

Вплив ендогенних та екзогенних естрогенів на функціональний стан мітохондрій серця щурів із цукровим діабетом 2-го типу

**Н.І. Горбенко,
Т.В. Кіприч,
О.Ю. Боріков,
О.В. Іванова**

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України», м. Харків

Резюме. Метою роботи було дослідження впливу гіпоестрогенії та екзогенного 17β естрадіолу на функціональний стан мітохондрій серця в самиць щурів із цукровим діабетом 2-го типу (ЦД2). **Матеріали та методи.** Оцінено глюкозний гомеостаз, визначено інтенсивність продукції активних форм кисню, активність аконітази, сукцинатдегідрогенази та концентрацію цитохромів дихального ланцюга в мітохондріях серця. **Результати.** Встановлено, що гіпоестрогенія посилює розвиток мітохондріальної дисфункції в кардіоміоцитах щурів із ЦД2, збільшуючи продукцію активних форм кисню та знижуючи активність аконітази. Водночас пероральне введення 17β -естрадіолу запобігає порушенню мітохондріальної функції в серці оварієктомованих щурів із ЦД2 за рахунок зниження інтенсивності оксидативного стресу та підвищення активності аконітази та вмісту компонентів комплексів III і IV електрон-транспортного ланцюга. **Висновки.** Виявлений протективний вплив екзогенного 17β -естрадіолу щодо розвитку мітохондріальної дисфункції кардіоміоцитів у діабетичних щурів із гіпоестрогенією свідчить про перспективність подальших досліджень у напрямку розробки статевоспецифічної профілактики та терапії діабетичних серцево-судинних ускладнень у жінок після менопаузи.

Ключові слова: цукровий діабет 2-го типу, мітохондріальна дисфункція, естрогени.

Цукровий діабет (ЦД) є найпоширенішим ендокринним захворюванням, розповсюдженість якого у XXI сторіччі набула характеру пандемії. Сьогодні у світі нараховують 415 млн хворих на ЦД, і за прогнозом Міжнародної діабетичної

федерації (IDF) до 2040 року їх кількість сягне 642 млн, тобто діабет будуть діагностувати у кожного десятого мешканця планети. Основною причиною смерті хворих на ЦД2 (близько 65%) залишаються серцево-судинні ускладнення [1].

Відомо, що ризик розвитку серцево-судинних захворювань для жінок репродуктивного віку є значно нижчим порівняно з таким для чолові-

* Адреса для листування (Correspondence): ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України», вул. Артема, 10, м. Харків, 61002, Україна. E-mail: zdovado@ukr.net

© Н.І. Горбенко, Т.В. Кіприч, О.Ю. Боріков, О.В. Іванова

Оригінальні дослідження

ків, що обумовлено вазопротекторним ефектом естрогенів, тоді як втрата ендogenous естрогенів під час менопаузи асоціюється з негативним впливом на серцево-судинну систему та нівелює статеві відмінності в частоті кардіоваскулярної патології [2].

Смертність внаслідок ішемічної хвороби серця в жінок із діабетом підвищується у 2-5 разів, тоді як у чоловіків відзначають збільшення в 1-3 рази порівняно з особами без діабету [3]. Статеві відмінності негативного впливу ЦД обумовлено більш вираженими проявами в жінок таких чинників кардіоваскулярного ризику, як ожиріння, гіпертонія, атерогенна дисліпідемія та прозапальний стан, що може бути пов'язано з нейтралізацією в них кардіо- та вазопротекторних ефектів ендogenous естрогенів [4].

Останніми роками мітохондріальну дисфункцію вважають одним із провідних патогенетичних механізмів розвитку ЦД2, макросудинних ускладнень і діабетичної кардіоміопатії. Відповідно до «мітохондріальної гіпотези старіння» підґрунтям вікових і кардіоваскулярних порушень є зниження продукції енергії мітохондріями, посилення оксидативного стресу та прискорення апоптозу клітин [5]. Наявність рецепторів до естрогенів у мітохондріях кардіоміоцитів і клітин ендотелію відіграє важливу роль у регулюванні гормонами мітохондріальної функції та продукції вільних радикалів. Доведено, що мітохондріальна функція може бути мішенню для регуляторного ефекту естрогенів у багатьох типах клітин і тканин, що реалізується за рахунок кооперативної дії рецепторів естрогенів та їх ко-активаторів як у ядерному, так і в мітохондріальному геномі [6]. Взаємодіючи з рецепторами в мітохондріях, естрогени підвищують продукцію аденозинтрифосфату (АТФ) і знижують оксидативний стрес у кардіоміоцитах та ендотеліальних клітинах і їх апоптоз, що може сприяти профілактиці серцево-судинних захворювань і збільшенню тривалості життя жінок [7].

Отже, мітохондріальний метаболізм дедалі частіше розглядають як одну з найбільш перспективних фармакологічних мішеней для профілактики ЦД2 і корекції його макросудинних ускладнень у жінок постменопаузного віку.

Метою роботи було визначення впливу гіпоестрогенії та екзогенного 17 β -естрадіолу на функціональний стан мітохондрій серця в самиць щурів із ЦД2.

Матеріали та методи

Дослідження проводили згідно з національними «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах» (Україна, 2001), що відповідають положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985). В експерименті було використано тримісячних самиць щурів лінії Вістар масою 180-220 г, яких утримували в стандартних умовах віварію.

Гіпоестрогенію відтворювали шляхом двобічної оваріектомії під легким ефірним наркозом. Через два тижні після хірургічного втручання в оваріектомованих щурів і щурів з інтактними яєчниками моделювали ЦД2 у два етапи. Інсулінорезистентність (ІР) викликали протягом десяти тижнів за допомогою висококалорійної дієти (ВКД), яка складалася з 15% жиру, 25% сахарози, 1% жовчних кислот і 59% стандартного раціону [8]. Контрольні інтактні та контрольні оваріектомовані тварини впродовж десяти тижнів отримували стандартну дієту віварію. На другому етапі, через чотири тижні від початку застосування ВКД, відтворювали відносну інсулінову недостатність: щурам, які отримували ВКД, внутрішньочеревно вводили розчин стрептозотоцину на цитратному буфері в дозі 25 мг/кг маси тіла один раз на тиждень протягом двох тижнів; контрольні тварини за аналогічною схемою отримували цитратний буфер [8]. Через 7 днів після останньої ін'єкції стрептозотоцину у тварин вимірювали базальну глікемію та розподіляли на групи.

17 β -естрадіол суспендували в 1,6% розчині диметилсульфоксиду. Суспензію вводили перорально за допомогою зонда дозі 0,2 мг 17 β -естрадіолу на 1 кг маси тіла один раз на добу протягом чотирьох тижнів.

Наприкінці експерименту стан глюкозного гомеостазу оцінювали за показниками базальної глікемії та глікемії під час внутрішньочеревного тесту толерантності до глюкози (ВЧТГТ) (3 г/кг маси тіла). Вміст глюкози в крові визначали глюкозооксидазним методом за допомогою ферментативного аналізатора глюкози «Ексан-Г». Коефіцієнт чутливості до інсуліну оцінювали під час короткого інсулінового тесту (0,5 МО/кг маси тіла) [9].

Мітохондрії серця щурів отримували методом диференційного центрифугування за

10000 g у середовищі, яке містило 10 мМ Трис-НСІ, 250 мМ цукрози, 10 мМ етилендіамінтетраацетату та 0,5% бичачий сироватковий альбумін, рН 7,4. Кількість білка в суспензії мітохондрій визначали за методом Лоурі в модифікації Міллера [10]. Інтенсивність продукції активних форм кисню (АФО) мітохондріями серця визначали під час їх інкубації в середовищі із субстратом окислення (сукцинат), АДФ та екзогенною супероксиддисмутазою за кількістю утвореного пероксиду водню з використанням пероксидази хрому та тетраметилбензидину [11]. Функціональний стан електрон-транспортного ланцюга мітохондрій характеризували за активністю аконітази, сукцинатдегідрогенази (СДГ) і вмістом цитохромів у суспензії ізольованих мітохондрій кардіоміоцитів [12].

Отримані дані аналізували за допомогою методів варіаційної статистики. Розподіл ознаки у виборці оцінювали за критерієм Шапіро-Уїлка. Для множинного порівняння даних із нормальним розподілом проводили параметричний однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA та застосовували метод Стюдента-Ньюмена-Кейлса. Розходження вважали статистично значущим за $p \leq 0,05$ [13]. Дані наведено у вигляді $(\bar{X} \pm S_{\bar{X}})$, де \bar{X} — середнє арифметичне, $S_{\bar{X}}$ — стандартна похибка середнього арифметичного.

Результати та їх обговорення

У результаті проведених досліджень встановлено, що базальна гіперглікемія в діабетичних щурів не залежить від наявності або відсутності ендогенних естрогенів, оскільки не відзначено вірогідної різниці в концентрації глюкози в крові натще в оваріектомованих тварин і самиць з інтактними яєчниками (табл. 1). Введення 17 β -естрадіолу також не змінювало вираженості гіперглікемії за умов ЦД на тлі дефіциту естрогенів.

Проте динаміка глікемії та показники площі під глікемічними кривими під час проведення ВЧТТГ дають підставу зробити висновок, що дефіцит естрогенів за умов ЦД2 посилює знижену чутливість периферичних тканин до інсуліну (табл. 1). Останнє підтверджується результатами короткого інсулінового тесту, згідно з якими у тварин із діабетом на тлі гіпоестрогенії коефіцієнт чутливості до інсуліну знижується відносно не лише такого контрольної групи, але

Таблиця 1. Вплив гіпоестрогенії та 17 β -естрадіолу на показники глюкозного гомеостазу в щурів із цукровим діабетом 2-го типу ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$, n=6)

Група	Базальна глікемія, ммоль/л	ППК під час ВЧТТГ, ммоль/л·хв	Коефіцієнт чутливості до інсуліну, %
Інтактний контроль	4,27 \pm 0,20	982,9 \pm 81,2	32,92 \pm 1,15
Діабет	8,10 \pm 0,25 ¹⁾	1306,3 \pm 163,8 ¹⁾	22,81 \pm 0,91 ¹⁾
Гіпоестрогенія	3,89 \pm 0,32 ²⁾	945,2 \pm 10,4 ²⁾	31,29 \pm 1,29 ²⁾
Гіпоестрогенія + діабет + плацебо	8,40 \pm 0,42 ^{1), 3)}	1680,7 \pm 45,4 ^{1), 2), 3)}	13,02 \pm 0,74 ^{1), 2), 3)}
Гіпоестрогенія + діабет + 17 β -естрадіол	7,57 \pm 0,29 ^{1), 3)}	1713,0 \pm 109,5 ^{1), 2), 3)}	16,03 \pm 1,14 ^{1), 3)}

Примітка: ППК — площа під глікемічною кривою;¹⁾ — вірогідна різниця з показником групи «Інтактний контроль»;²⁾ — вірогідна різниця з показником групи «Діабет»;³⁾ — вірогідна різниця з показником групи «Гіпоестрогенія».

й діабетичних тварин з інтактними яєчниками (табл. 1).

Також слід зазначити, що в оваріектомованих тварин без ЦД показники вуглеводного обміну статистично не відрізнялися від таких в інтактних тварин. Отримані дані співпадають із результатами інших досліджень, які свідчать, що дефіцит естрогенів безпосередньо не індукує метаболічні порушення, а лише посилює вплив негативних чинників довкілля, таких як висококалорійна дієта та низька фізична активність [14].

Сьогодні не викликає сумніву той факт, що порушення функціонального стану мітохондрій відіграє важливу роль у розвитку первинної ІР [15]. Одним із ранніх проявів мітохондріальної дисфункції, яке можна вважати тригером негативних метаболічних змін, є збільшення продукції АФО в дихальному ланцюзі. Відповідно до сучасної гіпотези оксидативного стресу, саме порушення мітохондріальних редокс-сигнальних шляхів, які регулюють баланс між накопиченням та утилізацією енергії, є основною причиною поступового підвищення ІР і прогресування діабетичних судинних ускладнень [16, 17].

У результаті проведених досліджень виявлено, що інтенсивність продукції АФО ізольованими мітохондріями серця діабетичних щурів з інтактними яєчниками на 40% перевищує аналогічний показник контрольної групи (табл. 2). Водночас поєднання діабету з гіпо-

Оригінальні дослідження

естрогенією спричиняло більш виражені порушення мітохондріальної функції, про що свідчить збільшення кількості АФО в серці експериментальних тварин. Застосування екзогенного 17 β -естрадіолу запобігало індукуючому впливу гіпоестрогенії на розвиток оксидативного стресу в мітохондріях серця (табл. 2).

Відомо, що низькі концентрації АФО, зокрема супероксиданіону, справляють регуляторний ефект на енергетичний метаболізм у мітохондріях. Одним із механізмів такого впливу є модуляція активності аконітази — ферменту циклу трикарбонових кислот [19, 20]. Проте за умов високих рівнів відновлювальних еквівалентів і низької потреби в АТФ підвищення продукції АФО в дихальному ланцюзі мітохондрій призводить до інактивації аконітази та, як наслідок — до накопичення цитрату, який може експортуватися в цитоплазму для синтезу жирних кислот. Отже, хронічна гіперпродукція АФО, індукована дисбалансом надходження та використання енергії, призводить до акумуляції жирних кислот та їх похідних, зокрема ацилгліцеролів, у нежирових тканинах. Останнє, як відомо, сприяє розвитку ІР, а також супутніх метаболічних порушень, опосередкованих ліпотоксичністю [21, 22].

Встановлено, що в мітохондріях серця оварієктомованих щурів і тварин з експериментальним ЦД2 та евестрогенією активність аконітази

було знижено на 20% порівняно з показником інтактних тварин (табл. 2). Водночас поєднання діабету та гіпоестрогенії супроводжувалось майже дворазовим зниженням активності ферменту. Оскільки аконітаза є надзвичайно чутливим сенсором рівня супероксиданіону, отримані дані узгоджуються зі стимулюючим впливом дефіциту естрогенів і діабету на продукцію АФО мітохондріями.

Введення 17 β -естрадіолу сприяло нормалізації активності аконітази в мітохондріях серця оварієктомованих щурів із ЦД (табл. 2). Даний ефект може пояснюватися як здатністю естрогенів знижувати оксидативний стрес, так і їх безпосереднім впливом на експресію ферменту [23].

Визначення активності СДГ, яка є одночасно компонентом циклу трикарбонових кислот і дихального ланцюга мітохондрій (комплекс II), встановило її зниження в мітохондріях серця тварин із ЦД2 порівняно з показником інтактного контролю незалежно від забезпеченості ендогенними естрогенами. Слід зазначити, що введення 17 β -естрадіолу не впливало на активність даного ферменту в оварієктомованих щурів із ЦД2 (табл. 2).

Показано, що окислювальна інактивація аконітази супроводжується гальмуванням циклу трикарбонових кислот і накопиченням цитрату й ацетил-КоА. Акумуляція ацетил-КоА, у свою чергу, призводить до посиленого ацетилювання білків за аміногрупами лізину. Наразі процеси ацетилювання/деацетилювання білків розглядають як систему посттранскрипційної модифікації, яка відіграє важливу роль у регуляції різних функцій клітини. Наприклад, навіть часткове ацетилювання каталітичної субодиниці СДГ призводить до 30% зниження її активності, тоді як деацетилювання за участі НАД⁺-залежної деацетилази SIRT3 супроводжується цілковитим відновленням активності ферменту [24].

Отже, можна припустити, що зниження активності СДГ у мітохондріях серця діабетичних щурів може бути пов'язано, з одного боку, з підвищеним вмістом ацетил-КоА, з іншого — зі зниженням рівня НАД⁺, який є кофактором деацетилази.

Мітохондріальна дисфункція може бути не лише тригером зниження чутливості до інсуліну, але й її наслідком. Одним із можливих шляхів такої взаємодії вважають посилене окислення простетичних груп цитохромів електрон-транс-

Таблиця 2. Вплив гіпоестрогенії та 17 β -естрадіолу на інтенсивність продукції активних форм оксигену й активність деяких ферментів енергетичного обміну в ізольованих мітохондріях серця оварієктомованих щурів із цукровим діабетом 2-го типу ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$, n=6)

Група	Інтенсивність продукції АФО, нмоль H ₂ O ₂ /хв/мг білка	Активність аконітази, нмоль/хв/мг білка	Активність СДГ, нмоль/хв/мг білка
Інтактний контроль	0,295 \pm 0,015	407,70 \pm 36,53	36,74 \pm 0,66
Діабет	0,484 \pm 0,049 ¹⁾	323,73 \pm 34,32 ¹⁾	28,85 \pm 2,39 ¹⁾
Гіпоестрогенія	0,318 \pm 0,035 ²⁾	311,67 \pm 27,75 ¹⁾	36,07 \pm 1,42 ²⁾
Гіпоестрогенія + діабет + плацебо	0,609 \pm 0,028 ^{1), 2), 3)}	215,08 \pm 23,51 ^{1), 2), 3)}	29,82 \pm 0,76 ^{1), 3)}
Гіпоестрогенія + діабет + 17 β -естрадіол	0,453 \pm 0,029 ^{1), 3), 4)}	464,08 \pm 18,61 ^{2), 3), 4)}	29,20 \pm 0,35 ^{1), 3)}

Примітка: ¹⁾ — вірогідна різниця з показником групи «Інтактний контроль»; ²⁾ — вірогідна різниця з показником групи «Діабет»; ³⁾ — вірогідна різниця з показником групи «Гіпоестрогенія»; ⁴⁾ — вірогідна різниця з показником групи «Гіпоестрогенія + діабет + плацебо».

портного ланцюга мітохондрій за умов ІР. Відомо, що естрогени також беруть активну участь у регуляції експресії компонентів дихального ланцюга, посилюючи їх синтез [25].

Дослідження вмісту цитохромів у мітохондріях серця експериментальних тварин виявило, що розвиток діабету як у самиць з інтактними яєчниками, так і в оваріектомованих тварин супроводжується зниженням рівня цитохромів комплексу III (с, с₁, b) та комплексу IV (а+а₃) електрон-транспортного ланцюга (табл. 3). Привертає увагу той факт, що дефіцит естрогенів без ЦД2 також спричиняє зниження концентрації цитохрому а+а₃ в ізольованих мітохондріях серця тварин, але не посилює гальмуючого впливу ЦД на даний показник (табл. 3).

Встановлено, що введення 17β-естрадіолу діабетичним щурам із гіпоестрогенією призводить до підвищення рівня усіх вищезазначених цитохромів електрон-транспортного ланцюга мітохондрій серця (табл. 3).

Отже, у результаті проведених досліджень показано, що дефіцит естрогенів індукує розвиток мітохондріальної дисфункції кардіоміоцитів за умов ЦД, підвищуючи продукцію АФО, знижуючи активність ферментів, залучених до окисного метаболізму, та зменшуючи вміст деяких компонентів дихального ланцюга мітохондрій. Водночас застосування екзогенного 17β-естрадіолу гальмує розвиток мітохондріальної дисфункції в серці тварин із ЦД2 на тлі гіпоестрогенії.

Таблиця 3. Вплив гіпоестрогенії та 17β-естрадіолу на концентрацію цитохромів дихального ланцюга ізольованих мітохондрій серця оваріектомованих щурів із цукровим діабетом 2-го типу ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$, n=6)

Група	Цитохром с, нмоль/мг білка	Цитохром с ₁ , нмоль/мг білка	Цитохром b, нмоль/мг білка	Цитохром аа ₃ , нмоль/мг білка
Інтактний контроль	0,69±0,03	0,34±0,06	1,43±0,16	1,47±0,16
Діабет	0,48±0,05 ¹⁾	0,23±0,04 ¹⁾	1,03±0,13 ¹⁾	1,05±0,12 ¹⁾
Гіпоестрогенія	0,64±0,06 ²⁾	0,28±0,02	1,23±0,12 ²⁾	1,16±0,15 ¹⁾
Гіпоестрогенія + діабет + плацебо	0,52±0,06 ^{1), 3)}	0,24±0,04 ¹⁾	1,04±0,12 ^{1), 3)}	0,95±0,11 ¹⁾
Гіпоестрогенія + діабет + 17β-естрадіол	0,68±0,05 ^{2), 4)}	0,33±0,02 ^{2), 4)}	1,42±0,11 ^{2), 3), 4)}	1,38±0,05 ^{2), 3), 4)}

Примітка: ¹⁾ — вірогідна різниця з показником групи «Інтактний контроль»; ²⁾ — вірогідна різниця з показником даними групи «Діабет»; ³⁾ — вірогідна різниця з показником групи «Гіпоестрогенія»; ⁴⁾ — вірогідна різниця з показником групи «Гіпоестрогенія + діабет + плацебо».

Висновки

1. Встановлено, що гіпоестрогенія посилює розвиток мітохондріальної дисфункції в кардіоміоцитах щурів із цукровим діабетом 2-го типу, збільшуючи продукцію активних форм оксигену та знижуючи активність аконітази.
2. Застосування екзогенного 17β-естрадіолу запобігає порушенню мітохондріальної функції в серці оваріектомованих щурів із цукровим діабетом 2-го типу за рахунок зниження інтенсивності оксидативного стресу та підвищення активності аконітази та вмісту компонентів комплексів III і IV електрон-транспортного ланцюга.
3. Виявлений протективний вплив екзогенного естрогену щодо розвитку мітохондріальної дисфункції кардіоміоцитів у діабетичних щурів із гіпоестрогенією свідчить про перспективність подальших досліджень у напрямку розробки статево-специфічної профілактики та терапії діабетичних серцево-судинних ускладнень у жінок після менопаузи.

Список використаної літератури

1. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas. — Brussels, Belgium: [s. n.], 2015. — 144 p.
2. Kappert K., Böhm M., Schmieder R., Schumacher H., Teo K., Yusuf S., Sleight P., Unger T., ONTARGET/TRANSCEND Investigators. Impact of sex on cardiovascular outcome in patients at high cardiovascular risk: analysis of the Telmisartan Randomized Assessment Study in ACE-Intolerant Subjects with Cardiovascular Disease (TRANSCEND) and the Ongoing Telmisartan Alone and in Combination With Ramipril Global End Point Trial (ONTARGET) // *Circulation*. — 2012. — Vol. 126, № 8. — P. 934-941.
3. Alka M., Kanaya M., Grady D., Barrett-Connor E. Explaining the sex difference in coronary heart disease mortality among patients with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis // *Arch. Intern. Med.* — 2002. — Vol. 162, № 15. — P. 1737-1745.
4. Barrett-Connor E. The Rancho Bernardo Study: 40 years studying why women have less heart disease than men and how diabetes modifies women's usual cardiac protection // *Glob. Heart*. — 2013. — Vol. 8, № 2. — P. 27.
5. Sack M.N. Type 2 diabetes, mitochondrial biology and the heart // *Mol. Cell Cardiol.* — 2009. — Vol. 46, № 6. — P. 842-849.
6. Rettberg J.R., Yaob J., Brinton R.D. Estrogen: a master regulator of bioenergetic systems in the brain and body // *Front. Neuroendocrinol.* — 2014. — Vol. 35, № 1. — P. 8-30.
7. Velarde M.C. Pleiotropic actions of estrogen: a mitochondrial matter // *Physiol. Genomics*. — 2013. — Vol. 45, № 3. — P. 106-109.
8. Горбенко Н.І., Іванова О.В., Боріков О.Ю., Таран К.В., Звягіна Т.С., Кіпріч Т.В. Пат. 96493 UA, МПК G09B23/28 (2006.01). Спосіб моделювання цукрового діабету 2 типу за умов дефіциту естрогенів // Офіційний бюлетень «Промислова власність». — 2015. — № 3. — 4 с. (Горбенко Н.І., Іванова О.В., Козар В.В., Боріков О. Ю., Таран К.В., Звягіна Т.С., Кіпріч Т.В. Пат. 96493 UA, МПК G09B23/28 (2006.01). Spisib moduluyvannya tsukrovogo diabetu 2 typu za umov defitsytu estrogeniv // Ofitsijnyj byuleten «Promyslova vlasnist». — 2015. — № 3. — 4 s.)
9. Akinmoku A., Selby P.L., Ramaiya K., Alberti K.G. The short insulin tolerance test for determination of insulin sensitivity: a comparison with the euglycaemic clamp // *Diabet. Med.* — 1992. — Vol. 9, № 4. — P. 432-437.

Оригінальні дослідження

10. Miller G.L. Protein determination for large number of samples // Anal. Chem. — 1959. — Vol. 31, № 5. — P. 964.
11. St-Pierre J., Buckingham J.A., Roebuck S.J., Brand M.D. Topology of superoxide production from different sites in the mitochondrial electron transport chain // J. Biol. Chem. — 2002. — Vol. 277, № 47. — P. 44784-44790.
12. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: метод. рекомендации. — СПб.: [б. и.], 2000. — 104 с. (Arutyunyan A.V., Dubinina Ye.Ye., Zybina N.N. Metody otsenki svobodnoradikalnogo oksleniya i antioksidantnoj sistemy organizma: metod. rekomendatsii. — Sankt-Peterburg, 2000. — 2000. — 104 s.)
13. Гланс С. Медико-биологическая статистика. — М.: Практика, 1998. — 459 с. (Glans S. Mediko-biologicheskaya statistika. — Moskva: Praktika, 1998. — 459 s.)
14. Горбенко Н.І., Оксененко С.В., Бориков О.Ю. Особливості метаболічних проявів синдрому інсулінорезистентності за умов дефіциту естрогенів у щурів // Практик. медицина. — 2008. — Т. 14, № 2. — С. 118-126. (Gorbenko N.I., Oksenenko S.V., Borikov O. Yu. Osoblyvosti metabolichnykh proyaviv syndromu insulinoresystentnosti za umov defitsytu estrogeniv u shchuriv // Prakt. medytsyna.—2008. — Т. 14, № 2. — С. 118-126.)
15. Fisher-Wellman K.H., Neuffer P.D. Linking mitochondrial bioenergetics to insulin resistance via redox biology // Trends Endocrinol. Metab. — 2012. — Vol. 23, № 3. — P. 142-153.
16. James A.M., Collins Y., Logan A., Murphy M.P. Mitochondrial oxidative stress and the metabolic syndrome // Trends Endocrinol. Metab. — 2012. — Vol. 23, № 9. — P. 429-434.
17. Sena L.A., Chandel N.S. Physiological roles of mitochondrial reactive oxygen species // Molec. Cell. — 2012. — Vol. 48, № 2. — P. 158-167.
18. Keating S.T., El-Osta A. Chromatin modifications associated with diabetes // J. Cardiovasc. Transl. Res. — 2012. — Vol. 5, № 4. — P. 399-412.
19. Gardner P.R., Nguyen D.D., White C.W. Aconitase is a sensitive and critical target of oxygen poisoning in cultured mammalian cells and in rat lungs // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. — 1994. — Vol. 91, № 25. — P. 12248-12252.
20. Martins A.R., Nachbar R.T., Gorjao R., Vinolo M.A., Festuccia W.T., Lambertucci R.H., Cury-Boaventura M.F., Silveira L.R., Curi R., Hirabara S.M. Mechanisms underlying skeletal muscle insulin resistance induced by fatty acids: importance of the mitochondrial function // Lipids Health Dis. — 2012. — 11 p.
21. Stanley W.C., Recchia F.A. Lipotoxicity and the development of heart failure: moving from mouse to man // Cell Metab. — 2010. — Vol. 12, № 6. — P. 555-556.
22. Choudhary C., Kumar C., Gnad E., Nielsen M.L., Rehman M., Walther T.C., Olsen J.V., Mann M. Lysine acetylation targets protein complexes and co-regulates major cellular functions // Science. — 2009. — Vol. 325, № 5942. — P. 834-840.
23. Nilsen J., Irwin R.W., Gallaher T.K., Brinton R.D. Estradiol in vivo regulation of brain mitochondrial proteome // J. Neurosci. — 2007. — Vol. 27, № 51. — P. 14069-14077.
24. Iyer A., Fairlie D.P., Brown L. Lysine acetylation in obesity, diabetes and metabolic disease // Immunol. Cell Biol. — 2012. — Vol. 90, № 1. — P. 39-46.
25. Cheng Z., Guo S., Copps K., Dong X., Kollipara R., Rodgers J.T., Depinho R.A., Puigserver P., White M.F. Foxo1 integrates insulin signaling with mitochondrial function in the liver // Nat. Med. — 2009. — Vol. 15. — P. 1307-1311.

(Надійшла до редакції 07.04.2017 р.)

Влияние экзогенных и эндогенных эстрогенов на функциональное состояние митохондрий сердца крыс с сахарным диабетом 2-го типа

Н.И. Горбенко, Т.В. Киприч, А.Ю. Бориков, О.В. Иванова

ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского НАМН Украины», г. Харьков

Резюме. Целью работы было исследование влияния гипострогении и экзогенного 17β-эстрадиола на функциональное

состояние митохондрий сердца самок крыс с сахарным диабетом 2-го типа (СД2). **Материалы и методы.** Проведена оценка глюкозного гомеостаза, определена интенсивность продукции активных форм кислорода, активность аконитазы, сукцинатдегидрогеназы и концентрация цитохромов дыхательной цепи в митохондриях сердца. **Результаты.** Установлено, что гипострогения усиливает развитие митохондриальной дисфункции в кардиомиоцитах крыс с СД2, повышая продукцию активных форм кислорода и снижая активность аконитазы. В то же время, пероральное введение 17β-эстрадиола предупреждает нарушение митохондриальной функции в сердце овариэктомизированных крыс с СД2 за счет снижения интенсивности оксидативного стресса, повышения активности аконитазы и содержания компонентов комплексов III и IV электрон-транспортной цепи. **Выводы.** Протективный эффект экзогенного эстрогена в отношении митохондриальной функции кардиомиоцитов диабетических крыс с гипострогенией свидетельствует о перспективности дальнейших исследований в направлении разработки специфической по полу профилактики и терапии диабетических сердечно-сосудистых осложнений у женщин после менопаузы.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа, митохондриальная дисфункция, эстрогены.

Effect of endogenous and exogenous estrogens on functional state of heart mitochondria in rats with type 2 diabetes

N.I. Gorbenko, T.V. Kiprich, A.Yu. Borikov, O.V. Ivanova

SI «V.Ya. Danilevsky Institute of Endocrine Pathology Problems of the NAMS of Ukraine», Kharkiv

Abstract. The **purpose** was to investigate an effect of hypoestrogenia and exogenous 17β-estradiol on mitochondrial heart function in female rats with type 2 diabetes. **Materials and methods.** Glucose homeostasis, intensity of reactive oxygen species production, aconitase and succinate dehydrogenase activities, and concentration of cytochrome respiratory chain in the heart mitochondria were assessed. **Results.** It was established that estrogen deficiency enhances the development of mitochondrial dysfunction in cardiomyocytes of type 2 diabetic rats, increasing the reactive oxygen species production, and decreasing the aconitase activity. At the same time oral administration of 17β-estradiol prevents mitochondrial dysfunction in heart of ovariectomized diabetic rats, by reducing intensity of oxidative stress and increasing aconitase activity and component content of III and IV complexes in electron transport chain. **Conclusions.** The observed protective effect of exogenous 17β-estradiol on mitochondrial dysfunction of cardiomyocytes in diabetic rats with hypoestrogenia indicates a promising future researches towards the development of gender-specific prevention and treatment of diabetic cardiovascular complications in women after menopause.

Keywords: type 2 diabetes, mitochondrial dysfunction, estrogens.