

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

ПЕЛИХ ВОЛОДИМИР ЄВГЕНОВИЧ

УДК 618.11-089.87-06:616.12-008.1-02:616.12-001:577.175.522-085.357]-092.9

**ВПЛИВ ЗАМІСНОЇ ГОРМОНОТЕРАПІЇ НА ХОЛІНЕРГІЧНУ РЕГУЛЯЦІЮ СЕРЦЯ
ГОНАДЕКТОМОВАНИХ САМОК ЗА УМОВ АДРЕНАЛІНОВОГО ПОШКОДЖЕННЯ**

14.03.04 – патологічна фізіологія

АВТОРЕФЕРАТ

**дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук**

Тернопіль – 2011

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в державному вищому навчальному закладі „Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського” МОЗ України.

Науковий керівник:

доктор медичних наук, професор **Хара Марія Романівна**, державний вищий навчальний заклад „Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського” МОЗ України, завідувач кафедри патологічної фізіології.

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, професор **Ткачук Світлана Сергіївна**, Буковинський державний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри фізіології;

доктор медичних наук, професор **Гудима Арсен Арсенович**, державний вищий навчальний заклад „Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського” МОЗ України, завідувач кафедри екстреної медичної допомоги і медицини катастроф з курсом військової підготовки.

Захист відбудеться 25 березня 2011 р. об 11 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 58.601.01 у державному вищому навчальному закладі „Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського” МОЗ України (46001, м. Тернопіль, Майдан Волі, 1).

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці державного вищого навчального закладу “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського” МОЗ України (46001, м. Тернопіль, вул. Січових Стрільців, 8).

Автореферат розісланий 22 лютого 2011 р.

Вчений секретар спеціалізованої вченої ради
доктор біологічних наук, професор

І.М. Кліщ

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Хвороби серця, зокрема інфаркт міокарда, на сьогоднішній день є головною причиною смерті людей працездатного віку. За останні 20 років спостерігається суттєвий приріст даного показника в жіночій когорті. Причиною цього явища є постаріння населення, більшість якого складають жінки періоду менопаузи. Доведено, що зменшення гормонопродукуючої функції яєчників зумовлює атиповий та тяжчий, ніж у чоловіків аналогічного віку, перебіг ішемічної хвороби серця, збільшує ймовірність загибелі пацієнток (А. И. Матюшин, 2001; S. Z. Abildstrom et al., 2002; W. C. Chang et al., 2003). Аналогічна закономірність характерна й для тих, кому за життєвими показами була здійснена оварієктомія (А. И. Мартынов и др., 2008; С. Б. Маличенко и др., 2008).

У принципах терапії гострої серцевої патології (застосування β -адреноблокаторів) закладені докази провідної ролі стресу та катехоламінів у реалізації їхніх негативних ефектів (О. Ю. Кудряшова и др., 2002; А. В. Alex, 2006; J. Ren et al., 2003; В. И. Подзолков и др., 2004). Особлива роль у механізмах кардіопротекції при ішемії, гіпоксії, гіперкатехоламінемії відводиться стрес-лімітуючим системам, зокрема холінергічній ланці автономної нервової системи, помірне переважання активності якої зменшує ступінь метаболічних, функціональних та структурних порушень у міокарді (Л. Т. Киричек, 1999; Ф. З. Меерсон, 2001). Це забезпечується здатністю ацетилхоліну сповільнювати накопичення іонів кальцію в кардіоміоцитах, зменшувати скоротливу активність, споживання кисню та макроергів міокардом, запобігати виснаженню депо норадреналіну для підтримання інотропної функції серця, підвищувати толерантність до розвитку аритмій (J. Barbier et al., 2004; К. J. Tracey, 2007; J. Xiong et al., 2009).

Серед великого розмаїття модуляторів активності систем організму, здатних обмежувати чи потенціювати патогенні впливи стресу та ішемії на серце, є жіночі статеві гормони. Відомо, що естрогени сповільнюють прогресування атеросклерозу, сприяють утворенню оксиду азоту, простацикліну, знижуючи при цьому агрегаційну здатність тромбоцитів, підсилюють потужність системи антиоксидантів (Ю. В. Доценко и др., 2001; J. Ren et al., 2002; А. В. Alex et al., 2006). Зважаючи на ці та демографічні дані, в багатьох країнах світу було проведено низку широкомасштабних рандомізованих досліджень впливу замісної гормонотерапії на показники захворюваності на ішемічну хворобу серця та смертності від неї в жінок менопаузального віку (В. И. Подзолков и др., 1998; Т. Ф. Титарчук та ін., 1998; G. Michael et al., 2000; N. H. Howard et al., 2003). Реалізація цих програм, які передбачали використання різних типів замісної гормонотерапії, показала всьому світу як позитивні ефекти, так і серйозну проблему використання статевих гормонів із профілактичною метою. Попри встановлене достовірне зменшення ознак прогресування атеросклерозу, покращення функції ендотелію, позитивні зміни ліпідного профілю

крові, зниження ризику інфаркту міокарда (G. Michael et al., 2000; N. H. Howard et al., 2003; С. Н. Терещенко и др., 2007), було зареєстровано значне почастищення приступів стенокардії, безбольових форм інфаркту міокарда, раптової смерті, тромбоемболічних ускладнень, повторних інфарктів міокарда, зростання випадків онкопатології (D. Heidi et al., 2002; А. Н. Караченцев и др., 2004; А. Т. Ное et al., 2008; Н. V. Stephen et al., 2009). Зупинка реалізації окремих програм та припинення вживання жінками (учасницями програм) гормональних препаратів спричинили зростання частоти вазомоторних реакцій (S. V. Wassertheil–Smoller et al., 2003; M. V. Cushman et al., 2004), а ризик виникнення ішемічної хвороби серця був аналогічним такому в групі плацебо (G. V. Heiss et al., 2008).

Розмаїття фактичних даних про роль жіночих статевих гормонів у розвитку серцево-судинної патології, неоднозначне трактування ефективності замісної гормонотерапії в профілактиці та лікуванні некротичних процесів у серці, недостатність переконливих даних про особливості функціонування холінергічних механізмів при розвитку некротичного процесу в серці особин жіночої статі доводить необхідність подальших наукових досліджень даного спрямування.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дана робота є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи державного вищого навчального закладу „Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського” „Медико-інформаційне дослідження експериментальної патології внутрішніх органів при різних функціональних умовах та її корекція” (номер державної реєстрації 0107U114462) ННІ моделювання та аналізу патологічних процесів. Дисертант є співвиконавцем названої НДР. Тема дисертації затверджена Проблемною комісією МОЗ України і НАМН України „Нормальна і патологічна фізіологія” (протокол № 2 від 20 жовтня 2010 р).

Мета дослідження. Встановити закономірності холінергічної регуляції серця гонадектомованих самок в умовах адреналінового пошкодження та корекції гормонального фону замісною гормонотерапією.

Завдання дослідження.

1. Встановити вплив моно- (гексестрол) та комбінованої (гексестрол з прогестероном) замісної гормональної терапії на вегетативну регуляцію серцевого ритму гонадектомованих самок та чутливість серця до ендogenous та екзогенного ацетилхоліну.

2. З'ясувати особливості метаболізму ацетилхоліну в міокарді передсердь та шлуночків гонадектомованих самок при застосуванні моно- та комбінованої замісної гормональної терапії.

3. Вивчити вплив моно- та комбінованої замісної гормональної терапії на ступінь структурних та метаболічних змін у міокарді самок, викликаних гонадектомією.

4. Встановити особливості вегетативної регуляції серцевого ритму та чутливість міокардіальних холінорецепторів при відтворенні некротичного процесу в серці гонадектомованих самок на тлі моно- та комбінованої замісної гормональної терапії.

5. З'ясувати вплив моно- та комбінованої замісної гормональної терапії на метаболізм ацетилхоліну в передсердях та шлуночках гонадектомованих самок при токсичній дії адреналіну.

6. Оцінити кардіопротекторну ефективність моно- та комбінованої гормональної терапії за ступенем структурних та метаболічних змін, викликаних адреналіном, у міокарді гонадектомованих самок.

Об'єкт дослідження. Адреналінове пошкодження міокарда.

Предмет дослідження. Холінергічна регуляція серця на тлі оваріектомії та корекції гормонального фону моно- та комбінованою замісною гормонотерапією.

Методи дослідження: електрофізіологічні – для вивчення чутливості холінорецепторів синусового вузла та балансу активності ланок автономної нервової системи; біологічний – для визначення концентрації ацетилхоліну в міокарді передсердь та шлуночків; біохімічні – для дослідження активності ферментативного гідролізу ацетилхоліну в міокарді передсердь та шлуночків, оцінки активності систем про- та антиоксидантів у міокарді шлуночків і сироватці крові; морфометричний – для кількісного аналізу ступеня структурного пошкодження міокарда адреналіном; математичні – для проведення математичного аналізу серцевого ритму та статистичної обробки цифрових даних методом варіаційної статистики з використанням критерію Ст'юдента.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше показано, що замісна гормонотерапія гексестролом сприяє збільшенню активності холінергічної ланки вегетативної регуляції серцевого ритму, чутливості серця гонадектомованих самок до ендogenous та зменшення до екзогенного ацетилхоліну, збільшенню вмісту ацетилхоліну в міокарді шлуночків. Ступінь структурних змін у міокарді шлуночків, викликаних гонадектомією, за такої терапії не зменшується внаслідок високої активності процесів ліпопероксидації. Корекція гормонального фону гексестролом та прогестероном відновлює вихідний баланс активності обох ланок автономної нервової системи, збільшує чутливість серця до ендogenous та екзогенного ацетилхоліну, відновлює вміст парасимпатичного медіатора та активність його ферментативного гідролізу, запобігає активації ліпопероксидації та структурним змінам у міокарді гонадектомованих самок.

Уперше встановлено, що монотерапія гексестролом суттєво не впливає на вегетативну регуляцію серця гонадектомованих самок при розвитку адреналінового пошкодження. Чутливість міокардіальних холінорецепторів, вміст ацетилхоліну в міокарді передсердь та активність ферментативного гідролізу медіатора за таких умов залишаються меншими, ніж у самок зі збереженими гонадами. При пошкодженні міокарда адреналіном на тлі монотерапії гексестролом

відбувається значне нагромадження продуктів ліпопероксидації, депресія в міокарді шлуночків та активація в крові ферментів антиоксидантного захисту, відсоток некротизованих кардіоміоцитів за такої корекції менший, ніж за її відсутності, але більший, ніж у тварин зі збереженими гонадами.

Уперше з'ясовано, що розвиток некротичного процесу в серці гонадектомованих самок на тлі комбінованої замісної гормонотерапії гексестролом та прогестероном відбувається за аналогічної тваринам зі збереженими гонадами активності регуляторних ланок автономної нервової системи, чутливості серця до ендogenous та дещо меншої чутливості до екзогенного ацетилхоліну, аналогічної за динамікою вмісту ацетилхоліну в міокарді шлуночків при відсутності такої закономірності для міокарда передсердь, аналогічної за абсолютними значеннями та динамікою активності ферментативного гідролізу медіатора. На тлі комбінованої замісної гормонотерапії реєструється мінімальна відмінність від тварин зі збереженими гонадами за вмістом продуктів ліпопероксидації в міокарді та крові, висока активність ферментів антиоксидантної системи при розвитку некротичного процесу в серці, що сприяє аналогічному самкам зі збереженими гонадами ступеню пошкодження міокарда.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані дані поглиблюють знання про роль жіночих статевих гормонів та замісної гормонотерапії в патогенезі некротичного пошкодження міокарда. Результати проведених досліджень довели, що естроген та комбінація естрогену з прогестином суттєво впливають на холінергічні процеси в серці, змінюють вегетативну регуляцію серця, чутливість міокардіальних холінорецепторів та метаболізм парасимпатичного медіатора, визначають наслідки негативного впливу адреналіну на міокард. Урахування факту, що суттєвіший кардіопротекторний ефект справляє одночасне застосування з коригувальною метою естрогену та прогестину завдяки збільшенню ролі холінергічних механізмів у пристосуванні серця до пошкоджуючої дії адреналіну, є теоретичним підґрунтям для подальших наукових досліджень пов'язаних із застосуванням замісної гормонотерапії, вивченням механізмів взаємодії статевих гормонів та холінергічної ланки автономної нервової системи з метою розробки адекватних принципів та пошуку ефективних засобів кардіопротекції.

Результати роботи впроваджено в практику наукових досліджень та навчальний процес на кафедрах патологічної фізіології ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського», Донецького національного медичного університету імені М. Горького, Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова, Луганського державного медичного університету, Кримського державного медичного університету ім. С. І. Георгіївського, на кафедрі загальної і клінічної патологічної фізіології імені В. В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету, на кафедрі фармакології з клінічною фармакологією ДВНЗ «Тернопільський державний медичний

університет ім. І. Я. Горбачевського», на кафедрі фармакології Буковинського державного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно здійснено пошук та аналіз вітчизняних і зарубіжних наукових джерел відповідно до теми дослідження, опановано методи запланованих досліджень, самостійно проведено всі експерименти, статистичний та науковий аналіз отриманих результатів. Частина біохімічних та морфологічних досліджень було проведено на базі центральної науково-дослідної лабораторії та навчально-наукового інституту морфології ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського». Спільно з науковим керівником були сформульовані 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 впровадження, яка стосується науково-практичної новизни, викладено дані, отримані автором при виконанні дисертаційного дослідження.

Апробація результатів дисертації. Результати досліджень і основні положення дисертації оприлюднені на XIII і XIV Міжнародних медичних конгресах студентів і молодих учених (Тернопіль 2009, 2010), підсумкових науково-практичних конференціях „Здобутки клінічної та експериментальної медицини” (Тернопіль, 2009, 2010), Всеукраїнській науково-практичній конференції „Інноваційні технології у експериментальній медицині та біології” (Тернопіль, 2010), V пленумі наукового товариства патофізіологів України, присвяченого 110-річчю з дня народження М.М. Горєва, (Луганськ, 2010), IX читаннях імені В.В. Підвисоцького (Одеса, 2010), Всеукраїнській науково-практичній конференції „Досягнення і перспективи експериментальної і клінічної біохімії” (Тернопіль, 2009), V науково-практичній конференції „Наукові дослідження – теорія і експеримент 2010” (Полтава, 2010), 2-й науково-практичній конференції „Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм” (Тернопіль, 2009).

Публікації. Результати дисертаційного дослідження викладено в 14 наукових працях, з яких 5 опубліковано у фахових виданнях України, і 9 – у матеріалах і тезах наукових конгресів, з’їздів і конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається зі вступу, семи розділів, висновків, списку використаних джерел, додатків (актів впровадження). Дисертація викладена на 196 сторінках комп’ютерного тексту, ілюстрована 14 таблицями і 18 рисунками. У списку використаних джерел – 273 найменування, у тому числі 138 – кирилицею і 135 – латиницею. Бібліографічний опис наукових джерел і додатки займають 48 сторінок.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи дослідження. Досліди проведено на 171 самці статевозрілих білих нелінійних щурів віком 4 місяці та масою 0,17-0,21 кг. Усі експерименти проводили із дотриманням „Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) та узгоджених із положеннями “Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1986). Комісією з біоетики Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського порушень цих принципів не виявлено (протокол № 2 від 21 квітня 2010 р.). Тварин поділили на 4 групи: першу групу склали самки зі збереженими гонадами (ЗГ); другу – гонадектомовані (ГЕ); третю – гонадектомовані самки, яким проводилася замісна гормонотерапія гексестролом (ГЕ+Г); четверту – гонадектомовані самки, яким проводилася замісна гормонотерапія гексестролом та прогестероном (ГЕ+Г+ПГ). Хірургічне видалення яєчників здійснювали в умовах кетамінового наркозу (80 мг/кг внутрішньом’язово). Замісна гормональна монотерапія передбачала уведення гексестролу («Синестрол», Біофарма, Україна) в дозі 0,1 мг/кг (Э. А. Манвелян, В. А. Батурин, 2007), комбінована – гексестролу (0,1 мг/кг) та прогестерону («Прогестерон», Фармак, Україна) в дозі 5 мг/тварина (M. Shirai et al., 1995). Препарати за обох видів корекції готували на основі оливкової олії (0,05 мл/кг) в якості розчинника і вводили в черевну порожнину щоденно протягом 4-х тижнів, починаючи з наступного дня після операції. Наступні етапи досліджень проводили з використанням тіопенталового наркозу (40 мг/кг). Тваринам зі збереженими гонадами та гонадектомованим щоденно протягом 4-х тижнів вводили оливкову олію (0,05 мл/кг) для виключення можливого впливу розчинника на результати досліджень.

У тварин усіх груп некротичне пошкодження міокарда відтворювали одномоментним внутрішньом’язовим уведенням 0,18 % розчину адреналіну (АДР) гідротартрату (“Дарниця”, Україна) з розрахунку 1 мг/кг (О. О. Маркова, 1998; М. Р. Хара, 2005). Дослідження проводили на 1-шу та 24-ту год після ін’єкції, що відповідає початку та максимуму некротизування кардіоміоцитів (О. О. Маркова, 1998). Реакцію автономної нервової системи (АНС) оцінювали методом варіаційної кардіоінтервалометрії (Р. М. Баевский, Г. Г. Иванов, 2001). Для цього з допомогою комп’ютерного комплексу «Кардіолаб-СЕ» реєстрували електрокардіограму, аналізували тривалість 1000 послідовно розташованих кардіоінтервалів R-R із точністю до 0,001 сек. Визначали величину моди (M_o) – тривалість інтервалу R-R, який на досліджуваному відрізку електрокардіограми зустрічався найчастіше (мс), амплітуди моди ($A M_o$) – відносна кількість інтервалів R-R, які відповідали значенню M_o (%), варіаційний розмах (ΔX) – величина, що відображає різницю між найбільшим і найменшим значеннями тривалості R-R у виборці (мс), індекс напруження (ІН), який обраховували за формулою: $ІН = A M_o / (2 \cdot \Delta X \cdot M_o)$. Чутливість

міокардіальних холінорецепторів (ХР) до екзогенного ацетилхоліну (АХ) оцінювали за інтенсивністю (ІБАХ) та тривалістю (ТБАХ) брадикардії, яка виникала після одноразового внутрішньовенного уведення 50 мг/кг АХ (М. Р. Хара, 2006), а до ендogenous АХ – за інтенсивністю брадикардії (ІБп.V), яка виникала при електричному подразненні периферичного відрізка правого блукаючого нерва (А. М. Гольбер, В. И. Кандрор, 1972; М. Р. Хара, 2006). Метаболізм АХ оцінювали за його вмістом (В. В. Файфура та ін., 2004) та активністю ферментативного гідролізу (Н. Н. Пушкина и др., 1963; М. Р. Хара та ін., 2006).

Ступінь пошкодження міокарда оцінювали за даними морфометричного аналізу, який передбачав обрахування в зрізах міокарда шлуночків відсотка кардіоміоцитів, які при пофарбуванні тканини за Гейденгайном забарвлювалися в чорний колір (Г. Г. Автандилов, 1990). Вивчали також активність пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у міокарді шлуночків та сироватці крові, аналізуючи вміст дієнових (ДК) та трієнових кон'югатів (ТК), ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) (М. И. Прохорова, 1982), стан антиоксидантної системи (АОС) – за активністю супероксиддисмутази (СОД) у міокарді (С. Чевари и др., 1985), каталази (КАТ) у міокарді і крові (М. А. Королюк и др., 1988) та вмістом церулоплазміну (ЦП) у крові (В. Г. Колб, В. С. Камишников, 1976).

Статистичний аналіз результатів здійснювали за допомогою параметричних методів. Обраховували значення M (середнє арифметичне), $\pm m$ (стандартна похибка середнього арифметичного), t (критерій Стьюдента), p (показник достовірності різниці між середніми величинами). Різниця порівнюваних значень вважалася достовірною при $p \leq 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Насамперед було проведено загальну оцінку холінергічно-адренергічного балансу активності автономної нервової системи (АНС) за різного гормонального фону. Встановили, що через 4 тижні після гонадектомії відбулося збільшення величини АМо на 28 % ($p < 0,001$), зменшення значення Мо на 9 % ($p < 0,05$) та ΔX – на 33 % ($p < 0,001$). Це вказувало на посилення адренергічних та зменшення холінергічних впливів на серце з боку АНС і централізацію регуляції ритму серця, що характеризує домінування симпатичної ланки АНС і пояснює збільшення у 2,2 раза ($p < 0,001$) величини ІН (табл. 1). За застосування замісної монотерапії гексестролом зберігалася домінуюча роль адренергічних механізмів у регуляції серця. Про це свідчило більше на 15 % ($p < 0,001$) порівняно з аналогічним показником самок зі збереженими гонадами значення АМо та на 35 % ($p < 0,001$) – ІН. При використанні з коригувальною метою гексестролу та прогестерону величина АМо була аналогічною, значення Мо – на 9 % ($p < 0,01$), а ΔX – на 17 % ($p < 0,01$) більшими за показники у тварин зі збереженими гонадами. Величина ІН, який не відрізнявся від такого у тварин зі збереженими гонадами, свідчила про відновлення балансу активності обох ланок АНС завдяки ослабленню адренергічних та, більшою мірою, посиленню холінергічних впливів на синусовий вузол. Останнє підтверджувалося

тим, що ЧСС за такої корекції була на 7 % ($p < 0,02$) меншою, ніж у самок зі збереженими гонадами. Отримані дані свідчать про більш суттєвий коригуючий вплив на функціональний стан АНС комбінації естрогену з прогестинном, сприяючи помірному переважанню активності холінергічної ланки.

Таблиця 1

Величина індексу напруження в гонадектомованих самок щурів при розвитку адреналінового пошкодження міокарда, абс. число ($M \pm m$)

Період спостереження	Групи спостереження			
	ЗГ	ГЕ	ГЕ+Г	ГЕ+Г+ПГ
Контроль	11346±446	24775±2175 *	15288±658 *	9350±897
АДР 1 год	24030±2129 #	18692±1856	11621±1481 *#	18102±1121 *#
АДР 24 год	12366±851	5952±713 *#	20432±1884 *#	15183±1930 #

Примітки:

- * – достовірна відмінність відносно показника тварин зі збереженими гонадами (по горизонталі); # – достовірна відмінність відносно контрольного показника в межах однієї групи (по вертикалі).
- n=6 для кожної групи та періоду спостереження.

Розвиток некротичного процесу в міокарді гонадектомованих самок викликав на 1-шу год спостереження зростання величин M_0 , AM_0 та ΔX , що загалом відображало ослаблення адренергічних впливів на серце через гуморальні канали, посилення – через нервові з одночасним збільшення впливу блукаючого нерва. На 24-ту год досліду зменшення на 60 % ($p < 0,001$) величини AM_0 вказувало на обмеження адренергічних впливів з боку АНС, а збільшення у 2,3 раза ($p < 0,001$) величини ΔX – на суттєве посилення холінергічних. Одночасне зменшення величини ІН в 4 раза ($p < 0,001$) та виражена брадикардія можуть свідчити про регуляторну дисфункцію АНС, спровоковану дефіцитом статевих гормонів.

Пошкодження міокарда адреналіном у самок, які отримували гексестрол, відбувався за подібної гонадектомованим особинам динаміки показників кардіоінтервалографії. На 1-шу год експерименту зростала, хоча й менш інтенсивно, величина M_0 , більш інтенсивно – ΔX , зменшувався ІН. На 24-ту год спостереження у тварин даної групи, на відміну від гонадектомованих, відбулося зменшення значень M_0 та ΔX , збільшення – AM_0 . Це свідчило про активацію адренергічного контролю діяльності серця і підтверджувалося наростанням ІН. За такого способу корекції абсолютні значення більшості показників кардіоінтервалографії та їх динаміка відрізнялися від таких у особин зі збереженими гонадами. Морфометричне дослідження

показало, що обмеження адренергічного та посилення холінергічного контролю за діяльністю серця вже на ранньому етапі розвитку некротичного процесу (1-ша год спостереження) у тварин цієї групи мало позитивний ефект. Про це свідчив достовірно менший порівняно з гонадектомованими особинами відсоток некротизованих кардіоміоцитів. Разом із тим, даний показник був більший, ніж у тварин зі збереженими гонадами, на 1-шу год експерименту на 13 % ($p < 0,01$), на 24-ту год – на 11 % ($p < 0,01$).

Відтворення некротичного процесу в міокарді самок, які отримували гексестрол із прогестероном, супроводжувалося подібними за спрямуванням змінами більшості аналізованих показників кардіоінтервалографії. Абсолютні значення АМо та ΔX достовірно не відрізнялися від таких у тварин зі збереженими гонадами. Лише величина Мо на 1-шу год експерименту була на 7 % ($p < 0,05$) більшою. Хоча на 24-ту год розвитку некротичного процесу на тлі комбінованої замісної гормонотерапії не відбувалося аналогічного тваринам зі збереженими гонадами збільшення величини ΔX , що свідчило про деяку інертність холінергічної ланки АНС, за величиною інтегрального показника, яким є ІН, достовірної відмінності між тваринами порівнюваних груп не було. Дані морфометричного дослідження продемонстрували відсутність такої різниці і за відсотком пошкоджених кардіоміоцитів, що дозволяє стверджувати про достатню кардіопротекторну ефективність комбінованої замісної гормонотерапії та адекватність потребам організму змін активності обох ланок АНС.

Для з'ясування сутності кардіопротекторних ефектів різних видів замісної гормонотерапії за участі холінергічних механізмів було проведено дослідження чутливості ХР. Встановили, що гонадектомія спричинила зменшення в 1,7 раза ($p < 0,001$) величини $I_{n.v.}$, в 1,4 раза ($p < 0,001$) – I_{Ax} та в 1,3 раза ($p < 0,001$) – T_{Ax} (табл. 2). Такі зміни відображали зменшення виділення АХ з пресинаптичних терміналей та чутливості постсинаптичних ХР. Уведення гексестролу сприяло збільшенню величини $I_{n.v.}$ в 1,4 раза ($p < 0,001$). Найімовірніше, це було лише наслідком вивільнення більшої кількості квантів АХ з пресинаптичних терміналей, адже достовірно менші, ніж у тварин зі збереженими гонадами, значення I_{Ax} та T_{Ax} ((відповідно на 45 % ($p < 0,001$) та 70 % ($p < 0,001$)) свідчили про те, що відновлення чутливості постсинаптичних ХР при цьому не відбувалося.

Корекція гормонального фону введенням гексестролу та прогестерону відновила реакцію серця на електричну стимуляцію блукаючого нерва. При цьому величина I_{Ax} залишалася достовірно меншою. Дефіцит чутливості постсинаптичних холінорецепторів компенсувався збільшенням T_{Ax} , дана величина була достовірно більшою за показник тварин зі збереженими гонадами. Отримані результати підтвердили модулюючу роль естрогенів у функціонуванні холінергічних структур та узгоджуються з даними літератури (Lee Tsung-Ming, 2003). Разом із

тим, комбінація естрогену з прогестинном, яка є більш природною, ніж замісна монотерапія естрогеном, не забезпечила абсолютного відновлення чутливості постсинаптичних ХР.

Таблиця 2

Інтенсивність та тривалість брадикардії, яка виникала при внутрішньовенному введенні ацетилхоліну та електричному подразненні блукаючого нерва, у гонадектомованих самок при розвитку некротичного пошкодження міокарда (M±m)

Період спостереження	Групи спостереження			
	ЗГ	ГЕ	ГЕ+Г	ГЕ+Г+ПГ
ІБ _{АХ} (абс. число)				
Контроль	4,26±0,06	3,13±0,03 *	2,93±0,04 *	4,04±0,06 *
АДР 1 год	3,86±0,05 #	4,05±0,07 #	3,59±0,12 #	3,19±0,14 * #
АДР 24 год	4,31±0,06	3,94±0,02 * #	3,91±0,05 * #	4,04±0,07 *
ТБ _{АХ} (сек)				
Контроль	23,9±0,9	17,9±0,3 *	14,1±0,2 *	28,7±1,1 *
АДР 1 год	14,1±0,2 #	26,0±0,6 * #	17,5±0,5 * #	13,8±0,5 #
АДР 24 год	21,8±0,6	32,1±1,0 * #	25,0±0,6 * #	24,0±0,7 * #
ІБ _{n.v.} (абс. число)				
Контроль	6,44±0,21	3,70±0,04 *	5,16±0,17 *	6,09±0,12
АДР 1 год	6,73±0,09	5,65±0,10 * #	6,14±0,15 * #	6,71±0,18 #
АДР 24 год	4,43±0,20 #	2,71±0,07 * #	3,56±0,07 * #	4,13±0,09 #
Примітки:				
1. * – достовірна відмінність відносно показника тварин зі збереженими гонадами (по горизонталі); # – достовірна відмінність відносно контрольного показника в межах однієї групи (по вертикалі).				
2. n=6 для кожної групи та періоду спостереження.				

Зміни реакції серця гонадектомованих самок на введення АХ та подразнення блукаючого нерва в динаміці розвитку некротичного процесу не були аналогічними тим, що реєструвалися у тварин зі збереженими гонадами. Абсолютні значення ІБ_{АХ} та ІБ_{n.v.} на 24-ту год спостереження були достовірно меншими відповідно на 10 % (p<0,01) та в 1,6 раза (p<0,001). Більше за таких умов значення ТБ_{АХ} на 47 % (p<0,001) найімовірніше було проявом компенсації недостатньої холінореактивності рецепторів синусового вузла.

Розвиток некротичного процесу на тлі гексестролу характеризувався аналогічною гонадектомованим самкам динамікою усіх аналізованих показників. Порівняння абсолютних значень з аналогічними в особин зі збереженими гонадами показало, що на 24-ту год

експерименту величина I_{AX} була на 10 % ($p < 0,001$), а $I_{n.v.}$ – на 24 % ($p < 0,001$) меншою, що свідчило про нижчу чутливість ХР. Недостатня за даними параметрами ефективність замісної гормонотерапії естрогеном підтверджувалася не тільки меншими абсолютними значеннями аналізованих показників, але й відмінною від тварин зі збереженими гонадами їхньою динамікою.

Незважаючи на те, що розвиток некротичного процесу в міокарді самок, які отримували гексестрол з прогестероном, супроводжувався аналогічними тваринам зі збереженими гонадами змінами показників $I_{n.v.}$, T_{AX} та I_{AX} , абсолютні значення останнього залишалися меншими. На 1-шу год спостереження відмінність становила 21 % ($p < 0,002$), а на 24-ту год – 7 % ($p < 0,05$). Отже, не тільки замісна моно-, але й комбінована гормонотерапія не сприяла абсолютному відновленню чутливості постсинаптичних ХР, найімовірніше через порушення системи природного контролю за даним процесом.

При оцінці вмісту та активності ферментативного гідролізу АХ зважали на те, що в міокарді передсердь домінує через високу густину холінергічних структур медіаторна фракція, а шлуночків – метаболічна. У міокарді передсердь після видалення гонад відбулося збільшення вмісту АХ на 75 % ($p < 0,001$) та зменшення активності його гідролізу на 76 % ($p < 0,001$). Монотерапія гексестролом не сприяла відновленню цих показників. За застосування комбінованої гормонотерапії вміст АХ в міокарді передсердь залишався більшим, ніж у тварин зі збереженими гонадами, на 15 % ($p < 0,02$). Зважаючи на розвиток брадикардії у тварин цієї групи та аналогічну тваринам зі збереженими гонадами активність гідролізу АХ, це могло бути результатом накопичення медіаторної фракції.

У міокарді шлуночків унаслідок гонадектомії вміст АХ зменшився на 22 % ($p < 0,001$), а активність його гідролізу зросла. При корекції гормональних порушень гексестролом вміст АХ в міокарді шлуночків перевищував значення в самок зі збереженими гонадами у 2,5 рази ($p < 0,001$). Активність гідролізу АХ при цьому була меншою на 21 % ($p < 0,001$). Лише введення гексестролу з прогестероном забезпечило відновлення і вмісту і активності ферментативного гідролізу АХ, про що свідчила відсутність достовірної відмінності від показників тварин зі збереженими гонадами.

Розвиток некротичного процесу в гонадектомованих самок викликав незначне зменшення вмісту АХ в міокарді передсердь на 1-шій год спостереження, що, зважаючи на наростаючу брадикардію та пригнічення активності гідролізу медіатора, могло бути компенсаторною реакцією, спрямованою на підтримання функціональної активності синусового вузла.

На 1-шій год спостереження за розвитком некротичного процесу в міокарді передсердь самок, які отримували гексестрол, вміст АХ зменшувався. До 24-ої год спостереження дефіцит медіатора посилювався, незважаючи на пригнічення активності його гідролізу. Аналізовані показники були достовірно меншими, ніж у тварин зі збереженими гонадами, відповідно на 29 % ($p < 0,001$) та 43 % ($p < 0,001$). На тлі комбінованої замісної гормонотерапії дефіцит медіатора в

міокарді передсердь реєстрували лише на 24-ту год експерименту, що порівняно з показником тварин зі збереженими гонадами становило 29 % ($p < 0,001$). Активність гідролізу АХ в міокарді передсердь цих тварин на 1-шу та 24-ту год розвитку некротичного процесу була аналогічною такій у тварин основної групи порівняння. Це свідчило про кращий коригуючий вплив одночасного застосування естрогену з прогестином на метаболізм АХ в міокарді передсердь, особливо на вміст його медіаторної фракції.

У міокарді шлуночків гонадектомованих самок вміст АХ достовірно зменшувався на обох етапах розвитку некротичного процесу, незважаючи на пригнічення активності його гідролізу. У тварин, які отримували гексестрол, попри незначне зменшення, вміст АХ залишався високим і переважав значення тварин зі збереженими гонадами в 1,7 рази ($p < 0,001$) на 1-шу год експерименту, та у 2 рази ($p < 0,001$) – на 24-ту год. Холінергетична активність міокарда шлуночків, незважаючи на аналогічну динаміку, була меншою, ніж у самок зі збереженими гонадами. На 1-шу год розвитку некротичного процесу це становило 39 % ($p < 0,001$), на 24-ту год – 71 % ($p < 0,001$). Попри подібність динаміки, вміст АХ в міокарді шлуночків за комбінованої замісної гормонотерапії був більший, ніж в умовах збереженої функції гонад, зокрема на 1-шу год дослідження – на 28 % ($p < 0,01$), на 24-ту год – на 30 % ($p < 0,001$). Достовірної різниці за активністю ферментативного гідролізу АХ між порівнюваними групами не було.

Відомо, що реалізація холінергічних ефектів передбачає корекцію метаболічної відповіді кардіоміоцитів на адренергічну стимуляцію за участі метаболічної фракції ацетилхоліну, кардіопротекторна роль якого полягає в покращенні поглинання міокардом глюкози, обмеженні активованого адреналіном глікогенолізу, ліполізу, сповільненні нагромадження лактату, вільних жирних кислот, гальмуванні процесів пероксидного окиснення ліпідів (В. Fuhrman et al., 2004; Т. Krieg et al., 2004; М. Р. Хара, 2006). Низький рівень АХ в міокарді гонадектомованих самок не забезпечив достатню ефективність метаболічних процесів в умовах метаболічного дисбалансу, спровокованого гіперкатехоламінемією. Про це свідчив більший, ніж у тварин зі збереженими гонадами, ступінь некротичного пошкодження міокарда. Зменшення відсотка некротизованих кардіоміоцитів за обох видів замісної гормонотерапії, можна пояснити високим вмістом ацетилхоліну та його стрес-лімітуючими кардіопротекторними ефектами. Разом із тим, лише за застосування комбінованої гормонотерапії і на 1-шу і на 24-ту год після введення адреналіну відсоток пошкоджених клітин міокарда шлуночків був аналогічний такому у тварин зі збереженими гонадами.

Відомо, що провідна роль у механізмах деструкції кардіоміоцитів, викликаній адреналіном, відводиться порушенню балансу між системами про- та антиоксидантів, а метаболічні зміни є аналогічними до тих, що супроводжують стрес, гіпоксію, ішемію (R. Parvin, N. Akhter, 2008; К. Chandran et al., 2009; V. E. Kagan et al., 2009). Окрім доведеного модулюючого впливу на

холінергічні процеси в серці, кардіопротекторні ефекти жіночих статевих гормонів забезпечуються їхніми антиоксидантними властивостями. Для глибшого розуміння механізмів впливу різних типів замісної гормонотерапії на перебіг некротичного процесу в міокарді гонадектомованих самок провели дослідження активності ПОЛ та АОС.

Встановили, що через 4 тижні після гонадектомії у міокарді і крові самок відбулося достовірне збільшення вмісту ДК, ТК, ТБК-АП та активація ферментів АОС, про що свідчило збільшення активності СОД та КАТ в міокарді, КАТ та вмісту ЦП в крові. Уведення протягом 4-х тижнів гексестролу мало наслідком подальше наростання вмісту продуктів ліпопероксидації у міокарді (ДК – у 6,3 раза, $p < 0,001$; ТК – у 5,8 раза, $p < 0,001$) та крові. Про напруження АОС свідчили висока активність СОД у міокарді шлуночків та вміст ЦП у крові. У випадку проведення комбінованої замісної гормонотерапії вміст ДК та ТК не перевищував такий у тварин зі збереженими гонадами. Активність ферментів АОС в міокарді за такої корекції відновлювалася, а вміст ЦП в крові перевищував показник у тварин зі збереженими гонадами у 2,6 раза.

Відомо, що адреналін у великих концентраціях сприяє розвитку гіпоксії/ішемії міокарда та активації ПОЛ (О. О. Маркова, 1997). У наших дослідженнях збільшення вже на 1-й год розвитку некротичного процесу вмісту ДК, ТК та ТБК-АП у міокарді і крові тварин зі збереженими гонадами викликало одночасну та закономірну активацію ферментів антиоксидантного захисту з наступною динамікою такого ж спрямування до 24-й год спостереження. Так, на 1-шу год досліду активність КАТ в міокарді тварин збільшилася на 44 % ($p < 0,001$), СОД – у 2,2 раза ($p < 0,001$), на 24-ту год – в 1,6 раза ($p < 0,001$) та 3,1 раза ($p < 0,001$) відповідно. У крові на 1-шу год розвитку некротичного процесу активність КАТ зросла на 23 % ($p < 0,001$), вміст ЦП – на 57 % ($p < 0,001$), а на 24-ту год – на 61 % та в 3,8 раза ($p < 0,001$).

У гонадектомованих самок реалізація кардіотоксичного ефекту адреналіну викликала суттєвіше, ніж у тварин зі збереженими гонадами, накопичення ДК та ТК в міокарді шлуночків. Різниця за даними показниками на 1-шу год досліду становила 6,3 раза ($p < 0,001$) та 6,3 раза ($p < 0,001$), а на 24-ту год – 6,8 раза ($p < 0,001$) та 6,8 раза ($p < 0,001$) відповідно. Уміст ТБК-АП на 1-шу год спостереження переважав значення у тварин групи порівняння у 2 рази ($p < 0,001$), на 24-ту год – у 2,5 раза ($p < 0,001$). Незважаючи на суттєвіше накопичення продуктів ПОЛ за змодельованих умов, антиоксидантний захист був недостатній. На 1-шу год експерименту активність КАТ в міокарді цих тварин зменшилася на 19 % ($p < 0,001$), СОД – на 72 % ($p < 0,001$), на 24-ту год – у 2,4 ($p < 0,001$) та 14 разів ($p < 0,001$) відповідно. У тварин даної групи активність згаданих вище ферментів у міокарді була меншою, ніж в особин зі збереженими гонадами, особливо на 24-ту год розвитку патологічного процесу, зокрема, КАТ – на 35 % ($p < 0,001$), СОД – у 8,7 раза ($p < 0,001$). Незважаючи на те, що до 24-ту год розвитку некротичного процесу вміст ЦП в крові гонадектомованих тварин збільшився на 28 % ($p < 0,001$), а активність КАТ – на 82 %

($p < 0,001$), абсолютні значення даних показників також були достовірно меншими, ніж у самок зі збереженими гонадами. Це пояснювало більш інтенсивне наростання вмісту продуктів ліпопероксидації.

Розвиток некротичного процесу в серці самок, які отримували гексестрол, також супроводжувався накопиченням метаболітів ПОЛ. На 1-шу год експерименту в міокарді шлуночків вміст ДК збільшився на 26 % ($p < 0,02$), ТК – на 27 % ($p < 0,001$), ТБК-АП – на 79 % ($p < 0,001$), на 24-ту год – на 32 % ($p < 0,001$), на 34 % ($p < 0,001$) та у 2,2 раза ($p < 0,001$) відповідно. Приріст активності КАТ на 1-шу год спостереження дорівнював лише 25 % ($p < 0,001$), а на 24-ту год – 12 % ($p < 0,001$). Цікаво, що активність СОД на 1-шу год розвитку некротичного процесу зросла на 9 % ($p < 0,05$), а на 24-ту год стала меншою за вихідне значення у 2 рази ($p < 0,02$). Порівняно з тваринами, які мали збережені гонади, на 24-ту год після введення адреналіну активність КАТ в міокарді самок, які отримували гексестрол, була на 23 % ($p < 0,001$) нижчою, а СОД – у 2,6 раза ($p < 0,001$), що й пояснювало недостатній кардіопротекторний ефект даного виду замісної гормонотерапії.

Накопичення продуктів ПОЛ при пошкодженні серця адреналіном на тлі комбінованої гормонотерапії було менш інтенсивним, ніж за застосування монотерапії, але достовірно більшим порівняно з тваринами, які мали збережені гонади. На 1-шу год спостереження вміст ДК у міокарді шлуночків самок, які отримували гексестрол із прогестероном, перевищував значення у тварин зі збереженими гонадами на 25 % ($p < 0,001$), ТК – на 28 % ($p < 0,001$), ТБК-АП – на 10 % ($p < 0,001$). Як прояв компенсації, ступінь приросту активності обох ферментів АОС був більшим, ніж в особин зі збереженими гонадами. Так на 24-ту год експерименту активність КАТ у самок, які отримували комбіновану замісну гормонотерапію, зросла у 2,5 раза ($p < 0,001$), СОД – у 3,6 раза ($p < 0,001$), а у тварин групи порівняння – на 55 % ($p < 0,001$) та в 3,1 раза ($p < 0,001$) відповідно. Найімовірніше, потужна активація згаданих вище ферментів вже на ранній стадії реалізації кардіотоксичного ефекту адреналіну запобігала запуску ланцюгової реакції ПОЛ вільними радикалами. Адже відомо, що гідропероксиди ліпідів, до числа яких відносяться ДК та ТК, здатні самостійно (радикали потрібні лише для ініціації) підтримувати таку ланцюгову реакцію (Н. А. Кленова, 2006).

Морфометричний аналіз показав, що в контрольних тварин усіх експериментальних груп у міокарді шлуночків виявлялися поодинокі необоротно пошкодженні кардіоміоцити. Кількість таких клітин через 4 тижні після гонадектомії зросла у 2 рази ($p < 0,001$), що є закономірним, зважаючи на дані літератури про кардіопротекторні властивості жіночих статевих гормонів (Н. Ю. Матвеева, 2003). Корекція гормонального фону гексестролом сприяла зменшенню кількості ушкоджених клітин. Проте даний показник залишався на 71 % ($p < 0,001$) більшим, ніж у тварин зі збереженими гонадами. Це свідчило про недостатню кардіопротекторну ефективність даного виду

замісної гормонотерапії. За застосування гексестролу з прогестероном кількість пошкоджених кардіоміоцитів також була більшою, ніж у тварин зі збереженими гонадами, проте різниця становила лише 3,6 % ($p < 0,02$). Найімовірніше, за даних умов мало значення порушення природної закономірності коливання вмісту обох гормонів в крові самок, що забезпечує особливі умови функціонування та метаболізму міокарда в нормі.

Зростання відсотка некротизованих кардіоміоцитів у шлуночках тварин усіх експериментальних груп, що спостерігали на 1-шу та 24-ту годину після введення адреналіну, свідчило про прогресування патологічних змін незалежно від гормонального фону. На 1-шу год спостереження даний показник у самок зі збереженими гонадами збільшився в 5,6 рази ($p < 0,001$), на 24-ту год – у 12,7 рази ($p < 0,001$) проти контролю даної групи, у гонадектомованих – у 4,1 ($p < 0,001$) та 7,2 ($p < 0,001$) рази, за застосування гексестролу – в 4,3 ($p < 0,001$) та 7,9 ($p < 0,001$) рази, за застосування гексестролу з прогестероном – у 4,6 ($p < 0,001$) та 9,8 ($p < 0,01$) рази відповідно. Як показали результати, ефективність застосованих варіантів замісної гормонотерапії була різною не тільки за вмістом продуктів ліпопероксидації, але й за відсотком некротизованих кардіоміоцитів. Якщо на 1-шу та 24-ту год розвитку некротичного процесу на тлі монотерапії гексестролом даний показник залишався достовірно більшим, ніж у тварин зі збереженими гонадами, то після застосування комбінованої замісної гормонотерапії достовірної різниці між порівнюваними значеннями не встановлено. Це було суттєвим підтвердженням того, що в умовах метаболічного дисбалансу, викликаного адреналіном, достатній кардіопротекторний ефект забезпечує лише комбінована замісна гормонотерапія.

Таким чином, проведені дослідження дозволили на рівні експерименту довести, що найбільш ефективною в плані захисту міокарда гонадектомованих самок щурів від пошкодження катехоламінами (стан, аналогічний гострому та хронічному стресу, гіпоксії, ішемії) є комбінована замісна гормональна терапія, яка передбачає корекцію гормонального фону одночасним уведенням естрогену з прогестином із першого дня після видалення яєчників. Серед встановлених механізмів такої кардіопротекції провідна роль відводиться відновленню балансу активності адренергічної та холінергічної ланок автономної нервової системи, збільшенню чутливості холінорецепторів, покращенню умов метаболізму ацетилхоліну.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення наукової задачі, що полягає у встановленні особливостей вегетативної регуляції серця, чутливості міокардіальних холінорецепторів, вмісту ацетилхоліну та активності його ферментативного гідролізу в серці гонадектомованих самок щурів при застосуванні моно- та комбінованої замісної гормональної терапії з метою корекції структурних та метаболічних порушень, викликаних адреналіном.

1. Оваріектомія спричинює посилення адренергічних та ослаблення холінергічних впливів на серце, зниження чутливості холінорецепторів до стимуляції блукаючого нерва (на 74,1 %, $p < 0,001$) та введення ацетилхоліну (на 36,1 %, $p < 0,001$), викликає збільшення вмісту ацетилхоліну в міокарді передсердь (на 74,7 %, $p < 0,001$) на тлі зниження активності його ферментативного гідролізу (на 32,2 %, $p < 0,001$), дефіцит ацетилхоліну в міокарді шлуночків (28,2 %, $p < 0,001$) при незначному збільшенні загальної холінестеразної активності. За відсутності яєчників активується пероксидне окиснення ліпідів та активність ферментів антиоксидантної системи, виникають структурні зміни в міокарді шлуночків.

2. Замісна монотерапія гексестролом активує холінергічну ланку вегетативної регуляції на тлі збереження високої активності адренергічної, збільшує чутливість серця гонадектомованих самок до стимуляції блукаючого нерва, зменшує – до введення ацетилхоліну. Рівень ацетилхоліну в міокарді передсердь за такої корекції залишається підвищеним, а в міокарді шлуночків суттєво зростає (у 2,5 раза перевищує показник інтактних тварин, $p < 0,001$) на тлі помірного зниження активності ферментативного гідролізу. Корекція гормонального фону гексестролом та прогестероном відновлює вихідний баланс активності обох ланок автономної регуляції, чутливість серця до стимуляції блукаючого нерва, збільшує (але не відновлює) – до введення ацетилхоліну, відновлює вміст медіатора та активність його ферментативного гідролізу в міокарді, що запобігає структурним та метаболічним змінам.

3. На тлі некротичного процесу в міокарді гонадектомованих самок відбувається ослаблення адренергічного та посилення холінергічного контролю серцевого ритму автономною нервовою системою. Замісна монотерапія гексестролом не має коригуючого впливу на вегетативну регуляцію діяльності пошкодженого адреналіном серця, а одночасне застосування гексестролу та прогестерону сприяє максимальному наближенню абсолютних значень та характеру динаміки показників кардіоінтервалометрії до тих, що реєструються в самок зі збереженими яєчниками.

4. Пошкодження міокарда гонадектомованих самок адреналіном на тлі замісної монотерапії гексестролом відбувається за меншої, ніж при наявності гонад, чутливості серця до стимуляції блукаючого нерва (1-ша год – на 9,6 %, $p < 0,01$, 24-та год – на 24,4 %, $p < 0,01$). Реакція пошкодженого адреналіном серця на екзогенний ацетилхолін при застосуванні гексестролу змінюється аналогічно тій, що реєструється в гонадектомованих особин, залишається меншою, ніж у тварин зі збереженими гонадами. Розвиток некротичного процесу в міокарді на тлі комбінованої замісної гормонотерапії відбувається за аналогічної самкам зі збереженими гонадами чутливості серця до стимуляції блукаючого нерва та меншої чутливості до екзогенного ацетилхоліну.

5. Відтворення некротичного процесу в міокарді гонадектомованих самок на тлі замісної терапії гексестролом викликає суттєве в міокарді передсердь та незначне – в міокарді шлуночків

зменшення вмісту та активності ферментативного гідролізу ацетилхоліну, динаміка не відповідає тій, що реєструється у тварин зі збереженими гонадами. Комбінована замісна гормонотерапія сприяє аналогічному до тварин зі збереженими гонадами спрямуванню змін умісту ацетилхоліну в міокарді шлуночків при відсутності такої закономірності для міокарда передсердь, на тлі аналогічної за абсолютними значеннями та динамікою активності його ферментативного гідролізу.

6. При пошкодженні міокарда адреналіном на тлі монотерапії гексестролом відбувається значне нагромадження продуктів ліпопероксидації, депресія в міокарді шлуночків та активація в крові ферментів антиоксидантного захисту. Відсоток некротизованих кардіоміоцитів за таких умов на 1-шу та 24-ту години після введення адреналіну менший, ніж за відсутності корекції, але перевищує показник у тварин зі збереженими гонадами. При розвитку некротичного процесу на тлі комбінованої замісної гормонотерапії реєструється мінімальна відмінність від тварин зі збереженими гонадами за вмістом у міокарді та крові продуктів ліпопероксидації, висока активність ферментів антиоксидантної системи, що сприяє аналогічному тваринам зі збереженими гонадами ступеню структурного пошкодження міокарда шлуночків.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Хара М. Р. Вплив гонадектомії та гормонозамісної терапії на показники математичного аналізу ритму пошкодженого адреналіном серця самок щурів / М. Р. Хара, В. Є. Пелих // Вісник наукових досліджень. – 2009. – № 3. – С. 74–76. (Дисертант самостійно виконав дослідження, статистично опрацював отримані результати, сформулював положення і висновки).

2. Хара М. Р. Вплив гормонозамісної терапії на активність пероксидного окиснення ліпідів міокарда гонадектомованих самок щурів / М. Р. Хара, В. Є. Пелих // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2009. – № 1. – С. 99–102. (Дисертант самостійно виконав біохімічні дослідження, статистично опрацював отримані результати, сформулював найважливіші положення).

3. Хара М. Р. Особливості пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи у гонадектомованих самок щурів при моделюванні некротичного пошкодження міокарда та корекції / М. Р. Хара, В. Є. Пелих // Медична хімія. – 2010. – № 1. – С. 80–84. (Дисертант самостійно виконав біохімічні дослідження, статистично опрацював отримані результати).

4. Хара М. Р. Особливості холінергічної регуляції серця самок при застосуванні замісної гормонотерапії для корекції розвитку некротичного процесу / М. Р. Хара, В. Є. Пелих // Клінічна та експериментальна патологія. – 2010. – Т. IX, № 1. – С. 88–91. (Дисертант самостійно виконав дослідження, статистично опрацював отримані результати).

5. Хара М. Р. Вплив гормонозамісної терапії на ступінь пошкодження адреналіном міокарда самок-щурів / М. Р. Хара, В. Є. Пелих // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник

Української медичної стоматологічної академії. – 2010. – Т. 10, Вип. 1 – С. 110–113. (Дисертант самостійно виконав дослідження, статистично опрацював отримані результати, сформулював висновки).

6. Пелих В. Є. Вплив гонадектомії та замісної гормонотерапії на показники математичного аналізу серцевої діяльності самок щурів / В. Є. Пелих, А. М. Дорохіна, О. А. Грицуняк // XIII Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених, 27–29 квітня 2009 р. : матеріали конгр. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2009. – С. 251. (Дисертант самостійно виконав дослідження, статистично опрацював отримані результати, проаналізував результати).

7. Роль статевих гормонів та модуляторів системи оксиду азоту у метаболізмі ацетилхоліну в міокарді / М. Р. Хара, А. М. Дорохіна, В. Є. Пелих, К. Є. Юрїїв, О. В. Кузів // «Наукові дослідження - теорія та експеримент 2010» : матеріали VI міжнародної науково-практичної конференції, 17–19 травня 2010 р. – Полтава : Вид-во «ІнтерГрафіка», 2010. – Т. 4. – С. 66–69. (Дисертант самостійно виконав дослідження, проаналізував результати, сформулював висновки).

8. Хара М. Р. Вплив гонадектомії та замісної естрогенотерапії на показники пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту серця самок щурів / М. Р. Хара, В. Є. Пелих // «Наукові дослідження - теорія та експеримент 2009» : матеріали V міжнародної науково-практичної конференції, 18-20 травня 2009 р.: – Полтава: Вид-во «ІнтерГрафіка», 2009. – Т. 5. – С. 124–126. (Дисертант самостійно виконав дослідження, статистично опрацював отримані результати, сформулював найважливіші положення).

9. Хара М. Р. Вплив замісної гормонотерапії на метаболізм та холінергічну регуляцію серця гонадектомованих самок за умов адреналінового пошкодження / М. Р. Хара, В. Є. Пелих // «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» : матеріали конференції, м. Тернопіль, 17 червня 2010 р.: – Тернопіль: Укрмедкнига, 2010. – С. 158–159. (Дисертант самостійно виконав дослідження, статистично опрацював отримані результати, сформулював найважливіші положення).

10. Хара М. Р. Роль гормонозамісної терапії у регуляції метаболізму ацетилхоліну в міокарді гонадектомованих самок щурів / М. Р. Хара, В. Є. Пелих // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2010. – Т. 5, № 2. – С. 49. (Дисертант самостійно виконав дослідження, статистично опрацював отримані результати, сформулював найважливіші положення).

11. Хара М. Р. Зміни реакції серця гонадектомованих самок щурів на холінергічні впливи за застосування замісної гормонотерапії / М. Р. Хара, В. Є. Пелих // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2009. – № 2. – С. 145. (Дисертант самостійно виконав дослідження, статистично опрацював отримані результати, сформулював найважливіші положення).

12. Хара М. Р. Спосіб зменшення смертності тварин при моделюванні адреналінового пошкодження міокарда / М. Р. Хара, В. Є. Пелих, Р. С. Усинський // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2009. – № 2. – С. 147. (Дисертант самостійно виконав частину досліджень, статистично опрацював отримані результати, сформулював найважливіші положення).

13. Хара М. Р. Морфометричний аналіз ступеня структурного пошкодження міокарда при моделюванні некротичного процесу та за умов замісної гормонотерапії / М. Р. Хара, В. Є. Пелих // «IX читання ім. В.В. Підвисоцького» : матеріали наукової конференції, м. Одеса, 27–28 травня 2010 р.: – Одеса: Одеський державний медичний університет, 2010. – С. 88–89. (Дисертант самостійно виконав дослідження, статистично опрацював отримані результати, сформулював найважливіші положення).

14. Пелих В. Є. Вплив замісної гормонотерапії на ступінь структурного пошкодження міокарда при моделюванні некротичного процесу / В. Є. Пелих, Ю. А. Свередюк // XIV Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених : матеріали конференції, м. Тернопіль, 13–15 квітня 2010 р.: – Тернопіль: Укрмедкнига, 2010. – С. 238. (Дисертант самостійно виконав дослідження, статистично опрацював отримані результати, сформулював найважливіші положення).

АНОТАЦІЯ

Пелих В.Є. Вплив замісної гормонотерапії на холінергічну регуляцію серця гонадектомованих самок за умов адреналінового пошкодження. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. – Державний вищий навчальний заклад “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського” МОЗ України. Тернопіль, 2011.

Дисертація присвячена з’ясуванню особливостей холінергічної регуляції серця при розвитку некротичного процесу на тлі оваріектомії та корекції гормонального фону моно- та комбінованою гормонотерапією.

Встановлено, що корекція гормонального фону гексестролом та прогестероном на відміну від застосування лише гексестролу відновлює вихідний баланс активності обох ланок автономної нервової системи, збільшує чутливість серця до ендogenous та екзогенного ацетилхоліну, відновлює вміст парасимпатичного медіатора в серці та активність його ферментативного гідролізу, запобігає активації ліпопероксидації та некротично-дистрофічним змінам у міокарді самок. Розвиток некротичного процесу в серці на тлі комбінованої замісної гормонотерапії гексестролом та прогестероном відбувається за аналогічної тваринам зі збереженими гонадами активності регуляторних ланок автономної нервової системи, чутливості серця до ендogenous та

дещо меншої чутливості до екзогенного ацетилхоліну, аналогічної за динамікою вмісту ацетилхоліну в міокарді шлуночків, активності його ферментативного гідролізу. За застосування гексестролу та прогестерону реєструється мінімальна відмінність від тварин зі збереженими гонадами за вмістом продуктів ліпопероксидації в міокарді та крові, висока активність ферментів антиоксидантної системи, що сприяє меншому, ніж за застосування гексестролу, ступеню пошкодження міокарда.

Ключові слова: овариєктомія, замісна гормонотерапія, серце, адреналін, ацетилхолін, холінестераза.

АННОТАЦІЯ

Пелих В.Е. Влияние заместительной гормонотерапии на холинергическую регуляцию сердца гонадэктомированных самок в условиях адреналинового повреждения. - Рукопись.

Диссертация на соискание научной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.04 – патологическая физиология. – Государственное высшее учебное заведение „Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского” МЗ Украины. Тернополь, 2011.

Диссертация посвящена выяснению особенностей холинергической регуляции сердца при развитии некротического процесса на фоне овариэктомии и коррекции гормонального фона моно- и комбинированной гормонотерапией.

В опытах на 171 самке половозрелых белых лабораторных крыс (возраст – 4 месяца) исследовано влияние различных видов заместительной гормональной терапии на регуляцию сердечной деятельности автономной нервной системой, чувствительность холинорецепторов миокарда к экзогенному и эндогенному ацетилхолину, содержание ацетилхолина и активность его гидролиза в миокарде предсердий и желудочков, изменения активности прооксидантной и антиоксидантной систем в плазме крови и сердце, проанализировано степень повреждения миокарда желудочков.

На основании анализа и обобщения результатов проведенных исследований впервые установлено, что овариэктомия вызывает усиление адренергических и ослабление холинергических влияний на сердце, снижение чувствительности холинорецепторов к стимуляции блуждающего нерва и введению ацетилхолина, вызывает увеличение содержания ацетилхолина в миокарде предсердий на фоне снижения активности его ферментативного гидролиза, дефицит ацетилхолина в миокарде желудочков при незначительном увеличении общей холинэстеразной активности. В результате овариэктомии повышается активность пероксидного окисления липидов и ферментов антиоксидантной системы, возникают структурные изменения в миокарде желудочков самок крыс. Заместительная гормональная монотерапия гексестролом (0,1 мг/кг в

брюшную полость, ежедневно на протяжении 4-х недель после овариэктомии) способствует увеличению активности холинергического звена вегетативной регуляции сердечного ритма. Использование гексестрола вызывает повышение чувствительности сердца гонадэктомированных самок к эндогенному и уменьшение к экзогенному ацетилхолину, способствует увеличению содержания ацетилхолина в миокарде желудочков. Степень структурных изменений в миокарде желудочков, вызванных гонадэктомией, при такой коррекции не уменьшается вследствие высокой активности процессов липопероксидации. Комбинация гексестрола и прогестерона (0,5 мг/день в брюшную полость) восстанавливает исходный баланс активности обоих звеньев автономной нервной системы, увеличивает чувствительность сердца к эндогенному и экзогенному ацетилхолину. Использование этих гормонов восстанавливает содержание парасимпатического медиатора в сердце и активность его ферментативного гидролиза, предотвращает активацию липопероксидации и дистрофические изменения в миокарде гонадэктомированных самок. Монотерапия гексестролом существенно не влияет на состояние вегетативной регуляции сердца гонадэктомированных самок при развитии адреналинового повреждения. Чувствительность миокардиальных холинорецепторов, содержание ацетилхолина в миокарде предсердий и активность ферментативного гидролиза медиатора при таких условиях остаются меньшими, чем у самок с сохраненными гонадами.

Установлено, что при повреждении миокарда адреналином в токсической дозе (1 мг/кг массы внутримышечно, одномоментно) на фоне монотерапии гексестролом происходит значительное накопление продуктов липопероксидации, депрессия в миокарде желудочков и активация в крови ферментов антиоксидантной защиты. Процент некротизированных кардиомиоцитов при такой коррекции меньше, чем при ее отсутствии, но больше, чем у животных с сохраненными гонадами. Развитие некротического процесса в сердце самок на фоне комбинированной гормонотерапии происходит при аналогичной животным с сохраненными гонадами активности регуляторных звеньев автономной нервной системы, чувствительности сердца к эндогенному ацетилхолину и несколько меньшей – к экзогенному. Эти условия также способствуют аналогичной динамике содержания ацетилхолина в миокарде желудочков, абсолютным значениям и динамике активности ферментативного гидролиза медиатора. При применении гексестрола и прогестерона регистрируются минимальные отличия от животных с сохраненными гонадами по содержанию продуктов липопероксидации в миокарде и крови, высокая активность ферментов антиоксидантной системы. Это способствует меньшей, чем при применении гексестрола, степени повреждения миокарда.

Ключевые слова: овариэктомия, заместительная гормонотерапия, сердце, адреналин, ацетилхолин, холинэстераза.

SUMMARY

Pelykh V. Ye. Influence of hormone replacement therapy on cholinergic regulation of the heart damaged by adrenalin in gonadectomy female rats. – Manuscript.

The dissertation for obtaining a scientific degree of candidate of medical sciences on speciality 14.03.04 – Pathological physiology. State Higher Educational Establishment „I.Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University” MPH of Ukraine. Ternopil, 2011.

The thesis is devoted to revealing the features of cholinergic regulation of the heart in necrotic process development on the background of ovariectomy and hormonal correction by mono- and combination hormone replacement therapy.

It is established that the correction of hormonal level by hexestrol and progesterone as opposed to applying only hexestrol restores the original balance of activity of both links of the autonomic nervous system, increases heart susceptibility to endogenous and exogenous acetylcholine and restores the contents of parasympathetic neurotransmitter in the heart and its activity of enzymatic hydrolysis, and prevents the activation of lipid peroxidation and necrotic-dystrophic changes in myocardium of female rats. Development of the heart necrotic process on the background of combined hormone replacement therapy with hexestrol and progesterone are similar in animals with preserved gonads of regulatory activity links of the autonomic nervous system, heart sensitivity to endogenous and slightly less sensitivity to exogenous acetylcholine, similar to the dynamics of acetylcholine content in the myocardium of the ventricles, its enzymatic activity hydrolysis. In applying hexestrol and progesterone minimum difference between the animals with preserved gonads is recorded by the contents of lipid peroxidation products in the myocardium and the blood, high activity of enzymes of antioxidant system, which contributes less than hexestrol application, the degree of myocardial damage.

Key words: ovariectomy, replacement hormone therapy, the heart, adrenaline, acetylcholine, cholinesterase.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ΔX	– варіаційний розмах величин кардіоінтервалів
АДР 1 год	– адреналінове пошкодження міокарда на 1-шу год експерименту
АДР 24 год	– адреналінове пошкодження міокарда на 24-ту год експерименту
АМо	– амплітуда моди
АНС	– автономна нервова система
АОС	– антиоксидантна система
АХ	– ацетилхолін
ГЕ	– гонадектомовані тварини
ГЕ+Г	– гонадектомовані тварини, які отримували замісну гормонотерапію

	гексестролом
ГЕ+Г+ПГ	– гонадектомовані тварини, які отримували замісну гормонотерапію гексестролом та прогестероном
ДК	– дієнові кон'югати
ЗГ	– тварини зі збереженими гонадами
ІБ _{n.v.}	– інтенсивність брадикардії при подразненні блукаючого нерва
ІБ _{АХ}	– інтенсивність брадикардії при введенні ацетилхоліну
ІН	– індекс напруження
КАТ	– каталаза
Мо	– мода
ПОЛ	– пероксидне окиснення ліпідів
СОД	– супероксиддисмутаза
ТБ _{АХ}	– тривалість брадикардії при введенні ацетилхоліну
ТБК-АП	– продукти пероксидного окиснення ліпідів, які реагують з тіобарбітуровою кислотою
ТК	– трієнові кон'югати
ХЕАпс	– загальна холінестеразна активність міокарда передсердь
ХЕАшл	– загальна холінестеразна активність міокарда шлуночків
ХР	– холінорецептор
ЦП	– церулоплазмін
ЧСС	– частота серцевих скорочень