

Кондратьева Дина Степановна

**КАРДИОТРОПНЫЙ ЭФФЕКТ ГИПЕРГЛИКЕМИИ И ЕГО
МЕХАНИЗМЫ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ
МИОКАРДА**

3.3.3 – патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

ТОМСК – 2024

Работа выполнена в Научно-исследовательском институте кардиологии, филиале Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор

Афанасьев Сергей Александрович

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, главный научный сотрудник, руководитель лаборатории молекулярно-клеточных и ультраструктурных основ патологии Института молекулярной патологии и патоморфологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины»

Клиникова

Марина Геннадьевна

доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры патологической физиологии и клинической патофизиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Шилов

Сергей Николаевич

доктор медицинских наук, профессор РАН, заведующая лабораторией исследования гомеостаза отдела экспериментальной медицины Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний»

Груздева

Ольга Викторовна

Ведущая организация

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Санкт-Петербург)

Защита состоится «_04_» _06_ 2024 г. в _10_ часов на заседании Диссертационного совета 24.1.242.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» по адресу: ул. Тимакова, 2, Новосибирск, 630060

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины».

Автореферат диссертации разослан «__» _____ 2024 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета,
доктор биологических наук



Пальчикова Н.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Высокий темп роста распространенности сахарного диабета (СД) среди населения во всем мире принимает угрожающий характер и определяет лидирующее место этой патологии в структуре социально-значимых заболеваний (<https://www.diabetesatlas.org>). В Российской Федерации численность пациентов с СД с 2000 г. увеличилась более чем в 2 раза (Дедов и соавт, 2019). Сахарный диабет является многофакторным заболеванием и имеет различные этиологические факторы, в зависимости от которых его подразделяют на 2 основных типа (Дедов с соавт., 2023). Несмотря на различия в этиопатогенезе СД 1 и 2 типа, ключевым фактором повреждения считается хроническая гипергликемия, в связи с чем, основная стратегия лечения СД направлена на снижение уровня сахара в крови. В соответствии с этим, пациенты со всеми формами диабета подвержены риску развития одних и тех же осложнений (Skyler et al., 2017). Хроническая гипергликемия оказывает не только токсическое действие на органы и ткани организма, но и усиливает отрицательное воздействие других повреждающих факторов. У 50% больных с СД 1 типа и у 80% людей с СД 2 типа регистрируется преждевременный летальный исход в связи с сердечно-сосудистыми осложнениями (Rawshani et al., 2017). Данная патология имеет огромную значимость и при полиморбидных состояниях, поскольку вносит существенный вклад в течение и исход коморбидной патологии. Как правило, особенностью протекания заболеваний с сопутствующим СД является их более тяжелое течение, неэффективность медикаментозного лечения, а также плохой ближайший и отдаленный прогноз (Colom et al., 2021; Dal Canto et al., 2019; Harding et al., 2019; Schofield et al., 2021). Значимое негативное влияние СД на течение и исход сердечно-сосудистых заболеваний подтверждают большинство клинических исследований. В этих исследованиях установлено, что наличие СД сопряжено с высоким риском возникновения неблагоприятных сердечно-сосудистых исходов, а также с большей частотой нефатальных осложнений, являющихся причинами повторных госпитализаций (Larsson et al., 2018; Sattar et al., 2019; Skoda et al., 2023; Shi et al., 2021).

Вместе с тем, за последние 10 лет появились данные о нетипичном влиянии СД на исходы сердечно-сосудистых заболеваний. Так, клинические исследования (Bertoluci et al., 2017; Einarson et al., 2018; Mondesir et al., 2016; Rana et al., 2016) показали, что больные ишемической болезнью сердца (ИБС) с сопутствующим СД имеют более низкий риск смерти от сердечно-сосудистых осложнений, чем пациенты без диабета. Возможно, на определенной стадии развития СД возникает «метаболическое окно» - состояние внутриклеточного метаболизма, когда гипергликемия на фоне ишемических нарушений активирует защитные механизмы или модифицирует метаболические процессы, способствующие сохранению функциональных свойств миокарда. Такое предположение подтверждается экспериментальными исследованиями, в которых показано повышение устойчивости сердца к ишемическим и реперфузионным повреждениям у крыс с экспериментальным СД 1, и 2 типа (Lim et al., 2019; Povlsen et al., 2013; Tonnesen et al., 2021), а также сохранение сократительных свойств миокарда при сочетанном

формировании постинфарктного кардиосклероза и СД (Кондратьева и соавт., 2019; Rodrigues et al.; 2011). Эти данные показывают неоднозначность влияния СД на формирование патологического состояния при сердечно-сосудистых заболеваниях, в том числе, при хронической ишемии миокарда. Возможно, при определенных условиях СД способствует активации защитных механизмов организма, снижающих повреждающее воздействие неблагоприятных факторов. В связи с чем, изучение особенностей патофизиологических механизмов влияния СД на ишемическое ремоделирование сердца является важным звеном поиска новых мишеней для повышения эффективности медикаментозной терапии данной категории больных.

Степень разработанности темы исследования. Несмотря на многофакторность этиологии СД, считается, что одним из основных повреждающих воздействий при этом заболевании является гипергликемия. Метаболические изменения, связанные с гипергликемией, приводят к нарушениям внутриклеточных процессов, обеспечивающих как энергетический метаболизм, так и процессы электромеханического сопряжения (Кондратьева и соавт., 2019; Evangelista et al., 2019; Lim et al., 2019; Rodrigues et al., 2011). Убедительно показано, что сократительная дисфункция сердечной мышцы в условиях хронической ишемии ассоциирована с нарушением внутриклеточного гомеостаза ионов кальция, связанного с Ca^{2+} -транспортирующими системами саркоплазматического ретикула (СПР) кардиомиоцитов. Отмечено, что нарушения в работе Ca^{2+} -транспортирующих систем СПР могут быть обусловлены уменьшением экспрессии этих белков и снижением количества энергетических субстратов, как при хронической ишемии, так и при СД (Kawase et al., 2008; Shah et al., 2016).

В последние годы большое внимание уделяется значению энергетического метаболизма клеток при различных заболеваниях, особенно при ишемических повреждениях миокарда и гипергликемии. Считается, что при хронической ишемии миокарда сдвиг процессов энергообразования от окисления жирных кислот (ЖК) к использованию в качестве энергетического субстрата глюкозы является защитным механизмом, способствующим выживанию клеток в этих условиях (Dhar-Chowdhury et al., 2007; Jaswal et al., 2011; Masoud et al., 2014). При диабете, наоборот, энергетический метаболизм переключается исключительно на окисление жирных кислот для обеспечения потребности в АТФ (Mengstie et al., 2022). Важное значение для адекватного синтеза АТФ имеет метаболическая гибкость, которая предполагает использование в качестве субстрата как ЖК, так и глюкозу. Нарушение энергетического метаболизма при СД и ИБС может быть обусловлено изменением функционирования специфических мембранно-ассоциированных белков (CD36 для жирных кислот, GLUT1 и GLUT4 для глюкозы), обеспечивающих поступление энергетических субстратов в клетку (Lopaschuk et al., 2010; Shao et al., 2015). Кроме того, изменением баланса между использованием ЖК и глюкозой в качестве энергетического субстрата также может быть причиной нарушения синтеза АТФ (Chanda et al., 2016).

Большой интерес в механизмах формирования СД и постинфарктного ремоделирования сердца представляет процесс программированной клеточной гибели или апоптоз (Hasnan et al., 2010; Teringova and Tousek, 2017). Потеря кардиомиоцитов в

результате апоптоза способствует прогрессирующему снижению сократительной функции левого желудочка (ЛЖ) (Buja and Vela, 2008; Lee and Gustafsson, 2009). Вместе с тем, адаптивные реакции, наоборот, вызывают активацию антиапоптотических сигнальных молекул и факторов выживаемости клеток. Заметное место среди сигнальных молекул, отвечающих за выживаемость клеток, в последние годы отводится фактору, индуцируемому гипоксией 1-альфа (HIF-1 α). Показано, что этот фактор активирует адаптивные реакции на клеточном уровне, в том числе, способствует переключению энергопродукции с оксидативного фосфорилирования на гликолитический (Tekin et al., 2010; Zheng et al., 2021).

На основании вышеизложенного была выдвинута гипотеза исследования, в которой предполагалось, что в условиях модификации внутриклеточных метаболических процессов, индуцированных хронической ишемией и гипергликемией, сократительная функция миокарда может определяться состоянием кальций-транспортирующей системы СПР, которая является энергозависимой системой. Предполагалось, что гипергликемия в условиях хронической ишемии может модулировать энергетический метаболизм кардиомиоцитов, модифицируя пути синтеза АТФ. Этот эффект может быть связан с экспрессией переносчиков глюкозы (GLUT4, GLUT1) и жирных кислот (CD36), определяющих уровень доступности энергетических субстратов для синтеза АТФ. Допускалось, что в условиях сочетанного воздействия гипергликемии и ишемии возможно изменение активности транскрипционного фактора, индуцируемого гипоксией 1-альфа (HIF-1 α), повышение экспрессии которого способно улучшать выживаемость клеток, в том числе, и кардиомиоцитов, влияя на многие звенья их внутриклеточного метаболизма. Кроме того, важное значение в сохранении сократительной функции миокарда при постинфарктном ремоделировании сердца в условиях гипергликемии может иметь активность апоптоза, влияющая на функциональную состоятельность миокарда посредством изменения пула жизнеспособных кардиомиоцитов.

Цель исследования – изучение патофизиологических механизмов кардиотропного эффекта гипергликемии при хронической ишемии миокарда в эксперименте.

Задачи исследования:

1. Изучить особенности морфометрических показателей сердца и гликемического статуса крыс в условиях сочетанного воздействия гипергликемии и ишемии миокарда при разной последовательности моделирования этих состояний и степени их выраженности.
2. Исследовать нарушение процессов электромеханического сопряжения в формировании сократительной дисфункции миокарда, ремоделированного в условиях сочетанного воздействия ишемии и гипергликемии при разной последовательности их развития и степени повреждения.
3. Оценить вклад экспрессии кальций-транспортирующих белков СПР кардиомиоцитов в формирование нарушений электромеханического сопряжения в условиях сочетанного развития гипергликемии и ишемии миокарда при разной последовательности их развития и степени повреждения миокарда.

4. Изучить патогенетическое значение изменения активности основных путей энергетического метаболизма кардиомиоцитов в нарушении функционального состояния миокарда в условиях сочетанного воздействия гипергликемии и ишемии при разной последовательности их воздействия и степени повреждения миокарда.
5. Оценить роль изменения экспрессии переносчиков жирных кислот и глюкозы в механизмах нарушения энергетического метаболизма кардиомиоцитов при сочетанном воздействии гипергликемии и ишемии в условиях разной последовательности моделирования этих состояний.
6. Изучить эффекты гипергликемии в условиях ишемии миокарда на экспрессию сигнальных молекул, регулирующих апоптоз и метаболическую реакцию на гипоксию, в условиях ишемии миокарда.
7. Установить патогенетические механизмы сократительной дисфункции сердца, ассоциированные с модифицирующим влиянием гипергликемии на ишемическое ремоделирование миокарда.

Научная новизна. Впервые в экспериментальном исследовании выявлены различия в ритмоинотропной реакции миокарда крыс с сочетанным воздействием гипергликемии и ишемии миокарда при разной последовательности моделирования этих состояний. Установлено, что сохранение положительной ритмоинотропной реакции реализуется в случае первичного воздействия ишемии.

В настоящем исследовании впервые продемонстрировано, что формирование защитно-приспособительных реакций при сочетанном воздействии гипергликемии и ишемии миокарда характеризуется сохранением энергетического метаболизма кардиомиоцитов за счёт увеличения поступления энергетических субстратов, интенсивности гликолиза и β -окисления ЖК. Установлено, что этот эффект обусловлен повышением экспрессии транспортеров глюкозы (GLUT4) и ЖК (CD36), а также ферментов энергетического обмена лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и гидроксиацил-коэнзима А дегидрогеназы (НАДН).

Впервые установлено, что в условиях сочетанного развития стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета и хронической ишемии миокарда сохранение сократительных свойств кардиомиоцитов обусловлено более высоким уровнем экспрессии Ca^{2+} -транспортирующих белков (Ca^{2+} -АТФ-азы и рианодиновых рецепторов) СПР относительно их моновариантного развития.

В настоящем исследовании впервые установлена связь повышенного уровня экспрессии антиапоптотического белка (Bcl2) и транскрипционного фактора, индуцируемого гипоксией (HIF-1 α) с улучшением сократительного резерва кардиомиоцитов при сочетанном воздействии хронической гипергликемии и ограниченного повреждения миокарда.

Впервые установлено, что улучшение функционального состояния миокарда при ограниченном или выраженном ишемическом поражении миокарда в сочетании с хронической гипергликемией ассоциировано с повышенным уровнем экспрессии транспортеров глюкозы (GLUT4) и жирных кислот (CD36), а также фермента цикла Кребса сукцинатдигидрогеназы (СДГ). Эти изменения обеспечивают улучшение

энергетического метаболизма кардиомиоцитов в условиях патологического влияния хронической гипергликемии и ишемии.

Впервые установлено, что формирование защитно-приспособительных реакций сочетанного развития стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета и хронической ишемии миокарда реализуется благодаря активации или восстановлению влияний антиапоптотических сигналов (Bcl2), сопровождающееся подавлением активности проапоптотических сигнальных молекул (Bax), а также увеличением экспрессии транскрипционного фактора, индуцируемого гипоксией HIF-1 α .

Теоретическая и практическая значимость. В работе выявлены механизмы сохранения функциональной активности миокарда при сочетанном развитии стрептозотоцин-индуцированного СД и хронической ишемии миокарда, связанные с повышением Ca²⁺-аккумулирующей способности СПР, интенсификации энергетического метаболизма, а также активации антиапоптотических сигналов (Bcl2) и транскрипционного фактора, индуцируемого гипоксией (HIF-1 α). Полученные данные вносят существенный вклад в фундаментальные знания о возможности активации защитно-приспособительных механизмов при развитии гипергликемии на начальных этапах постинфарктного ремоделирования сердца.

Полученные знания расширяют и углубляют теоретические представления о значении первичного гипергликемического или ишемического состояния в реализации защитного или патогенетического сценария развития сочетанной патологии.

Теоретическую значимость имеют полученные данные о механизмах формирования защитно-приспособительной реакции при сочетанном воздействии патологических факторов гипергликемии и ишемии миокарда, значимая роль в которых отводится сохранению баланса процессов гликолиза и β -окисления ЖК.

На основании полученных результатов можно предполагать, что транспортеры глюкозы (GLUT4) и жирных кислот (CD36), а также Ca²⁺-транспортирующие белки СПР являются перспективными мишенями для разработки новых подходов к сохранению или улучшению функционального состояния миокарда в условиях коморбидного развития СД и ИБС.

Практическую значимость имеют данные о формировании защитно-приспособительных реакций при постинфарктном ремоделировании сердца в условиях хронической гипергликемии. На основании этих данных могут быть разработаны рекомендации, позволяющие скорректировать сахароснижающую терапию у больных ИБС с сопутствующим СД. Проведенный в работе анализ комплексной оценки процессов энергетического метаболизма, экспрессии функциональных белков (Ca²⁺-транспортирующих белков), а также транскрипционного фактора, индуцируемого гипоксией (HIF-1 α) и белков-регуляторов апоптоза (Bcl2 и Bax) кардиомиоцитов может стать основой для объективного определения функциональных резервов миокарда.

Методология и методы исследования.

В работе использованы методология системного подхода и современные технологические решения к изучению функционального состояния миокарда в разных патологических условиях, позволяющие оценить взаимосвязь изменений его

функциональной состоятельности с нарушением работы внутриклеточных систем, регулирующих метаболические процессы в клетке. Применяли моделирование патологических состояний в эксперименте у крыс для оценки функциональных нарушений миокарда, а также изменений содержания молекулярных маркеров клеточного метаболизма.

В работе применялись современные методологические подходы, включающие физиологические, биохимические и молекулярные методы исследования. Использовали электрофизиологические методы исследования изолированных полосок миокарда *ex vivo* для оценки особенностей его сократительной активности вне зависимости от нейрогуморальных воздействий, а также определения функционального резерва кардиомиоцитов.

Исследовали изменение содержания эффекторных белков и ферментов энергетического метаболизма в миокарде при различных патологических воздействиях методами Вестерн-блоттинга и иммуноферментного анализа.

Положения, выносимые на защиту:

1. При сочетании стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета и хронической ишемии миокарда у крыс линии Вистар инициируются защитно-приспособительные реакции, позволяющие сохранить функциональную состоятельность миокарда. Наибольшая выраженность защитного эффекта проявляется в условиях первичного воздействия ишемии.
2. Механизм нарушений функциональной активности сердечной мышцы крыс с хронической ишемией миокарда реализуется как в результате снижения экспрессии белков транспортеров глюкозы (GLUT4) и ЖК (CD36), так и за счет уменьшения активности процессов гликолиза, цикла Кребса и β -окисления ЖК, тогда как при стрептозотоцин-индуцированном сахарном диабете происходит уменьшение активности процессов цикла Кребса. При сочетании стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета и хронической ишемией миокарда улучшение функции сердца обусловлено повышением экспрессии транспортеров глюкозы (GLUT4) и ЖК (CD36), а также ферментов гликолиза (ЛДГ) и β -окисления ЖК (NADH).
3. Формирование защитно-приспособительных реакции у крыс при сочетанном воздействии гипергликемии и ишемии миокарда обеспечивает сохранение функциональной активности саркоплазматического ретикулула кардиомиоцитов за счет повышения экспрессии Ca^{2+} -транспортирующих белков (Ca^{2+} -АТФ-азы, рианодиновых рецепторов).
4. Защитно-приспособительные механизмы, активируемые при сочетанном развитии стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета и хронической ишемии миокарда крыс, реализуются за счет стимуляции экспрессии антиапоптотических сигналов (Bcl2) и транскрипционного фактора, индуцируемого гипоксией (HIF-1 α).
5. Сохранение функциональной активности миокарда при сочетанном воздействии умеренного и выраженного повреждения сердечной мышцы обусловлено повышением Ca^{2+} -аккумулирующей способности СПР за счет повышенной

экспрессии Ca^{2+} -АТФ-азы и кальсеквестрина, а также активации экспрессии транспортеров глюкозы (Glut4) и жирных кислот (CD36).

6. Метаболическое ремоделирование кардиомиоцитов крыс на фоне кратковременных эпизодов гипергликемии характеризуется повышенной экспрессией Ca^{2+} -транспортирующих белков СПР (Ca^{2+} -АТФ-азы, рианодиновых рецепторов и кальсеквестрина), увеличением интенсивности аэробного окисления глюкозы (повышение активности лактатдегидрогеназы), а также повышением экспрессии транскрипционного фактора, индуцируемого гипоксией (HIF-1 α). На фоне хронической гипергликемии метаболическое ремоделирование кардиомиоцитов ассоциировано с негативным влиянием на уровень экспрессии Ca^{2+} -транспортирующих белков СПР (Ca^{2+} -АТФ-азы, рианодиновых рецепторов), активность процессов цикла Кребса (снижение экспрессии СДГ), а также экспрессию транспортера глюкозы (Glut4).

Степень достоверности и апробация работы. Материалы работы основываются и базируются на открытых проверяемых первичных данных, полученных во время проведения исследования. Концептуальная схема построения исследовательской работы находится в рамках мировых научно-исследовательских трендов. Для проверки основной гипотезы использованы современные способы сбора, обработки и анализа исходной статистической информации, которые соответствуют цели и задачам работы. Степень достоверности результатов и выводов работы определялись статистически обоснованными объемами выборок; периодом наблюдения, подтверждающим формирование моделированных состояний. Основные результаты работы были представлены на российских и международных конференциях: IV Всероссийская научно-практическая конференция «Фундаментальные аспекты компенсаторно-приспособительных процессов» (г. Новосибирск, 2009), Heart Failure Congress (Nice, France, 2009), 13-ая и 14-ая межрегиональная научно-практическая конференции с международным участием «Актуальные проблемы медицины», (г. Абакан, 2010, 2011), I, II Международный конгресс «Кардиология на перекрестке наук» (г. Тюмень, 2010, 2011), XXI съезд Физиологического общества им. И.П. Павлова (г. Калуга, 2010), Международная конференция «Современная кардиология: эра инноваций» (г. Томск, 2010), V Всероссийская научно – практическая конференции с международным участием (г. Новосибирск, 2011), 9th International Congress on Coronary Artery Disease (ICCAD): from prevention to intervention (Venice, Italy, 2011), Международная интернет-конференция «Актуальные проблемы биохимии и бионанотехнологии» (г. Казань, 2011), Отчетная научная сессии (г. Томск, 2012), X, XIV, XV Международный Славянский Конгресс по электростимуляции и клинической электрофизиологии сердца «Кардиостим» (Санкт-Петербург, 2012, 2020, 2023), Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием (г. Томск, 2012), V Всероссийская научно-практическая конференция «Стволовые клетки и регенеративная медицина» (г. Москва, 2013), XXIII съезд Физиологического общества им. И.П. Павлова (г. Воронеж, 2017), Heart Failure Congress (Vienna, Austria, 2018), I, II, IV Всероссийский научно-образовательный форум с

международным участием «Кардиология XXI века: альянсы и потенциал». (Томск, 2018, 2021, 2023), III, IV, V Российская мультидисциплинарная конференции с международным участием «Сахарный диабет – 2019: от мониторинга к управлению» (г. Новосибирск, 2019, 2021, 2023).

Личный вклад автора. Автор осуществлял определение цели и задач исследования, формулирование гипотезы, разработку и обоснование концептуальной схемы и методологии исследования. Автором проводилась постановка экспериментальных патологических моделей на животных, наблюдение и оценка их состояния. Лично автором выполнялся сбор и аналитическая обработка первичных материалов, статистическая обработка результатов электрофизиологических, биохимических и молекулярных исследований. Личный вклад автора заключался в обобщении, анализе и интерпретации полученных результатов; в формулировании основных положений, выводов и практических рекомендаций; в апробации результатов исследования и подготовке основных публикаций по выполненной работе. Доля личного участия автора в формировании цели, задач работы, планировании ее разделов, организации исследований и анализе результатов составила более 90 %.

Публикации результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 31 печатная работа, из них – 27 в изданиях, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук и издания, приравненные к ним, 4 – в зарубежных журналах, индексируемых базами данных Scopus, Web of Science; 1 монография в соавторстве, 2 патента РФ на изобретение.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, семи глав собственных исследований, в том числе главы по методологии работы, заключения, выводов. Список литературы содержит 506 источников (33 отечественных, 473 зарубежных). Работа иллюстрирована 23 таблицами, 57 рисунками. Диссертация изложена на 301 листе машинописного текста.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследование проводилось на крысах – самцах линии Вистар. Все процедуры с животными проводились согласно правилам и рекомендациям гуманного обращения с животными, используемыми для экспериментальных и иных научных целей (ГОСТ Р 33216-2014. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами, 2016). Исследование на животных было одобрено Локальным комитетом по биомедицинской этике НИИ кардиологии Томского НИМЦ (№192 от 18 декабря 2019 г.).

Моделирование состояния гипергликемии. Для индуцирования гипергликемии выполняли однократную внутрибрюшинную инъекцию стрептозотоцина в дозе 60 мг/кг (Lenzen, 2008). Животные, у которых развивалась устойчивая гипергликемия, имели все признаки СД 1 типа. Из этих животных была сформирована группа СД(+). Крысы являются наиболее чувствительными экспериментальными животными к

стрептозотоцину, однако некоторые особи способны спонтанно «выздоровливать» (Пальчикова и соавт., 2013; Скалецкая и соавт., 2018; Ярмолинская и соавт., 2019). Животных, у которых в конце периода наблюдения восстанавливался уровень глюкозы в крови, мы определили как группу крыс с кратковременными периодами гипергликемии (группа СД(-)). Состояние после кратковременных эпизодов гипергликемии и хронической гипергликемии формировалось в течение 6–8 недель после инъекции препарата. В качестве контроля на инъекцию препарата брали в эксперимент группу крыс с однократным введением цитратного буфера, используемого для растворения стрептозотоцина.

Состояние ишемии миокарда моделировали при помощи коронароокклюзии (КО). Из животных, у которых развивался обширный инфаркт с формированием постинфарктного рубца через 6–8 недель, была сформирована группа ИМ(+). Крысы, у которых после КО через 6–8 недель развивались мелкие соединительнотканые рубцы в ЛЖ, без крупных очагов рубцовой ткани, были сгруппированы как животные с ограниченным повреждением миокарда (группа ИМ(-)). В качестве контроля на хирургические манипуляции в исследование включили группу ложнооперированных (ЛО) животных, которым выполняли все манипуляции с наложением лигатуры, но без перевязки коронарной артерии.

Модель хронической ишемии миокарда, сочетанной с гипергликемией (ИМ + СД). Сочетанную патологию моделировали по ранее разработанному нами протоколу (Афанасьев и соавт, 2012). Отобранным крысам выполняли коронароокклюзию (1 день протокола), затем через 2 недели (15 день протокола) проводили инъекцию препарата стрептозотоцина в дозе 60 мг/кг внутривентриально. Через 6 недель после последнего воздействия животных брали в эксперимент.

Модель хронической гипергликемии, сочетанной с ишемией миокарда (СД + ИМ). Для формирования сочетанной патологии животным индуцировали СД при помощи однократного введения внутривентриальной инъекции стрептозотоцина в дозе 60 мг/кг (1 день протокола). На 15-ый день протокола животным проводили коронароокклюзию. Через 6 недель после последнего воздействия животных брали в эксперимент. Верификация развития гипертрофии сердца и ЛЖ проводилась при помощи морфометрических исследований. Оценивали соотношение массы левого и правого желудочка к массе тела животного, а также соотношение массы ЛЖ к массе сердца. В сердцах крыс, подвергшихся коронароокклюзии оценивался размер постинфарктных рубцов методом планиметрии и рассчитывали в процентах от площади свободной стенки левого желудочка при помощи объектмометра (Усачева и соавт., 2007).

Электрофизиологические исследования *ex vivo*. Сократительную активность папиллярных мышц исследовали на установке для исследования возбудимых тканей «Standard System For Muscle Investigation», («Scientific Instruments GmbH», Германия). Подготовленные мышцы помещали в термостабилизированную камеру объемом и перфузировали при $36 \pm 0,5^\circ\text{C}$ оксигенированным (O_2 – 100 %) раствором Кребса-Хензеляйта (в мМ: NaCl – 120; KCl – 4,8; CaCl_2 – 2,0; Mg_2SO_4 – 1,2; KH_2PO_4 – 1,2; NaHCO_3 – 20,0; глюкоза – 10,0. Сократимость миокарда оценивалась в изометрическом

режиме. Стимуляция мышц проводилась электрическими импульсами прямоугольной формы длительностью 5 мс, с частотой 0,5 Гц. После 60 мин адаптации мышц к условиям перфузии и стимулирующих импульсов определяли порог возбудимости (ПВ).

Протокол экстрасистолического теста. Экстрасистолические воздействия оказывали путем нанесения однократного внеочередного электрического импульса однократно через 0,2; 0,225; 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 1,25; 1,5 секунды от начала регулярного цикла на фоне базовой частоты стимуляции. Оценивали амплитуду экстрасистолического (ЭС) и постэкстрасистолического (ПЭС) сокращения. Проводили анализ динамики зависимости изменений амплитуды ЭС и ПЭС сокращений от длительности экстрасистолического интервала (ЭИ).

Протокол воздействия периодами покоя (паузы). Воздействие периодами покоя проводили на фоне регулярных сокращений при базовой частоте стимуляции. Для этого, используется однократное прекращение электрической стимуляции мышц на 4 - 60 с (периоды покоя или паузы) с последующим возобновлением регулярной стимуляции (Vocalini et al., 2012; Pieske et al., 1995; Uhl et al., 2015). Сопоставляли параметры первого сокращения после периода покоя с регулярным сокращением. Также оценивали зависимость амплитуды сокращения от периодов покоя – механическую реституцию.

Протокол частотного теста, оценка зависимости частота – сила

После достижения стабильного сокращения мышечного препарата при базовой частоте стимуляции 0,5 Гц частоту стимулирующих импульсов дискретно переключали на 0,7; 1; 2; 3 и 4 Гц. Рассчитывали амплитуду сокращений при измененной частоте в процентах к амплитуде сокращения при базовой частоте стимуляции. Строили зависимость величины амплитуды сокращений от частоты стимулирующего сигнала (Endoh, 2004; Uhl et al., 2015).

Определение уровня глюкозы в крови проводили с помощью тест-полоски (Accu-Chek Performa), которая содержит химические компоненты для глюкозооксидазного метода. Определение глюкозы проводили в 1-ю неделю после введения препарата – через день, в последующие недели – 1 раз в неделю.

Определение инсулина у крыс в плазме крови проводили при помощи иммуноферментного анализа (набор Rat Ins1 Insulin ELISA Kit, Sigma-Aldrich).

Активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в левом желудочке определяли при помощи колориметрического метода с использованием набора Lactate Dehydrogenase Activity Assay Kit, Sigma-Aldrich.

Уровень экспрессии белков определяли методом Вестерн блоттинга в образцах миокарда левого желудочка. Разделение белков осуществляли электрофоретически стандартным методом в денатурирующе-восстанавливающих условиях (SDS-PAGE). После электрофореза белки переносили на нитроцеллюлозную мембрану. Для специфического связывания с исследуемыми белками использовались моноклональные мышинные и поликлональные кроличьи антитела к соответствующим белкам. В качестве вторичных антител использовались поликлональные антитела, конъюгированные с щелочной фосфатазой. В качестве контроля нагрузки белковых полос использовали β -актин. Детекцию белков осуществляли колориметрическим методом.

Статистический анализ результатов проводился с использованием программы «STATISTICA 10.0» (США). Гипотеза о нормальности распределения выборки проверялась по критерию Шапиро-Уилка. Количественные данные при соблюдении нормального распределения выборки представлены в виде среднего и среднеквадратичного отклонения $M \pm SD$. При отсутствии нормального распределения - в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (первого и третьего квартилей: $Q1; Q3$). Оценка значимости межгрупповых различий количественных показателей при нормальном распределении выборки проводилась с использованием однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA). Апостериорные сравнения значимых различий между группами проводили с использованием t критерия Стьюдента с поправками Бонферрони или Тьюки. В случае отсутствия нормального распределения значимость различий между независимыми выборками оценивали при помощи критерия Краскела-Уоллиса (Kruskal-Wallis H-test). При обнаружении статистически значимых различий между группами проводили апостериорные сравнения с использованием критерия Манна-Уитни. Для нахождения статистических зависимостей, определения их силы и направления использовали коэффициент корреляции (r) Пирсона между количественными показателями, подчиняющимися нормальному закону распределения и коэффициент корреляции (r) Спирмена для количественных показателей, не подчиняющихся нормальному закону распределения. Критический уровень значимости для всех используемых методов статистического анализа принимали при $p < 0,05$.

На рисунке 1 представлен дизайн исследования.



Рисунок 1 – Дизайн экспериментального исследования

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительный анализ морфометрических показателей сердца при моделировании хронической гипергликемии и ишемии миокарда

Проведенные исследования показали, что у низкочувствительных животных (группа СД(-)) через 6 недель после инъекции стрептозотоцина уровень глюкозы статистически значимо не отличался от таковых интактных животных и крыс группы ЦБ, хотя наблюдалась тенденция к повышению гликемии (таблица 1). Вместе с тем, уровень инсулина в крови у крыс с кратковременными эпизодами гипергликемии уже был значимо ниже, чем у контрольных животных.

Основным специфическим признаком СД 1 типа является гипергликемия. Ее длительное воздействие на все органы и системы имеют явно негативные последствия, вплоть до необратимых повреждений (Skyler et al., 2017). Однако при определенных условиях, возможно, при коморбидных состояниях эффекты гипергликемии сглажены и могут иметь адаптивные влияния (Ravingerová et al., 2001).

В нашем исследовании было обнаружено, что даже короткие эпизоды гипергликемии, сами по себе приводили к небольшому, но значимому снижению массы тела, а у животных с хронической гипергликемией этот показатель имел более выраженный эффект (таблица 1).

Таблица 1 – Уровень глюкозы и инсулина у крыс при моделировании патологических состояний (Ме [Q1; Q3])

Группы	Глюкоза, ммоль/л	Инсулин, мкгМЕ/л
Интактные	6,7 [6,1; 8,0]	5,07 [5,05; 5,69]
ЦБ	7,1 [6,5; 8,8]	4,95 [4,6; 5,17]
ЛО	7,0 [6,4; 8,6]	5,14 [4,87; 5,23]
СД(-)	7,8 [7,6; 8,0]	3,78 [3,05; 4,47] *#^
ИМ(-)	5,9 [5,2; 6,3]	4,41 [3,71; 4,98]
ИМ(-)СД(-)	6,7 [6,6; 6,8]	3,48 [2,74; 4,33] *#^
СД(-)ИМ(-)	6,0 [5,8; 6,2]	3,67 [2,95; 4,0] *#^
СД(+)	21,6 [15,3; 26,2] *#	1,4 [1,05; 2,43] *#
ИМ(-)СД(+)	16,8 [13,3; 18,7] *#	3,73 [1,89; 5,45] *#
СД(+)ИМ(-)	15,3 [13,6; 17,8] *#	3,8 [3,3; 4,3] *#
ИМ(+)	6,9 [6,4; 7,5]	4,56 [4,02; 4,87]
ИМ(+)СД(-)	6,8 [6,1; 7,6]	4,21 [3,25; 4,77]
СД(-)ИМ(+)	6,5 [6,2; 6,7]	3,8 [3,3; 4,65]
ИМ(+)СД(+)	26,4 [22,7; 30,0] *#^	3,73 [1,89; 4,85] *
СД(+)ИМ(+)	26,9 [24,7; 27,3] *#	6,26 [5,03; 7,36]

* – $p < 0,05$ статистически значимые различия по сравнению с группой Интактные, # – $p < 0,05$ статистически значимые различия по сравнению с группой ЦБ, ^ – $p < 0,05$ статистически значимые различия по сравнению с ЛО группой. ЦБ – группа крыс с введением цитратного буфера, ЛО – ложноперированные животные, ИМ – инфаркт миокарда.

Снижение массы тела у животных как с кратковременной, так и с хронической гипергликемией наблюдалось и при сочетании с ограниченным повреждением миокарда и с ИМ (таблица 2). Исключение составляли крысы с ограниченным повреждением миокарда, у которых предварительно индуцировали кратковременные эпизоды гипергликемии. Как показывают литературные данные, предварительно индуцированный СД у крыс может значительно уменьшать повреждающее воздействие ишемии и реперфузии (Ravingerova et al., 2000).

Короткие эпизоды гипергликемии не оказали значимого влияния на порог возбудимости миокарда животных, как при моновариантном, так и при сочетании с ограниченным повреждением миокарда (таблица 2). У особей с хронической гипергликемией ПВ миокарда также как у животных с ограниченным повреждением миокарда, имел явную тенденцию к повышению, хотя и не достигал статистической значимости различий. Однако при формировании СД на фоне ограниченного повреждения ПВ миокарда повышался. В случае исходного моделирования СД, затем ограниченного повреждения миокарда, эффект на ПВ не наблюдался.

Таблица 2 – Масса тела, уровень глюкозы, порог возбудимости миокарда и показатели гипертрофии миокарда крыс при моделировании патологических состояний (Ме [Q1; Q3])

Группы	Масса тела, г	ПВ, мВ	мС\мТ	мЛЖ\мТ	мПЖ\мТ	Размер рубца, %
Интактные	428 [382; 459]	3,2 [2,7; 4,1]	2,86 [2,7; 2,95]	1,94 [1,83; 1,99]	0,66 [0,61; 0,71]	-
ЦБ	422 [389; 466]	3,1 [2,6; 4,7]	2,78 [2,61; 2,89]	1,84 [1,76; 1,91]	0,63 [0,57; 0,68]	-
ЛО	432 [379; 455]	3,4 [2,9; 4,9]	2,83 [2,64; 2,92]	1,88 [1,78; 1,96]	0,65 [0,59; 0,69]	-
СД(-)	355* [330; 375]	3,1 [2,0; 3,5]	3,18*#^ [3,16; 3,42]	2,17*#^ [2,12; 2,28]	0,74 [0,69; 0,80]	-
ИМ(-)	393 [378; 409]	3,8 [3,3; 4,3]	3,25*#^ [3,09; 3,44]	2,13*#^ [2,14; 2,28]	0,70 [0,65; 0,75]	-
ИМ(-)СД(-)	375*#^ [340; 389]	3,9 [2,8; 4,2]	3,25*#^ [3,19; 3,40]	2,16*#^ [2,10; 2,17]	0,69 [0,66; 0,86]	-
СД(-)ИМ(-)	460 [440; 467]	3,6 [3,5; 4,3]	2,87 [2,70; 2,90]	2,04 [1,88; 2,06]	0,62 [0,58; 0,64]	-
СД(+)	313*# [286; 336]	4,0 [3,6; 4,4]	3,37*# [3,20; 3,60]	2,20*# [2,15; 2,24]	0,78*# [0,71; 0,95]	-
ИМ(-)СД(+)	288*#^ [265; 318]	4,2*# [3,6; 5,0]	3,17*# [3,01; 3,32]	2,14*# [2,07; 2,2]	0,69 [0,64; 0,76]	-
СД(+)ИМ(-)	364*# [338; 378]	3,3 [2,5; 3,7]	2,86^ [2,69; 2,97]	1,99^ [1,89; 2,09]	0,63 [0,59; 0,66]	-
ИМ(+)	379*# [356; 397]	4,3* [3,6; 5,4]	3,42* [3,19; 3,64]	2,36* [2,24; 2,48]	0,77* [0,66; 0,87]	50 [36; 63]
ИМ(+)СД(-)	383 [347; 405]	4,2* [3,5; 4,7]	3,95*#^ [3,43; 4,35]	2,44*# [2,35; 2,50]	0,99*#^ [0,73; 1,19]	58 [54; 63]
СД(-)ИМ(+)	377*# [363; 407]	4,3* [3,5; 5,0]	3,76*#^ [3,47; 3,95]	2,46*# [2,30; 2,60]	0,82* [0,74; 0,93]	55 [57; 70]
ИМ(+)СД(+)	268*#^~ [251; 278]	4,5*#^ [4,3; 5,0]	3,51*#^ [3,49; 3,55]	2,19*#^ [2,15; 2,31]	0,85*#^ [0,71; 0,87]	20^ [15; 30]
СД(+)ИМ(+)	202*#^+~ [194; 215]	4,1*#^ [2,7; 5,1]	4,11*#^ [4,01; 4,58]	2,51*#^ [2,31; 2,95]	0,97*#^ [0,95; 0,99]	30 [25; 40]

* – $p < 0,05$ статистически значимые различия по сравнению с группой Интактные, # – $p < 0,05$ статистически значимые различия по сравнению с группой ЦБ, ^ – $p < 0,05$ статистически значимые различия по сравнению с ЛО группой. ПВ – порог возбудимости, мС\мТ – соотношение массы сердца к массе тела, мЛЖ\мТ – соотношение массы левого желудочка к массе тела, мПЖ\мТ – соотношение массы правого желудочка к массе тела, ЦБ – группа крыс с введением цитратного буфера, ЛО – ложнопериоперированные животные, ИМ – инфаркт миокарда.

Как известно, при СД гликирование белков вне- и внутриклеточного матрикса кардиомиоцитов, а также сарколеммы могут способствовать нарушению возбудимости клеток сердца (Candido et al., 2003; Candido et al., 2009; Zieman et al., 2004). Гликирование белков, образующих ионные каналы, могут также влиять на их функциональность и изменение ионной проводимости, что будет способствовать изменению мембранного потенциала кардиомиоцитов (Waczulíková et al., 2002).

В нашем исследовании ограниченное повреждение миокарда способствовало формированию гипертрофии сердца и ЛЖ (группа ИМ(+)). Однако воздействие

ограниченного повреждения миокарда в условиях гипергликемии (кратковременной и хронической) не приводило к изменению ПВ миокарда у животных (таблица 2).

Формирование ПИКС у животных сопровождалось значимым повышением ПВ миокарда, при этом в сочетании как с короткими периодами гипергликемии, так и с хронической гипергликемией, эффект повышения ПВ миокарда сохранялся.

При формировании ПИКС большую роль в изменении возбудимости сохранного миокарда играет воспаление и связанное с этим формирование интерстициального фиброза (Nguyen et al., 2014; Talman and Ruskoaho, 2016). В наших предыдущих исследованиях было показано, что через 6-8 недель после экспериментального ИМ наблюдались фиброзные изменения в сердце (Кондратьева и соавт., 2005). Кроме того, постинфарктное ремоделирование миокарда затрагивает и мембранные структуры кардиомиоцитов, что также может влиять на их электрическую стабильность. Как было показано исследованиями Qin et al., в кардиомиоцитах постинфарктного сердца крыс увеличивается длительность потенциала действия гипертрофированного миокарда ЛЖ уже через 4 недели после ИМ, что может быть связано с уменьшением плотности ионных каналов на сарколемме кардиомиоцитов (Qin et al., 1996).

Значимым эффектом гипергликемии является ее существенное влияние на морфометрические показатели сердца даже у крыс с кратковременными периодами гипергликемии. Так, у крыс как с кратковременной, так и хронической гипергликемией развивалась гипертрофия сердца, при этом не только ЛЖ, но и ПЖ. Известно, что интерстициальный фиброз является звеном патогенеза гипертрофии ЛЖ, однако при диабетической кардиомиопатии он выявляется на более поздних стадиях (Rubler et al., 1972). При стабильной или ранней диабетической кардиомиопатии, видимо, в генезе гипертрофии ЛЖ интерстициальный фиброз не играет существенной роли. В большей степени на ранних стадиях диабета имеет значение патологическая гипертрофия кардиомиоцитов (Levelt et al., 2016).

Таким образом, моделирование патологических состояний, индуцированных гипергликемией и повреждением миокарда, у крыс приводят к разной степени выраженности поражения миокарда в зависимости от интенсивности воздействия. При этом сочетанное воздействие может оказывать как положительный эффект, так и усугублять повреждающее действие.

Сократительная функция миокарда в условиях хронической гипергликемии и ишемии

Короткие эпизоды гипергликемии (группа СД(-)) не влияют на уровень ионов кальция, поступающего из внеклеточного пространства, участвующего в ЭС сокращения (таблица 3). Однако при этом нарушается функциональная активность СПР, что отражается на ПЭС сокращения и амплитуде сокращений после периодов покоя (таблица 4). В условиях хронической гипергликемии (группа СД(+)), изменяется состояние сарколеммы, что приводит к увеличению поступления ионов кальция через мембрану, которые уже участвуют в цикле ЭС сокращения (таблица 3). Амплитуда ПЭС сокращений миокарда особей с сочетанным воздействием (группы

ИМ(+) $\text{СД}(+)$ и $\text{СД}(+)$ ИМ(+)) была значимо выше, чем у диабетических крыс и животных с ПИКС. На фоне СД усиливается гликирование белков, что способствует нарушению структуры и функций внутри- и внеклеточных белков, в том числе, и мембранных (Tang et al., 2008), что способствует изменению проводимости каналов сарколеммы и повышается входящий ток Ca^{2+} (Jia et al., 2018).

Таблица 3. Динамика ЭС сокращений миокарда крыс с гипергликемией на фоне и без повреждения миокарда (Ме [Q1; Q3])

Группы	Экстрасистолические интервалы, с						
	0,2	0,25	0,5	0,75	1	1,25	1,5
ЦБ		32 [26; 35]	50 [43; 54]	60 [58; 62]	68 [65; 72]	69 [65; 78]	69 [62; 75]
ЛО		31 [25; 36]	51 [44; 53]	61 [58; 63]	69 [66; 77]	70 [63; 79]	71 [64; 78]
$\text{СД}(-)$		35 [29; 41]	54 [48; 60]	64 [58; 69]	69 [64; 73]	72 [64; 80]	74 [71; 78]
ИМ(-)		33 [27; 39]	47 [44; 53]	55 [49; 57] #	61 [55; 64] #	65 [58; 69]	67 [61; 73]
ИМ(-) $\text{СД}(-)$		40 *# [37; 45]	55 [49; 59]	63 [56; 69]	70 [64; 75]	72 [66; 77]	70 [64; 75]
$\text{СД}(-)$ ИМ(-)		46 *# [41; 50]	60 *# [56; 65]	66 *# [64; 69]	69 [64; 73]	71 [67; 77]	73 [67; 79]
$\text{СД}(+)$	50 [45; 56]	57 *# [50; 63]	68 *# [65; 72]	77 *# [72; 82]	82 *# [78; 88]	85 *# [80; 91]	85 *# [81; 90]
ИМ(-) $\text{СД}(+)$		37 + [33; 42]	56 + [52; 60]	64 + [59; 70]	70 [66; 75]	72 [69; 77]	76 [71; 80]
$\text{СД}(+)$ ИМ(-)		51 *# [46; 57]	65 *# [61; 70]	74 *# [70; 79]	79 *# [75; 85]	80 *# [76; 85]	81 *# [76; 88]
ИМ(+)		39 *# [36; 44]	67 *# [63; 71]	76 *# [71; 80]	82 *# [78; 88]	85 [80; 89]	87 [84; 91]
ИМ(+) $\text{СД}(-)$		48 *# [44; 53]	63 *# [59; 68]	73 *# [69; 78]	80 *# [76; 84]	84 [80; 91]	85 [81; 90]
$\text{СД}(-)$ ИМ(+)		46 *# [42; 49]	65 *# [61; 69]	70 [66; 74]	72 ^ [67; 76]	73 ^ [69; 79]	75 ^ [70; 79]
ИМ(+) $\text{СД}(+)$		41 *#+ [37; 47]	54+^ [49; 59]	65 [60; 71]	72 ^ [67; 75]	74 ^ [69; 78]	75 ^ [70; 81]
$\text{СД}(+)$ ИМ(+)		44 *# [40; 49]	59 [54; 65]	68 [62; 73]	74 [70; 77]	77 [72; 83]	77 [73; 84]

Примечание. Амплитуда сокращений миокарда рассчитана в процентах (%) от значений базового сокращения при частоте стимуляции 0,5 Гц. * – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой ЦБ, # – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой ЛО, + – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группами $\text{СД}(+)$, ^ – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группами ИМ(+).

Как показали исследования Singh с соавт. (2006), при диабете у крыс повышается в миокарде содержание ионов натрия, что может влиять на деполяризацию мембраны кардиомиоцитов. В связи с чем, на фоне хронической гипергликемии возникновение ЭС сокращения миокарда происходило на более раннем ЭС интервале. Повышенный уровень ионов натрия может способствовать

укорочению абсолютного рефрактерного период, клетка становится возбудимой в более раннем периоде потенциала действия.

Таблица 4. Постэкстрасистолические сокращения миокарда крыс с повреждением миокарда и гипергликемии, а также при их сочетанном воздействии (Ме [Q1; Q3])

Группы	Экстрасистолические интервалы, с							
	0,2	0,225	0,25	0,5	0,75	1	1,25	1,5
ЦБ	140 [135; 144]	139 [136; 144]	129 [124; 133]	112 [107; 118]	107 [103; 112]	102 [100; 105]	101 [100; 103]	100 [99; 102]
ЛО	142 [138; 147]	140 [136; 143]	131 [125; 138]	113 [107; 119]	105 [100; 107]	100 [99; 103]	99 [98; 102]	97 [96; 100]
СД(-)	133 *# [127; 136]	131 *# [123; 135]	125 [118; 131]	114 [111; 117]	109 [107; 110]	106 [102; 109]	104 [103; 106]	102 [100; 104]
ИМ(-)	135 [127; 140]	139 [133; 144]	130 [124; 137]	116 [111; 121]	107 [103; 112]	104 [101; 108]	104 [102; 107]	107 *# [103; 109]
ИМ(-)СД(-)	141 [135; 148]	144 [139; 149]	123 [119; 129]	110 [105; 114]	107 [104; 111]	99 [97; 102]	99 [96; 103]	97 [96; 100]
СД(-)ИМ(-)	140 [134; 146]	140 [135; 147]	132 [125; 139]	113 [107; 120]	108 [104; 113]	102 [100; 106]	99 [97; 102]	97 [96; 100]
СД(+)	118 *# [113; 122]	116 *# [111; 120]	112 *# [107; 117]	109 [105; 113]	107 [103; 111]	105 [101; 111]	103 [100; 106]	103 [99; 105]
ИМ(-)СД(+)	149 *#+ [146; 154]	151 *#+ [146; 157]	132 + [127; 137]	112 [106; 117]	103 [100; 106]	98 [97; 101]	97 [96; 100]	96 [95; 99]
СД(+)ИМ(+)	122*#+ [117; 126]	125 *# [119; 130]	118 *# [112; 122]	116 [111; 120]	112 [107; 116]	110 [107; 114]	106 [101; 110]	105 [102; 109]
ИМ(+)	105 *# [100; 109]	107 *# [103; 110]	109 *# [105; 112]	108 [105; 111]	108 [104; 113]	102 [100; 105]	100 [98; 103]	100 [97; 103]
ИМ(+)СД(-)	100 *# [97; 104]	104 *# [100; 109]	105 *# [102; 109]	108 [105; 110]	107 [103; 110]	103 [100; 107]	103 [101; 105]	103 [99; 106]
СД(-)ИМ(+)	100 *# [97; 103]	100 *# [98; 104]	107 *# [102; 109]	107 [104; 110]	106 [103; 109]	105 [103; 110]	104 [101; 107]	104 [100; 109]
ИМ(+)СД(+)	132 +^ [127; 137]	134 +^ [129; 138]	124 +^ [119; 128]	115 [110; 119]	107 [103; 111]	106 [101; 110]	105 [100; 111]	105 [102; 110]
СД(+)ИМ(+)	122*#+^ [117; 126]	125 *#+^ [119; 130]	118 *#+^ [114; 122]	116 [111; 120]	112 [107; 116]	110 [107; 114]	106 [101; 110]	105 [102; 109]

Примечание. * – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой ЦБ, # – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой ЛО, + – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группами СД(+), ^ – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группами ИМ(+).

Ограниченное повреждение миокарда, а также воздействие кратковременных эпизодов гипергликемии не вызывали значимых изменений инотропной реакции миокарда на периоды покоя по сравнению с контролем (рисунок 2). Дополнительное повреждающее воздействие на фоне коротких эпизодов гипергликемии (группа СД(-)ИМ(-)) усугубило снижение амплитуды сокращений после длинных периодов покоя. Формирование устойчивой гипергликемии у животных более значимо угнетало потенциацию инотропного ответа, индуцируемую периодами покоя, по сравнению с животными с короткими эпизодами гипергликемии (рисунок 2).

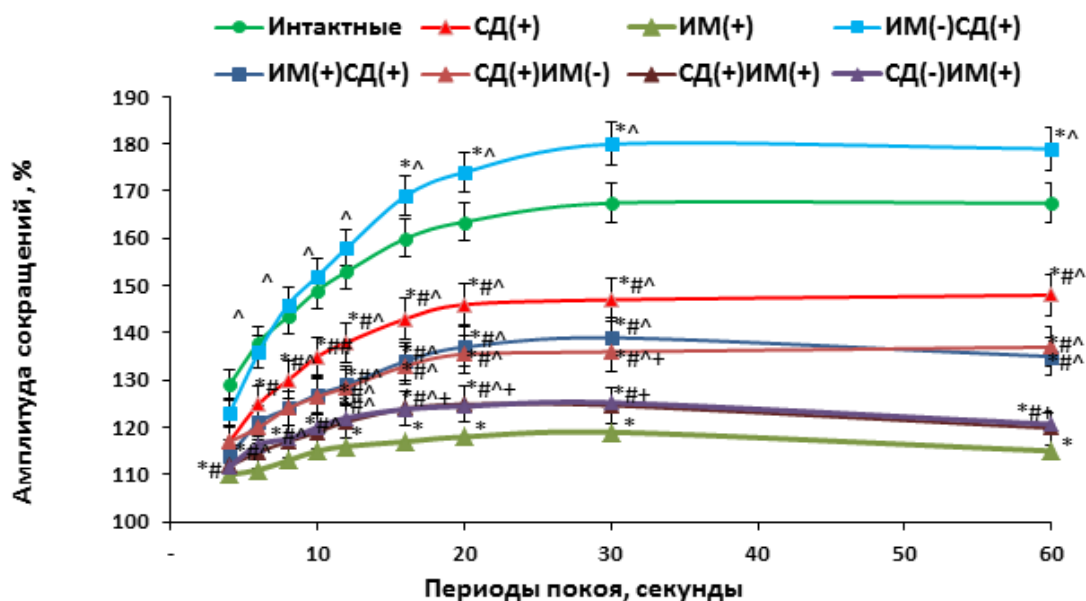


Рисунок 2. Динамика механической реституции миокарда крыс с повреждением миокарда в сочетании и без гипергликемии (M+SEM)

Примечание. * – $p < 0,05$ статистически значимое различие с интактной группой, # – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой ИМ(-)СД(+), + – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой СД(+), ^ – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой ИМ(+).

Значимое влияние гипергликемия оказывает на функциональную активность СПР (Ligeti et al., 2006). Так, при транзиторной гипергликемии наблюдалось подавление функций СПР, что привело к снижению потенциации ПЭС сокращений и после периодов покоя (таблица 3, 4). При хронической гипергликемии этот эффект оказался более выраженным. При ограниченном повреждении миокарда (группа ИМ(-)) наблюдается значимое снижение амплитуды ЭС сокращений относительно соответствующих показателей интактных крыс (таблица 3). При этом у этих животных ПЭС потенция и инотропная реакция миокарда на периоды покоя сопоставимы с реакцией интактных животных (таблица 4, рисунок 2), что позволяет говорить о сохранении кальций-аккумулирующей способности СПР.

При сочетании эпизодов гипергликемии и ограниченного повреждения миокарда негативные влияния их моно-воздействий полностью нивелируются, когда патологические воздействия начинаются с ограниченного повреждения миокарда (группа ИМ(-)СД(-)). Однако этот эффект не наблюдается в случае начального воздействия эпизодов гипергликемии (группа СД(-)ИМ(-)) (рисунок 2). В этом случае влияние гипергликемии на внутриклеточный гомеостаз ионов кальция сохранялся. При начальном воздействии ограниченного повреждения миокарда, а затем установления гипергликемии (группа ИМ(-)СД(+)) отрицательные воздействия гипергликемии также нивелируются. Однако моделирование патологических состояний в обратной последовательности, (группа СД(+))ИМ(-)), отрицательный эффект хронической гипергликемии на ритмоинотропные реакции миокарда сохраняется.

Ремоделирование кардиомиоцитов в постинфарктный период (группа ИМ(+)) приводит к существенному повышению амплитуды ЭС сокращений миокарда, что свидетельствует о большем количестве ионов кальция, участвующего в ЭС сокращении (таблица 3). Как показали наши исследования, при хронической ишемии миокарда практически не наблюдается потенциация ПЭС (таблица 4) и сокращений после периодов покоя (рисунок 2), что свидетельствует о существенном снижении функциональной активности СПР.

Короткие эпизоды гипергликемии значимо не изменяли негативный эффект постинфарктного ремоделирования на ритмоинотропные реакции миокарда независимо от порядка индуцирования повреждений миокарда (группы ИМ(+)/СД(-) и СД(-)/ИМ(+)). Однако развитие устойчивой гипергликемии на ранней стадии постинфарктного ремоделирования (группа ИМ(+)/СД(+)) модулирует. сила – частотная зависимость миокарда (таблица 5).

Таблица 5. Зависимость частота – сила миокарда крыс с повреждением миокарда в сочетании и без гипергликемии (Ме [Q1; Q3])

Группы	Частота стимулирующих импульсов, Гц						
	0,1	0,5	0,7	1	2	3	4
ЦБ	137 [134; 142]	100 [100; 100]	94 [90; 100]	71 [66; 76]	38 [31; 42]	28 [22; 32]	20 [16; 23]
ЛО	141 [134; 145]	100 [100; 100]	90 [86; 97]	68 [[60; 75]	35 [30; 38]	25 [23; 28]	17 [15; 20]
СД(-)	140 [131; 144]	100 [100; 100]	85 [80; 89]	69 [54; 79]	49 *# [44; 53]	39 *# [34; 53]	25 [20; 32]
ИМ(-)	150 *# [146; 156]	100 [100; 100]	76 *# [74; 78]	56 *# [53; 58]	31 [29; 33]	16 *# [15; 17]	8 *# [7; 11]
ИМ(-)СД(-)	131 [129; 146]	100 [100; 100]	88 [84; 91]	77 [73; 81]	33 [27; 38]	23 [17; 25]	14 [9; 17]
СД(-)ИМ(-)	137 [127; 139]	100 [100; 100]	91 [88; 95]	80 [76; 84]	53 *# [49; 56]	19 [17; 25]	7 [6; 15]
СД(+)	126 *# [120; 132]	100 [100; 100]	87 [81; 92]	78 [68; 85]	50 *# [44; 55]	37 *# [34; 42]	30 *# [26; 38]
ИМ(-)СД(+)	124 *# [115; 127]	100 [100; 100]	92 [85; 95]	80 [74; 85]	38 [35; 49]	26 [20; 38]	18 [12; 22]
СД(+)/ИМ(-)	117 [112; 133]	100 [100; 100]	76 [72; 84]	61 + [57; 64]	25 + [22; 31]	14 + [12; 22]	10 + [7; 16]
ИМ(+)	128 *# [121; 132]	100 [100; 100]	93 [91; 98]	77 [63; 89]	49 *# [44; 54]	31 [26; 36]	23 [15; 28]
ИМ(+)/СД(-)	104 *#+^ [101; 110]	100 [100; 100]	95 [93; 97]	88 *# [78; 94]	54 *# [47; 58]	33 [28; 37]	14 + [10; 18]
СД(-)ИМ(+)	121 *# [113; 130]	100 [100; 100]	86 ^ [82; 91]	71 [65; 84]	44 [67; 56]	30 [24; 34]	18 + [15; 21]
ИМ(+)/СД(+)	112 *# [109; 121]	100 [100; 100]	90 [88; 93]	73 [63; 81]	45 [40; 60]	21 [16; 31]	14 + [9; 19]
СД(+)/ИМ(+)	113 *# [107; 132]	100 [100; 100]	86 [82; 90]	72 [68; 76]	58 *# [44; 63]	50 *# [42; 53]	35 *# [26; 38]

Примечание. Амплитуда сокращений миокарда рассчитана в процентах (%) от значений базового сокращения при частоте стимуляции 0,5 Гц. * – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой ЦБ, # – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой ЛО, + – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой СД(+), ^ – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой ИМ(+).

Полученные результаты позволяют констатировать, что при сочетанном воздействии ишемии и гипергликемии происходит ограничение негативного воздействия постинфарктного ремоделирования на сократительную активность миокарда. При моделировании ИМ на фоне уже установившейся гипергликемии (группа СД(+)**ИМ(+)**), положительный эффект сочетания патологий проявляется в гораздо меньшей степени. Короткие эпизоды гипергликемии значимо не изменяли негативный эффект постинфарктного ремоделирования на ритмоинотропные реакции миокарда независимо от порядка индуцирования повреждений миокарда (группы **ИМ(+)**СД(-) и СД(-)**ИМ(+)**). Однако развитие устойчивой гипергликемии на ранней стадии постинфарктного ремоделирования (группа **ИМ(+)**СД(+)) модулирует ритмоинотропные реакции миокарда. Это подтверждают данные о сохранении инотропного ответа на ЭС воздействия и сила – частотная зависимость.

Экспрессия кальций-транспортирующих белков саркоплазматического ретикулаума в условиях гипергликемии и ишемии миокарда.

Известно, что гипергликемия при стрессе является частью адаптивной реакции организма, которая развивается вследствие влияния контринсулярных воздействий гормонов стресса (Sharma et al., 2022). Действительно, в нашем исследовании у крыс с кратковременными периодами гипергликемии (группа СД(-)) наблюдается состояние, при котором повышаются функциональные возможности миокарда. Так, в миокарде происходит стимуляция экспрессии кальций-транспортирующих белков СПР – Ca²⁺-АТФ-азы (SERCA2a), рианодиновых рецепторов (RyR2) и кальсеквестрина (CASQ2) (рисунок 3, 4, 5), что способствует повышению сократительного резерва кардиомиоцитов.

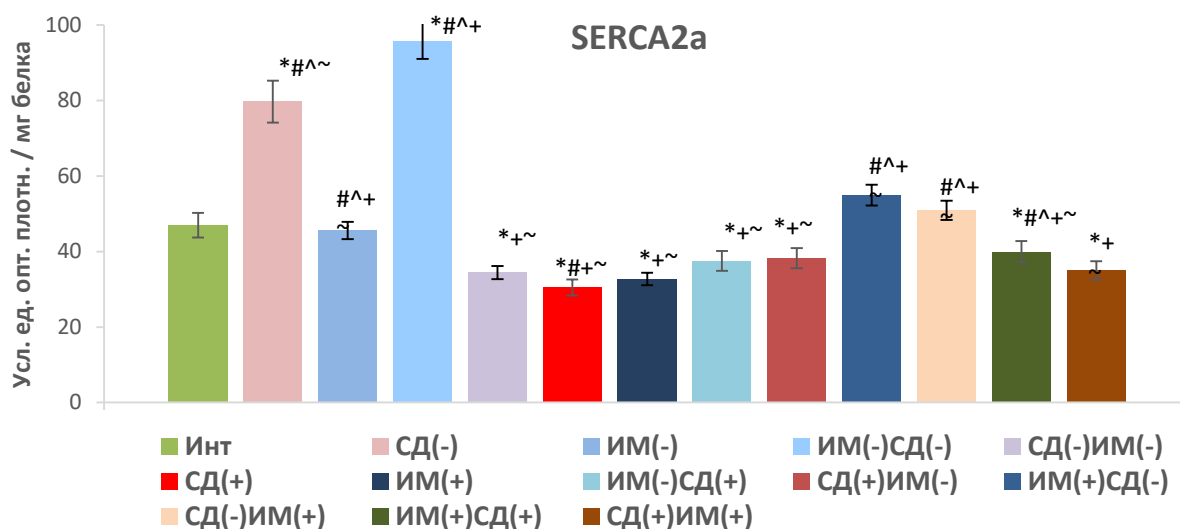


Рисунок 3. Уровень экспрессии SERCA2a в миокарде крыс с гипергликемией в сочетании и без повреждения миокарда (M+SEM)

Примечание. Инт – группа интактных крыс. * – $p < 0,05$ статистически значимое различие с интактной группой, # – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой СД(+), ^ – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой ИМ(+), + – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой СД(-). ~ – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой ИМ(-)СД(-).

При этом снижается экспрессия фосфоламбана (PLB) (рисунок 4), что в сочетании с повышенным уровнем SERCA2a, еще больше повышает возможности для захвата и аккумуляции ионов кальция в СПР. Ограниченное повреждение миокарда (группа ИМ(-)) не влияло на процессы обратного захвата ионов кальция (рисунок 3), но способствовало уменьшению уровня экспрессии RyR2 и повышению экспрессия CASQ2 (рисунок 5, 6), что, в конечном итоге, не влияло на ритмоинотропную реакцию миокарда.

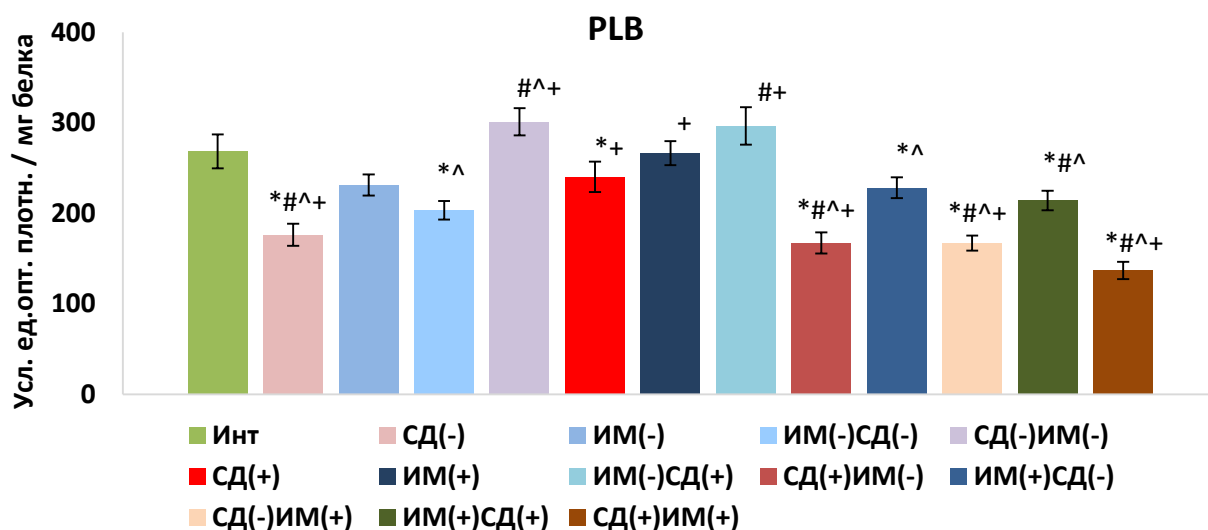


Рисунок 4. Уровень экспрессии фосфоламбана (PLB) в миокарде крыс с гипергликемией в сочетании и без повреждения миокарда (M+SEM)

Примечание. Инт – группа интактных крыс. * – $p < 0,05$ статистически значимое различие с интактной группой, # – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой CD(+), ^ – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой ИМ(+), + – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой ИМ(+)CD(+).

В условиях ограниченного повреждения миокарда с последующим воздействием кратковременных эпизодов гипергликемии (группа ИМ(-)CD(-)) эффекты последнего на экспрессию кальций – транспортирующих белков сохранялись. Тогда как при обратной последовательности моделирования патологий (группа CD(-)ИМ(-)) эффект гипергликемии сохранялся только на экспрессию SERCA2a (рисунок 3). При этом экспрессия PLB повышалась (рисунок 4) и уровни RyR2 и CASQ2 (рисунок 5,6) снижались. Функционально это проявилось в сниженной ритмоинотропной реакции. Сопутствующее влияние кратковременных периодов гипергликемии на фоне формирования постинфарктного ремоделирования сердца способствовало более умеренному снижению экспрессии кальций – транспортирующих белков, чем это происходило при моновариантном развитии постинфарктного ремоделирования сердца. Однако, несмотря на положительное влияние на экспрессию Ca^{2+} – транспортирующих белков кратковременных эпизодов гипергликемии, в условиях ИМ функциональное состояние миокарда значимо не улучшилось. Метаболические изменения, индуцируемые

хронической гипергликемией (группа СД(+)), негативно влияли на экспрессию Ca^{2+} – транспортирующих белков SERCA2a и RyR2 (рисунок 3, 5). Снижение экспрессии этих белков и их генов показано уже на ранней стадии СД у крыс (Belke and Dillmann, 2004; Bidasee et al., 2001; Györke and Terentyev, 2008). Такие изменения сопровождались повышением конечно-диастолической концентрации ионов кальция в кардиомиоцитах (Ligeti et al., 2006) и изменениями сократимости кардиомиоцитов у крыс на начальной стадии развития с СД (Marchini et al., 2020).

Сочетанное воздействие ограниченного повреждения миокарда и последующей хронической гипергликемии (группа ИМ(-)СД(+)) в какой-то степени уменьшало негативное влияние хронической гипергликемии на экспрессию Ca^{2+} – транспортирующих белков. При таком комбинированном воздействии экспрессия CASQ2 белка повышалась почти в 2 раза относительно значений контрольных крыс (рисунок 6). Увеличение экспрессии CASQ2 сопровождалось повышением и функционального резерва кардиомиоцитов, поскольку ритмоинотропная реакция миокарда этих животных значимо превышала таковую контрольных крыс. Видимо, в данном случае имеет место активация компенсаторно-приспособительных реакций, индуцированных ограниченным повреждением миокарда. Однако при развитии метаболического состояния кардиомиоцитов, формирующегося при ограниченном повреждении миокарда на фоне хронической гипергликемии (группа СД(+))ИМ(-)) такой реакции не наблюдалось.

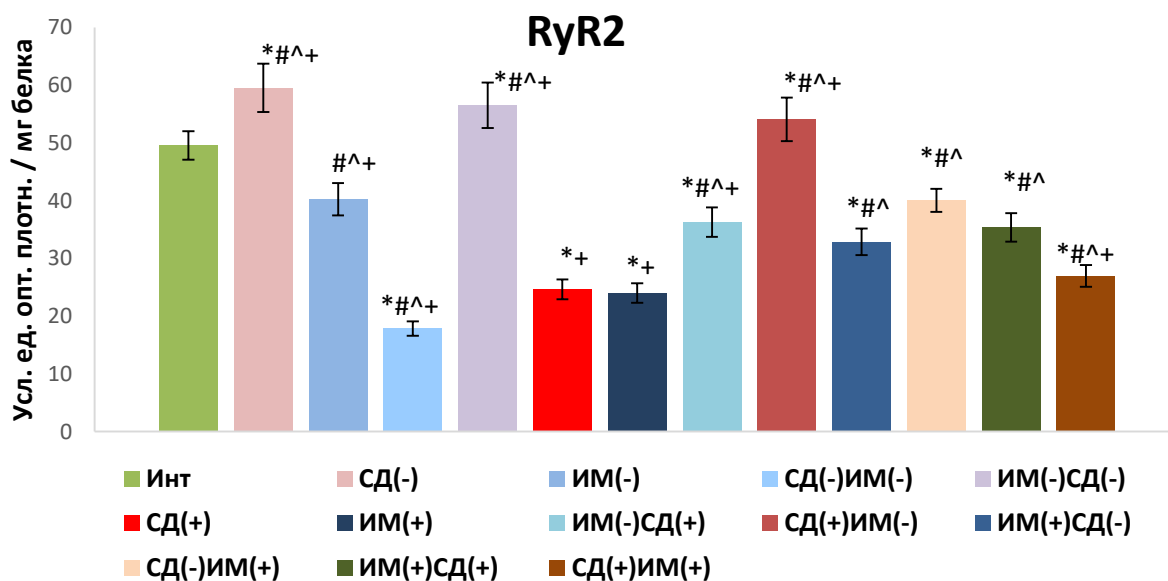


Рисунок 5. Уровень экспрессии риадиноновых рецепторов (RyR2) в миокарде крыс с гипергликемией в сочетании и без повреждения миокарда (M+SEM)

Примечание. Инт – группа интактных крыс. * – $p < 0,05$ статистически значимое различие с интактной группой, # – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой СД(+), ^ – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой ИМ(+), + – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой ИМ(+СД(+).

При этом, несмотря на положительное влияние такого сочетанного воздействия патологических факторов на экспрессию RyR2 (рисунок 5), наблюдалось значимое угнетение экспрессии CASQ2 (рисунок 6), что в итоге приводило к нарушению ритмоинотропной реакции миокарда.

Согласно полученным нами данным, сочетанное воздействие хронической ишемии миокарда и последующей хронической гипергликемией оказывает положительный эффект на экспрессию Ca²⁺ - транспортирующих белков. Однако при моделировании ИМ на фоне хронической гипергликемии положительного эффекта на экспрессию кальций-транспортирующих белков СПР относительно монопатологий не наблюдалось.

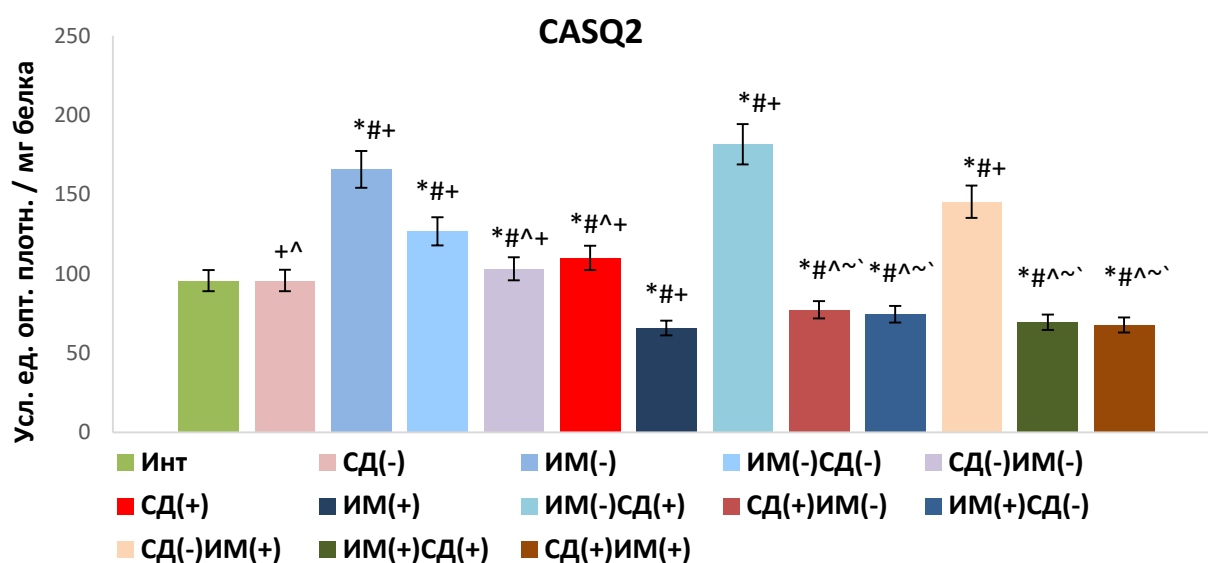


Рисунок 6. Уровень экспрессии кальсеквестрина (CASQ2) в миокарде крыс с гипергликемией в сочетании и без повреждения миокарда (M+SEM)

Примечание. Инт – группа интактных крыс. * – $p < 0,05$ статистически значимое различие с интактной группой, # – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой СД(+), + – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой ИМ(+), ^ – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой ИМ(-).

Таким образом, кратковременные эпизоды гипергликемии стимулируют экспрессию кальций – транспортирующих белков СПР, что позволяет повышать сократительный резерв кардиомиоцитов, тогда как хроническое воздействие гипергликемии приводит к подавлению экспрессии этих белков. При сочетанном воздействии патологических факторов могут формироваться компенсаторно-приспособительные реакции, которые предупреждают развитие негативных влияний на кальций – транспортирующие белки СПР. Данные механизмы реализуются в случае исходного воздействия ограниченного повреждения миокарда, но не гипергликемии.

Экспрессия транспортеров глюкозы GLUT1 и GLUT4 и жирных кислот CD36 в условиях гипергликемии ишемии миокарда

Наши исследования показали, что умеренные повреждающие воздействия на миокард, в виде кратковременных эпизодов гипергликемии (группа СД(-)) и ограниченного повреждения миокарда (группа ИМ(-)), значимых влияний на экспрессию транспортеров глюкозы инсулиннезависимого – GLUT1 и ЖК – CD36 (рисунок 7, 9) не оказывали. Вместе с тем наблюдалось небольшое снижение экспрессии инсулинозависимого транспортера GLUT4 (рисунок 8) у животных с эпизодами гипергликемии (группа СД(-)).

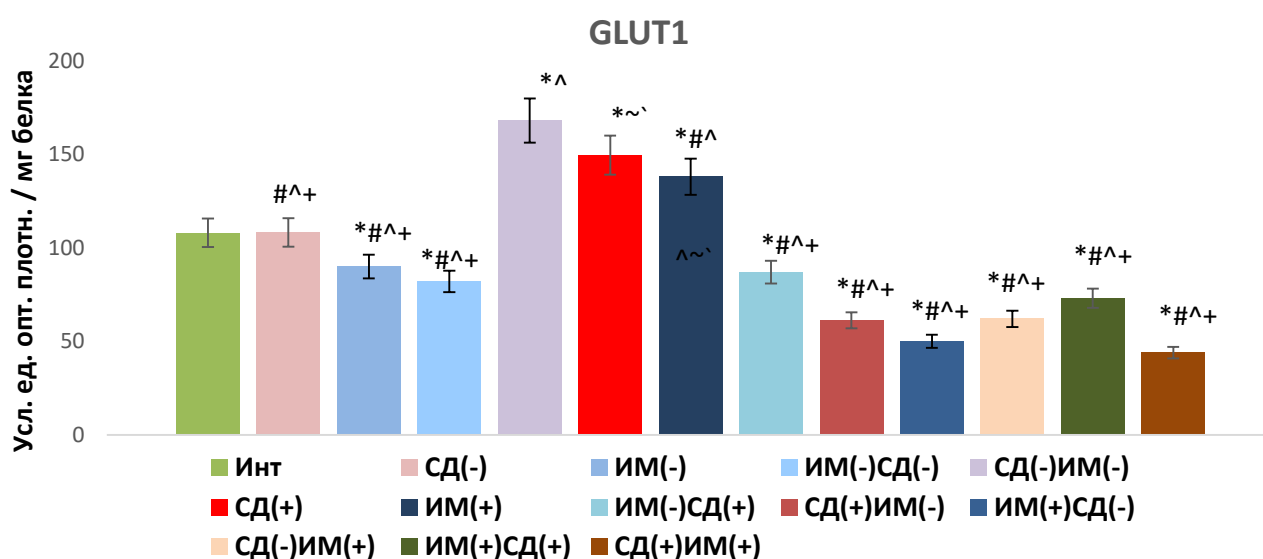


Рисунок 7 – Экспрессия GLUT1 в миокарде крыс с гипергликемией на фоне и без повреждения миокарда (M+SEM)

Примечание. Инт – группа интактных крыс. * – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с интактной группой, # – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой СД(+), ^ – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой ИМ(+), + – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой СД(-)ИМ(-).

Сочетанное воздействие кратковременных эпизодов гипергликемии и ограниченного повреждения миокарда (группа ИМ(-)СД(-)) в целом не влияло на экспрессию транспортеров энергетических субстратов. Однако у крыс группы СД(-)ИМ(-) был высокий уровень экспрессии GLUT1 и низкий – CD36 (рисунок 7, 9).

Сходное влияние оказало развитие хронических патологических состояний на экспрессию транспортеров глюкозы и ЖК. У животных с хронической гипергликемией (группа СД(+)), также как и крыс с хронической ишемией миокарда (группа ИМ(+)), наблюдалось компенсаторное повышение экспрессия GLUT1 в ответ на снижение экспрессии GLUT4 и CD36 (рисунок 8, 9). С одной стороны, GLUT4 и CD36 регулируются инсулином (Chanda et al., 2016), соответственно, их снижение является

результатом недостатка инсулина у этих животных. С другой стороны, хотя GLUT4 является преобладающей изоформой переносчика глюкозы, присутствующей в нормальном миокарде, GLUT1 приобретает относительно большее значение в хронических или полухронических патофизиологических ситуациях. При этом экспрессия GLUT1 увеличивается одновременно с репрессией GLUT4. Такие патофизиологические ситуации встречаются при постишемической реперфузии (Sung et al., 2017), постинфарктной сердечной недостаточности (Tanaka et al., 2001) и гипертрофии сердца (Miyazaki et al., 2019). Однако случаи частичной или полной функциональной замены GLUT4 на GLUT1 характеризуются потерей метаболической гибкости, повышенным поглощением глюкозы миокардом и снижением чувствительности к инсулину (Glatz et al., 2020).

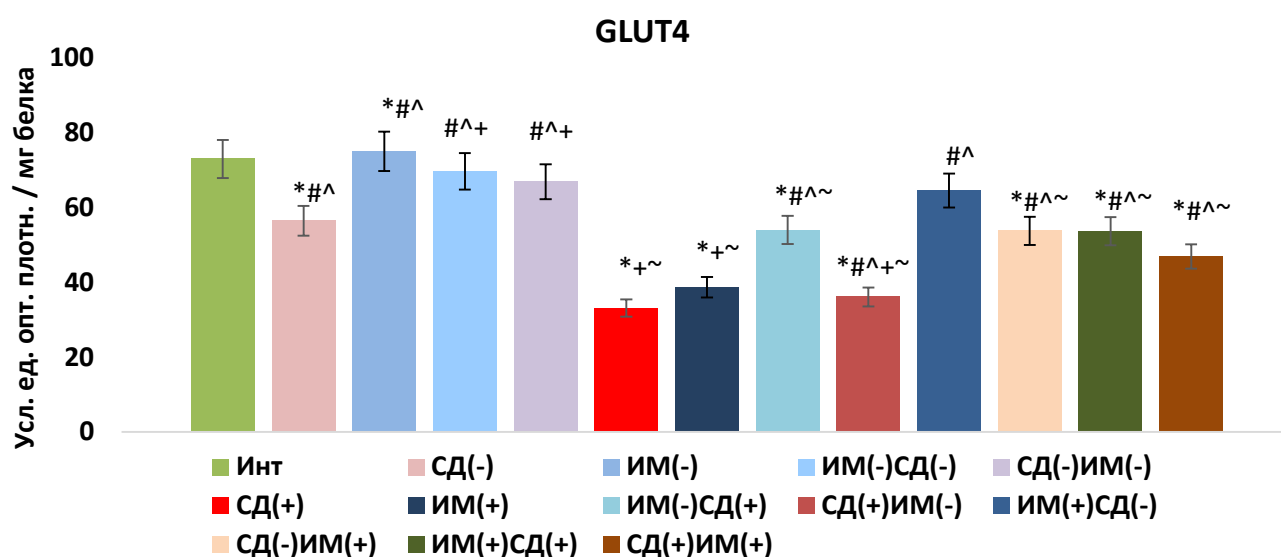


Рисунок 8 – Экспрессия GLUT4 в миокарде крыс с гипергликемией на фоне и без повреждения миокарда (M±SEM)

Примечание. Инт – группа интактных крыс. * – $p < 0,05$ статистически значимое различие с интактной группой, # – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с СД(+) группой, ^ – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой ИМ(-). + – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой СД(-), ~ – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой ИМ(-)

Дополнительное воздействие хронической гипергликемии на фоне ограниченного повреждения миокарда (группа ИМ(-)СД(+)) или ИМ (группа ИМ(+СД(+)) способствует снижению ингибирующего влияния гипергликемии на экспрессию GLUT4, что может положительно сказаться на энергетическом метаболизме кардиомиоцитов. Сочетанное развитие патологий существенно ограничивало стимулирующее действие моновариантных патологических состояний хронической гипергликемии и ишемии миокарда на экспрессию GLUT1. Показано, что переход от компенсированного ремоделирования к сердечной недостаточности связан с повышением экспрессии GLUT1 у крыс после инфаркта миокарда (Rosenblatt-Velin et al., 2001). Повышенная экспрессия

GLUT1 также индуцируется ишемией миокарда. Показано, что ишемия миокарда увеличивает уровень мРНК GLUT1 и белка как в ишемизированных, так и в неишемизированных областях сердца животных (Brosius et al., 1997; Feldhaus and Liedtke, 1998).

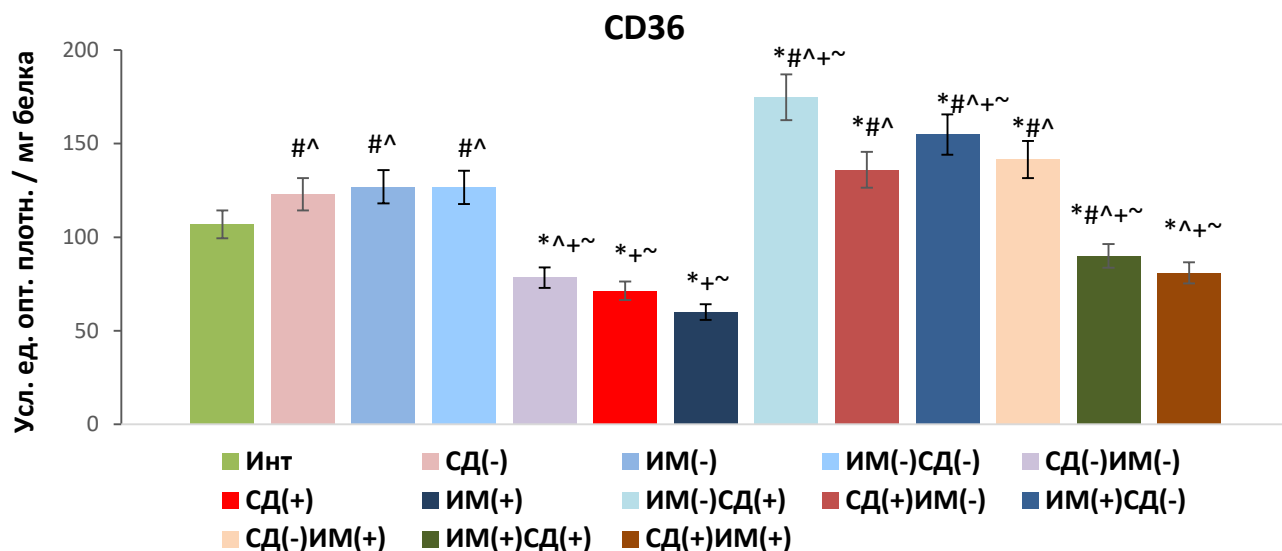


Рисунок 9 – Содержание CD36 в миокарде крыс с гипергликемией в сочетании и без повреждения миокарда (M+SEM)

Примечание. Инт – группа интактных крыс. * – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с интактной группой, # – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой СД(+), ^ – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой ИМ(+). + – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой СД(-), ~ – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой ИМ(-).

Возможно, более значимым для эффективного энергетического состояния является положительное соотношение транспортеров глюкозы GLUT4/GLUT1. Так, сообщалось о снижении соотношения GLUT4/GLUT1 у пациентов с гипертрофией левого желудочка (Paternostro et al., 1999). Аналогичные наблюдения были сделаны на животных моделях патологической гипертрофии сердца. Перегрузка давлением сердца увеличивает общую экспрессию GLUT1, но снижает общую экспрессию GLUT4 (Tian, 2003).

Особенностью животных с сочетанным формированием патологии, у которых на фоне ограниченного повреждения миокарда развивалась хроническая гипергликемия (группа ИМ(-)СД(+)), а также крыс, у которых на фоне ИМ были эпизоды гипергликемии (группа ИМ(+СД(-)), являлась повышенная экспрессия CD36. На фоне хронической гипергликемии и постинфарктного ремоделирования сердца (группы ИМ(+СД(+)) и СД(+ИМ(+)) экспрессия GLUT1 была почти в 2 раза ниже по сравнению с исследуемым показателем у животных групп контроля. Экспрессия GLUT4 и CD36 в этих группах была менее снижена по сравнению с таковыми у животных с моно-патологиями.

Таким образом, умеренное воздействие на миокард, как при кратковременных эпизодах гипергликемии, так и при ограниченном повреждении миокарда не оказывает

существенного влияния на экспрессию транспортеров энергетических субстратов, так же как их сочетанное развитие. При сочетании хронических патологий с умеренными воздействиями способствуют стимуляции экспрессии CD36. Моновариантное формирование как хронической гипергликемии, так и ишемии миокарда оказывают негативное воздействие на экспрессию транспортеров глюкозы GLUT4 и ЖК CD36 и стимулирующее влияние на экспрессию транспортера глюкозы GLUT1. Сочетанное развитие хронической гипергликемии и ишемии миокарда способствует ограничению влияния их моновариантных воздействий на экспрессию транспортеров глюкозы и ЖК.

Состояние энергетического метаболизма кардиомиоцитов крыс в условиях хронической гипергликемией и ишемией миокарда.

Недостаток кислорода при ишемии приводит к своим модификации в энергетический метаболизм кардиомиоцитов. Гипергликемия тоже приводит к изменению путей синтеза АТФ. Всё это становится индуктором дисбаланса метаболических процессов в кардиомиоцитах при патологических состояниях. По результатам нашего исследования процессы анаэробного гликолиза, оцененные по уровню экспрессии лактатдегидрогеназы (ЛДГ), остались устойчивыми к воздействиям кратковременной гипергликемии (группа СД(-)) и ограниченному повреждению миокарда (группа ИМ(-)), как при их моновариантном, так и при сочетанном влиянии (рисунок 10).

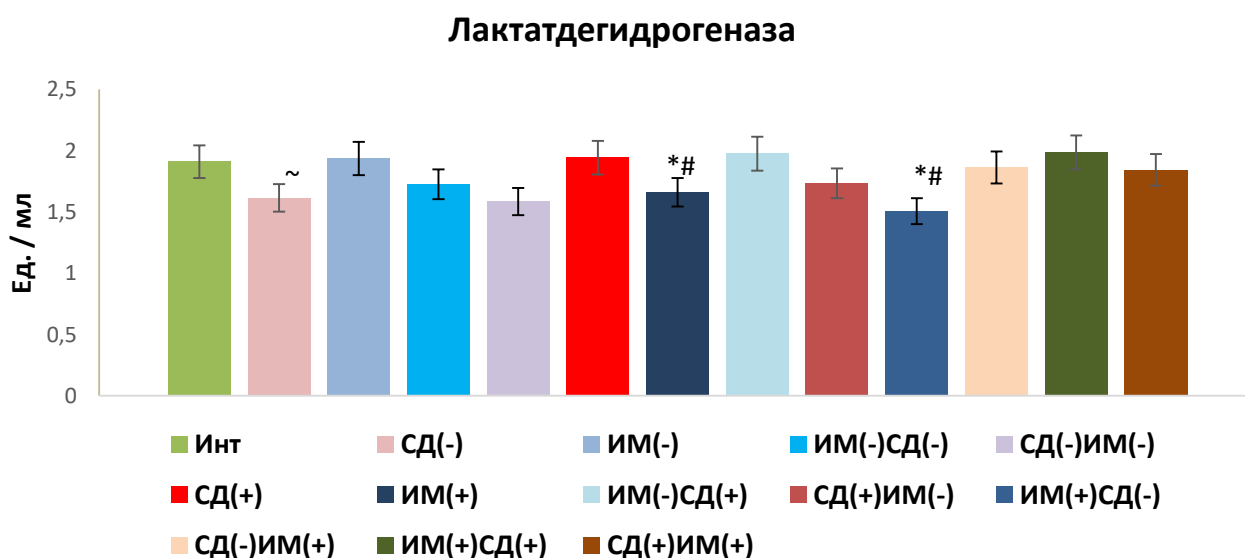


Рисунок 10 – Активность лактатдегидрогеназы в кардиомиоцитах крыс с гипергликемией в сочетании и без повреждения миокарда (M+SEM)

Примечание. Инт – группа интактных крыс. * – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с интактной группой, # – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой СД(+), ^ – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой ИМ(+). + – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой СД(-), + – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой ИМ(-).

Кратковременные эпизоды гипергликемии и ограниченное повреждение миокарда оказывали существенное стимулирующее влияние на интенсивность процессов цикла

Кребса, о чем свидетельствовало повышение экспрессии (сукцинатдегидрогеназы) СДГ (рисунок 11). Дополнительное воздействие эпизодов гипергликемии на фоне ограниченного повреждения миокарда (группа ИМ(-)СД(-)) способствовало суммации стимулирующего влияния на процессы цикла Кребса (рисунок 11). Предварительное воздействие кратковременных эпизодов гипергликемии нивелировало стимулирующий эффект ограниченного повреждения миокарда (группа СД(-)ИМ(-)) на процессы цикла Кребса.

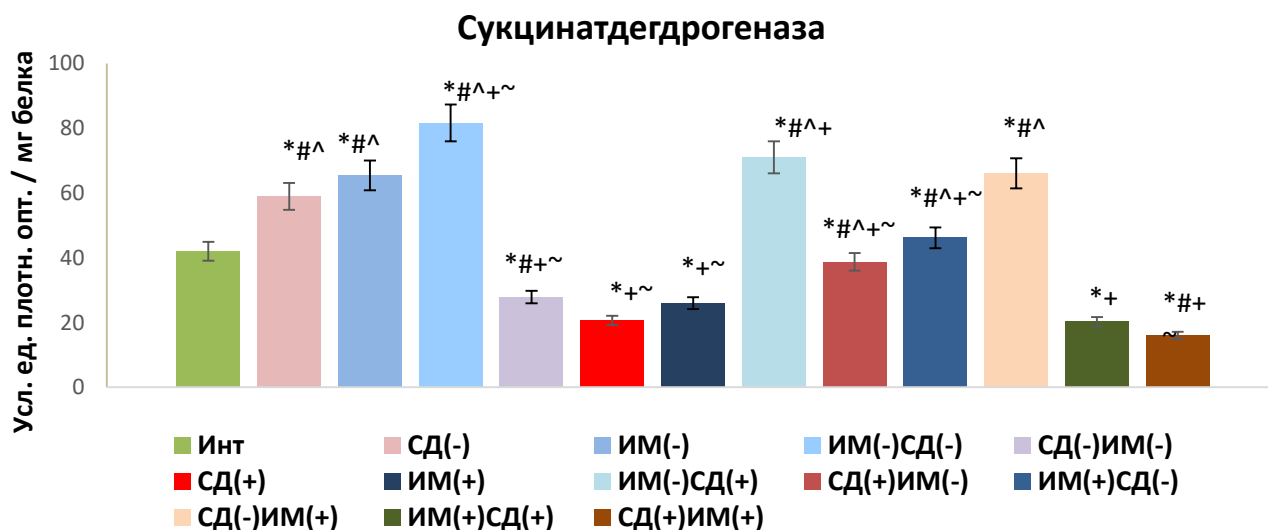


Рисунок 11 – Уровень экспрессии сукцинатдегидрогеназы в миокарде крыс с гипергликемией в сочетании и без повреждения миокарда (M+SEM)

Примечание. Инт – группа интактных крыс. * – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с интактной группой, # – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой СД(+), ^ – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой ИМ(+). + – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой СД(-), ~ – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой ИМ(-).

При хронической гипергликемии активность ЛДГ в миокарде крыс с СД не отличалась от аналогичных значений особой контрольной группы (рисунок 10). В работе Лакомкина с соавт. показано, что, несмотря на переключение метаболизма кардиомиоцитов в сторону использования жирных кислот, в сердцах диабетических крыс повышается образование лактата (Лакомкин и соавт., 2022). Эти авторы считают, что в рассматриваемых условиях гликолиз происходит с низкой скоростью и сопровождается ингибированием пируватдегидрогеназы, в результате чего из пирувата образуется лактат в лактатдегидрогеназной реакции. Такое развитие событий способствует снижению поступления субстрата, образовавшегося в результате гликолиза, в цикл Кребса для дальнейшего его окисления. Действительно, в нашем исследовании хроническая гипергликемия (группа СД(+)), ингибирует процессы цикла Кребса (рисунок 11).

Стимулирующий эффект на процессы цикла Кребса ограниченного повреждения миокарда сохранялся и на фоне хронической гипергликемии (группы ИМ(-)СД(+)) и СД(+ИМ(-)) не зависимо от порядка повреждающего воздействия. Вместе с тем степень

этой стимуляции была значительно выше у особей с предварительным воздействием ограниченного повреждения миокарда. В отличие от сочетанного воздействия с кратковременными эпизодами гипергликемии, в условиях хронической гипергликемии интенсивность β -окисления не ингибировалась, оцененная по экспрессии гидроксиацил-коэнзим А дегидрогеназы (NADH) – основного фермента β -окисления ЖК (рисунок 12).

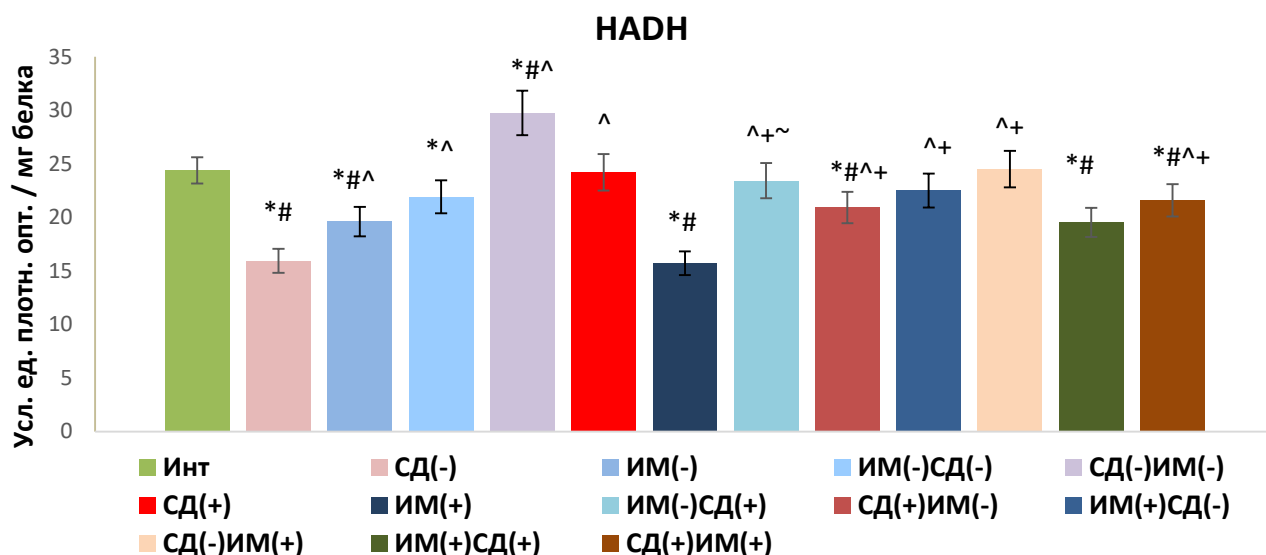


Рисунок 12 – Экспрессия NADH (в миокарде крыс с гипергликемией на фоне и без повреждения миокарда (M+SEM)

Примечание. Инт – группа интактных крыс. NADH - гидроксиацил-коэнзим А дегидрогеназа (hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenase), * – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с интактной группой, # – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой СД(+), ^ – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой ИМ(+). + – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой СД(-), ~ – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой ИМ(-).

Вероятно, использование дополнительного источника энергетических субстратов в виде гликогена, накапливаемого в миокарде при СД, позволяет сохранить интенсивность синтеза АТФ в митохондриях (Malfitano et al., 2015).

Согласно полученным результатам, наибольшее нарушение процессов энергообразования происходит в условиях хронической ишемии миокарда. При данном повреждении миокарда страдают все пути синтеза АТФ, но при гликолитической продукции АТФ это выражено в меньшей степени. Известно, что во время гипоксии или ишемии, миокард переключается на преимущественное использование глюкозы в качестве источника энергии (Jaswal et al., 2011; Masoud et al., 2014).

При хронической ишемии миокарда в сочетании как с кратковременными эпизодами, так и с хронической гипергликемией интенсивность процессов энергообразования в миокарде крыс повышается, по сравнению с моновариантным формированием патологии. Интенсивность гликолитических процессов, а также β -окисления ЖК восстанавливается в миокарде у животных с ИМ на фоне как

кратковременных эпизодов гипергликемии, так и в условиях хронической гипергликемии (рисунок 12). Тогда как активность окисления субстратов в цикле Кребса улучшается у особей с ИМ при возникновении коротких эпизодов гипергликемии.

Вместе с тем степень выраженность положительного эффекта на энергетический метаболизм миокарда при сочетанном развитии патологического состояния зависит от первичного повреждающего воздействия. В нашем исследовании наибольший положительный эффект наблюдался у животных, которым исходно моделировали ИМ или ограниченное повреждение миокарда.

Таким образом, моделированные патологические состояния, как умеренные, так и тяжелые, по-разному влияют на энергетический статус кардиомиоцитов. Это достигается через разную выраженность изменений путей окисления энергетических субстратов и его интенсивности. При коморбидном состоянии, в организме активируются механизмы, направленные на поддержание энергообеспеченности клеток для выполнения их функциональных свойств.

Уровень экспрессии фактора, активируемого гипоксией, HIF-1 α в миокарде крыс при хронической гипергликемии и ишемии миокарда

В нашем исследовании экспрессия сигнальной молекулы HIF-1 α на фоне коротких эпизодов гипергликемии (группа СД(-)) повышалась почти в 2,5 раза относительно значений контрольных групп ($p < 0,01$) (рисунок 13).

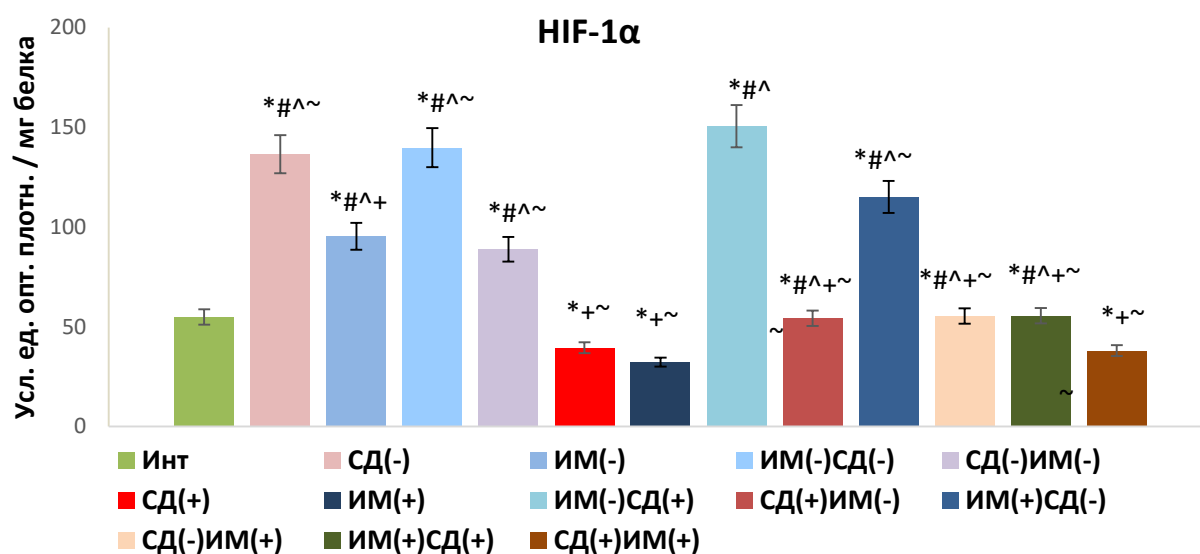


Рисунок 13 – Содержание HIF1 α в миокарде крыс с гипергликемией на фоне и без повреждения миокарда (M+SEM)

Примечание. Инт – группа интактных крыс. * – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с интактной группой, # – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой СД(+), ^ – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой ИМ(+). + – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой СД(-), ~ – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой ИМ(-).

Учитывая то, что на момент определения содержания HIF-1 α уровень глюкозы нормализовался, повышение экспрессии этой сигнальной молекулы может

свидетельствовать о сохраняющейся гипоксии миокарда, либо об изменении энергетического метаболизма. Так как известно, что HIF-1 α стабилизируется не только гипоксией, но и продуктами аэробного гликолиза, главным образом пируватом (Lu et al., 2002). При ограниченном повреждении миокарда (группа ИМ(-)), характеризующегося гипоксией, также наблюдалась стимуляция экспрессии HIF-1 α в сердечной мышце, которая превышала аналогичный показатель особей контрольной группы в 1,7 раза ($p < 0,05$). Уровень экспрессии HIF-1 α у животных с ограниченным повреждением миокарда был значимо ниже, чем у особей с эпизодами гипергликемии. Возможно, что у крыс группы ИМ(-) степень гипоксии миокарда была меньше в сравнении с животными группы СД(-).

На фоне предварительного ограниченного повреждения миокарда (группа ИМ(-)СД(-)), стимулирующий эффект кратковременной гипергликемии на экспрессию HIF-1 α сохранялся. Примечательно, что при первоначальном воздействии на миокард короткими эпизодами гипергликемии (группа СД(-)ИМ(-), уровень экспрессии HIF-1 α соответствовал аналогичным показателям животных группы ИМ(-) и не достигал уровня значений особей группы СД(-). Известно, что при СД стабильность HIF-1 α снижается, что приводит к разрушению этой молекулы (Sousa Fialho et al., 2021). Действительно, в нашем исследовании формирование СД у животных (группа СД(+)) сопровождалось ингибированием экспрессии HIF-1 α (рисунок 13) ($p < 0,05$). У животных группы ИМ(-)СД(+) экспрессия HIF-1 α в миокарде повышалась в 2,7 раза по сравнению с животными интактной группы ($p < 0,05$). В группе крыс с сочетанной патологией, которым моделировали сначала гипергликемию, а затем производили воздействие на миокард (группа (СД+)ИМ(-)), уровень экспрессии HIF-1 α в миокарде не менялся.

На фоне постинфарктного ремоделирования сердца у крыс уровень экспрессии HIF-1 α был на 40 % ниже, чем у контрольных особей ($p < 0,05$) (рисунок 13). В условиях, когда воздействие коротких эпизодов гипергликемии было оказано на фоне раннего постинфарктного периода (группа ИМ(+)СД(-)), экспрессия HIF-1 α была более чем в 2 раза выше относительно показателя интактных крыс ($p < 0,05$). Этот эффект может быть реализован в результате повышения активности процессов гликолиза и продукции пирувата у животных с сочетанной патологией, поскольку известно, что пируват повышает уровень HIF-1 α (Lu et al., 2002). При воздействии патологических факторов в обратной последовательности (группа СД(-)ИМ(+)), эффект стимуляции экспрессии HIF-1 α практически не наблюдался, но и уменьшения экспрессии исследуемого белка не наблюдалось. При сочетанном формировании ПИКС и СД (группа ИМ(+)СД(+)) у животных уровень экспрессии данной сигнальной молекулы сохранялся на уровне контрольных значений. Более низкие значения этого показателя были у крыс с сочетанной патологией, которую моделировали в обратном порядке (группа СД(+))ИМ(+)). Однако в этом случае, выявленные различия не имели значимых уровней ни с группой интактных крыс, ни с ИМ(+). Вероятно, при длительной гипергликемии в сочетании с ИМ снижается стабилизация HIF-1 α , что приводит к ее быстрой деградациии.

Таким образом, умеренное повреждение миокарда при кратковременных эпизодах гипергликемии или ограниченном повреждении миокарда способствует активации

экспрессии HIF-1 α . При сочетании этих повреждающих воздействий также наблюдается повышенный уровень фактора, индуцируемого гипоксией. На фоне хронической гипергликемии и ишемии миокарда наблюдается ингибирование экспрессии HIF-1 α . При этом сочетанное воздействие этих повреждающих факторов характеризуется сохранением экспрессии этой сигнальной молекулы, индуцирующей адаптивные механизмы. Значительная стимуляция экспрессии HIF-1 α происходит при исходном воздействии гипоксии или ишемии миокарда с последующей гипергликемией или кратковременных эпизодов гипергликемии.

Про- и антиапоптотические белки в миокарде крыс с хронической гипергликемией и ишемией миокарда.

Результаты нашего исследования показали, что при умеренных повреждающих воздействиях только кратковременные эпизоды гипергликемии индуцировали апоптоз, поскольку при этом наблюдалась низкая экспрессия Bcl2 и повышенная - Вах (рисунки 14, 15). В исследованиях *in vitro* также была показана способность индуцировать апоптоз кратковременным воздействием высокого уровня глюкозы (Liu et al., 2019). При ограниченном повреждении миокарда наблюдалась, наоборот, тенденция к повышению антиапоптотических сигналов.

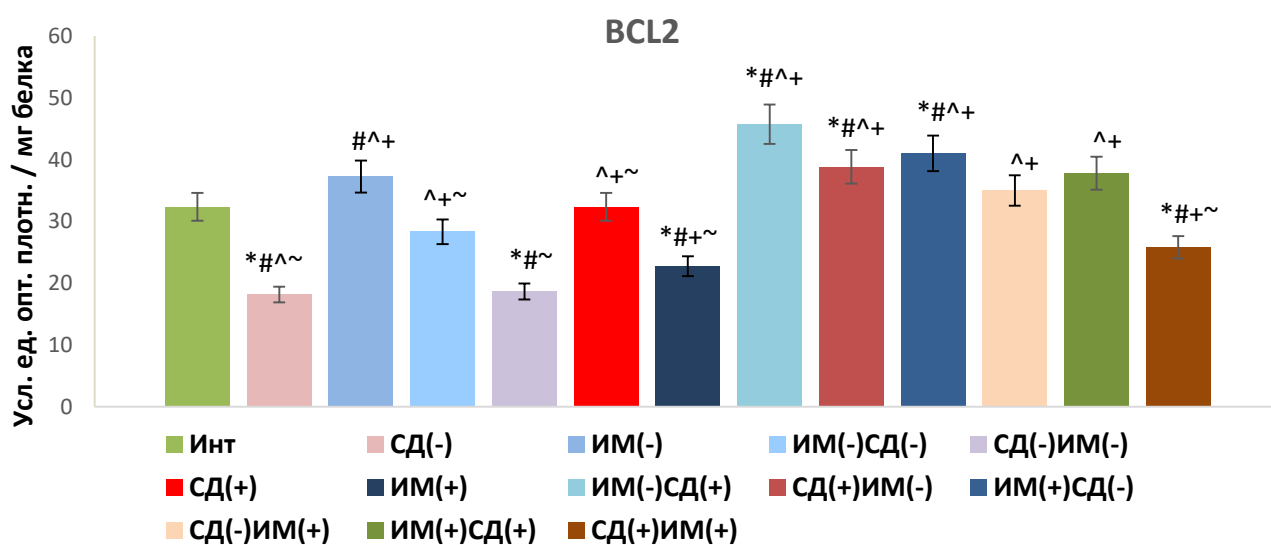


Рисунок 14 – Уровень экспрессии Bcl2 в миокарде крыс с гипергликемией на фоне и без повреждения миокарда (M+SEM)

Примечание. Инт – группа интактных крыс. * – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с интактной группой, # – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой СД(+), ^ – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой ИМ(+). + – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой СД(-), ~ – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой ИМ(-).

По нашим данным при сочетанном формировании умеренных повреждений миокарда имело значение исходное состояние, при котором развивалась сопутствующая патология. Так, при первичном воздействии ограниченного повреждения миокарда

наблюдалась тенденция к повышению антиапоптических сигналов (рисунки 14, 15). Тогда как в условиях исходного воздействия кратковременных эпизодов гипергликемии антиапоптические сигналы были снижены при неизменном уровне апоптического фактора. Влияние гипергликемии на апоптоз, видимо, имеет волнообразный характер (Fiordaliso et al., 2000). Показано, что через 6 месяцев после индукции диабета апоптоз кардиомиоцитов у крыс с диабетом все еще был выше, чем у контрольных животных (Chen et al., 2000; He et al., 2013; Xie et al., 2004). В нашем исследовании у крыс с СД через 6-8 недель после индукции диабета повышался уровень экспрессии Вах и при этом экспрессия Bcl2 не менялась.

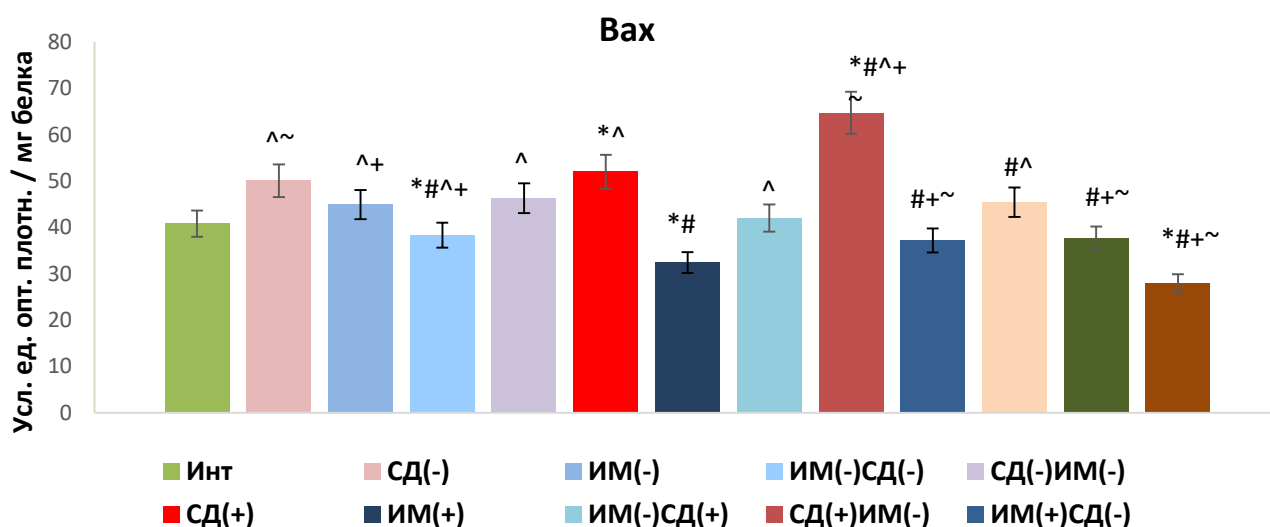


Рисунок 15 – Содержание проапоптического белка Вах в миокарде крыс с гипергликемией в сочетании и без повреждения миокарда (M+SEM)

Примечание. Инт – группа интактных крыс. * – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с интактной группой, # – $p < 0,05$ статистически значимое различие по сравнению с группой СД(+), ^ – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой ИМ(+). + – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой СД(-), ~ – $p < 0,05$ статистически значимое различие с группой ИМ(-).

Была продемонстрирована важная роль апоптоза при ишемической болезни сердца. Апоптоз вносит значительный вклад в гибель миоцитов при ОИМ (Olivettiet al., 1996; Saraste et al., 1997). Показано, что высокая степень апоптоза характерна для подострой фазы ИМ (Abbate et al., 2000) и коррелирует с параметрами прогрессирующего ремоделирования ЛЖ (Abbate et al., 2003; Baldi et al., 2002). Более того, у пациентов с СН вскоре после ОИМ апоптоз был значительно повышен (Teringova and Tousek, 2017). На основании этих результатов считают, что апоптоз играет важную роль в определении размера инфаркта, степени ремоделирования ЛЖ и развития ранней СН после ОИМ. Однако в нашем исследовании, несмотря на развитие обширного инфаркта миокарда у крыс после окклюзии КА, на стадии сформированного кардиосклероза активность апоптоза оказалась невелика. Так, экспрессия про- и антиапоптических белков была

снижена, причем последний в большей степени (рисунки 14, 15). Такой результат может свидетельствовать о наличии апоптотических процессов. Наши результаты согласуются с данными А.П. Хлапова и соавт. (2008). Эти исследователи показали, что именно на ранних стадиях ишемического ремоделирования кардиомиоциты обладают повышенной восприимчивостью к апоптогенным влияниям, а на этапе ухудшения коронарного кровообращения и развития кардиосклероза значение апоптоза в формировании сердечной недостаточности менее значимо.

Наибольшие антиапоптотические влияния оказывались в условиях первоначального ИМ с последующим воздействием коротких эпизодов гипергликемии, либо при первичном действии ограниченного повреждения миокарда с последующей устойчивой гипергликемией. В этих условиях экспрессия антиапоптотического фактора Bcl2 усиливалась при неизменном уровне проапоптотического белка Bax (рисунки 14, 15).

Преобладание проапоптотических влияний наблюдалось в условиях устойчивой гипергликемии с последующим воздействием ограниченного повреждения миокарда. В этих условиях наблюдалась повышенная экспрессия проапоптотического фактора при неизменном уровне Bcl2 (рисунки 14, 15). Примечательно, что в условиях сочетанного развития патологического состояния на фоне постинфарктного ремоделирования сердца и СД активность апоптоза оставалась на уровне контроля. При обратной последовательности формирования патологии уровень экспрессии этих белков был снижен, однако соотношение их уровней было одинаковым.

Таким образом, умеренные повреждения миокарда такие как кратковременные эпизоды гипергликемии и ограниченное повреждение миокарда значимо не влияют на активность апоптоза. Тогда как их сочетанное воздействие может оказывать проапоптотическое влияние только в условиях первичного воздействия кратковременных эпизодов гипергликемии. При моновариантном формировании как СД, так и хронической ишемии миокарда наблюдается активация апоптотических влияний сигнальных молекул. При исходном действии ИМ или ограниченного повреждения миокарда наблюдалось активация антиапоптотических влияний. В условиях начального воздействия кратковременных эпизодов или хронической гипергликемии происходила индукция проапоптотических стимулов.

Корреляционные взаимосвязи показателей гликемии, массы тела, экспрессии Ca²⁺-транспортирующих белков, ферментов энергетического метаболизма, белков, регулирующих апоптоз и транскрипционного фактора, индуцируемого гипоксией

Связь гликемии с массой тела животных. Одним из признаков развития СД 1 типа является снижение массы тела. Как оказалось, что у животных, отличающихся устойчивой гипергликемией (не зависимо от выраженности гипергликемии) наблюдалась обратная зависимость уровня глюкозы и массы тела ($r=-0.7877$, $p=0,00001$). Сходная обратная корреляционная зависимость наблюдалась и у крыс с сочетанной патологией ИМ+СД. В данном случае, независимо от размера инфаркта масса тела имеет обратную зависимость от уровня глюкозы в крови. При этом наблюдалась сильная корреляционная связь ($r=-0,8102$; $p=0,00001$). Еще более выраженную корреляционную зависимость

наблюдали у животных с обратной последовательностью моделируемых патологий СД+ИМ ($r=-0,8787$; $p=0,00001$).

Согласно проведённому нами исследованию, оказалось, что при сочетанном развитии патологий, независимо от порядка формирования патологических состояний, сила корреляции больше, чем при моно патологическом состоянии СД.

Кальций-транспортирующие белки, ферменты энергетического метаболизма и транспортеры энергетических субстратов

Кальций-транспортирующие белки СПР оказывают регулирующее влияние друг на друга. Известно, что фосфоламбан оказывает ингибирующее действие на Ca^{2+} -АТФазу СПР (SERCA2a) (Park and Oh, 2013). Показано, что функциональные особенности CaSQ2 связаны не только с его кальций – связывающей способностью, но и свойством этого белка регулировать кальций-освобождающую активность RyR2 (Gergs et al., 2017). В нашем исследовании было обнаружено, что взаимная связь имеется между всеми исследованными белками. Экспрессия RyR2 имела корреляционную связь умеренной силы с уровнем экспрессии CaSQ2 и SERCA2a, а также слабую связь с экспрессией PLB (таблица 6). Корреляционная связь была выявлена между экспрессиями SERCA2a и PLB, в тоже время между SERCA2a и CaSQ2 имелась взаимозависимость умеренной силы.

Таблица 6 – Взаимосвязь уровня экспрессии кальций-транспортирующих белков СПР (r – коэффициент корреляции)

Показатель	RyR2	SERCA2a	PLB	CaSQ2
RyR2	1,000	0,558*	-0,220*	0,448*
SERCA2a	0,558*	1,000	-0,276*	0,409*
PLB	-0,220*	-0,276*	1,000	0,257*
CaSQ2	0,448*	0,409*	0,257*	1,000

Примечание: * – $p < 0,5$ уровень значимости

Как известно, процессы транспорта ионов кальция являются энергозатратными. Особенно энергозависимыми являются процессы, связанные с функционированием белка SERCA2a. Считается, что на работу этого белка используется одна треть энергии, синтезируемой кардиомиоцитами (Gorski et al., 2015). Показано, что синтез АТФ в кардиомиоцитах может осуществляется несколькими путями, при этом последние исследования убедительно показали, что предпочтительным источником АТФ для SERCA2a является гликолиз (Kockskämpf et al., 2005). Большое значение для эффективной энергопродукции имеет энергетический субстрат и его поступление в клетку. Для клеток сердца, основным энергетическим субстратом является ЖК и глюкоза. По результатам нашего исследования оказалось, что уровень глюкозы имеет отрицательную взаимозависимость с экспрессиями белков SERCA2a и CaSQ2 (таблица 7). Исследуемые кальций-транспортирующие белки, кроме PLB, положительно коррелируют с CD36. Экспрессия PLB имела отрицательную зависимость от уровня транспортера ЖК, но положительную связь с транспортером глюкозы GLUT1. Напротив, для RyR2 была выявлена отрицательная связь с этим переносчиком глюкозы. За

исключением PLB, кальций-транспортирующие белки положительно коррелируют с экспрессией СДГ – ферментом цикла Кребса. При этом с функциональным состоянием, характеризующимся экспрессией НАДН, ассоциирован белок SERCA2a. Экспрессия фактора, индуцируемого гипоксией HIF-1 α положительно взаимосвязана с кальций-транспортирующими белками, кроме PLB. Антиапоптотический белок Bcl2 положительно коррелирует с RyR2 и SERCA2a и отрицательно – с PLB.

Таблица 7 – Взаимосвязь уровня экспрессии кальций-транспортирующих белков и белков ферментов энергетического метаболизма, а также транспортеров энергетических субстратов и уровня глюкозы (r – коэффициент корреляции)

Показатель	RyR2	SERCA2a	PLB	CaSQ2
Глюкоза	-0,216	-0,279*	-0,093	-0,309*
CD36	0,288*	0,314*	-0,225*	0,379*
Glut1	-0,320*	-0,119	0,298*	-0,087
СДГ	0,525*	0,385*	0,178	0,697*
НАДН	0,185	0,231*	-0,094	0,058
HIF-1 α	0,307*	0,417*	-0,067	0,341*
Bcl2	0,304*	0,342*	-0,372*	0,126
Примечание: * – $p < 0,5$ уровень значимости				

Ферменты энергетического метаболизма, транспортеры энергетических субстратов, регуляторы апоптоза и транскрипционный фактор, индуцируемый гипоксией

В нашем исследовании была обнаружена положительная корреляционная связь между транспортерами глюкозы GLUT4 и ЖК CD36 ($r=0,288$, $p < 0,5$), а также глюкоза имеет отрицательную корреляционную связь с ее переносчиком GLUT4 (таблица 8). Кроме того, оказалось, что уровень глюкозы обратно коррелировал с СДГ.

Известно, что СДГ и НАДН имеют положительную ассоциацию с транспортером ЖК CD36. В свою очередь, повышение уровня транспортера ЖК увеличивает поступление энергетического субстрата для цикла Кребса, который поставляет НАДН и ФАДН для окислительного фосфорилирования. В результате нашего исследования, была обнаружена положительная корреляционная связь HIF-1 α и ферментами цикла Кребса СДГ и β -окисления ЖК НАДН.

Нами была выявлена положительная ассоциация антиапоптотического белка Bcl2 с СДГ и НАДН. Это согласуется с данными о способности белка Bcl2 регулировать синтез АТФ в митохондриях при ишемии (Imahashi et al., 2004). Этот эффект достигается путем ингибирования АТФазы, которая выкачивает протоны из матрикса, восстанавливая приток электронов для окислительного фосфорилирования.

Таблица 8 – Корреляционные связи уровня глюкозы, экспрессии белков – ферментов энергетического метаболизма, транспортера ЖК и фактора, индуцируемого гипоксией HIF-1 α (r – коэффициент корреляции)

Показатель	Глюкоза	СДГ	НАДН	ЛДГ
HIF-1 α	-0,161	0,354*	0,232*	-0,063
Bcl2	0,104	0,226*	0,382*	-0,052
CD36	-0,138	0,330*	0,530*	-0,036
Glut1	-0,127	-0,174	-0,034	-0,282*
Glut4	-0,305*	0,069	0,088	-0,104
СДГ	-0,356*	1,000	0,155	0,058

Примечание: * – $p < 0,5$ уровень значимости

Таким образом, обнаруженные нами корреляционные связи показывают взаимозависимость между функциональными белками, и белками, обеспечивающими синтез АТФ, а также белками, осуществляющих поступление энергетических субстратов в кардиомиоциты.

Заключение. Моделирование патологических состояний, индуцированных гипергликемией и повреждением миокарда, у крыс приводят к разной степени повреждения миокарда в зависимости от интенсивности воздействия. При этом сочетанное воздействие может оказывать как положительный эффект, так и усугублять повреждающее действие. Ранние кратковременные эпизоды гипергликемии даже после восстановления уровня глюкозы оставляют «метаболический след», который влияет на структурное и функциональное состояние сердца в отсроченном периоде. Умеренное повреждение миокарда несмотря на изменение энергетического метаболизма кардиомиоцитов практически не влияет на сократительную функцию миокарда. Формирование состояний как хронической гипергликемии, так и ишемии миокарда сопровождается значимыми структурными изменениями и нарушением метаболических процессов миокарда, что ухудшает функциональное состояние сердца, в том числе и его сократительный резерв. Сочетанное формирование патологии при кратковременных эпизодах гипергликемии и ограниченном повреждении миокарда, характеризуется улучшением функционального и метаболического состояния миокарда в случае первичного воздействия ограниченного повреждения миокарда. При исходном воздействии эпизодов гипергликемии наблюдается, наоборот, усугубление негативных влияний на миокард. При сочетанном моделировании умеренных повреждений миокарда, таких как кратковременные эпизоды гипергликемии или ограниченное повреждение миокарда, и серьезных повреждающих факторов, таких как хроническая гипергликемия или ИМ, наблюдается ограничение негативных влияний хронической гипергликемии и ИМ. При этом выраженность ограничения этих негативных влияний зависит от последовательности оказываемых воздействий.

При сочетанном воздействии патологических факторов могут формироваться защитно-приспособительные реакции, которые предупреждают развитие негативных влияний этих факторов на миокард. Данные механизмы реализуются в случае исходного воздействия ограниченного повреждения миокарда или ишемии миокарда, но не

гипергликемии. На основании полученных результатов настоящего исследования можно предложить следующую схему патофизиологического механизма защитно-приспособительных реакций, формирующихся в кардиомиоцитах при воздействии гипергликемии на фоне постинфарктного ремоделирования миокарда (рисунок 16).

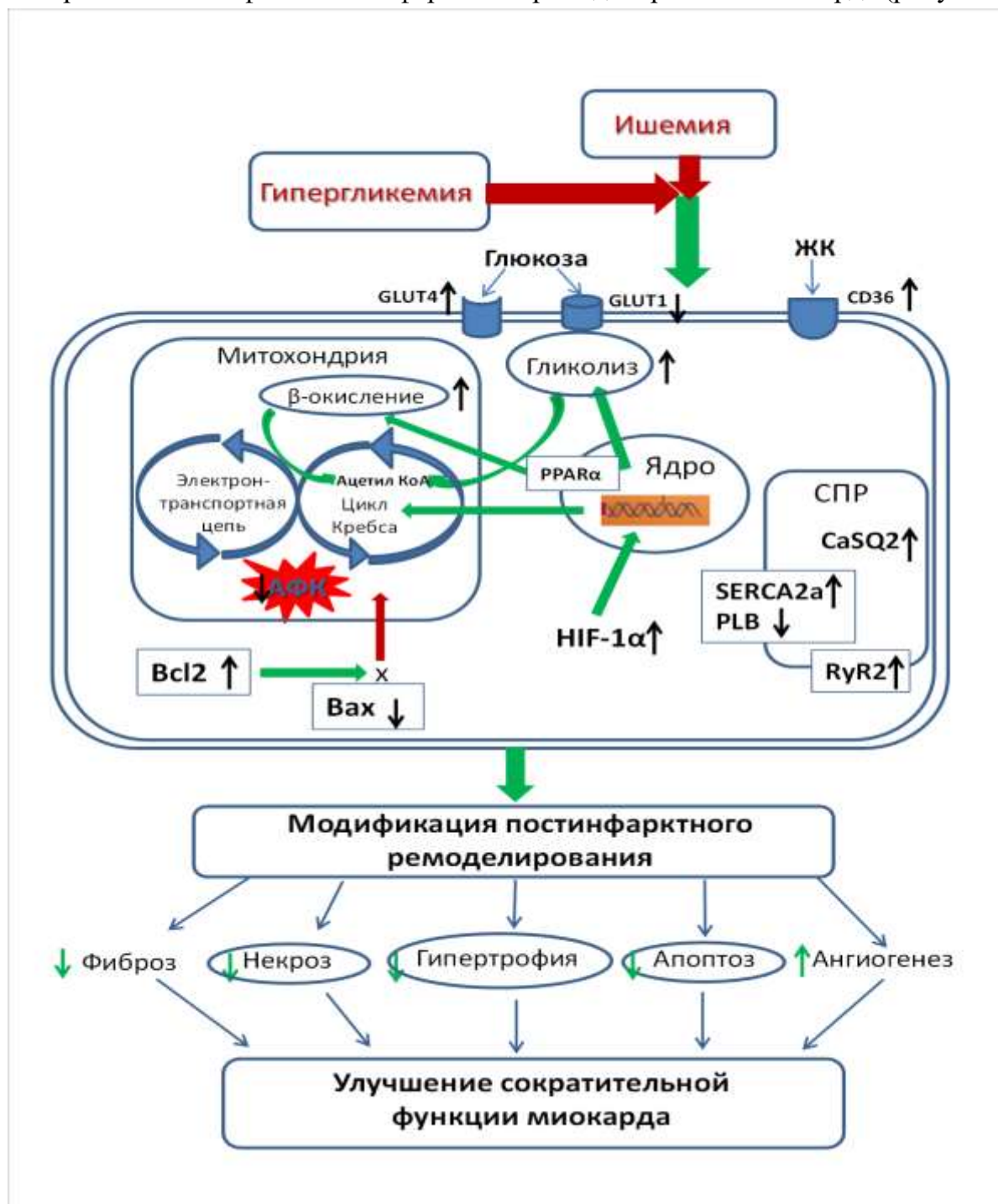


Рисунок 16 – Схема патофизиологического механизма, формирующего «метаболическое окно», которое обеспечивает в условиях хронической гипергликемии и ишемии миокарда сохранение функциональной состоятельности миокарда.

Воздействие хронической гипергликемии на фоне постинфарктного ремоделирования сердца способствует активации механизмов, направленных на формирование метаболических паттернов, обеспечивающих сохранение

функционального состояния миокарда в условиях хронической ишемии и гипергликемии. В этих условиях в кардиомиоцитах формируется адаптивное «метаболическое окно», которое характеризуется повышением экспрессии транспортеров глюкозы GLUT4 (но не GLUT1) и жирных кислот CD36, что способствует увеличению поступления энергетических субстратов в клетки сердца. Данное обстоятельство, видимо, оказывает стимулирующее влияние на процессы гликолиза и β -окисление ЖК и увеличение выработки и поступления пула ацетил-КоА в цикл Кребса, что позволяет поддерживать синтез АТФ в электрон-транспортной цепи митохондрий в достаточном количестве для обеспечения метаболических процессов в кардиомиоцитах, в том числе, и их сократительной функции. В условиях формирования «метаболического окна» оптимизации путей синтеза АТФ наблюдается и повышение экспрессии кальций-транспортирующих белков СПР, обеспечивающих поддержание процессов электромеханического сопряжения и, соответственно, сократительного резерва кардиомиоцитов. Значимое регуляторное влияние в этих условиях оказывает транскрипционный фактор, индуцируемой гипоксией, HIF-1 α . Его активация способствует модификации внутриклеточных метаболических процессов, направленных на выживаемость и защиту клетки от негативных факторов. Кроме того, «метаболическое окно» характеризуется активацией антиапоптотических факторов и снижением проапоптотических сигналов, что способствует выживанию кардиомиоцитов в патологических условиях и сохранению пула жизнеспособных клеток в миокарде после ИМ. Все эти факторы, влияющие на метаболизм кардиомиоцитов, позволяют сохранять функциональную состоятельность миокарда и поддерживать его сократительную функцию в патологических условиях.

ВЫВОДЫ

1. Моделирование гипергликемии в сочетании с ишемией миокарда приводит к гипертрофии сердца независимо от степени его повреждения, при этом выраженность гипертрофии сильнее в случае воздействия ишемии на фоне уже развившейся гипергликемии.
2. Сочетанное развитие хронической гипергликемии и ишемии миокарда у крыс характеризуется положительной ритмоинотропной зависимостью по сравнению с моновариантным развитием этих состояний. Выраженность положительной ритмоинотропной зависимости сильнее в условиях воздействия гипергликемии на фоне уже развившегося ишемического поражения сердца.
3. При моделировании сочетанного воздействия гипергликемии и ишемии миокарда крыс происходит либо ослабление, либо предупреждение угнетения экспрессии Ca^{2+} -транспортирующих белков (SERCA2a, RyR2) СПР кардиомиоцитов, наблюдаемое при монопатологических состояниях. Изменение экспрессии Ca^{2+} -транспортирующих белков при сочетанном формировании патологии зависит от степени (ограниченного повреждения или ИМ) повреждения миокарда, и при первичном воздействии ишемии усиление экспрессии Ca^{2+} -транспортирующих белков происходит в большей степени.

4. Улучшение энергетического обмена кардиомиоцитов крыс при сочетанном воздействии гипергликемии и ишемии миокарда связано с более высокой активностью фермента гликолиза лактатдегидрогеназы (ЛДГ), а также более высоким уровнем экспрессии фермента цикла Кребса сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и β -окисления ЖК 3-гидроксиацил-кофермента А дегидрогеназы (НАДН) в отличие от моновариантного развития гипергликемии или ишемии. При сочетании умеренного (ограниченного повреждения или кратковременных эпизодов гипергликемии) и выраженного (ИМ или хронической гипергликемии) повреждения миокарда, а также при первичном воздействии ишемии положительный эффект на экспрессию ферментов энергетического обмена проявляется сильнее.
5. Сочетанное развитие гипергликемии и ишемии миокарда ограничивает негативное влияние на экспрессию транспортеров глюкозы (GLUT4) и ЖК (CD36), оказываемое при их моновариантном воздействии. При действии гипергликемии на фоне ишемии миокарда положительный эффект выражен в большей степени. При сочетании хронических воздействий гипергликемии и ишемии с умеренными повреждениями миокарда наблюдается стимуляция экспрессии транспортера ЖК (CD36).
6. На фоне сочетанного воздействия гипергликемии и ишемии миокарда уровень экспрессии антиапоптотических белков Bcl2, а также транскрипционного фактора, индуцируемого гипоксией HIF-1 α , повышается при условии первичного воздействия ишемии. При моделировании гипергликемии до ишемии миокарда происходит индукция проапоптотических стимулов и ингибирование экспрессии HIF-1 α .
7. Механизмы защитно-приспособительных реакций при воздействии гипергликемии на фоне ишемии миокарда реализуются в результате активации факторов, способствующие выживанию кардиомиоцитов (HIF-1 α , Bcl2), улучшению энергетического метаболизма, связанного с транспортом глюкозы (Glut4) и ЖК (CD36) и активации процессов гликолиза (повышение экспрессии ЛДГ), цикла Кребса (повышение экспрессии СДГ) и β -окисления ЖК (повышение экспрессии НАДН). В этих условиях сохраняется уровень экспрессии Ca²⁺-транспортирующих белков (SERCA2a, RyR2) СПР и, соответственно, сократительный резерв кардиомиоцитов, что в результате способствует повышению функциональной состоятельности миокарда.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АТФ – аденозинтрифосфат
ЖК – жирные кислоты
ИБС – ишемическая болезнь сердца
ИМ – инфаркт миокарда
КО – коронароокклюзия
ЛДГ – лактатдегидрогеназа
ЛЖ – левый желудочек
ЛО – ложнооперированные животные

ОИМ – острый инфаркт миокарда
ПААГ – полиакриламидный гель
ПВ – порог возбудимости
ПД – потенциал действия
ПИКС – постинфарктный кардиосклероз
ПЭС – постэкстрасистолическое сокращение
СД – сахарный диабет
СДГ – сукцинатдегидрогеназа
СПР – саркоплазматический ретикулум
СН – сердечная недостаточность
ЦБ – цитратный буфер
ЭИ – экстрасистолический интервал
ЭС – экстрасистолическое сокращение
CASQ2 – кальсеквестрин (calsequestrin)
CD36 – кластер дифференциации 36 (cluster of differentiation 36), транспортер жирных кислот
GLUT – семейство белков переносчиков глюкозы (glucose transporter)
NADH – гидроксиацил-коэнзим А дегидрогеназа (hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenase)
HIF-1 α – транскрипционный фактор, индуцируемый гипоксией 1 альфа
RyR2 – рианодиновые рецепторы
SERCA2a – Ca²⁺-АТФ-аза саркоплазматического ретикулума

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах из Перечня ВАК РФ

1. Афанасьев, С.А. Некоторые патогенетические аспекты ремоделирования кардиомиоцитов при формировании сердечной недостаточности / С.А. Афанасьев Д.С. Кондратьева, Т.Ю. Реброва, М.В. Егорова, А.В. Евтушенко, С.В. Попов // Сибирский медицинский журнал. – 2007. – Т. 22, № 3. – С. 42-46.
2. Афанасьев, С.А. Особенности инотропных реакций миокарда крыс на экстрасистолические воздействия при сочетанном развитии постинфарктного кардиосклероза и сахарного диабета / С.А. Афанасьев, Д.С. Кондратьева, Л.П. Цапко, С.В. Попов, Р.С. Карпов // Вестник аритмологии. – 2009. – № 55. - С. 56-59.
3. Афанасьев, С.А. К вопросу о возможной метаболической составляющей аритмогенной резистентности миокарда при сочетанном развитии постинфарктного ремоделирования сердечной мышцы / С.А. Афанасьев, М. В. Егорова, Д.С. Кондратьева, Т.Ю. Реброва, Б.Н. Козлов, С.В. Попов // Вестник аритмологии. – 2010. – № 60. – С. 65-69.
4. Егорова, М.В. Дыхание митохондрий постинфарктного сердца крыс при окислении различных субстратов / М.В. Егорова, Д.С. Кондратьева, С.А. Афанасьев // Сибирский медицинский журнал. – 2010. – Т. 25, №4 (вып.1). – С.116-119.
5. Кондратьева, Д.С. Инотропная реакция миокарда крыс с постинфарктным и диабетическим ремоделированием на экстрасистолические воздействия / Д.С. Кондратьева, Т.Ю. Реброва, Л.П. Цапко, С.А. Афанасьев, Р.С. Карпов // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2011. – № 2. – С. 29-33.
6. Кондратьева, Д.С. Сократительная активность и энергетический метаболизм постинфарктного сердца на фоне диабетического поражения в эксперименте / Д.С. Кондратьева, С.А. Афанасьев, М.В. Егорова, Т.Ю. Реброва, С.В. Попов // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – №2 (вып.1). – С. 136-139.
7. Афанасьев, С.А. Разработка фундаментальных аспектов формирования морфофункциональных изменений миокарда при сердечной недостаточности / С.А.

Афанасьев, М.В. Егорова, Д.С. Кондратьева, А.Ф. Канев, Т.Ю. Реброва, В.А. Луговский, Э.Ф. Муслимова // Сибирский медицинский журнал. – 2015. – № 2. – С. 44-49.

8. Кондратьева, Д.С. Сопряженность уровня гликемии и функциональных показателей миокарда у больных ишемической болезнью сердца на фоне сахарного диабета 2-го типа / Д.С. Кондратьева, С.А. Афанасьев, О.В. Будникова, И.Н. Ворожцова, Ш.Д. Ахмедов, В.М. Шипулин // Сибирский медицинский журнал. – 2020. – Т.35, № 1. – С.133-141.

Статьи в журналах, индексируемых базами Scopus, Web of Science

9. Kondrat'eva, D.S. Inotropic response of the myocardium in rats with postinfarction cardiosclerosis exposed to extrasystolic treatment / D.S. Kondrat'eva, S.A. Afanas'ev, L.P. Falaleeva, Shakhov V.P. // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2005. - V. 139, No 6. – С. 647-650.
10. Реброва, Т.Ю. Активность перекисного окисления липидов и функциональное состояние миокарда при ремоделировании сердца крыс после экспериментального инфаркта / Т.Ю. Реброва, Д.С. Кондратьева, С.А. Афанасьев // Кардиология. – 2007. – № 6. – С. 41-45.
11. Kondratieva, D.S. Rhythmoinotropic myocardial reactions in rats with postinfarction cardiosclerosis against the background of streptozotocin-induced diabetes / D.S. Kondratieva, S.A. Afanasiev, T.Yu. Rebrova, L.P. Tsapko, R.S. Karpov // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2009. - V. 148, No 2. – С. 181-183.
12. Афанасьев, С.А. Особенности фосфолипидного состава мембран эритроцитов в условиях постинфарктного кардиосклероза / С.А. Афанасьев, Т.Ю. Реброва, Д.С. Кондратьева // Биомедицинская химия. – 2007. – Т. 53, № 5. – С. 541-546.
13. Egorova, M.V. Possible mechanism of increasing resistance of the myocardium during combination of post infarction remodeling and diabetes mellitus / M.V. Egorova, S.A. Afanasiev, D.S. Kondratyeva, B.N. Kozlov, S.V. Popov // Natural Science. – 2011. – V. 3, No.4. – P. 295-300.
14. Afanasiev, S.A. Development of an experimental model of cardiac failure combined with type 1 diabetes mellitus / S.A. Afanasiev, D.S. Kondratyeva, S.V. Popov // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2012. – Vol. 153, No 4. – С. 530-532.
15. Afanasiev, S.A. Comparative study of changes in energy metabolism in rat cardiomyocytes in postinfarction cardiosclerosis and diabetes mellitus / S.A. Afanasiev, D.S. Kondratyeva, M.V. Egorova, S.V. Popov // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2013. – Vol. 156, No 2. – С.185-187.
16. Кондратьева, Д. С. Сохранение содержания Ca^{2+} -АТФ-азы саркоплазматического ретикулаума кардиомиоцитов в ишемизированном миокарде при небольшом сроке заболевания сахарным диабетом / Д.С. Кондратьева, С.А. Афанасьев, А.Ф. Канев, Б.Н. Козлов // Российский кардиологический журнал. – 2014. – Т. 116, №12. – С.59–63.
17. Afanasiev, S.A. Comparative Analysis of Changes of Myocardial Angiogenesis and Energy Metabolism in Postinfarction and Diabetic Damage of Rat Heart / S.A. Afanasiev, M.V. Egorova, D.S. Kondratyeva, R.E. Batalov, S.V. Popov // Journal of Diabetes Research. – V. 2014. – Article ID 827896.
18. Afanasiev, S.A. Coupling of the Functional Stability of Rat Myocardium and Activity of Lipid Peroxidation in Combined Development of Postinfarction Remodeling and Diabetes Mellitus / S.A. Afanasiev, D.S. Kondratieva, T.Yu. Rebrova, R.E. Batalov, S.V. Popov // Journal of Diabetes Research. – 2016. – V. 2016. – Article ID 2548689.
19. Kondratieva, D.S. Rhythmoinotropic response of papillary muscles in rats with different severity of postinfarction cardiosclerosis / D.S. Kondratyeva, S.A. Afanasiev, V.Y. Usov, S.V. Popov // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2017. - Vol. 163, No 5. – С. 612-616.
20. Гарганеева, А.А. Сахарный диабет 2 типа и острый инфаркт миокарда: прогностические варианты взаимодействия у пациентов разных возрастных групп / А.А. Гарганеева, Е.А. Кужелева, К.Н. Борель, Д.С. Кондратьева, С.А. Афанасьев // Сахарный диабет. – 2018. – Т.20, №1. – С. 15-25.

21. Different Ages with Myocardial Infarction / S.A. Afanasiev, A.A. Garganeeva, E.A. Kuzheleva, A.V. Andriyanova, D.S. Kondratieva, S.V. Popov // Journal of Diabetes Research. – 2018. – V. 2018:1780683.
22. Кондратьева, Д.С. Сопряженность сократительной активности миокарда и уровня окислительного стресса у крыс при сочетанном развитии постинфарктного кардиосклероза и сахарного диабета / Д.С. Кондратьева, С.А. Афанасьев, Т.Ю. Реброва, С.В. Попов // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. – 2019. – № 2. – С. 197-203.
23. Афанасьев, С.А. Особенности сопряжения функционального и метаболического ремоделирования миокарда при коморбидном течении ишемической болезни сердца и сахарного диабета 2 типа / С.А. Афанасьев, Д.С. Кондратьева, М.В. Егорова, Ш.Д. Ахмедов, О.В. Будникова, С.В. Попов // Сахарный диабет. – 2019. – Т. 22, № 1. – С. 25-34.
24. Кондратьева, Д.С. Структурно-функциональные показатели сердца пациентов с ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2 типа. Ритмоинотропная реакция изолированного миокарда при разном уровне гликированного гемоглобина / Кондратьева Д.С., Афанасьев С.А., Будникова О.В., Ворожцова И.Н., Ахмедов Ш.Д., Козлов Б.Н. // Сахарный диабет. – 2021. – Т.24, №1. – С.45-54.
25. Afanas'ev, S.A. Expression of genes and proteins of the sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-transport systems in cardiomyocytes in concomitant coronary heart disease and type 2 diabetes mellitus // S.A. Afanas'ev, D.S. Kondrat'eva, E.F. Muslimova, O.V. Budnikova, Akhmedov S.D., Kozlov B.N. // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2021. – Vol. 172, No 2. – С. 117-120.
26. Кондратьева, Д.С., Афанасьев С.А., Муслимова Э.Ф. Сахарный диабет - метаболическое прекондиционирование в защите сердца от ишемического повреждения? / Д.С. Кондратьева, С.А. Афанасьев, Э.Ф. Муслимова // Сахарный диабет. – 2022. – Т. 25. № 6. – С. 548-555.
27. Afanasiev, S.A. The Impact of Type 2 Diabetes Mellitus on Long-Term Prognosis in Patients of

Глава в книге

28. Кондратьева, Д.С. Внутриклеточная регенерация кальций-транспортирующей системы кардиомиоцитов при ремоделировании миокарда как условие сохранения его функциональной состоятельности / Д.С. Кондратьева, С.А. Афанасьев, М.В. Егорова, Б.Н. Козлов, С.В. Попов // Гл. в кн. «Стволовые клетки и регенеративная медицина» / Под ред. В.А. Ткачука. – М.: Изд-во Московского университета, 2014. – С. 105-116.

Монография

29. Медведев М.А. Роль жирных кислот в адаптивных реакциях кардиомиоцитов: монография / М.А. Медведев, М.В. Егорова, С.А. Афанасьев, Д.С. Кондратьева, Т.Ю. Реброва, И.В. Суходоло – Томск: Изд-во СибГМУ, 2018. – 146 с.

Патенты

30. Афанасьев С.А., Крахмаль Н.В., Егорова М.В., Кондратьева Д.С., Попов С.В. Средство для стимуляции васкуляризации сердечной мышцы при постинфарктном ее ремоделировании в эксперименте». Патент на изобретение № 2526466, от 30.06.2014.
31. Кондратьева Д.С., Афанасьев С.А., Ахмедов Ш.Д., Попов С.В. Способ прогнозирования нарушения сократительной функции сердца у пациентов с ишемической болезнью сердца, сочетанной с сахарным диабетом 2 типа после операции коронарного шунтирования. Патент на изобретение № 2806239, от 30.10.2023.