

**ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА  
В ХОДЕ РАЗВИТИЯ ТЯЖЕЛОЙ ИНСУЛИНОВОЙ ГИПОГЛИКЕМИИ  
У КРЫС**

© М. М. Фатеев, П. К. Телушкин, Н. Б. Медведева,  
А. С. Гушчин, А. В. Сидоров

Ярославский государственный медицинский университет,  
Ярославль, Россия  
E-mail: fateev52@mail.ru

Исследовали показатели variability сердечного ритма (ВСР) для оценки активности автономной нервной системы (АНС) у исходно здоровых (контрольных) животных и крыс с аллоксановым сахарным диабетом (СД) при инсулиновой гипогликемии в условиях иммобилизации. Запись ЭКГ и определение уровня гликемии у животных осуществляли до (исходное состояние) и через 15, 60, 90 и 120 мин после гипогликемической комы (ГГК), вызванной инъекцией инсулина (40 ЕД/кг), а также через 15 и 60 мин после введения глюкозы крысам, находящимся в состоянии ГГК. По мере снижения гликемии, вплоть до развития ГГК, у контрольных животных в большей степени увеличивался тонус парасимпатического отдела АНС и в меньшей степени — активность симпатoadреналовой системы. В течение часа после купирования ГГК глюкозой тонус АНС оставался повышенным. Динамика показателей ВСР у крыс с СД при гипогликемии была аналогична таковой у контрольных животных. Однако на фоне СД активация парасимпатической АНС происходит медленнее при более выраженной гипогликемии, что свидетельствует о нарушении автономной регуляции сердца.

*Ключевые слова:* инсулиновая гипогликемия, variability сердечного ритма, аллоксановый сахарный диабет.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 104. № 2. С. 205—216. 2018

*M. M. Fateev, P. K. Telushkin, N. B. Medvedeva, A. S. Gushchin, A. V. Sidorov.* HEART RATE VARIABILITY DURING SEVERE INSULIN-INDUCED HYPOGLICEMIA IN RATS. Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russia, e-mail: fateev52@mail.ru.

Heart rate variability analyses were performed to assess autonomic nervous system activity (ANS) in initially healthy (control) as well as in alloxan-diabetic rats subjected to insulin-induced hypoglycemia under conditions of immobilization. ECG was recorded and blood glucose levels were determined in rats before and 15, 60, 90 and 120 min (hypoglycemic coma) after insulin injection (40 ED/kg b. w.) and besides, in rats developed hypoglycemic coma 15 and 60 min after glucose injection. As blood glucose levels dropped to lower levels until hypoglycemic coma developed in control rats, the parasympathetic ANS activity increased in a greater extent than sympathoadrenal activity. The total ANS activity remained increased within an hour after hypoglycemic coma had been cured by glucose injection. Alterations in heart rate variability during hypoglycemia were similar in rats with diabetes mellitus to those observed in control rats. However,

in diabetic rats parasympathetic ANS activation was extended in time and required more severe hypoglycemia reflecting impaired autonomic heart regulation.

*Key words:* insulin-induced hypoglycemia, heart rate variability, alloxan diabetes mellitus.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 104. N 2. P. 205—216. 2018

Гипогликемия — распространенное состояние, возникающее при инсуломе поджелудочной железы, алкогольной интоксикации, заболеваниях печени и желудочно-кишечного тракта. Клинически наиболее важным является то, что инсулиновая гипогликемия сопровождается лечением сахарного диабета [2, 14].

Гипогликемия увеличивает частоту нарушений сердечного ритма и риск смерти у пациентов с сахарным диабетом [12, 17, 21], поэтому исследование нейрогуморальной регуляции функций сердца при значительных колебаниях уровня глюкозы в крови представляет существенный интерес. Оценка роли автономной нервной системы (АНС) в регуляции сердечного ритма с помощью метода определения вариабельности сердечного ритма (ВСР) при изменениях гликемии служила предметом ряда исследований, в том числе и у человека при относительно умеренной гипогликемии с фиксированным уровнем глюкозы в крови [17, 19, 21]. Вместе с тем в клинической практике реально встречаются случаи тяжелой гипогликемии, вплоть до развития гипогликемической комы, часто в условиях гипоксии и предшествующего психоэмоционального стресса [2, 14].

Большие изменения ВСР при гипогликемии обнаруживаются в условиях гипоксии [22], т. е. дополнительного воздействия, вызывающего напряжение регуляторных систем. Активация симпатического отдела АНС в состоянии иммобилизационного стресса позволяет получать новые данные о влиянии  $\beta$ -адреноблокаторов, ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), и блокаторов кальциевых каналов на ритм сердца у контрольных крыс и при экспериментальной хронической сердечной недостаточности [6–8].

Целью настоящего исследования являлась оценка состояния АНС с помощью определения показателей ВСР в процессе развития тяжелой инсулиновой гипогликемии и после купирования гипогликемической комы глюкозой в условиях иммобилизации у контрольных животных и у крыс с экспериментальным аллоксановым диабетом.

## МЕТОДИКА

Опыты были проведены на взрослых крысах самцах линии Вистар массой 180—210 г в условиях иммобилизации животного на спине на все время эксперимента. Перед обследованием животные были лишены пищи в течение 14—16 ч. Предварительно на 10 крысах было выявлено, что 3-часовая иммобилизация не приводила к значимым изменениям в сердечном ритме животных.

Экспериментальные животные были разделены на 2 группы: 1-я группа (19 крыс) — исходно здоровые животные (группа контрольных животных); 2-я (16 крыс) — животные с 15-суточным аллоксановым диабетом. Экспериментальный аллоксановый сахарный диабет (СД) вызывали внутрибрюшинным введением аллоксана в дозе 135 мг/кг массы животного [3]. Развитие СД сопровождалось полиурией, глюкозурией и снижением массы тела. Если у животного 2-й группы перед обследованием уровень глюкозы в крови составлял менее 7.0 ммоль/л, оно исключалось из исследования.

Запись ЭКГ у животных обеих групп осуществлялась до (исходное состояние) и через 15, 60, 90 и 120 мин (гипогликемическая кома) после инъекции инсулина (40 ЕД/кг), а также через 15 и 60 мин после внутрижелудочного введения 3 мл 40%-ного раствора глюкозы крысам, находящимся в состоянии гипогликемической комы. Для регистрации ЭКГ использовалась двухканальная электрофизиологическая установка (Санкт-Петербург) связанная через АЦП (L-CARD

Е-440, Москва) с компьютером IBM PC «Pentium II». Частота дискретизации — 4.0 кГц. ЭКГ записывалось во II стандартном отведении в течение 4 мин в программе L-GRAPH, поставляемой вместе с АЦП. Просмотр ЭКГ и ее первичная обработка проводилась с помощью программы RRMATCH, а окончательный расчет показателей BCP и их графическое отображение в программе CRGraph [6].

При анализе BCP использовались следующие показатели [1]: временной (статистический) анализ:  $Mn$  — минимальная длительность всех интервалов RR,  $Mx$  — максимальная длительность всех интервалов RR,  $RRNN$  — средняя длительность всех интервалов RR, 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:  $MxDMn$  — вариационный размах (мс),  $Mo$  — мода (мс),  $AMo$  — амплитуда моды (%),  $SI$  — стресс индекс (усл. ед.); корреляционная ритмография:  $EllSq$  — площадь скаттерограммы ( $мс^2$ ),  $EllAs$  — соотношение ширины к длине скаттерограммы (%); спектральный анализ:  $LF$  — мощность волн низкой частоты ( $мс^2$ ),  $HF$  — мощность волн высокой частоты ( $мс^2$ ),  $TP$  — общая мощность спектра ( $мс^2$ ),  $LF\%$  — относительное значение мощности волн низкой частоты,  $HF\%$  — относительное значение мощности волн высокой частоты и  $LF/HF$  — индекс вагосимпатического 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 [6–8].

Данные спектрального анализа при стрессе часто не совпадают с данными других видов анализа BCP. Поэтому для определения преобладающего влияния на сердечный ритм активности парасимпатического отдела автономной нервной системы (АНС) или симпатoadреналовой системы нами был эмпирически выведен и предложен показатель суммарной степени воздействия (CCB) на сердечный ритм [7], который определяли по формуле

$$CCB = \frac{RRNN + SDNN + CV + RMSSD + MxDMn + AMo + SI + EllSq + EllAs + LF + HF}{11} - 1.$$

Если  $CCB > 0$ , то преобладает тонус парасимпатического отдела АНС, если  $CCB < 0$ , то активность симпатoadреналовой системы.

Содержание глюкозы в крови хвостовой вены крыс определяли глюкозоксидазным методом [4].

Статистический анализ выполнен в программе Statistica 6.1. В случае нормального распределения применяли  $t$ -критерий Стьюдента, если распределение отличалось от нормального — непараметрический критерий Уилкоксона. Рассчитывали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В группе контрольных животных через 15 мин после введения инсулина уровень глюкозы в крови снизился в 1.5 раза ( $p < 0.001$ ) (табл. 1). При этом наблюдалась тенденция к увеличению таких показателей BCP, как  $Mn$ ,  $Mx$ ,  $RRNN$  и  $Mo$  (в среднем в 1.1 раза),  $RMSSD$  (в 1.4 раза), соответственно этому происходило уменьшение ЧСС в 1.1 раза ( $p < 0.001$ ).

Через 1 ч после введения инсулина содержание глюкозы в крови у животных в группе контроля уменьшилось в 2.9 раза ( $p < 0.001$ ) от исходного уровня. При этом наблюдался рост  $Mn$ ,  $Mx$ ,  $RRNN$ ,  $RMSSD$  и  $Mo$  (во всех случаях  $p < 0.001$ ). Кроме того, увеличились:  $SDNN$  в 1.3 ( $p < 0.05$ ),  $MxDMn$  ( $p < 0.01$ ),  $EllSq$

Т а б л и ц а 1

Влияние введения инсулина и глюкозы на показатели вариабельности сердечного ритма и содержание глюкозы в крови у группы контрольных крыс (M ± m)

Показатель	Введение инсулина, мин				Введение глюкозы, мин	
	через 15	через 60	через 90	через 120 (кома)	через 15	через 60
Исходное состояние						
Min, мс	117.7 ± 1.14	154.3 ± 3.86***	176.3 ± 5.57***	193.5 ± 5.73***	153.6 ± 3.77***##	146.3 ± 3.37***##
Mx, мс	143.5 ± 1.86	191.0 ± 5.7***	229.9 ± 6.31***	260.5 ± 9.13***	177.7 ± 7.94***##	169.8 ± 4.40***##
RRNN, мс	129.6 ± 1.14	171.2 ± 4.37***	198.9 ± 5.68***	222.3 ± 6.15***	163.4 ± 5.02***##	155.9 ± 3.11***##
ЧСС, уд/мин	464 ± 4.0	356 ± 8.9***	306 ± 9.1***	275 ± 8.0***	373 ± 9.3***##	388 ± 7.8***##
SDNN, мс	4.47 ± 0.443	5.99 ± 0.609*	7.24 ± 0.423***	10.20 ± 0.925***	3.67 ± 0.727##	3.48 ± 0.572##
CV, %	3.42 ± 0.321	3.47 ± 0.341	3.67 ± 0.212	4.53 ± 0.367*	2.11 ± 0.344***	2.21 ± 0.339##
RMSSD, мс	2.86 ± 0.228	4.89 ± 0.506***	6.56 ± 0.668***	9.84 ± 1.062***	3.92 ± 0.796##	3.01 ± 0.399##
MxDMn, мс	26.0 ± 2.11	36.9 ± 3.56**	46.9 ± 2.69***	62.8 ± 4.78***	24.3 ± 5.02##	23.6 ± 3.69##
Mo, мс	128.5 ± 1.29	172.0 ± 4.45***	198.3 ± 5.65***	220.3 ± 6.19***	163.1 ± 5.05***##	155.2 ± 2.99***##
AMo, %	25.1 ± 1.95	22.6 ± 2.92	13.7 ± 0.95***	12.2 ± 1.28***	36.3 ± 3.64***##	33.6 ± 3.51***##
SI, усл./ед.	5928 ± 913.9	3348 ± 1166	835.8 ± 104.64***	739.4 ± 227.25***	9746 ± 1728***##	7892 ± 1611##
ELISq, мс <sup>2</sup>	417.2 ± 76.36	894.3 ± 167.24**	1257 ± 184.2***	2849 ± 498.6***	602.2 ± 251.54##	318.7 ± 79.72##
ELAS, %	40.4 ± 2.78	48.9 ± 3.66	50.9 ± 3.53*	56.6 ± 3.19***	67.6 ± 3.98***##	53.5 ± 4.56*
LF, мс <sup>2</sup>	3.29 ± 0.733	4.83 ± 1.310	8.30 ± 0.857***	18.88 ± 4.432***	4.07 ± 1.710##	3.21 ± 1.507##
HF, мс <sup>2</sup>	1.03 ± 0.179	1.94 ± 0.519*	4.36 ± 0.842***	9.56 ± 1.958***	1.90 ± 0.746##	0.84 ± 0.168##
TP, мс <sup>2</sup>	4.32 ± 0.880	6.77 ± 1.645	12.66 ± 1.589***	28.44 ± 5.701***	5.97 ± 2.347##	4.05 ± 1.604##
LF, %	67.8 ± 2.59	64.2 ± 4.22	68.1 ± 2.41	63.0 ± 2.69	49.6 ± 4.65***##	62.9 ± 4.28
HF, %	32.2 ± 2.59	34.4 ± 2.89	31.9 ± 2.41	37.0 ± 2.69	50.4 ± 4.65***##	37.1 ± 4.28
LF/HF, усл. ед.	3.03 ± 0.335	2.46 ± 0.331	2.60 ± 0.420	2.12 ± 0.293	1.86 ± 0.533*	2.92 ± 0.794
Концентрация глюкозы в крови, ммоль/л	5.6 ± 0.4	1.9 ± 0.1***	1.4 ± 0.1***	1.0 ± 0.3***	2.1 ± 0.1***##	2.7 ± 0.1***##

Примечание (здесь и в табл. 2). \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*  $p < 0.05$  — по сравнению с исходным состоянием; ##  $p < 0.001$ , #  $p < 0.01$ , #  $p < 0.05$  — по сравнению с комой.

( $p < 0.01$ ), LF ( $p < 0.05$ ), HF ( $p < 0.001$ ) и TP ( $p < 0.05$ ) раза, а ЧСС уменьшилась в 1.3 раза ( $p < 0.001$ ) (табл. 1).

Дальнейшее снижение количества глюкозы в крови у контрольных животных (в 3.9 раза от исходного,  $p < 0.001$ ) через 1.5 ч после инъекции инсулина привело к еще большим и статистически значимым изменениям практически всех показателей ВСР (табл. 1). Максимальные изменения сердечного ритма зафиксированы в состоянии гипогликемической комы (содержание глюкозы в крови около 1.0 ммоль/л). По сравнению с исходной значимо увеличивалась величина таких показателей ВСР, как Mn, Mx, RRNN, SDNN, CV, RMSSD, MxDMn, Mo, EllSq, EllSa, LF, HF, TP, показатели ЧСС, AMo и SI уменьшались ( $p < 0.05$ ) (табл. 1).

После купирования гипогликемической комы через 15 мин уровень глюкозы в крови в группе контрольных животных увеличивался в 2.0 раза по сравнению с состоянием комы, что приводило к значимому изменению практически всех показателей сердечного ритма (табл. 1). По сравнению с состоянием комы такие показатели ВСР, как Mn, Mx, RRNN, SDNN, CV, RMSSD, MxDMn, Mo, EllSq, LF, HF, TP, LF %, значительно уменьшились, а ЧСС, AMo, SI, EllSa, HF % увеличились (во всех случаях  $p < 0.05$ ). При этом SDNN, RMSSD, MxDMn, EllSq, LF, HF и TP значимо не отличались от исходных, а индекс вагосимпатического взаимодействия (LF/HF) уменьшился в 1.6 раза по сравнению с исходным ( $p < 0.05$ ).

Через 1 ч после купирования комы глюкозой у контрольных животных происходило дальнейшее повышение уровня гликемии и восстановление сердечного ритма, но многие показатели ВСР отличались от исходных значений и от величин в состоянии комы (табл. 1). Так, по сравнению с комой наблюдалось уменьшение таких показателей ВСР, как Mn, Mx, RRNN, SDNN, CV, RMSSD, MxDMn, Mo, EllSq, LF, HF и TP (во всех случаях  $p < 0.01$ ), а ЧСС, AMo и SI значительно увеличивались (во всех случаях  $p < 0.001$ ). По сравнению с исходным состоянием полностью восстанавливалась величина таких показателей, как SDNN, RMSSD, MxDMn, SI, EllSq, LF, HF, TP, LF %, HF %, LF/HF. Вместе с тем через 1 ч после купирования комы уровень глюкозы в крови полностью не нормализовался, и такие показатели ВСР, как Mn, Mx, RRNN, ЧСС, CV, Mo, AMo и EllAs, не достигали исходных значений.

У крыс с СД после введения инсулина через 15 мин уровень глюкозы снизился по сравнению с исходным в 1.7 раза ( $p < 0.01$ ), но это не привело к существенным изменениям показателей ВСР (табл. 2). Через 1 ч после инъекции инсулина содержание глюкозы в крови уменьшилось в 3.6 раза ( $p < 0.001$ ) по сравнению с исходным и возросли показатели Mn, Mx, RRNN и Mo (все в среднем в 1.2 раза), а ЧСС на столько же снизилась (во всех случаях  $p < 0.05$ ). Сходная картина наблюдалась и через 1.5 ч после введения инсулина: Mn, Mx, RRNN и Mo увеличились (во всех случаях  $p < 0.001$ ), а ЧСС уменьшилась в 1.3. раза ( $p < 0.001$ ). Уровень глюкозы еще больше снизился и был уже в 4.6 раза ( $p < 0.001$ ) меньше исходных значений.

Через 2 ч после введения инсулина (кома) у животных с СД содержание глюкозы в крови было в 5.0 раз ниже исходного уровня ( $p < 0.001$ ). При этом произошли изменения в большем количестве показателей ВСР (табл. 2): увеличились Mn, Mx, RRNN, SDNN, MxDMn, Mo, EllSq, LF и TP и уменьшилась ЧСС (во всех случаях  $p < 0.05$ ).

Через 15 мин после введения раствора глюкозы животным с СД, находящимся в коме, уровень гликемии увеличился по сравнению с комой в 1.6 раза ( $p < 0.05$ ), но все еще был значимо меньшим (в 3.1 раза,  $p < 0.001$ ) по сравнению с исходной величиной (табл. 2). При этом по сравнению с исходным состоянием оставались увеличенными такие показатели сердечного ритма, как Mn, Mx, RRNN и Mo, а ЧСС была в 1.2 раза снижена (во всех случаях  $p < 0.05$ ); возросли AMo и EllAs (в обоих случаях  $p < 0.05$ ), а уменьшились SDNN, CV, MxDMn, LF, TP (во всех случаях  $p < 0.05$ ). По сравнению с состоянием комы произошло уве-

## Т а б л и ц а 2

Влияние введения инсулина и глюкозы на показатели вариабельности сердечного ритма и содержание глюкозы в крови у крыс с аллоксановым диабетом ( $M \pm m$ )

Показатель	Исходное состояние	Введение инсулина, мин				Введение глюкозы, мин	
		через 15	через 60	через 90	через 120 (кома)	через 15	через 60
Mn, мс	124.4 ± 5.75	132.6 ± 7.77	149.4 ± 7.37*	168.4 ± 7.92***	190.2 ± 11.20***	164.00 ± 10.64**	160.8 ± 10.36**
Mx, мс	147.3 ± 4.97	159.8 ± 5.82	174.3 ± 8.73*	201.1 ± 11.03***	256.2 ± 23.71***	175.1 ± 11.19**	175.4 ± 10.18**
RRNN, мс	135.7 ± 5.09	145.4 ± 6.33	159.6 ± 7.34*	181.1 ± 8.29***	218.7 ± 15.95***	169.9 ± 11.03**	168.1 ± 10.31**
ЧСС, уд/мин	446 ± 15.3	419 ± 17.19	382 ± 17.4*	337 ± 16.8***	288 ± 23.5***	364 ± 20.9***	367 ± 19.8**
SDNN, мс	4.31 ± 0.850	3.72 ± 0.655	3.85 ± 0.554	5.46 ± 0.901	10.58 ± 2.440*	1.73 ± 0.215***	2.07 ± 0.283***
CV, %	3.25 ± 0.679	2.638 ± 0.516	2.427 ± 0.332	2.938 ± 0.423	4.43 ± 0.892	1.02 ± 0.108***	1.27 ± 0.196***
RMSSD, мс	4.55 ± 1.734	3.66 ± 1.013	2.91 ± 0.374	4.37 ± 0.636	9.88 ± 2.569	2.03 ± 0.316**	2.06 ± 0.244**
MxDMn, мс	22.8 ± 3.07	27.3 ± 5.77	24.7 ± 3.67	32.7 ± 4.61	52.9 ± 9.92*	11.3 ± 1.29***	14.7 ± 2.00**
Mo, мс	137.3 ± 5.19	145.4 ± 6.29	158.8 ± 7.03*	179.9 ± 8.08***	215.7 ± 14.82***	170.1 ± 11.22**	168.1 ± 10.25**
AMo, %	24.6 ± 5.04	28.9 ± 3.36	27.9 ± 4.16	20.9 ± 4.66	19.4 ± 6.65	47.1 ± 5.64**	42.4 ± 4.57**
SI, усл./ед.	5344 ± 1924	5543 ± 1391	5178 ± 1460	3448 ± 1594	4051 ± 2451	18522 ± 6895	12137 ± 3574
EHSq, мс <sup>2</sup>	540.9 ± 266.81	426.3 ± 190.18	329.4 ± 80.88	691.2 ± 168.17	3577 ± 1290.7*	79.8 ± 15.15#	117.2 ± 28.98#
EHS, %	47.0 ± 3.60	52.1 ± 6.56	45.3 ± 6.91	48.5 ± 6.30	57.9 ± 6.73	64.6 ± 5.75*	63.1 ± 6.32*
LF, мс <sup>2</sup>	1.85 ± 0.421	2.19 ± 0.671	2.67 ± 0.825	6.40 ± 2.843	28.85 ± 11.580*	0.25 ± 0.096**	0.50 ± 0.143***
HF, мс <sup>2</sup>	1.79 ± 0.979	1.39 ± 0.694	0.82 ± 0.188	1.74 ± 0.394	9.32 ± 4.065	0.24 ± 0.052#	0.35 ± 0.077#
TP, мс <sup>2</sup>	3.64 ± 1.106	3.59 ± 1.275	3.49 ± 0.968	8.14 ± 2.916	38.16 ± 13.710*	0.48 ± 0.108**	0.85 ± 0.219**
LF, %	60.0 ± 6.97	68.1 ± 4.22	72.5 ± 3.79	67.6 ± 7.00	67.5 ± 6.23	46.0 ± 7.70#	52.8 ± 4.92
HF, %	40.0 ± 6.97	31.9 ± 4.22	27.5 ± 3.79	32.4 ± 7.00	32.5 ± 6.23	54.0 ± 7.70#	47.2 ± 4.92
LF/HF, усл. ед.	2.03 ± 0.504	2.67 ± 0.573	3.39 ± 0.741	4.23 ± 1.569	3.46 ± 0.941	1.48 ± 0.582	1.27 ± 0.182#
Концентрация глюкозы в крови, ммоль/л	11.6 ± 1.4	6.8 ± 0.8**	3.2 ± 0.3***	2.5 ± 0.3***	2.3 ± 0.2***	3.7 ± 0.5***	13.6 ± 1.9###

личение ЧСС, АМо и HF % и уменьшение Mn, Mx, RRNN, SDNN, CV, RMSSD, MxDMn, Mo, EllSq, LF, HF, TP и LF % (во всех случаях  $p < 0.05$ ).

Через 1 ч после введения глюкозы животным с СД ее содержание в крови достигло исходного уровня, а по сравнению с состоянием комы увеличилось в 5.9 раза (табл. 2). При этом большинство показателей ВСР не вернулось к исходному уровню. Имелась только тенденция к их восстановлению. По сравнению с исходным оставались увеличенными Mn, Mx, RRNN, Mo, АМо и EllAs и сниженными — ЧСС, SDNN, CV, MxDMn, LF, TP (во всех случаях  $p < 0.05$ ). По сравнению с состоянием комы увеличились ЧСС и АМо и уменьшились Mx, RRNN, SDNN, CV, RMSSD, MxDMn, Mo, EllSq, LF, HF, TP и LF/HF (во всех случаях  $p < 0.05$ ).

Отличия в показателях ВСР между животными контрольной группы и крысами с СД в исходном состоянии наблюдались только по показателю Mo, который у крыс с СД был в 1.1 раза больше ( $p < 0.05$ ), (табл. 1, 2). Через 15 мин после инъекции инсулина значимых различий в показателях ВСР у животных контрольной группы и крыс с СД не обнаруживалось, но через 1 ч после введения препарата группе контрольных животных величина SDNN, RMSSD, EllSq и HF была больше по сравнению с крысами с СД (во всех случаях  $p < 0.05$ ). Через 1.5 ч после инъекции инсулина у крыс группы контроля величина RMSSD, MxDMn и HF была больше, чем у крыс с СД ( $p < 0.05$ ), а АМо и SI — меньше ( $p < 0.05$ ). В состоянии комы у группы контрольных животных SI был меньше, чем у крыс с СД ( $p < 0.05$ ). После введения глюкозы животным, находящимся в коме, через 15 и 60 мин абсолютные значения показателей ВСР между группами значимо не различались.

Необходимо отметить, что исходный уровень глюкозы у крыс с СД был в 2.1 раза выше ( $p < 0.001$ ) (табл. 1, 2), чем у животных контрольной группы, и оставался более высоким в ходе всего эксперимента: через 15 мин после введения инсулина, через 1 и 1.5 ч в состоянии комы — в 2.2 раза, через 15 мин после купирования комы глюкозой — в 1.8 раза, через 1 ч — в 5.1 раза (во всех случаях  $p < 0.05$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Введение инсулина группе контрольных животных приводит к уменьшению уровня глюкозы в крови. По мере снижения гликемии происходят изменения показателей статистического (Mn, Mx, RRNN, ЧСС, SDNN, CV, RMSSD), геометрического анализ (MxDMn, Mo, АМо, SI) и показателей корреляционной ритмографии (EllSq, EllAs), которые свидетельствуют о возрастании тонуса парасимпатического отдела автономной нервной системы (АНС) [1]. При уровне гликемии около 1.0 ммоль/л (гипогликемическая кома) существенно увеличивались показатели спектрального анализа, такие как LF, HF и TP, но индекс вагосимпатического взаимодействия оставался практически неизменным (табл. 1). Рост мощностей волн LF, HF и общей мощности спектра (TP) свидетельствует о повышении не только активности симпатoadреналовой системы (LF), но и парасимпатического отдела АНС (HF).

После купирования комы глюкозой в группе контрольных крыс уже через 15 мин восстанавливались до исходного уровня показатели SDNN, RMSSD, MxDMn, EllSq, LF, HF и TP. При этом часть показателей спектрального анализа LF % (снижение), HF % (возрастание) и LF/HF (снижение) стали значимо отличаться от исходных величин (табл. 1). Такие изменения указывают на увеличение активности парасимпатического отдела АНС [1]. Остальные показатели ВСР значимо отличались от показателей ВСР у животных в состоянии комы, но не возвращались к исходному уровню, что также свидетельствует о преобладании тонуса парасимпатической АНС.

Через 1 ч после введения глюкозы у животных не происходило полного восстановления сердечного ритма. Показатели статистического анализа (Mn, Mx,

RRNN, ЧСС), геометрического анализа (Mo, AMo) и корреляционной ритмографии (EIIAs) значимо отличались от таковых у крыс в исходном состоянии. Характер изменений указывает на сохраняющееся преобладание тонуса парасимпатического отдела АНС и постепенное повышение активности симпатoadреналовой системы. При этом показатели спектрального анализа восстановились полностью.

Таким образом, по мере снижения уровня глюкозы в крови вплоть до развития гипогликемической комы у животных контрольной группы в большей степени увеличивается тонус парасимпатического отдела АНС и в меньшей степени — активность симпатoadреналовой системы. В течение часа после купирования комы глюкозой тонус парасимпатического отдела АНС остается повышенным.

Увеличение тонуса симпатического отдела АНС при гипогликемии хорошо известно, и интенсивно исследуется вопрос о причинах снижения симпатoadреналового ответа при повторных эпизодах гипогликемии [2, 14]. В проведенном исследовании получены данные об увеличении влияний на ритм сердца парасимпатического отдела АНС (блуждающего нерва) при инсулиновой гипогликемии. Инсулин сам по себе не влияет на нейроэндокринный ответ при гипогликемии [16], он способен активировать симпатический отдел АНС в условиях эугликемии [25] и снижать влияние блуждающего нерва на сердце [10]. Таким образом, обнаруживаемые при инсулиновой гипогликемии изменения связаны собственно с гипогликемией. Результаты исследований влияния парасимпатической нервной системы на сердце при гипогликемии весьма противоречивы. Находили увеличение влияния блуждающего нерва на сердце при гипогликемии [24], снижение влияния [19] или отсутствие эффекта [20]. В проведенном исследовании увеличение тонуса блуждающего нерва по мере углубления гипогликемии может быть связано с тем, что эксперименты проводились в состоянии иммобилизационного стресса с исходно высоким тонусом симпатической АНС, и уровень глюкозы был не фиксирован, а постоянно снижался в течение двух часов. Известно, что при увеличении продолжительности гипогликемии тонус блуждающего нерва увеличивается [13]. Результаты настоящего исследования подтверждают предположение о том, что в регуляции тонуса ядер блуждающего нерва имеют значение глюкозочувствительные нейроны широко распространены в центральной нервной системе, включая ядра блуждающего нерва, и на периферии [11].

Уровень глюкозы в крови животных 2-й группы в исходном состоянии свидетельствует о развитии у них сахарного диабета (табл. 2). Изменения содержания глюкозы в крови крыс с СД в ходе эксперимента повторяли таковые у группы контрольных крыс, но уровень гликемии в контрольных точках у крыс с СД всегда был значимо выше. Это может быть связано с меньшей реакцией тканей на инсулин у животных с аллоксановым диабетом: аллоксан не только повреждает бета-клетки поджелудочной железы, но и вызывает инсулинорезистентность [9].

Животные с СД в исходном состоянии (через 15 суток после введения аллоксана) имели меньшую частоту сердечных сокращений (табл. 2). Брадикардию у крыс в ранние сроки развития экспериментального СД наблюдали и другие исследователи — для повреждения блуждающего нерва необходима большая продолжительность (6—12 месяцев) СД [23].

Животные с СД изначально по сравнению с контрольными крысами обладали большей ВСР (о чем свидетельствует большая ошибка средней арифметической, табл. 2), что может быть связано с разной степенью адаптации животных к возникшей патологии. Динамика показателей ВСР у крыс с СД по мере снижения уровня глюкозы в крови имели сходный характер с изменениями у контрольных животных. Согласно данным литературы, у пациентов с СД и здоровых лиц изменения показателей ВСР при гипогликемии также могут иметь сходный характер [21]. По мере усугубления гипогликемии у крыс с СД повышалась активность



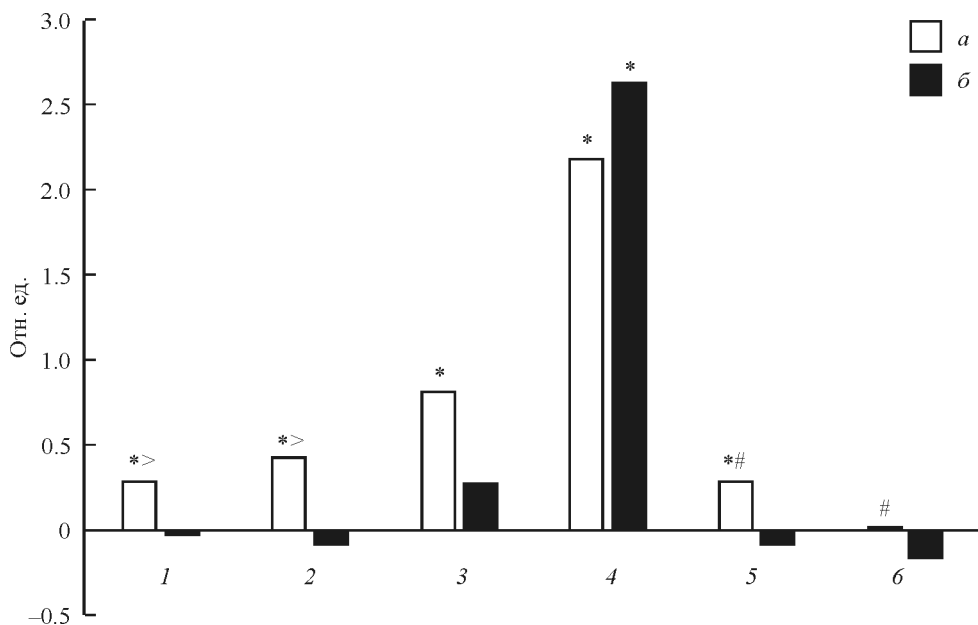
парасимпатического отдела АНС, но об этом свидетельствовало уже меньшее число показателей ВСР (Mn, Mx, RRNN, ЧСС, SDNN, Mo, EllSq). У крыс с СД, как и у животных контрольной группы в состоянии комы, произошел рост показателей спектрального анализа (LF, HF, TP). При этом у животных с СД наблюдалось значимое увеличение только мощности медленных волн (LF) и соответственно общей мощности спектра (TP), тогда как в группе контрольных животных однонаправленно увеличивались все три показателя спектрального анализа. Увеличение мощности волн LF свидетельствует о возрастании активности симпатoadреналовой системы [1], т. е. в этом случае динамика показателей спектрального анализа не согласуется с выводами других методов анализа ВСР — временной, геометрической анализ и корреляционная ритмография свидетельствуют о возрастании тонуса парасимпатического отдела АНС. Аналогичная картина наблюдалась при изучении ВСР у иммобилизованных крыс при введении им  $\beta$ -адреноблокаторов, ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента и блокаторов кальциевых каналов [6–8]. Было высказано предположение, что в показателе LF заключена не только активность симпатического отдела АНС, но и вышележащих структур — гипоталамуса и коры головного мозга [6]. Известно, что афферентная информация от сердца поступает в соматосенсорные зоны коры больших полушарий [5] и кора головного мозга может включаться в управление сердечной деятельностью при психоэмоциональном стрессе, который возникает во время иммобилизации животного.

Основные отличия в показателях ВСР в группе контрольных животных и крыс с СД в ходе развития гипогликемии обнаруживаются через 1 ч после введения инсулина (по показателям SDNN, RMSSD, EllSq, HF) и 1.5 ч (по показателям RMSSD, MxDm, HF). Эти показатели были значимо выше у крыс контрольной группы, что свидетельствует о большем преобладании у них тонуса парасимпатического отдела АНС. В состоянии комы, а также после введения глюкозы значимых различий в показателях ВСР у крыс 1-й и 2-й групп не выявлено.

Показатель ССВ у животных контрольной группы значимо увеличивался уже через 15 мин после введения инсулина, затем по мере развития гипогликемии продолжал расти и достигал максимума в состоянии гипогликемической комы ( $2.19 \pm 0.87$  отн. ед.) (см. рисунок, а). Такие изменения ССВ свидетельствуют о преобладании активности парасимпатического отдела АНС [7]. После купирования комы глюкозой через 15 мин величина ССВ снижалась, но оставалась выше исходного уровня и к 60-й минуте происходило практически полное восстановление этого показателя.

У крыс с СД показатель ССВ при развитии гипогликемии также увеличивался. Однако в отличие от группы контрольных животных возрастание ССВ у крыс с СД происходило медленнее, и значимые различия с исходной величиной показателя достигались лишь при развитии комы, когда он составлял  $2.64 \pm 1.32$  отн. ед. (см. рисунок, б). Следовательно, даже при выраженной гипогликемии через 60 и 90 мин после введения инсулина (соответственно  $3.2 \pm 0.3$   $2.5 \pm 0.3$  ммоль/л) ССВ практически не реагировал на изменение уровня сахара в крови, в то время как у животных в группе контроля его значимое увеличение свидетельствует о существенной активации парасимпатических влияний в ответ на гипогликемию. Вместе с тем у крыс с СД отмечалась более выраженная, чем в группе контрольных животных, реакция ССВ на введение глюкозы. Величина ССВ в данном случае резко падала к исходному значению уже через 15 мин после купирования комы, тогда как у контрольных крыс для нормализации ССВ требовалось 60 мин.

В целом данные изменения свидетельствуют о нарушенной при СД автономной регуляции сердца в ответ на колебания гликемии, по-видимому, вследствие нарушения чувствительности центральных и периферических структур АНС к глюкозе. Динамика интегрального показателя ССВ и отдельных его составляющих у крыс с СД может отражать начальные этапы развития диабетической авто-



Изменения показателя суммарной степени воздействия (ССВ) на сердечный ритм у контрольных (а) животных и крыс с аллоксановым диабетом (б) после введения инсулина и последующего купирования комы глюкозой.

1 — через 15 мин, 2 — через 60, 3 — через 90 и 4 — через 120 мин (кома) после введения инсулина; 5 — через 15 и 6 — через 60 мин после введения глюкозы. \*  $p < 0.05$  — по сравнению с исходным состоянием; #  $p < 0.05$  — по сравнению с комой; >  $p < 0.05$  — между контрольными животными и крысами с аллоксановым диабетом.

номной кардиальной нейропатии, феномен которой широко обсуждается в клинике [12, 14, 17].

Связь между величиной показателя ССВ и уровнем глюкозы в крови обнаруживается в ходе всего эксперимента. Коэффициент корреляции Спирмена у контрольных животных составлял  $-0.94$  ( $p < 0.05$ ), а у крыс с СД —  $-0.81$  ( $p < 0.05$ ), что указывает на сильную обратную зависимость. Наличие отрицательной корреляции (в основном средней или слабой) между показателями ВСР и гликемией было показано и у пациентов с СД. Такая связь обнаруживается между содержанием глюкозы в крови и мощностью HF [23], мощностью LF и HF [17], суммарной мощностью спектра ТР [18].

Концентрация глюкозы в крови крыс с СД на протяжении всего опыта была выше, чем в группе контрольных животных. В частности, уровень гликемии через 2 ч после введения глюкозы у крыс с СД был в 2 раза выше, чем у животных контрольной группы. При этом ЧСС у животных обеих групп снижалась одинаково. Следовательно, у крыс с СД изменения показателей ВСР, связанные с гипогликемией, происходили при больших концентрациях глюкозы в крови, что также может свидетельствовать об изменении чувствительности глюкосенсорных систем. Кроме того, излишнее компенсаторное увеличение тонуса блуждающего нерва при гипогликемии может объяснять брадикардию и связанные с ней аритмии у пациентов с СД [12, 13].

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о существовании значимой зависимости показателей ВСР от уровня глюкозы в крови. Гипогликемия у крыс приводит к увеличению тонуса АНС, прежде всего ее парасимпатического отдела, и в меньшей степени — симпатического. Качественно схожие изменения в регуляции сердечного ритма на фоне гипогликемии наблюдаются в

группе контрольных животных и у крыс с СД. Однако у животных с СД активация парасимпатической АНС происходит медленнее и требует более выраженно-го снижения уровня глюкозы в крови, что свидетельствует о нарушенной автономной регуляции сердца. Гиперактивация парасимпатического отдела АНС при гипогликемии обуславливает брадикардию и может быть причиной связанных с ней аритмий, наблюдаемых в клинике.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] *Баевский Р. М.* Анализ variability сердечного ритма в космической медицине. Физиология человека. 28 (2) : 70—82. 2002.
- [2] *Дедов И. И., Шестакова М. В.* Сахарный диабет: острые и хронические осложнения. М. Медицинское информационное агентство. 2011.
- [3] *Медведева Н. Б., Телушкин П. К., Стельмах А. Ю.* Показатели азотистого обмена при инсулиновой гипогликемии у крыс с аллоксановым диабетом. Бюл. эксперим. биологии и медицины. 146 (8) : 168—170. 2008.
- [4] *Меньшиков В. В., Делекторская Л. Н., Золотницкая Р. П.* Лабораторные методы исследования в клинике. М. Медицина. 1987.
- [5] *Ноздрачев А. Д., Фатеев М. М.* Звездчатый ганглий. Структура и функции. СПб. Наука. 2002.
- [6] *Сальников Е. В., Фатеев М. М., Сидоров А. В., Федоров В. Н., Григорьева М. В.* Variability сердечного ритма у бодрствующих и наркотизированных крыс при воздействии  $\beta$ -адреноблокаторов. Бюл. эксперим. биологии и медицины. 144 (10) : 372—375. 2007.
- [7] *Сальников Е. В., Кузьмин Ф. А., Фатеев М. М., Богатушин А. В.* Показатель суммарной степени воздействия на сердечный ритм в оценке вегетативного статуса организма при изменении активности медленных кальциевых каналов L-типа у крыс, находящихся в различных состояниях. Вестн. КГУ им. Н. А. Некрасова. 18 (4) : 4—7. 2012.
- [8] *Фатеев М. М., Сидоров А. В., Григорьева М. В., Раков А. А., Фатеева К. М.* Variability сердечного ритма у бодрствующих и наркотизированных крыс при воздействии ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента. Бюл. эксперим. биологии и медицины. 152 (11) : 521—525. 2011.
- [9] *Ader M., Richey J. M., Bergman R. N.* Evidence for direct action of alloxan to induce insulin resistance at the cellular level. Diabetologia. 41 (11) : 1327—1336. 1998.
- [10] *Bellavere F., Cacciatori V., Moghetti P., Gemma M. L., Deller A., Tosi F., Negri C., Thomaseth K., Muggeo M.* Acute effect of insulin on autonomic regulation of the cardiovascular system: a study by heart rate spectral analysis. Diabet. Med. 13 (8) : 709—714. 1996.
- [11] *Bohland M., Matveyenko A. V., Saberi M., Khan A. M., Watts A. G., Donovan C. M.* Activation of hindbrain neurons is mediated by portal-mesenteric vein glucosensors during slow-onset hypoglycemia. Diabetes. 63 (8) : 2866—2875. 2014.
- [12] *Chow E., Bernjak A., Williams S., Fawdry R. A., Hibbert S., Freeman J., Sheridan P. J., Heller S. R.* Risk of cardiac arrhythmias during hypoglycemia in patients with type 2 diabetes and cardiovascular risk. Diabetes. 63 (5) : 1738—1747. 2014.
- [13] *Chow E., Bernjak A., Walkinshaw E., Lubina-Solomon A., Freeman J., Macdonald I. A., Sheridan P. J., Heller S. R.* Cardiac autonomic regulation and repolarization during acute experimental hypoglycemia in type 2 diabetes. Diabetes. 66(5): 1322—1333. 2017.
- [14] *Cryer P. E.* Mechanisms of hypoglycemia-associated autonomic failure in diabetes. N. Engl. J. Med. 369 (4) : 362—372. 2013.
- [15] *do Carmo J. M., Hall J. E., da Silva A. A.* Chronic central leptin infusion restores cardiac sympathetic-vagal balance and baroreflex sensitivity in diabetic rats. Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 295 (5) : 1974—1981. 2008.
- [16] *Galassetti P., Davis S. N.* Effects of insulin per se on neuroendocrine and metabolic counter-regulatory responses to hypoglycaemia. Clin. Sci. 99 (5) : 351—362. 2000.
- [17] *Jaiswal M., McKeon K., Comment N., Henderson J., Swanson S., Plunkett C., Nelson P., Pop-Busui R.* Association between impaired cardiovascular autonomic function and hypoglycemia in patients with type 1 diabetes. Diabetes Care. 37 (9) : 2616—2621. 2014.

- [18] Kalopita S., Liatis S., Thomakos P., Vlahodimitris I., Stathi C., Katsilambros N., Tentolouris N., Makrilakis K. Relationship between autonomic nervous system function and continuous interstitial glucose measurement in patients with type 2 diabetes. *J. Diabetes Res.* 2014 : 1—6. 2014.
- [19] Koivikko M. L., Salmela P. I., Airaksinen K. E. J., Tapanainen J. S., Ruokonen A., Makkilä T. H., Huikuri H. V. Effects of sustained insulin-included hypoglycemia on cardiovascular autonomic regulation in type 1 diabetes. *Diabetes.* 54 (3) : 744—750. 2005.
- [20] Laitinen T., Huopio H., Vauhkonen I., Camaro C., Hartikainen J., Laakso M., Niskanen L. Effects of euglycemia and hypoglycemic hyperinsulinaemia on sympathetic and parasympathetic regulation of haemodynamics in healthy subjects. *Clin. Sci. Lond.* 105 (3) : 315—322. 2003.
- [21] Limberg J. K., Farni K. E., Taylor J. L., Dube S., Basu A., Basu R., Wehrwein E. A., Joyner M. J. Autonomic control during acute hypoglycemia in type 1 diabetes mellitus. *Clin. Auton. Res.* 24 (6) : 275—283. 2014.
- [22] Limberg J. K., Dube S., Kuijpers M., Farni K. E., Basu A., Rizza R. A., Curry T. B., Basu R., Joyner M. J. Effect of hypoxia on heart rate variability and baroreflex sensitivity during hypoglycemia in type 1 diabetes mellitus. *Clin. Auton. Res.* 25 (4) : 243—250. 2015.
- [23] Rothberg L. J., Lees T., Clifton-Bligh R., Lal S. Association between heart rate variability measures and blood glucose levels: implications for noninvasive glucose monitoring for diabetes. *Diabetes Technol. Ther.* 18 (6) : 366—376. 2016.
- [24] Schächinger H., Port J., Brody S., Keller U. Increased high-frequency heart rate variability during insulin-induced hypoglycemia in healthy humans. *Clin. Sci. Lond.* 106 (6) : 583—588. 2004.
- [25] Tack C. J., Lenders J. W., Willemsen J. J., van Druten J. A., Thien T., Lutterman J. A., Smits P. Insulin stimulates epinephrine release under euglycemic conditions in humans. *Metab. Clin. Exp.* 47 (3) : 243—249. 1998.

Поступила 21 X 2017  
После доработки 10 XI 2017