

УДК 612.398.192+616.12:599.32+616.379-008.64]-001.5

М.Р. ХАРА¹, д. мед. н., професор; Н.А. ГОЛОВАЧ²/Тернопільський національний педагогічний університет імені В.Гнатюка¹,
Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського²/

Вплив L-аргініну на вегетативну регуляцію серця щурів різної статі зі стрептозотоциновим цукровим діабетом

Резюме

Влияние L-аргинина на вегетативную регуляцию сердца крыс разного пола со стрептозотоциновым сахарным диабетом

М.Р. Хара, Н.А. Головач

В исследовании на половозрелых крысах проводилось изучение влияния L-аргинина на холинергическую регуляцию сердца при экспериментальном стрептозотоциновом сахарном диабете в зависимости от пола исследуемых животных путем проведения анализа сердечного ритма. Было установлено, что прогрессирование стрептозотоцинового сахарного диабета в течение 3-х месяцев у крыс обусловило более выраженное снижение у самок влияния центрального контура регуляции синусного узла и смещение вегетативного баланса в сторону парасимпатической нервной системы, по сравнению с самцами, у которых дисфункция синусного узла развивалась на фоне повышенной симпатической активности. Применение L-аргинина у крыс в течение 3-х месяцев привело к снижению напряжения регуляторных систем, что проявилось в ослаблении симпатического влияния и усилении холинергического контроля деятельности сердца у самцов, а у самок – в продолжении смещения вегетативного баланса в сторону парасимпатического звена автономной нервной системы. Естественное доминирование холинергического контроля деятельности сердца со стороны автономной нервной системы у самок было признаком более высокой резистентности их к повреждающему влиянию.

Ключевые слова: сахарный диабет, оксид азота, L-аргинин, пол, холинергическая регуляция

Summary

Effect of L-Arginine Autonomic Regulation Heart in Rats of Different Sex with Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus

M.R. Khara, N.A. Golovach

The effect of L-arginine on cholinergic regulation of the heart in experimental streptozotocin-induced diabetes is studied during the experiments on mature rats differentiated by gender and is analyzed based on the heart rate. It is found that the progression of streptozotocin-induced diabetes during the 3 months of experiments in rats resulted in a more profound decrease of the impact of the central loop regulation sinus and displacement of autonomic balance toward the parasympathetic nervous system in females than in males. Incidentally, the sinus node dysfunction in the latter kind was developing with an increased sympathetic activity. The use of L-arginine in rats for 3 months reduced the tension of regulatory systems that has led to an apparent weakening of sympathetic influences and increased cholinergic control of the heart function in males; and it has also led to an extension of the shift of the vegetative balance toward the parasympathetic level of the autonomic nervous system in females. Natural dominance of the cholinergic control of the heart of the ANS in females was a sign of the higher resistance of their myocardium to the damaging effects.

Key words: diabetes, nitric oxide, L-arginine, sex, cholinergic regulation

Цукровий діабет – одне із найважливіших та найпоширеніших захворювань сучасної клінічної ендокринології, що призводить до розвитку судинних і неврологічних ускладнень [1, 2]. Епідеміологічні дані в усьому світі показали, що макросудинні ускладнення, зокрема, ішемічна хвороба серця, захворювання периферичних судин та інсульт, зустрічаються у 2–4 рази частіше у хворих на цукровий діабет (ЦД) [3].

Ураження міокарда у пацієнтів з ЦД може виникати внаслідок діабетичної мікроангіопатії, міокардіодистрофії, діабетичної автономної нейропатії серця і коронарного атеросклерозу [4, 5]. З патогенетичної точки зору у виникненні та розвитку метаболічних уражень при діабетичній кардіоміопатії (ДКМ) суттєве значення має порушення іннервації, транспорту та утилізації глюкози у кардіоміоцитах [6]. При цьому гіперсимпатикотонія зумовлює актива-

цію катехоламінів, а симпатичні нейрогормони посилюють ліполіз [7]. Важливе місце у патогенезі ДКМ посідає і система оксиду азоту (NO), оскільки він здатний регулювати активність парасимпатичної і симпатичної ланок автономної нервової системи (АНС) [8]. Дані літератури показують, що власне NO зменшує вивільнення норадреналіну і збільшує виділення ацетилхоліну [9].

Незважаючи на численні дослідження ролі NO у функціонуванні міокарда при ЦД [10, 11], відсутні дані стосовно вегетативної регуляції серця на фоні застосування прекурсора NO – L-аргініну у динаміці з урахуванням статевого диморфізму.

Відомо, що зміна гемодинаміки за різної патології суттєво залежить від стану АНС [12, 13]. Одним із найдоступніших та інформативних методів оцінки стану АНС та ефективності медикаментозної її корекції є аналіз варіабельності серцевого ритму (BCP),

що дає змогу охарактеризувати як загальну регуляторну активність АНС, включаючи надсегментарні рівні управління, так і співвідношення між її периферичними ланками [12].

Мета – встановити вплив попередника синтезу оксиду азоту на холінергічну регуляцію серця при експериментальному цукровому діабеті залежно від статі.

Матеріали та методи дослідження

До експерименту було залучено 100 білих щурів обох статей (50 самок і 50 самців) вагою 180–220 г.

Тварини були розподілені на 2 групи: 1 група – тварини, яким моделювали стрептозотоциновий цукровий діабет (СЦД) шляхом одноразового інтраперитонеального введення стрептозотину («Sigma», США) з розрахунку 50 мг/кг, 2 група – тварини, у яких відтворення СЦД відбувалося на фоні введення L-аргініну (25 мг/кг, напередодні та у подальшому щоденно інтраперитонеально до моменту виведення тварин з експерименту). В ході дослідження зафіксована смерть 27 щурів із 100.

Автономну регуляцію серцевого ритму вивчали шляхом математичного аналізу серцевого ритму на 1, 2 та 3 місяці розвитку СЦД. ЕКГ реєстрували в II стандартному відведенні. Проводилась математична обробка 1000 кардіоінтервалів, використовуючи комп'ютерний комплекс «Кардіолаб-СЕ» (виробництво ХАІ «Медика»). Аналізували такі величини: моду (M_o , с), амплітуду моди (A_{Mo} , %), варіаційний розмах кардіоінтервалів (ΔX , с), індекс напруження ($IN = A_{Mo} / (2 \times \Delta X \times M_o)$, ум. од.), індекс вегетативної рівноваги ($IBP = A_{Mo} / \Delta X$, ум. од.), показник адекватності процесів регуляції ($ПАПР = A_{Mo} / M_o$, ум. од.), вегетативний показник ритму ($ВПР = 1 / (M_o \times \Delta X)$, ум. од.) [14].

Порівнювали та аналізували дані у підгрупах залежно від статі та введення прекурсора оксиду азоту (L-аргініну).

Статистичну обробку результатів досліджень проводили з використанням критерію t Стьюдента та програми Excel.

Усі втручання та забій тварин відбувалися з дотриманням принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, 1985 р.) та Загальних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики.

Результати та їх обговорення

У тварин з СЦД встановили, що прогресування діабету протягом 3 місяців викликало більш виражене зменшення у самок впливу центрального контуру регуляції синусного вузла і зміщення вегетативного балансу у бік парасимпатичної нервової системи, аніж у самців. Виявлена динаміка показників у самців при розвитку захворювання свідчала про дисфункцію синусного вузла на фоні підвищеної симпатичної активності.

На фоні введення L-аргініну у самців отримали таку

динаміку: через 1 місяць ЧСС зменшилася на 21,1%, через 2 місяці – на 2,3%, через 3 місяці – на 22,4% відносно групи порівняння, показник M_o збільшився на 53,2, 29,6, 46,5% відповідно. Амплітуда моди змінювалась різнонаправлено, зокрема, через 1 місяць була вища на 51%, а через 3 місяці – нижча на 40,5% у порівнянні з тваринами з СЦД. Варіаційний розмах ΔX під впливом L-аргініну у самців зменшився на 49,1% через 1 місяць спостереження, регресія даного показника через 2 місяці становила 22,7% і вже через 3 місяці ΔX мав тенденцію до підвищення (табл. 1).

За умови введення L-аргініну самкам з СЦД виявлено зменшення ЧСС через 1 місяць на 34%, через 2 місяці – на 21,9% і через 3 місяці – на 31,8%; показник M_o збільшився через 1 місяць на 27,1% і через 3 місяці – на 29% відносно групи порівняння. Амплітуда моди достовірно зменшувалася вже через 1 місяць на 58,4% та протягом наступних 3 місяців практично ставала подібною до показників групи порівняння. Варіаційний розмах ΔX під впливом L-аргініну у самок збільшився у 3,3 разу через 1 місяць дослідження, в 1,4 разу – через 2 місяці і в 1,2 разу – через 3 місяці (табл. 1).

Порівнюючи отримані дані серцевого ритму у тварин різної статі за умов СЦД, можна стверджувати, що введення L-аргініну у самок обмежувало вплив центрального контуру регуляції синусного вузла АНС у всі часові проміжки спостереження. У самців через 1 місяць експерименту симпатичний контроль зростав, але вже через 3 місяці – зменшувався, при встановленні достовірної відмінності між самцями і самками цієї групи за результатами A_{Mo} у перші 2 місяці. Значення варіаційного розмаху кардіоінтервалів у самок збільшилося на відміну від самців, що свідчить про зростання холінергічних впливів на ритм серця у них внаслідок посилення тонулу блукаючого нерва.

Аналізуючи отримані результати інтегральних розрахункових даних серцевого ритму щурів різної статі з СЦД на фоні введення L-аргініну, виявлено зміни, які були закономірними за встановленої динаміки вищезгаданих показників (табл. 2). Так, у самців відмічено регресійну динаміку індексу напруження (IN), яка характеризувалася високими значеннями досліджуваного показника стосовно групи з СЦД у перший місяць досліду зі зменшенням через 2 місяці та депресією через 3 місяці на 55,3% відносно групи порівняння. IN у самок з СЦД на фоні L-аргініну був достовірно нижчим,

Таблиця 1. Показники серцевого ритму щурів різної статі зі стрептозотоциновим цукровим діабетом, що розвивався на фоні L-аргініну ($M \pm m$, $n=6$)

Назва	ЦД 1 міс		ЦД 2 міс		ЦД 3 міс	
	♀	♂	♂	♀	♂	♀
M_o, с						
ЦД	0,129±0,002	0,139±0,002 #	0,126±0,001	0,135±0,002 #	0,124±0,001	0,129±0,001 #
ЦД+L-аргінін	0,164±0,004 *	0,213±0,010#*	0,130±0,001 *	0,175±0,009 **	0,160±0,002 *	0,189±0,003#*
A_{Mo}, %						
ЦД	29,2±3,0	46,6±3,0 #	32,0±2,1	25,4±1,4 #	34,8±0,3	22,3±1,2 #
ЦД+L-аргінін	44,1±0,8*	19,4±2,8#*	31,9±2,1	20,3±1,3#*	20,7±0,8*	22,0±0,7
ΔX, с⁻¹						
ЦД	108±8	50±3 #	75±3	83±6	77±3	93±3 #
ЦД+L-аргінін	55 ± 2 *	165±11 #*	58±5 *	112±8 #*	80±6	110±6 #*
ЧСС, хв.						
ЦД	465 ± 6	432 ± 5 #	474 ± 5	442 ± 5#	483 ± 5	465 ± 5 #
ЦД+L-аргінін	367 ± 9*	285 ± 13#*	463±5	345 ± 19#*	375 ± 5 *	317±5#*

Примітки: * – достовірна ($p < 0,05$) відмінність в динаміці розвитку ЦД, # – достовірна відмінність між тваринами різної статі.

ніж у групи порівняння у всіх проміжках часу: через 1 місяць – на 91,7%, через 2 місяці – на 55,6% і через 3 місяці – на 42,3%. Отримані результати ІВР та ВПР вказують, що при застосуванні L-аргініну до третього місяця експерименту у самців відмічається зміщення вегетативного балансу у бік парасимпатичної ланки АНС, тоді як у самок вже з першого місяця переважає парасимпатичний баланс. Встановлено переважання гуморального контуру регуляції згідно з результатами ПАПР у самців через 3 місяці дослідження (зменшення на 53,9%) та у самок у всіх досліджуваних групах (через 1 місяць зниження ПАПР на 72,6%, через 2 місяці – на 38,8% і через 3 місяці – на 32,9%). Потрібно відмітити, що під впливом L-аргініну у самців відмічено різке послаблення активності симпатичного впливу та посилення парасимпатизації, тоді як у самок зазначена медикаментозна корекція ще більше підвищувала холінергічний контроль діяльності серця. Природне домінування холінергічного контролю діяльності серця з боку АНС у самок було ознакою вищої резистентності їх міокарда до ушкоджуючого впливу.

Узагальнюючи отримані дані, можна стверджувати, що застосування L-аргініну, як прекурсора NO, у щурів обох статей із СЦД через 3 місяці дослідження призвело до зменшення напруження регуляторних систем, що виявлялося послабленням симпатичного впливу та посиленням холінергічного контролю діяльності серця. Така однотипна динаміка показників серцевого ритму у самців і самок за умови СЦД на фоні попереднього введення L-аргініну обумовлена, напевно, здатністю NO зменшувати вивільнення норадреналіну симпатичними та збільшувати вивільнення ацетилхоліну парасимпатичними нервовими терміналями [15].

Висновки

1. Прогресування стрептозотоцинового діабету протягом 3 місяців у щурів зумовлює більш виражене зниження у самок впливу центрального контуру регуляції синусного вузла і зміщення вегетативного балансу у бік парасимпатичної нервової системи, аніж у самців, у яких дисфункція синусного вузла розвивається на фоні підвищеної симпатичної активності.
 2. Застосування L-аргініну у щурів обох статей із стрептозотоциновим діабетом протягом 3 місяців призводить до зменшення напруження регуляторних систем, що проявляється послабленням симпатичного впливу та посиленням холінергічного контролю діяльності серця у самців і продовженням зміщення вегетативного балансу у бік парасимпатичної ланки автономної нервової системи у самок.
- Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні змін рівня нітрит-аніону та його взаємозв'язку з холінергічною регуляцією серця у щурів різної статі за умови стрептозототин-індукованого цукрового діабету.

Таблиця 2. Показники серцевого ритму щурів різної статі зі стрептозотоциновим цукровим діабетом, що розвивався на фоні L-аргініну ($M \pm m$, $n=6$)

Назва	ЦД 1 міс		ЦД 2 міс		ЦД 3 міс	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀
ІН, ум. од.						
ЦД	10869±1460	35162±4386#	17032±1299	12057±1792#	18500±1056	9374±607#
ЦД+L-аргінін	24663±1172*	2917±638#*	22124±3637	5352±584#*	8266±702*	5411±411#*
ІВР, ум. од.						
ЦД	2802±384	9708±1132#	4305±344	3250±463	4593±260	2410±158#
ЦД+L-аргінін	8072±326*	1218±245#*	5755±984	1885±221#*	2637±219*	2048±185
ВПР, ум. од.						
ЦД	731±42	1505±113 #	1067±57	935±87	1062±55	811±34#
ЦД+L-аргінін	1119±40*	292±28#*	1359±126*	523±37#*	799±70	488±23#*
ПАПР, ум. од.⁻³						
ЦД	226±23	336±24 #	253±15	188±11 #	280±3	173±9#
ЦД+L-аргінін	269±9	92±14#*	245±15	115±5#*	129±55*	116±3*

Примітки: * – достовірна ($p < 0,05$) відмінність в динаміці розвитку ЦД, # – достовірна відмінність між тваринами різної статі.

Список використаної літератури

1. Кирилюк М.Л. Сучасні клініко-патологічні аспекти цукрового діабету 2-го типу / М.Л. Кирилюк, О.Д. Гавловський // Інтегративна антропология. – 2009. – №2 (14). – С. 40–44.
2. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030 / S. Wild, G. Roglic, A. Green [et al.] // Diabetes Care. – 2004. – Vol. 27 (5). – P. 1047–1053.
3. Voulgari C. Diabetic cardiomyopathy: from the pathophysiology of the cardiomyocyte to current diagnosis and management strategies / C. Voulgari, D. Papadogiannis, N. Tentolouris // Vascular Health and Risk Management. – 2010. – Vol. 6. – P. 883–903.
4. Ефимов А.С. Сахарный диабет и сердце / А.С.Ефимов, Л.К. Соколова, Ю.Б. Рыбченко // Мистецтво лікування. – 2006. – №2. – С. 3–8.
5. Сергієнко В.О. Ранняя диагностика функционально-структурных нарушений сердечно-сосудистой системы у хворих на цукровий діабет 2 типу (огляд літератури та власних досліджень) / В.О. Сергієнко, О.О. Сергієнко, А.С. Ефімов // Журн. АМН України. – 2010. – Т. 16, №4. – С. 630–650.
6. Гуревич М.А. Особенности патогенеза и лечения и шемической болезни сердца, сердечной недостаточности и артериальной гипертонии у больных сахарным диабетом / М.А. Гуревич // Клин. мед. – 2005. – Т. 5, №1. – С. 4–9.
7. Сергієнко В. О. Діабетична кардіомопатія: етіопатогенез, основні клінічні прояви, лікування / В. О. Сергієнко, О. О. Сергієнко // Consilium medicum Ukraina. – 2008. – Т. 2, № 5. – С. 14–17.
8. Лутай М. И. Дисфункция эндотелия при ишемической болезни сердца: значение и возможные пути коррекции. Часть 1. Эндотелий – универсальный регулятор функции сердечно-сосудистой системы / М. И. Лутай, М. А. Слободской // Укр. кард. журнал. – 2001. – №3. – С. 79–83.
9. Хара М.Р. Вплив дефіциту статевих гормонів на вегетативну регуляцію серцевого ритму за застосування L-аргініну / М.Р. Хара, А.М. Дорохіна // Клініч. та експерим. патологія. – 2009. – Т. 8, №3. – С. 109–112.
10. Богомолова И.К. Оксид азота и его метаболиты как маркеры дисфункции эндотелия у больных сахарным диабетом / И.К. Богомолова, В.А. Михню // Забайкальский медицинский вестник. – 2011. – №1. – С. 140–146.
11. Basal serum nitric oxide levels in patients with type 2 diabetes mellitus and different stage softretinopathy / S. Ozden, S. Tatlipinar, N. Bicer [et al.] // Can. J. Ophthalmol. – 2003. – Vol. 38. – P. 393–396.
12. Баевский Р.М. Вариабельность сердечного ритма: теоретические аспекты и возможности клинического применения / Р.М. Баевский, Г.Г. Иванов // Ультразвуковая и функциональная диагностика. – 2001. – № 3. – С. 108.
13. Паніна Л.В. Аналіз варіабельності серцевого ритму за умов експериментальної гіпоксичної гіпоксії / Л.В. Паніна // Експ. таклін. фізіол. і біохім. – 2010. – № 2. – С. 61–66.
14. Аналіз варіабельності ритма серця в клінічній практиці (Возрастные аспекты) [Коржушко О.В., Писарук А.В., Шатило В.Б. и др.]. – К.: Інститут геронтології, 2002. – С. 192.
15. Хара М. Р. Вплив модуляторів синтезу оксиду азоту на холінергічну регуляцію серця самців і самок щурів до та після гонадектомії / Х.Р. Хара, А.М. Дорохіна // Клінічна та експериментальна патологія. – 2010. – Т., № 3. – С. 109–112.