

М. М. Фатеев, П. К. Телушкин, А. С. Гуцин, В. Е. Варенцов

Изменения сердечного ритма у иммобилизованных крыс при инсулиновой гипогликемии и в восстановительном периоде

В статье приведены результаты исследования показателей вариабельности сердечного ритма и содержания глюкозы в крови у иммобилизованных крыс через 15, 60, 90 и 120 минут (кома) после введения инсулина, а также через 15 и 60 минут после введения глюкозы. Результаты анализа свидетельствуют о прогрессирующем увеличении тонуса парасимпатического отдела автономной нервной системы по мере снижения уровня глюкозы в крови. Развитие гипогликемической комы (содержание глюкозы в крови около 1,0 ммоль/л) одновременно приводит к повышению активности симпатoadреналовой системы. Купирование гипогликемической комы глюкозой через 1 час не приводит к полной нормализации сердечного ритма.

Ключевые слова: вариабельность сердечного ритма, автономная нервная система, инсулин, глюкоза, иммобилизационный стресс.

M. M. Fateev, P. K. Telushkin, A. S. Gushin, V. E. Varenzov

Changes of the heart rhythm in the immobilized rats at an insulin hypoglycemia and in the recovery period

It has been studied parameters of heart rate variability and blood glucose in immobilized rats at 15, 60, 90 and 120 minutes (coma) after insulin administration and after 15 and 60 minutes after glucose administration. The analysis shows a progressive increase in the tone of the parasympathetic division of the autonomic nervous system by decreasing the blood glucose level. The development of

hypoglycemic coma (blood glucose of about 1.0 mmol /l) at the same time leads to an increase in activity of the sympathoadrenal system. A correction of hypoglycemic coma by glucose after 1 hour, does not lead to the full normalization of heart rate.

Keywords: Heart rate variability, autonomic nervous system, insulin, glucose, immobilization stress.

Введение

Гипогликемия – распространенное состояние, возникающее при инсуломе поджелудочной железы, алкогольной интоксикации, заболеваниях печени и желудочно-кишечного тракта. Клинически наиболее важным является то, что инсулиновая гипогликемия сопровождает лечение сахарного диабета [3, 4, 8, 9].

Гипогликемия увеличивает риск смерти от нарушений сердечного ритма у пациентов с сахарным диабетом [6], поэтому исследование нейрогуморальной регуляции функций сердца при значительных колебаниях уровня глюкозы в крови представляет существенный интерес.

Оценка роли периферической нервной системы в регуляции сердечного ритма с помощью метода вариабельности сердечного ритма (ВСР) при изменениях гликемии служила предметом ряда исследований, в том числе и у человека при относительно умеренной гипогликемии [11–13]. Вместе с тем в клинической практике реально встречаются случаи тяжелой гипогликемии с развитием гипогликемической комы [3, 4, 8]. В работе представлены результаты исследования влияния тяжелой инсулиновой гипогликемии и купирования ее глюкозой на показатели ВСР у крыс.

Материал и методы исследования

Опыты были проведены на 23 взрослых самцах крыс линии Wistar массой 180–210 г в условиях психоэмоционального стресса, который получали путем иммобилизации животного на спине на все время эксперимента. Перед обследованием животные были лишены пищи в течение 14–16 часов. Предваритель-

но на 10 крысах было выявлено, что 3-часовая иммобилизация не приводила к значимым изменениям в сердечном ритме животных.

Запись ЭКГ осуществлялась до (исходное состояние) и через 15, 60, 90 минут и 120 минут (гипогликемическая кома) после инъекции инсулина (40 ЕД/кг), а также через 15 и 60 минут после внутрижелудочного введения 3 мл 40 % раствора глюкозы крысам, находящимся в состоянии гипогликемической комы. Для регистрации ЭКГ использовалась двухканальная электрофизиологическая установка (г. Санкт-Петербург), связанная через АЦП (L-CARD E-440, г. Москва) с компьютером IBM PC «Pentium II». Частота дискретизации – 4,0 кГц. ЭКГ записывалось во II стандартном отведении в течение 4-х минут в программе L-GRAPH, поставляемой вместе с АЦП. Просмотр ЭКГ и ее первичная обработка проводились с помощью программы RRMatch, а окончательный расчет показателей BCP и их графическое отображение – в программе CRGraph [7].

При анализе BCP использовались следующие показатели [1, 2]:

– *временной анализ*: M_n – минимальная длительность всех интервалов R-R, M_x – максимальная длительность всех интервалов R-R, $RRNN$ – средняя длительность всех интервалов R-R, ЧСС – частота сердечных сокращений (уд/мин), $SDNN$ – стандартное отклонение нормальных RR интервалов (мс), CV – коэффициент вариации (%), $RMSSD$ – квадратный корень из суммы квадратов разности величин последовательных пар интервалов RR (мс); геометрический анализ: M_xDM_n – вариационный размах (мс), M_o – мода (мс), AM_o – амплитуда моды (%), SI – стресс-индекс (усл. ед.), $EllSq$ – площадь скаттерограммы (мс²), $EllAs$ – отношение ширины к длине скаттерограммы (%);

– *спектральный анализ*: LF – мощность волн низкой частоты (мс²), HF – мощность волн высокой частоты (мс²), TP – общая мощность спектра (мс²), $LF\%$ – относительное значение мощности волн низкой частоты, $HF\%$ – относительное значение мощности волн высокой частоты и LF/HF – индекс ваго-

симпатического баланса (усл. ед.). При расчете геометрических показателей шаг гистограммы составлял 2 мс. Диапазон LF составлял 0,02–0,75, а HF – 0,75–3,0 Гц [7].

Содержание глюкозы в крови хвостовой вены крыс определяли глюкозоксидазным методом [5].

Статистический анализ выполнен в программе «Statistica 6.1». В случае нормального распределения для оценки достоверности отличий применяли t-критерий Стьюдента. Если распределение отличалось от нормального – непараметрический критерий Уилкоксона. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Уже через 15 минут после введения животным инсулина уровень глюкозы в крови снизился в 1,5 раза ($p < 0,001$) (табл.). При этом достоверно увеличились такие показатели ВСР, как Мп, Мх, RRNN и Мо (в среднем в 1,1 раза), RMSSD (в 1,4 раза), и соответственно этому уменьшилась ЧСС в 1,1 раза, что свидетельствует об увеличении тонуса парасимпатического отдела АНС [1, 2].

Через 1 час после введения инсулина содержание глюкозы в крови уменьшается в 2,9 раза ($p < 0,001$) от исходного уровня и происходит дальнейшее увеличение активности парасимпатического отдела АНС. Наблюдается рост Мп, Мх, RRNN, RMSSD и Мо – соответственно в 1,3; 1,6; 1,5; 1,7 и 1,3 раза (во всех случаях $p < 0,001$). Кроме того, увеличились SDNN в 1,3 ($p < 0,05$), МхDMп в 1,4 ($p < 0,01$), EllSq в 2,1 ($p < 0,01$), LF в 1,9 ($p < 0,05$), HF в 2,4 ($p < 0,001$) и TP в 2,0 ($p < 0,05$) раза, а ЧСС уменьшилась в 1,3 раза ($p < 0,001$).

Дальнейшее снижение количества глюкозы в крови (в 3,9 раза от исходного, $p < 0,001$) через 1,5 часа после инъекции инсулина приводит к еще более глубоким достоверным изменениям практически всех показателей ВСР (табл.), которые достигли наибольших изменений во время комы, то есть спустя 2 часа после введения инсулина. Так, в состоянии гипогликемической комы (содержание глюкозы в крови около 1,0 ммоль/л), по сравнению с исходным уровнем,

значительно и достоверно увеличились такие показатели ВСР, как Мп, Мх, RRNN, SDNN, CV, RMSSD, МхDMn, Мо, EllSq, EllSa, LF, HF, TP, соответственно в 1,6; 1,8; 1,7; 2,3; 1,3; 3,4; 2,4; 1,7; 6,8; 1,4; 5,7; 9,3 и 6,6 раза, а уменьшились ЧСС, АМо и SI соответственно в 1,7; 2,1 и 8,0 раз.

Таким образом, исходя из результатов временного, геометрического и спектрального анализов показателей ВСР, можно сделать заключение, что состояние гипогликемической комы у животных выражается не только в резком увеличении тонуса парасимпатического отдела АНС [1, 2], но одновременно и в повышении активности симпатoadреналовой системы, выполняющей адаптационно-трофическую функцию и пытающейся скомпенсировать резкие колебания гомеостаза, вызванные введением инсулина.

Уровень глюкозы в крови через 15 мин после купирования гипогликемической комы увеличивается в 2,0 раза по отношению к величине гликемии у коматозных животных. Это приводит к достоверному изменению практически всех показателей ВСР, по сравнению с коматозными крысами (табл.). Так, Мп, Мх, RRNN, SDNN, CV, RMSSD, МхDMn, Мо, EllSq, LF, HF, TP, LF % уменьшились соответственно в 1,3; 1,5; 1,4; 2,8; 2,1; 2,5; 2,6; 1,4; 4,7; 4,6; 5,0; 4,8 и 1,3 раза, а ЧСС, АМо, SI, EllSa, HF % увеличились соответственно в 1,4; 3,0; 13,2; 1,2 и 1,4 раза. Причем, по сравнению с исходным состоянием, у крыс полностью восстановились такие показатели ВСР, как SDNN, RMSSD, МхDMn, EllSq, LF, HF и TP, а индекс вагосимпатического взаимодействия (LF/HF) уменьшился в 1,6 раза ($p < 0,05$).

Через 1 час после купирования комы глюкозой происходит дальнейшее повышение уровня гликемии и восстановление сердечного ритма (табл.), но многие показатели ВСР не возвращаются к исходным значениям. Так, по сравнению с комой, наблюдается достоверное уменьшение таких показателей ВСР, как Мп, Мх, RRNN, SDNN, CV, RMSSD, МхDMn, Мо, EllSq, LF, HF и TP соответственно в 1,3; 1,5; 1,4; 2,9; 2,0; 3,3; 2,7; 1,4; 8,9; 5,9; 11,4 и в 7,0 раз, а увеличение – ЧСС, АМо и SI соответственно в 1,4; 2,8 и 10,7 раза.

Таблица
Влияние введения инсулина и глюкозы на показатели вариабельности сердечного ритма и содержание глюкозы в крови

Показатель	Исходное состояние	Введение инсулина				Введение глюкозы		
		через 15 мин	через 60 мин	через 90 мин	через 120 мин (кома)	через 15 мин	через 60 мин	через 60 мин
Mn (мс)	117.7±1.14	129.4±2.86***	154.3±3.86***	176.3±5.57***	193.5±5.73***	153.6±3.77***	146.3±3.37***	146.3±3.37***
Mx (мс)	143.5±1.86	161.7±3.98***	191.0±5.7***	222.9±6.31***	260.5±9.13***	177.7±7.94***	169.8±4.40***	169.8±4.40***
RRNN (мс)	129.6±1.14	145.0±3.14***	171.2±4.37***	198.9±5.68***	222.3±6.15***	163.4±5.02***	155.9±3.11***	155.9±3.11***
ЧСС (уд/мин)	464±4.0	418±9.0***	356±8.9***	306±9.1**	275±8.0***	373±9.3***	388±7.8***	388±7.8***
SDNN (мс)	4.47±0.443	5.63±0.675	5.99±0.609*	7.24±0.423***	10.20±0.925***	3.67±0.727***	3.48±0.572***	3.48±0.572***
CV (%)	3.42±0.321	3.83±0.442	3.47±0.341	3.67±0.212	4.53±0.367*	2.11±0.344***	2.21±0.339***	2.21±0.339***
RMSSD (мс)	2.86±0.228	4.14±0.565*	4.89±0.506***	6.56±0.668***	9.84±1.062***	3.92±0.796***	3.01±0.399***	3.01±0.399***
MxDMn (мс)	26.0±2.11	32.1±3.46	36.9±3.56**	46.9±2.69***	62.8±4.78***	24.3±5.02**	23.6±3.69***	23.6±3.69***
Mo (мс)	128.5±1.29	145.1±3.60***	172.0±4.45***	198.3±5.65***	220.3±6.19***	163.1±5.05***	155.2±2.99***	155.2±2.99***
AMo (%)	25.1±1.95	22.6±2.92	19.9±2.69	13.7±0.95***	12.2±1.28***	36.3±3.64***	33.6±3.51***	33.6±3.51***
SI (ул./ед.)	5928±913.9	4828±1423	3348±1166	835.8±104.64***	739.4±227.25***	9746±1728***	7892±1611***	7892±1611***
FISq (мс ²)	417.2±76.36	740.3±180.27	894.3±167.24**	1257±184.2***	2849±498.6***	602.2±251.54***	318.7±79.72***	318.7±79.72***
FIIAs (%)	40.4±2.78	46.9±4.99	48.9±3.66	50.9±3.53*	56.6±3.19***	67.6±3.98***	53.5±4.56*	53.5±4.56*
LF (мс ²)	3.29±0.733	4.83±1.310	6.24±1.314*	8.30±0.857***	18.88±4.432***	4.07±1.710**	3.21±1.507**	3.21±1.507**
HF (мс ²)	1.03±0.179	1.94±0.519*	2.46±0.449***	4.36±0.842***	9.56±1.958***	1.90±0.746**	0.84±0.168**	0.84±0.168**
TP (мс ²)	4.32±0.880	6.77±1.645	8.70±1.700*	12.66±1.589***	28.44±5.701***	5.97±2.347**	4.05±1.604**	4.05±1.604**
LF (%)	67.8±2.59	64.2±4.22	65.6±2.89	68.1±2.41	63.0±2.69	49.6±4.65***	62.9±4.28	62.9±4.28
HF (%)	32.2±2.59	35.8±4.22	34.4±2.89	31.9±2.41	37.0±2.69	50.4±4.65***	37.1±4.28	37.1±4.28
LF/HF (усл.ед.)	3.03±0.335	2.79±0.471	2.46±0.331	2.60±0.420	2.12±0.293	1.86±0.533*	2.92±0.794	2.92±0.794
Уровень глюкозы в крови в ммоль/л	5.60±0.379	3.65±0.334***	1.93±0.120***	1.42±0.061***	1.03±0.029***	2.06±0.152***	2.68±0.115***	2.68±0.115***

Примечание:

*** - $p < 0.001$, ** - $p < 0.01$, * - $p < 0.05$ – по сравнению с исходным состоянием,

- $p < 0.001$, ## - $p < 0.01$, # - $p < 0.05$ – по сравнению с комой.

По сравнению с исходным состоянием, полностью восстановились такие показатели, как SDNN, RMSSD, MxDMn, SI, EllSq, LF, HF, TP, LF %, HF %, LF/HF. Вместе с тем через 1 час после купирования комы уровень глюкозы в крови остается низким и такие показатели ВСП, как Mn, Mx, RRNN, ЧСС, CV, Mo, AMo и EllAs, не достигают исходных значений.

Таким образом, введение глюкозы животным, находящимся в состоянии гипогликемической комы, приводит к постепенному восстановлению сердечного ритма, заключающемуся в снижении не только тонуса парасимпатического отдела АНС, но и в снижении активности симпатoadреналовой системы, а следовательно, и общей активности АНС [1, 2]. Купирование гипогликемической комы глюкозой в течение 1 часа не сопровождается полной нормализацией показателей ВРС.

Развитие гипогликемии у животных приводит к увеличению количества сигналов, поступающих от периферических и центральных глюкорцепторов к центрам АНС. Это приводит к повышению активности АНС (в большей степени ее парасимпатического отдела), выявленному в настоящем исследовании. Увеличение активности АНС при гипогликемии направлено, прежде всего, на повышение уровня глюкозы в крови [8, 9].

Вместе с тем результаты проведенного исследования обнаруживают явную связь ритма сердца и уровня гликемии. По мере развития гипогликемии и при повышении уровня глюкозы в крови показатели ВСП закономерно изменяются. Наиболее очевидно эта связь прослеживается в сравнении показателей ВСП через 1 час после введения инсулина и через 15 мин после купирования гипогликемической комы глюкозой, когда степень развития гипогликемии оказалась практически одинаковой (около 2,0 ммоль/л) (табл.). В эти сроки исследования большинство показателей ВСП практически не различаются и обнаруживают одинаковые различия с величинами ВСП в исходном состоянии. Другими словами, выявленные в настоящем исследовании изменения ВСП связаны именно с уровнем гипогликемии.

Маловероятно, что наблюдаемые при гипогликемии изменения ритма сердца могут иметь компенсаторный характер или адаптивное значение. Однако результаты проведенного исследования явно указывают на то, что определение показателей ВСР требует учета и контроля уровня глюкозы в крови. Кроме того, обнаруживаемые в проведенном эксперименте при гипогликемии у исходно здоровых крыс изменения ВСР оказались сходны с теми, которые наблюдаются у животных со стрептозотоциновым диабетом [10].

Нормализация уровня гликемии у пациентов с сахарным диабетом может означать, по сути, гипогликемию в отношении субстратного обеспечения ЦНС, поскольку количество транспортеров для глюкозы в структурах гематоэнцефалического барьера за счет предшествующей гипергликемии снижено [4, 8, 9]. Такая относительная гипогликемия может приводить к изменению тонуса нервных центров, регулирующих ритм сердца, и к развитию нарушений ритма сердца.

Библиографический список

1. Баевский, Р. М. Анализ вариабельности сердечного ритма в космической медицине [Текст] / Р. М. Баевский // Физиология человека. – 2002. – Т. 28. – № 2. – С. 70–82.
2. Баевский, Р. М. Анализ ВСР при использовании различных электрокардиографических систем (методические рекомендации) [Текст] / Р. М. Баевский, Г. Г. Иванов, Л. В. Чирейкин и др. // Вестник аритмологии. – 2001. – № 24. – С. 65–87.
3. Балаболкин, М. И. Диабетология [Текст] / М. И. Балаболкин. – М. : Медицина, 2000. – 672 с.
4. Дедов, И. И., Шестакова, М. В. Сахарный диабет [Текст] / И. И. Дедов, М. В. Шестакова. – М. : Медицина, 2003. – 455 с.

5. Меньшиков, В. В. Лабораторные методы исследования в клинике [Текст] : справочник : В. В. Меньшиков, Л. Н. Делекторская, Р. П. Золотницкая ; под ред. В. В. Меньшикова. – М. : Медицина, 1987. – С. 232–233.

6. Павлова, М. Г. Как избежать опасности гипогликемии – одного из важнейших осложнений терапии сахарного диабета 2-го типа? Роль ингибиторов ДПП-4 [Текст] / М. Г. Павлова, А. В. Зилов // Проблемы эндокринологии. – 2011. – № 3. – С. 48–52.

7. Сальников, Е. В. Вариабельность сердечного ритма у бодрствующих и наркотизированных крыс при воздействии β -адреноблокаторов [Текст] / Е. В. Сальников, М. М. Фатеев, А. В. Сидоров и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2007. – Т. 144. – № 10. – С. 372–375.

8. Briscoe, V. J. Hypoglycemia in type 1 and type 2 diabetes: physiology, pathophysiology, and management / V. J. Briscoe, S. N. Davis // Clinical Diabetes. – 2006. – Vol. 24. – P. 115–121.

9. Cryer, P. E. Current concepts: Diverse causes of hypoglycemia-associated autonomic failure in diabetes / P. E. Cryer // N. Engl. J. Med. – 2004. – Vol. 350. – N 22. – P. 2272–2279.

10. Howarth, F. C. Short-term effects of streptozotocin-induced diabetes on the electrocardiogram, physical activity and body temperature in rats / F. C. Howarth, M. Jacobson, O. Naseer, E. Adeghate // Exp. Physiol. – 2005. – Vol. 90. – P. 237–245.

11. Koivikko, M. L. Effects of sustained insulin-included hypoglycemia on cardiovascular autonomic regulation in type 1 diabetes / M. L. Koivikko, P. I. Salmela, K. E. J. Airaksinen et al. // Diabetes. – 2005. – Vol. 54. – P. 744–750.

12. Stockhors, U. Unconditioned and conditioned effects of intravenous insulin and glucose on heart rate variability in healthy men / U. Stockhors, A. Huenig, Dan Ziegler, W. A. Scherbaum // Physiology and Behavior. – 2011. – Vol. 103. – P. 31–38.

13. Vlcek, M. Heart rate variability and catecholamines during hypoglycemia and orthostasis / M. Vlcek, Z. Radikova, A. Penesova et al. // *Autonomic Neuroscience: basic and clinical*. – 2008. – Vol. 143. – P. 53–57.

Bibliograficheskij spisok

1. Baevskij, R. M. Analiz variabel'nosti serdechnogo ritma v kosmicheskoy medicine [Tekst] / R. M. Baevskij // *Fiziologija cheloveka*. – 2002. – T. 28. – № 2. – S. 70–82.

2. Baevskij, R. M. Analiz VSR pri ispol'zovanii razlichnyh jelektrokardiograficheskikh sistem (metodicheskie rekomendacii) [Tekst] / R. M. Baevskij, G. G. Ivanov, L. V. Chirejkin i dr. // *Vestnik aritmologii*. – 2001. – № 24. – S. 65–87.

3. Balabolkin, M. I. Diabetologija [Tekst] / M. I. Balabolkin. – M. : Medicina, 2000. – 672 s.

4. Dedov, I. I., Shestakova M. V. Saharnyj diabet [Tekst] / I. I. Dedov, M. V. Shestakova. – M. : Medicina, 2003. – 455 s.

5. Men'shikov, V. V. Laboratornye metody issledovaniya v klinike [Tekst] / V. V. Men'shikov, L. N. Delektorskaja, R. P. Zolotnickaja. Spravochnik pod red. V. V. Men'shikova. – M. : Medicina. – 1987. – S. 232–233.

6. Pavlova, M. G. Kak izbezhat' opasnosti gipoglikemii – odnogo iz vazhnejshih oslozhnenij terapii saharnogo diabeta 2-go tipa? Rol' ingibitorov DPP-4 [Tekst] / M. G. Pavlova, A. V. Zilov // *Problemy jendokrinologii*. – 2011. – № 3. – S. 48–52.

7. Sal'nikov, E. V. Variabel'nost' serdechnogo ritma u boдрstvujushhix i narkotizirovannyh kryс pri vozdejstvii β -adrenoblokatorov [Tekst] / E. V. Sal'nikov, M. M. Fateev, A. V. Sidorov i dr. // *Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*. – 2007. – T. 144. – № 10. – S. 372–375.

8. Briscoe, V. J. Hypoglycemia in type 1 and type 2 diabetes: physiology, pathophysiology, and management / V. J. Briscoe, S. N. Davis // *Clinical Diabetes*. – 2006. – Vol. 24. – P. 115–121.

9. Cryer, P. E. Current concepts: Diverse causes of hypoglycemia-associated autonomic failure in diabetes / P. E. Cryer // *N. Engl. J. Med.* – 2004. – Vol. 350. – N 22. – P. 2272–2279.

10. Howarth, F. C. Short-term effects of streptozotocin-induced diabetes on the electrocardiogram, physical activity and body temperature in rats / F. C. Howarth, M. Jacobson, O. Naseer, E. Adeghate // *Exp. Physiol.* – 2005. – Vol. 90. – P. 237–245.

11. Koivikko, M. L. Effects of sustained insulin-included hypoglycemia on cardiovascular autonomic regulation in type 1 diabetes / M. L. Koivikko, P. I. Salmela, K. E. J. Airaksinen et al. // *Diabetes.* – 2005. – Vol. 54. – P. 744–750.

12. Stockhors, U. Unconditioned and conditioned effects of intravenous insulin and glucose on heart rate variability in healthy men / U. Stockhors, A. Huenig, Dan Ziegler, W. A. Scherbaum // *Physiology and Behavior.* – 2011. – Vol. 103. – P. 31–38.

13. Vlcek, M. Heart rate variability and catecholamines during hypoglycemia and orthostasis / M. Vlcek, Z. Radikova, A. Penesova et al. // *Autonomic Neuroscience: basic and clinical.* – 2008. – Vol. 143. – P. 53–57.