пъчев, Б. К. Безноско [и др.] // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 2000. – Т. 129, № 5. – С. 525–527.
- 23.Влияние активации K(ATФ)-канала на электрическую стабильность миокарда крыс с постинфарктным кардиосклерозом / Н. В. Соленкова, Л. Н. Маслов, В. Ю. Серебров [и др.] // Эксперим. и клин. фармакол. – 2004. – Т. 67, № 3. – С. 10–13.
- 24.Влияние нейротензина и адреналина на синусовую аритмию при залповом раздражении блуждающего нерва / О. Е. Осадчий, В. М. Покровский, О. Г. Компаниец [и др.] // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1997. – Т. 129, № 5. – С. 494–497.

25. Влияние опиоидных пептидов на развитие ишемических аритмий при лазерном облучении в условиях нарушенной симпатической иннервации сердца / С. Д. Михайлова, А. В. Соколов, Т. М. Семушкина [и др.] // Бюлл. exper. биол. и мед. – 1999. – Т. 127, № 4. – С 374–377.
26. Влияние острого и хронического стрессорного воздействия на структурно-функциональное состояние мембран кардиомиоцитов и форменных элементов / Л. С. Мхитарян, Н. Н. Орлова, И. Н. Евстратова [и др.] // Укр. кардіол. журн. – 1998. – № 5. – С. 47–51.
27. Вплив L-аргініну і блокатора синтази оксиду азоту N ω -нітро-L-аргініну на вміст катехоламінів у крові щурів за умов стресу / Н. М. Кургалюк, Т. М. Мишутіна, Т. В. Серебровська та ін. // Ендокринологія. – 2002. – Т. 7, № 1. – С. 73–76.
28. Гавриллов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гавриллов, М. И. Мишкорудная // Лабораторное дело. – 1983. – № 3. – С. 33–35.
29. Ганонг В. Ф. Фізіологія людини: підручник / Вільям Ф. Ганонг [пер. з англ. Наук. ред. перекладу М. Гжегоцький, В. Шевчук, О. Заячківська]. – Львів : БаК, 2002. – 784 с.
30. Гибель, элиминация и регенерация кардиомиоцитов мышей после гипертермии / Е. Л. Лушникова, Л. М. Непомнящих, О. П. Молодых [и др.] // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 2000. – Т. 130, № 8. – С. 228–231.
31. Гиниатуллин Р. А. Играет ли физиологическую роль десенситизация холинорецепторов в нервно-мышечном синапсе? / Р. А. Гиниатуллин, Л. Г. Магазаник // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 1998. – Т. 84, № 1–2. – С. 3–14.

- 32.Гладкова А. И. Последствия стресса для полового поведения самцов и их потомков / А. И. Гладкова, Н. П. Смоленко, В. Н. Золотухин // Пробл. эндокр. патологии. // – 2008. – № 4. – С. 76–83.
- 33.Глушковская-Семячкина О. В. Половые различия в содержании оксида азота в крови нормотензивных и гипертензивных крыс в покое и при стрессе / О. В. Глушковская-Семячкина, Т. Г. Анищенко, О. В. Лексина // Успехи современного естествознания. // – 2004. – № 10. – С. 28.
- 34.Действие метенкефалина на синусовую аритмию при залповом раздражении блуждающего нерва / О. Е. Осадчий, В. М. Покровский, И. Л. Челядник [и др.] // Бюлл. exper. биол. и мед. – 1993. – № 7. – С. 4–6.
- 35.Динамика адаптационных индексов, перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита при нестабильной стенокардии / А. А. Николаева, Е. И. Николаева, Л. В. Попова [и др.] // Кардиология. – 1998. – Т. 38, № 7. – С. 16–20.
- 36.Довгалецкий П. Я. Показатели вариабельности ритма сердца у больных ишемической болезнью сердца в зависимости от тяжести атеросклероза коронарных артерий (по данным селективной коронарографии) и функционального класса стенокардии / П. Я. Довгалецкий, О. К. Рыбак Н. В. Фурман // Кардиология. – 2002. – Т. 42, № 9. – С. 17–22.
- 37.Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142–145.
- 38.Збільшений вміст стабільних метаболітів оксиду азоту в крові мешканців високогір'я / В. Ф. Сагач, Л. Б. Долман, А. В. Коцюруба [та ін.] // Фізіол. журн. – 2002. – Т. 48, № 5. – С. 3–8.
- 39.Зефирова Т. Л. Возрастные особенности реакции сердечного ритма интактных и десимпатизированных крыс на введение атропина /

- Т. Л. Зефирова, Н. В. Святова // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1999. – Т. 128, № 12. – С. 627–629.
40. Зміни системи оксиду азоту при гострій ішемії та реперфузії міокарда / О. О. Мойбенко, М. Я. Юзьків, А. В. Коцюруба [та ін.] // Фізіол. журн. – 2000. – Т. 46, № 6. – С. 3–11.
41. Значение каппа-1-опиоидных рецепторов и цАМФ в регуляции устойчивости изолированного сердца к действию ишемии и реперфузии / Т. В. Ласукова, Л. Н. Маслов, А. А. Платонов, и др. // Известия РАН. Серия биологическая. – 2008. – № 5. – С. 580–588.
42. Изменение М-холинореактивности миокарда лягушки под влиянием сыворотки пуповинной крови человека / В. И. Циркин, А. Н. Трухин, Е. Н. Сизова [и др.] // Рос. кардиол. журн. – 2004. – № 2. – С. 64–69.
43. Изменение устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям в условиях активации АТФ-зависимых K^+ -каналов / С. А. Богомаз, Л. Н. Маслов, А. В. Крылатов [и др.] // Росс. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 2003. – Т. 89, № 4. – С. 409–419.
44. Изменение экспрессии белков и ультраструктуры сердечной мышцы под влиянием изопротеренола / Т. В. Дуднакова, В. Л. Лакомкин, В. Г. Цыпленкова [и др.] // Кардиология. – 2002. – Т. 42, № 11. – С. 57–63.
45. Изопротеренол потенцирует мерцание предсердий, вызываемое ацетилхолином / О. Ф. Шарифов, В. В. Федоров, Г. Г. Белошапко [и др.] // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 2001. – Т. 87, № 10. – С. 1296–1308.
46. Инфаркт миокарда у женщин: факторы риска и клинические последствия / Е. Л. Федорова, З. Г. Бондарева, А. Д. Куимов [и др.] // Клин. мед. – 2003. – Т. 89, № 6. – С. 28–32.
47. К механизму протективного действия даларгина на развитие ишемических аритмий сердца / С. Д. Михайлова, Г. И. Сторожаков,

- Н. А. Бебякова [и др.] // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1996. – Т. 122, № 8. – С 176–178.
48. Каверина Н. В. Противофибрилляторное действие антиаритмических средств различных классов в условиях активации парасимпатической нервной системы / Н. В. Каверина, Г. Г. Чичканов, Н. Б. Цорин // Эксперим. и клин. фармакол. – 2004. – Т. 67, № 6. – С. 30–31.
49. Караченцев А. Н. Эстрогены и инфаркт миокарда / А. Н. Караченцев, Г. Я. Шварц, В. Г. Кукес // Пробл. эндокринол. – 1998. – Т. 44, № 6. – С. 49-54.
50. Кардіогемодинамічні та метаболічні компоненти у ефекторній структурі адренергічних реакцій серця / А. І. Хомазюк, О. П. Нещерет, І. В. Гончар, [и др.] // Фізіол. журн. – 2002. – Т. 48, № 2. – С. 81.
51. Киричек Л. Т. Лекарственная защита миокарда при сердечно-сосудистых заболеваниях стрессового генеза / Л. Т. Киричек, Э. В. Карнаух // Междунар. мед. журнал. – 1999. – № 3. – С. 98–103.
52. Кобрин В. И. Антиаритмический эффект эстрадиола дипропионата у животных разного пола / В. И. Кобрин, Е. Д. Игнатова, Ю. В. Балякин // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1993. – Т. 115 № 5. – С. 486–487.
53. Кулешова Э. В. Антагонисты кальция и их роль при лечении заболеваний сердечно-сосудистой системы / Э. В. Кулешова // Вест. аритмол. – 1998. – С. 50–58.
54. Лагодич Т. С. Вплив донорів оксиду азоту на скоротливу функцію міокарда / Т. С. Лагодич // Фізіол. журн. – 2001. – Т. 47, № 1. – С. 34–38.
55. Ланкин В. З. Свободнорадикальные процессы при заболеваниях сердечно-сосудистой системы / В. З. Ланкин, А. К. Тихазе, Ю. Н. Беленков // Кардиология. – 2000. – Т. 40, № 7. – С. 48–61.
56. Лепявко А. Статеві відмінності варіаційних пульсограм старих щурів за адреналінового пошкодження міокарда / Андрій Лепявко,

Ганна Сатурська // XII Міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених, березень 2008 р. : матеріали конгресу. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2008. – С. 179.

57. Литвицкий П. Ф. Патогенные и адаптивные изменения в сердце при его регионарной ишемии и последующем возобновлении коронарного кровотока / П. Ф. Литвицкий // Патол. физиол. и эксп. тер. – 2002. – № 2. – С. 2–12.
58. Лишманов Ю. Б. Использование центрального введения агонистов сигма-1 и сигма-2-опиатных рецепторов для предупреждения адреналовых аритмий в эксперименте / Ю. Б. Лишманов, Д. С. Угдыжекова, Л. Е. Маслов // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1997. – Т. 124, № 6. – С. 167–169.
59. Лишманов Ю. Б. Энкефалины и гормонально-метаболические реакции при различных по тяжести видах стресса / Ю. Б. Лишманов, Т. В. Ласукова, Л. А. Алекминская // Бюлл. эксп. биол. мед. – 1985. – № 3. – С. 286–289.
60. Лишманов Ю. Б. Эндогенная опиоидная система и устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям / Ю. Б. Лишманов, Л. Н. Маслов // Кардиология. – 2002. – Т. 42, № 3. – С. 51–57.
61. Лугай М. І. Захворюваність і смертність від хвороб системи кровообігу в Україні / М. І. Лугай, А. П. Дорогий // Нова медицина. – 2002. – № 3. – С. 18–21.
62. Лякишев А. А. Влияние азимилида на смертность у больных с нарушенной функцией левого желудочка и низкой вариабельностью ритма сердца после недавнего инфаркта миокарда / А. А. Лякишев // Кардиология. – 2004. – Т. 44, № 6. – С. 85.
63. Манухина Е. Б. Небиволол – суперселективный β -адреноблокатор и индуктор синтеза NO в эндотелии сосудов / Е. Б. Манухина // Кардиология. – 2001. – Т. 41, № 7. – С. 96–103.

- 64.Маркова О. О. Міокардіодистрофія і реактивність організму / О. О. Маркова. – Тернопіль : Укрмедкнига, 1998. – 152 с.
- 65.Маслов Л. Н. Антиаритмическое действие агонистов мю-опиатных рецепторов при адреналовых аритмиях: роль вегетативной нервной системы / Л. Н. Маслов, А. В. Крылатов, Ю. Б. Лишманов // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1996. – № 7. – С. 25–27.
- 66.Медведев А. Е. О возможном участии протеинкиназы в цАМФ-зависимой активации окислительных ферментов митохондрий / А. Е. Медведев, А. К. Кунцевич, Л. В. Труфанова // Сб. науч. тр. Краснояр. мед. ин-та. Красноярск. – 1983. – С. 32–36.
- 67.Меерсон Ф. З. Защита сердца от ишемических повреждений сердца: роль стресс-лимитирующих систем и стабилизации структур миокарда / Ф. З. Меерсон // Росс. физиол. журнал. – 2001. – № 5. – С. 5–9.
- 68.Меерсон Ф. З. Первичное стрессорное повреждение миокарда и аритмическая болезнь сердца / Ф. З. Меерсон // Кардиология. Часть II. – 1993. – Т. 33, № 5. – С. 58–64.
- 69.Меерсон Ф. З. Увеличение тонуса блуждающего нерва при адаптации к непрерывному стрессорному воздействию и ограничение сердечных аритмий / Ф. З. Меерсон, В. И. Кузнецов // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1990. – Т. 109, № 5. – С. 423–425.
- 70.Мельник В. И. Динамика изменения Na,K-АТФазной активности в процессе развития вызванного изопротеренолом некроза миокарда крыс / В. И. Мельник, Р. Н. Глебов // Бюлл. экспер. биол. и мед. – 1984. – № 8. – С. 184–186.
- 71.Меркулов Г. А. Курс патологогистологической техники / Г. А. Меркулов. – Л. : Изд.-во „Медицина” Ленинградское отделение, 1969. – С. 171–172.

- 72.Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
- 73.Міщенко В. І. Реакції перекисного окиснення ліпідів і гемостазу у різних тканинах при гострому емоційно-больовому стресі / В. І. Міщенко // Фізіол. журн. – 2002. – Т. 48, № 6. – С. 66–69.
- 74.Модулирующее влияние лигандов μ -опиатных адренергическое звено патогенеза стрессорного повреждения сердца / Ю. Б. Лишманов, Н. В. Нарыжная, Ю. Г. Ревинская [и др.] // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1998. – Т.126, №11 – С 510–512.
- 75.Морфофункциональные проявления кардиопротекторного эффекта стимуляции μ -опиатных рецепторов в условиях стресса / Л. Н. Маслов, Ю. Г. Ревинская, А. И. Рыжов [и др.] // Пат. физиол. и exper. тер. – 2001.- № 9. – С. 8–12.
- 76.Мравян С. Р. Повреждение миокарда и состояние его метаболизма при миокардите и дилатационной кардиомиопатии / С. Р. Мравян // Кардиология. – 1995. – Т. 35, № 2. – С. 73-76.
- 77.М-холиноблокирующая активность сыворотки крови при остром коронарном инциденте и влияние на нее физических тренировок / С. В. Мальчикова, Е. Н. Сизова, В. И. Циркин [и др.] // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 2003. – Т. 89, № 5. – С. 556–563.
- 78.Надточій С. М. Визначення стабільного фактора мітохондріального походження *in vivo* / С. М. Надточій, А. Ю. Богуславський, В. Ф. Сагач // Фізіол.журн. – 2003. – Т. 49, № 5. – С. 25–30.
- 79.Непомнящих Л. М. Апоптоз кардиомиоцитов как крайнее проявление регенераторно-пластической недостаточности миокарда / Л. М. Непомнящих, Д. Е. Семенов // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 2000. – Т. 130, № 9. – С. 336–341.

80. Непомнящих Л. М. Морфогенез важнейших общепатологических процессов в сердце. – Новосибирск : Наука, Сиб. отделение, 1991. – 352 с.
81. Непомнящих Л. М. Преднекротические контрактурные повреждения кардиомиоцитов: фотохимическое флюорохромирование и люминесцентная микроскопия миокарда / Л. М. Непомнящих, В. Г. Циммерман // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 2001. – Т. 132, № 9. – С. 343–349.
82. Непомнящих Л. М. Электронно-микроскопическая характеристика основных форм острых повреждений кардиомиоцитов / Л. М. Непомнящих // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1997. – Т. 124, № 12. – С. 686–692.
83. О роли блуждающих нервов в антиаритмическом эффекте DAGO при острой ишемии миокарда / С. Д. Михайлова, Г. И. Сторожаков, Н. А. Бебякова [и др.] // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1997. – Т. 124, № 10. – С. 377–379.
84. Обут Т. А. Влияние дигидроэпиандростерон-сульфата на стресс-реактивность: μ -опиатный механизм / Т. А. Обут, М. В. Овсюкова, О. П. Черкасова // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 2002. – Т. 88, № 12. – С. 1578–1584.
85. Оганов Р. Г. Сердечно-сосудистые заболевания в Российской Федерации во второй половине XX столетия: тенденции, возможные причины, перспективы / Р. Г. Оганов, Г. Я. Масленикова // Кардиология. – 2000. – Т. 40, № 6. – С. 4–8.
86. Опиатергические механизмы антиаритмического эффекта адаптации / Ю. Б. Лишманов, Е. В. Ускина, Л. Е. Маслов [и др.] // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1996. – Т. 122, № 8. – С. 276–278.
87. Опиоидная система и устойчивость сердца к повреждениям при ишемии-реперфузии / Ю. Б. Лишманов, Л. Н. Маслов, С. В. Там [и др.]

- др.] // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 2000. – Т. 86, № 2. – С. 164–173.
- 88.Осадчий О. Е. Кардиоваскулярные эффекты блокатора опиоидных рецепторов налоксона / О. Е. Осадчий, В. М. Покровский // Экпер. и клин. фармакол. – 2001. – Т. 64. № 3. – С. 72–75.
- 89.Осадчий О. Е. Особенности ваготропного действия метэнкефалина при блокаде симпатической нервной системы / О. Е. Осадчий, В. М. Покровский // Патол. физиол. и exper. тер. – 1998. – № 1. – С. 32–35.
- 90.Осадчий О. Е. Особенности ваготропного действия пептидов в условиях субтотальной блокады М-холинорецепторов сердца / О. Е. Осадчий, В. М. Покровский // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1998. – Т. 125, № 5. – С. 513–516.
- 91.Осадчий О. Е. Пептидергические механизмы в парасимпатической регуляции ритма сердца / О. Е. Осадчий, В. М. Покровский // Успехи физиологических наук. – 1993. – № 3. – С. 71–88.
- 92.Осадчий О. Е. Роль различных звеньев холинергической регуляции в развитии управляемой брадикардии при раздражении блуждающего нерва у кошек / О. Е.Осадчий, В. М. Покровский // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 1999. – Т. 85, № 5. – С. 637–645.
- 93.Освобождение катехоламинов из адренергических нейронов // Под ред. проф. Д. М. Патона. : пер. с англ. – Москва : Медицина, 1982. – 352 с.
- 94.Особливості метаболізму гонадектомованих щурів при моделюванні гіперадреналемії на тлі зміненої активності холінорецепторів / М. Р. Хара, А. М. Дорохіна, В. Є. Пелих, Г. О. Хара, Р. С. Усинський, А. А. Лепявко, Г. С. Сатурська, Н. Є. Зятковська // Ендокринологія / VII з'їзд ендокринологів України, 15-18 травня 2007 р. : матеріали з'їзду . – 2007. – Т. 12, дод. – С. 303.

95. Половые особенности кардиоваскулярной стресс-реактивности у здоровых и гипертензивных крыс / Т. Г. Анищенко, О. В. Глушковская-Семячкина, В. А. Бердникова [и др.] // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 2007. – Т. 143, № 2. – С. 136–139.
96. Половые различия адренокортикальной чувствительности и устойчивости к цереброваскулярным повреждениям у крыс при сильном стрессе / Т. Г. Анищенко, Г. Е. Бриль, Т. П. Романова [и др.] // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1992. – Т. 114, № 10. – С. 353–355.
97. Половые различия в содержании оксида азота у здоровых и гипертензивных крыс в условиях покоя и стресса // О. В. Глушковская-Семячкина, Т. Г. Анищенко, Т. А. Синдякова [и др.] Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 2006. – Т. 142, № 7. – С. 13–15.
98. Пушкина Н. Н. Биохимические методы исследования. – М. : Наука, 1963. – 223 с.
99. Пшенникова М. Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии / М. Г. Пшенникова // Патол. физиол. и эксп. тер. – 2000. - № 4. – С. 21–31.
100. Сагач В. Ф. Попередження постреперфузійних порушень функції серця та неефективного використання кисню за допомогою інгібіторів відкриття мітохондріальної пори / В. Ф. Сагач, Т. В. Шиманська, С. М. Надточій // Фізіол. журн. – 2002. – Т. 48, № 6. – С. 3–10.
101. Сагач В. Ф. Фактор, який вивільнюється під час реперфузії ішемізованого серця, може бути маркером відкриття мітохондріальної пори / В. Ф. Сагач, Т. В. Шиманська, С. М. Надточій // Фізіол. журн. – 2003. – Т. 49, № 4. – С. 7–13.
102. Сатурська Г. С. Варіабельність серцевого ритму у щурів різної статі при адреналіновому пошкодженні міокарда в умовах зміненого функціонування опіоїдної системи / Г. С. Сатурська, М. Р. Хара // Вісн. наук. досл. – 2008. – № 3 (52). – С. 52–54.

103. Сатурська Г. С. Вплив активатора опіатних рецепторів даларгіну на інтенсивність процесу ліпопероксидації в пошкодженому адреналіном серці залежно від статі / Г. С. Сатурська, М. Р. Хара // Здобутки клін. та експер. мед. – 2008. – Т. 8, № 1. – С. 60–63.
104. Сатурська Г. С. Вплив блокатора опіатних рецепторів налоксону на інтенсивність процесу ліпопероксидації та стан антиоксидантної системи в пошкодженому адреналіном серці залежно від статі / Г. С. Сатурська // Мед. хімія. – 2008. – Т. 10, № 3. – С. 68–72.
105. Сатурська Г. С. Вплив модуляторів опіатних рецепторів на холінергічну регуляцію серця тварин різної статі при адреналіновому пошкодженні міокарда / Г. С. Сатурська, М. Р. Хара // Здобутки клінічної та експериментальної медицини / Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм : науково-практична конференція, Тернопіль, 7-8 листопада 2008 р. : матеріали конф. – 2008. – Т. 9, № 2. – С. 143.
106. Сатурська Г. С. Морфологічні прояви кардіопротекторного ефекту даларгіну при адреналіновому пошкодженні серця щурів залежно від статі / Г. С. Сатурська, М. Р. Хара // Здобутки клінічної та експериментальної медицини : підсумкова науково-практична конференція, 13 червня 2008 р. : зб. матеріалів конф. – Тернопіль : ТДМУ "Укрмедкнига", 2008. – С. 130.
107. Сатурська Г. С. Чутливість серця щурів різної статі до екзо- та ендogenous ацетилхоліну при моделюванні адреналінового пошкодження міокарда на тлі даларгіну / Г. С. Сатурська, М. Р. Хара // Клін. та експер. патологія. – 2008. – Т. VII, № 3. – С. 104–107.
108. Семенов Д. Е. Особенности антрациклиновой модели кардиомиопатии: снижение синтеза белка, нарушение внутриклеточной регенерации и безнекротическая элиминация кардиомиоцитов / Д. Е. Семенов, Е. Л. Лушникова, Л. М. Непомнящих // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 2001. – Т. 131, № 5. – С. 594–600.

109. Серебровська Т. В. Вільнорадикальні процеси за умов різного кисневого постачання організму / Т. В. Серебровська, О. С. Сафронова, С. К. Гордій // Фізіол. журн. – 1999. – Т. 45, № 6. – С. 92–104.
110. Синусовые брадиаритмии в остром периоде инфаркта миокарда (дифференциальная диагностика, прогноз) / В. А. Шульман, О. В. Смирнова, Г. В. Матюшин [и др.] // Кардиология. – 2000. – Т. 40, № 2. – С. 24–27.
111. Сметюх Л. Вивчення впливу даларгіну на частоту серцевих скорочень статевозрілих щурів з метою вибору дози препарату як модулятора серцевої діяльності в патології / Лариса Сметюх, Ганна Сатурська // XI Міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених, присвячений 50-річчю заснування ТДМУ, 10-12 травня 2007 р. : матеріали конгресу. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2007. – С. 217.
112. Сметюх Л. Вивчення впливу кардіотоксичної дози адреналіну на процеси ліпопероксидації та антиоксидантний захист міокарда тварин різної статі за застосування даларгіну / Лариса Сметюх, Ганна Сатурська, Андрій Лепявко // XII Міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених, березень 2008 р. : матеріали конгресу. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2008. – С. 188.
113. Соколова Н. А. // Научн. докл. высш. школы. Биол. науки. – 1987. – № 10. – С. 13.
114. Столярчук А. А. Влияние вегетативной нервной системы на устойчивость желудочков сердца к фибрилляции / А. А. Столярчук, С. А. Васильева, Б. Г. Сторожук // Физиол. журн. – 1990. – Т. 30, № 3. – С. 73–76.
115. Струтинський Р. Б. Дослідження вазомоторних ефектів нових фтормісних синтетичних активаторів АТФ-залежних калієвих каналів

- / Р. Б. Струтинський, О. О. Мойбенко, Л. М. Ягупольський // Фізіол. журн. – 2000. – Т. 46, № 4. – С. 17–23.
116. Участие вегетативных нервов сердца в механизме антиаритмического эффекта β -эндорфина при экспериментальной ишемии миокарда / С. Д. Михайлова, Г. И. Сторожаков, Н. А. Бебякова, [и др.] // Бюлл. exper. биол. и мед. – 1997. – Т. 123, № 5. – С. 509–511.
117. Фогорос Р. М. Антиаритмические средства : Пер. с англ. / Р. М. Фогорос – Москва : СПб БИНОМ, 1999. – 190 с.
118. Фролькис В. В. Мембранные механизмы действия тестостерона / В. В. Фролькис, А. Л. Кобзарь, Г. М. Тюхтин // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1992. – Т. 113, № 6. – С. 565–567.
119. Фролькис В. В. Старение, эволюция и продление жизни / В. В. Фролькис, Х. К. Мурадян // Киев: Наукова думка, 1992. – 336 с.
120. Фундаментальні механізми дії оксиду азоту на серцево-судинну систему як основи патогенетичного лікування її захворювань / О. О. Мойбенко, В. Ф. Сагач, М. М. Ткаченко [та ін.] // Фізіол. журн. – 2004. – Т. 50, № 1. – С. 11–30.
121. Хара М. Р. Вплив активатора опіатних рецепторів даларгіну на інтенсивність процесу ліпопероксидації в пошкодженому адреналіном серці залежно від статі / М. Р. Хара, Г. С. Сатурська // Роль месенджерних систем: науково-практична конференція, Тернопіль, 12-13 листопада 2007 р. : матеріали. – Мед. хімія. – 2008. – 2007. – Т.9, №4. – С.87.
122. Хара М. Р. Вплив атропіну на метаболізм ацетилхоліну в міокарді різностатевих щурів при дії кардіотоксичної дози адреналіну / М. Р. Хара // Мед. хімія. – 2005. – Т. 7, № 2. – С. 24–27.
123. Хара М. Р. Вплив атропіну на холінергічну регуляцію серця некастрованих і кастрованих щурів різної статі / М. Р. Хара // Вісн. наук. досл. – 2005. – № 1. – С. 149–150.

124. Хара М. Р. Вплив даларгіну на показники негативних хронотропних ефектів серця тварин різної статі при адреналіновому пошкодженні міокарда / М. Р. Хара, Г. С. Сатурська // Бюлетень VII читань ім. В. В. Підвисоцького : наукова конференція, 22-23 травня 2008 р. : матеріали конф. – Одеса : Одеський державний медичний університет, 2008. – С. 95–96.
125. Хара М. Р. Вплив даларгіну на чутливість міокарда щурів різної статі до екзо- та ендогенного ацетилхоліну в умовах адреналінового пошкодження / М. Р. Хара, Г. С. Сатурська // Патологія. – 2008. – Т. 5, № 2 – С. 106.
126. Хара М. Р. Вплив карбахоліну на метаболізм ацетилхоліну в міокарді різностатевих тварин при адреналіновому пошкодженні міокарда / М. Р. Хара // Галицьк. лікар. вісник. – 2004. – Т. 11, № 4. – С. 75–77.
127. Хара М. Р. Вплив карбахоліну на частоту серцевих скорочень і показники пульсографії інтактних і кастрованих щурів / М. Р. Хара // Експер. і клін. мед. – 2003. – № 2. – С. 106–109.
128. Хара М. Р. Вплив карбахоліну та кастрації на гліколіз, перекисне окиснення ліпідів та антиоксидантну систему міокарда щурів самців і самок при адреналіновому пошкодженні / М. Р. Хара // Мед. хімія. – 2004. – Т. 6, № 4. – С. 102–104.
129. Хара М. Р. Вплив кастрації на холінергічні реакції серця щурів різної статі в умовах розвитку адреналінової міокардіодистрофії / М. Р. Хара // Вісн. наук. досл. – 2004. – № 1. – С. 91–93.
130. Хара М. Р. Гендерні та вікові відмінності реагування пейсмейкерів синусового вузла на введення природних та синтетичних середників в умовах кардіонекрозу / М. Р. Хара, Г. С. Сатурська, А. А. Лепявко // Безпечна фармакотерапія в Україні : науково-практична конференція, Тернопіль, 29-30 жовтня 2008 р. : матеріали конф. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2008. – С. 65–66.

131. Хара М. Р. Гендерні та вікові особливості метаболізму міокарда за умов дії адреналіну та даларгіну / М. Р. Хара, Г. С. Сатурська, А. А. Лепявко // Наукові дослідження – теорія і експеримент 2008 : IV науково-практична конференція, 19-21 травня 2008 р. : матеріали конф. – Полтава : „Інтерграфіка”, 2008. – Т. 5, С. 76–78.
132. Холинергическая регуляция биохимических систем клетки / С. Н. Голиков, В. Б. Долго-Сабуров, Н. Р. Елаев, В. И. Кулешов. – Москва : Медицина, 1985. – 224 с.
133. Хомазюк А. И. Влияние нитроглицерина на кровоснабжение и функцию миокарда / А. И. Хомазюк, А. П. Нещерет, И. В. Гончар // Укр. кардіол. журн. – 2003. – № 2. – С. 99–105.
134. Целлариус Ю. Г. Гистопатология очаговых метаболических повреждений миокарда / Ю. Г. Целлариус, Л. А. Семенова – Новосибирск : Наука, 1972. – 209 с.
135. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале / С. Чевари, И. Чаба, Й. Сокей // Лабораторное дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
136. Шабалин А. В. Защита кардиомиоцита. Современное состояние и перспективы / А. В. Шабалин, Ю. П. Никитин // Кардиология. – 1999. – Т. 39, № 3. – С. 4–10.
137. Шевченко И. Т. Элементы вариационной статистики для медиков / И. Т. Шевченко, О. П. Богатов, Ф. П. Хрипта. – Київ : Здоров'я, 1970. – 107 с.
138. Эндогенные опиоиды при заболеваниях сердечно-сосудистой системы / А. А. Зозуля, О. Б. Степура, Н. В. Кост [и др.] // Кардиология. – 1999. – Т. 39, № 7. – С. 40–48.
139. Явелов И. С. Факторы, связанные с низкой вариабельностью ритма сердца, оцененной за короткое время в покое в ранние сроки

- инфаркта миокарда / И. С. Явелов, Е. Е. Травина, Н. А. Грацианский // Кардиология. – 2001. – Т. 41, № 8. – С. 4–10.
140. Ярыгин В. Н. Влияние неонатального тестостерона на матричную активность хроматина и размеры перикарионов симпатических нейронов крыс / В. Н. Ярыгин, А. Л. Цуциева, О. Н. Хрущова // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1997. – Т. 124, № 12. – С. 683–685.
141. Ярыгин К. Н. Олигопептиды как регуляторы функций организма / К. Н. Ярыгин – М., 1987. – С. 24–30.
142. A case of atropine-resistant bradycardia in a patient on long-term lithium medication / Y. Uchiyama, S. Nakao, T. Asai [et al.] // Masui. – 2001. – Vol. 50, N 11. – P. 1229–1231.
143. Adenosine A1/A2a receptor agonist AMP-579 induces acute and delayed preconditioning against in vivo myocardial stunning / G. Kristo, Y. Yoshimura, B. J. Keith [et al.] // Am J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2004. – V. 287. – P. 2746–2753.
144. Adrenergic control of a constitutively active acetylcholine-regulated potassium current in canine atrial cardiomyocytes / Y. H. Yeh, J. R. Ehrlich, X. Qi [et al.] // Cardiovasc. Res. – 2007. – V. 74, N 3. – P. 406–415.
145. Akiyama T. Adrenergic inhibition of endogenous acetylcholine release on postganglionic cardiac vagal nerve terminals / T. Akiyama, T. Yamazaki // Cardiovasc. Res. – 2000. – V. 46, N 3. – P. 531–538.
146. Anti-arrhythmic effect of kappa-opioid receptor stimulation in the perfused rat heart: involvement of a cAMP-dependent pathway / X. C. Yu, H. X. Wang, J. M. Pei [et al.] // J. Mol. Cell. Cardiol. – 1999. – V. 31. – P. 1809–1819.
147. Association of psychosocial risk factors with risk of acute myocardial infarction in 11119 cases and 13648 controls from 52 countries (the INTERHECT study) : case-control study / A. Rosengren, S. Hawken, S. Ounpuu [et al.] // Lancet. – 2004. – N. 364(9438). – P. 953–962.

148. Autonomic innervation of the human cardiac conduction system: changes from infancy to senility in immunohistochemical and histochemical analysis / L. T. Chow, S. S. Chow, R. H. Anderson [et al.] // *Anat. Rec.* – 2001. – V. 264, N 2. – P. 169–182.
149. Batulevicius D. Key anatomic data for the use of rat heart in electrophysiological studies of the intracardiac nervous system / D. Batulevicius, N. Paunziene, D. Pauza // *Medicina.* – 2004. – V. 40, N 3. – P. 253–259.
150. Blomqvist A. Sex hormones and pain: a new role for brain aromatase? / A. J. Blomqvist // *Comp. Neurol.* – 2000. – V. 423. – P. 549–551.
151. Bolli R. Preconditioning: a paradigm shift in the biology of myocardial ischemia / R. Bolli // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2007. – V. 292. – P. 19–27.
152. Boulmier D. Myocardial pseudo-infarction: "stress"-associated catecholamine-induced acute cardiomyopathy or coronary spasm? / D. Boulmier, P. Bazin // *Ann. Cardiol. Angeiol (Paris).* – 2000. – V. 49, N 8. – P. 449–454.
153. Brief repetitive ischemia: effect on norepinephrine release, arrhythmias, and functional recovery in isolated perfused rat heart / J. Feng, R. Chahine, N. Yamaguchi [et al.] // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* – 1996. – V. 74. – P. 1351–1358.
154. Burkingam J. G. Differences in hypothalamic-pituitary-adrenocortical activity in the rat after acute and prolonged treatment with morphine / J. G. Burkingam, T. A. Cooper // *Neuroendocrinology.* – 1984. – Vol. 38, N 5. – P. 411–417.
155. Calmodulin-dependent cyclic nucleotide phosphodiesterase in an experimental rat model of cardiac ischemia-reperfusion / R. Kakkar, D. P. Seitz, R. Kanthan [et al.] // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* – 2002. – V. 80. – P. 59–66.

156. Contribution of KATP⁺ channels to coronary vasomotor tone regulation is enhanced in exercising swine with a recent myocardial infarction / D. Merkus, B. Houweling, M. van Vliet [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2005. – V. 288, N 3. – P. 1306–1313.
157. Craft R. M. Sex differences in pain and analgesia: the role of gonadal hormones. / R. M. Craft, J. S. Mogil, A. M. Aloisi // *Eur J Pain.* – 2004. – Vol. 8. – P. 397–411
158. Delayed adaptation of the heart to stress: late preconditioning / A. B. Stein, X. L. Tang, Y. Guo [et al.] // *Stroke.* – 2004. – V. 35, Suppl 1. – P. 2676–2679.
159. Distinct components of morphine effects on cardiac myocytes are mediated by the kappa and delta opioid receptors / C. Ela, J. Barg, Z. Vogel [et al.] // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 1997. – V. 29. – P. 711–720.
160. Does enhanced expression of the Na⁺-Ca²⁺ exchanger increase myocardial vulnerability to ischemia/reperfusion injury in rabbit hearts? / T. Matsumoto, T. Miura, T. Miki [et al.] // *Mol. Cell. Biochem.* – 2003. – V. 48, N 1–2. – P. 141–147.
161. Effect of acetylcholinesterase inhibition with pyridostigmine on cardiac parasympathetic function in sedentary adults and trained athletes / T. A. Dewland, A. S. Androne, F. A. Lee [et al.] // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2007. – V. 293. – P. 86–92.
162. Effect of isoproterenol on lipid peroxidation and antioxidant enzymes of myocardial tissue of mice and protection by quinidine / A. Chattopadhyay, S. Biswas, D. Bandyopadhyay [et al.] // *Mol. Cell. Biochem.* – 2003. – V. 245, N. 1–2. – P. 43–49.
163. Effect of modulating cardiac A1 adenosine receptor expression on protection with ischemic preconditioning / A. R. Lankford, J.-N. Yang, R. R. Meyer [et al.] // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2006. – V. 290. – P. 1469–1473.

164. Effects of a bradycardic agent on postischemic cardiac recovery in rabbits / S. Schmitz-Spanke, A. Granetzny, B. Stoffels [et al.] // *J. Physiol. Pharmacol.* – 2004. – V. 55, N. 4. – P. 705–712.
165. Effects of Ca²⁺ antagonist on cardiomyocytic apoptosis after experimental myocardial infarction / Q.Z. Feng, T.D. Li, Z.X. Wang [et al.] // *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue.* – 2004. – V. 16, N 3. – P. 133–136.
166. Effects of imidapril on heterogeneity of action potential and calcium current of ventricular myocytes in infarcted rabbits / Y. Li, Q. Xue, J. Ma [et al.] // *Acta Pharmacol. Sin.* – 2004. – V. 25, N 11. – P. 1458–1463.
167. Estradiol abolishes reduction in cell death by the opioid agonist Met5-enkephalin after oxygen glucose deprivation in isolated cardiomyocytes from both sexes / Matthias J. Merkel, Lijuan Liu, Zhiping Cao, [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2008. – V. 295. – P.409–415.
168. Farias M. Bimodal sigma-opioid receptors regulate vagal bradycardia in canine sinoatrial node / M. Farias, K. Jackson, D. Yoshishige [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2003. – V. 285. – P. 1332–1339.
169. Fujita S. Enhanced contractile responsiveness to cytosolic Ca(2+) by delta-2 opioid agonist deltorphin in intact guinea pig hearts / S. Fujita, S. C. Smart, D. F. Stowe // *J. Mol. Cell. Cardiol.* –2000. – V. 32. N 9. – P. 1647–1659.
170. Glass L. From Clocks to Chaos. The rhythm of life. / L. Glass, C. Makey // Princeton University. – 1988. – 248 p.
171. Goldberger A. L. Is the normal heart beat chaotic or homeostatic? / A. L. Goldberger // *News Physiol.* –1991. – V. 6. – P. 87–91.
172. Heart rate variability in adult patients with isolated left ventricular noncompaction / T. Kawasaki, A. Azuma, T. Taniguchi [et al.] // *Int. J. Cardiol.* – 2005. – V. 99, N 1. – P. 147–150.

173. Herring N. Cholinergic Control of Heart Rate by Nitric Oxide is Site Specific/ N. Herring, E. J. Danson, D. J. Paterson // *News Physiol. Sci.* – 2002. – V. 17. – P. 202–206.
174. Hyperpolarization is not responsible for the acetylcholine-induced negative chronotropic action in the presence of isoproterenol / M. Miura, T. Furuta, H. Ueda [et al.] // *Basic Res. Cardiol.* – 2000. – V. 95, № 6. – P. 442–448.
175. Illes P. Peripheral sympatho-inhibitory cardiovascular effects of opioid / P. Illes, D. Ramme, K. Starke // *J. Physiol. (Lond.)* – 1986. – V. 379. – P. 217–228.
176. Impaired beta-adrenergic response and decreased L-type calcium current of hypertrophied left ventricular myocytes in postinfarction heart failure / R. M. Saraiva, N. G. Chedid, M. O. Masuda. [et al.] // *Braz. J. Med. Biol. Res.* – 2003. – V. 36, N 5. – P. 635–648.
177. Kappa- and sigma-opioid receptor stimulation affects cardiac myocyte function and Ca²⁺ release from an intracellular pool in myocytes and neurons / C. Ventura, H. A. Spurgeon, E. G. Lakatta [et al.] // *Circ. Res.* – 1992. – V. 70. – P. 66–81.
178. Kappa-opioid receptor stimulation induces arrhythmia in the isolated rat heart via the protein kinase C/Na⁺ - H⁺ exchange pathway / J. S. Bian, J.- M. Pei, Ch- S. Cheung [et al.] // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2000. – V. 32. – P. 1415–1427.
179. Kark M. Myocardial protection by ischemic preconditioning and delta opioid receptor activation in the isolated working rat heart / M. Kark, S. Tanaka, S. F. Bolling // *J. of Thoracic and Cardiovascular Surgery.* – 2001. – V. 37, N 5. – P. 1–10.
180. Kawano H. Histological study on the distribution of autonomic nerves in the human heart / H. Kawano, R. Okada, K. Yano // *Heart Vessels.* – 2003. – V. 18, N 1. – P. 32–39.

181. Kest B. Gender differences in opioid-mediated analgesia: animal and human studies / B. Kest, E. Sarton, A. Dahan // *Anesthesiology*. – 2000. – V. 93. – P. 539–547.
182. Kinouchi K. Effects of pentazocine and other opioids on the potassium-evoked / K. Kinouchi, S. Maeda, K. Saito // *Eur. Pharmacol.* – 1989. – V. 164, N 1. – P. 63–68.
183. Lerebours G. Sinus rhythm: mechanisms and function / G. Lerebours // *Med. Sci.* – 2007. – V. 23, N 6–7. – P. 657–662.
184. Litschauer B. Naloxone does not influence cardiovascular responses to mild mental stress in postmenopausal women / B. Litschauer, G. Schaller, M. Wolzt // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* – 2005. – V. 289. – P. 2120–2125.
185. Maslov L. N. Change in opioid peptide level in the heart blood plasma during acute myocardial ischaemia complicated by ventricular fibrillation / L. N. Maslov, Yu. B. Lishmanov // *Clinical. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 1995. – V. 22. – P. 812–816.
186. Megaritis G. Functional domains of δ - and μ -opioid receptors responsible for adenylyl cyclase inhibition / G. Megaritis, M. Merkouris, Z. Georgoussi // *Rec. Channels* – 2000. – V. 7, N 3. – P. 199–212.
187. Milne B. Increasing longevity by decreasing sympathetic stress-early beta receptor blockade pharmacotherapy / B. Milne, M. Hong // *Med. Hypotheses*. – 2004. – V. 62, N 5. – P. 755–758.
188. Murphy M. E. Nitric oxide hyperpolarized rabbit mesenteric arteries via ATP-sensitive potassium channels / M. E. Murphy, J. E. Brayden // *J. Physiol.* – 1995. – V. 486, N 1. – P. 47–58.
189. Myocardial infarction with normal coronary arteries: ten-year follow-up / P. G. Golzio, F. Orzan, P. Ferrero [et al.] // *Ital. Heart J.* – 2004. – V. 5, N 10. – P. 732–738.

190. Naloxone blockade of ischemic preconditioning does not require central nervous system participation / G. L. Chien, K. Mohtadi, R. A. Wolff [et al.] // *Basic Res. Cardiol.* –1999. – V. 94. – P. 136–143.
191. Nishikimi N. – *Biochem. biophys. Res. Commun.* – 1972. – V. 1. – N 46. – P. 849.
192. Opposing effects on infarction of delta and kappa opioid receptor activation in the isolated rat heart: implications for ischemic preconditioning / K. A. Aitchison, G. F. Baxter, M. M. Awan [et al.] // *Basic Res. Cardiol.* –2000. –V. 95. – P. 1–10.
193. Osnes J. B. On the role of cyclic nucleotides in the heart muscle contraction and relaxation / J. B. Osnes, T. Skomedal, I. Oye // *Progr. Pharmacol.* –1980. – V. 4. – P. 47–62.
194. Palumbo A. Inhibition of neuronal nitric oxide synthase by 6-nitrocatecholamines, putative reactions products of nitric oxide with catecholamines under oxidative stress conditions / A. Palumbo, G. Astarita, M. Ischia // *Biochem. J.* – 2001. – V. 35, N 6. – P. 105–110.
195. Parratt J. R. K^+ -ATP-channels in ischaemic precondition / J. R. Parratt, K. A. Kane // *Cardiovasc. Res.* – 1994. – V. 28. – P. 783–787.
196. Pasternak G. W. An endogenous morphine-like factor in mammalian brain. G.W. Pasternak, A. M. Snowman, S. N. Snyder // *Life Sci.* – 1975.– V. 16. – P. 1765–1769.
197. Pauza D. H. Morphology of the intrinsic cardiac nervous system in the dog: a whole-mount study employing histochemical staining with acetylcholinesterase / D. H. Pauza, V. Skripka, N. Pauziene // *Cells Tissues Organs.* – 2002. – V. 172, N 4. – P. 297–320.
198. Peart J. N. Effect of exogenous kappa-opioid receptor activation in rat model of myocardial infarction / J. N. Peart, E. R. Gross, G. J. Gross // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 2004. – V. 43. N 3. – P. 410–415.

199. Persson P. B. Modulation of cardiovascular control mechanisms and their interaction. / P. B. Persson // *Physiol Rev.* –1996. –V. 76. – P. 193–244.
200. Pyle W. G. Cardioprotection with kappa-opioid receptor stimulation is associated with a slowing of cross-bridge cycling / W. G. Pyle, T. D. Smith, P. A. Hofman // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* –2000. – V. 279. – P. 1941–1948.
201. Reckelhoff J. F. Role of androgens in mediating hypertension and renal injury / J. F. Reckelhoff // *Hypertension.* – 2001. – Vol. 37, N 5. – P. 1199–1224.
202. Reduced mechanical activity of perfused rat heart following morphine or enkephalin peptides administration / C. Clo, C. Muscari, B. Tantini [et al.] // *Life Sci.* –1985. – V. 37, N 14. – P. 1327–1333.
203. Relation between hormone replacement therapy and ischaemic heart disease in women: prospective observational study / E. Lokkegaard, A. T. Pedersen, B. L. Heitmann [et al.] // *BMJ.* – 2003. – V. 326. – P. 426.
204. Repeated Arterial Occlusion, Delta-Opioid Receptor (DOR) Plasticity and Vagal Transmission Within the Sinoatrial Node of the Anesthetized Dog / S. H. Deo, M. A. Barlow, L. Gonzalez [et al.] // *Experimental Biology and Medicine,* – 2009. – V. 234(1). – P. 84–94.
205. Repeated sigma-1-opioid receptor stimulation reduces sigma-2-opioid receptor responses in the SA node / S. H. Deo, S. Johnson-Davis, M. A. Barlow [et al.] // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2006. – V. 291. – P. 2246–2254.
206. Richardson R. J. Immunohistochemical analysis of intracardiac ganglia of the rat heart / R. J. Richardson, I. Grcovic, C. R. Anderson // *Cell. Tissue Res.*– 2003. – V. 314, N 3. – P. 337–350.
207. Role of endothelium-derived relaxing factor in regulation of renal hemodynamic responses / J. P. Tolins, R. M. J. Palmer, S. Moncada [et al.] // *Amer. J. Physiol.* – 1990. – V. 258, N 3. – P. 655–662.

208. Saidov A. B. Morphological characteristics of cardiomyocyte death in the experimental myocardial infarction in rats with various emotional reaction / A. B. Saidov, R. I. Israilov // *Morfologija*. – 2002. – V. 122, N 4. – P. 50–52.
209. Sarcoplasmic reticulum function in the „stunned” myocardium / U. Limbruno, R. Zucchi, S. Ronca-Testoni [et al.] // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 1989. – V. 21, N 10. – P. 1063–1072.
210. Schallmach E. Adenylyl cyclase type II activity is regulated by two different mechanisms: Implications for acute and chronic opioid exposure / E. Schallmach, D. Steiner, Z. Vogel // *Neuropharmacology*. – 2006. – V. 50. – P. 998–1005.
211. Sex differences in pain and hypothalamic-pituitary adrenocortical responses to opioid blockade / M. Al’Absi, L. E Wittmers, D. Ellestad [et al.] // *Psychosom Med* – 2004. – V. 66. – P. 198–206.
212. Sex differences in the mechanism of Met5-enkephalin-induced cardioprotection: role of PI3K Akt / Z. Cao, L. Liu, W. Packwood [et al.] // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. – 2008. – V. 294. – P. 302–310.
213. Sex steroids and heart rate variability in men with coronary artery disease after myocardial infarction / J. K. Wranicz, M. Rosiak, I. Cygankiewicz [et al.] // *Pol. Arch. Med. Wewn.* – 2003. – V. 109, N 2. – P. 157–163.
214. Sex steroids and heart rate variability in patients after myocardial infarction / J. K. Wranicz, M. Rosiak, I. Cygankiewicz [et al.] // *Ann. Noninvasive Electrocardiol.* – 2004. – V. 9, N 2. – P. 156–161.
215. Sperelakis N. Regulation of Ca²⁺ influx in myocardial cells by beta adrenergic receptors, cyclic nucleotides, and phosphorylation / N. Sperelakis, G. M. Wahler // *Mol. Cell. Biochem.* – 1988. – V. 82. – P. 19–28.

216. Stoney C. M. Sex differences in physiological responses to stress and coronary heart disease: a causal link? / C. M. Stoney, M. C. Davis, K. A. Matthews // *Psychophysiol.* –1987. –V. 24. – P. 127–131.
217. Tai K. K. Kappa-opioid receptor stimulation increases intracellular free calcium in isolated rat ventricular myocytes / K. K. Tai, C. F. Bian, T. M. Wong // *Life Sci.* –1992. –V. 51, N 12. – P. 909–913.
218. Terenius L. Stereospecific interaction between narcotic analgesics and synaptic plasma membrane fraction of rat cerebral cortex. / L. Terenius // *Acta Pharmacol Toxicol.* – 1973. –V. 32. – P. 313 – 316.
219. Traditional and nonlinear heart rate variability are each independently associated with mortality after myocardial infarction / P. K. Stein, P. P. Domitrovich, H. V. Huikuri [et al.] // *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* – 2005. –V. 16, N 1. – P. 13-20.
220. Type 5 adenylyl cyclase disruption alters not only sympathetic but also parasympathetic and calcium-mediated cardiac regulation / S. Okumura, J. Kawabe, A. Yatani [et al.] // *Circ. Res.* – 2003. – V. 93, N 4. – P. 364–371.
221. U-50.488H inhibits effects of norepinephrine in rat cardiomyocytes-cross-talk between kappa-opioid and β -adrenergic receptors / X.C. Yu, H. Y. Li, H. X. Wang [et al.] // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 1998. – V. 30. – P. 405–413.
222. Vagosympathetic interactions in ischemia-induced myocardial norepinephrine and acetylcholine release / T. Kawada, T. Yamazaki, T. Akiyama [et al.] // *J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2001. – V. 280, N 1. – H. 216–221.
223. Vagotonic effects of enkephalin are not mediated by sympatholytic mechanisms / M. A. Barlow, S. Deo, S. Johnson, J. L. Caffrey [et al.] // *Experimental Biology and Medicine.* – 2006. – V. 231, N 4. – P. 387–395.
224. Wang N. Benidipine reduces myocardial infarct size involving reduction of hydroxyl radicals and production of protein kinase C-

- dependent nitric oxide in rabbits / N. Wang, S. Minatoguchi, X. H. Chen // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 2004. – V. 43, N 6. – P. 747–757.
225. Wright L. L. Development of the sex difference in neuron numbers of the superior cervical ganglion / L. L. Wright // J. of Comparative Neurology. – 2004. – V. 263, N 2. – P. 259–264.
226. Wu S. Cardioprotection of preconditioning by metabolic inhibition in the rat ventricular myocyte. Involvement of kappa-opioid receptor / S. Wu, H. Y. Li, T. M. Wong // Circ. Res. – 1999. – V. 84. – P. 1388–1395.
227. Zhang W-M. Multiplicity of kappa opioid receptor binding in the rat cardiac sarcolemma / W-M. Zhang, W.-M. Jin, T. M. Wong // J. Mol. Cell. Cardiol. – 1996. – V. 28. – P. 1547–1554.