

Академія медичних наук України
Інститут ендокринології та обміну речовин
ім. В.П. Комісаренка

На правах рукопису

ГОНЧАР Ірина Володимирівна

**ВЗАЄМОДІЯ ІНСУЛІНУ, АДРЕНАЛІНУ ТА
ГЛЮКАГОНУ В РЕГУЛЯЦІЇ МЕТАБОЛІЧНИХ
ПРОЦЕСІВ У МІОКАРДІ ЗДОРОВИХ ТВАРИН
ТА ТВАРИН З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ
ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ.**

14.01.14 - ендокринологія біологічна

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ - 1996

Дисертація є рукописом

Робота виконана в Інституті ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України

Науковий керівник:

доктор медичних наук, професор Хомазюк Анастас Іванович

Офіційні опоненти:

доктор біологічних наук Бездробний Юрій Васильович

доктор медичних наук, професор Мхітарян Лаура Сократівна

Провідна установа:

Український НДІ фармакотерапії ендокринних захворювань, м.Харків

Захист відбудеться "29" лютого 1996 року о 13:00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 50.23.01 з ендокринології в Інституті ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України (254114, Київ-114, вул.Вишгородська,69).

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Інституту ендокринології та обміну речовин ім. В.П.Комісаренка АМН України (254114, Київ-114, вул. Вишгородська, 69).

Автореферат розісланий "28" березня 1996 року.

Вчений секретар спеціалізованої вченої ради кандидат біологічних наук

Л.М. Калинська

Л.М. Калинська

ЛННБ України ім.В.Стефаніка



00751606 (P)

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Велика увага в сучасних вітчизняних та закордонних дослідженнях у галузі ендокринології та кардіології приділяється вивченню питань патогенезу та лікування захворювань серця у пацієнтів з цукровим діабетом. Більшість дослідників схильні розглядати цукровий діабет як самостійний фактор ризику розвитку серцево-судинних захворювань (Achimas A., 1988, Sert C., 1991, Savage P.J., 1996). Ішемічна хвороба серця частіше, ніж у загальній популяції, виявляється у хворих на цукровий діабет, а інфаркт міокарда у цих хворих супроводжується важкими ускладненнями (Ефимов А.С., 1983, Боднар П.Н., 1984, Enar R., 1989, Stout R.W., 1989).

Не викликає сумніву участь гормональних та метаболічних змін, які виникають при діабеті внаслідок дефіциту інсуліну, в патогенезі уражень серця при цьому захворюванні. У експерименті продемонстровано, що різке зменшення рівня інсуліну сприяє розвитку ішемічної серцевої недостатності (Lopaschuk G.D., 1990). Гормональний дисбаланс при цукровому діабеті характеризується не тільки відносною або абсолютною нестачею інсуліну, але й надлишком у крові його контргормонів - катехоламінів та глюкагону (Fedorak R.N., 1991, Hatera M.G., 1990), вплив яких зростає у зв'язку з відсутністю контррегуляторної дії інсуліну (Ефимов А.С., 1985). Підвищений рівень катехоламінів і глюкагону може сприяти розвитку резистентності до інсуліну, посилювати гіперглікемію, стимулювати ліполіз та кетогенез. Експериментальне введення цих гормонів у фармакологічних дозах викликає осередкові деструкції в міокарді із зниженням вмісту макроергів - АТФ, креатинфосфату (Wajdowicz A. 1988). Важливу роль в регуляції адренергічної активності відіграє

1
ЛНБ ім. В. Стефаника
АН України

інсулін, зокрема, він усуває зміни, що спостерігаються при цукровому діабеті в запасанні, поглинанні, синтезі, звільненні та метаболізмі катехоламінів (Ganguly P.K.,1986), зменшує кількість пошкоджень у серці, індукованих адреналіном (Downing S.E.,1985).

Не підлягає сумніву, що при дефіциті інсуліну метаболічні та функціональні ефекти катехоламінів можуть змінюватися. Можливо, що порушення, які виникають при цьому в системі адренергічної регуляції енергетичного метаболізму, складають основу пошкоджуючої дії катехоламінів на тканини серця.

Тому, вивчення особливостей адренергічної регуляції метаболічних процесів за умов порушеного балансу контррегуляторних гормонів в організмі, є вельми актуальними і необхідними для більш повного викриття факторів, що беруть участь у патогенезі захворювань серця при цукровому діабеті. Дослідження цього питання важливе не тільки з точки зору наукової цінності, а також необхідне для вирішення практичних задач розробки найбільш оптимальних шляхів профілактики та лікування серцево-судинних захворювань при цукровому діабеті.

Мета дослідження: вивчення змін в адренергічній регуляції метаболізму міокарда при моделюванні рівня гормонів (адреналіну, інсуліну та глюкагону) в крові здорових тварин і за умов гормонального дисбалансу у тварин з експериментальним цукровим діабетом, а також аналіз ролі цих змін у порушенні функції серця у хворих на цукровий діабет.

Основні завдання дослідження:

- дослідити вплив адреналіну на поглинання енергетичних субстратів міокардом здорових тварин та тварин з експериментальним цукровим діабетом.
- визначити зміни в адренергічній регуляції енергетичного метаболізму в серці тварин з експериментальним цукровим діабетом.

- з'ясувати роль інсуліну в регуляції метаболічної відповіді міокарда на адренергічну стимуляцію у здорових тварин та тварин з експериментальним цукровим діабетом.
- визначити роль м-холінергічної контррегуляції в реалізації метаболічних ефектів катехоламінів у здорових тварин та тварин з експериментальним цукровим діабетом.
- проаналізувати роль глюкагону в модуляції величини адренергічного впливу на міокард.

Новизна дослідження: вперше в експериментах із збереженням природного дихання та кровообігу виявленій модулюючий вплив інсуліну та глюкагону на реалізацію адренергічного впливу на метаболізм міокарда. Новим є визначення особливої ролі м-холінергічних механізмів в обмеженні метаболічних компонентів адренергічної реакції серця та пригнічення цього регулюючого впливу у тварин з експериментальним цукровим діабетом. Вперше за вказаних умов розкриті порушення в системі адренергічної регуляції енергетичних метаболічних процесів у серці тварин з експериментальним цукровим діабетом та проаналізована можлива роль виникаючих змін у порушенні функції серця при цукровому діабеті.

Теоретична та практична значущість роботи: одержані дані розширюють уявлення про роль взаємодії інсуліну та його контргормонів (адреналіну та глюкагону) в регуляції метаболізму міокарда у нормі і при експериментальному цукровому діабеті. Результати дослідження можуть бути використані як теоретична основа для вирішення питань патогенезу уражень серця при цукровому діабеті і розробки шляхів профілактики та лікування серцево-судинних ускладнень при діабеті та захворюванні.

Положення, які виносяться на захист:

1. Адреналін викликає дозо-залежні зміни поглинання енергетичних субстратів серцем, які відображують адренергічну активацію глікогенолізу, гліколізу та ліполізу в міокарді.
2. У тварин з експериментальним цукровим діабетом спостерігаються порушення перебігу катехоламін-стимульованих реакцій енергетичного метаболізму та пригнічення м-холінергічного компонента адренергічної реакції.
3. Інсулін обмежує метаболічні ефекти адреналіну в серці здорових тварин та зменшує їх негативні наслідки в серці тварин з експериментальним цукровим діабетом.
4. Глюкагон потенціює метаболічну відповідь міокарда на адренергічну стимуляцію.

Апробація роботи: основні положення дисертації доповідалися та були обговорені на 17-ій конференції молодих вчених (Харків, 1990), 13-му з'їзді Українського фізіологічного товариства (Харків, 1990), 2-му Всеросійському з'їзді ендокринологів (Челябінськ, 1991), 4-му з'їзді EASD (Pragilla, 1990), 32-му Інтернаціональному конгресі по фізіології (Glasgow, 1993), 5-му з'їзді ендокринологів України (Івано-Франковськ, 1994), 31-му з'їзді Європейської Асоціації по вивченню діабету (1995), 10-му Інтернаціональному конгресі по ендокринології (San Francisco, 1996) та інших.

Реалізація результатів наукових досліджень: основні положення дисертації викладено в 20 наукових публікаціях.

Обсяг і структура роботи: дисертація викладена на 146 сторінках друкарського тексту. Вона складається з вступу, огляду літератури (3 глави), глави, де викладені використані методи дослідження, 7 глав особистих досліджень, розділу, присвяченому обговоренню одержаних результатів, висновків, практичних рекомендацій та списку цитованої літератури, що налічує 374 джерела.

Дисертацію ілюстровано 6 таблицями та 9 малюнками.

Ступінь особистого внеску: дисертаційна робота виконана самостійно. Всі біохімічні дослідження метаболізму міокарда в адренергічних реакціях, в реакціях на інсулін та глюкагон виконані автором особисто. Катетеризація вінцевого синуса, вінцевих артерій та магістральних судин проводилась в комплексних дослідженнях за участю співробітників лабораторії нейро-гормональної регуляції кровообігу: Нещерета А.П., Шепеленко І.В., Охріменко Н.В.

ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження.

Проблема вивчення особливостей адренергічної регуляції метаболічних процесів у міокарді при цукровому діабеті, тобто за умов порушення міжгормональних взаємодій внаслідок нестачі інсуліну, ставить перед необхідністю проведення досліджень *in vivo*, на рівні цілісного організму із збереженням впливу на серце системних нервових та гуморальних факторів. Тому для вирішення поставлених задач використовували розроблену в нашій лабораторії методику, яка дає можливість вивчати метаболізм та функцію серця при збереженні природного дихання та кровообігу, тобто за умов, що максимально зберігають взаємовідношення і функціонування систем організму. Ця методика включає катетеризацію та екстракорпоральну програмовану перфузію басейну огинаючої гілки лівої вінцевої артерії, катетеризацію та безперервний дренаж вінцевого синуса, катетеризацію магістральних судин з одночасною реєстрацією параметрів кардіо- та гемодінамики, біопотенціалів серця. У артеріальній крові, що притікає до серця, та венозній, що відтікає від нього у вінцевий синус, визначається вміст енергетичних субстратів, pO_2 та CO_2 . Огинаюча гілка лівої вінцевої артерії перфузується постійним об'ємом крові, що відбирається із стегенної артерії. За

умов експерименту перфузійний потік крові встановлювався постійним. Безперервний дренаж вінцевого синуса здійснюється за допомогою екстракорпорального насосу. Катетер у вінцевий синус уводиться під рентгенівським контролем (Хомазюк А.І., 1986).

Дослідження метаболізму міокарда проводились у комплексі із застосуванням методів постійного контролю кардіо- і гемодинаміки, дихання та КЛР, які виконувалися співробітниками лабораторії. Експерименти проводили на собаках без розтину грудної порожнини, під неглибоким хлоралозним (30-100 мг/кг) наркозом.

Для аналізу особливостей перебігу енергетичних метаболічних процесів у серці визначали поглинання міокардом найважливіших для нього енергетичних субстратів - глюкози, лактату, пірувату та вільних жирних кислот (ВЖК). Різниця вмісту субстратів у притікаючої до серця артеріальній та у відтікаючої від нього у вінцевий синус венозній крові - вінцева артеріо-венозна різниця (ВАВР) - характеризує величину поглинання енергетичних субстратів міокардом. Такий метод оцінки метаболічних процесів у серці використовується як у експериментальних, так і в клінічних дослідженнях (Vogt A., 1988, Kamichara S., 1989, Esler M. 1995).

У зв'язку з тим, що у вінцевий синус відтікає приблизно 70% венозної крові серця, то для кількісного розрахунку показників поглинання міокардом енергетичних субстратів необхідно враховувати коефіцієнт відповідності областей перфузії та забирання проб крові. Для визначення цього коефіцієнту застосовували розроблений у нашій лабораторії метод (Хомазюк А.І., 1987), який заснован на введенні у вінцеву артерію недифундуючого індикатора - поліглюкіну, та визначенні його концентрацій у крові вінцевого синуса та вінцевої артерії. Відношення цих концентрацій дорівнює коефіцієнту відповідності. На основі знайденого коефіцієнту розраховується дійсна концентрація субстрату у венозній крові, що відтікає у вінце-

вий синус із зони міокарда, що перфузується.

З метою реєстрації метаболічних ефектів адреналіну, при проведенні експериментів застосовували імпульсне його введення в потік вільної артеріальної крові, що дозволило констатувати зміни, які відбуваються в серці безпосередньо під впливом цього гормону. Глюкагон ("Novo Nordisk") та інсулін ("Hoechst") вводили внутрішньовенно (0,1 мг/кг та 1 МО/кг, відповідно). Для блокади бета-адренорецепторів використовували пропранолол (2,0 мг/кг, VEB Arzneimittelwerke), а для блокади м-холінорецепторів - атропін (0,1 мг/кг), які вводили внутрішньовенно.

Для виявлення порушень, що виникають в адренергічній регуляції метаболічних процесів у міокарді при цукровому діабеті, проводили експерименти на собаках з алоксановим діабетом. Ця модель діабету дозволяє вивчати зміни, які виникають у серці при захворюванні на діабет, так як встановлено, що через 1-2 місяці після введення експериментальним тваринам алоксану знижується скоротлива функція серця, зменшується його функціональний резерв, змінюються параметри кардіогемодинаміки (Хомазюк А.І., 1988). Собак брали до експерименту через 4-6 тижнів після введення алоксану (75 мг/кг ваги), тобто після усунення можливих токсичних ускладнень, викликаних алоксаном, та стабілізації стану тварин (Баранов В.Г., 1983). На протязі періоду, який передував експерименту, визначали вміст глюкози в крові, що дозволило використовувати в дослідженнях тільки тих тварин, у яких спостерігалася стійка гіперглікемія.

Для визначення концентрації субстратів у крові були використані ферментативні та колориметричні методи. Вміст глюкози в крові визначали колориметрично із застосуванням орто-толуїдину (Цюхно З.І., 1981). Концентрацію пірвіноградної кислоти також визначали за колориметричним методом, який ґрунтується на

здатності цієї кислоти утворювати забарвлені гідразони при взаємодії з 2,4-динітрофенілгідразиним (Цюхно З.І.,1981). Вміст вільних жирних кислот (ВЖК) у плазмі крові визначали колориметрично за кольоровою реакцією їх кобальтових миль з альфа-нітросо-бета-нафтолом (Novak M.,1965). Ферментативним методом визначали вміст молочної кислоти за реакцією відновлення NAD^+ при участі лактатдегідрогенази (Hohorst H.J.,1963). Концентрацію гліцерину визначали також ферментативним методом з використанням гліцерокінази (Wieland O.,1957).

Статистична обробка даних проведена з використанням критерію Ст'юдента (Лакін Г.Ф., 1991). Статистично значущою вважали відмінність показників при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення.

У тестових експериментах по вивченню дії адреналіну на поглинання міокардом енергетичних субстратів встановлені закономірності змінення ВАВР концентрацій цих субстратів, які спостерігаються на протязі 1-3-ох хвилин після введення цього гормону. У цей час короткочасно знижується поглинання серцем глюкози, лактату, ВЖК, підвищується поглинання серцем пірувату та відбувається вивільнення гліцерину в кров вінцевого синуса (табл.1).

Аналіз змін ВАВР концентрацій відповідних субстраів дозволяє скласти уявлення про швидкість та спрямованість перебігу адреналін-стимульованих реакцій енергетичного метаболізму в серці - гліколізу, глікогенолізу та ліполізу. Вивільнення гліцерину з міокарду, яке супроводжується зниженням ВАВР концентрацій ВЖК, є показником активації ліполізу (StamH.C.,1979). Зниження поглинання глюкози міокардом після внутрішньовінцевого введення адреналіну обумовлено короткочасним підвищенням внутрішньоклітинної концентрації глюкозо- 6- фосфату внаслідок активації

глікогенолізу, і величина зниження ВАРВ концентрацій глюкози відображує міру активації цього процесу. Прискорення гліколізу під час адренергічної стимуляції серця веде до підвищення цитоплазматичної концентрації NADH, що гальмує лактатдегідрогеназу реакцію у напрямку лактат → піруват. Внаслідок цього поглинання лактату міокардом з притікаючої до серця крові знижується. Але посилення діяльності серця під впливом адреналіну, через зменшення внутрішньомітохондріального відношення АТР/АДР, веде до підвищення активності піруватдегідрогенази і збільшення поглинання міокардом пірувату.

Таблиця 1

Вплив адреналіну (0,5 і 5,0 мкг внутрішньовінцево) на поглинання енергетичних субстратів міокардом здорових тварин, $M \pm m$, (n=40).

ВАРВ у вихідному стані	ВАРВ після введення адреналіну		
	1 хв	3 хв	5 хв
	ГЛЮКОЗА (ммоль / л)		
1) 0,40 ± 0,051	0,26 ± 0,038*	0,54 ± 0,035*	0,38 ± 0,043
2) 0,39 ± 0,054	0,11 ± 0,068*	0,32 ± 0,041	0,41 ± 0,053
	ЛАКТАТ (ммоль / л)		
1) 0,43 ± 0,065	0,25 ± 0,052*	0,38 ± 0,079	0,39 ± 0,060
2) 0,40 ± 0,054	0,08 ± 0,033*	0,45 ± 0,037	0,52 ± 0,061
	ПІРУВАТ (мкмоль / л)		
1) 56,8 ± 2,61	62,4 ± 7,33	66,7 ± 4,42	68,9 ± 3,56
2) 52,5 ± 4,91	89,4 ± 12,7*	62,6 ± 6,81	66,5 ± 3,76*
	ВЖК (ммоль / л)		
1) 0,21 ± 0,044	0,10 ± 0,031*	0,14 ± 0,045	0,19 ± 0,042
2) 0,20 ± 0,023	0,04 ± 0,018*	0,13 ± 0,022*	0,14 ± 0,033
	ГЛІЦЕРИН (мкмоль / л)		
1) 7,4 ± 3,12	-12,6 ± 3,84*	-2,8 ± 2,37	5,8 ± 2,71
2) 6,0 ± 2,33	-24,0 ± 2,14*	-4,9 ± 1,62*	7,8 ± 1,96

* - вірогідність змін показників у порівнянні з вихідним рівнем, $p < 0,05$
 1) - 0,5 мкг адреналіну, 2) - 5,0 мкг адреналіну.

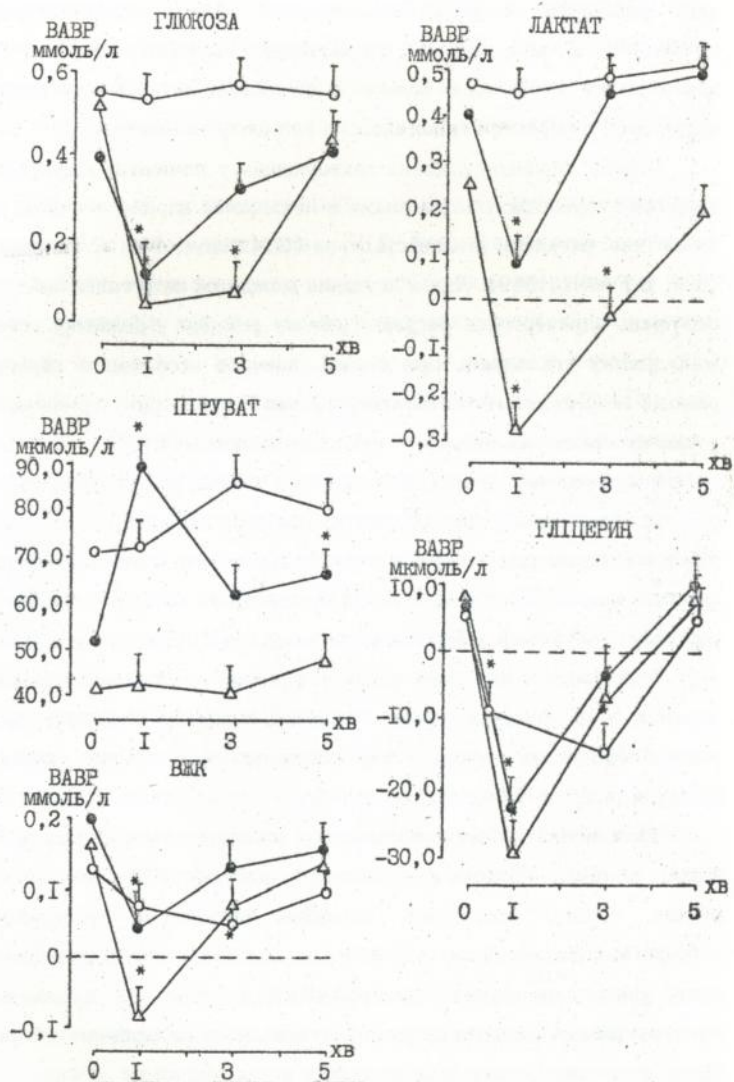
Проведення дослідів із застосуванням двох доз гормону - 0,5 та 5,0 мкг, виявило існування залежності доза-ефект між ступенем змінення величини ВАРВ концентрацій лактату, глюкози, пірувата,

ВЖК та гліцерину під час адренергічної стимуляції серця і кількістю введеного гормону (Табл.1).

Таким чином, результати тестових експериментів дозволили зробити висновок, що величина змін ВАР концентрацій перелічених субстратів, які рееструються після введення адреналіну у вінцеву артерію, відображують ступінь активації глікогенолізу, гліколізу та ліполізу в міокарді і можуть служити критерієм величини метаболічної відповіді міокарда на адренергічну стимуляцію, а також дозволяють скласти уявлення про чутливість метаболічних систем серця до катехоламінів.

За умов блокади бета-адренорецепторів вплив адреналіну на змінення поглинання міокардом вуглеводних субстратів не виявлявся (Мал.1). Проте, застосування блокади лише частково обмежувало адреналін-стимульований ліполіз у серці, що підтверджує існування в міокарді бета₃-адренорецепторів, які опосередковують ліполітичну дію гормону та резистентні до пропранололу (Galitzky J., 1991, Kaumann A.J., 1989.).

Для оцінки ступеню участі холінергічних механізмів у регуляції катехоламінами міокардіального енергетичного метаболізму, виконували експерименти з внутрішньовінцевим уведенням адреналіну після блокади м-холінорецепторів. Результати цих експериментів свідчать про збереження за умов блокади загальної спрямованості впливу гормону на метаболічні процеси в серці, але змінюються кількісні характеристики цього впливу, а саме, зростає ступінь активації адреналіном ліполізу в міокарді, активація вуглеводного обміну супроводжується виникненням від'ємного артеріо-венозного балансу по лактату, в більшій мірі, ніж до блокади, знижується поглинання глюкози міокардом (Мал.1). Все це свідчить про те, що за умов блокади м-холінергічних рецепторів посилюється активуючий вплив адреналіну на процеси енергетичного метаболізму в серці. Ці



Мал.1 Вплив адреналіну (5 мкг внутрішньовінцево) на поглинання енергетичних субстратів міокардом здорових тварин до (●—●) та після блокади бета-адренорецепторів (○—○) і м-холінерецепторів (△—△), * - вірогідність змін показників у порівнянні з вихідним рівнем, $p < 0,05$

дані дозволили зробити висновок, що участь м-холінергічних механізмів в упорядженні метаболічної відповіді міокарда на адренергічну стимуляцію полягає в обмеженні активуючого впливу адреналіну на процеси глікогенолізу, гліколізу та ліполізу.

Перебіг серцево-судинних захворювань у пацієнтів з цукровим діабетом супроводжується змінами в механізмах адренергічної та холінергічної регуляції діяльності серця (G.N.Pierse, 1988, A. Dejgaard, 1994, L.Fusilli, 1989). Для з'ясування можливої патогенетичної ролі порушень адренергічної регуляції обміну речовин у розвитку серцево-судинних ускладнень при діабеті, вивчали особливості перебігу реакцій енергетичного метаболізму під час їх стимуляції адреналіном у тварин з експериментальним цукровим діабетом (ЕЦД).

При модлюванні алоксанового діабету у собак були відтворені всі основні зміни, притаманні цукровому діабету у людини, в тому числі різного ступеня гіперглікемія, кетоацидоз, втрата ваги, збільшення вмісту в крові ВЖК та метаболітів вуглеводного обміну - лактату та пірувату, порушення вегетативної регуляції функції серця та інші.

В залежності від рівня глюкози в крові, який встановлювався через 6 - 8 тижнів після введення алоксану, тварини були розподілені на дві групи: у 1-ій рівень глюкози на тижє становив $8,7 \pm 0,94$, а у 2-ій $15,8 \pm 1,82$ ммоль/л.

Особливості обміну речовин, які спостерігалися у тварин 1-ї групи, а саме - помірна гіперглікемія, відсутність значних змін в обміну ліпідів, адекватний потребам метаболізм вуглеводних субстратів (про що свідчать близькі до контролю значення вмісту в крові лактату та пірувату та їх ВАВР), вказують на збереження компенсаторних резервів регуляції вуглеводного та ліпідного обміну. Це дозволяє розглядати перебіг діабету у цих тварин як легкий.

Високий рівень глюкози та ВЖК у крові тварин 2-ї групи, значна гіперлактат- та гіперпіруватацидемія в поєднанні із значним

зниженням міокардіальної екстракції цих субстратів, обумовлені глибокими метаболічними порушеннями і вказують на декомпенсацію діабету. Наявність таких змін вуглеводного та ліпідного обмінів дає, таким чином, можливість розглядати перебіг захворювання у тварин 2-ї групи як тяжкий.

При вивченні впливу адреналіну на перебіг реакцій енергетичного метаболізму в серці тварин з ЕЦД було встановлено, що величина змін, які виникають у структурі поглинання енергетичних субстратів міокардом під час адренергічної стимуляції глікогенолізу, гліколізу та ліполізу, залежить від ступеню тяжкості перебігу діабету, тобто ступеню порушення обміну речовин (табл.2). Під час стимуляції серця адреналіном тільки ВАРВ концентрацій глюкози змінювалася схожим чином у тварин з легким та тяжким перебігом діабету - величина її ставала від'ємною. Враховуючи дані літератури про гіперчутливість глікогенфосфорилази діабетичного серця до стимуляції адреналіном (L.Neyt, 1991, S.R.Jaspers, 1992), можливо припустити, що звільнення глюкози у значній мірі пов'язано з підвищенням утворення глюкозо-6-фосфату внаслідок надмірного прискорення глікогенолізу, особливо за умов властивого для діабету зниження активності фосфофруктокінази (Bauer V.A., 1984). Збільшення внутрішньоклітинної концентрації глюкозо-6-фосфату сприяє виходу з клітин серця не фосфорильованої вільної глюкози, концентрація якої значно зростає в м'язових тканинах при цукровому діабеті (A.Vaag, 1992).

Підвищення швидкості гліколізу під час адренергічної стимуляції серця супроводжується зниженням поглинання міокардом лактату у тварин з легким діабетом і звільнення цього субстрату у венозну кров серця у тварин з тяжким діабетом. Певно, у тварин першої групи аеробний метаболізм продуктів розщеплення глюкози - лактату та пірувату, зберігається на достатньому для цих субстратів

рівні навіть за умов зростання гліколітичного потоку. У тварин 2-ї групи звільнення лактату у венозну кров серця за умов прискореного утворення продуктів гліколізу вказує на те, що можливості окислювального метаболізму вуглеводних субстратів у міокарді цих тварин дещо обмежені. Це узгоджується з точкою зору інших дослідників (Caraldo V.,1990, Koivisto V.,1990). Беручи до уваги негативну дію високих концентрацій лактату на клітини серця (Allen D.,1992, Groot M.,1992), можна вважати, що прискорення утворення цього метаболіту, особливо за умов обмеження кровотоку внаслідок судинних ускладнень діабету, є фактором відповідальним за прогресування ушкоджень серця у цих хворих.

Таблиця 2
Вплив адреналіну (5 мкг внутрішньовинцево) на поглинання енергетичних субстратів міокардом тварин з експериментальним цукровим діабетом, $M \pm m$.

ВАВР у вихідному стані	ВАВР після введення адреналіну		
	1 хв	2 хв	3 хв
	ГЛЮКОЗА (ммоль/л)		
1) 0,36 ± 0,047	-0,16 ± 0,039*	0,68 ± 0,054	0,43 ± 0,098
2) 0,40 ± 0,053	-0,19 ± 0,014*	-0,03 ± 0,075	0,29 ± 0,112
	ЛАКТАТ (ммоль/л)		
1) 0,41 ± 0,054	0,12 ± 0,068*	0,36 ± 0,138	0,39 ± 0,188
2) 0,12 ± 0,048	-0,17 ± 0,064*	0,03 ± 0,037	0,14 ± 0,097
	ПРУВАТ (мкмоль/л)		
1) 62,4 ± 11,66	58,7 ± 16,15	62,9 ± 8,71	54,4 ± 9,69
2) 29,3 ± 6,26	13,2 ± 5,47	28,6 ± 8,31	26,5 ± 7,12
	ВЖК (ммоль/л)		
1) 0,21 ± 0,581	0,11 ± 0,043	0,05 ± 0,027	0,20 ± 0,067
2) 0,39 ± 0,061	0,27 ± 0,054	0,29 ± 0,094	0,34 ± 0,084
	ГЛІЦЕРИН (мкмоль/л)		
1) 6,7 ± 3,64	-24,3 ± 4,71*	-2,6 ± 2,64	8,5 ± 2,93
2) 8,7 ± 3,14	-32,7 ± 3,43*	-13,2 ± 4,21	8,1 ± 2,86

1) - 1-а група тварин (вміст глюкози в крові 8,7±0,94 ммоль/л), n = 19,

2) - 2-а група тварин (вміст глюкози в крові 15,8±1,82 ммоль/л), n = 16,

* - вірогідність змін показників у порівнянні з вихідним рівнем, p < 0,05.

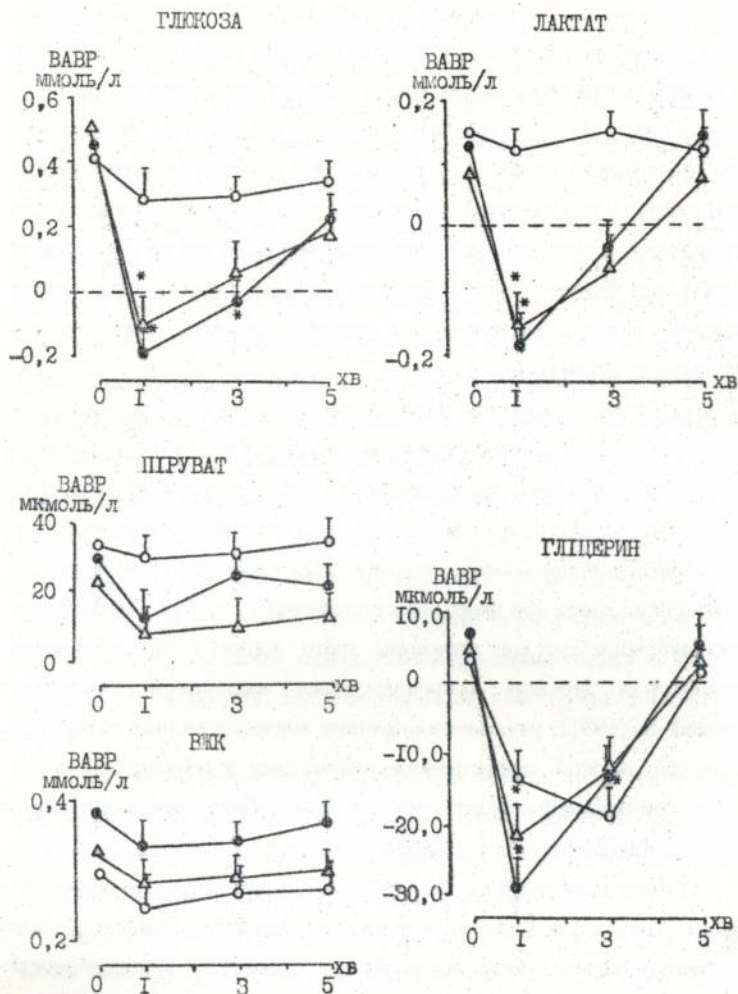
Зміни ВАРВ концентрацій ВЖК та гліцерину, що спосерігалися під час активації адреналіном ліполізу в міокарді тварин з легким діабетом та здорових тварин, істотно не відрізнялися. На відміну від них, у тварин з тяжким перебігом діабету активація ліполізу супроводжувалася значно більшим вивільненням гліцерину у венозну кров серця, що свідчить про посилення активуючої дії гормону на гідроліз внутрішньоклітинних тригліцеридів. Проте ВАРВ по ВЖК у цей період знижувалася незначно, залишаючись на достатньо високому рівні. Але, за даними наших експериментів, при посиленні діяльності серця під впливом адреналіну, приріст поглинання кисню міокардом у тварин з тяжким діабетом був меншим, ніж у здорових. Це свідчить проти більшого, в порівнянні із здоровими тваринами, підвищення окислення ВЖК в цей період у міокарді діабетичних тварин. Можливо, значне підвищення вмісту жирних кислот у крові забезпечує такий рівень градієнту цього субстрату, якій підтримує високе надходження ВЖК до клітин міокарда навіть у період активації гідролізу ендogenous тригліцеридів. Результатом цього буде зростання рівня ВЖК у міокарді діабетичних тварин під час його адренергічної стимуляції, що може мати самостійне патогенетичне значення у формуванні серцевих порушень у хворих на цукровий діабет, тому як жирні кислоти в підвищених концентраціях діють пошкоджуюче на структуру та функцію клітинних мембран та мембранних ферментних систем (Dedukova V.I,1991, Burt J.,1991, Ващенко В.І.,1995).

Таким чином, виявлене у тварин з цукровим діабетом посилення стимулюючого впливу адреналіну на перебіг глікогенолізу та ліполізу та ті негативні явища, що виникають внаслідок порушення обміну речовин під час прискорення цих реакцій, можуть чинити пошкоджуючий вплив на структуру та функцію міокарда і тим самим приймати участь в розвитку уражень серця у хворих на цукровий діабет.

Блокада бета-адренорецепторів, обмежуючи ступінь активації адреналіном глікогенолізу, гліколізу та ліполізу, майже усуває негативні наслідки впливу адреналіну на міокард діабетичних тварин (мал.2). Крім того, зменшуючи вміст ВЖК у крові, блокада запобігає надмірному надходженню їх до клітин серця. Ці дані можуть бути використані для аргументації доцільності застосування бета-адреноблокаторів у терапії серцево-судинних ускладнень у хворих на цукровий діабет. Проте, їх використання потребує додаткових заходів щодо попередження періодів гіпоглікемії.

У експериментах із застосуванням атропіну було виявлено, що у тварин з діабетом, на відміну від здорових, блокада м-холінорецепторів майже не змінює величину метаболічної відповіді міокарда на адренергічну стимуляцію (мал.2). Це дозволяє зробити висновок про пригнічення контррегуляторних холінергічних реакцій у серці діабетичних тварин. Таке порушення взаємодії між холінергічними та адренергічними механізмами призводить до того, що контроль метаболічних процесів у міокарді здійснюється переважно через адренергічні механізми. Посилення впливу катехоламінів на функцію та метаболізм міокарда є одним з патогенетичних факторів розвитку серцево-судинних захворювань (Schomig A., 1990, Roviere G., 1991, Manjula T., 1992, Porovich M., 1992). Тому можна констатувати, що порушення холінергічної контррегуляції, у ряді інших факторів, бере участь в розвитку ушкоджень міокарда у хворих на цукровий діабет.

У експериментах по вивченню впливу адреналіну на перебіг енергетичних метаболічних реакцій за умов моделювання рівня інсуліну в крові, доведено, що зміни в реалізації впливу катехоламінів на перебіг реакцій гліколізу, глікогенолізу та ліполізу, які спостерігаються у тварин з цукровим діабетом, у значній мірі пов'язані із зниженням рівня інсуліну в крові цих тварин. Введення інсуліну діабетичним тваринам значно обмежує катехоламін-залежну



Мал.2 Вплив адреналіну (5 мкг внутрішньовінево) на поглинання енергетичних субстратів міокардом тварин з ЕЦД до (●) та після блокади бета-адренорецепторів (○) і м-холінорецепторів (△), * - вірогідність змін показників у порівнянні з вихідним рівнем, $p < 0,05$.

активацію ліполізу в міокарді, про що свідчить зменшення вивільнення гліцерину у венозну кров серця. Інсулін також діє сприятливо на перебіг адреналін-стимульованих реакцій вуглеводного обміну у діабетичних тварин. Гормон забезпечує збереження позитивного артеріо-венозного балансу по глюкозі під час адренергічної стимуляції серця, а прискорення гліколізу у цей час не супроводжується вивільненням лактату в кров вінцевого синуса, як все це має місце за інсулін-дефіцитного стану. У здорових тварин інсулін також значно зменшує вплив адреналіну на перебіг реакцій глікогенолізу, гліколізу та ліполізу.

Ці спостереження дали змогу заключити, що інсулін значно обмежує негативні наслідки порушень перебігу адреналін-стимульованих реакцій гліколізу, глікогенолізу та ліполізу у діабетичних тварин. Тому слід зазначити, що за умов дефіциту інсуліну підвищується можливість виникнення катехоламінових пошкоджень міокарду.

Беручи до уваги той факт, що при цукровому діабеті порушується співвідношення інсулін/глюкагон, тобто відносна або абсолютна недостатність інсуліну супроводжується надлишком глюкагону (Fedorak R., 1991), уявлялося важливим вивчення впливу глюкагону на перебіг реакцій енергетичного метаболізму в міокарді, а також аналіз особливостей адренергічної регуляції обміну речовин у серці за умов підвищеного рівня глюкагону в крові.

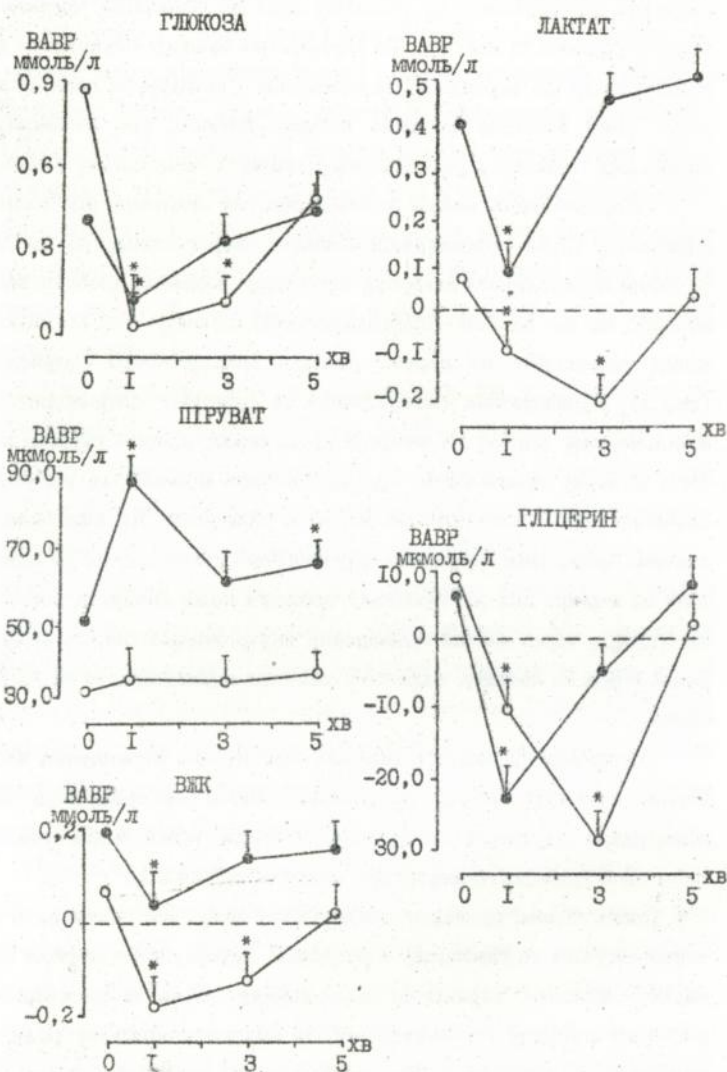
Одержані результати експериментів з внутрішньовенним введенням глюкагону дають можливість скласти уявлення про метаболічні ефекти глюкагону в міокарді. Загальні закономірності змінення показників поглинання енергетичних субстратів міокардом, які відбуваються під впливом глюкагону, подібні до тих, що спостерігаються після введення адреналіну. Через 2 хвилини після ін'єкції гормону активуються ліполітичні процеси у клітинах, що супроводжується вивільненням у венозну кров серця гліцерину та ВЖК. При-

скорення глікогенолізу та гліколізу веде до зниження поглинання серцем глюкози та лактату. Це обумовлено схожим механізмом опосередкування дії адреналіну та глюкагону - активацією аденілатциклази. Тому важливе значення набуває питання про взаємовідношення цих гормонів у регуляції енергетичного метаболізму в серці.

Порівняльний аналіз закономірностей змінення під впливом адреналіну ВАРВ концентрацій основних енергетичних субстратів до та після попереднього введення глюкагону дозволяє зробити висновки про те, що на фоні гіперглюкагонемії підвищується активуючий вплив адреналіну на перебіг реакцій енергетичного метаболізму (мал.3). Прискорення глікогенолізу та гліколізу супроводжується вивільненням лактату до венозної крові серця, зростає ступінь активації ліполізу адреналіном, про що свідчить підвищення відношення значення ВАРВ концентрацій ВЖК та гліцерину. Як вже було вказано вище, таке посилення адренергічної стимулюючої дії адреналіну на перебіг цих метаболічних процесів може впливати негативно на міокард через значне підвищення внутрішньоклітинних концентрацій ВЖК та лактату, надлишок яких діє пошкоджуюче на клітини серця.

Одержані результати свідчать про те, що підвищення вмісту глюкагону в крові хворих на цукровий діабет, опосередковано через підвищення адренергічної чутливості серця, може брати участь у патогенезі уражень міокарду при цьому захворюванні.

Таким чином, проведені дослідження дозволили встановити значення інсуліну та глюкагону в реалізації метаболічних ефектів адреналіну, виявити характерні для діабету зміни в адренергічній регуляції ліполізу і глікогенолізу, та пояснити можливу роль цих порушень у виникненні та прогресуванні дисфункції серця при цукровому діабеті.



Мал.3 Вплив адреналіну (5 мкг внутрішньовінецево) на поглинання енергетичних субстратів міокардом здорових тварин до (●) та після (○) введення глюкагону (1 мг внутрішньовенно), * - вірогідність змін показників у порівнянні з вихідним рівнем, $p < 0,05$.

ВИСНОВКИ

1. Тестове імпульсне підвищення вмісту адреналіну в потоці вінцевої артеріальної крові супроводжується активацією ліполізу, глікогенолізу та гліколізу в міокарді, що проявляється в зниженні поглинання міокардом лактату, глюкози, ВЖК, збільшенням поглинання пірувату та вивільненням гліцерину у венозну кров серця.
2. Глікогенолітична та ліполітична дія адреналіну посилюється за умов блокади м-холінергічних рецепторів та обмежується за умов блокади бета-адренорецепторів.
3. Інсулін обмежує адренергічну активацію глікогенолізу і ліполізу в міокарді.
4. При експериментальному цукровому діабеті посилюється адренергічна активація глікогенолізу, гліколізу і ліполізу в міокарді, що проявляється в значному виділенні у венозну кров серця гліцерину, а також глюкози та лактату.
5. Підвищення чутливості серця до адренергічної стимуляції у тварин з експериментальним цукровим діабетом пояснюється не тільки дефіцитом інсуліну, а також низькою холінергічною чутливістю міокарда: блокада м-холінорецепторів у тварин з експериментальним цукровим діабетом майже не змінює величини впливу адреналіну на перебіг реакцій енергетичного метаболізму в міокарді.
6. Глюкагон потенціює адренергічну активацію енергетичних метаболічних процесів у серці.
7. Посилення адренергічного стимулюючого впливу на енергетичні метаболічні процеси в міокарді, що спостерігається при цукровому діабеті внаслідок нестачі інсуліну, надлишку глюкагону та зниження холінергічної реактивності, може розглядатися як важливий патогенетичний фактор порушення функції серця при цьому захворюванні.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕДАЦІЇ

Проведені дослідження дозволили детально охарактеризувати порушення адренергічної реактивності серця при цукровому діабеті, зокрема її підвищення внаслідок дефіциту інсуліну, і теоретично обґрунтувати необхідність захисту міокарда від адренергічних ушкоджень. Визначена доцільність, поряд із застосуванням адекватної інсулінотерапії та інших опробованих засобів зниження чутливості серця до катехоламінових ушкоджень, вивчення можливості клінічного застосування селективних блокаторів, які обмежують адренергічну активацію ліполізу в міокарді.

Перелік публікацій по темі дисертації

1. Нарушения метаболизма миокарда при экспериментальном сахарном диабете // В кн. "Нарушение механизмов регуляции и их коррекция". Тезисы 4 Всесоюзного съезда патофизиологов, г. Кишинев: Москва, 1989.-т.1.-С.156. (Соавт. Хомазюк А.И., Глебова Л.Н., Гапич Е.Л., Семенова Н.Н.)

2. Влияние инсулина и вазопрессина на адренергические механизмы регуляции метаболизма миокарда // Тезисы 17 научной конференции молодых ученых: Харьков, апрель 1990 г.-С.21-22.

3. Фізіологічні та метаболічні характеристики взаємодії адреналіну та інсуліну в міокарді // "Розвиток фізіології в Українській ССР за 1986-90 роки". Збірник матеріалів 13 з'їзду Українського фізіологічного товариства ім.Павлова, Харків, вересень 1990 року: Київ.- 1990.- Т.2.- С.212 (співавт. Нещерет А.П., Шепеленко І.В., Глебова Л.Н., Гапич Е.Л.).

4. Метаболические механизмы патогенеза нарушений функции сердца при ЭСД у собак // 2 Всероссийский съезд эндокринологов: Тез. докл.- Челябинск.- 1991.- С.83-84 (соавт. Хомазюк А.И., Глебова Л.Н., Нещерет А.П., Гапич Е.Л.).

5. Взаимодействие инсулина с адренергической и холинергической системами сердца и коронарных сосудов // "Физиология и патофизиология сердца и коронарных сосудов": Тезисы докладов 3 симпозиума стран СНГ.- Киев.-1992.- С.114-115 (соавт. Хомазюк А.И., Нещерет А.П., Шепеленко И.В., Гапич Е.Л.).

6. Myocardial metabolism in dogs with experimental diabetes //4th Meeting of the EASD study group "Control of metabolism": Pradilla, November,1990.- P.139 (all Khomazjuk A.I., Glebova L.N., Gapitch E.L., Nescheret A.P.).

7. FFA modulate cardiohaemodynamic and metabolic components of heart and coronary vessels beta-adrenergic reactions //3rd Intern.Conf."Lipid Mediators in Health and Disease": Jerusalem.-1993.- Abstr.-P.110 (all Khomazjuk A.I., Nescheret A.P., Senko L.N., Shepelenko I.V., Ohrimenko N.V.).

8. Particularities of interaction of insulin and epinephrine in control of myocardial function, metabolism and blood supply in diabetic dogs //22nd Intern.Congr.of Pathophysiology:Kyoto, November.-1993.- P.102 (all Khomazjuk A.I., Nescheret A.P., Shepelenko I.V., Ohrimenko N.V.).

9. Патогенетичні аспекти взаємодії інсуліну та контрінсулінових гормонів у розвитку уражень серця при цукровому діабеті // "Сучасні проблеми експериментальної та клінічної ендокринології": Тези доповідей 5 з'їзду ендокринологів України, Івано-Франківськ, вересень 1994 р.- С.25 (співавт.Хомазюк А.І., Сенько Л.Н., Шепеленко І.В., Нещерет А.П., Охріменко Н.В.).

10. Adrenergic and cholinergic reactions of heart and coronary vessels in experimental diabetes //J.Mol.Cell.Cardiol.- 1995.- V.27, N6.- P.A428 (all Khomazjuk A.I., Nescheret A.P., Shepeleko I.V.).

11. Glucagon accentuates adrenergic effects on myocardial function and metabolism //31th Meeting of European Association for Study of

Diabetes: Diabetologia.- 1995.- V.38, Suppl.1.- P.A129.

12. Adrenergic participation in glucagon action on myocardial blood supply, metabolism and function //10th Intern.Congr.of Endocrinol, June,1996.- P.P1-886 (all Khomazjuk A.I., Nescheret A.P., Khomazjuk V.A., Ohrymenko N.V.).

Матеріали дисертації викладено, крім того, ще у 8 тезах міжнародних та республіканських конференцій, з'їздів та симпозіумів.

Аннотация.

Гончар И.В. Взаимодействие инсулина, адреналина и глюкагона в регуляции метаболизма миокарда у здоровых животных и животных с экспериментальным сахарным диабетом.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.14 - эндокринология биологическая, Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П.Комиссаренко АН Украины, Киев, 1996.

В комплексных исследованиях с использованием методов катетеризации и экстракорпоральной перфузии коронарных артерий, катетеризации и непрерывного дренажа коронарного синуса, в условиях *in vivo* изучены нарушения энергетического метаболизма миокарда при экспериментальном сахарном диабете и моделировании содержания инсулина, адреналина и глюкагона в потоке коронарной крови и в системной циркуляции. Установлено модулирующее влияние инсулина и глюкагона на метаболические компоненты адренергических реакций сердца: ограничение инсулином адренергической активации гликогенолиза, гликолиза, липолиза и потенцирование этой активации глюкагоном. У животных с аллоксановым сахарным диабетом обнаружено усиление метаболического ответа миокарда на адренергическую стимуляцию. Выявлено участие м-холинергических механизмов в ограничении метаболических эффектов адреналина. Обнаружено угнетение этого регулирующего влияния у диабетич-

ческих животных. Проанализирована возможная роль изменений, возникающих при диабете в адренергической и холинергической регуляции энергетического метаболизма миокарда, в формировании нарушений функции сердца при этом заболевании.

Annotation

Gonchar I.V. Interaction of insulin, adrenalin and glucagon in regulation of myocardial metabolism in healthy animals and animals with experimental diabetes mellitus. Dissertation for a degree of candidate of biological science on speciality 14.01.14 - biological endocrinology, V.P. Komissarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of Academy of Medical Science of Ukraine, Kiev, 1996.

In complex investigations in vivo the disturbances of energetic myocardial metabolism in experimental diabetes mellitus and changes of adrenalin, insulin and glucagon contents in coronary blood flow and system circulation were studied using catheterization, extracorporeal coronary arteries perfusion, catheterization and continuous coronary sinus drainage. It has been revealed the modulating influence of insulin and glucagon on metabolic components of adrenergic reactions: limitation for adrenergic activation of glycogenolysis, glycolysis and lipolysis by insulin and their potentiation by glucagon. In alloxan-diabetic dogs it has been established a strengthening of metabolic myocardial response to adrenergic stimulation. A participation of m-cholinergic mechanisms in the limitation of adrenergic metabolic effect was ascertained. The depletion of the m-cholinergic regulating influence has been determined in diabetic animals. The possible participation of changes, discovered in diabetes mellitus of adrenergic and cholinergic regulation of myocardial energetic metabolism, in disorders of heart function was analyzed.

Ключові слова: адреналін, інсулін, глюкагон, метаболізм, міокард, експериментальний цукровий діабет.

A В 35.620

Підписано до друку 23.09.96 р. Обсяг 1,0 друк. арк. Зам. 274.
Тираж 100.

ІНМ НАН України
254074, Київ-74, вул. Автозаводська, 2