

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

© Трач Росоловська С.В., Боднар Я.Я.

УДК 616.379+616.12-008.318]-612.66

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ВЕГЕТАТИВНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ СЕРЦЕВОГО РИТМУ ЩУРІВ В ДИНАМІЦІ СТРЕПТОЗОТОЦИНІНДУКОВАНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

Трач Росоловська С.В., Боднар Я.Я.

ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського"

Цель нашего исследования заключалась в анализе возрастных особенностей вегетативной регуляции сердечного ритма крыс при экспериментальном сахарном диабете. Диабет у крыс моделировали путем одноразового интраперитонеального введения стрептозотоцина в дозе 6 мг на 100 г массы тела. В исследовании использовали крыс-самцов двух возрастных групп: 1,5-2 месячных (неполовозрелых) и 5-6 месячных (молодых половозрелых). Изучали вегетативную регуляцию сердечного ритма на 1, 2 и 3 месяцах эксперимента после записи электрокардиограммы (ЭКГ). Этот быстрый неинвазивный метод диагностики используется в клинике и научных исследованиях для раннего выявления нарушений в регуляции сердечного ритма с помощью анализа его вариабельности (ВСР). Так, на 1 месяце эксперимента у крыс обеих возрастных групп отмечали напряжение регуляторных систем, активацию симпатического тонуса, что свидетельствовало об адаптационных возможностях сердца к диабетическим условиям. В последующие этапы исследования (2, 3 месяца) было преобладание парасимпатического тонуса. Эти изменения в автономной регуляции сердечного ритма могут быть первыми признаками ДАНС (диабетической автономной нейропатии сердца). Установлено, что половозрелые крысы обладают лучшими показателями функционирования автономной нервной системы, резервами автономной регуляции и адаптивными возможностями к патологическим условиям.

Ключевые слова: экспериментальный сахарный диабет, крысы, автономная нервная система, сердечный ритм, возраст.

Вступ

Останнім часом проблема адаптації і функціональних порушень серцево-судинної системи при цукровому діабеті (ЦД) увійшла в число актуальних питань сучасної медицини [1, 6, 12]. Хвороба супроводжується посиленням функціональної активності життєво важливих регуляторних систем спрямованих на підтримання гомеостазу організму. Важлива роль у регуляції гомеостазу належить таким гуморальним чинникам як адреналін і норадреналін, а також автономній нервовій системі. З'ясовано, що на початкових стадіях розвитку ЦД рівень адреналіну і норадреналіну в серцевому м'язі значно підвищений, що спричиняє кардіотоксичну дію [9], а зміна скоротливої функції серця пов'язана з порушенням його вегетативної регуляції і є складовою синдрому діабетичної автономної нейропатії (ДАНС) [7]. Ритм скоротливості серця при ДАНС за оцінкою ряду авторів є неоднозначним. Так, Maeda С.У. та інші встановили, що вже на початкових етапах розвитку ЦД в щурів розвивається брадикардія, пов'язана з редукцією роботи синусного вузла і зниженні вагусного тонусу, однак не виключається вплив інших холінергічних чинників [11]. Інші дослідження наводять дані, що і в пізні строки перебігу експериментального цукрового діабету спостерігається вегетативний дисбаланс в сторону симпатикотонії [8]. Поясненням цьому можуть бути неоднозначний підхід до проведення експериментальних досліджень. Більшість із них проведені на тваринах репродуктивного віку, і недостатньо висвітлені особливості веге-

тативної регуляції серця при стрептозотоциніндукованому цукровому діабеті у статевонезрілих тварин.

Мета дослідження. Встановити і порівняти особливості динаміки варіабельності серцевого ритму при стрептозотоциніндукованому цукровому діабеті в щурів різних вікових періодів.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження виконані на 82 нелінійних щурах-самцях двох вікових періодів: репродуктивного періоду, вік яких 5-6 місяців (маса 190 ± 10 г) і щурах періоду статевого дозрівання (віком 1,5-2 місяці, масою 90 ± 10 г) відповідно до міжнародних принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985) і національних норм з біоетики (I національний конгрес з біоетики, Київ, 2001). ЦД моделювали шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення стрептозотоцину ("Sigma", USA) розчиненого в 0,5 мл 0,1 М цитратного буферу, рН 4,5, із розрахунку 6 мг на 100 г маси тіла. Перед ін'єкцією тварини голодували 6 годин. Щурам контрольної групи, після аналогічного періоду голодування, вводили плацебо (0,5 мл 0,1 М цитратного буферу, рН 4,5). Рівень глюкози крові отриманої з хвостової вени, вимірювали глюкометром Accu-Chek Active (Roche, Germany). Тварин виводили з експерименту при досягненні глюкоземії понад 14,00 ммоль/л.

Експерименти проводилися у шести серіях: три групи статевонезрілих тварин і три групи статевозрілих в кожній (по 6 щурів експериментальних і

6-контрольних). Евтаназію проводили через місяць, два і три місяці після введення стрептозоточину.

Запис та оцифровка сигналу ЕКГ проводились за допомогою комп'ютерного кардіографа «CardioLab SE+» (Харків, Україна) на фоні наркотизації щурів шляхом внутрішньоочеревинного введення розчину "Тіопентал натрію-КМП" у дозі 35 мг/кг. Аналіз серцевого ритму здійснювали на 5-хвилинних безперервних записах кардіоінтервалів за допомогою комп'ютерного програмного забезпечення до вказаного пристрою. Визначали частоту серцевих скорочень (ЧСС), моду (Mo, с) – діапазон значень інтервалу R-R, які зустрічаються найчастіше; амплітуду моди (АМо, %) – відносна кількість інтервалів R-R, що визначають моду; варіаційний розмах (ΔX, с) – різниця між максимальним і мінімальним значеннями тривалості інтервалів R-R; індекс напруги (ІН), що встановлює ступінь централізації керуванням серцевого ритму; індекс вегетативної рівноваги (ІВР = АМо/ΔX, ум.од.) – характеризує співвідношення між активністю симпатичної і парасимпатичної нервової системи, показник адекватності процесів регуляції (ПАПР = АМо/Mo, ум.од.) – відображає відповідність між активністю симпатичного відділу вегетативної нервової системи і рівнем функціонування синусного вузла, вегетативний показник ритму (ВГР) – за яким оцінюється активність автономного контуру регуляції, а саме участь парасимпатичних впливів на серцевий ритм [2, 3]. Математичний аналіз проводили з використанням методів статистичного аналізу [5].

Результати та їх обговорення

Із аналізу отриманих даних випливає, що рівень глюкоземії починаючи з першого місяця після введення стрептозоточину у групах статевозрілих і статевонезрілих щурів статистично достовірно не відрізнявся. Тобто, можна вважати, що вплив гіперглікемії на серце піддослідних тварин був приблизно однаковий. Серед статевонезрілих впродовж експерименту загинуло лише 2 тварини у порівнянні з 8 – в групі статевозрілих, що можна пояснити поступовим суттєвим зниженням кількості острівців в підшлунковій залозі і вмісту в них β-клітин в процесі досягання щурами статевої зрілості [4].

Під час перебування тварин в фізіологічних умовах лише в статевонезрілих на другому місяці експерименту в порівнянні з даними першого - відмічено збільшення значення ІН за рахунок як незначного збільшення АМо, так і за рахунок зниження Мо і величини ΔX, а також збільшення показників ІВР та ВГР. Ці зміни можна пояснити дисфункцією вегетативної нервової системи, зумовленої гормональними впливами в період статевого дозрівання. Так, в щурів-самців тестостерон в плазмі крові починає збільшуватись з п'ятого тижня життя і досягає рівня дорослих тварин у 10 тижневому віці [10]. У подальшому, у тварин контрольної групи, ці показники до третього місяця експерименту залишалися стабільними (табл. 1, 2).

Таблиця 1
Показники математичного аналізу ритму серця статевонезрілих щурів у динаміці стрептозоточиніндукованого цукрового діабету

Показник	Термін дослідження					
	1 місяць		2 місяць		3 місяць	
	ЦД	Контроль	ЦД	Контроль	ЦД	Контроль
Mo, с	0,1300 ±0,003 1	0,1568 ±0,0031 2	0,1755 ±0,0024 3	0,1442 ±0,0037 4	0,1757 ±0,0015 5	0,1427 ±0,0045 6
АМо, %	44,3 ±3,1 7	28,2 ±1,6 8	47,2 ±2,7 9	36,5 ±1,5 10	44,8 ±2,1 11	37,5 ±1,6 12
ΔX, с	0,0030 ±0,0003 13	0,0057 ±0,0003 14	0,0038 ±0,0003 15	0,0032 ±0,0002 16	0,0037 ±0,0003 17	0,0033 ±0,0002 18
ЧСС, уд/хв	463 ±11 19	383 ±7 20	342 ±5 21	417 ±11 22	341 ±3 23	422 ±15 24
ІН	59192 ±7628 25	16057 ±1006 26	36592 ±4201 27	40537 ±2815 28	36332 ±4204 29	40731 ±3907 30
ІВР	15,43 ±2,10 31	5,02 ±0,27 32	12,89 ±1,61 33	11,71 ±0,87 34	12,82 ±1,53 35	11,54 ±0,99 36
ВГР	2,67 ±0,30 37	1,14 ±0,07 38	1,53 ±0,11 39	2,22 ±0,12 40	1,60 ±0,12 41	2,15 ±0,16 42
ПАПР	0,341 ±0,020 43	0,179 ±0,009 44	0,268 ±0,016 45	0,252 ±0,008 46	0,254 ±0,012 47	0,263 ±0,015 48

Примітка: $P_{1-2}<0,001$; $P_{7-8}<0,001$; $P_{13-14}<0,001$; $P_{19-20}<0,001$; $P_{25-26}<0,001$; $P_{31-32}<0,001$; $P_{37-38}<0,001$; $P_{43-44}<0,001$; $P_{1-3}<0,01$; $P_{7-9}>0,05$; $P_{13-15}>0,05$; $P_{19-21}<0,001$; $P_{25-27}<0,05$; $P_{31-33}>0,05$; $P_{37-39}<0,01$; $P_{43-45}<0,02$; $P_{5-6}<0,001$; $P_{11-12}<0,02$; $P_{17-18}>0,05$; $P_{23-24}<0,001$; $P_{29-30}>0,05$; $P_{35-36}>0,05$; $P_{41-42}<0,05$; $P_{47-48}>0,05$.

Таблиця 2
Показники математичного аналізу ритму серця статевозрілих щурів в динаміці стрептозотоциніндукованого цукрового діабету

Показник	Термін дослідження					
	1 місяць		2 місяць		3 місяць	
	ЦД	Контроль	ЦД	Контроль	ЦД	Контроль
Мо, с	0,1352 ±0,0031 1	0,1513 ±0,0018 2	0,1503 ±0,0060 3	0,1420 ±0,0034 4	0,1508 ±0,0048 5	0,1408 ±0,0034 6
АМо, %	38,3 ±2,1 7	27,8 ±1,9 8	28,8 ±1,6 9	32,2 ±1,0 10	27,5 ±2,3 11	34,3 ±1,1 12
ΔХ, с	0,0033 ±0,0002 13	0,0047 ±0,0003 14	0,0072 ±0,0003 15	0,0043 ±0,0002 16	0,0077 ±0,0003 17	0,0045 ±0,0003 18
ЧСС, уд/хв	445 ±10 19	396 ±4 20	398 ±16 21	422 ±10 22	396 ±13 23	425 ±10 24
ІН	43989 ±4884 25	20642 ±2637 26	13946 ±1784 27	26772 ±2089 28	12333 ±1652 29	27952 ±2514 30
ІВР	11,87 ±1,13 31	6,22 ±0,75 32	4,09 ±0,37 33	7,54 ±0,48 34	3,64 ±0,38 35	7,80 ±0,52 36
ВВР	2,24 ±0,16 37	1,45 ±0,10 38	0,95 ±0,08 39	1,65 ±0,09 40	0,88 ±0,05 41	1,62 ±0,13 42
ПАПР	0,281 ±0,020 43	0,184 ±0,014 44	0,195 ±0,016 45	0,227 ±0,010 46	0,185 ±0,020 47	0,245 ±0,013 48

Примітка: $P_{1-2}<0,02$; $P_{7-8}<0,01$; $P_{13-14}<0,001$; $P_{19-20}<0,002$; $P_{25-26}<0,002$; $P_{31-32}<0,002$; $P_{37-38}<0,002$; $P_{43-44}<0,001$; $P_{1-3}<0,05$; $P_{7-9}>0,01$; $P_{13-15}<0,001$; $P_{19-21}<0,05$; $P_{25-27}<0,001$; $P_{31-33}<0,001$; $P_{37-39}<0,001$; $P_{43-45}<0,01$; $P_{5-6}>0,05$; $P_{11-12}<0,05$; $P_{17-18}<0,001$; $P_{23-24}>0,05$; $P_{29-30}<0,001$; $P_{35-36}<0,001$; $P_{41-42}<0,001$; $P_{47-48}<0,05$.

Через місяць від початку відтворення стрептозотоцинового ЦД у щурів обох вікових груп зареєстровано прояви синдрому напруження регуляторних систем, що стверджується суттєвими змінами вегетативного балансу, а саме зменшенням парасимпатичних впливів і посиленням симпатичного контролю серцевого ритму. Так, у статевонезрілих щурів на першому місяці експериментального цукрового діабету, порівняно із даними контролю, відмічалось значне збільшення ІН (в 3,7 рази) як за рахунок збільшення АМо на 36,3%, так і за рахунок зниження Мо на 20,6% і показника ΔХ на 42,4%.

У статевозрілих щурів ІН в порівнянні із статевонезрілими був статистично достовірно менший, однак в порівнянні з інтактними щурами того ж віку збільшився в 2 рази (внаслідок більш низької величини АМо, і більш високих значень Мо і ΔХ). Ці дані можуть бути свідченням компенсаторно-приспосувальної реакції серцево-судинної системи до дії патологічного чинника, що проявилася у різкому напруженні регуляторних систем - посиленні симпатичних впливів на серце і вказує на централізацію керування серцевим ритмом, а ступінь збільшення ІН у тварин обох вікових груп свідчить про різну виразність таких адаптаційних реакцій.

Показник адекватності процесів регуляції (ПАПР) в умовах експериментального цукрового діабету збільшився на 34,5% у статевозрілих тварин і на 47,5% у статевонезрілих, що також свідчить про високу мобілізацію компенсаторно-приспосувальних процесів. А зростання таких показників як ВР та ВВР стверджують про активацію симпатичних впливів у діяльності регуляторних механізмів і вказують на напругу адаптації в щурів обох вікових груп. Поряд з цим, зареєстрована тахікардія на цьому терміні дослідження може

бути першим проявом діабетичної автономної нейропатії серця.

Через два місяці після відтворення ЦД у статевозрілих тварин ЧСС знизилась на 10,6%, мода (Мо) зросла на 10%, АМо зменшилась на 24,8%, а показник ΔХ зріс в 2 рази і, відповідно, ІН зменшився на 68%. У статевонезрілих тварин динаміка показників вегетативної регуляції серцевого ритму була дещо інша: ЧСС знизилась на 26,2% (і на 22% була менше інтактних щурів цього ж віку), мода (Мо) зросла на 26%, ІН зменшився на 38,2%. Показники ΔХ і АМо статистично достовірно не змінилися. Таким чином у щурів обох вікових груп, на другому місяці перебігу експериментального ЦД, зареєстровано зниження напруження систем регуляції і підвищення тону парасимпатичного відділу автономної нервової системи, що, зазвичай, свідчить про посилення процесів саморегуляції і активацію діяльності автономного контуру ритму серця.

Отримані дані зниження показників ІН, АМо, ΔХ, а також наявність брадикардії у статевонезрілих щурів на другому місяці перебігу стрептозотоциніндукованого ЦД можна розцінювати як відставання в накопиченні резервів компенсації роботи серця за патологічних умов.

На третьому місяці показники кардіоритмограми (ЧСС, Мо, АМо і ΔХ) у тварин обох вікових груп статистично достовірно не відрізнялись від показників отриманих в попередній строк. Однак, в порівнянні з групою контролю того ж віку, показник Мо у статевонезрілих тварин був вище на 23,1%, ЧСС виявилася на 23,8% меншою, АМо вищою на 16,8%. У статевозрілих тварин показники Мо та ЧСС статистично достовірно не відрізнялись від вікових норми, лише АМо була нижче на 24,7%. У статевонезрілих тварин ІН, ІВР та ПАПР статистично достовірно не відрізнялись від групи конт-

ролю, лише ВПР був на 34 % менший. Отримані дані у статевонезрілих тварин імовірно свідчать про порушення в централізації управління ритмом серця, а у статевозрілих щурів – зменшення таких показників, як ВПР на 84 %, ІВР та ІН у 2 рази, ПАПР на 34 %, порівняно із контролем, вказують про зниження активності гуморальної адренергічної ланки і підвищення активності автономного контуру регуляції.

Підсумовуючи отримані дані, можна зазначити, що в щурів обох вікових груп при експериментальному цукровому діабеті зареєстровані порушення в вегетативній регуляції серцевого ритму, які можна оцінити з двох позицій. По-перше, в різні строки розвитку ЦД вони можуть відображати метаболічну адаптацію серця до дії патологічного чинника (приспосовування до гіперглікемії), і по-друге, бути проявом діабетичної автономної нейропатії, для якої властиві також етапні зміни. Так, на першому місяці експериментального ЦД переважав симпатичний тонус автономної нервової системи, і як свідчать показники АМО і ЧСС, цей вплив на серце здійснювався одночасно через нервовий і гуморальний канали. На другому і третьому місяцях спостерігалось зниження активності симпатичної нервової системи, зменшення активності гуморальних адренергічних впливів. Помірне посилення процесів саморегуляції в статевозрілих щурів у цей період досліджу може вказувати на їх кращі адаптаційні можливості до патологічних умов, а у статевонезрілих щурів, на фоні низької ЧСС, зниження даних ІН, ІВР та ПАПР до показників інтактних тварин, вказує на узгодженість діяльності автономного і центрального контурів регуляції ритмом серця і відображає втрату їх до повноцінної адаптації.

Висновки

1. Через місяць від початку моделювання стрептозотокіндукованого цукрового діабету в статевозрілих і статевонезрілих щурів спостерігається активація адренергічного та зменшення холінергічного контролю вегетативної регуляції серцевого ритму і через наступні два-три місяці – зменшення симпатичного і посилення холінергічного.

2. Отриману динаміку змін автономної регуляції серцевої ритму можна розцінити, з одного боку, як індикатор метаболічної адаптації серця до дії гіперглі-

кемії, і з другого – проявом діабетичної автономної нейропатії.

3. Статевозрілим щурам із стрептозотокіндукованим цукровим діабетом, на відміну від статевонезрілих, притаманні більш виражені адаптивні можливості, що підтверджується даними помірного переважання парасимпатичних впливів на другий і третій місяці перебігу патологічного процесу.

4. Доцільно провести морфологічне дослідження холінергічних і адренергічних нервів серця статевонезрілих і статевозрілих щурів в різні терміни експериментального цукрового діабету із з'ясуванням взаємозв'язків між функціональними і структурними змінами.

Література

1. Балаболкин М.И. Диабетология. М.: Медицина, 2000. 672 с.
2. Баевский Р.М. Математический анализ изменений сердечного ритма при стрессе / Баевский Р.М., Кириллов О.И., Клецкин С.З. – М.: Наука, 1984. – 221с.
3. Баевский Р.М., Иванов Г.Г., Чирейкин Л.В. и др. Анализ вариабельности сердечного ритма при использовании различных электрокардиографических систем (методические рекомендации) // Вестн. аритмологии. — 2001. — № 24. — С. 65–87.
4. Баранов В.Г., Соколова И.М., Гаспарян Э.Г. и др. Экспериментальный сахарный диабет. Роль в клинической диабетологии. – Ленинград: Наука, 1983. – 240с.
5. Березовский В.А. Метод ускоренной статистической обработки по константной формуле // Сб. научных трудов. – Фрунзе – 1971, – Т. 78, с.10-13.
6. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Фадеев В.В. Эндокринология. М., Медицина, 2000. 632 с.
7. Сергієнко О. О., Урбанович А. М. Діабетична автономна нейропатія серця. – Львів: Атлас, 1999. – 94 с.
8. Структурно-функціональні особливості серця та його провідної системи при розладах ритму і провідності, зумовлених цукровим діабетом: автореф. дисертації на здобуття наукового ступеня канд. мед. наук: спец. 14.03.01 "Анатомія" / М.Я. Фурдела. – Тернопіль, 2007. – 20 с.
9. Christensen N. J. Catecholamines and diabetes mellitus // Diabetology. – 1979. – 16, № 4. – P. 221–224.
10. Knorr D. Structure and function of rat testis through pubescence/ Vanha Perttula T., Lipsett M.// Endocrinology. – 1970. V. 86. – P. 1298-1304
11. Maeda C.Y. Autonomic dysfunction in short-term experimental diabetes /Fernandes T.G., Timm H.B., Irigoyen M.C.// Hypertension. – 1995. V. 26 (Part 2). – P. 1000-1004
12. Zimmet P. et al. Global and societal implications of the diabetes epidemic// Nature. – 2001. – 13, № 414 (6865). – P. 782-785

Summary

AGE PECULIARITIES OF THE HEART RATE AUTONOMOUS CONTROL IN RATS WITH STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES MELLITUS

S. V. Trach Rosolovska, Ya. Ya. Bodnar

Key words: experimental diabetes mellitus, rats, autonomous nervous system, heart rate, age.

The aim of the research was to analyze age peculiarities of the heart rate autonomous control in rats with experimental diabetes mellitus. The diabetes mellitus in rats was modelled by single streptozotocin administration in dosage 6 mg/100g of rat weight. We used 1,5-2 month (nonmature) and 5-6 month (mature) old male rats. The heart rate autonomous control was examined during 1st, 2nd, 3rd months of the experiment the electrocardiogram (ECG) record. This quick non-invasive diagnostic method is applied in a clinical practice and research for early detection of changes in heart rate autonomous control by means of the analysis of heart rate variability (HRV). We observed that at early stage (during the 1st month) of diabetes mellitus in both age groups there were signs of tension of regulatory systems and activation of sympathetic tone which indicates the adaptive response to the diabetic state. Parasympathetic tonus prevailed during the subsequent stages of the research (the 2nd and the 3rd months). These changes in autonomous control of heart rate may be the first signs of DCAN (diabetic cardiac autonomic neuropathy). It has been revealed that the mature rats are characterized with the best indices of level of the autonomic nervous system functioning, reserves of autonomous regulation and adaptative possibilities to the pathological conditions (diabetes mellitus).

Ministry of Public Health of Ukraine

Higher State Educational Establishment " I.Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University"

Матеріал надійшов до редакції 15.09.2010 р.