

ВЛИЯНИЕ АМИНОГУАНИДИНА НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В МИОКАРДЕ КРЫС РАЗЛИЧНОГО ПОЛА ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Хара М.Р.¹, Головач Н.А.²

¹Тернопольский национальный педагогический университет им. В. Гнатюка, Тернополь, Украина, khara_m@list.ru

²Тернопольский государственный медицинский университет им. И.Я. Горбачевского, Тернополь, Украина, e-mail: nelyazadorozhna@gmail.com

В опытах на половозрелых самцах и самках крыс изучено влияние аминогуанидина на биохимические процессы в сердце при экспериментальном стрептозотоциновом диабете (СД). В крови животных определяли уровень гликозилированного гемоглобина, содержание нитрит аниона, мочевины, в миокарде желудочков – пировиноградной кислоты, содержание продуктов перекисного окисления липидов, активность СОД, каталазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы. Установлено, что развитие СД на фоне аминогуанидина сопровождается более выраженной гипергликемией и интенсивным накоплением в крови гликозилированного гемоглобина, существенными нарушениями метаболических процессов в миокарде, ростом проявлений оксидационного стресса и угнетением активности АОС. Достоверно отмечено, что выраженность изменений зависит в том числе и от пола: лабораторные данные подтвердили высокую чувствительность миокарда самцов на ранних этапах наблюдения, а в более поздние – у самок. Полученные результаты позволяют предположить, что главным механизмом на различных этапах развития диабетической кардиомиопатии является нарушение синтеза оксида азота.

Ключевые слова: сахарный диабет, миокард, метаболизм, аминогуанидин, пол.

THE IMPACT OF AMINOGUANIDINE ON METABOLIC PROCESSES IN MYOCARDIUM IN RATS OF DIFFERENT GENDERS WITH STREPTOZOTOCIN DIABETES

Khara M.R.¹, Golovach N.A.²

¹Ternopil National pedagogical university n.a. V. Hnatyuk, Ternopil, Ukraine, e-mail: khara_m@list.ru;

²Ternopil state medical university n.a. I.Ya. Horbachevsky, Ternopil, Ukraine, e-mail: nelyazadorozhna@gmail.com

Based on the experiments on adult male and female rats it has been studied the effect of aminoguanidine on biochemical processes in the heart during experimental streptozotocin-induced diabetes. The level of glycosylated hemoglobin, nitrite anion and urea has been determined in animal blood; the levels of pyruvic acid, lipid peroxidation products, the activity of SOD, catalase, glutathione peroxidase and glutathione reductase was determined in the myocardium of the ventricles. It was established that the development of diabetes with aminoguanidine is accompanied by more severe hyperglycemia and intensive accumulation in blood of glycosylated hemoglobin, more substantial violations of metabolic processes in the myocardium, increased manifestations of oxidative stress and inhibition of the activity of the AOS. It has been noted with a high degree of reliability that the severity of changes depends, among other things, on gender - laboratory data confirmed the higher sensitivity of myocardium in males in the early stages of observation, and in females in later stages. The results suggest that the main mechanism at different stages of diabetic cardiomyopathy is a violation of nitric oxide synthesis.

Keywords: diabetes mellitus, myocardial, metabolism, aminoguanidine, sex.

Актуальность проблемы сахарного диабета обусловлена тем, что в ежегодных отчетах ВОЗ среди факторов поддержания высокого показателя сердечно-сосудистых нарушений существенное место занимают кардиомиопатия и вазопатия диабетического генеза [7; 9; 10]. В основе их патогенеза лежит нарушение метаболизма окиси азота (NO), который выполняет жизненно важную роль в регуляции метаболических процессов и функциональной активности миокарда и сосудов [2; 3]. На данном этапе развития медицины все чаще

обращают внимание на присутствие гендерной составляющей не только в статистике патологии сердца, но и сахарного диабета [7; 9]. Известно, что сахарным диабетом 2 типа чаще страдают женщины, тяжесть течения которого возрастает с возрастом. В то же время в молодом и среднем возрасте сердечно-сосудистыми заболеваниями чаще страдают мужчины, а при достижении женщинами периода менопаузы это различие нивелируется, что объясняется значительными защитными свойствами эстрогенов в качестве антиоксидантов [1; 4; 6]. Учитывая выше сказанное, интерес представляет изучение гендерных аспектов роли системы оксида азота в патогенезе нарушений метаболизма в сердце при развитии сахарного диабета.

Цель исследования – установить наличие и характер половых отличий влияния блокатора синтеза окиси азота на биохимические процессы в миокарде в условиях сахарного диабета.

Материал и методы исследования. Для проведения исследований было использовано 150 половозрелых белых лабораторных крыс – 75 самцов (♂) и 75 самок (♀), у которых моделировали стрептозотоциновый сахарный диабет (СД) интраперитонеальным введением 50 мг/кг стрептозотоцина (Sigma, США). Данные животные составили 1-ю группу. У животных 2-й группы СД протекал на фоне амингуанидина (АГ), который ввели интраперитонеально (10 мг/кг) до моделирования СД и в последующем ежедневно на протяжении месяца, со 2-го месяца дозу амингуанидина уменьшили до 5 мг/кг вследствие высокой летальности животных и вводили препарат ежедневно до полного завершения эксперимента (через 3 месяца). В процессе исследований погибло 91 животное из 200. Развитие СД контролировали по увеличению уровня глюкозы в крови. В экспериментах использовали особей, у которых данный показатель был не менее 10 мм/л. В крови животных определяли содержание гликозилированного гемоглобина (HbA1C), нитрит аниона (NO₂) и мочевины, в миокарде желудочков – пировиноградной кислоты, продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) – диеновых конъюгат (ДК), малонового диальдегида (МДА), активность ферментов антиоксидантной системы (АОС) – супероксиддисмуттазы (СОД), каталазы, глутатионпероксидазы (ГП) и глутатионредуктазы (ГР) [5]. Статистический анализ результатов исследований проводили с использованием критерия U Манна-Уитни в отделе системных статистических исследований ГВУЗ «ТГМУ им. И.Я. Горбачевского МОЗ Украины». Все эксперименты и умерщвление животных происходили с учетом принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных (Страсбург, 1985) и общих принципов экспериментов на животных, утвержденных Первым национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2011) [11].

Результаты исследования и их обсуждение. В соответствии с современными рекомендациями диагностики СД в крови животных определяли содержание гликолизированного гемоглобина (табл. 1).

Таблица 1

Показатели крови крыс при развитии стрептозотоцинового сахарного диабета на фоне аминуганидина ($M \pm m$, $n=6$)

Показатель	Пол	СД 1 мес.	СД 2 мес.	СД 3 мес.
1-я группа (без коррекции)				
HbA1C, абс. %	♂	17,38±0,34 #	14,87±0,21 *#	18,03±0,22 #
	♀	19,45±0,25 #	17,70±0,14 *#	20,27±0,19 #
Мочевина, мМ/л	♂	11,07±0,33 #	16,04±0,29 *#	18,51±0,19 *#
	♀	12,73±0,19 #	19,75±0,10 *#	22,08±0,19 *#
NO ₂ ⁻ , мкМ/л	♂	2,50±0,05 #	2,55±0,08 #	2,16±0,08 *#
	♀	3,45±0,07 #	3,35±0,05 #	2,99±0,08 *#
2-я группа (на фоне аминуганидина)				
HbA1C, абс. %	♂	18,06±0,33 #	15,67±0,20 *#^	19,05±0,40 #
	♀	20,05±0,19 #	19,37±0,17 #^	20,78±0,12 #
Мочевина, мМ/л	♂	9,15±0,41 #^	15,14±0,45 *#	17,39±0,59 *#
	♀	10,57±0,30 #^	18,31±0,40 *#^	19,24±0,40 *#^
NO ₂ ⁻ , мкМ/л	♂	2,05±0,03 #^	2,74±0,11 *	1,80±0,08 *#^
	♀	2,89±0,10 #^	2,95±0,22	2,73±0,14 #
Примечание: * – достоверное ($p < 0,05$) отличие в динамике развития СД, # – между самцами и самками, ^ – относительно показателя 1-й группы.				

Было установлено, что в отличие от 1-й группы животных, у которых наблюдали волнообразные изменения содержания HbA1C (уменьшение на 2-м мес. эксперимента с последующим возобновлением к 3-му), на фоне АГ достоверное уменьшение показателя возникало только у самцов (на 2-м мес. наблюдения), что и составило 15% (против 17% без коррекции). Разницы по величине данного показателя между животными 1-й и 2-й групп практически не было. Исключением был 2-й мес. течения СД, во время которого значение HbA1C и у самцов, и у самок 2-й группы оказалось выше, чем у особей 1-й группы,

соответственно на 5% и 9%. На фоне АГ разница между животными разного пола сохранялась. Содержание НbА1С в крови самок было выше, чем у самцов. Если в 1-й группе эта разница составила на 1, 2 и 3-й мес. наблюдения соответственно 12, 19 и 12%, то во 2-й группе – 11, 24 и 10%. Незначительное улучшение данного показателя на 2-м мес. наблюдения в обеих группах самцов косвенно свидетельствовало о включении компенсаторных механизмов и большей чувствительности к АГ.

Определение содержания в крови NO_2^- показало, что влияние АГ на метаболизм окиси азота было достаточно эффективным на ранней стадии манифестации СД у животных обоего пола (табл. 1). Через 1 мес. от начала эксперимента содержание NO_2^- было достоверно ниже, чем у животных 1-й группы (у самцов – на 22%, у самок – на 19%), что свидетельствовало об эффективности препарата и сохранении чувствительности синтеза окиси азота к препарату. Увеличение значения данного показателя у самцов на 2-м мес. наблюдения, когда было решено уменьшить дозу препарата с целью сохранения жизнеспособности животных, было очередным доказательством наличия достаточных компенсаторных возможностей организма животных данного пола. Отсутствие такой реакции у самок может свидетельствовать о том, что не столько дефицит активности NOS является причиной нарушения метаболизма окиси азота на данном этапе развития СД, сколько дефицит исходного субстрата синтеза NO, исчерпание запасов которого у самок, очевидно, происходило быстрее, чем у самцов. Через 3 мес. от начала манифестации СД на фоне АГ содержание NO_2^- в крови самцов не только уменьшилось, но и было меньше, чем у особей 1-й группы, на 20%, чего не наблюдали у самок, значение показателя у которых было аналогичное животным 1-й группы. Такая разница подтверждает корректность высказанного выше мнения относительно генеза установленного отличия между животными различного пола. Изучение характера изменения содержания мочевины в крови в динамике развития СД у животных 1-й и 2-й групп показало отличие у самцов и самок. Если у самцов 1-й группы ко 2 и 3-му месяцу эксперимента увеличение содержания мочевины в крови составило соответственно 45% и 67%, а у самок – 55% и 73%, то у животных 2-й группы – 65% и 90% у самцов, 73% и 82% у самок. По сравнению с 1-й группой показатель самцов практически не отличался, а у самок 2-й группы был достоверно меньше. Это подтверждало большую чувствительность самок к АГ, а также то, что в условиях эксперимента нарушения функционирования системы окиси азота происходили за счет ее конститутивных форм вследствие прогрессирующей вазопатии [8].

Оценка состояния метаболической активности миокарда желудочков подопытных крыс показала, что содержание ПВК у самцов 2-й группы было больше, чем у особей 1-й группы, через 1 и 3 мес. от начала развития СД, что составляло соответственно 8% и 5%. У

самок это отличие было только через 3 мес. от начала развития СД и разница составила 14%, что свидетельствовало о лучшей защите миокарда. Если АГ не повлиял на содержание ДК в миокарде самок, то у самцов этот показатель был выше, чем у особей 1-й группы, на 1 и 2-м мес. развития СД соответственно на 8% и 5%. Преобладание показателя МДА у самцов 2-й группы над таковым у 1-й наблюдали только на 2-й мес. эксперимента, что составило 9%, а у самок – на 2-й и 3-й мес. (на 8% и 10% соответственно). Незначительное отличие у самцов и самок по этим показателям свидетельствовало, что при развитии данной модели СД решающее значение в патогенезе нарушений функционирования системы окиси азота в миокарде имел нарастающий дефицит или ухудшение биодоступности исходных субстратов, что подтверждалось нашими данными с использованием L-аргинина [5]. Сравнение содержания продуктов ПОЛ в миокарде самцов и самок, СД у которых развивался на фоне АГ, показало незначительное влияние препарата. В 1-й группе животных содержание ДК у самцов превалировало над показателем самок на 9, 8 и 19% (соответственно на 1, 2 и 3-й мес.). Во 2-й группе на 1-й мес. наблюдения разница составила 11%, на 2-й мес. отсутствовала, а на 3-й мес. составила 18%. Содержание МДА в миокарде самцов 1-й группы было больше, чем у самок, на 26, 15 и 15% (соответственно на 1, 2 и 3-й мес.), а во 2-й группе – на 32% и 15% на 1-й и 2-й мес. при отсутствии разницы на 3-й мес. эксперимента. Это отображало большее влияние АГ у самок и подтверждалось данными, отображающими состояние АОС. На фоне АГ активность СОД и каталазы была меньше. Кроме того, не наблюдали за величиной этих показателей отличия между самцами и самками на 2-й и 3-й месяц эксперимента. Это стало результатом более существенного негативного влияния АГ на состояние АОС миокарда самок, что подтверждало большую зависимость функционирования механизмов мембранопротекции животных женского пола от функционирования системы окиси азота (табл. 2, 3).

Таблица 2

Содержание ПВК и метаболитов ПОЛ в миокарде желудочков крыс при развитии стрептозотоцинового сахарного диабета на фоне аминуганидина ($M \pm m$, $n=6$)

Показатель	Пол	СД 1 мес.	СД 2 мес.	СД 3 мес.
1-я группа (без коррекции)				
ПВК, мМ/мг	♂	1,04±0,01 #	1,19±0,05 *#	1,30±0,01 *#
	♀	0,98±0,02 #	1,03±0,01 *#	1,04±0,01 *#
ДК, усл. ед./г	♂	1,90±0,02 #	1,99±0,01 *#	2,76±0,04 *#
	♀	1,74±0,04 #	1,84±0,02 *#	2,31±0,04 *#

МДА, мкМ/кг	♂	1,22±0,06 #	1,40±0,02 *#	2,03±0,05 **
	♀	0,97±0,07 #	1,22±0,02 *#	1,77±0,04 **
2-я группа (на фоне амингуанидина)				
ПВК, мМ/мг	♂	1,12±0,02 #^	1,26±0,04 *#	1,37±0,03 **^
	♀	1,03±0,02 #	1,10±0,01 *#	1,19±0,01 **^
ДК, усл. ед./г	♂	2,06±0,05 #^	2,09±0,04 ^	2,85±0,04 **
	♀	1,85±0,04 #	1,95±0,05	2,42±0,04 **
МДА, мкМ/кг	♂	1,35±0,02 #	1,52±0,03 **^	2,00±0,13 *
	♀	1,02±0,11 #	1,32±0,04 **^	1,94±0,05 *^
Примечание: * – достоверное (p<0,05) отличие в динамике развития СД, # – между самцами и самками, ^ – относительно показателя 1-й группы.				

Таблица 3

Показатели антиоксидантной системы миокарда желудочков крыс при развитии стрептозотоцинового сахарного диабета на фоне амингуанидина (M±m, n=6)

Показатель	Пол	СД 1 мес.	СД 2 мес.	СД 3 мес.
1-я группа (без коррекции)				
СОД, усл.ое./мг	♂	0,49±0,01 #	0,35±0,01 *#	0,31±0,01 *#
	♀	0,53±0,01 #	0,43±0,01 *#	0,39±0,01 *#
Каталаза, мккат/кг	♂	1,80±0,05 #	1,35±0,05 *#	1,26±0,04 *#
	♀	2,02±0,07 #	1,67±0,07 *#	1,56±0,03 *#
ГП, мМ/(мин.·кг)	♂	0,06±0,01	0,05±0,01	0,04±0,01
	♀	0,07±0,01	0,04±0,01	0,03±0,01 *
ГР мМ/(мин.·кг)	♂	0,13±0,01	0,11±0,01	0,08±0,01 *
	♀	0,14±0,01	0,08±0,01 *	0,06±0,01 *
2-я группа (на фоне амингуанидина)				
СОД, усл.ое./мг	♂	0,33±0,04 ^	0,27±0,01 ^	0,29±0,01
	♀	0,40±0,02 ^	0,33±0,03 ^	0,32±0,01 * ^
Каталаза, мккат/кг	♂	1,47±0,03 #^	1,27±0,04 *	1,25±0,03 *

	♀	1,66±0,04 #^	1,42±0,04 *^	1,29±0,05 *^
ГП, мМ/(мин.·кг)	♂	0,05±0,01	0,04±0,01	0,03±0,01
	♀	0,06±0,01	0,04±0,01	0,03±0,01
ГР мМ/(мин.·кг)	♂	0,12±0,01	0,11±0,01	0,08±0,01 *
	♀	0,12±0,01	0,09±0,01	0,05±0,01 *
Примечание: * – достоверное (p<0,05) отличие в динамике развития СД, # – между самцами и самками, ^ – относительно показателя 1-й группы.				

Заключение. Полученные результаты подтверждают важную роль системы окиси азота в патогенезе метаболических нарушений при сахарном диабете. Использование аминоксидина увеличивает степень метаболического дисбаланса в крови и миокарде крыс, с увеличением термина манифестации сахарного диабета эффекты аминоксидина уменьшаются, что свидетельствует о возникновении глубоких нарушений функционирования системы окиси азота. Такие нарушения на ранних этапах наблюдения более существенны у самцов, а в более поздние – у самок, что демонстрирует гендерные различия роли окиси азота в патогенезе развития метаболического дисбаланса в организме и миокарде при сахарном диабете.

Список литературы

1. Aromatase deficiency confers paradoxical postischemic cardioprotection / J.R. Bell, K.M. Mellor, A.C. Wollermann [et al.] // *Endocrinology*. – 2011. – 152, N 12. – P. 4937-4947.
2. Cohen R.A. Role of nitric oxide in diabetic complications // *An. J. Ther.* – 2005. – V. 12 (6). – P. 499-522.
3. Endothelial nitric oxide in diabetes mellitus: too much or not enough? / K. Farkas, B. Sarman, G. Jevmendy, A. Samogyi // *Diabetes Nutr Metab.* – 2000. – V. 13 (5). – P. 287-297.
4. Khara M.R. Honadektomiia i adaptatsiia sertsia do adrenalinovoho poshkodzhennia / M.R. Khara, V.Ie. Pelykh, A.M. Dorokhina, H.O. Khara // *Zdobutky klinichnoi i eksperymentalnoi medytsyny*. – 2008. – T. 9, № 2. – S. 93-97.
5. Khara M.R. Vplyv L-arhininu na biokhimichni protsesy v miokardi shchuriv riznoi stati pry streptozototsynovomu tsukrovomu diabete / M.R. Khara, N.A. Holovach // *Klinichna ta eksperymentalna patolohiia*. – 2013. – Tom XII, № 1 (43). – S. 161-165.
6. Khara M.R. Vplyv modulatoriv syntezy oksydu azotu na kholinerhichnu rehuliaciia sertsia samtsiv i samok shchuriv do ta pislia honadektomii / M.R. Khara, A.M. Dorokhina // *Klinichna ta*

eksperymentalna patolohiia. – 2010. – Т. 9, № 3 (33). – S. 109-112.

7. Lytvynova L.O. Suchasnyi stan poshyrenosti tsukrovoho diabetu sered naselennia krain Yevropeiskoho rehionu VOOZ / L.O. Lytvynova, O.B. Tonkovyd // Skhidnoievropeyskyi zhurnal hromadskoho zdorovia. – 2008. – № 3. – P. 48-52.

8. Markers of inflammation are cross-sectionally associated with microvascular complications and cardiovascular disease in type 1 diabetes – the Eurodiab. Prospective Complications Study / M.T. Schram, N. Chaturvedi, C.G. Schalkwijk [et al.] // Diabetologia. – 2005. – Vol. 48 (2). – P. 370–378.

9. Tashchuk V.K. Kardiovaskuliarnyi ryzyk, metabolichnyi syndrom, tsukrovyi diabet, kardialni klinichni podii // Zdorovia Ukrainy. – 2006. – № 1-2. – P. 12-15.

10. Tronko M.D. Epidemiolohiia tsukrovoho diabetu v Ukraini / M.D. Tronko, A.D. Chernobrov // Zdorovia Ukrainy. – 2005. – № 127. – P. 18-20.

11. Zahalni etychni pryntsyipy eksperymentiv na tvarynakh // Endokrynolohiia.– 2003. – Т. 8. - № 1. – P. 142-145.

Рецензенты:

Пасечко Н.В., д.м.н., профессор, профессор кафедры внутренней медицины №1, Государственное высшее учебное заведение «Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского МОЗ Украины», г. Тернополь;

Гудыма А.А., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой медицины катастроф и военной медицины, Государственное высшее учебное заведение «Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского МОЗ Украины», г. Тернополь.