

Влияние гипоксии на формирование экспериментального сахарного диабета

Торшин В.И., Калашникова Е.Ю., Шевченко Л.В.

Медицинский институт Российского университета дружбы народов, Россия, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.8. E-mail: vtorshin@mail.ru

Показаны особенности развития экспериментального инсулинзависимого сахарного диабета у крыс в условиях гипоксии. Обнаружено, что периодическое снижение давления кислорода в окружающей среде является физиологическим воздействием обладающим инсулиноподобным эффектом, а периодическая тренировка к умеренной гипоксии позволяет снижать и стабилизировать уровень глюкозы у экспериментальных животных.

Ключевые слова: экспериментальный сахарный диабет, периодическая гипоксия, показатели крови, газообмен

Введение

Исследование патогенеза и разработка экспериментально обоснованных способов лечения сахарного диабета (СД) остаётся актуальной медико-социальной проблемой. В России СД является наиболее частой причиной смертности после сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний [2]. По прогнозам ВОЗ, к 2025 г. во всем мире будет насчитываться более 300 млн больных СД [5]. Как известно, СД 1 типа — болезнь, вызванная разрушением β -клеток поджелудочной железы. Дефицит инсулина при СД1 приводит к гипергликемии и другим метаболическим нарушениям. На данный момент единственным способом лечения сахарного диабета 1 типа является инсулинотерапия. В то же время с помощью имеющихся методов терапии у большинства больных СД-1 типа достаточно трудно достичь той степени компенсации заболевания, которая позволила бы замедлить прогрессирование осложнений, инсулинотерапия при СД-1 типа носит лишь заместительный характер [3]. В последние годы возрос интерес к изучению физиологических механизмов возникновения и реализации инсулиноподобного эффекта от воздействия факторов внешней среды. Практическое значение имеют результаты исследований с применением адаптации к гипоксии [1]. Поскольку СД1 является результатом клеточно-опосредованной аутоиммунной деструкции β -клеток поджелудочной железы, приводящей к абсолютной инсулиновой недостаточности, то воздействия, направленные на замедление и подавление этого процесса, являются перспективными для поддержания собственной секреции инсулина [6].

Целью данной работы было исследование особенностей формирования токсической модели экспериментального сахарного инсулинзависимого диабета в условиях изменённой газовой среды.

Объект и методы исследования

Эксперименты были проведены на белых беспородных крысах-самцах, что позволяло исключить гормональное влияние, связанное с эстральным циклом. Исследования проводили с соблюдением правил, предусмотренных Европейской комиссией по надзору за проведением лабораторных и других опытов с участием экспериментальных животных разных видов (FELASA Principles and practice in ethical review of animal experiments across Europe. Federation

of European Laboratory Animal Science Associations, 2005). Животные находились в стандартных условиях вивария. В каждой клетке размером 30 x 40 x 60 см содержалось не более 6 животных. Все исследования проведены в 2 этапа. На 1-м этапе по основным критериям (уровень гликемии 5,0—5,5 ммоль/л и масса тела 250—300 г) отобраны 30 животных. Содержание глюкозы в крови определяли на приборе «Эксан-Г», массу тела — на лабораторных весах ВЛТК-500. В фоновых исследованиях (утром натощак) у животных определяли и рассчитывали гематологические и кардиореспираторные показатели: количество эритроцитов (млн/мкл) на счётчике микрочастиц «Целлоскоп», концентрацию гемоглобина (Hb, г/л) на гемоглобинометре фирмы «Линсон-инструмент», потребление кислорода (VO_2 /кг, мл/кг), выделение углекислого газа (VCO_2 /кг, мл/кг) с помощью газоанализаторов АК-1 и ГАУ-3 в закрытой системе ёмкостью 3 л, частота сердечных сокращений (ЧСС, уд./мин) определялась по интервалам R-R электрокардиограммы. После определения и расчёта указанных показателей животные были распределены на две равные группы. Первая группа — «нормоксия» (n = 15) находилась в обычных условиях вивария. Животные второй группы — «гипоксия» (n = 15) в течение трёх недель ежедневно 4 часа (1000 — 1400 ч) подвергались воздействию гипоксии, создаваемой в барокамере ёмкостью 110 л. В первый день воздействия уровень гипоксии соответствовал «высоте» 2000 м и в последующие 5 дней гипоксию постепенно увеличивали до уровня на «высоте» 4000 м ($PiO_2 = 85$ мм рт.ст.). Этот уровень воздействия гипоксии оставался постоянным в последующие 15 дней. Через три недели воздействий у животных создавали токсическую модель СД1 в результате однократной инъекции стрептозотоцина (STZ) (фирмы «Sigma-Aldrich», Германия) в дозе 50 мг/кг массы тела (внутрибрюшинно). Уровень гликемии, гематологические и кардиореспираторные показатели у животных обеих групп определялись на 2-е, 7-е и 10-е сутки после интоксикации стрептозотоцином. Полученные данные обработаны статистически с использованием ПО «Statistica 6.0». Анализ достоверности оценивали с применением t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

Проведенные исследования показали, что основной физиологической особенностью развития СД 1 после инъекции стрептозотоцина в условиях периодического

снижения PiO_2 в окружающей среде явилась относительная стабилизация массы тела и уровня гликемии. Изменение массы тела и содержания глюкозы в крови животных представлены в табл. 1.

Представленные в табл. 1 данные свидетельствуют о достоверном по сравнению с контролем (1-я группа) уменьшении массы тела и снижении уровня гликемии в результате предварительного периодического воздействия гипоксии (2-я группа). Достоверно менее выраженной оказалась реакция животных 2-й группы на интоксикацию стрептозотоцином — как по уровню закономерного увеличения содержания глюкозы в крови, так и по темпу снижения массы тела на 2—10 сутки после инъекции препарата. Сравнивая изменение уровня глюкозы крови, можно отметить, что в отличие от контрольной группы, у которой на 7-е и 10-е сутки имеется неуклон-

ное увеличение данного показателя ($p < 0,05$), у крыс подвергавшихся гипоксическому воздействию, отмечается отчетливая тенденция к снижению гликемии на 7-е и 10-е сутки на 12% и 17% соответственно ($p < 0,05$). Через 2 недели после отмены воздействий в обеих группах уровень гликемии в крови достоверно повысился. Известно, что снижение массы тела при СД1 наблюдается вследствие избыточного выделения глюкозы с мочой, торможения липогенеза и ослабления синтеза белка с большим использованием его в качестве источника энергии [9]. Можно предположить, что снижение PiO_2 во внешней среде, выполняя роль периодического стресса, оказывают активизирующее воздействие на организм, направленное на формирование комплекса физиологических реакций, адекватных гипoinsулинемии и гипергликемии при диабете. Неспецифическими при таких воздействиях яв-

Таблица 1

Масса тела и содержание глюкозы в крови

Фон		Сроки (сутки) после инъекции стрептозотоцина		
		2	7	10
Глюкоза крови (мМоль/л)				
1	5,77 ± 0,24	19,41 ± 0,31	20,97 ± 0,42	21,99 ± 0,46
2	4,63 ± 0,25*	18,14 ± 0,29	17,54 ± 0,38*	16,76 ± 0,41*
Масса тела (г)				
1	339,1 ± 3,41	320,4 ± 3,61	290,0 ± 3,72	273,2 ± 4,22
2	313,4 ± 3,53*	300,1 ± 3,58*	294,0 ± 3,61	290,6 ± 3,69*

Примечание. В графе "Фон" слева — цифрами обозначены группы животных; * — достоверные различия в сравнении с 1-й группой

Таблица 2

Потребление кислорода и дыхательный коэффициент

Фон		Сроки (сутки) после инъекции стрептозотоцина		
		2	7	10
Потребление кислорода (мл/кг)				
1	23,14 ± 0,15	21,63 ± 0,22	18,61 ± 0,28	14,34 ± 0,42
2	21,21 ± 0,21*	19,90 ± 0,23*	19,85 ± 0,24*	19,33 ± 0,26*
Дыхательный коэффициент (ед.)				
1	0,831 ± 0,013	0,705 ± 0,015	0,695 ± 0,014	0,622 ± 0,010
2	0,812 ± 0,013**	0,731 ± 0,014*	0,728 ± 0,013*	0,742 ± 0,012*

Примечание. То же, что в табл. 1; ** — $p < 0,01$

Таблица 3

Гематологические показатели

Фон		Сроки (сутки) после инъекции стрептозотоцина		
		2	7	10
Количество эритроцитов (млн/мкл)				
1	9,090 ± 0,273	9,220 ± 0,269	9,898 ± 0,281	10,80 ± 0,296
2	10,26 ± 0,254*	12,09 ± 0,260*	12,42 ± 0,237*	12,60 ± 0,243*
Концентрация гемоглобина (г/л)				
1	146,2 ± 2,78	149,6 ± 2,52	151,6 ± 2,52	155,3 ± 2,76
2	170,0 ± 3,19*	172,2 ± 2,28*	176,3 ± 2,08*	180,5 ± 1,15*

Примечание. То же, что в табл. 1

Частота сердечных сокращений

Фон		Сроки (сутки) после инъекции стрептозотоцина		
		2	7	10
Частота сердечных сокращений (уд./мин)				
1	433 ± 10	425 ± 11	440 ± 13	450 ± 14
2	405 ± 9*	390 ± 10*	383 ± 13	380 ± 14*

Примечание. То же, что в табл. 2

ляются стресс-реакции и гормональная перестройка, направленные на активацию энергетического обмена. Известно, что основное действие инсулина заключается в усилении транспорта глюкозы через мембрану клетки. Воздействие гипоксии способствует инсулиннезависимому потреблению глюкозы. Следует отметить и тот факт, что в результате физиологических реакций в ответ на гипоксическое воздействие формируются адаптационно-компенсаторные изменения, свидетельствующие об экономичности функционирования систем организма. Это проявляется в показателях газотранспортной системы. В табл. 2 представлены данные о дыхательном коэффициенте и потреблении кислорода у животных, а в табл. 3 — гематологические показатели.

Представленные в табл. 2 данные свидетельствуют о том, что если у животных контрольной группы наблюдалось неуклонное снижение ДК, то у животных, подвергавшихся гипоксическому воздействию, уже на 2-е сутки наблюдалась небольшая тенденция к снижению ДК с последующей стабилизацией значений. Известно, что при не леченном сахарном диабете значение дыхательного коэффициента практически всегда снижается, что характерно для преобладания окисления жиров, которое имеет место при выраженном дефиците инсулина. Различие относится также к индексу потребления кислорода (мл O₂/кг). Достоверное снижение потребления кислорода через сутки после воздействия гипоксии указывает не только на физиологическую целесообразность этого воздействия, но и на его инсулиноподобную эффективность при интоксикации стрептозотоцином.

Динамика гематологических показателей у животных представлена в табл. 3, она свидетельствует об увеличении количества эритроцитов и концентрации гемоглобина в результате воздействия гипоксии — парциальное напряжение кислорода в артериальной крови животных в барокамере на «высоте» 4000 м вдвое меньше (~50 мм рт.ст.), чем на «равнине».

Достоверное увеличение количества эритроцитов через сутки после воздействия гипоксии можно объяснить их ускоренным освобождением из зрелых эритробластических островков [7]. Эта реакция направлена на обеспечение адекватности доставки кислорода в условиях тканевой гипоксии, имеющей место при сахарном диабете [4].

Гемодинамика оценивалась по результатам определения частоты сердечных сокращений (табл. 4). У животных с СД, находящихся в обычных условиях, отмечено достоверное увеличение ЧСС (p<0,05). Следует отметить, что у животных 2-й группы в результате периодического воздействия гипоксии наблюдалась отчетливая тенденция к уменьшению ЧСС (по сравнению с контролем).

Заключение

Таким образом, периодическое понижение парциального давления кислорода в окружающей среде является физиологическим воздействием, обладающим инсулиноподобным эффектом, а периодическая тренировка к умеренной гипоксии позволяет корректировать и стабилизировать уровень гликемии и метаболизма у животных токсической формой СД1.

Список литературы

1. Абрамов А.В., Колесник Ю.М. Биоэлектрическая активность ядер гипоталамуса при адаптации к гипоксии и экспериментальном сахарном диабете // Матер. Всеукр. науч. симпоз. «Биохимия стресса и пути повышения эффективности лечения заболеваний стрессорной природы». — Запорожье, 1992. — С. 131—132.
2. Балаболкин М.И. Сахарный диабет. — М.: Медицина, 1994. — 384 с.
3. Беляева Н.Ф., Городецкий В.К., Точилкин А.И. Ванадийсодержащие соединения — новый класс терапевтических средств для лечения сахарного диабета // Вопросы медицинской химии. — 2000. — №4.
4. Браславская Г.М., Штейнгардт Ю.Н. Гипоксия тканей при сахарном диабете, ее патогенез и лечение // Терапевт. арх. — 1980. — №8. — С. 83—86.
5. Волчегорский И.А., Рассохина Л.М., Мирошниченко И.К. Инсулинопотенцирующее действие антиоксидантов при экспериментальном сахарном диабете // Проблемы эндокринологии. — 2010. — №2. — С. 27—35.
6. Топорова Е.К., Гулько Т.П., Сухорада Е.М., Рубан Т.А., Шпилева С.П., Иродов Д.М., Моргунов П.В., Кордюм В.А. Экспериментальная генная терапия сахарного диабета 1 типа // Журн. АМН України. — 2010. — Т. 16. Приложение. — С. 170—171.
7. Шевченко Л.В., Елфимов А.И. Гематологические показатели и содержание глюкозы в крови крыс при экспериментальном сахарном диабете // Успехи физиологических наук. — 1994. — Т. 25, №1. — С. 87—88.
8. Alvarez-Buylla R., Alvarez-Buylli E.R. Changes in blood glucose concentration in the carotid-body sinus modify brain glucose retention // Brain Res. — 1994. — Vol. 654. — P. 167—170.
9. Gale E. A. The rise of childhood type 1 diabetes in the 20th century // Diabetes. — 2002. — Vol. 51. — P. 3353—3361.
10. Gjedde A. Induction of relative cerebral hypoglycaemia by chronic hyperglycaemia // J. Physiol. (Lodon). — 1980. — Vol. 301. — P. 81—82.

Поступила 16.03.2015

Список литературы

1. Abramov A.V., Kolesnik Ju.M. Bioelektricheskaia aktivnost' jader gipotalamusa pri adaptacii k gipoksii i jeksperimental'nom sahar-nom diabete // Mater. vseukr. nauch. simpoz. «Biohimija stressa i puti povysheniia jeffektivnosti lechenija zabolovanij stressornoj prirody». — Zaporozh'e, 1992. — S. 131—132.
2. Balabolkin M.I. Saharnyj diabet. — M.: Medicina, 1994. — 384 s.
3. Beljaeva N.F., Gorodeckij V.K., Tochilkin A.I. Vanadijsoderzhashhie soedinenija — novyj klass terapevticheskikh sredstv dlja lechenija sahar-nogo diabeta // Voprosy medicinskoj himii. — 2000. — №4.

4. Braslavskaja G.M., Shtejngardt Ju.N. Gipoksija tkanej pri sa-harnom diabete, ee patogenez i lechenie // Terapevt. arh. — 1980. — №8. — S. 83—86.

5. Volchegorskij I.A., Rassohina L.M., Miroshnichenko I.K. Insulinpotencirujushhee dejstvie antioksidantov pri jeksperimental'nom sa-harnom diabete // Problemy jendokrinologii. — 2010. — №2. — S. 27—35.

6. Toporova E.K., Gul'ko T.P., Suhorada E.M., Ruban T.A., Shpilevaja S.P., Irodov D.M., Morgunov P.V., Kordjum V.A. Jeksperimental'naja gennaja terapija sahnogo diabeta I tipa // Zhurn. AMN Ukraïni. — 2010. — T. 16. Prilozhenie. — S. 170—171.

7. Shevchenko L.V., Elfimov A.I. Gematologicheskie pokazateli i sodержanie gljukozy v krovi krys pri jeksperimental'nom sahnom di-

abete // Uspehi fiziologicheskikh nauk. — 1994. — T. 25, №1. — S. 87—88.8. Alvarez-Buylla R., Alvarez-Buyllci E.R. Changes in blood glucose concentration in the carotid- body sinus modify brain glucose retention // Brain Res. — 1994. — Vol. 654. — P. 167—170.

9. Gale E. A. The rise of childhood type 1 diabetes in the 20th century // Diabetes. — 2002. — Vol. 51. — P. 3353—3361.

10. Gjedde A. Induction of relative cerebral hypogly-caemia by chronic hyperglycaemia // J. Physiol. (Lodon). — 1980. — Vol. 301. — P. 81—82.

Поступила 16.03.2015

Influence of a hypoxia on formation of experimental diabetes

Torshin V.I., Kalashnikova E.Y., Shevchenko L.V.

Medical Institute Peoples' Friendship University of Russia.
117198, Miklukho-Maklaya str., 8, Moscow, Russia

Features of development of experimental insulin-dependent diabetes in rats in the conditions of a hypoxia are shown. It is revealed that periodic decrease in pressure of oxygen in environment is physiological influence by the possessing insulin-similar effect, and periodic training to a moderate hypoxia allows to reduced and stabilize the level of blood glucose level at the experimental animals.

Key words: *experimental diabetes, periodic hypoxia, blood indicators, gas exchange*