

УДК 612.172.2

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА ПРИ БЛОКАДЕ И СТИМУЛЯЦИИ ХОЛИНЕРГИЧЕСКИХ СТРУКТУР У КРЫС

© 2014 Е.В. Курьянова, Ю.Д. Жукова, Н.А. Горст

Астраханский государственный университет

Поступила в редакцию 11.12.2014

Введение скополамина в дозе 2 мг/кг массы тела вызывает снижение мощности HF и LF-волн вариабельности сердечного ритма и рост частоты сердцебиений у самок крыс. В стрессовых условиях на фоне М-холиноблокады и у самцов, и у самок сначала нарастает мощность LF-волн, а к завершению стресса значительно повышается мощность LF и VLF-колебаний. Потенцирование холинергических влияний с помощью галантамина (2 мг/кг м.т.) сопровождается усилением VLF-волн в покое у особей обоих полов. В состоянии стресса на фоне галантамина лавинообразно повышается мощность HF и LF-волн, позже – еще и VLF-волн, однако это характерно только для самцов крыс. Предполагается участие не только периферических, но и центральных холинергических структур в формировании волн вариабельности сердечного ритма.

Ключевые слова: *вариабельность сердечного ритма, спектральный анализ, М-холинорецептор, скополамин, холинергическая система, галантамин, стресс*

Методы анализа вариабельности сердечного ритма (ВСР) имеют широкое применение в клинике и экспериментальной биологии и медицине. Высокочастотные волны спектра ВСР трактуются как показатель активности парасимпатических влияний, а медленные волны рассматриваются как индикатор симпатических влияний. Однако до сих пор эти трактовки не получили однозначного экспериментального подтверждения [1, 7, 10]. Причина заключается в том, что большинство авторов связывают вариабельность кардиоинтервалов только с периферическими медиаторными процессами и не учитывают влияние уровней ЦНС на активность вегетативной нервной системы.

Цель работы: анализ эффектов блокады и стимуляции преимущественно центральных холинореактивных структур в формировании ВСР у крыс в условиях спокойного бодрствования и острого стресса.

Материал и методы исследования. Эксперименты проведены на самцах и самках нелинейных крыс 3,5-4 месячного возраста при соблюдении «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства

здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. №755). Блокаду М-холинорецепторов (М-ХР) вызывали скополамином (СК) («Sigma», Германия) в дозе 2 мг/кг массы тела внутривентриально с учетом данных [9]. Стимуляцию активности центральных холинергических структур моделировали введением блокатора ацетилхолинэстеразы – галантамина (ГЛ) («Sigma», Германия) в дозе 2 мг/кг массы тела внутривентриально [8]. Все препараты вводили в утренние часы. Контрольные животные получали физиологический раствор из расчета 0,1 мл/100 г м.т. в том же режиме, что опытные – препараты. Животные каждой группы подвергались острому стрессу (ОС) длительностью 1 час по ранее описанной методике [5], сочетающей иммобилизацию крыс в плексиглазовом пенале с электрокожным раздражением хвоста по стохастической схеме.

ЭКГ регистрировали у бодрствующих животных на аппаратно-программном комплексе «Варикард» («Рамена», Россия) по методике [3, 4]. Данные обрабатывали в компьютерной программе «ИСКИМ 6» («Рамена», Россия) на отрезках ЭКГ из 350 интервалов R-R. Рассчитывали ЧСР, индекс напряжения на основе формулы Баевского [1] при ширине класса гистограммы 7,8 мс: $ИН=(50/7,8)*(АМо/(2*Мо*\Delta X))*1000$; абсолютную мощность волн в диапазонах: HF (0,9-3,5 Гц), LF (0,32-0,9 Гц), VLF (0,17-0,32 Гц), относительную мощность волн, индекс централизации IC ($IC=(LF+VLF)/HF$). ВСР анализировали до начала

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

Жукова Юлия Дмитриевна, магистрант

Горст Нина Александровна, доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии и морфологии человека и животных. E-mail: nagorst@mail.ru

введения, через 10 мин после введения СК и через 1 ч после введения ГЛ, а также на 15-й и 60-й минутах острого стресса. Математическую обработку результатов проводили в программе Statistica 6.0. с применением t-теста Стьюдента. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. Согласно полученным данным (табл. 1) введение физиологического раствора привело к росту напряженности и снижению централизации управления ритмом сердца ($p < 0,05$) в связи с тенденцией к ослаблению мощности медленных волн, уменьшением их доли в спектре и повышением доли HF-колебаний ($p < 0,05$). Введение СК не оказало существенного влияния на ЧСР и параметры ВСР самцов крыс. IC после введения СК по сравнению с контролем остался высоким ($p < 0,01$), как и доля медленных волн LF и VLF ($p < 0,05$) в спектре ВСР. После введения ГЛ у самцов крыс обнаружилось усиление VLF-волн ($p < 0,05$), соответственно, их абсолютная и относительная мощность оказалась выше, чем у контрольных животных ($p < 0,05$). Введение физиологического раствора вызвало некоторое

снижение общей вариабельности СР самок, что проявилось в росте ИН ($p < 0,05$), но волновая структура спектра ВСР и IC существенно не изменились (табл. 1).

После введения СК у самок крыс резко повысились ЧСР (на 23%, $p < 0,001$) и ИН (почти в 3 раза, $p < 0,001$) (табл. 1). Рост напряженности ритма сердца был связан со снижением мощности HF- и LF-волн (в 3,9 и 3,3 раза соответственно, $p < 0,001$). Соответственно, в спектре ВСР доминирующими стали VLF-волны (45,5%, $p < 0,1$). Введение ГЛ, напротив, вызвало снижение ИН ($p < 0,05$), что было обусловлено повышением вариабельности кардиоинтервалов в VLF-диапазоне (почти в 4 раза, $p < 0,01$), в меньшей мере – в LF-диапазоне ($p < 0,1$), в то время как HF-волны проявили тенденцию к снижению. В спектре ВСР более 50% стали составлять VLF-волны, вклад HF-колебаний стал заметно меньше, чем в исходном состоянии ($p < 0,001$). IC у самок, получивших ГЛ, увеличился в 3,8 раза ($p < 0,01$) и стал самым высоким всех обследованных групп ($p < 0,05$).

Таблица 1. Изменения вариабельности сердечного ритма самцов и самок нелинейных крыс после введения блокатора и стимулятора холинергических структур ($M \pm m$)

Показатели ВСР	Самцы			Самки		
	группы (n)	до введения	после введения	группы (n)	до введения	после введения
ЧСР, уд/мин	К (6)	302,5±3,7	301,5±7,5	К (6)	330,5±6,8	349,3±7,7
	СК (6)	315,3±7,6	318,8±6,1	СК (6)	329,7±8,2	408±11,9 *** ^
	ГЛ (6)	298,8±4,8	288,7±4,4	ГЛ (6)	331,0±8,2	320,8±9,3
ИН, отн.ед.	К (6)	22,3±2,6	36,3±9,3 *	К (6)	39,0±3,6	53,2±5,1 *
	СК (6)	37,4±6,3	31,9±2,4	СК (6)	48,3±3,4	142±27,2 *** ^
	ГЛ (6)	23,2±3,3	32,1±5,2	ГЛ (6)	26,9±3,8	15,1±1,8 *, ^^
HF, мс ²	К (6)	7,8±1,5	12,5±4,8	К (6)	4,2±1,0	2,9±0,8
	СК (6)	6,1±1,0	6,3±1,8	СК (6)	4,3±0,6	1,1±0,1 *** ^
	ГЛ (6)	7,2±1,0	6,9±1,2	ГЛ (6)	9,8±2,6	5,6±0,9 ^
LF, мс ²	К (6)	7,7±1,9	5,2±2,6	К (6)	3,3±0,6	3,1±0,6
	СК (6)	6,9±1,0	5,6±0,9	СК (6)	2,7±0,3	0,8±0,2 *** ^
	ГЛ (6)	7,7±2,8	4,8±1,0	ГЛ (6)	6,4±1,4	11,1±2,1 ^^
VLF, мс ²	К (6)	5,4±1,1	2,5±0,9	К (6)	4,5±0,7	3,9±1,2
	СК (6)	4,7±0,5	3,7±0,9	СК (6)	3,4±0,7	2,7±0,9
	ГЛ (6)	3,2±0,5	6,3±1,2 *, ^	ГЛ (6)	5,3±0,5	20,2±3,5 **, ^^
IC, отн.ед.	К (6)	1,8±0,4	0,7±0,2 *	К (6)	2,5±0,5	3,3±0,9
	СК (6)	2,6±0,5	2,9±0,5 ^^	СК (6)	2,5±0,6	3,8±0,9
	ГЛ (6)	1,4±0,2	1,4±0,2 ^	ГЛ (6)	1,8±0,2	7,0±1,3 **, ^

Примечание: К – контроль (введение физиологического раствора), СК – скополамин, ГЛ – галантамин; *, **, *** - $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ - по сравнению с состоянием до введения препарата; ^, ^^, ^^ - $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ - по сравнению контролем

Таким образом, блокада М-ХР скополамином в основном изменила ВСР у самок крыс, снизив мощность HF и LF-волн и вызвав резкий рост напряженности ритма сердца. Стимуляция холинореактивных структур путем блокады ацетилхолинэстеразы галантамином привела к

росту абсолютной и относительной мощности VLF, и тоже, преимущественно у самок.

В ситуации острого стресса у самцов крыс прирост ЧСР составил 30-38% от исходной ($p < 0,001$) (табл. 2). Рост напряженности СР оказался значимым к 60-й мин стресса, обусловлен

снижением HF-волн и слабыми флуктуациями мощности медленных волн. IC имел тенденцию к росту. У самцов, получивших СК, рост ЧСР при ОС достигал 17-25% от исходной ($p < 0,001$), но ЧСР не превышала 400 уд/мин (табл. 2). ИН повышался только в начале стресса ($p < 0,05$). Мощность волн нарастала: в начале стресса – в HF- и LF-диапазонах, к завершению стресса – во всех диапазонах, особенно в LF (в 4,7 раза, $p < 0,05$) и VLF (в 3,3 раза, $p < 0,01$). У самок,

получавших ГЛ, стрессорная тахикардия достигала 20-27% от исходной ЧСР ($p < 0,001$). Отсутствие изменений ИН было связано с усилением variability CP: на 15-й мин стресса – в диапазонах HF (в 3,9 раза, $p < 0,001$) и LF (в 7,5 раз, $p < 0,01$), на 60-й мин стресса – во всех диапазонах, особенно VLF (в 2,7 раза, $p < 0,01$) и LF (в 3,5 раза, $p < 0,01$). Соответственно, IC значительно повысился ($p < 0,05$).

Таблица 2. Изменения variability сердечного ритма самцов и самок крыс с блокадой и стимуляцией холинергических структур в динамике острого стресса ($M \pm m$)

Показ. ВСП	Группы	Самцы			Самки		
		до ОС	15 мин	60 мин	до ОС	15 мин	60 мин
ЧСР, уд/мин	К (6)	302±7,5	418±16,5 ***	394±21,8 ***	349±7,7	410±16,0***	370±14,2*
	СК (6)	305±6,5	384±16,9 ***, ^^	358±20,0 ***, ^	391±9,1	386±18,6	350±15,1*
	ГЛ (6)	287±3,4	365±10,7 ***, ^^	345±12,9 ***, ^^	321±9,3	358±6,2 **, ^^	349±4,9
ИН, отн.ед.	К (6)	36,3±9,3	42,8±6,9	54,7±13,6 *	53,2±5,1	79,7±22,0	69,8±20,9
	СК (6)	29,8±2,7	50,8±14,3 **	34,2±10,0 ^^	63,5±9,4	68,7±12,2	30,5±3,2**
	ГЛ (6)	23,1±4,4	17,7±3,4 ^^	22,5±5,7 ^^	15,1±1,8	43,9±10,1 *	27,5±6,4
HF, mc^2	К (6)	12,5±4,8	5,2±1,1	5,1±1,2	2,9±0,8	3,0±0,6	3,0±0,5
	СК (6)	3,9±0,6	10,3±4,0	7,7±1,5 *	2,5±0,5	2,1±0,4	3,3±0,7
	ГЛ (6)	4,6±0,3	18,1±3,4***, ^^	7,6±0,9*	5,9±0,6	3,9±0,7	4,6±0,9
LF, mc^2	К (6)	5,2±2,6	5,8±2,5	4,8±1,9	3,1±0,6	4,6±1,4	7,7±1,7 *
	СК (6)	2,9±0,5	6,2±1,3*	14,0±4,3*	1,9±0,3	3,0±0,9*	10,9±3,4***
	ГЛ (6)	2,8±0,3	21,0±4,9***, ^^	9,7±1,6**, ^	8,3±1,2	8,5±3,1^	14,9±2,7^
VLF, mc^2	К (6)	2,5±0,9	3,3±1,5	3,1±0,6	3,9±1,2	3,2±1,4	4,3±2,0
	СК (6)	3,6±0,7	3,3±1,2	11,9±2,0** , ^^	2,5±0,4	2,7±1,0	7,5±1,3*
	ГЛ (6)	7,1±0,9	11,7±2,3^	19,1±3,4** , ^^	18,1±1,7	4,9±1,2**	8,1±2,4*
IC, отн.ед.	К (6)	0,7±0,2	1,9±0,9	1,8±0,6	3,3±0,9	2,3±0,4	3,5±1,3
	СК (6)	2,2±0,4	1,8±0,2	3,8±0,8	3,4±0,6	3,7±0,5	7,6±0,9 **
	ГЛ (6)	2,2±0,3	2,2±0,3	3,4±0,4 *	5,2±0,5	3,6±0,7	5,6±0,9

Примечание: К – контроль (введение физиологического раствора), СК – скополамин, ГЛ – галантамин; *, **, *** - $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ - по сравнению с состоянием до введения препарата; ^, ^^, ^^ - $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ - по сравнению контролем

В ходе острого стресса у самок контрольной группы рост ЧСР составил 6-17% от исходной ($p < 0,01$, $p < 0,05$). Прослеживался тренд к увеличению ИН, особенно в начале стресса. Мощность волн ВСП оставалась низкой, только к 60-й мин произошло усиление LF-колебаний ($p < 0,05$). Самки крыс, получавшие СК, имели высокие значения ЧСР и ИН к моменту начала ОС (табл. 2). Дальнейшего увеличения этих показателей при стрессировании не наблюдалось. На 60-й мин они даже снизились: ЧСР на 10% ($p < 0,05$), ИН почти вдвое ($p < 0,01$). Причина такой динамики интегрального показателя – ИН – в быстром нарастании мощности медленных колебаний: в LF-диапазоне в 1,5-5,7 раза ($p < 0,05$ - $p < 0,001$), в VLF-диапазоне к 60-й мин в 3 раза ($p < 0,05$). При этом снижению ИН соответствовало двукратное повышение IC ($p < 0,001$). У самок, получавших ГЛ, стресс-индуцированный рост ЧСР и ИН был отмечен лишь на 15-й мин

(на 11%, $p < 0,01$ и в 2,9 раза, $p < 0,05$ соответственно). HF-волны проявили небольшой тренд к снижению, но основной вклад в усиление rigidity ритма сердца внесло быстрое ослабление VLF-волн (в 2,2-3,3 раза, $p < 0,01$), которые были у самок группы ГЛ самыми мощными. Нужно отметить, что наиболее резкое падение variability ритма произошло к 15 мин стресса, но уже к 60-й мин variability частично восстановилась в виде усилившихся LF-колебаний и в некоторой мере VLF-волн.

Отметим, что скополамин, как и атропин, является блокаторм мускариновых холинорецепторов (M-XP) и оказывает эффекты на периферии и в ЦНС [2, 6], поэтому некоторые авторы причисляют его к центральным мускариновым антагонистам [9]. Изменения ВСП у самок крыс после введения СК согласуется с представлениями о парасимпатической природе HF-волн и частично парасимпатической природе LF-

волн [10, 12]. Эффекты блокады АХЭ могут быть Н- и М-холиномиметическими, в том числе в виде урежения ЧСР [2, 6]. Однако в нашем опыте значительного изменения ЧСР не обнаружено, но вариабельность кардиоинтервалов у самцов и, особенно, самок выросла в VLF-диапазоне. Такой эффект может быть результатом стимулирующего действия стволовых холинергических центров на выше лежащие структуры ЦНС, либо изменения дофаминовой медиации мозга посредством усиления Н-холинергической передачи в присутствии галантамина [2]. Интересно, что изменения ВСР при блокаде и стимуляции холинергической передачи в большей мере проявились у самок крыс. Эти обусловлено влиянием половых гормонов на медиаторные процессы и вегетативную нервную систему [11].

В ситуации острого стресса у животных обеих экспериментальных групп тахикардия оказалась слабее, чем у контрольных крыс. Есть данные, что блокада М-ХР снижает активирующие влияния холинергических нейронов ретикулярной формации ствола мозга на гипоталамические центры, отвечающие за развитие стресс-реакции [2]. Немалую роль играет и рост вариабельности кардиоинтервалов, которая умеренно повышается сначала в LF-диапазоне, а затем сильно проявляется также и в VLF-диапазоне. Рост вариабельности ритма при стрессе происходил также у самцов, получавших галантамин. Но он захватывал HF и LF-диапазоны и развивался уже в начале стресса, хотя в дальнейшем повышалась мощность VLF-волн. Сходство стресс-индуцированной динамики ВСР у крыс, получавших блокатор М-ХР и блокатор АХЭ дает основание предполагать, что в основе может лежать общий механизм в виде потенцирования Н-холинореактивности структур нервной системы. По еще неопубликованным данным, комбинация М-холиноблокады и Н-холиноблокады (введением высоких доз гексаметона) резко снижает вариабельность и нивелирует рост мощности волн ВСР при стрессе. Следовательно, в формировании волн спектра ВСР могут участвовать не только периферические, но и центральные холинергические структуры.

Выводы:

1. Введение веществ, воздействующих на центральные и периферические холинергические системы, оказывает большее влияние на ВСР особой женского, нежели мужского пола, причем блокада М-холинорецепторов приводит к снижению мощности HF и LF-волн, а блокада ацетилхолинэстеразы приводит к усилению VLF-волн.

2. На фоне блокады М-холинорецепторов и блокады АХЭ стрессорная реакция протекает

при ЧСР менее 400 уд/мин и росте вариабельности кардиоинтервалов. В условиях введения скополамина у крыс обоих полов в начале стресса усиливаются LF-волны, а к завершению значительно нарастает мощность как LF, так и VLF-волн ВСР. При введении галантамина только у самцов крыс в начале стресса резко нарастает мощность HF и LF-волн, к 60-й минуте в наибольшей мере усиливаются VLF-волны.

3. Результаты работы свидетельствуют о том, что центральные и периферические холинергические регуляторные системы принимают участие в формировании не только высокочастотных, но и медленных LF- и VLF-волн ВСР.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект 14-04-00912)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Баевский, Р.М.* Анализ вариабельности 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.
2. *Белова, Е.И.* Основы нейрофармакологии. – М., 2006. 176 с.
3. *Курьянова, Е.В.* К вопросу о применении спектральных и статистических параметров вариабельности сердечного ритма для оценки нейровегетативного состояния организма в эксперименте // Бюлл. СО РАМН. 2009. Т. 140, №6. С. 30-37.
4. *Курьянова, Е.В.* Особенности типов регуляции сердечного ритма нелинейных крыс при длительном приеме α -токоферола // Известия Самарского научного центра РАН. 2011. Т.13, №1(7). С. 1729-1733.
5. *Курьянова, Е.В.* Основные типы стрессиндуцированных изменений вариабельности сердечного ритма и интенсивности свободнорадикальных процессов у нелинейных крыс в условиях острого напряжения // Бюллетень СО РАМН. 2011. Т. 31, №5. С. 47-55.
6. *Машковский, М.Д.* Лекарственные средства. – М., 2007. 1206 с.
7. *Сергеева, О.В.* Влияние адреноблокаторов на медленные (LF) волны ритма сердца у кроликов / *О.В. Сергеева, И.А. Акимова, И.С. Антонов* и др. // Бюллетень эксп. биол. и медицины. 2014. Т. 157, №3. С. 268-271.
8. *Чалковская, Л.Н.* Роль М- и Н-холинергических систем в восстановлении двигательных функций после удаления моторной зоны коры мозга у кошек / *Л.Н. Чалковская, Н.А. Лосев* // Журнал высш. нервн. деятельности им. И.П. Павлова. 1984. Т. 34, №6. С. 1066-1071.
9. *Юдин, М.А.* Исследование переносимости блокаторов центральных мускариновых рецепторов / *М.А. Юдин, В.Н. Быков, А.С. Нукифоров* и др. // Эксп. и клинич. фармакология. 2013. Т. 76, №11. С.19-22.
10. *Billman, G.E.* The LF/HF ratio does not accurately measure cardiac sympatho-vagal balance // *Front Physiol.* 2013. V. 4. P. 26.

11. *Dart, A.M.* Gender, sex hormones and autonomic nervous control of the cardiovascular system / *A.M. Dart, X.-J. Du, B.A. Kingwell* // *Cardiovasc. Res.* 2002. V.53, No. 3. P. 678-687.
12. *Elghozi, J.L.* Sympathetic control of short-term heart rate variability and its pharmacological modulation / *J.L. Elghozi, C. Julien* // *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2007. V. 21. P. 337-347.

FEATURES OF CHANGES THE HEART RATE VARIABILITY AT BLOCKADE AND STIMULATION OF CHOLINERGIC STRUCTURES AT RATS

© 2014 E.V. Kuryanova, Yu.D. Zhukova, N.A. Gorst

Astrakhan State University

The scopolamine introduction in a doze of weight of 2 mg / kg of b.w.) causes decrease in capacity HF and LF-waves of heart rate variability and growth of heart rate frequency (HRF) at female rats. In stress on background of M-cholinoblockade capacity of LF-waves all over again accrues at male and female, and to end of stress capacity LF and VLF-fluctuations considerably raises. Galanthamine (2 mg / kg of b.w.) promotes strengthening of VLF-waves at male and female rats in rest. In stress on a background galanthamine the capacity of HF- and LF-waves, later - also VLF-waves avalanche raises, however it is typical only for male rats. We assume the participation not only peripheral, but also central cholinergic structures in formation of heart rate variability-waves.

Key words: heart rate variability, spectral analysis, M-cholinoreceptor, scopolamine, cholinergic system, galanthamine, stress

Evgeniya Kuryanova, Doctor of Biology, Professor at the Department of Human and Animals Physiology and Morphology. E-mail: fyzevk@rambler.ru
Yuliya Zhukova, Undergraduate Student
Nina Gorst, Doctor of Biology, Professor at the Department of Human and Animals Physiology and Morphology. E-mail: nagorst@mail.ru