

Е.Н. Кравчук¹, Е.Н. Гринева¹, М.М. Галагудза^{1,2}, А.А. Байрамов¹

Влияние метформина на устойчивость миокарда к ишемии у крыс с неонатальным стрептозотоциновым сахарным диабетом 2-го типа

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение Федеральный Центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова Минздрава России, 197341, Санкт-Петербург, ул. Акkuratова, 2

² Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава России, 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6/8

На модели глобальной ишемии-реперфузии изолированного сердца крысы изучены эффекты предварительного введения метформина на устойчивость миокарда к ишемии у животных с неонатальным стрептозотоциновым сахарным диабетом 2 типа (СД2). Метформин не оказывал достоверного эффекта на размер инфаркта у здоровых животных и животных с СД2. В то же время, размер инфаркта при СД2 был существенно ниже, чем в контроле, что является подтверждением феномена метаболического прекондиционирования. Использованный протокол введения метформина не обеспечивает достоверного кардиопротективного эффекта у животных с СД2.

Ключевые слова: метформин, сахарный диабет 2 типа, сердце, ишемия, реперфузия, инфаркт миокарда

E.N. Kravchuk¹, E.N. Grineva¹, M.M. Galagudza^{1,2}, A.A. Bairamov¹

The effect of metformin on myocardial tolerance to ischemia in rats with Diabetes mellitus type 2

¹ Almazov Federal Heart, Blood and Endocrinology Centre, 2 Akkuratova str., St. Petersburg, 197341, Russia

² I.P. Pavlov State Medical University, 6/9, Lva Tolstogo street, St. Petersburg, 197089, Russia

The effect of metformin on myocardial sensitivity to ischemia in rats with neonatal streptozotocin T2DM was investigated using the model of global ischemia-reperfusion in the isolated perfused heart. Metformin administration had no effect on infarct size. At the same time, infarct size in T2DM was significantly lower than in controls, which is indicative of the phenomenon of metabolic preconditioning in T2DM. The protocol of metformin administration used in this study had not afforded a significant cardioprotective effect in animals with T2DM.

Key words: diabetes mellitus type 2, biguanides, metformin, infarct size, metabolic preconditioning

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) является ведущей причиной смерти у пациентов с сахарным диабетом 2 типа (СД2) [8], в связи с чем в настоящее время ведется активный поиск фармакологических препаратов, влияющих не только на уровень гликемии, но и на сердечно-сосудистый прогноз у пациентов с сочетанием СД2 и ИБС. В последние годы показано, что наиболее часто применяемый препарат из группы бигуанидов метформин, кроме основного сахароснижающего эффекта, обладает другими плейотропными эффектами: противоишемическим действием [5, 6, 14], положительным влиянием на гемореологию [11, 12], липидный спектр крови [12].

Механизмы снижения риска развития сердечно-сосудистых осложнений под действием бигуанидов остаются малоизученными. В некоторых исследованиях были показаны вазопротективные эффекты метформина [4, 13]. Единичные работы посвящены оценке возможного кардиопротективного действия метформина, в том числе у животных с сахарным диабетом 1 типа (СД1) и СД2 [6, 10, 14]. Тем не менее, на сегодняшний день практически не изучен вопрос о том, оказывает ли метформин инфаркт-лимитирующий эффект при регулярном парентеральном введении у животных с СД2.

Цель исследования — изучение инфаркт-лимитирующего эффекта метформина у крыс с СД2 и здоровых животных, на модели глобальной ишемии-реперфузии изолированного сердца при интраперитонеальном введении препарата.

Для корреспонденции: Кравчук Екатерина Никодимовна, аспирант ФГБУ «ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова» Минздрава России. E-mail: kravchuke@rambler.ru

Методика

Модель сахарного диабета 2 типа. В данной работе использовали модель неонатального стрептозотоцинового СД₂, индуцированного однократной внутривентриальной инъекцией стрептозотоцина в дозе 65 мг/кг, растворенного в цитратном буфере (рН 5,5), на 3—4 сут. жизни крысам линии Wistar [1]. Перфузию изолированного сердца проводили через 10—12 нед. после индукции СД₂.

Перфузия изолированного сердца [3] и моделирование инфаркта. Наркоз осуществлялся уретаном в дозе 1200 мг/кг внутривентриально. После торакотомии сердце извлекали из грудной полости и подключали к модифицированному аппарату Лангендорфа (ООО «Кардиопротект», Санкт-Петербург). Перфузию осуществляли ретроградно через аорту оксигенированным буфером Кребса—Хенселейта под постоянным давлением 80 мм рт. ст. В течение всего эксперимента температура сердца и буфера поддерживалась на уровне 37°C. После 15-минутного периода стабилизации моделировали инфаркт миокарда путем создания 30-минутной глобальной ишемии с последующей 120-минутной реперфузией.

Протокол эксперимента включал 4 группы животных:

1. Контроль (К) (n = 13): здоровые крысы, получавшие инъекции физиологического раствора в течение 3 сут. перед проведением эксперимента.

2. Контроль + метформин (КМ) (n = 12): здоровые крысы, получавшие интраперитонеально метформин (Глюкофаж, Nусomed) в дозе 200 мг/кг в течение 3 сут. перед экспериментом.

3. СД₂ (n = 12): крысы с развившимся СД₂, получавшие инъекции 0,9% физиологического раствора в течение 3 сут. перед экспериментом.

4. СД₂ + метформин (СД₂М) (n = 7): крысы с развившимся СД₂, получавшие метформин по той же схеме, что и в группе КМ.

Методика определения размера инфаркта. Размер инфаркта определяли планиметрическим методом после 15-минутной инкубации срезов сердца в 1%-ном растворе трифенилтетразолия хлорида (ТТХ) при 37°C. Окрашенные срезы фотографировали цифровой камерой Olympus, сопряженной со стереомикроскопом МБС-10 (ЛОМО, Санкт-Петербург). Площадь ТТХ-негативных зон, а также общую площадь каждого среза вычисляли с использованием программы PhotoShop 6.0. Размер инфаркта выражали в процентах от общей площади среза и вычисляли среднее значение для данного сердца.

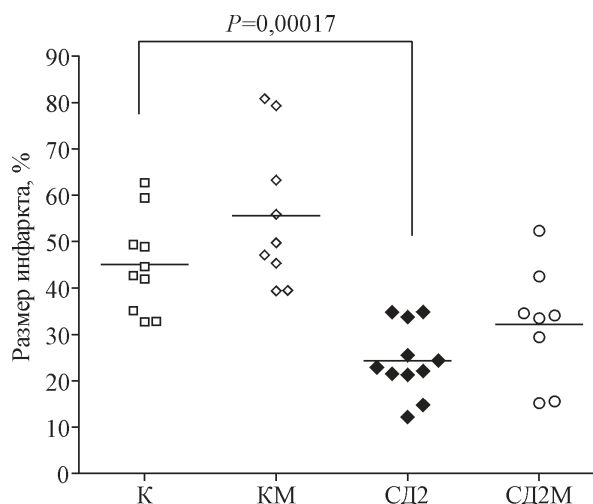
Статистический анализ полученных результатов проводился с помощью программного пакета SPSS 12.0.RU for Windows. Значимость различий показателей оценивалась с помощью непараметрического критерия Манна—Уитни для независимых выборок. Показатели представлены в виде «среднее ± стандартное отклонение». Различия расценивались как статистически значимые при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Масса животных и уровень гликемии в экспериментальных группах. В контрольной группе масса животных на момент выполнения перфузии сердца составила 187 ± 32 г, а в группе с СД₂ она была значимо ниже и составляла 145 ± 13 г. Уровень гликемии в венозной крови перед выполнением перфузии сердца в группах К, КМ, СД₂ и СД₂М составил соответственно $6,0 \pm 0,6$; $6,4 \pm 0,6$; $9,5 \pm 3,3$ ($p < 0,05$ в сравнении с К) и $8,2 \pm 1,6$ ммоль/л. В группе СД₂М на фоне введения метформина не произошло значимого снижения уровня гликемии, что, вероятно, связано с малой продолжительностью терапии.

Размер зоны инфаркта. Данные по размеру инфаркта в различных группах приведены на рисунке. В контроле размер инфаркта составил $45,0 \pm 10,4\%$. Введение здоровым животным метформина не приводило к уменьшению размера инфаркта ($55,6 \pm 15,8\%$). При этом у животных с верифицированным СД₂ размер инфаркта был существенно меньше, чем в контроле ($24,4 \pm 7,6\%$, $p < 0,001$). Терапия метформином не приводила к значимому увеличению или уменьшению размера инфаркта у животных с СД₂ ($37,7 \pm 8,3\%$).

Ранее при оценке влияния однократного введения метформина на выраженность ишемического повреждения миокарда *in vivo* у здоровых мышей и мышей с генетической моделью СД₂ было показано уменьшение ишемического повреждения миокарда при отсутствии влияния метформина на уровень гликемии [6]. На модели изолированного сердца здоровых крыс также изучались



Размер зоны инфаркта в экспериментальных группах значимо меньше в группах СД₂ и СД₂М по сравнению с группами К и КМ.

К — группа контроля; КМ — группа контроля, получавшая терапию метформином; СД₂ — группа с сахарным диабетом 2 типа; СД₂М — группа с сахарным диабетом 2 типа, получавшая терапию метформином.

острые эффекты метформина, причем препарат вводился непосредственно в левый желудочек до и после кратковременной глобальной ишемии [10]. При этом были получены положительные эффекты в виде существенного повышения коронарного потока и менее выраженного снижения ударного объема по сравнению с контролем.

Хроническое пероральное введение метформина в течение 6 недель в возрастающей концентрации животным с индуцированным СД1 оказывало сахароснижающий эффект и, кроме того, приводило к улучшению ослабленного при СД1 сократительного ответа миокарда на увеличение преднагрузки [14].

Результаты данной работы свидетельствуют о том, что в использованных дозировке, пути введения и сроке терапии метформин не оказывал кардиопротективного эффекта как при экспериментальном СД2, так и при его отсутствии. С другой стороны, в исследовании подтверждено существование феномена метаболического прекодиционирования (МПК) [7, 9], развивающегося при СД1 и СД2 у крыс и проявляющегося в парадоксальном повышении устойчивости миокарда к ишемическому повреждению [2]. В качестве возможных механизмов МПК рассматриваются активация АТФ-чувствительных калиевых каналов кардиомиоцитов, снижение интенсивности гликолиза и изменения функции сарколеммальных ионных каналов.

Принципиальная возможность ограничения острого ишемического-реперфузионного повреждения миокарда под действием метформина требует дальнейшего уточнения с учетом таких факторов, как продолжительность ишемии, дозировка метформина, протокол его введения.

Работа выполнена в научно-исследовательской лаборатории метаболизма миокарда Института экспериментальной медицины ФГБУ «ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова» Минздрава России.

Список литературы

1. **Багров Я.Ю., Манусова Н.Б.** и др. Эндогенный ингибитор альфа-1 Na/K-АТФазы маринобуфагенин — новый фактор патогенеза сахарного диабета // Докл. акад. наук. — 2005. — Т. 404, №3. — С. 333—337.
2. **Галагудза М.М., Некрасова М.К., Сыренский А.В., Нифонтов Е.М.** Устойчивость миокарда к ишемии и эффек-

тивность ишемического прекодиционирования при экспериментальном сахарном диабете // Росс. физиол. журнал им. И.М. Сеченова. — 2006. — Т. 92, №3. — С. 284—291.

3. **Минаян С.М., Галагудза М.М.** и др. Методика перфузии изолированного сердца крысы // Рег. кров. и микроцирк. — 2009. — Т. 8, №4. — С. 54—59.

4. **Bhalla R.C., Toth K.F., Tan E.** et al. Vascular Effects of Metformin Possible Mechanisms for Its Antihypertensive Action in the Spontaneously Hypertensive Rat // Am. J. Hypertens. — 1996. — Vol. 9, №6. — P. 570—576.

5. **Bhamra G.S., Hausenloy D.J., Davidson S.M.** et al. Metformin protects the ischemic heart by the Akt-mediated inhibition of mitochondrial permeability transition pore opening // Basic Res. Cardiol. — 2008. — Vol. 103, №3. — P. 274—284.

6. **Calvert J.W., Gundewar S., Jha S.** et al. Acute Metformin Therapy Confers Cardioprotection Against Myocardial Infarction Via AMPK-eNOS-Mediated Signaling // Diabetes. — 2008. — Vol. 57, №3. — P. 696—705.

7. **Hardie D.G., Carling D., Carlson M.** The AMP-activated/SNF1 protein kinase subfamily: metabolic sensors of the eukaryotic cell? // Annu. Rev. Biochem. — 1998. — Vol. 67. — P. 821—855.

8. **Hurst R.T., Lee R.W.** Increased incidence of coronary atherosclerosis in type 2 diabetes mellitus: mechanisms and management // Ann. Intern. Med. — 2003. — Vol. 139, №10. — P. 824—834.

9. **Kemp B.E., Stapleton D., Campbell D.J.** et al. AMP-activated protein kinase, super metabolic regulator // Biochem. Soc. Trans. — 2003. — Vol. 31. — P. 162—168.

10. **Legtenberg R.J., Houston R.J., Oeseburg B., Smits P.** Metformin improves cardiac functional recovery after ischemia in rats // Horm. Metab. Res. — 2002. — Vol. 34, №4. — P. 182—185.

11. **Muller S., Denet S., Candiloros H.** et al. Action of metformin on erythrocyte membrane fluidity in vitro and in vivo // Eur. J. Pharmacol. — 1997. — Vol. 337, №1. — P. 103—110.

12. **Nagi D.K., Yudkin J.S.** Effects of metformin on insulin resistance, risk factors for cardiovascular disease, and plasminogen activator inhibitor in NIDDM subjects. A study of two ethnic groups // Diabetes care. — 1993. — Vol. 16, №4. — P. 621—629.

13. **Sartoretto J.L., Melo G.A., Carvalho M.H.** et al. Metformin treatment restores the altered microvascular reactivity in neonatal streptozotocin-induced diabetic rats increasing NOS activity, but not NOS expression // Life Sci. — 2005. — Vol. 77, №21. — P. 2676—2689.

14. **Verma S., McNeill J.H.** Metformin improves cardiac function in isolated streptozotocin-diabetic rat hearts // Am. J. Physiol. — 1994. — Vol. 266. — P. 714—719.

Поступила 24.09.12

Сведения об авторах:

Гринева Елена Николаевна, д-р мед. наук, рук. Института эндокринологии ФГБУ «ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова» Минздрава России

Галагудза Михаил Михайлович, д-р мед. наук, рук. Института экспериментальной медицины ФГБУ «ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, проф. каф. патофизиологии ГОУ ВПО «СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова»

Байрамов Алекбер Азизович, д-р мед. наук, зав. лаб. клинической эндокринологии с группой нейроэндокринологии Института эндокринологии ФГБУ «ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова» Минздрава России