

УДК [616.12:616.132.2:616.379-008.64]-092.9

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИСТЕМЫ ЛАНГЕНДОРФА В ИЗУЧЕНИИ РЕЗЕРВА КОРОНАРНОГО ТОКА EX VIVO В СЕРДЦАХ ДИАБЕТИЧЕСКИХ МЫШЕЙ СЕРИИ C57BL/KsJ

© 2007 г. С. В. Братковский, С. Л. Совершаева, *Т. Ларшен

Северный государственный медицинский университет, г. Архангельск

*Университет г. Тромсё, Норвегия

Сахарный диабет 2-го типа — широко распространенное заболевание. Основным осложнением его являются сердечно-сосудистые нарушения [17]. Диабетическая кардиомиопатия характеризуется сердечной дисфункцией в отсутствии атеросклеротических проявлений в стенках сосудов сердца и гипертонией [16, 32]. Предполагается, что уменьшение резерва коронарного тока влияет на развитие диабетической кардиомиопатии у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа. Большое количество исследований показывают нарушение вазодилатации на воздействие эндотелийзависимых агонистов в гладкой мускулатуре периферического сосудистого русла. Изменения реактивности коронарных сосудов сердца при диабетической кардиомиопатии, вызванной диабетом, малоизучены.

Диабетические мыши серии C57BL/KsJ, db/db, представляют животную модель сахарного диабета 2-го типа с характерными признаками данного заболевания: гипергликемией, инсулинрезистентностью и ожирением [10, 11, 22]. Результаты исследований показали, что изолированные перфузируемые сердца db/db-мышей в возрасте 10–14 недель имели признаки диабетической кардиомиопатии, что проявлялось в снижении сократительной функции миокарда и нарушении сердечного метаболизма [2, 7].

Цель данного исследования — сравнить резерв коронарного тока в изолированных сердцах недиабетических мышей серии db/+ с резервом диабетических мышей серии C57BL/KsJ, db/db, используя разработанную нами методику, детально описанную в предыдущей статье [1]. При лечении диабетических мышей db/db новым антигликемическим препаратом BM 17.0744 (K-111) (Roche Pharmaceuticals), являющимся агонистом пероксисом пролифераторактивирующего рецептора альфа (PPAR α), происходило улучшение диабетического статуса и нормализация сердечного метаболизма [2]. Нам было интересно изучить воздействие препарата BM 17.0744 (K-111) на резерв коронарного тока.

Методы исследования

В исследовании были использованы генетически выведенные диабетические мыши серии C57BL/KsJ, db/db, в возрасте 12–14 недель. Недиабетическая серия мышей db/+ была использована как контрольная группа. В отдельной серии экспериментов мы также исследовали группу диабетических мышей db/db, которая была пролечена новым антигликемическим препаратом BM 17.0744 (K-111) в течение четырех недель (табл. 1).

За 10 минут до анестезии животным вводился гепарин в дозе 100 ЕД (i. p). Анестезия осуществлялась 10 мг фенобарбитала

Резерв коронарного тока изучался в сердцах диабетических мышей серии C57BL/KsJ, db/db и недиабетических серии db/+. Сердца перфузировались в системе Лангендорфа бикарбонатным раствором Кребс-Хенселейта (37 °C, pH 7.4), содержащим 11 ммоль глюкозы в качестве энергетического субстрата. Резерв коронарного тока измерялся в ответ на воздействие введения нитропруссид натрия, вазоактивного препарата аденозина и 90-секундного периода тотальной ишемии (реактивная гиперемия). Нитропруссид натрия и аденозин вводились в дозах, приводящих к максимальной вазодилатации. В ходе исследования отмечено, что коронарный ток покоя, а также резерв коронарного тока снижены в сердцах диабетических мышей. Хроническая гипергликемия у этих мышей может приводить к накоплению в стенках сосудов метаболитов глюкозы, что способствует повреждению миокарда через гликозилирование структурных протеинов миокарда, и накоплению конечных продуктов гликозилирования, которые способствуют формированию необратимых соединений между клеточными протеинами, фиброзу и, таким образом, ригидности сердечно-сосудистого русла.

Ключевые слова: мышинное сердце, коронарный ток, вазоактивные препараты, реактивная гиперемия.

(i. p). После торакотомии сердца быстро извлекались и помещались в холодный бикарбонатный раствор Krebs-Хенселейта. Затем они канюлировались через аорту и перфузировались ретроградно при постоянном перфузионном давлении 73 мм рт. ст. бикарбонатным буфером Krebs-Хенселейта, содержащим (ммол/л): NaCl – 123,5; NaHCO₃ – 20; KCl – 4,7; MgSO₄ – 1,2; KH₂PO₄ – 1,2; CaCl₂ – 2,0; глюкозы – 11; насыщение раствора проводилось газовой смесью 95 % – O₂, 5 % – CO₂ (pH 7,4).

Таблица 1

Вес и концентрация глюкозы в плазме недиабетических мышей, мышей диабетических непролеченных и пролеченных препаратом ВМ 17.0744

Показатель	Недиабетические мыши (db/+)	Диабетические мыши (db/db)	Диабетические мыши (db/db) + ВМ
Вес, г	28,8±0,5 (14)	45,5±1,6 (13)	44,3±1,2 (6)
Глюкоза, ммол/л	16,3±2,9 (6)	28,2±4,7 (6)	12,4±1,5 (6)

Примечания: Концентрация глюкозы в плазме измерялась только во второй серии экспериментов, включая мышей, пролеченных препаратом ВМ 17.0744. Вес измерялся в обеих сериях экспериментов. В скобках количество экспериментов.

Первые 20 минут сердца промывались от крови. В течение этого времени небольшой шарик, заполненный жидкостью, подсоединенный к трансдюсеру давления через тонкий катетер, вводился в левый желудочек через митральный клапан. Это позволяло измерять рабочее давление левого желудочка на протяжении всего эксперимента (рис.1).

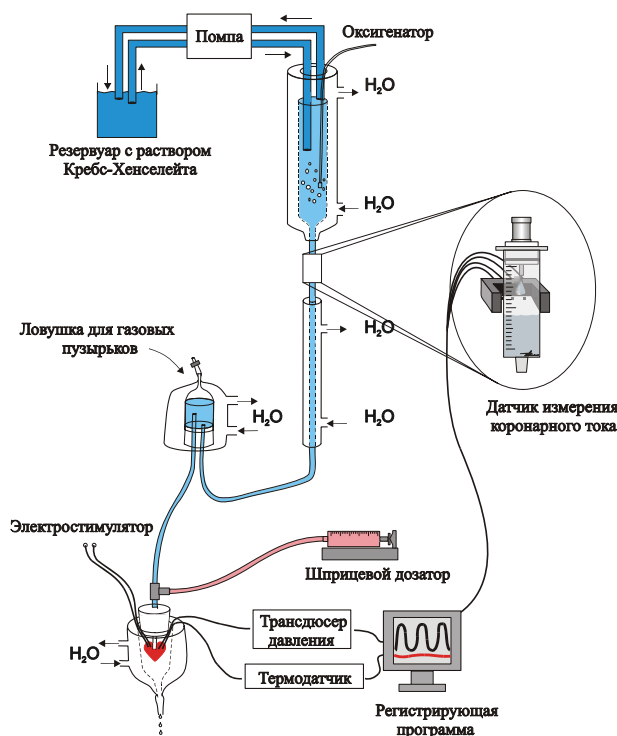


Рис. 1. Экспериментальная установка для перфузии изолированного сердца по О. Лангендорфу

Сигналы, поступающие с шарика, усиливались и записывались, а затем анализировались при помощи компьютерной программы Lab-View. Температура сердца постоянно поддерживалась на уровне 37 °С и записывалась термодатчиком, присоединенным к поверхности сердца. Стимуляция сердца осуществлялась игольчатыми электродами, присоединенными к правому предсердию (480 уд./мин). Коронарный ток записывался в течение всего эксперимента инфракрасным датчиком [1].

После инструментальной подготовки изолированного сердца в системе Лангендорфа и периода стабилизации коронарного тока и рабочего давления левого желудочка осуществлялось введение препарата нитропрусида натрия (донор NO) при концентрации 1 мкгр/мин. По окончании введения нитропрусида натрия использовался 10-минутный перерыв, при котором коронарный ток и рабочее давление левого желудочка возвращались к величинам покоя. Затем осуществлялось введение аденозина (5 мкгр/мин). Оба препарата вводились через Т-образное соединение с канюлей со скоростью 5 % от коронарного тока покоя. Максимальные дозы препаратов были определены в пробных экспериментах. По истечении 10-минутного перерыва коронарный ток и рабочее давление в левом желудочке были измерены до и после 90-секундного периода тотальной ишемии.

В отдельной серии экспериментов (см. табл. 1) в течение четырех недель группа диабетических 8-недельных мышей была пролечена препаратом ВМ 17.0744 (К-111), добавленным в питьевую воду (0,24 мг/мл) [23]. В предыдущих исследованиях лечение мышей данным препаратом приводило к нормализации в плазме крови концентрации глюкозы – с (34,2 ± 3,3) до (10,8 ± 0,6) ммол/л, свободных жирных кислот – с (2,5 ± 0,4) до (1,1 ± 0,1) ммол/л, триацилглицеридов – с (1,1 ± 0,2) до (0,6 ± 0,1) ммол/л и инсулина – с (195 ± 38) до (49 ± 6) мкед/мл, также улучшался метаболизм глюкозы в сердцах db/db-мышей ex vivo [2]. Использование данного препарата позволило нам протестировать гипотезу, что нормализация сердечного метаболизма диабетических мышей может улучшить реактивность сосудов сердца. Сердечно-сосудистая реактивность на препараты нитропрусида натрия и аденозина была также исследована в нормотермически калийостановленных сердцах недиабетических (db/+) и диабетических (db/db) мышей, чтобы установить, является ли изменение коронарного тока первичным воздействием препарата или вторичным – за счет увеличения работы сердца.

Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего. Мы использовали парный Стьюдент t-тест в сравнении коронарного тока до и после введения препаратов и непарный Стьюдент t-тест для сравнения увеличения коронарного тока в сердцах мышей db/+ с увеличением коронар-

ного тока в сердцах мышей db/db. $P < 0,05$ принимался за уровень статистической достоверности. Для статистического анализа использовалась программа Sigma Stat, для графического представления данных – пакет Sigma Plot 8.0 (SPSS Ltd., UK).

Результаты

Изменение коронарного тока в ответ на введение нитропруссид натрия в сердцах недиабетических и диабетических мышей показано на рис. 2. Отмечено значительное увеличение коронарного тока в обеих группах. Тем не менее увеличение его в диабетических сердцах было значительно меньше – $(0,6 \pm 0,1)$ мл/мин, чем в недиабетических – $(1,2 \pm 0,1)$ мл/мин ($p < 0,05$).

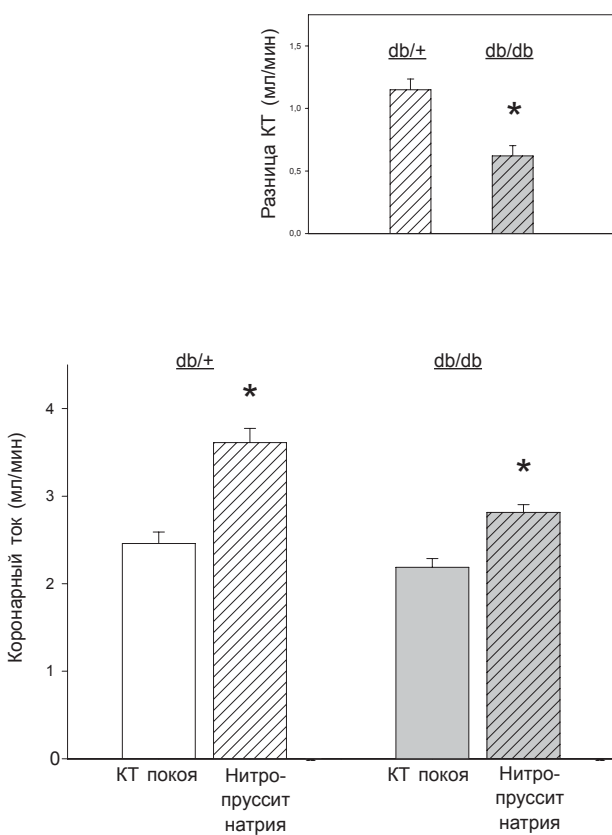


Рис. 2. Увеличение коронарного тока в ответ на введение нитропруссид натрия (1 мкг/мин) в сердцах недиабетических (db/+) и диабетических (db/db) мышей. В верхней части рисунка показано увеличение коронарного тока по отношению к коронарному току покоя в ответ на введение препарата

Примечание. * – $p < 0,05$.

Сходные результаты получены при использовании аденозина (рис. 3). Наблюдалось увеличение коронарного тока в недиабетических – $(1,4 \pm 0,1)$ мл/мин и диабетических – $(0,9 \pm 0,1)$ мл/мин сердцах (см. рис. 3 верхняя часть).

Увеличение коронарного тока на введение нитропруссид натрия и аденозина было связано с 20 % увеличением рабочего давления левого желудочка (табл. 2).

Чтобы исключить вероятность того, что увеличение коронарного тока в ответ на введение

препаратов вторично, за счет увеличения работы сердца, была проведена серия экспериментов с нитропруссидом натрия и аденозином на нормотермически калийостановленных сердцах недиабетических (db/+) и диабетических (db/db) мышей. Как и предполагалось, коронарный ток покоя был очень низким (0,5 мл/мин), но при введении препаратов он по-прежнему увеличивался (табл. 3).

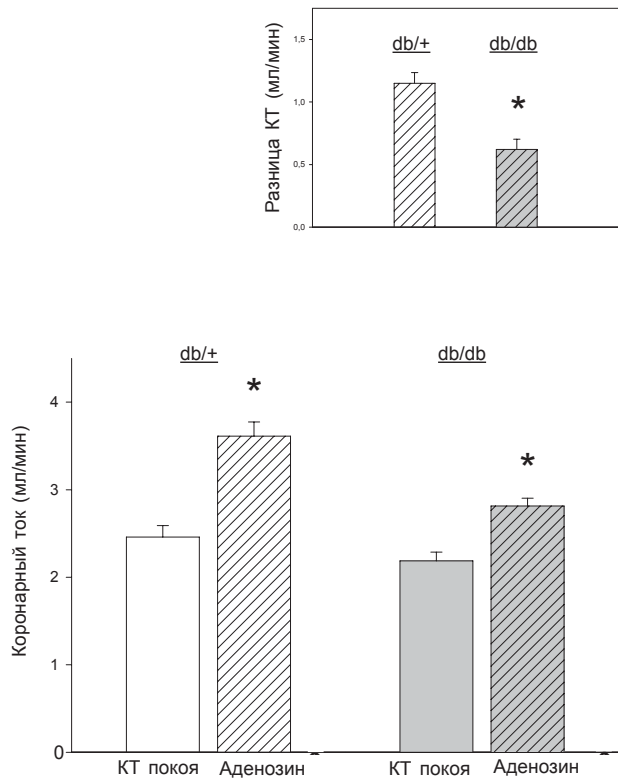


Рис. 3. Увеличение коронарного тока на введение аденозина (5 мкг/мин) в сердцах недиабетических (db/+) и диабетических (db/db) мышей. В верхней части рисунка показано увеличение коронарного тока по отношению к коронарному току покоя

Примечание. * – $p < 0,05$.

Таблица 2

Давление, развиваемое левым желудочком в сердцах недиабетических (db/+) и диабетических (db/db) мышей в состоянии покоя и во время введения натрия нитропруссид (1 мкг/мин) и аденозина (5 мкг/мин)

Показатель	Систолическое давление в левом желудочке, мм рт. ст.	
	Недиабетические мыши	Диабетические мыши
Давление покоя	93 ± 5	90 ± 6
При введении натрия нитропруссид	118 ± 3*	112 ± 4*
Давление покоя	93 ± 5	86 ± 5
При введении аденозина	114 ± 5*	112 ± 4*

Примечание. Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего (db/+ n = 8 и db/db n = 7, * – $p < 0,05$ против давления покоя). Десятиминутный стабилизационный период производился между введениями препаратов для того, чтобы коронарный ток вернулся к величинам покоя.

Таблица 3

Коронарный ток покоя и максимальный коронарный ток в нормотермических калийостановленных сердцах недиабетических (db/+) и диабетических (db/db) мышей при введении нитропруссид натрия (1 мкг/мин) и аденозина (5 мкг/мин)

Показатель	Коронарный ток, мл/мин	
	Недиабетические мыши	Диабетические мыши
Коронарный ток покоя	0,6 ± 0,1	0,5 ± 0,1
При введении натрия нитропруссид	0,8 ± 0,1	1,0 ± 0,1*
Коронарный ток покоя	0,6 ± 0,1	0,5 ± 0,1
При введении аденозина	0,8 ± 0,1*	0,9 ± 0,1*

Примечание. Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего (db/+ n = 10 и db/db n = 7, * – p < 0,05 против коронарного тока покоя). Десятиминутный стабилизационный период был использован между введением препаратов для стабилизации коронарного тока до величин покоя.

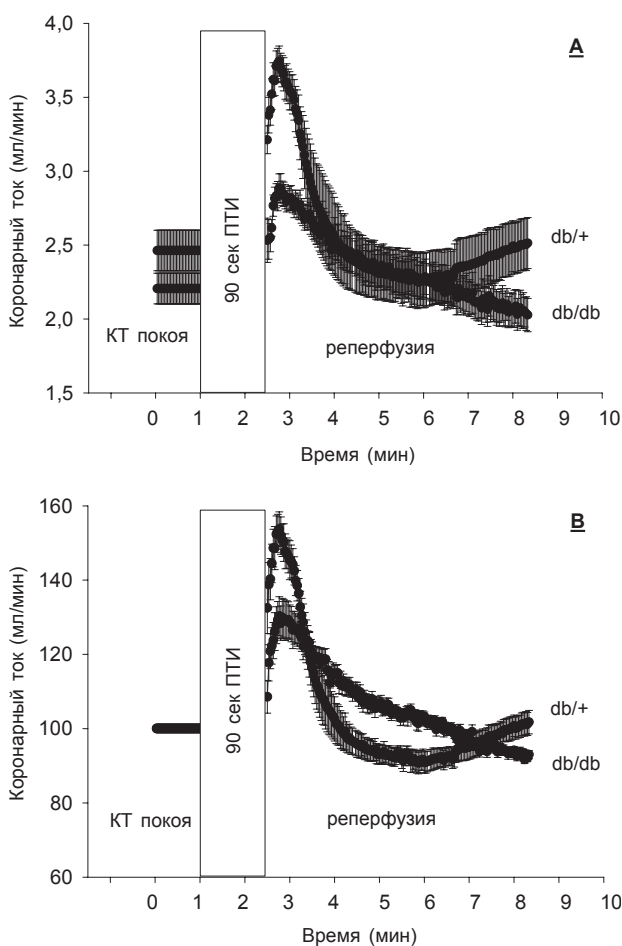


Рис. 4. Увеличение коронарного тока в ответ на 90-секундный период тотальной ишемии (ПТИ) в недиабетических (db/+, n = 8) и диабетических (db/db, n = 7) сердцах. График А – абсолютные величины, график В – процентное увеличение коронарного тока к коронарному току покоя (КТ покоя)

На рис. 4 показано изменение коронарного тока в ответ на 90-секундный период тотальной ишемии. Коронарный ток покоя был немного больше в недиабетических сердцах, чем в диабетических – (2,6 ±

0,1) против (2,1 ± 0,1) мл/мин (график А). В связи с этим результаты представлены как в абсолютных величинах, так и в процентном соотношении (график В). В недиабетических сердцах отмечено очень быстрое увеличение коронарного тока в период реперфузии после 90-секундного периода тотальной ишемии: до 4 мл/мин через 15 секунд после начала реперфузии. В течение 1–2 минут коронарный ток быстро возвращался к величинам покоя и даже опускался ниже, а затем на 5–6-й минуте реперфузии возвращался обратно к величинам покоя. Увеличение коронарного тока в ответ на 90-секундный период тотальной ишемии было значительно снижено в сердцах диабетических мышей (3 мл/мин). Восстановление его до величин покоя в сердцах диабетических мышей значительно замедлено по сравнению с сердцами недиабетических животных.

Лечение диабетических мышей препаратом VM17.0744 (K-111) не привело к улучшению резерва коронарного тока ни на введение нитропруссид натрия и аденозина, ни после 90-секундного периода тотальной ишемии (табл. 4).

Таблица 4

Коронарный ток покоя и максимальный коронарный ток в сердцах диабетических мышей и диабетических мышей, пролеченных препаратом VM17.0744 после 90-секундного периода тотальной ишемии (реактивная гиперемия), и при воздействии препарата нитропруссид натрия (1 мкг/мин) и аденозина (5 мкг/мин)

Показатель	Коронарный ток, мл/мин	
	Диабетические мыши (db/db)	Диабетические мыши (db/db) + VM
Коронарный ток покоя	2,3 ± 0,2	2,3 ± 0,1
Гиперемия	2,7 ± 0,2	2,5 ± 0,1
Коронарный ток покоя	2,2 ± 0,2	2,1 ± 0,1
При введении натрия нитропруссид	2,7 ± 0,2	2,4 ± 0,1
Коронарный ток покоя	2,3 ± 0,2	2,1 ± 0,1
При введении аденозина	3,0 ± 0,2 *	2,5 ± 0,1*

Примечание. Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего (n=6 в каждой группе, * – p<0,05 против коронарного тока покоя). Десятиминутный стабилизационный период был использован после каждой интервенции для стабилизации коронарного тока до величин покоя

Обсуждение результатов исследований

Данное исследование показывает, что коронарный ток покоя в сердцах диабетических мышей (db/db) ex vivo на 15 % ниже, чем в сердцах недиабетических. Эти наблюдения совпадают с предыдущими экспериментами на диабетических мышцах [2, 3, 4]. Сниженный коронарный ток покоя в сердцах (db/db)-мышей может быть обусловлен структурными изменениями в стенках сосудов. Одним из них может быть хроническая гипергликемия, которая способствует неферментативному гликозилированию молекул в стенках

сосудов и необратимому образованию и накоплению конечных продуктов гликозилирования (КПГ). Накопление КПГ в стенках сосудов может увеличивать образование свободных радикалов кислорода, что приводит к снижению активности оксида азота (NO) и способствует нарушению эндотелиальной функции. Кроме того, гликозилированный коллаген может индуцировать пролиферацию клеток гладкой мускулатуры сосудов, увеличивать толщину артериальных стенок и снижать эластичность сосудов сердца [18]. У диабетических больных сердечный кровоток покоя находится в пределах нормы [14, 31, 36], это указывает на присутствие компенсаторных механизмов, обеспечивающих адекватную перфузию сердца.

Реактивность сосудов изучалась на мышинных сердцах *ex vivo* в системе Лангендорфа. Резерв коронарного тока измерялся в ответ на введение препаратов нитропрусида натрия, аденозина и 90-секундный период тотальной ишемии (реактивная гиперемия).

Нитропруssid натрия является эндотелийнезависимым препаратом (донор NO). Оксид азота высвобождается из нитропрусида натрия, проникает в гладкую мускулатуру сосудов, где он активирует гуанилилциклазу, которая способствует образованию циклического гуанизинмонофосфата (цГМФ), что вызывает расслабление гладкой мускулатуры сосудов.

Аденозин в нормальных условиях образуется в клетках миокарда в ответ на увеличение потребления кислорода и метаболического обмена. Сосудорасширяющий эффект аденозина в основном обусловлен воздействием аденозина на A₂-рецепторы в гладкой мускулатуре сосудов. Это способствует стимуляции аденилилциклазы и подъему уровня циклической АМФ (цАМФ) [27, 37]. Увеличение коронарного тока через стимуляцию A₂-рецепторов обуславливает гиперполяризацию гладкой мускулатуры сосудов через активацию K-АТФ-каналов [5, 24]. Имеются доказательства, что аденозин-рецепторы также располагаются в эндотелиальных клетках, что приводит к гиперполяризации эндотелия через аденозининактивацию K-АТФ-каналов. Это увеличивает приток кальция и приводит к большему высвобождению NO [21].

Сосудистые ответы на короткий период ишемии (реактивная гиперемия) могут быть обусловлены как метаболическим, так и миогенным факторами. Метаболический компонент в основном обусловлен активацией K-АТФ-каналов как в субэндокардиальных, так и субэпикардиальных артериолах [6, 15]. Аденозин и оксид азота могут быть также вовлечены в модуляцию микроваскулярного тонуса во время короткого периода ишемии и реперфузии, но их воздействие незначительно [9, 12, 19, 20, 24].

Наше исследование показывает, что коронарный ток покоя в изолированных сердцах диабетических мышей был на 15 % меньше, чем в сердцах недиабетических мышей, что подтверждается результатами

предыдущих исследований [2, 3, 4]. У пациентов, болеющих диабетом, миокардиальный кровоток покоя обычно не снижен [14, 31, 36], это говорит о том, что компенсаторные механизмы задействованы в адекватном сердечном кровообращении.

Исследование также демонстрирует, что коронарный ток в ответ на воздействие нитропрусида натрия, аденозина и реактивной гиперемии был снижен в диабетических сердцах и составлял приблизительно половину от резерва коронарного тока в недиабетических. Результаты данного исследования совпадают с результатами клинических исследований, в которых отмечается снижение коронарной вазореактивности у диабетических пациентов [14, 25, 26, 31]. Согласно данным клинических исследований, пациенты, болеющие диабетом, и пациенты с избыточным весом показывают дисфункцию эндотелия коронарных сосудов с уменьшением eNOS-активности и нарушением высвобождения NO [34]. В нашем исследовании нитропруssid натрия и аденозин вводились в оптимальных дозах, приводящих к максимальному сосудорасширению [1]. Тканевые концентрации оксида азота и аденозина были не лимитированы, максимальны. Таким образом, снижение резерва коронарного тока в сердцах диабетических мышей могло быть вызвано нарушением проведения внутриклеточного сигнала, опосредованного NO и аденозином, которые в нормальных условиях должны приводить к расслаблению гладкой мускулатуры сосудов. Сниженный резерв коронарного тока мог быть также результатом структурных изменений в стенках сосудов в связи с образованием и накоплением конечных продуктов гликозилирования [8, 13, 33]. Образование и накопление данных продуктов может способствовать фиброзу и снижению эластичности коронарного микроциркуляторного русла [18]. Наше исследование показывает, что восстановление коронарного тока покоя значительно замедлено в сердцах диабетических мышей по сравнению с сердцами недиабетических животных, что подтверждает вышеизложенное.

В клинических исследованиях было обнаружено, что, помимо повреждающего эффекта хронической гипергликемии, высокий уровень концентрации циркулирующих свободных жирных кислот также приводит к повреждению эндотелиальной функции [35]. Кроме того, хронически высокий уровень концентрации инсулина дает повреждающий эффект на эндотелиальную функцию через высвобождение эндотелина 1 (ЭТ-1) [28, 29]. Поэтому мы пролечили диабетических мышей серии C57BL/KsJ, db/db, новым препаратом VM17.0744, активатором пероксисом пролифератор-активирующего рецептора альфа (PPAR- α) [2, 30], который эффективно снижает концентрацию глюкозы, липидов и инсулина в плазме крови диабетических мышей [2]. Лечение нормализовало концентрации глюкозы, липидов и инсулина плазмы крови, но не

привело к улучшению коронарной реактивности. Это может свидетельствовать о том, что в структуре коронарных сосудов диабетических мышей могли возникнуть необратимые изменения.

В заключение мы полагаем, что сниженный коронарный ток покоя и уменьшение резерва коронарного тока в сердцах диабетических мышей может происходить в связи со структурными изменениями в стенках сосудов. Состояние хронической гипергликемии может приводить к накоплению в стенках сосудов метаболитов глюкозы, что способствует повреждению миокарда через гликозилирование структурных протеинов миокарда, и накоплению конечных продуктов гликозилирования. Патогенность конечных продуктов гликозилирования обусловлена их способностью накапливаться в тканях с образованием необратимых соединений внутриклеточных протеинов, а также генерации свободных радикалов кислорода [8, 13, 33]. Данные причины могут вызывать фиброз и снижение эластичности сосудов сердца.

Список литературы

1. Братковский С. В. Методика измерения коронарного тока и давления, развиваемого левым желудочком, в изолированных мышечных сердцах *ex vivo* / С. В. Братковский, С. Л. Совершаева, Т. Ларсен // Экология человека. — 2005. — № 11. — С. 28–31.
2. Aasum E. Cardiac function and metabolism in Type 2 diabetic mice after treatment with BM 17.0744, a novel PPAR- α activator / E. Aasum, D. D. Belke, D. L. Severson // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2002. — Vol. 283. — P. H949–H957.
3. Aasum E. Changes in substrate metabolism in isolated mouse hearts following ischemia-reperfusion / E. Aasum, A. D. Hafstad, T. Larsen // *Mol. Cell. Biochem.* — 2003. — Vol. 249. — P. 97–103.
4. Aasum E. Age-dependent changes in metabolism, contractile function, and ischemic sensitivity in hearts from db/db mice / E. Aasum, A. D. Hafstad, D. L. Severson, T. Larsen // *Diabetes.* — 2003. — Vol. 52. — P. 434–441.
5. Akatsuka Y. ATP sensitive potassium channels are involved in adenosine A2 receptor mediated coronary vasodilatation in the dog / Y. Akatsuka, K. Egashira, Y. Katsuda // *Cardiovasc. Res.* — 1994. — Vol. 28. — P. 906–911.
6. Aversano T. Blockade of the ATP-sensitive potassium channel modulates reactive hyperemia in the canine coronary circulation / T. Aversano, P. Ouyang, H. Silverman // *Circ. Res.* — 1991. — Vol. 69. — P. 618–622.
7. Belke D. D. Altered metabolism causes cardiac dysfunction in perfused hearts from diabetic (db/db) mice / D. D. Belke, T. Larsen, E. M. Gibbs // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* — 2000. — Vol. 279. — P. E1104–E1113.
8. Candido R. A breaker of advanced glycation end products attenuates diabetes-induced myocardial structural changes / R. Candido, J. M. Forbes, M. C. Thomas // *Circ. Res.* — 2003. — Vol. 92. — P. 785–792.
9. Canty J. M. Nitric oxide mediates flow-dependent epicardial coronary vasodilation to changes in pulse frequency but not mean flow in conscious dogs / J. M. Canty, J. S. Schwartz // *Circulation.* — 1994. — Vol. 89. — P. 375–384.
10. Coleman D. L. Diabetes-obesity syndromes in mice / D. L. Coleman // *Diabetes.* — 1982. — Vol. 31(Suppl. 1). — P. 1–6.
11. Coleman D. L. Hyperinsulinemia in pre-weaning diabetic (db) mice / D. L. Coleman, K. Hummel // *Diabetologia.* — 1974. — Vol. 10. — P. 607–610.
12. Daut J. Hypoxic dilation of coronary arteries is mediated by ATP-sensitive potassium channels / J. Daut, W. Maier-Rudolph, N. von Beckerath // *Science.* — 1990. — Vol. 247. — P. 1341–1344.
13. De Vriese A. S. Endothelial dysfunction in diabetes / A. S. De Vriese, T. J. Verbeuren, J. van De Voorde // *Br. J. Pharmacol.* — 2000. — Vol. 130. — P. 963–974.
14. Di Carli M. F. Effects of autonomic neuropathy on coronary blood flow in patients with diabetes mellitus / M. F. Di Carli, D. Bianco-Battles, M. E. Landa // *Circulation.* — 1999. — Vol. 100. — P. 813–819.
15. Duncker D. J. Endogenous adenosine mediates coronary vasodilation during exercise after K(ATP) + channel blockade / D. J. Duncker, N. S van Zon, T. J. Pavsek // *J. Clin. Invest.* — 1995. — Vol. 95. — P. 285–295.
16. Fein F. S. Hypertensive-diabetic cardiomyopathy in rats / F. S. Fein, B. E. Zola, A. Malhotra // *Am. J. Physiol.* — 1990. — Vol. 258. — P. H793–H805.
17. Grundy S. M. Diabetes and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association / S. M. Grundy, I. J. Benjamin, G. L. Burke // *Circulation.* — 1999. — Vol. 100. — P. 1134–1146.
18. Iino K. Effect of glycated collagen on proliferation of human smooth muscle cells in vitro / K. Iino, M. Yoshinari, M. Yamamoto // *Diabetologia.* — 1996. — Vol. 39. — P. 800–806.
19. Kostic M. M. Role of nitric oxide in reactive hyperemia of the guinea pig heart / M. M. Kostic, J. Schrader // *Circ. Res.* — 1992. — Vol. 70. — P. 208–212.
20. Kristiansen S. B. Ischaemic preconditioning does not protect the heart in obese and lean animal models of Type 2 diabetes / S. B. Kristiansen, B. Løfgren, N. B. Støttrup // *Diabetologia.* — 2004. — Vol. 47. — P. 1716–1721.
21. Kuo L. Adenosine potentiates flow-induced dilation of coronary arterioles by activating KATP channels in endothelium / L. Kuo, J. D. Chancellor // *Am. J. Physiol.* — 1995. — Vol. 269. — P. H541–H549.
22. Leibel R. L. Single gene obesities in rodents: possible relevance to human obesity / R. L. Leibel // *J. Nutr.* — 1997. — Vol. 127. — P. 1908S.
23. Meyer K. Omega-Substituted alkyl carboxylic acids as antidiabetic and lipid-lowering agents / K. Meyer, E. Voss, R. Neidlein // *Eur. J. Med. Chem.* — 1998. — Vol. 33. — P. 775–787.
24. Mutafova-Yambolieva V. N. Adenosine-induced hyperpolarization in guinea pig coronary artery involves A2b receptors and KATP channels / V. N. Mutafova-Yambolieva, K. D. Keef // *Am. J. Physiol.* — 1997. — Vol. 273. — P. H2687–H2695.
25. Nahser P. J. Maximal coronary flow reserve and metabolic coronary vasodilation in patients with diabetes mellitus / P. J. Nahser, R. E. Brown, H. Oskarsson // *Circulation.* — 1995. — Vol. 91. — P. 635–640.
26. Nitenberg A. Impairment of coronary vascular reserve and ACh-induced coronary vasodilation in diabetic patients with angiographically normal coronary arteries and normal left ventricular systolic function / A. Nitenberg, P. Valensi,

R. Sachs // *Diabetes*. — 1993. — Vol. 42. — P. 1017–1025.

27. *Olsson R. A.* Cardiovascular purinoceptors / R. A. Olsson, J. D. Pearson // *Physiol. Rev.* — 1990. — Vol. 70. — P. 761–845.

28. *Perfetto F.* Influence of non-insulin-dependent diabetes mellitus on plasma endothelin-1 levels in patients with advanced atherosclerosis / F. Perfetto, R. Tarquini, L. Tappari // *J. Diabetes Complications*. — 1998. — Vol. 12. — P. 187–192.

29. *Piatti P. M.* Relationship between endothelin-1 concentration and metabolic alterations typical of the insulin resistance syndrome / P. M. Piatti, L. D. Monti, L. Galli // *Metabolism*. — 2000. — Vol. 49. — P. 748–752.

30. *Pill J.* BM 17.0744: a structurally new antidiabetic compound with insulin-sensitizing and lipid-lowering activity / J. Pill, H. F. Kuhnle // *Metabolism*. — 1999. — Vol. 48. — P. 34–40.

31. *Pitkanen O. P.* Coronary flow reserve is reduced in young men with IDDM / O. P. Pitkanen, P. Nuutila, O. T. Raitakari // *Diabetes*. — 1998. — Vol. 47. — P. 248–254.

32. *Shehadeh A.* Cardiac consequences of diabetes mellitus / A. Shehadeh, T. J. Regan // *Clin. Cardiol.* — 1995. — Vol. 18. — P. 301–305.

33. *Sheetz M. J.* Molecular understanding of hyperglycemia's adverse effects for diabetic complications / M. J. Sheetz, G. L. King // *JAMA*. — 2002. — Vol. 288. — P. 2579–2588.

34. *Steinberg H. O.* Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction. Implications for the syndrome of insulin resistance / H. O. Steinberg, H. Chaker, R. Leaming, A. Johnson, G. Brechtel, A. D. Baron // *J. Clin. Invest.* — 1996. — Vol. 97. — P. 2601–2610.

35. *Steinberg H. O.* Elevated circulating free fatty acid levels impair endothelium-dependent vasodilation / H. O. Steinberg, M. Tarshoby, R. Monestel // *J. Clin. Invest.* — 1997. — Vol. 100. — P. 1230–1239.

36. *Sundell J.* The effects of insulin and short-term hyperglycemia on myocardial blood flow in young men with uncomplicated type 1 diabetes / J. Sundell, H. Laine, P. Nuutila // *Diabetologia*. — 2002. — Vol. 45. — P. 775–782.

37. *Vials A.* A2-purinoceptor-mediated relaxation in the guinea-pig coronary vasculature: a role for nitric oxide / A. Vials, G. Burnstock // *Br. J. Pharmacol.* — 1993. — Vol. 109. — P. 424–429.

MEASUREMENT OF CORONARY FLOW RESERVE EX VIVO IN LANGENDORFF-PERFUSED ISOLATED HEARTS FROM GENETICALLY DIABETIC (C57BL/KsJ) MICE

S. V. Bratkovsky, S. L. Sovershaeva, *T. Larsen

*Northern State Medical University, Arkhangelsk
Troms University, Norway

In the present study coronary flow reserve was measured in *ex vivo* hearts from type 2 diabetic (db/db) and non-diabetic (db/+) mice. The hearts were perfused in the Langendorff mode with a crystalloid Krebs-Henseleit bicarbonate buffer (37 °C, pH 7.4) containing 11 mmol/L glucose as energy substrate. It was consistently found that basal coronary flow was approximately 15 % lower in diabetic as compared to non-diabetic hearts. The coronary flow reserve was measured in response to three different interventions: administration of nitroprusside (a nitric oxide donor), administration of adenosine and production of reactive hyperemia by a short-term ischemic period. Both nitroprusside and adenosine were given in doses that produced maximum coronary vasodilation. The maximum increase in coronary flow rate in response to these different interventions was significantly lower in diabetic than in non-diabetic hearts. Also, there was a clear difference between diabetic and non-diabetic hearts with respect to the rate of recovery of basal vascular tone following the short-term ischemic intervention. These results show that basal coronary flow, as well as the coronary flow reserve, is impaired in hearts from type 2 diabetic mice. In addition, chronic hyperglycaemia in the db/db mouse could cause hyperglycation of myocardial matrix proteins and formation of AGEs, which in turn could lead to formation of cross-links between cellular proteins, fibrosis and reduced elasticity of the coronary microvessels.

Key words: diabetic mouse hearts, coronary flow, vasoactive drugs, reactive hyperemia.

Контактная информация:

Братковский Сергей Валерьевич — кандидат медицинских наук, ассистент кафедры анестезиологии и реаниматологии Северного государственного медицинского университета, г. Архангельск

E-mail: svbratkovsky@yandex.ru

Статья поступила 6.04.2007 г.