

ŁUKASZ GAWIŃSKI, TOMASZ H. WIERZBA

WPLYW HISTYDINY NA ZMIENNOŚĆ RYTMU SERCA U SZCZURA

EFFECT OF HISTIDINE ON HEART RATE VARIABILITY IN THE RAT

Katedra i Zakład Fizjologii AM w Gdańsku
kierownik: prof. dr Witold Juzwa

Celem badań przeprowadzonych na 8 szczurach bez narkozy była ocena wpływu histydyliny na zmienność rytmu serca (HRV) u szczurów. Najważniejszym osiągnięciem pracy jest udowodnienie, że histydylina, aminokwas o zdolności wymiatania ROS, w tym w szczególności tlenu singletowego, wywiera istotny wpływ na autonomiczną regulację rytmu serca. Profil tego działania jest potencjalnie niekorzystny, gdyż polega na zwiększeniu udziału komponenty współczulnej w regulacji rytmu serca, co zwiększa ryzyko wystąpienia zagrażających życiu zaburzeń rytmu serca.

Nasilenie endogennych reakcji utleniania, związane z nadmiernym wytwarzaniem reaktywnych postaci tlenu (ROS) jest od ponad ćwierć wieku uznawane jako istotny czynnik chorobotwórczy. Nadmierne wytwarzanie ROS powoduje wielokierunkowe zaburzenia strukturalne i czynnościowe w układach biologicznych: na poziomie narządów, tkanek, komórek i w układach subkomórkowych. Większość poszukiwań badawczych odnoszących się do udziału ROS w mechanizmach patogenetycznych odnosi się do anionorodnika ponadtlenkowego ($O_2^{\bullet-}$) i nadtlenu wodoru (H_2O_2), które są wytwarzane w ustroju w największych ilościach. Zarówno $O_2^{\bullet-}$, jak też H_2O_2 są cząsteczkami o stosunkowo niedużym potencjale oksydacyjnym. Jednakże obie ROS mogą stanowić substrat dalszych reakcji rodnikowych, prowadzących do powstawania niezwykle reaktywnego i potencjalnie destruktywnego rodnika hydroksylowego (OH^{\bullet}) i innych ROS [7].

Badania eksperymentalne wykazały korzystny wpływ antyoksydantów w modelowych układach stresu oksydacyjnego i w zaburzeniach metabolicznych związanych z ROS [1, 3]. Opisano między innymi antyagregacyjne i antyadhezyjne efekty wybranych antyoksydantów w uszkodzeniach śródbłonna naczyniowego, hamowanie rozwoju miażdżycy [1], działania neuroprotektoryjne [5], protekcję komórek wątrobowych przed toksycznym działaniem ksenobiotyków, zmniejszenie wykładników stresu oksydacyjnego w przebiegu nadciśnienia tętniczego i cukrzycy [10], działanie protekcyjne w uszkodzeniu siatkówki oka wywołanym cukrzycą, kardioprotekcję w ischemii i reperfuzji [13].

Interesującą ROS, o znaczących właściwościach utleniających jest tlen singletowy ($^1\text{O}_2$), który występuje w dwóch odmianach [3]. Tlen singletowy nie jest rodnikiem, natomiast posiada wzbudzony elektron, który powoduje jego zwiększoną reaktywność w stosunku do cząsteczki tlenu w stanie podstawowym. W układach doświadczalnych tlen singletowy jest generowany w znacznych ilościach przez niektóre barwniki o właściwościach fotosensybilizujących, takie jak róż bengalski czy pod wpływem światła [7]. Analogicznie, może być wytwarzany w nadmiarze w chorobach, charakteryzujących się zwiększoną obecnością w skórze czynników podatnych na światło, np. w porfirii. Wykazano, że tlen singletowy powoduje peroksydację lipidów błonowych, przyczynia się do inaktywacji białek poprzez utlenianie aminokwasów: histydyny, metioniny, tryptofanu, tyrozyny i cysteiny, a także wywołuje uszkodzenia DNA w następstwie utleniania guaniny i innych pochodnych purynowych, może też inicjować reakcje rodnikowe prowadzące do powstania rodnika hydroksylowego [3, 7]. Tlen singletowy zaburza transport jonów Ca^{2+} do retikulum sarkoplazmatycznego w komórkach mięśnia sercowego i prądkowanego, utrudniając rozkurcz tych mięśni [8]. Zatem próby częściowego wyłączenia tlenu singletowego w miejscach jego nadmiernego tworzenia mogą przyczynić się do protekcji tkanek i narządów narażonych na stres oksydacyjny.

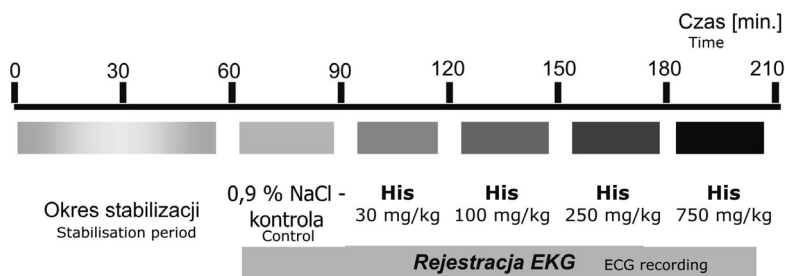
Histydyna jest aminokwasem o szczególnie wysokim powinowactwie do tlenu singletowego. Jej stała szybkość reakcji z tlenem singletowym przekracza 10^8 mol/s, co sprawia, że jest uważana za jeden z najsukcesywniejszych wymiataczy tlenu singletowego [3, 8]. Histydyna wiąże się z jonami metali przejściowych: miedzi, cynku, niklu, żelaza i w takich połączeniach stanowi kluczowy pod względem czynnościowym składnik białek o właściwościach enzymatycznych, np. dysmutazy ponadtlenkowej. U ssaków, zwłaszcza w mięśniach i mózgu występują wysokie, milimolowe stężenia dipeptydów, takich jak: anseryna, karnozyna, homokarnozyna, których jednym ze składników jest histydyna [2]. Dipeptydy histydynowe mają właściwości antyoksydacyjne, wynikające między innymi z ich wysokiej zdolności do wiązania jonów miedzi, przez co zapobiegają tworzeniu rodnika hydroksylowego przy udziale tych jonów. Badania doświadczalne ujawniły, że histydyna zapobiega rozwojowi dysfunkcji skurczowej i uszkodzeniom ultrastrukturalnym w sercach poddanych ischemii i reperfuzji, wykazując działanie antyarytmiczne [8]. Z uwagi na swoje właściwości kardioprotekcyjne histydyna znalazła zastosowanie jako składnik niektórych płynów kardioplegicznych, np. Celsior, Bretschneider, HBS. Niewiele wiadomo o wpływie histydyny i innych ROS na regulację krążenia.

Celem badań była porównawcza ocena wpływu histydyny na zmienność rytmu serca (HRV) u szczurów. Analiza HRV jest uznaną metodą nieinwazyjnej oceny wpływu autonomicznego układu nerwowego na częstość akcji serca, stosowaną w praktyce do oceny ryzyka wystąpienia krytycznych zaburzeń rytmu serca.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenia przeprowadzono na 8 dorosłych szczurach, samcach typu Wistar o masie 320 – 395 g. Badania wykonano zgodnie z obowiązującymi standardami dotyczącymi badań eksperymentalnych na zwierzętach za zgodą (27/2001) Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach. W okresie 10 dni poprzedzających właściwy eksperyment szczury zostały starannie zaadaptowane do warunków doświadczalnych. Umożliwiło to wykonywanie późniejszych doświadczeń bez użycia narkozy u zwierząt, które zachowywały się spokoj-

nie, bez jakichkolwiek oznak niepokoju. Szczury na 3 dni przed planowanymi badaniami zainstrumentowano chirurgicznie. Wprowadzono dren polietylenowy (PE-50, Clay-Adams, Parsippany, USA) do żyły szyjnej lewej oraz wszczepiono podskórną trzy srebrne elektrody płaszczynowe do rejestracji EKG: na przedniej powierzchni klatki piersiowej (2 elektrody rejestrujące) i w okolicy międzyłopatkowej (elektroda odniesienia). Zabiegi wykonano w narkozie pentobarbitalowej (50 mg/kg i.p). Dren polietylenowy oraz końcówki elektrod przeprowadzono podskórną do okolicy ciemieniowo-potylicznej i wyprowadzono na zewnątrz. W dniu eksperymentu szczury zostały umieszczone w klatkach wykonanych z przezroczystego materiału, gdzie miały pełną swobodę ruchu. Badania rozpoczęto od dożyłnej 30 min. kontrolnej infuzji 5 ml soli fizjologicznej (pompa infuzyjna: Dialyze F5z, Dascon, Holland). Następnie przeprowadzono 4 kolejne 30 min infuzje, oddzielone od siebie 5-minutowymi przerwami. W infuzjach podawano iv. kolejne dawki histydyny (His) (30; 100; 250 i 750 mg/kg) rozpuszczonej w 2 ml 0,9% NaCl (ryc. 1).

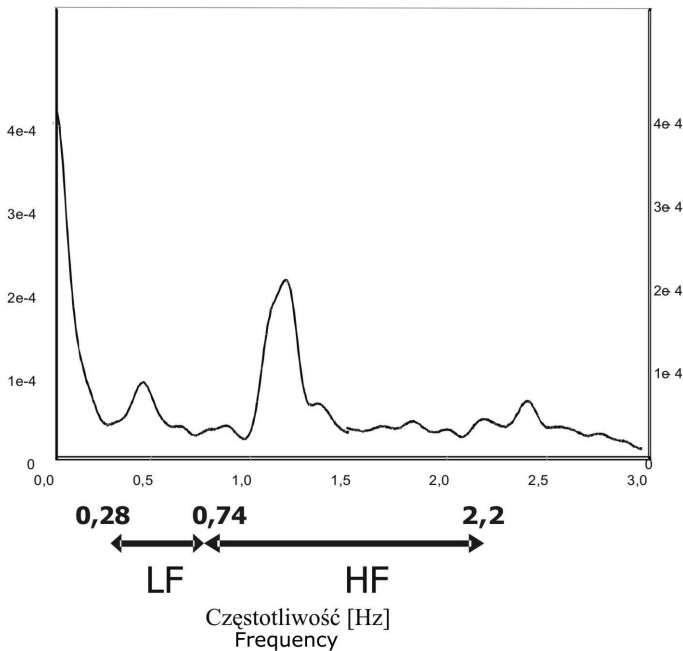


Ryc. 1. Sekwencja eksperymentalna

Fig. 1. Experimental schedule

Podczas kolejnych infuzji rejestrowano EKG w sposób ciągły. Sygnał EKG był wstępnie wzmocniony przez zewnętrzny przedwzmacniacz, a następnie przez wzmacniacz wewnętrzny zestawu laboratoryjnego Uni-Bio (KARED, Gdańsk). W następnym etapie sygnał został przetworzony na za pomocą przetwornika analogowo-cyfrowego z częstością próbkowania 12 kHz z rozdzielczością 14 bitów. Średnie wartości kolejnych 16 próbek były przesyłane do komputera celem zarejestrowania krzywej EKG. Stąd rzeczywista częstość zarejestrowanego sygnału wynosiła 1,33 ms, co przy oczekiwanej częstości akcji serca – 300/min, stanowi 0,0065% pojedynczego cyklu serca. Po wstępnej wizualizacji i analizie zapisu EKG na monitorze przy użyciu dedykowanego oprogramowania wyodrębniano fragmenty elektrokardiogramu, w których nie występowały zakłócenia. Artefakty w zapisie EKG wymagające odfiltrowania występowały sporadycznie podczas spontanicznych ruchów zwierząt w klatce. Z wybranych fragmentów EKG wyodrębniono zespoły QRS. Lokalizacja zespołów QRS była dokonywana przez zsumowanie wartości bezwzględnych pierwszej i drugiej pochodnej sygnału, a następnie odfiltrowania tej sumy w filtrze dolnoprzepustowym. Zespoły QRS identyfikowane są jako

przekroczenie wartości progowej przez wyżej wymieniony sygnał. Każdemu zespołowi QRS przypisywany jest czas; jest nim środek odcinka, w którym przekroczona jest wartość progowa. Odstępy pomiędzy kolejnymi wyznaczonymi wartościami czasu stanowią odstępy RR. W celu zwiększenia dokładności przy lokalizacji zespołów QRS zastosowano aproksymację paraboliczną ciągu sum wartości bezwzględnych. Dla uzyskanej paraboli wyznaczano czas osiągnięcia wartości maksymalnej. Ten punkt przyjmowano ostatecznie jako punkt odniesienia zespołu QRS. Pozwoliło to na wyeliminowanie kwantyzacji w dziedzinie czasu i uzyskanie znacznie większej rozdzielczości przy wyznaczaniu odstępów RR. Z ciągów RR wyznaczonych dla kolejnych 30-minutowych infuzji, wybrano 5 do 10 niezakłóconych fragmentów 1024 odstępów RR, które zostały poddane analizie widmowej zmienności rytmu serca przez algorytm szybkiej transformaty Fouriera przy użyciu programu Statistica (StatSoft). Wyznaczono następujące wskaźniki HRV analizy widmowej: TSP (*total spectral power*) – całkowita moc widma zmienności rytmu serca, tj. 0,0–2,2 Hz; HF (*high frequency*) – moc widma zmienności w zakresie wysokich częstotliwości, tj. 0,74–2,2 Hz; LF (*low frequency*) – moc widma zmienności rytmu zatokowego w zakresie niskich częstotliwości, tj. 0,28–0,74 Hz (ryc. 2); LF/HF – stosunek mocy widma zmienności rytmu zatokowego w zakresie niskich częstotliwości do mocy widma zmienności rytmu zatokowego w zakresie wysokich częstotliwości. Przedziały częstotliwościowe odpowiadające LF i HF wybrane w oparciu o uznane standardy dla szczurów [6, 11].



Ryc. 2. Oryginalny zapis krzywej gęstości mocy widma HRV

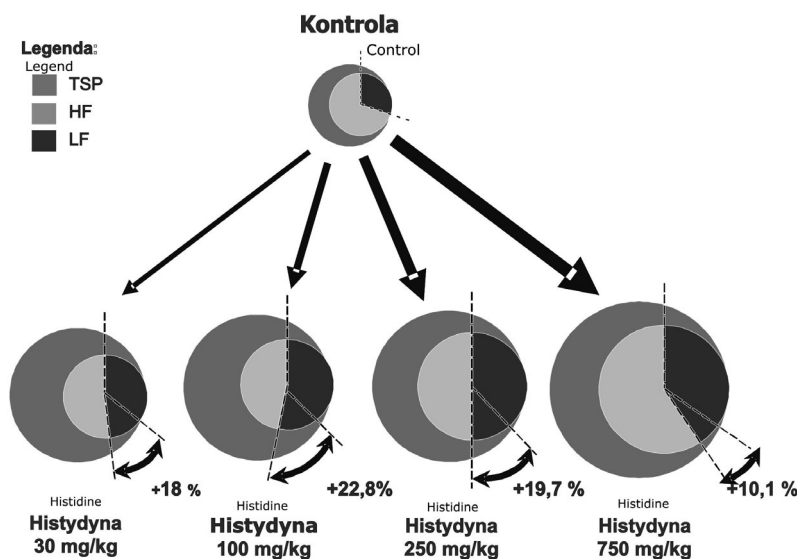
Fig. 2. The original tracing of the power spectrum density plot

Obliczono wartości średniej arytmetycznej \pm SD poszczególnych zmiennych. Wnioskowanie oparto o analizę statystyczną. Do porównania wartości zmiennych uzyskanych podczas infuzji histydyny z wartościami kontroli wstępnej wykorzystano test t-Studenta dla wartości powiązanych z poprawką Bonferroniego dla 4 powtórzeń. Jako różnice statystycznie istotne przyjęto $P < 0,05$.

WYNIKI

U wszystkich szczurów zarejestrowano rytm zatokowy, bez pobudzeń dodatkowych i przerw. Średnia częstość akcji serca (HR) wynosiła $300,5 \pm 25,5/\text{min}$. Histydyna wywołała istotne przyspieszenie rytmu serca o [min⁻¹]: $49,8 \pm 18,6 \pm$; $59,9 \pm 20,5$; $30,0 \pm 8,6$ i o $28,5 \pm 11,5$ – odpowiednio w dawkach: 30, 100, 250 i 750 mg/kg.

Histydyna w istotny sposób wpływała na wykładniki HRV (ryc. 3). W porównaniu do kontrolnej infuzji 0,9% NaCl, całkowita moc widma (TSP) była znacząco większa podczas infuzji każdej z zastosowanych dawek His (odpowiednio o $+191,2 \pm 49,6\%$; $+212,1 \pm 53,2\%$; $+225,4 \pm 47,1\%$; $+313,6 \pm 94,5 \%$ – dawki: 30, 100, 250 i 750 mg/kg).



Ryc. 3. Wpływ histydyny na całkowitą moc widma (TSP) i składowe LF i HF. Pola okręgów są proporcjonalne do mocy widma (TSP, HF i LF). Pod wpływem histydyny istotnie wzrosła TSP i zwiększył się udział komponenty LF autonomicznej regulacji rytmu serca. Wartości procentowe odnoszą się do zwiększenia udziału składowej LF

Fig. 3. Effect of histidine on total spectral power (TSP) and on LF and HF components. Shaded areas are in proportion to the spectral power (TSP, HF and LF). TSP was significantly increased due to histidine, whereas the relative contribution of the LF component was enhanced. Percent values reflect an increase of the LF component

Moc widma w zakresie wysokich częstotliwości (HF) była, podczas infuzji His w każdej z zastosowanych dawek, wyższa o odpowiednio: $43,0 \pm 9,8$; $55,8 \pm 19,3$; $136,5 \pm 47,0$; $277,4 \pm 101,2\%$ względem grupy kontrolnej; dawki: 30, 100, 250 i 750 mg/kg.

Stosunek LF/HF wynosił odpowiednio $0,436 \pm 0,153$ dla grupy kontrolnej i uległ istotnemu zwiększeniu do $0,934 \pm 0,335$; $1,070 \pm 0,295$; $1,003 \pm 0,395$ i $0,679 \pm 0,305$ po kolejnych dawkach histydyny: 30, 100, 250 i 750 mg/kg (ryc. 3).

DYSKUSJA

Najważniejszym osiągnięciem niniejszej pracy jest wykazanie, że histydyna, aminokwas o zdolności wymiatania ROS, w tym w szczególności tlenu singletowego, wywiera istotny wpływ na autonomiczną regulację rytmu serca.

W warunkach fizjologicznych rytm serca nie jest idealnie miarowy. Poszczególne cykle serca różnią się od siebie czasem trwania. Ta fizjologiczna zmienność rytmu serca (HRV) jest wypadkową nakładających się na siebie rytmów zależnych przede wszystkim od aktywności dosercowych włókien układu autonomicznego, rytmu oddechowego, rytmicznego uwalniania do krwioobiegu czynników wazoaktywnych, takich jak: tlenek azotu (NO), wazopresyna, angiotensyna II, a także od cyklicznie zmieniającej się aktywności różnych obszarów ośrodkowego układu nerwowego, współdecydujących o regulacji serca. Główne komponenty harmoniczne HRV zależą od cyklicznych, krótkoczasowych zmian aktywności dosercowych włókien układu współczulnego i przywspółczulnego, których wypadkowa determinuje szybkość powolnej spoczynkowej depolaryzacji komórek rozrusznikowych w węźle zatokowo-przedsionkowym i decyduje o czasie wystąpienia kolejnego pobudzenia serca [6, 12]. Zmiany aktywności układu przywspółczulnego charakteryzuje rytmika o częstotliwości znacznie większej od oscylacyjnych zmian w aktywności dosercowych włókien współczulnych. W warunkach fizjologicznych wpływ układu przywspółczulnego na rytm serca przeważa nad układem współczulnym. Względne zwiększenie udziału komponenty współczulnej w regulacji rytmu serca jest uznanym, niekorzystnym czynnikiem prognostycznym groźnych zaburzeń rytmu serca i nagłych zgonów sercowych [9, 12].

Analiza zmienności rytmu serca (HRV) jest nieinwazyjną metodą umożliwiającą dokonanie ilościowej oceny udziału komponenty współczulnej i przywspółczulnej w regulacji rytmu serca. Z technicznego punktu widzenia wykonanie analizy HRV u małych zwierząt jest znacznie trudniejsze niż u ludzi, z uwagi na kilkakrotnie szybszą częstość akcji serca i naturalną ruchliwość niektórych zwierząt. Większa częstość akcji serca wymaga zwiększonej rozdzielczości przy identyfikacji załamek RR. Zastosowana w tej pracy dziesięciodniowa procedura aklimatyzacyjna była skuteczna. Zwierzęta były spokojne, a w zapisach EKG występowały nieliczne zakłócenia. Zwraca uwagę spoczynkowa HR – 300 /min., która u szczurów o przeciętnej masie ciała 350 g wskazuje spełnienie warunków spoczynkowych i na względny komfort zwierząt. W większości prac odnoszących się do pomiarów hemodynamicznych u szczurów rejestrowano znacznie szybszy rytm serca (350–450/min.), który w kontekście doświadczeń własnych sugeruje pewien stopień niezamierzonego pobudzenia zwierząt.

Całkowita moc widma (TSP) odpowiada zakresowi HRV [12]. Przyjmuje się, że przy wysokim TSP rytm serca może łatwo przystosować się do zmieniających się warunków krążenia krwi, np. przy nagłym wzroście ciśnienia tętniczego wywołanego obkurczeniem mięśniówki naczyń oporowych lub podczas wysiłku [12]. W tym kontekście zwiększenie

TSP przez histydyne wydaje się zwiększać możliwości regulacyjne serca. Niepokojący jest jednak nierównomierny udział składowych HRV w tym wzroście. Proporcje między widmem mocy w zakresie niskich (LF) i wysokich (HF) częstotliwości zostały wybitnie przesunięte na korzyść LF, co wskazuje na zwiększenie udziału komponenty współczulnej w regulacji rytmu serca. O ile zatem zwiększenie TSP przez histydyne może zwiększać zakres skutecznej regulacji krążenia, to względne zwiększenie udziału składowej współczulnej regulacji rytmu serca oznacza zwiększenie ryzyka wystąpienia niebezpiecznych zaburzeń rytmu serca i nagłego zgonu. Dlatego należy przyjąć, że w zakresie zastosowanych dawek wpływ histydyny na regulację czynności serca jest zdecydowanie niekorzystny. Uzyskane wyniki zdają się odbiegać od korzystnych działań oczekiwanych od antyoksydantów. Nie można wykluczyć, że przynajmniej w dawkach wysokich: 250 i 750 mg/kg histydyna mogła wykazywać właściwości prooksydacyjne. Wykazano, że histydyna może ułatwiać peroksydację lipidów w obecności jonów żelaza i niklu i potęgować toksyczne działanie nadmiaru nadtlenu wodoru [16]. Przeciw tej hipotezie przemawia jednokierunkowy – niekorzystny wpływ histydyny na HRV w całym zakresie stosowanych steżeń oraz brak realnych przyczyn, przez które miałyby zwiększyć się biodostępność jonów metali przejściowych w trakcie doświadczenia, nieodczuwanych do ujawnienia prooksydacyjnych właściwości histydyny. W świetle licznych badań epidemiologicznych opublikowanych w ostatnich latach [15] ewidentnie korzystne efekty wybranych antyoksydantów na poziomie poszczególnych tkanek, komórek, układów subkomórkowych, a także obserwowane *in vivo* w szczególnych sytuacjach, takich jak np. ostra ischemia, udar mózgu nie przekładają się na wypadkowy efekt w skali ogólnoustrojowej. Zdecydowana większość prac eksperymentalnych dotyczących antyoksydantów pominęła aspekt regulacyjny ich działania.

Jednym z podstawowych ogniw w łańcuchu powiązań czynnościowych regulujących układ krążenia są odruchy z chemoreceptorów tętnicznych i chemoreceptorów OUN [4, 14, 15]. Przyjmuje się, że hipoksja powoduje pobudzenie przede wszystkim chemoreceptorów obwodowych zaś hiperkapnia ośrodkowych. Niedotlenienie mózgu może niezależnie inicjować „pobudzenie” układu krążenia. Ostatnie badania ujawniają/sugerują, że kluczowym elementem aktywacji chemoreceptorów obwodowych są reaktywne postaci tlenu, które powstają w wyniku niepełnej redukcji jego podstawowej formy O₂. Stąd też sugestia, że możliwość wyłączenia ROS poprzez zastosowanie skutecznych antyoksydantów może spowodować przesunięcie równowagi regulacyjnej w sposób charakterystyczny dla niedoboru tlenu [4, 15]. Zmniejszone oddziaływanie ROS na chemoreceptory może hipotetycznie spowodować zwiększenie ich aktywności w sposób odpowiadający hipoksji, czyli powodujący wzrost aktywności układu współczulnego i spadek aktywności układu przywspółczulnego. Pozostaje kwestią otwartą, czy histydyna, która w założeniu jest przede wszystkim wymiataczem tlenu singletowego, mogła zaburzyć odruchową regulację krążenia zależną od chemoreceptorów obwodowych.

Reasumując, histydyna w istotny sposób wpływa na zmienność rytmu serca u szczurów. Profil tego działania jest potencjalnie niekorzystny, gdyż polega na zwiększeniu udziału komponenty współczulnej w regulacji rytmu serca.

PIŚMIENNICTWO

1. Azzi A.: The role of alpha-tocopherol in preventing disease. *Eur. J. Nutr.* 2004; 43, suppl. 1: 1/18.
- 2. Babizhayev M. A., Seguin, M. C., Gueyne, J., Evstigneeva R. P., Ageyeva E. A., Zheltukhina G. A.: L-carnosine (beta-alanyl-L-histidine) and carcinine (beta-alanylhistamine) act as natural antioxidants

with hydroxyl-radical-scavenging and lipid-peroxidase activities. *Biochem. J.* 1994, 304, Pt 2, 509. – 3. Bartosz G.: *Druga twarz tlenu* Wyd. 2 zm. Warszawa: PWN. 2003. – 4. Borkowski T., Wierzba TH: Wpływ kwasu askorbinowego na zmienność rytmu serca (HRV) u szczura jako przykład możliwości regulacyjnego działania antyoksydantów. *Kardiochir. Torakochir. Pol.* 2004, 1, 4, 191. – 5. Chamorro A., Planas A. M., Muner D. S., Deulofeu R.: Uric acid administration for neuroprotection in patients with acute brain ischemia. *Med. Hypotheses.* 2004, 62, 2, 173. – 6. Cerutti C., Gustin M.P., Paultre C.Z., Lo M., Julien C., Vincent M., Sassard J.: Autonomic nervous system and cardiovascular variability in rats: a spectral analysis approach. *Am. J. Physiol.* 1991, 261,4, Pt2, H1292. – 7. Halliwell B., Gutteridge J.M.: *Free radicals in biology and medicine.* 3 ed. Oxford: Univerity Press., 2000. – 8. Kukreja R. C., Loesser K. E., Kearns A. A., Naseem S. A., Hess M. L.: Protective effects of histidine during ischemia-reperfusion in isolated perfused rat hearts. *Am. J. Physiol.* 1993, 264, 5Pt 2, H1370. – 9. Malpas S.C.: Neural influences on cardiovascular variability: possibilities and pitfalls. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2002, 282, 1, H6. – 10. Midaoui A.E., Elimadi A., Wu L., Haddad P.S., de Champlain J.: Lipoic acid prevents hypertension, hyperglycemia, and the increase in heart mitochondrial superoxide production. *Am. J. Hypertens.* 2003; 16, 3, 173.

11. Murasato Y., Hirakawa H., Harada Y., Nakamura T., Hayashida Y.: Effects of systemic hypoxia on R-R interval and blood pressure variabilities in conscious rats. *Am. J. Physiol.* 1998, 275, 3, Pt 2, H797. – 12. Parati G., Saul J.P., Di Rienzo M., Mancia G.: Spectral analysis of blood pressure and heart rate variability in evaluating cardiovascular regulation. A critical appraisal. *Hypertension* 1995, 25, 6, 1276. – 13. Wierzba T.H., Cherek M., Wszędybył-Winklowska M., Wypych Z.: Effect of substituted piperidine nitroxides on functional characteristic of the isolated heart challenged with ischemia. *Med. Sport.* 2001, 17, 13, suppl. S44. – 14. Wierzba T.H., Borkowski T., Gawiński Ł.: Do antioxidants play with heart rate variability? w: *Proceedings for progress in biomedical science, Gdańsk, 15 - 16 October 2004*, ed. 2. Bertoli, J. Usukura, M. Tanaka. Gdańsk, 2004, 11-18. – 15. Wierzba T. H.: Nieoczekiwane niepowodzenia prób klinicznych z antyoksydantami. *Kardiol. Pol.* 2005, 63, suppl.2, S472. – 16. Winkler P., Schaur R. J., Schauenstein E.: Selective promotion of ferrous ion-dependent lipid peroxidation in Ehrlich ascites tumor cells by histidine as compared with other amino acids. *Biochim. Biophys. Acta* 1984, 796, 3, 226.

Ł. Gawiński, T. H. Wierzba

EFFECT ON HISTIDINE ON HEART RATE VARIABILITY IN THE RAT

Summary

Histidine is an aminoacid of high affinity towards singlet oxygen to cause its elimination, capable of chelating transition metals, which catalize generation of hydroxyl radical of extremely high destructive potency. Antioxidative properties of histidine have been employed in cardioprotection during ischemia and reperfusion of the heart. The study aimed to assess the effect of histidine on heart rate variability (HRV). The HRV analysis is established method of a non-invasive diagnostics of the way autonomic nervous system influence heart rate (HR). HRV analysis is used in practice for evaluation the risk of critical heart arrhythmia. The experiments were performed on 8 unanaesthetized and unrestrained rats (320–395 g), surgically instrumented, which were challenged with increasing doses of histidine (30–750 mg/kg) administered intravenously. ECG was continuously recorded to extract periodograms of consecutive RR segments, and than to assess timing of the following heart cycles. Spectral analysis based on the algorithm of the fast Fourier transformation (FTT) was employed to compare HRV before and during subsequent infusions of increasing histidine concentrations. HRV variables were computed: total spectral power (TSP), low frequency power (LF, within the frequency range of 0,28 to 0,74 Hz), and high frequency power (HF, within the frequency range of 0,74 to 2,2 Hz). Histidine significantly accelerated HR and also substantially enhanced TSP (from $od\ 191,2 \pm 49,6\%$; do $+313,6 \pm 94,5\%$, depending on the dose). The ratio LF/HF was found significantly

increased due to histidine (from $0,436 \pm 0,153$ up to $1,070 \pm 0,295$ – dose of 250 mg/kg), that indicates enhanced role of sympathetic component in the heart rhythm regulation. Such profile of regulatory effects of histidine is potentially deleterious, since it promotes severe cardiac arrhythmias.

Adres: dr Tomasz Wierzba
Katedra i Zakład Fizjologii AMG
ul. Dębinki 1, 80-211 Gdańsk
tel. +58 3491475
e-mail: wierzba@amg.gda.pl