

3. *Михайлов В.М.* Вариабельность ритма сердца: опыт практического применения. - Иваново: Ивановская ГМА. 2002. 290 с.
4. *Шустов Е.Б., Капанадзе Г.Д., Каркищенко В.Н., Ревякин А.О., Станкова Н.В., Ким А.Е.* Изменение параметров сердечной деятельности по данным ЭКГ у мини-свиней в условиях стресс-индуцированной тахикардии // Биомедицина. 2013. № 4. С. 126-133.
5. *Шустов Е.Б., Филатов Н.А., Филатов В.Н.* Математические методы анализа variability сердечного ритма и возможность их применения для оценки функционального состояния специалистов авиакосмического профиля // Вестник образования и развития науки РАЕН. 2006. № 1. С. 10-28.

Features vegetative regulation of cardiac activity in mini-pigs

Е.В. Shustov, G.D. Kapanadze, V.N. Karkischenko, N.V. Stankova, А.Е. Kim, S.G. Poleschuk

The study of the basic parameters of rhythmographic research mini-pigs cardiac under normal conditions of stay in the vivarium conditions and stress-induced tachycardia exercise and its mathematical analysis, and the use of indirect anticholinergic and cholinomimetic galantamine metatsina. It is shown that the autonomic regulation of the heart during stress-induced tachycardia and pharmacologic effects not fundamentally different from similar adjustment in people that allows us to consider a mini-pigs adequate biological model to assess the effects of pharmacological agents on the autonomic nervous system during various modeling studies of short-term pathological processes.

Key words: ECG, mini-pigs, stress-induced tachycardia, biological models, rhythmogram, spectrogram, scaterogram, vegetative regulation.

Особенности вегетативной регуляции сердечной деятельности у мини-свиней

Е.Б. Шустов, Г.Д. Капанадзе, В.Н. Каркищенко, Н.В. Станкова,
А.Е. Ким, С.Г. Полещук

ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», Московская область

Контактная информация: д.м.н., проф. Шустов Евгений Борисович, shustov-msk@mail.ru

Проведено изучение основных параметров ритмографического исследования сердечной деятельности мини-свиней в обычных условиях пребывания в виварии и в условиях стресс-индуцированной тахикардии физической нагрузки и его математического анализа, а также применения непрямого холиномиметика галантамина и холинолитика метацина. Показано, что вегетативная регуляция работы сердца в условиях стресс-индуцированной тахикардии и фармакологического воздействия принципиально не отличается от аналогичной перестройки у людей, что позволяет считать мини-свиней адекватной биологической моделью для оценки влияния фармакологических средств на вегетативную нервную систему при проведении различных модельных исследований кратковременных патологических процессов.

Ключевые слова: ЭКГ, мини-свиньи, стресс-индуцированная тахикардия, биологические модели, ритмограмма, спектрограмма, скаттерграмма, вегетативная регуляция.

В ходе ранее выполненных исследований [4] мы обратили внимание, что, во-первых, в состоянии относительного покоя ЭКГ мини-свиней демонстрирует преобладание парасимпатической системы (по влиянию на водители ритма и проводящую систему сердца) и, во-вторых, адекватно реагирует на стрессовую симпатическую стимуляцию сердечной деятельности. Возникло предположение, что механизмы вегетативной регуляции сердечной деятельности у мини-свиней могут быть близкими к таковым у человека, и, следовательно, мини-свиньи могут выступать в качестве адекватной биологической модели для исследования вегетотропных фармакологических средств.

Для человека одним из основных методов детального изучения вегетативной регуляции деятельности сердца

является вариационное ритмографическое исследование с последующей математической обработкой (спектральный анализ ритма сердца методом Фурье-преобразований, анализ временных последовательностей по методологии управляемого хаоса и т.д.) [1-3, 5]. Однако на мини-свиньях особенности их вегетативной регуляции практически не изучены, а методика вариационной ритмографии ранее не применялась.

Материалы и методы

Исследование было проведено в ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России» в соответствии с нормативной документацией. Протокол исследования был рассмотрен и одобрен биоэтической комиссией Центра.

Эксперименты выполнялись на самцах лабораторных светлогорских мини-свиней в количестве 59 голов, масса животных перед началом эксперимента составляла $16,0 \pm 1,5$ кг. Животных содержали в соответствии с ГОСТ Р 53434-2009 от 02.12.2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP)». Животные содержались в стационарных клетках, индивидуально. В качестве подстилки использовали стерильные древесные опилки из хвойных пород деревьев. В качестве корма применялся стандартный комбикорм гранулированный полнорационный для свиней ПК 58. Водопроводная очищенная вода давалась в поилках *ad libitum*. Животные содержались в контролируемых условиях окружающей среды: температура воздуха 18-22 °С и относительная влажность воздуха 60-70%. Освещение в помещениях – естественно-искусственное, 12-часовой световой цикл.

ЭКГ у мини-свиней регистрировалось в отведениях от конечностей, так как из-за анатомических особенностей грудной клетки животных зарегистрировать у них ЭКГ в грудных отведениях практически невозможно (крайне низкий вольтаж зубцов). Для ритмографического исследования использован аппаратный комплекс «ВНС-Микро» производства компании Нейрософт (Россия, Иваново). Продолжительность непрерывной записи ЭКГ составляла не менее 5 мин.

В исследовании анализировались особенности ЭКГ 26 мини-свиней, записанных в положении стоя при обычном пребывании в манипуляционном блоке вивария. Для мини-свиней сама процедура перевода в манипуляционный блок и накладывание электродов является стрессом, поэтому записан-

ные ЭКГ не характеризуют состояние покоя у животных и не могут быть прямо экстраполированы на ЭКГ человека в состоянии покоя лежа, обычно используемые в клинической практике. Для человека в обычных условиях жизни и профессиональной деятельности также характерна определенная мобилизация регуляторных систем, в том числе и стресс-реализующих, поэтому фоновые (в обычных условиях) записи ЭКГ мини-свиней вполне могут быть соотнесены с характеристиками ЭКГ человека в процессе активного дневного бодрствования.

Результаты и их обсуждение

С учетом особенностей записи ЭКГ у мини-свиней (запись с конечностей в положении стоя при обычном пребывании), на ЭКГ в качестве артефактов часто фиксируются миограммы, связанные с шевелением животных, которые требуют исключения из дальнейшего компьютерного анализа. Использовать какие-либо приемы обездвиживания животных не представляется возможным, так как любые попытки ограничения для мини-свиней являются выраженными стрессорами, что находит свое отражение в картинах ЭКГ и ритмограммах.

Однако даже в комфортных для животных условиях отмечается выраженная нестабильность ритма сокращений сердца животных, что находит свое отражение в более заметной амплитуде колебаний на ритмограмме (рис. 1).

Однако достаточно часто даже в условиях комфорта у мини-свиней могут встречаться спонтанно возникающие эпизоды как тахикардии (рис. 2), так и брадикардии (рис. 3).

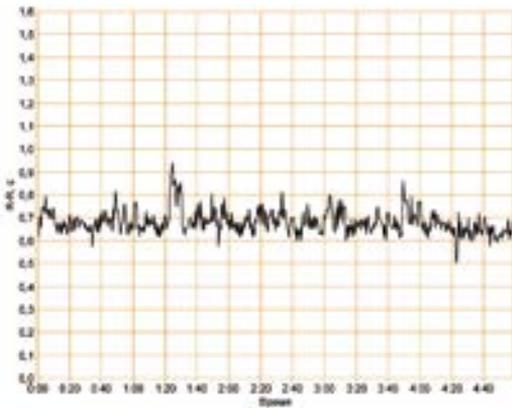


Рис. 1. Типичная ритмограмма мини-свиньи в состоянии комфорта.

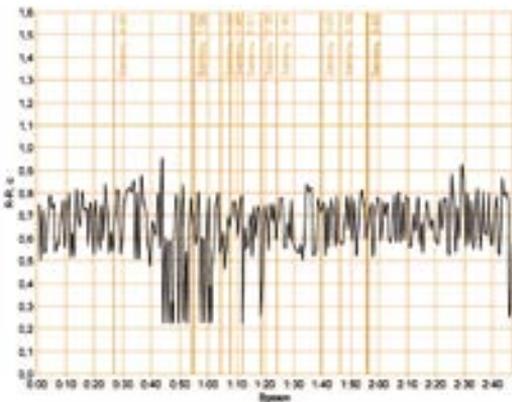


Рис. 2. Эпизоды спонтанной тахикардии у мини-свиней в комфортном состоянии. *Примечание:* на этой и других ритмограммах вертикальные полосы – зоны исключенных из анализа артефактов миограммы.

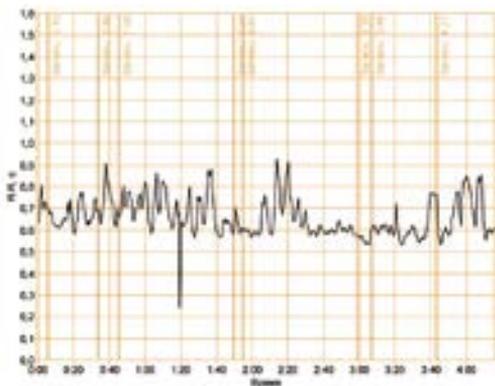


Рис. 3. Ритмограмма мини-свиньи в комфортном состоянии с эпизодами брадикардии.

Сопоставление ритмограмм у различных мини-свиней в состоянии комфорта позволило выделить среди них достаточно большую подгруппу (38% обследованных животных) мини-свиней с «расторможенной» вегетатикой, характеризующейся более высокой амплитудой разбросов на ритмограмме (рис. 4).

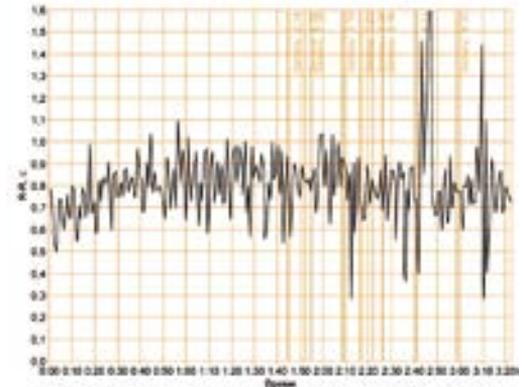


Рис. 4. Ритмограмма мини-свиньи с «расторможенной» вегетатикой.

Типичная спектрограмма регуляторных влияний на ритм сердца мини-свиней (рис. 5А) содержит те же диапазоны спектральных ритмов, что и спектрограмма человека в состоянии покоя (рис. 5Б). Так, отчетливо выделяются высокочастотные (HF) ритмы (частоты более 0,15 Гц), связанные с парасимпатическими влияниями; низкочастотные ритмы (LF) I (частоты от 0,06 до 0,14 Гц, связанные с постганглионарными симпатическими волокнами) и II поддиапазонов (частоты от 0,01 до 0,06 Гц, связанные с ритмами эндокринной регуляции и мозговым веществом надпочечников), и ультранизкочастотные (VLF) ритмы (диапазон от 0,0005 до 0,01 Гц), связанные с активностью диэнцефальных центров мозга.

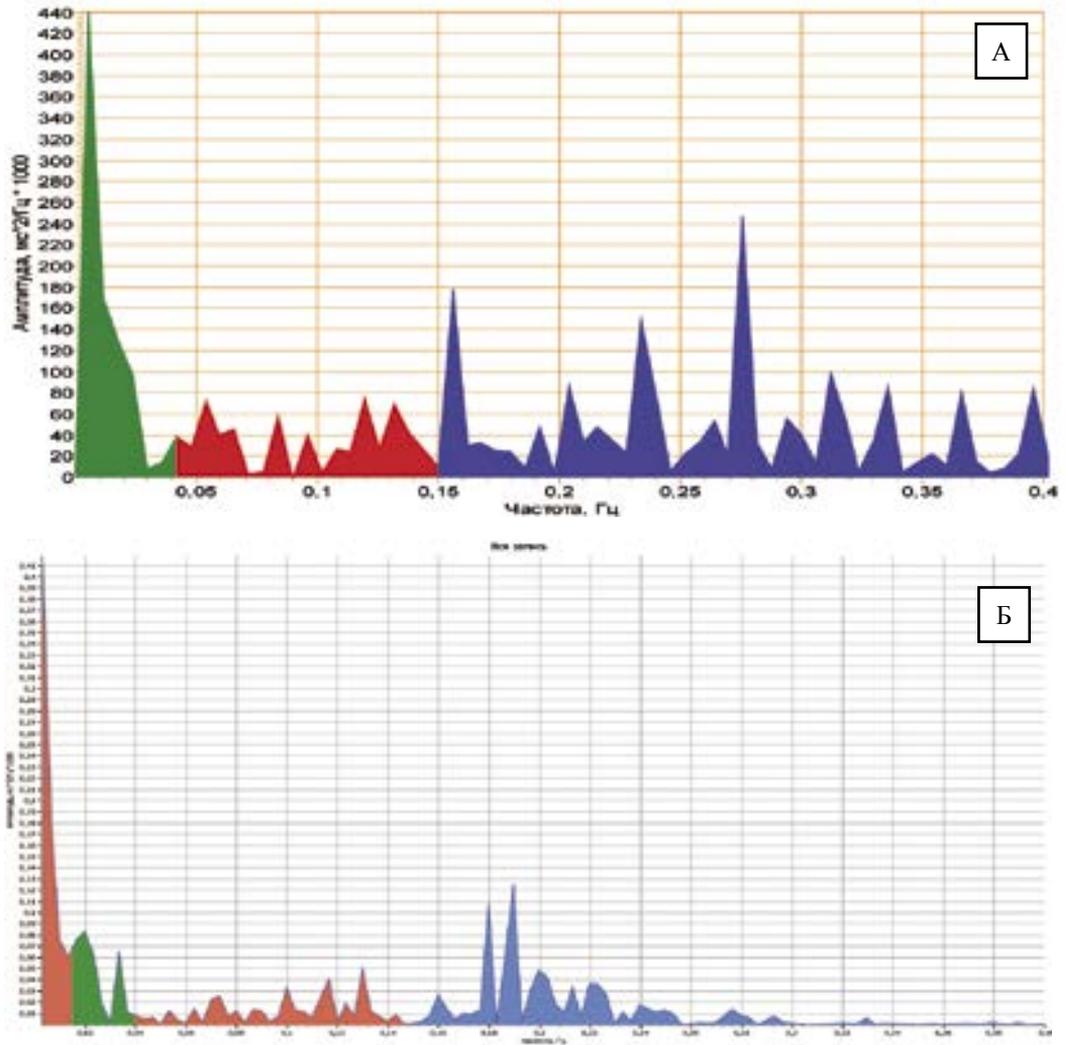


Рис. 5. Спектрограммы мини-свиньи (А) и человека (Б) в условиях относительного покоя и комфорта.

Скаттерграма, характеризующая напряженность механизмов регуляции с точки зрения методологии управляемого хаоса, для человека и мини-свиньи, находящихся в комфортных условиях относительного покоя, существенно отличаются (рис. 6).

Сопоставление скаттерграмм позволяет сделать вывод, что у мини-свиней система вегетативной регуляции сердеч-

ного ритма находится в неустойчивом, не сформированном, хаотичном состоянии.

С целью дальнейшего анализа роли различных уровней вегетативной регуляции в регуляции variability ритма сердца мини-свиньи мы «выключили» высшие центры нервной регуляции путем введения мини-свиньи в состояние наркоза (внутривенное введение общего анестетика Zoletil 100 в стандарт-

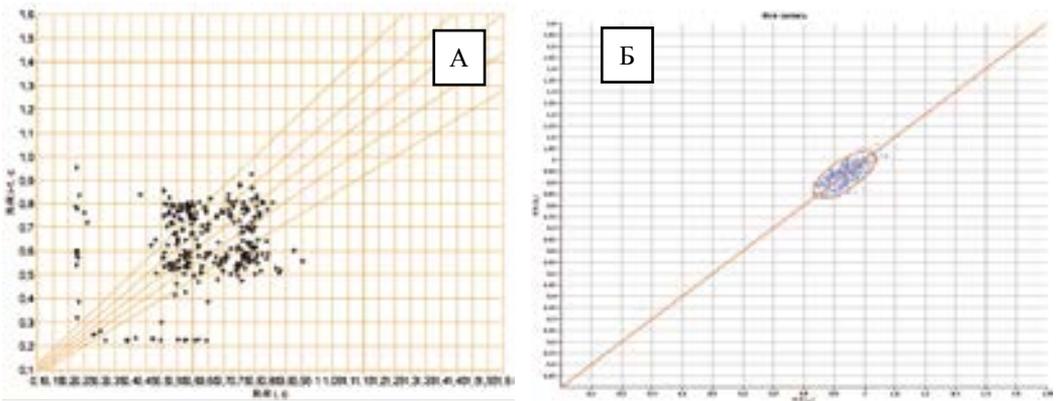


Рис. 6. Скаттерграмма мини-свиньи (А) и человека (Б) в состоянии относительного покоя и комфорта.

ных рекомендуемых дозах). Полученная картина variability сердечного ритма и его математического анализа представлена на рис. 7. Ритмограмма

(рис. 7А) демонстрирует стойкий ровный ритм с коэффициентом вариации 3,7% и частотой сердечных сокращений на уровне 100 уд./мин.

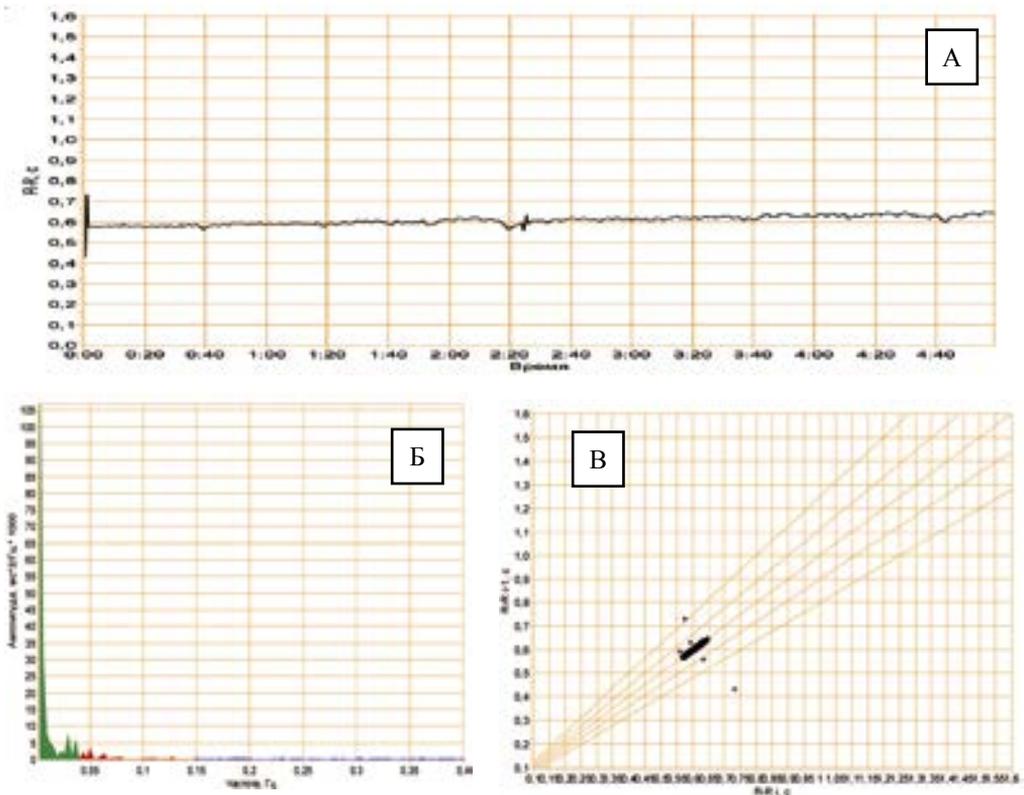


Рис. 7. Влияние наркоза на вегетативную регуляцию ритма сердца мини-свиньи (А – ритмограмма, Б – спектрограмма, В – скаттерграмма).

При анализе спектрограммы (рис. 7Б) обращает на себя влияние практически полное нивелирование ритмов как симпатической, так и парасимпатической зоны. В то же время, более отчетливым становится регуляторное влияние регуляторных факторов эндокринного диапазона (0,02-0,05 Гц), обеспечивающих минимальный уровень вариабельности. Скорее всего, в связи с выключением под наркозом гипоталамо-гипофизарной системы, выявленные пики в эндокринном диапазоне могут быть связаны с базовой секрецией адреналина мозговым веществом надпочечников, секрецией ренина и натрийуретического фактора.

Анализ скаттерграммы (рис. 7В) показывает, что выявленное ранее состояние хаоса в вегетативной регуляции связано исключительно с высшими вегетативными центрами (их выключение наркозом устраняет хаотичность регуляции), что свидетельствует об их эволюционной незрелости. При этом выявляется один доминирующий центр регулирования, находящийся в зоне относительного превалирования катехоламиновой системы (смещение облака скаттерграммы в левый нижний квадрант).

С целью дальнейшего анализа механизмов вегетативной регуляции сердечной деятельности у мини-свиньи мы использовали фармакологические агенты вегетативного действия. Выбор агентов представлял собой достаточно сложную задачу, так как было необходимо заранее исключить такие фармакологические средства, которые могут прямо влиять на ритм сердечных

сокращений, возбудимость, проводимость и сократимость миокарда. В связи с этим, в исследовании не могли быть использованы адrenoагонисты и адреноблокаторы, метилксантины, блокаторы медленных кальциевых каналов, активаторы калиевых каналов, сердечные гликозиды, негликозидные кардиотоники, препараты с противоритмическим действием.

В итоге, в качестве фармакологических анализаторов нами были выбраны следующие препараты: галантамин (непрямой холиномиметик преимущественно центрального действия – обратимый ингибитор холинэстеразы с преобладанием действия в области N-холинорецепторов); метацин – периферический неселективный M-холиноблокатор. Применение галантамина будет вести к активации парасимпатических влияний на уровне постгалглионарных и ганглионарных волокон, а также активации трофотропных и эрготропных вегетативных центров мозга. Метацин будет устранять вегетативные влияния на уровне постганглионарных парасимпатических волокон.

С целью резкой активации симпатических и эрготропных регуляторных структур мы были вынуждены использовать стрессовую для животных истощающую физическую нагрузку, вызывающую у животных, как было ранее нами показано, выраженную симпатическую реакцию [4].

Под влиянием галантамина (0,26 мг/кг внутримышечно) наблюдалась картина усиления парасимпатических влияний на регуляцию сердечного ритма (рис. 8).

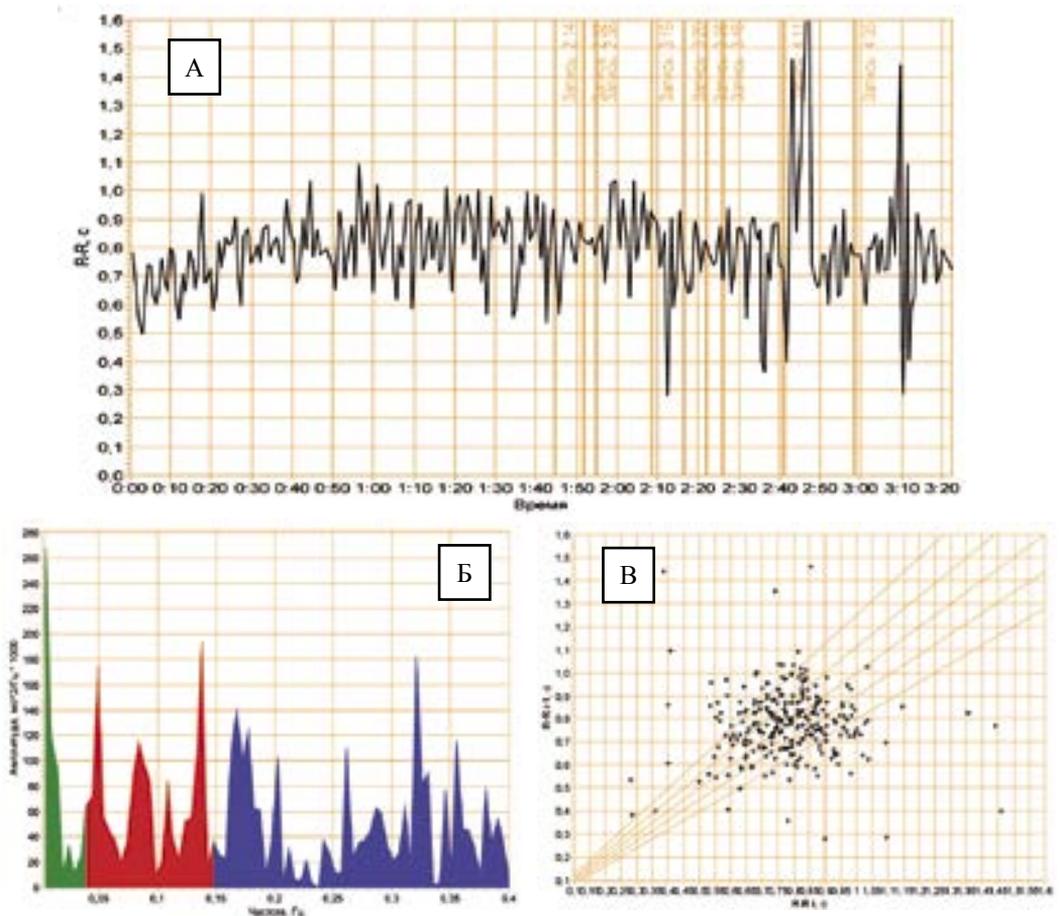


Рис. 8. Влияние галантамина на регуляцию variability сердечного ритма мини-свиней (А – ритмограмма, Б – спектрограмма, В – скаттерграмма).

При сопоставлении со спокойным комфортным состоянием (рис. 1) ритмограмма мини-свиньи напоминает ритмограмму «расторможенной» вегетатики. При этом частота сердечных сокращений стабилизируется на уровне 75 уд./мин, что для этих животных соответствует выраженной брадикардии (рис. 9).

При сопоставлении спектрограмм (рис. 5А и рис. 8Б) отмечается увеличение амплитуд и площадей пиков парасимпатического диапазона, а также повышение амплитуд пиков симпатического диапазона. В усредненном

варианте соотношение спектральной мощности по диапазонам у мини-свиньи в состоянии относительного покоя следующее: VLF – 46%, LF – 31%, HF – 23%. При применении галантамина соотношение спектральных мощностей изменилось и было близким к следующим значениям: VLF – 14%, LF – 33%, HF – 53%, что свидетельствует о выраженном повышении парасимпатических влияний.

Скаттерграмма при применении галантамина (рис. 8В) отражает отсутствие напряженности в работе меха-

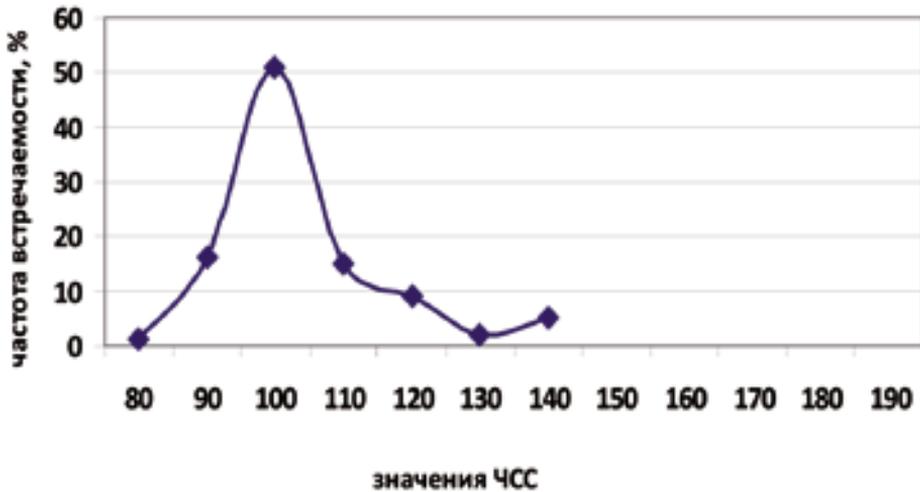


Рис. 9. Частотный анализ встречаемости значений ЧСС у мини-свиньи в состоянии относительного покоя и комфорта.

низмов регуляции (облако рассеивания практически находится в допустимых пределах) и преобладания хаотичности в последовательных рядах кардиоинтервалов. Для человека характеристики такого рода отражают глубокое трофотропное состояние, состояние «избыточного накопления» функциональных резервов, преобладание трофотропных (и связанных с ними парасимпатических центров) над эрготропными (центрами обеспечения деятельности и связанными с ними симпатическими) регуляторными системами.

Влияние холинолитика метацина (0,35 мг/кг внутрь) на механизмы регуляции ритма сердца мини-свиней отражено на рис. 10.

Ритмограмма мини-свиней, получавших метацин, характеризуется приближением к «идеальной» ритмограмме, характеризующей состояние комфортного покоя (рис. 1), при этом значение частоты сердечных сокращений стабилизируется на уровне 85-95 уд./мин, что

соответствует нормальному (наиболее частому) диапазону (рис. 9). Коэффициент вариации сердечного ритма находится в диапазоне 7-10%.

На спектрограмме отчетливо видно снижение амплитуд и площади пиков парасимпатического диапазона. При применении метацина соотношение спектральных мощностей было близким к следующим значениям: VLF – 33%, LF – 43%, HF – 24%, что свидетельствует о выраженном подавлении парасимпатических влияний.

Облако рассеивания на скаттерграмме (рис. 10B) становится более компактным, что свидетельствует о более правильной организации регуляторных процессов, меньшей их хаотичности.

Влияние стрессовой физической нагрузки на регуляцию сердечного ритма мини-свиней отражено на рис. 11. При этом на ритмограмме фиксируются множественные мышечные артефакты, требующие удаления из анализа. Следовательно, из-за уменьшения количе-

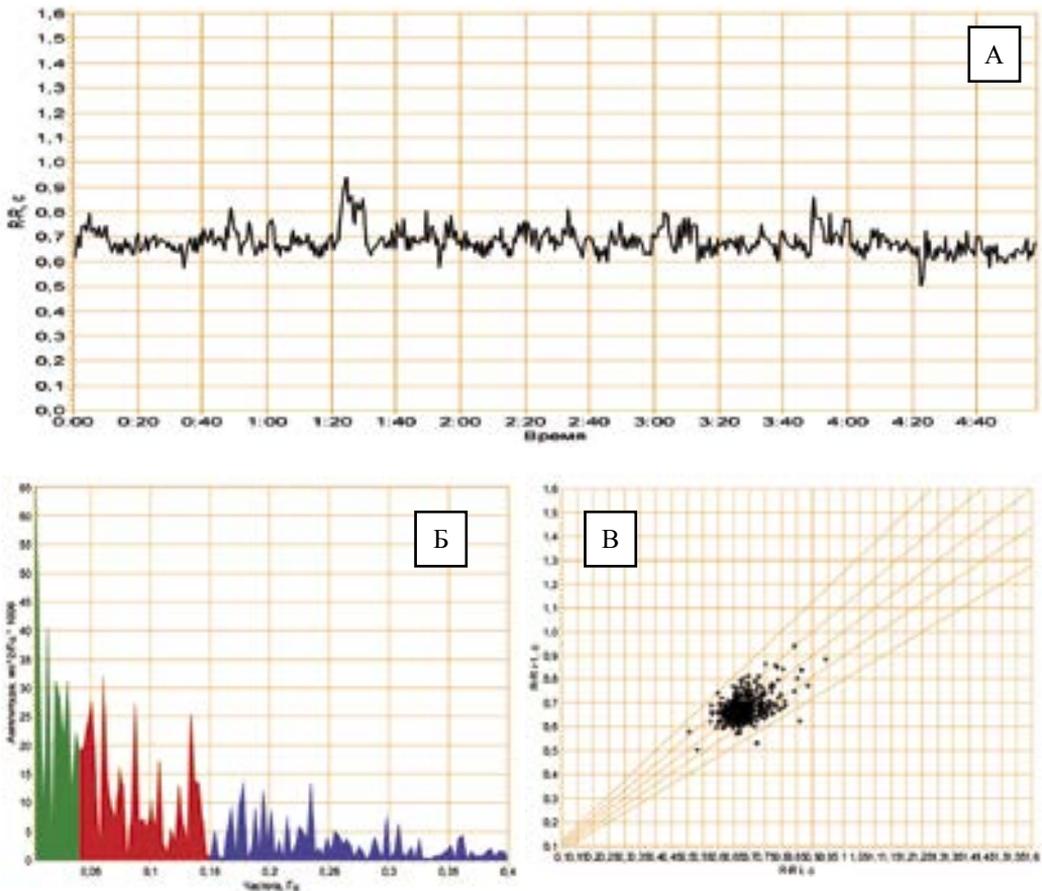


Рис. 10. Влияние холинолитика метацина на регуляцию ритма сердца мини-свиней (А – ритмограмма, Б – спектрограмма, В – скаттерграмма).

ства анализируемых комплексов может снизиться достоверность математического анализа ритмограммы (в области ультрамедленноволновых процессов) и возникает необходимость компенсаторного увеличения длительности записи с 5 до 7 мин, что может привести к регистрации начала фазового процесса восстановления. Регулярно возникающие «всплески» на ритмограмме свидетельствуют о параллельной активации и парасимпатических регуляторных влияний, возможно, связанных с дыхательными волнами.

На спектрограмме регистрируется увеличение амплитуды симпатических ритмов при резком снижении диэнцефальных. После предельно переносимой физической нагрузки у мини-свиней соотношение спектральных мощностей было близким к следующим значениям: VLF – 15%, LF – 48%, HF – 37%, что свидетельствует о выраженном подавлении высших регуляторных влияний, активизации симпатических постганглионарных структур и, возможно, компенсаторное, повышение активности и парасимпатических центров.

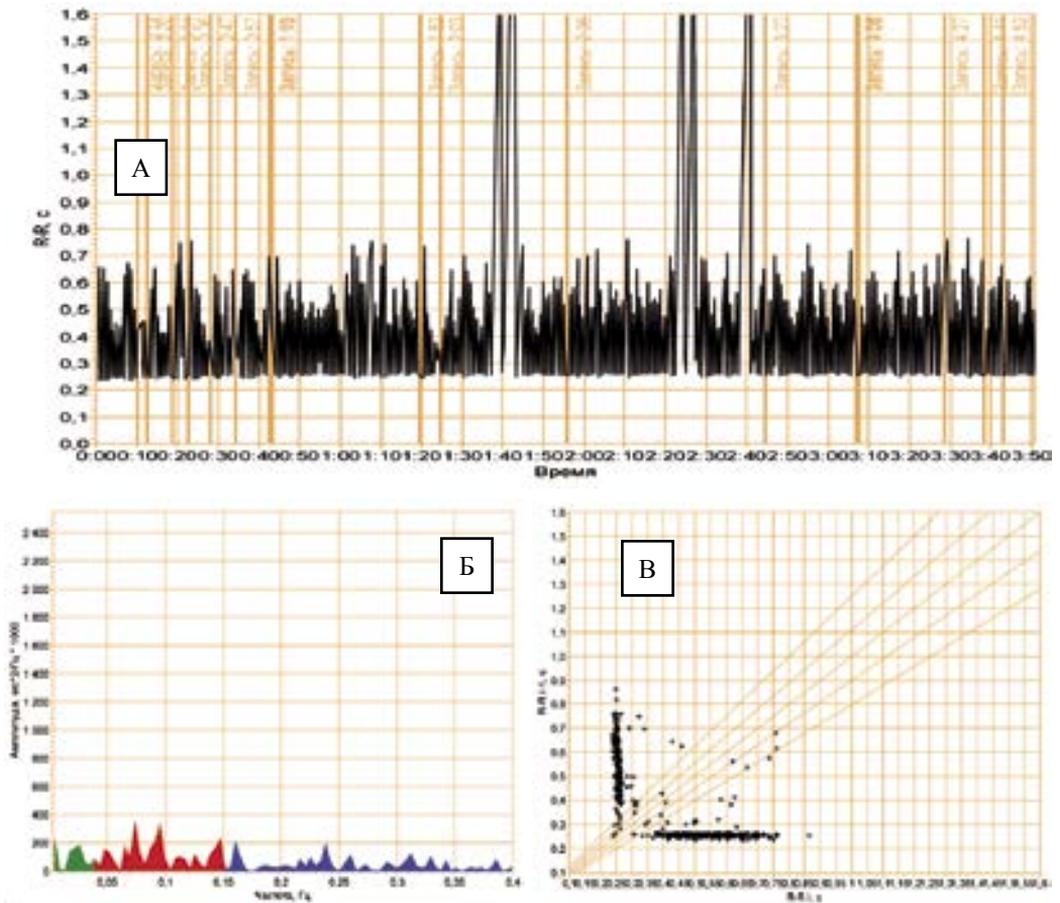


Рис. 11. Влияние предельно переносимой физической нагрузки на вегетативную регуляцию ритма сердца (А – ритмограмма, Б – спектрограмма, В – скаттерграмма).

Скаттерграмма (рис. 11В) свидетельствует о полной дезорганизации работы регуляторных механизмов в отношении вариации ритма сердца, наличии как минимум 2 конкурирующих, независимых друг от друга программ регуляции.

В статистически обработанном виде результаты исследования представлены в таблице. Для удобства интерпретации рядом представлены данные, характерные для практически здоровых людей в состоянии покоя.

Сопоставление данных, характерных для человека в состоянии покоя, и мини-свиней в условиях относительного покоя и комфорта, выявляет следующие принципиальные отличия:

Для мини-свиней характерна высокая вариативность ритмограммы (коэффициент вариации RR-интервалов для мини-свиньи в разы превышает аналогичный показатель для человека). Общая картина ритмограммы во многом напоминает картину человека с вегетативной дистонией, при преобладании вагоинсулярной симптоматики.

Таблица

Влияние физической нагрузки и фармакологических анализаторов (галантамин, метацин) на показатели вариационной ритмографии мини-свиней

Показатель	Человек *	Мини-свинья **			
		относительный покой	после нагрузки	галантамин	метацин
Условия регистрации	покой				
ЧСС, уд/мин	65-80	88±3	129±4	64±5	83±2
RRmin, мс		261±38	158±19	542±37	354±67
RRmax, мс		1676±446	1440±238	1348±102	1212±98
RRnp, мс	750-950	683±23	464±16	958±81	723±17
dRR, мс		1415±467	1282±252	806±125	858±151
CV, %	5,3	30±11	46±4	18±2	24±7
Mo, с		0,59±0,04	0,38±0,14	0,82±0,12	0,64±0,12
AMo, %		23±2	23±2	15±2	23±6
Tr, 1000*мс ² /Гц	3466±1018	72,7±50,3	43,2±10,2	27,2±9,4	35,5±16,6
LFnorm, ед	54±4	43±4	37±3	28±12	40±8
HFnorm, ед	29±3	56±4	62±3	72±12	59±8
LF/HF, отн.ед.	1,5-2,0	0,85±0,15	0,60±0,07	0,58±0,39	0,83±0,29
% VLF	33	30±5	40±9	15±4	26±3
% LF	28	29±2	23±4	22±8	29±5
% HF	39	41±5	37±6	63±12	45±8
ИВР		28±6	19±4	20±4	37±17
ВПР		1,84±0,25	2,47±0,26	1,76±0,35	2,32±0,42
ИН		23±4	29±5	13±2	27±12
ПАРП		42±6	79±24	19±1	41±10

Примечание: * – по данным Михайлова В.М. [3], ** – по собственным данным.

Общая мощность спектрального ритма, отражающая возможный объем регуляторных влияний, у мини-свиньи примерно в 100 раз ниже, чем у человека, что отражает эволюционную незрелость вегетативной регуляции.

Нормированные значения для высокочастотных (парасимпатических) влияний и их долевого вклад в общую систему регуляции у мини-свиней превалирует над аналогичными показателями симпатoadреналовой системы, активность структур которых для человека может считаться ведущей. Наиболее отчетливо

это проявляется в показателях индекса симпатикотонии, находящихся у человека в симпатическом диапазоне, а у мини-свиней – в парасимпатическом.

Несмотря на выявленные отличия, использованные фармакологические и физиологические анализаторы вызывают у мини-свиньи такие же ответы как и у человека.

Так, интенсивная физическая нагрузка ведет к повышению частоты сердечных сокращений и смещению диапазона RR-интервалов в сторону более низких значений. Вегетативный показатель

ритма, показатель адекватности процессов регуляции имеют динамику, отражающую повышение роли симпатических регуляторных центров, а индекс напряжения – централизацию управления сердечной деятельностью, что подтверждается ростом вклада диэнцефальных структур в общую систему регуляции. Вероятно, с учетом регистрации ритмограмм на этапе восстановления после нагрузки, по некоторым показателям (индекс вегетативного равновесия, нормированная мощность парасимпатического диапазона спектра) отмечается нарастание парасимпатических влияний, что может носить компенсаторный характер.

При применении галантамина отмечаются закономерное усиление парасимпатических влияний (урежение частоты сердечных сокращений, увеличение RR-интервалов и сокращение размаха их колебаний, коэффициента вариации ритмограммы, увеличение значения моды их распределения, увеличение нормированной мощности высокочастотного спектрального диапазона при снижении мощности низкочастотного, преобладание парасимпатических влияний в общей системе регуляции сердечного ритма).

Применение холинолитика метацина сопровождалось восстановлением значений частоты сердечных сокращений, частичным восстановлением колебаний RR-интервалов и их коэффициента вариации, моды распределения, спектральной мощности парасимпатического диапазона как в нормированном, так и относительном выражении. Необходимо отметить, что выключение парасимпатической регуляции метацином сопровождалось повышением вклада

симпатических влияний по интегральным показателям ритмографического исследования (ИВР, ВПР).

Выводы:

1. Ритмографическое исследование, проводимое на мини-свиньях, может быть использовано для доклинической оценки вегетотропных лекарственных средств, несмотря на эволюционную незрелость высших центров вегетативной регуляции у этих животных, так как тестовые фармакологические и физиологические воздействия на показатели математического анализа ритма сердца (ритмограмма, вариационные характеристики, спектральный анализ, скаттерграмма) носят закономерный характер.

2. В вегетативной регуляции ритма сердца у мини-свиней преобладающей является парасимпатическая регуляция.

3. Вклад эндокринного (гуморального) контура регуляции сердечного ритма у мини-свиней может быть оценен ритмографическими методами в состоянии наркоза животных препаратом Zoletil 100.

Список литературы

1. *Баевский Р.М., Кириллов О.И., Клетский С.З.* Математический анализ изменений сердечного ритма при стрессе. - М.: Наука. 1984. 188 с.
2. *Котельников С.А., Ноздрачев А.Д., Одинак М.М., Шустов Е.Б., Коваленко И.Ю., Давыденко В.Ю.* Вариабельность ритма сердца: представления о механизмах // Физиология человека. 2002. Т. 28. № 1. С. 130-143.