

М.Р. Хара, С.І. Павлович, В.М. Михайлюк

Статеві відмінності функціональних і структурних порушень у міокарді щурів з гіпотиреозом

В експериментах на статевозрілих щурах було вивчено особливості холінергічної регуляції серця та ступінь структурного його пошкодження при гіпотиреозі залежно від статі та гормонотропної активності гонад. Гіпотиреоз у статевозрілих самців і самиць моделювали введенням щоденно протягом 15 діб мерказолілу (75 мг/кг; внутрішньошлунково). У тварин досліджували інтенсивність брадикардії, яка виникала у відповідь на електричну стимуляцію блукаючого нерва та внутрішньовенне введення ацетилхоліну. Ступінь структурних порушень у серці оцінювали за відсотком некротизованих кардіоміоцитів у шлуночках. Було встановлено, що одним із механізмів зменшення частоти серцевих скорочень при розвитку мерказолілового гіпотиреозу є зростання чутливості холінергичних рецепторів синусового вузла та вивільнення більшої кількості квантів ацетилхоліну з пресинаптичного відділу. Видалення гонад поглиблювало розлади серцевого ритму при гіпотиреозі. Частота серцевих скорочень при цьому зменшувалася більшою мірою, ніж в особин зі збереженими гонадами. Підґрунтям для розвитку брадикардії в самців після гонадектомії з гіпотиреозом було вивільнення більшої кількості ацетилхоліну із закінчень блукаючого нерва, а в самиць – зростання чутливості холінергичних рецепторів синусового вузла. При розвитку мерказолілового гіпотиреозу збільшувався відсоток пошкоджених кардіоміоцитів. Незалежно від гормонотропної активності гонад, цей процес був інтенсивнішим у самиць.

Ключові слова: гіпотиреоз, стать, серце, холінергічна регуляція.

ВСТУП

Гіпотиреоз у кожній розвиненій країні світу – предмет особливої уваги, адже тиреоїдні гормони беруть активну участь у розвитку людини і є визначальним фактором інтелектуального становлення. Загальна поширеність гіпотиреозу в людській популяції за різними даними становить до 10 % [4, 9]. Незалежно від віку, жінки частіше за чоловіків страждають на це захворювання [13]. Важливо контролювати проходження як маніфестного, так і субклінічного гіпотиреозу через імовірні ускладнення з боку серцево-судинної системи [11]. Це лягло в основу практики обстеження таких хворих, що передбачає визначення тиреоїдного статусу з огляду на те, що гіпофункція щитоподібної залози може стати самостійним фактором ризику інфаркту міо-

карда [2, 11]. Серед розладів серцевого ритму, які супроводжують гіпотиреоз, важливе місце посідають брадикардія, атріовентрикулярна блокада, ступінь важкості яких зростає з віком пацієнта та швидкістю прогресування тиреоїдної гіпофункції [5, 12]. У патогенезі синусової брадикардії, як базового порушення серцевого ритму при гіпотиреозі та маркера його важкості, значне місце займає автономна дисфункція [10]. В експериментах на тваринах доведено, що у разі гіпотиреозу суттєво порушуються як адренергічна, так і холінергічна регуляція діяльності серця [8].

Наявність гендерної складової у зазначеній проблемі доводить необхідність подальшого вивчення патогенезу гіпотиреозу, зокрема статевих відмінностей серцевої дисфункції за таких умов, що дасть змогу диференційовано підходити до оцінки стану

пацієнтів та сформувавши адекватні методи профілактики ускладнень.

Мета нашого дослідження – встановити в умовах експерименту характер порушень холінергічної регуляції серця та ступінь структурного його пошкодження в динаміці розвитку мерказолілового гіпотиреозу залежно від статі.

МЕТОДИКА

Експерименти провели на білих лабораторних статевозрілих самцях і самицях щурів (0,17–0,22 кг), гіпофункцію щитоподібної залози в яких моделювали щоденним згодовуванням мерказолілу (75 мг/кг) протягом 15 діб. Усіх тварин поділили на 4 групи. Перша група включала контрольних тварин, друга – щурів з мерказоліловим гіпотиреозом, третя – тварин з видаленими гонадами, четверта – особин, гіпотиреоз в яких виникав на тлі дефіциту статевих гормонів, спричиненого видаленням гонад. Через 5, 10 та 15 діб від початку експерименту вивчали стан холінергічного контролю діяльності серця за показником інтенсивності брадикардії, яка виникала при електричній стимуляції блукаючого нерва та внутрішньовенному введенні ацетилхоліну. У першому випадку це дає змогу оцінювати запаси ацетилхоліну в пресинаптичному відділі п. Vagus, а в другому – чутливість постсинаптичних холінорецепторів. Інтенсивність брадикардії визначали за формулою $R-R_{\max}/R-R_0$, де $R-R_0$ – середнє значення кардіоінтервалів (секунди), реєстрованих на електрокардіограмі до електричного подразнення блукаючого нерва чи внутрішньовенне введення ацетилхоліну, а $R-R_{\max}$ – максимальне значення кардіоінтервалу (секунди), що реєструвалося після зазначених вище функціональних впливів [6]. Для підтвердження розвитку гіпотиреоїдної кардіоміопатії досліджували ступінь структурних змін у міокарді шлуночків. На мікротомі виготовляли поперечні зрізи (товщина 5–6 мкм) на рівні папілярних

м'язів, що відповідає ділянці найбільшої активності скоротливих клітинних елементів, і фарбували за Гейденгайном. У них визначали об'ємний відсоток пошкоджених кардіоміоцитів, які фарбувалися в чорний колір [1]. Всі експерименти та евтаназію тварин здійснювали згідно з положеннями “Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1986), і „Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У результаті проведених досліджень було встановлено, що зі збільшенням тривалості дії мерказолілу як у самців, так і в самиць ступінь пригнічення активності синусового вузла зростає. Зменшення частоти серцевих скорочень через 15 діб від початку відтворення гіпотиреозу в самців становило 52 %, а в самиць – 63 %, що засвідчило різницю між тваринами. Інтенсивність брадикардії, якою реагувало серце на стимуляцію блукаючого нерва, через 15 діб експерименту в самиць зросла в 2,1 раза, а в самців – в 1,4 раза (таблиця). Такі зміни, з одного боку, свідчили про збільшення квантів ацетилхоліну, які виділялися в синаптичну щілину при стимуляції блукаючого нерва, з іншого – визначаються чутливістю постсинаптичних холінорецепторів. Останнє оцінювали за інтенсивністю брадикардії, яка виникала у відповідь на внутрішньовенне введення ацетилхоліну. Через 15 діб спостереження за розвитком гіпотиреозу в самиць цей показник зріс у 3,3 раза, а в самців – в 1,7 раза, що підтверджувало збільшення чутливості постсинаптичних холінорецепторів. Як і в першому дослідженні було виявлено різницю між тваринами різної статі.

Достовірні зміни інтенсивності брадикардії, отриманої в досліді з електричною стимуляцією блукаючого нерва та при введенні

Інтенсивність брадикардії (абсолютне число), що виникала при електричній стимуляції блукаючого нерва та внутрішньовенному введенні ацетилхоліну (M±m, n=6)

Інтенсивність брадикардії	Стать	Гіпотиреоз			
		Контроль	5 діб	10 діб	15 діб
Тварини зі збереженими гонадами					
Електрична стимуляція блукаючого нерва	Самці	8,81±0,09**	7,90±0,16*,**	9,10±0,10**	12,54±0,15*,**
	Самиці	7,78±0,08	8,98±0,11*	10,20±0,14*	16,20±0,13*
Введення ацетилхоліну	Самці	4,59±0,14	4,66±0,11**	7,62±0,13*,**	7,90±0,16*,**
	Самиці	4,27±0,16	6,12±0,09*	8,21±0,14*	14,20±0,18*
Тварини з видаленими гонадами					
Електрична стимуляція блукаючого нерва	Самці	5,11±0,12**,***	8,31±0,23*,**	15,33±0,64*,**,***	20,09±0,86*,**,***
	Самиці	3,61±0,14***	3,88±0,10***	3,99±0,09***	5,03±0,18*,***
Введення ацетилхоліну	Самці	4,03±0,06**,***	3,03±0,16*,***	2,09±0,09*,**,***	1,17±0,01*,**,***
	Самиці	3,09±0,10***	3,47±0,13*,***	10,49±0,24*,***	21,81±1,14*,***

* достовірна відмінність ($P < 0,05$) відносно контролю, ** достовірна відмінність між тваринами різної статі, *** достовірна відмінність відносно показника тварин зі збереженими гонадами.

ацетилхоліну, підтвердили вагому роль обох складових, які визначали холінореактивність пейсмейкерів синусового вузла тварин. Щоправда, домінуючим при цьому було підвищення чутливості постсинаптичних холінорецепторів. Варто зазначити, що реакція холінергічних структур серця самиць на функціональні впливи в умовах гіпотиреозу була достовірно вищою. Це пояснює більш суттєве зменшення частоти серцевих скорочень у них при розвитку гіпотиреозу.

Для встановлення ролі статевих гормонів у функціональній перебудові серця при розвитку гіпотиреозу наступні дослідження було проведено на щурах з видаленими гонадами. Реакція серця самців з гіпотиреозом після гонадектомії на стимуляцію блукаючого нерва на 15-ту добу спостереження була в 1,6 раза більшою, ніж у тварин зі збереженими гонадами. При введенні ацетилхоліну в яремну вену серце цих тварин реагувало брадикардією, інтенсивність якої була в 6,8 раза меншою, ніж в особин зі збереженими гонадами. Сукупний аналіз отриманих результатів показав, що дефіцит андрогенів сприяв значному в умовах гіпотиреозу накопиченню ацетилхоліну в пресинаптичному відділі блукаючого

нерва і це слід вважати головним механізмом розвитку брадикардії. А менш суттєві, ніж у самиць, зміни ритму серця найімовірніше були результатом зменшення чутливості холінорецепторів синусового вузла, що варто оцінити як прояв компенсації.

У самиць з видаленими гонадами, на відміну від самців, зменшення частоти серцевих скорочень, як головний прояв тиреоїдної гіпофункції, було наслідком зростання чутливості постсинаптичних холінорецепторів. Адже інтенсивність брадикардії, яка виникала при введенні ацетилхоліну у них, була в 1,5 раза більшою, ніж в особин зі збереженими гонадами, а при електричній стимуляції блукаючого нерва – в 3,2 раза меншою. Варто зазначити, що зменшення частоти серцевих скорочень у самиць, гіпотиреоз в яких виникав на тлі гонадектомії, було більш суттєвим, ніж у самців з видаленими гонадами. Така особливість реакції серця самиць на холінергічні впливи, зважаючи на те, що передача сигналів через M2-холінорецептори відбувається за участю G-білків і вторинного месенджера – цГМФ, може свідчити про синергічність ефектів естрогенів і тиреоїдних гормонів на рівні холінорецепторів кардіоміоцитів [7, 10].

В умовах гіпотиреозу виникали структурні зміни в серці, ступінь яких також залежав від статі та гормонопродукуючої активності гонад.

Морфометричний аналіз показав, що об'ємний відсоток пошкоджених кардіоміоцитів, які при забарвленні за Гейденгайном фарбувалися в чорний колір, у самців зі збереженими гонадами через 15 діб від початку розвитку гіпотиреозу зріс в 3,4 раза, а в самиць – в 4,9 раза. У тварин з видаленими гонадами дефіцит тиреоїдної активності викликав суттєвіші структурні зміни в шлуночках. Кількість пошкоджених кардіоміоцитів у таких самців була більшою, ніж в особин зі збереженими гонадами, в 1,7 раза, а в самиць – в 2,1 раза. Як за збереженої, так і відсутньої гормонопродукуючої активності гонад ступінь структурних змін, викликаних дефіцитом тиреоїдних гормонів, був більший у самиць щурів. Про це свідчив більший об'ємний відсоток пошкоджених кардіоміоцитів на 57 та 95 % відповідно.

Наведені результати показали статеву відмінність не лише в порушенні функціонування серця, зокрема характеру холінергічної регуляції, але й у ступені пошкодження міокарда, що демонструє важчий перебіг тиреоїдопатії в особин жіночої статі, незалежно від активності гонад.

ВИСНОВКИ

1. Мерказоліловий гіпотиреоз характеризується зростанням реакції серця на холінергічні впливи. Такі зміни є інтенсивнішими в самиць щурів.

2. Домінуючим механізмом розвитку гіпотиреоїдної брадикардії в самців з видаленими гонадами є накопичення ацетилхоліну в пресинаптичному відділі блукаючого нерва, а в самиць – зростання чутливості постсинаптичних холінергічних рецепторів.

3. Мерказоліловий гіпотиреоз викликає структурне пошкодження міокарда шлуночків, що за збережених та видалених гонад є суттєвішим у самиць.

М.Р. Хара, С.І. Павлович, В.Н. Михайлюк

ПОЛОВЫЕ ОТЛИЧИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ И СТРУКТУРНЫХ НАРУШЕНИЙ В МИОКАРДЕ КРЫС С ГИПОТИРЕОЗОМ

В экспериментах на половозрелых крысах были изучены особенности холинергической регуляции сердца и степень структурного его повреждения при гипотиреозе в зависимости от пола и активности половых желез. Гипотиреоз у половозрелых самцов и самок моделировали введением мерказолила (75 мг/кг; внутривентрикулярно) ежедневно в течение 15 сут. У животных исследовали интенсивность брадикардии, которая возникала в ответ на электрическую стимуляцию блуждающего нерва и внутривенное введение ацетилхолина. Степень структурного повреждения сердца оценивали по проценту поврежденных кардиомиоцитов в миокарде желудочков. Было установлено, что одним из механизмов уменьшения частоты сердечных сокращений при развитии мерказолилового гипотиреоза является повышение чувствительности холинорецепторов синусного узла и выделение большего количества квантов ацетилхолина из окончаний блуждающего нерва, особенно у самок. При развитии гипотиреоза на фоне гонадэктомии брадикардия была более существенной, чем у особей с сохраненными половыми железами. Ее возникновению у самцов способствовало высвобождение большего количества ацетилхолина из окончаний блуждающего нерва, а у самок – увеличение чувствительности холинорецепторов синусного узла. Независимо от гормонопродуцирующей активности гонад, структурное повреждение миокарда самок крыс при мерказолиловом гипотиреозе было существеннее, чем у самцов.

Ключевые слова: гипотиреоз, пол, сердце, холинергическая регуляция

M.R. Khara, S.I. Pavlovych, V.M. Mykhailiuk

SEX DIFFERENCE OF FUNCTIONAL AND STRUCTURAL ALTERATIONS IN RAT MYOCARDIUM UNDER HYPOTHYROIDISM

In experiments on sexually mature rats we studied specific cholinergic regulations of the heart and the degree of its structural damage in hypothyroidism, depending on gender and hormone-productive activity of the gonads. Hypothyroidism in sexually mature males and females was modelled with mercazolil intragastric administration (75 mg/kg) daily during 15 days. We also studied the intensity of bradycardia, which occurred in response to electrical stimulation of vagus nerve and intravenous acetylcholine administration. The degree of structural heart damage was assessed by the percentage of damaged cardiomyocytes in the ventricles of myocardium. It was found that one of the mechanisms of bradycardia in mercazolil-induced hypothyroidism is an increase of the sensitivity of sinus node cholinergic receptors and release of more quanta of acetylcholine from stimulated nerves vagus

endings, what was more intense in females. The intensity of bradycardia in hypothyroidism was more significant in *gonadectomized animals* than in individuals with preserved gonads. The mechanisms of its occurrence in males consist of release of greater amount of acetylcholine from the endings of the nerves vagus, and in females it was the result of significant increase of the sensitivity of sinus node cholinergic receptors. Regardless of the gonads activity, structural damage of the myocardium in merkazolil-induced hypothyroidism was more intense in female rats.

Key words: hypothyroidism, sex, heart, cholinergic regulation.

*V. Hnatyuk Ternopil National Pedagogical University;
O.O. Bogomolets Physiology Institute of National Academy
of Sciences of Ukraine;*

I. Ya. Horbachevski Ternopil State Medical University

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство. – М.: Медицина, 1990. – 383 с.
2. Будневский А.В., Бурлачук В.Т., Грекова Т.И. Гипотиреоз и сердечнососудистая патология // Клиническая тиреоидология. – 2004. – 2, № 2. – С. 7–14.
3. Доскина Е.В. Гипотиреоз у пожилых больных // Рос. мед. журн. – 2007. – 15, № 27. – С. 2103–2107.
4. Огнева Н.А., Трошина Е.А. Тактика лечения впервые выявленного гипотиреоза // Там же. – 2009. – 17, № 10. – С. 684–686.
5. Ткаченко В.И. Гипотиреоз: патогенетические основы клинических проявлений // Семейная медицина. – 2008. – № 1. – С. 15–19.
6. Хара М.Р. Особливості холінергічної регуляції серця інтактних і кастрованих самців та самок щурів // Буков. мед. вісн. – 2004. – 8, № 1. – С. 153–155.
7. Ampong B., Honda H., Kogo H. Effect of hypothyroidism on beta-adrenoreceptor-mediated relaxation in the rat thoracic aorta. A time-dependent study // *Vascul. Pharmacol.* – 2002. – 38, № 3. – P. 149–155.
8. Cacciatori V., Gemma M.L., Bellavere F., Castello R., De Gregori M.E., Zoppini G., Thomaseth K., Moghetti P., Muggeo M. Power spectral analysis of heart rate in hypothyroidism // *Eur. J. Endocrinol.* – 2000. – 143, № 3. – P. 327–333.
9. Canaris G.J., Manowitz N.R., Mayor G., Ridgway E.C. The Colorado thyroid disease prevalence study // *Arch. Intern. Med.* – 2000. – 60. – P. 526–534.
10. Guasti L., Marino F., Cosentino M., Cimpanelli M., Piantanida E., Mainardi L.T., Vanoli P., De Palma D., Bombelli R., Ferrari M., Crespi C., Simoni C., Klersy C., Gaudio G., Maroni L., Grandi A.M., Tanda M., Bartalena L., Cerutti S., Lecchini S., Venco A. Changes in autonomic modulation to the heart and intracellular catecholamines. A longitudinal study in differentiated thyroid carcinoma during short-term hypothyroidism and thyroid hormone replacement // *Horm. Res.* – 2007. – 67, № 4. – P. 171–178.
11. Hak A.E., Pols H.A., Visser T.J., Drexhage H.A., Hofman A., Witteman J.C. Subclinical hypothyroidism is an independent risk factor for atherosclerosis and myocardial infarction in elderly women: the Rotterdam Study // *Ann. Intern. Med.* – 2000. – 132, № 4. – P. 270–278.
12. Ozcan K.S., Osmonov D., Erdinler I., Altay S., Yildirim E., Turkkan C., Hasdemir H., Cakmak N., Alper A.T., Satilmis S., Gurkan K. Atrioventricular block in patients with thyroid dysfunction: prognosis after treatment with hormone supplementation or antithyroid medication // *J. Cardiol.* – 2012. – 60, № 4. – P. 327–332.
13. Tseng F.Y., Lin W.Y., Lin C.C., Lee L.T., Li T.C., Sung P.K., Huang K.C. Subclinical hypothyroidism is associated with increased risk for all-cause and cardiovascular mortality in adults // *J. Amer. Coll. Cardiol.* – 2012. – 60, № 8. – P. 730–737.

*Терноп. нац. пед. ун-т ім. В. Гнатюка;
Ин-т фізіології імені О.О. Богомольця НАН України, Київ;
Терноп. мед. ун-т ім. І.Я. Горбачевського
E-mail: khara_m@list.ru*

*Матеріал надійшов
до редакції 06.12.2012*