

УДК 612.172.2

ВЛИЯНИЕ α -ТОКОФЕРОЛА НА РЕГУЛЯЦИЮ СЕРДЕЧНОГО РИТМА НЕЛИНЕЙНЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО СТРЕССА

© 2010 Е.В. Курьянова

Астраханский государственный университет

Поступила в редакцию 27.09.2010

Введение α -токоферола *per os* в дозе 10 мг/кг массы тела периодически в течение жизни крыс модифицирует реакцию регуляторных систем на острый стресс, так как способствует формированию менее ригидного ритма сердца, но потенцирует, особенно на начальном этапе стресса, резкое повышение мощности не только LF-, но и VLF-волн спектра ВСП. Последнее может свидетельствовать об усилении ответной реакции на стресс со стороны надсегментарного уровня регуляции.

Ключевые слова: *α -токоферол, вариабельность сердечного ритма, острый стресс, крысы*

Витамин Е (α -токоферол, ТФ) является одним из наиболее популярных витаминов, поскольку обладает выраженными антиоксидантными свойствами и способен защищать клетки от свободных радикалов, которые в избытке образуются в организме, испытывающем стрессорные нагрузки [4, 8, 9]. Вместе с тем имеются данные и о других эффектах ТФ в организме. Обнаружено его модулирующее влияние на морфофункциональное состояние нейроэндокринных центров гипоталамуса [12]. При длительном приеме ТФ выявлены изменения в регуляции сердечного ритма у крыс [6], в уровне тревожности и поведенческих реакциях животных [5] и человека [1]. Однако остается мало изученным влияет ли длительный прием ТФ на развитие стресс-реакции, на активность регуляторных систем организма в стрессовой ситуации, за исключением некоторых работ [13].

Цель работы: изучение особенностей стресс-индуцированных изменений регуляции сердечного ритма самцов и самок крыс, длительно получавших ТФ, с применением анализа вариабельности сердечного ритма (ВСП).

Методика исследования. Опыты поставлены на самцах и самках нелинейных белых крыс 15-недельного возраста в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Минздрава СССР от 12.08.1977 г. № 55). Животные содержались в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и корму. Введение ТФ *per os* в виде 10% масляного раствора D,L- α -токоферолацетата в дозе 10 мг/кг массы тела

производилось на 2-3-й, 5-6, 10-11, 14-15-й неделях жизни) ежедневно. Контрольные животные (группа К) получали по той же схеме физиологический раствор.

ЭКГ регистрировали у ненаркотизированных крыс на аппаратно-программном комплексе «Варикард» (Рамена, Россия) с помощью миниатюрных электродов-зажимов при местном обезболивании лидокаином (0,05 мл 0,5% раствора в/кожно) в условиях покоя на 15-й, 30-й и 60-й минутах острого эмоционально-болевого стресса (ЭБС). ЭБС длительностью 1 ч по методике [10] сочетал иммобилизацию животного в плексигласовом пенале с электроболевым раздражением хвоста по стохастической схеме. Для стрессирования из групп К и ТФ были отобраны особи с доминированием в спектре ВСП HF-волн и с относительным симпато-парасимпатическим балансом [7], чтобы исключить влияния на результаты исходного состояния регуляторных систем.

Обработка рядов R-R-интервалов и анализ ВСП производилась в программе «ИСКИМ 6». Точность измерения R-R-интервалов составляла 1 мс. Из любой записи ЭКГ обрабатывали по 300 R-R-интервалов [7]. Рассчитывались ЧСП, ΔX , индекс напряжения (ИН) по Баевскому [3], с учетом ширины класса гистограммы (7,8 мс). Спектральный анализ проводили в диапазонах: HF (0,9 – 3,0 Гц), LF (0,32 – 0,9 Гц), VLF (0,18 – 0,32 Гц). Определяли суммарную мощность спектра (TP, мс²), абсолютные значения мощностей в указанных диапазонах и рассчитывали IC (индекс централизации IC=(LF+VLF)/HF). Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 6.0 (StatSoft, Inc).

Результаты исследования и их обсуждение. У самцов групп К и ТФ острый стресс вызвал значительный (на 35-39%, $P < 0,001$) рост ЧСП. Повышение ЧСП было

Курьянова Евгения Владимировна, кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии и морфологии человека и животных. E-mail: fyzevk@rambler.ru

сопряжено с падением Мо кардиоинтервалов ($r = -0,97$, $P < 0,01$), пик которого в обоих случаях пришелся на 15-й мин ЭБС (табл. 1). У контрольных самцов в начале стресса снизился ΔX (на 21%, $P < 0,05$) и вырос ИН (на 79%, $P < 0,05$). К 30-й мин ΔX вернулся к исходному уровню, ИН остался высоким ($P < 0,001$ и $P < 0,05$) из-за низкой Мо кардиоинтервалов. У самцов группы ТФ, напротив, ΔX повысился,

особенно на 15-30-й мин ЭБС ($P < 0,05$), поэтому, несмотря на падение Мо ($P < 0,001$), ИН практически не изменился. То есть, острый стресс, вызывавший у крыс группы К снижение variability ритма сердца и повышение ИН, у крыс, получавших ТФ, не сопровождался заметным усилением rigidity CP.

Таблица 1. Динамика показателей сердечного ритма половозрелых самцов крыс в процессе острого эмоционально-болевого стресса, $M \pm m$

Показатели ВСР	Группа	Состояние покоя	15-я минута стресса	30-я минута стресса	60-я минута стресса
ЧСР, уд/мин	К 10	315,2±7,4	446,7±8,4 ***	436,6±9,4 ***	411,4±8,2 ***
	ТФ 6	315,1±6,3	437,2±6,5 ***	419,6±8,5 ***	427,0±7,7 ***
Мо, мс	К 10	192,7±4,5	135,3±2,7 ***	139,4±3,5 ***	147,3±3,1 ***
	ТФ 6	190,7±4,5	133,2±2,8 ***	145,0±3,5 ***	139,0±4,3 ***
ΔX , мс	К 10	32,2±2,51	25,4±2,64 *	35,3±1,29	28,6±1,09
	ТФ 6	31,2±1,51	41,0±3,88 *^^	41,8±3,53 *	39,2±3,98^^
ИН, отн. ед.	К 10	24,66±2,25	44,19±3,01 ***	35,34±1,50 ***	37,43±3,49 *
	ТФ 6	26,36±2,38	33,87±4,39	28,68±3,80	25,46±1,87^
ТР, мс ²	К 10	15,10±2,09	18,01±3,64	18,21±3,33	16,08±2,80
	ТФ 6	11,65±2,09	49,57±7,05 ***, ^^^	20,68±4,09	25,99±3,68 **^
HF, мс ²	К 10	8,75±1,49	5,96±0,72	5,37±0,81	7,79±1,52
	ТФ 6	6,45±0,94	4,69±0,87	5,15±0,66	7,31±1,73
LF, мс ²	К 10	4,44±0,39	5,89±0,34 *	10,77±1,98 **	7,51±0,89 **
	ТФ 6	2,46±0,37 ^^	21,21±3,66 ***, ^^^	8,60±1,09 ***	11,65±1,53 ****^
VLF, мс ²	К 10	2,76±0,40	2,14±0,39	4,88±0,95	4,08±0,61
	ТФ 6	2,56±0,30	23,66±3,84 ***, ^^^	6,93±1,48 *	7,03±0,85 ****^
IC, отн. ед.	К 10	0,75±0,10	0,63±0,08	2,32±0,41 ***	1,39±0,15 *
	ТФ 6	0,95±0,10	6,21±1,29 ***^^^	2,31±0,46 *	2,77±0,35 ****^^^
Соотн. спектров	К 10	HF>LF>VLF	HF=LF>VLF	LF>HF>VLF	HF=LF>VLF
	ТФ 6	HF>>LF=VLF	VLF>LF>>HF	LF>VLF>HF	LF>HF=VLF

Примечание: достоверность различий определяли по критерию Стьюдента, $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ - *, **, *** по сравнению с состоянием покоя; ^, ^^, ^^ - по сравнению с соответствующими группами контрольных крыс

Спектральный анализ ВСР выявил различную динамику мощности медленных волн спектра у крыс контрольной и опытной групп во время ЭБС. У самцов группы К значительно повысились LF-волны, особенно на 30-60-й мин опыта (в 2,4 – 1,7 раза, $P < 0,01$), что стало основной причиной роста IC ($P < 0,001$ и $P < 0,05$). У самцов, получавших ТФ, в начале ЭБС произошло резкое повышение мощности не только LF- (в 8,6 раза, $P < 0,001$), но и VLF-волн (в 9,2 раза, $P < 0,001$). На 30-60-й мин стресса мощности медленных волн стали слабее, но все еще значительно превышали исходные значения ($P < 0,001$). Максимальная централизация управления у самцов группы

ТФ была зафиксирована на 15-й мин ЭБС, когда IC превысил исходные значения в 6,5 раз ($P < 0,001$).

Итак, для самцов, выросших на обычной диете, в условиях острого стресса характерно: 1) нарастание ИН и IC, 2) формирование ВСР преимущественно волнами LF и HF, что в соответствии с [3] может свидетельствовать об усилении централизации управления CP под контролем стволового сосудодвигательного центра. У самцов крыс, получавших ТФ, в стрессовой ситуации сильно повышается только IC, в спектре ВСР доминируют VLF- и LF-волны, что говорит о более резком усилении централизации управления CP за счет активации

как надсегментарных структур, так и стволового сосудодвигательного центра.

У самок группы К в тех же условиях стресса ЧСР на 15-й мин поднялась на 25% ($P<0,001$), то есть в меньшей мере, чем у самцов (табл. 2). Самки, получавшие ТФ, реагировали на стресс более сильным повышением ЧСР (на 38,8%, $P<0,001$), но тахикардия несколько ослабевала уже к 30-й мин ЭБС. Стрессорная тахикардия у самок, как

и у самцов, определялась снижением Мо кардиоинтервалов ($r = -0,98$, $P<0,01$). Самки группы К, в отличие от самцов, реагировали на ЭБС более слабым изменением ΔХ и ИН, максимальное повышение ИН на 30-й мин стресса составило всего 48% ($P<0,05$). У самок группы ТФ, как и у самцов, стресс не вызвал роста ИН, а ΔХ даже несколько увеличился в сравнении с покоем.

Таблица 2. Динамика показателей сердечного ритма половозрелых самок крыс в процессе острого эмоционально-болевого стресса, $M \pm m$

Показатели ВСР	Тип	Состояние покоя	15-я минута стресса	30-я минута стресса	60-я минута стресса
ЧСР, уд/мин	К7	341,1±6,0	428,0±6,3 ***	427,5±5,8 ***	427,6±7,8 ***
	ТФ4	323,5±5,0	449,2±7,4 ***	419,7±6,4 ***	413,6±5,7 ***
Мо, мс	К7	176,7±3,0	141,6±3,9 ***	138,8±3,7 ***	141,0±4,7 ***
	ТФ4	181,2±3,0	133,5±1,2 ***	143,0±2,4 ***	145,2±3,7 ***
ΔХ, мс	К7	30,6±3,56	24,8±3,55	25,5±2,83 ↓□□	37,6±1,95↑□□□
	ТФ4	26,8±3,12	31,3±1,76	36,0±3,18 ^	34,5±1,17
ИН, отн. ед.	К7	33,95±3,48	44,44±4,06	50,25±3,72 *	41,29±4,43
	ТФ4	31,95±3,55	33,37±3,62	37,27±3,72	32,53±2,01
ТР, мс ²	К7	13,49±2,88	16,98±3,20	16,77±2,36	40,28±5,83 ***↑□□
	ТФ4	13,24±1,86	25,79±3,90 *↓□	17,73±1,82	15,28±1,56 ^
HF, мс ²	К7	6,55±0,34	7,16±1,66	4,62±0,51	9,74±1,15 *
	ТФ4	6,77±0,44	5,42±0,74	5,75±0,69	4,66±0,45^
LF, мс ²	К7	2,46±0,37 ↓□□	6,12±0,56 ***	10,03±1,78 ***	16,82±2,91 ***↑□□
	ТФ4	3,46±0,47	12,17±1,67 **^^^	7,96±0,84 **	6,08±0,74 *↓□
VLF, мс ²	К7	3,27±0,30	3,70±0,44	2,12±0,27 *↓□	13,72±2,17 ***↑□□□
	ТФ4	2,57±0,34	8,19±1,54 *↓□, ^	4,02±0,73	4,53±0,27 **↓□, ^
IC, отн. ед.	К7	0,88±0,12	1,50±0,26 * ↑□□	2,35±0,18 ***	2,81±0,59 **↑□
	ТФ4	0,87±0,09	5,25±1,06 **, ^^	2,75±0,54 *	2,69±0,28 ***
Соотношение спектральных компонент	К7	HF>VLF>LF	HF=LF>VLF	LF>>HF>VLF	LF>VLF>HF
	ТФ4	HF>LF>VLF	LF>VLF>HF	LF>HF>VLF	LF>HF=VLF

Примечание: достоверность различий определяли по критерию Стьюдента, $p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$ - *, **, *** по сравнению с состоянием покоя; ^, ^^, ^^ - по сравнению с соответствующими группами контрольных крыс; □, □□, □□□ - по сравнению с самцами соответствующей группы (в табл.1), значками ↑ и ↓ показаны повышенные или сниженные показатели относительно самцов

У самок группы К в начале ЭБС сильно увеличилась мощность LF-волн (в 2,5 раза $P<0,001$), а с 30-й мин эти волны стали доминирующими в спектре ВСР, их мощность продолжила расти и на 60-й мин превысила исходный уровень в 6,8 раза ($P<0,001$). В отличие от самцов, у самок группы К на 60-й минуте стресса резко усиливается общая переменность кардиоинтервалов за счет усиления как LF-волн, так и других волн: VLF (в 4,2 раза, $P<0,001$) и HF (в 1,5 раза, $P<0,05$). Повышение мощности

медленных волн в ходе ЭБС обусловило нарастание IC ($P<0,01$), причем самые высокие значения отмечались тоже на 60-й мин стресса ($P<0,001$). У самок, получавших ТФ, резкий рост мощности спектра ВСР ($P<0,05$) произошел уже в начале ЭБС, что определялось усилением колебаний в диапазонах LF (в 3,5 раза, $P<0,01$) и VLF (в 3,2 раза, $P<0,05$). На последующих этапах ЭБС мощность этих волн стала слабее по сравнению с 15-й мин стресса, но все же осталась выше исходной и отражала высокую

централизацию управления СР ($P < 0,001$). В течение ЭБС у самок группы ТФ в спектре ВСР доминировали LF-волны, то есть вариабельность СР в основном сопряжена с активностью сосудодвигательного центра.

Итак, для самок, выросших на обычной диете, в условиях острого стресса характерно: 1) повышение ИС при достаточно слабых изменениях ИН, 2) доминирование LF-волн в спектре ВСР, 3) резкое повышение общей мощности спектра, особенно LF-волн, в конце ЭБС, что по [3,11] указывает на преобладающую роль стволового сосудодвигательного центра в регуляции СР в условиях стресса. У самок крыс, получавших ТФ, в стрессовой ситуации ИС повышается особенно сильно, в спектре ВСР тоже доминируют LF-волны, но максимальный рост мощности спектра происходит в начале ЭБС при доминировании LF- и VLF-волн, что говорит о более резком усилении централизации управления СР за счет активации как стволового сосудодвигательного центра, так и надсегментарных структур [3, 12].

Итак, у крыс группы К на действие стресс-фактора формируются характерные изменения хронотропии сердца: рост ЧСР, ИН, мощности LF-волн, причем последнее определяет повышение ИС. Считается, что волны LF-диапазона отражают активность сосудодвигательного центра ствола мозга и колебания артериального давления [3, 11, 14], поэтому усиление LF-волн в динамике ЭБС можно рассматривать как признак активации барорефлекса.

В отличие от контрольных животных, у крыс, получавших ТФ, рост ИН практически не выражен, зато очень сильно повышается ИС, особенно в начале ЭБС, что обусловлено усилением не только LF-волн, но VLF-волн. Происхождение VLF-волн в спектре ВСР ряд авторов связывает с активностью надсегментарного уровня регуляции, эрготропных областей гипоталамуса [1, 3, 11]. VLF-волны рассматривают в качестве показателей уровня тревожности и мозговой симпатической активности [1, 11]. Известно, что на уровне гипоталамуса и ствола мозга располагаются центры, отвечающие за реализацию стресс-реакции [9]. В связи с этим можно предположить, что у крыс, длительно получавших ТФ, острая стрессорная нагрузка сильнее возбуждает центральное звено стресс-системы, нежели у контрольных животных. Соответственно, у них надсегментарные эрготропные структуры оказывают более сильное влияние на нижележащие уровни регуляции. Такой эффект мог стать результатом: 1) прямого действия ТФ на морфофункциональное

состояние нейроцитов гипоталамических ядер [12], 2) опосредованного действия ТФ через изменение интенсивности периферического кровообращения, так как есть данные о способности антиоксидантов повышать метаболическую ауторегуляцию тонуса сосудов [2], что в свою очередь способно модулировать реакции сосудов на гормоны и медиаторы. С этих позиций особенности стресс-индуцированных изменений регуляции СР у крыс, длительно получавших ТФ, скорее всего, свидетельствуют об усилении стрессорной реакции, эмоционального напряжения и тревожности, причем все это больше свойственно самцам крыс. Наши данные согласуются с результатами работы [5], в которой у крыс, получавших ТФ, обнаружены изменения в поведении, свидетельствующие о повышении уровня тревожности.

С другой стороны, у крыс, получавших ТФ, вариабельность СР в стрессовой ситуации повышается, что обычно рассматривается как положительный признак, свидетельствующий о достаточно высокой активности парасимпатического канала регуляции [3]. В связи с этим мы предполагаем: длительный прием ТФ мог способствовать повышению чувствительности нейронных структур надсегментарного (гипоталамического) уровня регуляции к сигналам о стресс-факторе. В стрессовой ситуации это может приводить к более быстрому и сильному нарастанию их активности, а также активности всех каналов и уровней регуляции. Вероятно, таким путем достигается максимальная мобилизация всех регуляторных механизмов (в том числе симпатических и парасимпатических) для ускорения адаптации к стрессовой ситуации. Усложнение волновой структуры СР в этом случае можно рассматривать как положительный признак, свидетельствующий о высокой гибкости системы регуляции, которая не только способна сформировать выраженный кардиоваскулярный ответ на острое стрессорное воздействие, но и быстро перейти на более экономный режим функционирования.

Приведенные в этой работе данные еще раз подтверждают ранее высказанную [6] мысль, что ТФ способен проявлять не только антиоксидантные и антирадикальные свойства, но и модулировать (прямо или опосредованно) активность регуляторных систем организма. Следовательно, применение ТФ в профилактических целях требует определенной осторожности и контроля, так как экспериментальные данные свидетельствуют, что его длительный прием способен повлиять на интенсивность стресс-реакции в ответ на внезапное воздействие стресс-фактора.

Выводы:

1. На фоне длительного приема α -токоферола ритм сердца крыс, переносящих острый стресс, является менее напряженным, чем у крыс контрольной группы.

2. У крыс, получавших α -токоферол, острый стресс вызывает сильное повышение мощности не только LF-, но и VLF-волн сердечного ритма, что сопровождается резким повышением централизации управления, особенно на начальном этапе стресса.

3. Длительный прием α -токоферола способен оказать модулирующее влияние на регуляторные механизмы и может потенцировать усиление ответной реакции на стресс со стороны надсегментарного уровня регуляции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Айрапетянц, М.Г. Оценка использования азкола в предотвращении психовегетативных нарушений / М.Г. Айрапетянц, Н.В. Хаспекова // Журнал высш. Нерв. деятельности им. И.П. Павлова. 2000. Т. 50, №1. С. 142-145.
2. Аккизов, А.Ю. Действие природных и синтетических антиоксидантов на периферическое кровообращение человека: Автореф. дисс....канд. биол. наук / Аккизов Азамат Юсуфович. – Майкоп, 2008. 23 с.
3. Баевский, Р.М. Анализ variability сердечного ритма при использовании различных электрокардиографических систем: методические рекомендации / Р.М. Баевский, Г.Г. Иванов, Л.В. Чирейкин и др. // Вестник аритмологии. – 2001. №24. С. 1-23.
4. Барабой, В.А. Перекисное окисление и стресс / В.А. Барабой, И.И. Брехман, В.Г. Голотин, Ю.Б. Кудряшов. – СПб.: Наука, 1992. 190 с.
5. Колосова, Н.Г. Разнонаправленное влияние антиоксидантов на тревожность крыс Вистар и OXYS / Н.Г. Колосова, Н.А. Трофимова, А.Ж. Фурсова // Бюлл. эксперим. биол. и мед. 2006. Т. 141, №6. С. 685-688.
6. Курьянова, Е.В. Влияние α -токоферола на регуляцию сердечного ритма нелинейных крыс: возрастной и половой аспекты / Е.В. Курьянова // Изв. Самарского науч. центра РАН. 2009. Т. 11(27), №1(5). – С. 979-983.
7. Курьянова, Е.В. К вопросу о применении спектральных и статистических параметров variability сердечного ритма для оценки нейровегетативного состояния организма в эксперименте / Е.В. Курьянова // Бюлл. СО РАМН. 2009. № 6(140). С. 30-37.
8. Меньщикова, Е.Б. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньщикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков и др. – М.: Фирма «Слово», 2006. – 556 с.
9. Пшенникова, М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии / М.Г. Пшенникова // В кн.: Актуальные проблемы патофизиологии. Под ред. Б.Б. Мороза. – М., 2001, 424 с.
10. Самохвалова, Т.Н. Роль взаимодействия стриатума и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы в регуляции адаптивного поведения у крыс: Автореферат дисс....канд. биол. наук / Самохвалова Татьяна Николаевна. – Астрахань. 1998. 19 с.
11. Соловьева, А.Д. Методы исследования вегетативной нервной системы / А.Д. Соловьева, А.Б. Данилов, Н.Б. Хаспекова // В кн.: Вегетативные расстройства: Клиника, диагностика, лечение. Под ред. А.М. Вейна. – М.: ООО «МИА», 2003. С. 44-108.
12. Теплый, Д.Л. Нейрофизиологические эффекты витамина Е / Д.Л. Теплый. – Астрахань, ООО «ЛЕОН», 2008. 310 с.
13. Al-Avadh, L.Y. The effect of vitamin E, L-arginine, N-nitro L-arginine methyl ester and forskolin on endocrine and metabolic changes of rats exposed to acute cold stress / L.Y. Al-Avadh, A.A. Korish, A.S. Al-Tuwaijri // Saudi. Med. J. 2006. V. 27, N. 1. P. 17-22.
14. Murphy, C.A. Pharmacologic responses and spectral analyses of spontaneous fluctuations in heart rate and blood pressure in SHR rats / C.A. Murphy, B.P. Sloan, M.M. Myers // J Auton Nerv Syst. 1991. V. 36, №3. P. 237-250.

**INFLUENCE OF α -TOCOFEROL ON THE CARDIAC RHYTHM
REGULATION OF NONLINEAR RATS IN CONDITIONS OF ACUTE STRESS**

© 2010 E.V. Kuriyanova
Astrakhan State University

Introduction of α -tocopherol per os in a dose of 10 mg/kg per body mass periodically during a life of rats modifies reaction of regulatory systems on acute stress as promotes formation of less rigid heart rhythm, but potentiates, especially at the initial stage of stress, sharp rising of power not only LF-, but also VLF-waves of spectrum HRV. The last can testify to intensifying response to stress from up-segmentary level of regulation.

Key words: *α -tocopherol, variability of cardiachrythm, acute stress, rats*

*Evgeniya Kuriyanova, Candidate of Biology, Associate Professor
at the Department of Human and Animal Physiology and Morphology.
E-mail: fyzevk@rambler.ru*