

Е.А. Смирнова, О.Л. Терехина, Д.Д. Мациевский, Т.А. Антипова, Л.П. Кобозева,
А.Б. Мичунская, О.М. Поздняков, С.В. Круглов, Л.Ю. Бахтина, Л.М. Белкина

Влияние аллоксанового диабета на функцию сердечно-сосудистой системы и перекисное окисление липидов у крыс разных генетических линий

Федеральное Государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии Российской Академии медицинских наук», 125315, Москва, ул.Балтийская, 8
Федеральное государственное бюджетное учреждение «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова» РАМН, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

Ранее мы показали, что повышенная врожденная активность системы оксида азота (NO), свойственная крысам линии Август, увеличивает уязвимость к аллоксановому диабету (АлД). Цель исследования состояла в изучении влияния АлД на функцию ССС и интенсивность ПОЛ у крыс с разной активностью системы NO. У крыс Август и Вистар вызывали АлД (аллоксан 125 мг/кг, п/к, однократно) и через 3,5 мес. проводили исследования. АлД вызывал у крыс Август большее падение индекса работы сердца (на 35%), чем у крыс Вистар с АлД (на 17%). У сравниваемых крыс наблюдалось сходное падение скорости расслабления левого желудочка (на 45-49%), но не скорости сокращения. Активация ПОЛ в сердце и в печени, а также NO-системы (уровень нитратов и нитритов в плазме крови) у крыс Август были более выраженными, чем у крыс Вистар. При этом уровень hsp32 у крыс Август падал значительно в большей степени (на 93%), чем у крыс Вистар (на 61%). Патологические изменения в микроциркуляторном русле брыжейки тонкой кишки по характеру и частоте не отличались у сравниваемых крыс. Таким образом, более выраженные при АлД нарушения функции сердца у крыс Август, по сравнению с крысами Вистар, связаны с большей активацией ПОЛ и NO-системы.

Ключевые слова: диабет 1, аллоксан, функция сердца, микрососуды, ПОЛ, NO

Е.А. Smirnova, O.L. Terekhina, D.D. Matzievski, T.A. Antipova, L.P. Kobozeva,
A.B. Michunskaya, O.M. Pozdnyakov, S.V. Kruglov, L.Yu. Bakhtina, L.M. Belkina

Effect of the alloxane diabetes on the cardio-vascular system function and lipid peroxidation in rats of different genetic strains

Federal State Budgetary Institution «Institution of General Pathology and pathophysiology» of the Russian Academy of Medical Science, Russian Federation, 125315, Moscow, Baltiiskaya, 8
Federal State Budgetary Institution «Institution of Pharmacology» of the Russian Academy of Medical Science, Russian Federation, 125315, Moscow, Baltiiskaya, 8

We have previously shown that the innate increased activity of the NO- system, typical for the August rats, increases vulnerability to alloxane diabetes (ALD). The purpose of this study was to investigate the effect of ALD on the cardio-vascular system and lipid peroxidation in rats with different activity of NO-system. The August rats and Wistar rats treated with alloxan (125 mg / kg, s/c, once) were studied 3.5 months after. In August-ALD the double production significantly decreased to a greater extent (by 35%) than in Wistar-ALD (by 17%) compared with the control. As in August-ALD and in Wistar-ALD was observed the similar fall of the relaxation (-dp/dt) of the left ventricle (by 45-49%), but not the contraction rate (+dp/dt). LPO activation in the heart and liver, as well as NO-system (level of nitrates and nitrites in the blood plasma) in August rats were more pronounced than in Wistar rats. The hsp32 level in August rats fell significantly more (by 93%) than in Wistar rats (by 61%). Pathological changes in the microvasculature of the mesostenium were identical in compared rats. Thus, more pronounced cardiac dysfunction in August-ALD, compared with Wistar-ALD, associated with greater activation of lipid peroxidation and NO-system.

Key words: diabetes 1, alloxane, heart contractile function, microvessels, lipid peroxidation, nitric oxide

Сахарный диабет (СД) потенцирует развитие сердечно-сосудистой патологии, проявляющейся в виде кардиомиопатии, ишемической болезни сердца и ангиопатии. У лиц с СД часто наблюдается систолическая и диастолическая дисфункция миокарда, приводящая к развитию сердечной недостаточности [1]. Сходные данные получены на модели экспериментального СД типа 1 (СД1), вызванного у крыс стрептозотоцином (СД1-СТ) [2]. Ангиопатии, особенно выраженные при СД в микроциркуляторном русле (МЦР), в значительной степени обусловлены дисфункцией эндотелия. В развитии диабетической кардиомиопатии и ангиопатии важную роль играет окислительный стресс [3, 4, 5], который приводит к нарушению проницаемости мембран и ионного транспорта, вызывая нарушение функции кардиомиоцитов и эндотелиоцитов. Соответственно антиоксиданты ограничивают повреждение миокарда [6, 7] и сосудов [8], вызванные диабетом. Установлено, что в патогенезе СД важную роль играют не только активные формы кислорода, но и радикалы оксида азота (NO). Так при СД1-СТ нарушения функции сердца (уменьшение ударного и сердечного выброса, фракции изгнания) сопровождаются повышением активности индуцибельной и эндотелиальной NO-синтазы (iNOS) [9]. Выяснилось, что острая гипергликемия вызывает увеличение уровня iNOS, супероксидных радикалов и нитротирозина, что приводит к нарушению функции и апоптозу кардиомиоцитов [10]. Пероксинитриты, образующиеся при взаимодействии NO с супероксиданионами, напрямую оказывают токсическое действие на кардиомиоциты [11] и эндотелиоциты [12], вызывая их дисфункцию и гибель. Важная роль NO в патогенезе СД1 показана на мышах с СД1-СТ, у которых блокада синтеза NO с помощью L-NMMA (L-N^c-monomethyl-arginin) значительно ограничивала гибель бета-клеток поджелудочной железы [13]. В дальнейшем было получено доказательство, что NO принимает прямое участие в апоптозе этих клеток [14]. Однако существующие в литературе данные о роли NO в патогенезе СД1 неоднозначны, а именно, данные как о степени активации NO-системы при СД1 [15, 9], так и об антидиабетической эффективности блокады синтеза NO противоречивы. Действительно, блокада синтеза NO, по некоторым данным, или не влияет на развитие СД1 у крыс [16, 17] или даже увеличивает тяжесть диабета [18]. Ранее мы показали, что врожденная повышенная активность системы NO, свойственная крысам линии Август [19], потенцирует развитие СД1, вызванного аллоксаном [20, 21]. Известно, что аллоксан вызывает гибель бета-клеток за счет активации в них перекисного окисления липидов (ПОЛ) [22]. Вместе с тем, неизвестно, как АД влияет на ССС и интенсивность

свободнорадикальных процессов у животных с врожденной разной активностью системы NO.

В данной работе у крыс линии Август и у крыс популяции Вистар проводили сравнительный анализ влияния длительного АД на функцию сердца, состояние МЦР, активность ПОЛ, уровень гемоксигеназы-1 (hsp32) и активность NO-системы.

Методика

Опыты проводили на крысах-самцах в возрасте 6 мес., исходная масса которых у крыс Вистар составляла $248 \pm 3,7$ г, а у крыс Август, для которых характерна меньшая масса, — $217 \pm 3,4$ г. Диабет вызывали однократным введением аллоксана (alloxan monohydrate, фирмы Sigma, Швейцария) в дозе 125 мг/кг, подкожно. Опыты проводили через 3,5 мес. после инъекции. Сопоставляли уровень гипергликемии с помощью глюкометра (Accu-Chek^R Go фирмы Roche, Германия) в капельке крови, взятой из кончика хвоста крысы, а также динамику смертности, массы животных, степень полидипсии. Степень гипертрофии левого и правого желудочков (ЛЖ и ПЖ) сердца рассчитывали по отношению их массы к массе тела крыс. Во всех сериях опытов на крысах Август и Вистар было по 2 группы животных: контроль и диабет.

Функцию ССС оценивали в условиях относительного физиологического покоя при закрытой грудной клетке под уретановым наркозом (150 мг/кг). С помощью полиэтиленового катетера (PE 10), вводимого в правую сонную артерию, регистрировали систолическое и диастолическое артериальное давление (АД), после чего катетер продвигали в полость ЛЖ и регистрировали параметры функции сердца с помощью датчика ЕМТ-746 на «Мингографе-34» (Siemens-Elema, Швеция). По кривой давления в ЛЖ рассчитывали следующие показатели: частоту сердечных сокращений (ЧСС), систолическое, диастолическое и развиваемое давление (РД), произведение ЧСС на РД (индекс работы сердца, ИРС), максимальные скорости сокращения (+dp/dt) и расслабления миокарда (-dp/dt), которые определяли по скорости подъема и падения давления в ЛЖ.

Состояние МЦР у животных оценивали, используя тотальные пленочные препараты брыжейки тонкой кишки (после фиксации 10% формалином), импрегнированных азотнокислым серебром [23]. Анализ препаратов и изготовление микрофотографий проводили с помощью светового микроскопа Aristoplan (Leitz, Германия) при увеличении 1600, оснащенного цифровой фотокамерой DCM 800 («Shangaro Tele View Optical Instruments Co», Китай). Оцифрованные изображения записывали на компьютер с помощью программы Score Photo («Microsoft», USA) и затем обрабатывали с по-

мощью программы Paint («Microsoft», USA). В каждой из четырех групп было по 5 крыс.

Активность про- и антиоксидантных систем оценивали соответственно по интенсивности ПОЛ и активности каталазы в гомогенатах ЛЖ сердца и печени. Уровень ПОЛ определяли по накоплению ТБК-активных продуктов (ТБКАП) в гомогенатах при индуцированном окислении аскорбатом (0,2 мМ) в условиях 60-минутной инкубации при 37°C. Концентрацию ТБКАП определяли спектрофотометрически по спектру поглощения в диапазоне 500-570 нм [24] в модификации [25] и выражали в единицах оптической плотности (ЕОП) на мг белка. Активность каталазы определяли путем спектрофотометрической регистрации скорости уменьшения концентрации добавленной перекиси водорода (H₂O₂) при длине волны 240 нм [26]. Активность фермента выражали в мкмоль H₂O₂, разлагаемой в минуту на 1 мг белка, используя коэффициент молярной экстинкции для H₂O₂, равный 39,4 М⁻¹ × см⁻¹.

Для характеристики свободнорадикальных процессов важно было определить содержание стресс-белка hsp32, так как окислительный стресс всегда вызывает резкую активацию синтеза этого белка [5], обладающего выраженным антиоксидант-

ным действием при различных патологиях, в том числе, и при экспериментальном диабете [8]. Содержание hsp32 определяли в печени методом Вестерн-блот анализа с использованием первых поликлональных антител (Stressgen) и вторых антител, конъюгированных с пероксидазой хрена («Jackson Immuno Research»). Визуализацию антигенной мишени осуществляли по хемилюминесценции с использованием реактивов «ECL» («Amersham») и рентгенографической пленки («Kodac»). Количественную денситометрическую обработку полученных иммуоблотов проводили путем сканирования и анализа оптической плотности блотов с помощью компьютерной программы Phosphor. Результаты представляли в виде репрезентативных диаграмм, как отношение площади сигнала в пикселях к интенсивности сигнала.

Активность системы NO изучали по суммарному содержанию в плазме крови стабильных метаболитов NO — нитратов и нитритов, отражающих уровень продукции NO в организме [27].

Результаты обрабатывали статистически с использованием t критерия Стьюдента и U-критерия Манна—Уитни. Опыты проводили с соблюдением международных норм по гуманному обращению с экспериментальными животными.

Таблица 1

Состояние крыс Вистар и Август через 3,5 мес. после введения аллоксана (M±m)

Показатели	Вистар		Август	
	Контроль (n = 12)	Диабет (n = 7)	Контроль (n = 15)	Диабет (n = 7)
Масса крыс (г)	512±21	254±11*	285±8	188±8*
Уровень глюкозы в крови (ммоль/л)	5,7±0,4	33,0±0,6*	5,8±0,2	28,0±1,9*
Потребление воды (мл/100 г массы тела в сутки)	9,3±0,85	85,3±7,8*	12,0±1,6	80,6±3,8*

Примечание. n — количество животных в каждой серии опытов. * p < 0,001 — статистически значимо при сравнении с контролями по t-критерию Стьюдента

Таблица 2

Влияние аллоксанового диабета на функцию сердечно-сосудистой системы у крыс Вистар и Август в условиях относительного физиологического покоя

Показатели	Вистар		Август	
	Контроль (n = 9)	Диабет (n = 11)	Контроль (n = 10)	Диабет (n = 12)
ЧСС (уд./мин)	361±12	307±20**	341±8,3	250±11***
АД систолическое (мм рт. ст.)	126±4,8	150±11,5*	139±7,1	134±8,9
АД диастолическое (мм рт. ст.)	79±6,2	108±10,4*	77±4,8	69±6,1^
Развиваемое давление в ЛЖ (мм рт. ст.)	137±6,6	135±10,4	141±4,6	128±5,5
Индекс работы сердца (уд./мин × мм рт. ст.)	49847±3484	41445±3518	48232±1687	31659±2492***^
Скорость сокращения (мм рт.ст /с)	5688±521	4639±382	4550±362	5125±317
Скорость расслабления (мм рт.ст /с)	3417±336	1889±119***	4125±420	2107±124***
Относительная масса ЛЖ	1,55±0,05	1,86±0,07#	2,09±0,05	2,47±0,11#
Относительная масса ПрЖ	0,83±0,04	1,17±0,07#	1,05±0,04	1,27±0,10#

Примечание. n — количество животных в каждой серии опытов. ЛЖ и ПрЖ соответственно левый и правый желудочки. # p < 0,05 — статистически значимо при сравнении с контролями по U-критерию Манна—Уитни; * p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001 — при сравнении с контролями, ^ p < 0,05 — между группами с диабетом по t-критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Состояние крыс Вистар и Август с АлД (Вистар-АлД и Август-АлД) представлено в табл. 1.

Через 3—4 дня после введения аллоксана у сравниваемых крыс содержание глюкозы в крови увеличилось примерно одинаково по сравнению с контролем (в 5—5,8 раза). Максимальная смертность наблюдалась через 3—10 дней после инъекции аллоксана, которая у Август-АлД составляла 36%, а у Вистар-АлД — 20%, общая смертность в течение 3,5 мес. составляла соответственно 48% и 37%. Крысы в обеих группах не прибавляли в весе или немного худели по сравнению с исходной массой. Степень полидипсии была сходной в сравниваемых группах.

Из табл. 2 видно, что диабет вызывал падение ЧСС в обеих группах, у Вистар-АлД ЧСС уменьшалась на 54 уд./мин, а у Август-АлД еще в большей степени — на 91 уд./мин.

АД как систолическое, так и диастолическое у Вистар-АлД было существенно увеличено по сравнению с контролем, а у Август-АлД эти показатели не изменялись. У тех и других крыс наблюдалось небольшое уменьшение РД (на 10—11%) в ЛЖ, в то время как падение ИРС у Вистар-АлД составляло 17%, а у Август-АлД — 35%. Эта более выраженная депрессия функции сердца у Август-АлД, по сравнению с Вистар-АлД, связана в основном с большей брадикардией. Следует отметить, что падение ЧСС у Август-АлД не компенсируется увеличением РД, что обычно наблюдается в норме. В целом, эти факты свидетельствуют в пользу большего угнетения функции сердца у Август-АлД. У сравниваемых крыс с диабетом наблюдалось резкое падение скорости расслабления ЛЖ (на 45—49%), но не скорости сокращения. Отсутствие изменений в систолической функции миокарда, но не в диастолической обнаружено и на модели СД1-СТ [28]. Дисфункция диабетического миокарда как у человека, так и у животных в значительной степени связана с нарушением транспорта Ca^{2+} [29, 30]. У крыс с СД1-СТ дефекты в механизме расслабления связаны с нарушением Ca^{2+} -транспортирующей функции саркоплазматического ретикулула (СПР) кардиомиоцитов и уменьшением уровня Ca^{2+} -АТФазы-2а в СПР, что приводит к нарушению механизма обратного захвата Ca^{2+} [28]. Нарушение транспорта Ca^{2+} в кардиомиоцитах у крыс с СД1-СТ обнаружено и в других работах [31]. Есть основание полагать, что при АлД диабете уменьшение скорости расслабления связано с нарушением тех же механизмов. Следует отметить, что на данной модели диабета у сравниваемых крыс не было сердечной недостаточности, признаком которой является повышение конечно-диастолического давления в ЛЖ (выше 12 мм рт.ст.). У крыс же с АлД этот показатель составлял 3—3,5 мм рт.ст. (в контроле около 0 мм рт.ст.).

Диабет стимулировал у тех и других крыс ремоделирование сердца, выражавшееся в гипертрофии обоих желудочков. Как видно из той же таблицы, гипертрофия ЛЖ была сходной (18% и 21%) у сравниваемых крыс, в то время как гипертрофия ПрЖ желудочка у Вистар-АлД была значительно больше, чем у Август-АлД (соответственно 41% и 20%, $p < 0,01$). Это явление описано у крыс с СД1-СТ, у которых в ЛЖ обнаружены фиброзис и увеличение содержания коллагена, с чем и связывают гипертрофию ЛЖ [2]. Важно отметить, что у Август-АлД гипертрофия обоих желудочков развивается раньше, чем у Вистар-АлД: так, через 1 месяц после введения аллоксана у первых гипертрофия ЛЖ и ПрЖ составляла соответственно 22% ($p < 0,001$) и 24% ($p < 0,001$), в то время как у Вистар-АлД в этот период небольшая гипертрофия сформировалась только в ЛЖ (10%, $p < 0,05$ по критерию U). Следовательно, в более поздние сроки диабета у крыс Август сохраняется такая же гипертрофия, в то время как у крыс Вистар указанные изменения продолжают нарастать. Степень ремоделирования миокарда отражает как увеличение нагрузки, так и повреждение миокарда. У Вистар-АлД гипертрофия ЛЖ в значительной степени может быть связана с повышенным АД, а в ПрЖ — с повышенным давлением в легочной артерии. Однако, как было отмечено, у Август-АлД не происходит увеличения АД, то есть гипертрофия у этих крыс не связана с увеличенной нагрузкой, что говорит о значительной патологической составляющей ремоделирования сердца. Нарушение механизма расслабления миокарда и наличие гипертрофии сердца в обеих группах диабетиков свидетельствует о развитии выраженной кардиомиопатии, которая может быть связана с некротической и апоптотической гибелью кардиомиоцитов [32], что ведет к потере сократительного миокарда и замещению его коллагеном и очагами фиброзиса [2].

Анализ нарушений структуры МЦР, которое при диабете подвергается дисфункции в большей степени, чем макрососуды, показал, что Август-АлД не отличались от Вистар-АлД по характеру и частоте повреждений (рис. 1 на 3-й странице обложки). У тех и других крыс были обнаружены локальные спазмы артериол, дилатация венул, микроаневризмы (рис. 1Б) и повышенная извитость микрососудов. Часто встречаются тромбирование капилляров (рис. 1В), разрывы микрососудов и многочисленные кровоизлияния (рис. 1Г).

Внутрисосудистые изменения характеризуются образованием эритроцитарных агрегатов по типу «монетных столбиков» или более плотных образований, характерных для сладж-синдрома. Внесосудистые изменения представлены выходом эритроцитов, клеточными инфильтратами и периваскулярным отеком. Описанные тяжелые нарушения в структуре и функции МЦР свидетельствуют о выключении большой

части микрососудов из кровообращения, что приводит к тяжелым нарушениям обменных процессов в окружающих тканях. Есть основание полагать, что наблюдавшиеся повреждения микрососудов, гипертрофия и дисфункция миокарда, вызванные АлД, в значительной степени обусловлены активацией ПОЛ и NO-системы, которые показаны ниже.

АлД вызывал в сердце у крыс Август, в отличие от крыс Вистар, значительную активацию ПОЛ (рис.2А.), которая выражалась в увеличении исходного уровня ТБКАП в миокарде на 66%. При этом чувствительность к окислению не отличалась от контроля, хотя по абсолютной величине у крыс Август-АлД уровень ТБКАП во время инкубации всегда был значительно выше контроля. Степень активации каталазы при АлД была сходной у крыс Вистар и Август и составляла соответственно 37% и 48%. В печени резкая активация ПОЛ под влиянием диабета наблюдалась в обеих сравниваемых группах (рис. 2Б.). Это явление выражалось как в падении уровня ТБКАП, так и в чувствительности к окислению. У Август-АлД, по сравнению с Вистар-АлД, наблюдается более резкое снижение уровня ТБКАП в печени, а, следовательно, и более выраженная активация ПОЛ.

При этом активность каталазы у Август-Д падает в большей степени, чем у Вистар-АлД — соответственно на 28% и 10% по сравнению с контролем. Феномен падения уровня ТБКАП при АлД, по нашему мнению, связан с чрезмерной активацией ПОЛ, которая привела к истощению субстрата окисления — жирнокислотных остатков фосфолипидов мембран. Падение чувствительности к окислению, особенно выраженное у крыс Август-АлД, также свидетельствует об истощении мембранных липидов и о большем повреждении клеточных мембран у этих крыс. Важно отметить, что значительное увеличение уровня ТБКАП как в сердце, так и в печени ранее наблюдали только через 3 дня после введения аллоксана [21]. Очевидно, что падение содержания ТБКАП, так же как и увеличение этого показателя по сравнению с контрольным уровнем, отражает степень активации ПОЛ.

Диабет вызывал у сравниваемых крыс резкое падение содержания hsp32, но у Август-АлД значительно большее, чем у Вистар-АлД (рис. 3).

Возможно, это различие является одной из причин более выраженной активации ПОЛ у первых, по сравнению с вторыми. Важно отметить, что в острый период АлД (через 2 недели) у тех и других крыс мы наблюдали не падение, а наоборот, резкое увеличение (в 4 раза) уровня hsp32. Эти факты свидетельствуют об истощении антиоксидантной защиты при хроническом АлД.

Таким образом, при диабете у крыс Август более выраженные нарушения функции сердца, чем у крыс Вистар, сопровождаются и более значительной акти-

вацией ПОЛ и падением антиоксидантной активности. Это явление, с большой долей вероятности, может быть связано с более выраженной активацией системы NO у Август-АлД, которая, как было показано ранее, наблюдается в острый период АлД [21]. При хроническом диабете наблюдается та же закономерность. На рис. 4 видно, что в контроле исходный уровень нитратов и нитритов в сравниваемых группах сходный, но у Август-АлД уровень метаболитов увеличивается на 98%, а у Вистар-АлД на 61%.

Таким образом, и при длительно существующем АлД более выраженная активация ПОЛ у крыс Август, по сравнению с крысами Вистар, сопровождается увеличенной активацией системы NO. Установлено, что увеличение уровня NO-радикалов приводит к образованию пероксинитритов, которые, являясь мощными окислителями

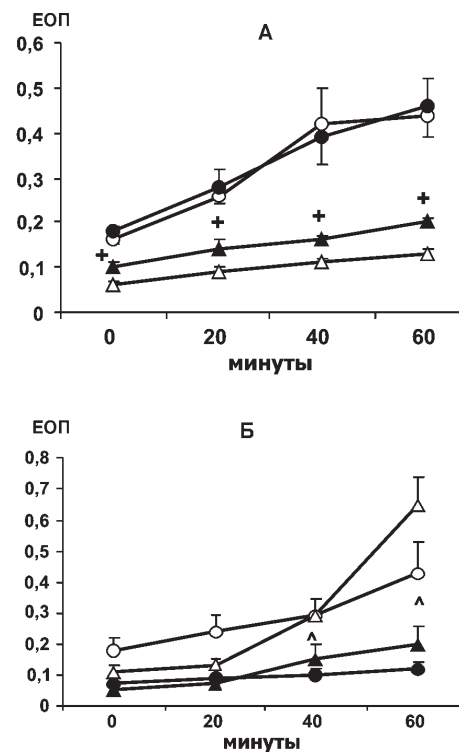


Рис. 2. Влияние аллоксанового диабета на накопление ТБКАП в гомогенатах миокарда (А) и печени (Б) у крыс Вистар и Август при индуцированном окислении в условиях 60-минутной инкубации. По оси ординат — уровень ТБКАП в относительных оптических единицах (ЕОП). По оси абсцисс — время инкубации в минутах. Белые и черные кружки — соответственно контроль и диабет в группах крыс Вистар, белые и черные треугольники — контроль и диабет у крыс Август. На рис. 1А — + — статистически значимые отличия диабета от контроля у крыс Август — $p < 0,001$; статистически значимые отличия между диабетиками Вистар и Август во всех точках инкубации: от $p < 0,02$ до $p < 0,01$ по t критерию Стьюдента. На рис. 1Б — статистически значимые отличия диабета от контроля у крыс Август во всех точках составляют от $p < 0,05$ до $p < 0,01$, а у крыс Вистар — от $p < 0,01$ до $p < 0,003$ по t критерию Стьюдента; ^ — статистически значимые отличия между группами с диабетом — $p < 0,05$ по U критерию Манна-Уитни.

индуцируют процессы ПОЛ в мембранах [33], вызывают одонитевые разрывы в ДНК [34] и нитрование белков [35]. Одним из механизмов активации NO-синтазы при диабете опосредуется ядерным фактором транскрипции NF- κ B (nuclear transcription factor κ B) [36]. На мышцах было показано, что уровень NF- κ B в поджелудочной железе возрастает уже через 30 мин после инъекции аллоксана [37]. Кислородные радикалы, в избытке образующиеся при гипергликемии, активируют этот фактор [37], который, как показано, может напрямую активиро-

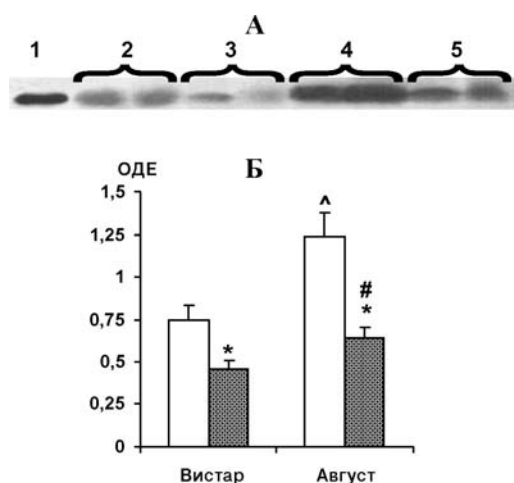


Рис. 3. Влияние аллоксанового диабета на уровень гемоксигеназы-1 (hsp32) в печени у крыс Август и Вистар при аллоксановом диабете. А — репрезентативные иммуноблоты hsp32: 1 — маркер hsp32, 2, 3 — крысы Вистар — соответственно контроль и диабет; 4, 5 — крысы Август в том же порядке.

Б — где по оси ординат — уровень hsp32 в относительных денситометрических единицах (ОДЕ). Белые столбики — контроль, заштрихованные — диабет. Статистически значимые отличия: всюду $p < 0,05$ по U-критерию Манна—Уитни — ^ — между контролями, # — между диабетиками и контролями, * — между диабетиками.

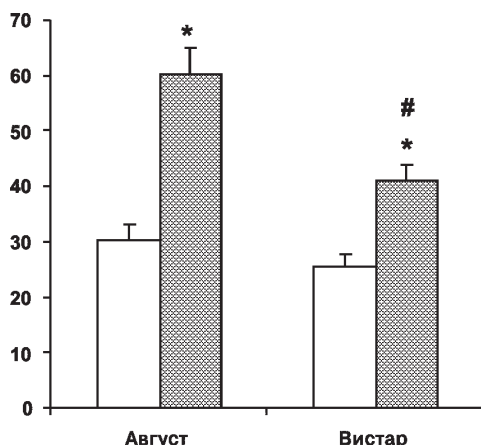


Рис. 4. Влияние аллоксанового диабета на уровень нитратов и нитритов в плазме крови у крыс Август и Вистар с аллоксановым диабетом. Белые столбики — контроль, заштрихованные — диабет.

По оси ординат — уровень метаболитов в мМ. * — статистически значимое отличие диабета от контроля — $p < 0,001$ по t-критерию Стьюдента, # — между диабетиками — $p < 0,002$ по t-критерию Стьюдента.

вать iNOS [36], что и приводит к гиперпродукции NO. Вместе взятые эти факты дают основание считать, что вызванная диабетом более резкая активация ПОЛ у крыс Август связана с большей активацией NO-системы. О важной роли NO в активации ПОЛ свидетельствует ранее установленный факт [21], что блокада гиперпродукции NO с помощью L-NNA в острый период АД нормализует интенсивность ПОЛ, уровень iNOS и 3-нитротирозина (маркера уровня пероксинитритов).

В целом, представленные данные дают основание считать, что более выраженные нарушения функции сердца при АД у крыс Август, по сравнению с крысами Вистар, связаны с большей активацией ПОЛ и NO-системы.

Список литературы

1. Fein F.S., Sonnenblick E.H. Diabetic cardiomyopathy // Prog Cardiovasc Dis. — 1985. — V.27, №4. — P.255-270.
2. Loganathan R., Bilgen M., Al-Hafez B., Smirnova I.V. Characterization of alterations in diabetic myocardial tissue using high resolution MRI // Int J Cardiovasc Imaging. — 2006. — V.22, №1. — P. 81-90.
3. Fiordaliso F., Bianchi R., Staszewsky L. et al. Antioxidant treatment attenuates hyperglycemia-induced cardiomyocyte death in rats // J Mol Cell Cardiol. — 2004. — V.37, №5. — P. 959-968.
4. Wold L.E., Ren J. Streptozotocin directly impairs cardiac contractile function in isolated ventricular myocytes via a p38 map kinase-dependent oxidative stress mechanism // Biochem Biophys Res Commun. — 2004. — V.318, №4. — P. 1066-1071.
5. Abraham N.G., Kappas A. Heme oxygenase and the cardiovascular-renal system // Free Radic Biol Med. — 2005. — V.39, №1. — P. 1-25.
6. Muruganandan S., Gupta S., Kataria M. et al. Mangiferin protects the streptozotocin-induced oxidative damage to cardiac and renal tissues in rats // Toxicology. — 2002. — V.176, №3. — P.165-173.
7. Shen X., Zheng S., Metreveli N.S., Epstein P.N. Protection of cardiac mitochondria by overexpression of MnSOD reduces diabetic cardiomyopathy // Diabetes. — 2006. — V.55, №3. — P. 798-805.
8. Kruger A.L., Peterson S.J., Schwartzman M.L. et al. Up-regulation of heme oxygenase provides vascular protection in an animal model of diabetes through its antioxidant and antiapoptotic effects // J Pharmacol Exp Ther. — 2006. — V.319, №3. — P. 1144-1152.
9. Crespo M.J., Zalacain J., Dunbar D.C. et al. Cardiac oxidative stress is elevated at the onset of dilated cardiomyopathy in streptozotocin-diabetic rats // J. Cardiovasc. Pharmacol. Therap. — 2008. — V.13, №1. — P. 64-71.
10. Ceriello A., Quagliaro L., D'Amico M. et al. Acute hyperglycemia induces nitrotyrosine formation and apoptosis in perfused heart from rat // Diabetes. — 2002. — V.51, №4. — P. 1076-1082.
11. Kohr M.J., Roof S.R., Zweier J.L., Ziolo M.T. Modulation of myocardial contraction by peroxynitrite // Front Physiol. — 2012. — V.3. — Article 468.
12. Kruger A.L., Peterson S., Turkseven S. et al. D-4F Induces heme oxygenase-1 and extracellular superoxide dismutase, decreases endothelial cell sloughing, and improves vascular reactivity in rat model of diabetes // Circulation. — 2005. — V.111, №23. — P. 3126-34.
13. Lukic M.L., Stosic-Grujicic S., Ostojic N. и др. Inhibition of nitric oxide generation affects the induction of diabetes by streptozocin in mice // Biochem Biophys Res Commun. — 1991. — V.178, №3. — P. 913-920.

14. *McDaniel M.L., Corbett J.A., Kwon G., Hill J.R.* A role for nitric oxide and other inflammatory mediators in cytokine-induced pancreatic beta-cell dysfunction and destruction // *Adv. Exp. Med. Biol.* — 1997. — V.426. — P. 313-319.
15. *Cellek S., Anderson P.N., Foxwell N.A.* Nitroergic neurodegeneration in cerebral arteries of streptozotocin-induced diabetic rats: a new insight into diabetic stroke // http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Cellek%20S%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=15616031 *Diabetes.* — 2005. — V.54. — P. 212-219.
16. *Haluzik M., Nedvidkova J., Skrha J.* The influence of methylene blue and L-name on the development of streptozotocin-induced diabetes in rats // *Sb Lek.* — 1999. — V.100, №3. — P. 213-217.
17. *Vasilijevic A., Buzadzic B., Korac A.* Beneficial effects of L-arginine nitric oxide-producing pathway in rats treated with alloxan // *J Physiol.* — 2007. — V.584(Pt 3). — P. 921-933.
18. *Maree A., Peer G., Iaina A.* et al. Nitric oxide in streptozotocin-induced diabetes mellitus in rats // *Clin. Sci. (Lond).* — 1996. — V.90, №5. — P.379-384.
19. *Микоян В.Д., Кубрина Л.Н., Манухина Е.Б.* и др. Различие в стимуляции синтеза NO при тепловом шоке у крыс генетически различных популяций // *Бюлл. эксперим. биол. и мед.* — 1996. — Т. 121, №6. — С. 634-637.
20. *Белкина Л.М., Смирнова Е.А., Терехина О.Л.* и др. Роль оксида азота в патогенезе ишемии миокарда и сахарного диабета типа 1 у крыс разных генетических линий // *Патогенез.* — 2012. — Т. 10, №2. — С. 44-58.
21. *Белкина Л.М., Терехина О.Л., Антипова Т.А.* и др. Влияние блокады синтеза NO на свободно-радикальные процессы при остром аллоксановом диабете у крыс разных генетических линий // *Рос. Физиол. Ж. им. И.М.Сеченова.* — 2013. — Т. 99, №11. — С. 1273-1281.
22. *Lenzen S.* The Mechanisms Of Alloxan- And Streptozotocin-Induced Diabetes // *Diabetologia.* — 2008. — V.51. — P. 216-226.
23. *Куприянов В.В., Караганов Я.Л., Козлов В.И.* Микроциркуляторное русло. — М.: Медицина, 1975.
24. *Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K.* Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction // *Analyt. Biochem.* — 1979. — V. 95. — P. 351-358.
25. *Kikugawa K., Kojima T., Yamaki S., Kosugi H.* Interpretation of the thiobarbituric acid reactivity of rat liver and brain homogenates in the presence of ferric ion and ethylenediaminetetraacetic acid // *Analyt. Biochem.* -1992.- V.202.- P. 249—255.
26. *Luck H.* Catalase / Bergmeyer H.U. (ed): *Methods of enzymatic analysis* // New York, Verlag-Chemie Academic Press. — 1963. — P. 885 — 888.
27. *Benjamin N., Vallance P.* Plasma nitrite as a marker of nitric oxide production // *Lancet.* -1994. — V.344, №8927.- P. 960.
28. *Lacombe V.A., Viatchenko-Karpinski S., Terentyev D.* et al. Mechanisms of impaired calcium handling underlying subclinical diastolic dysfunction in diabetes. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2007 Nov;293(5):R1787-97.
29. *Pierce G.N., Russell J.C.* Regulation of intracellular Ca²⁺ in the heart during diabetes // *Cardiovasc Res.* - 1997. — V.34, №1. — P. 41-47.
30. *Sridhar A., Emami S., Bonagura J.D.* et al. Mechanisms of impaired calcium handling underlying subclinical diastolic dysfunction in diabetes // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* — 2007. — V.293, №5. — P. 1787-1797.
31. *Shao C.H., Rozanski G.J., Patel K.P., Bidasee K.R.* Dyssynchronous (non-uniform) Ca²⁺ release in myocytes from streptozotocin-induced diabetic rats // *J Mol Cell Cardiol.* - 2007.- V.42, №1.- P.234-246.
32. *Frustaci A., Kajstura J., Chimenti C.* et al. Myocardial cell death in human diabetes // *Circ. Res.* — 2000. — V.87, №12. — P. 1123-1132.
33. *Radi R., Beckman J.S., Bush K.M., Freeman B.A.* Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide // *Arch Biochem Biophys.* — 1991. — V.288, №2. — P. 481-487.
34. *Salgo M.G., Bermudez E., Squadrito G.L., Pryor W.A.* Peroxynitrite causes DNA damage and oxidation of thiols in rat thymocytes [corrected] // *Arch Biochem Biophys.* — 1995. — V.322, №2. — P. 500-505.
35. *Peluffo G., Radi R.* Biochemistry of protein tyrosine nitration in cardiovascular pathology // *Cardiovasc. Res.* — 2007. — V.75. — P. 291-302.
36. *Siebenlist U., Franzoso G., Brown K.* Structure, regulation and function of NF-kappa B // *Annu. Rev. Immunol.* — 1994. — V.10. — P. 405-455.
37. *Ho E., Chen G., Bray T.M.* supplementation of n-acetylcysteine inhibits nfkappab activation and protects against alloxan-induced diabetes in cd-1 mice // *FASEB J.* — 1999. — v.13. — p.1845-1854.

Поступила 23.12.13

Сведения об авторах:

Смирнова Елена Александровна — к.б.н., с.н.с. лаб. регуляторных механизмов стресса и адаптации ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН»

Терехина Ольга Леонидовна — н.с. лаб. регуляторных механизмов стресса и адаптации ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН»

Мацневский Дмитрий Дмитриевич — к.т.н., зав. лаб.

Антипова Татьяна Алексеевна — к.б.н., зав. лаб. нейрофармакологии, ФГБУ «НИИ Фармакологии» РАМН

Кобозева Людмила Петровна — к.б.н., в.н.с. лаб. патоморфологии, ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН

Мичунская Александра Борисовна — к.б.н., в.н.с. лаб. патоморфологии, ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН

Поздняков Олег Михайлович — д.м.н., профессор, член-корр РАМН, зав. лаб. патоморфологии, ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН

Круглов Сергей Васильевич — к.б.н., с.н.с. лаб. регуляторных механизмов стресса и адаптации ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН

Бахтина Лидия Юрьевна — к.б.н., в.н.с. лаб. регуляторных механизмов стресса и адаптации ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН

Белкина Людмила Михайловна — д.б.н., профессор, главный научный сотрудник лаб. регуляторных механизмов стресса и адаптации, ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН