

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА
«ІНСТИТУТ ЕНДОКРИНОЛОГІЇ ТА ОБМІНУ РЕЧОВИН
ІМ. В. П. КОМІСАРЕНКА НАМН УКРАЇНИ»**

Кіприч Тетяна Валеріївна

УДК 616.43/45:616-008:615.015+612.018.2

**ОСОБЛИВОСТІ БІОХІМІЧНИХ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ПОРУШЕНЬ
В СЕРЦЕВО-СУДИННІЙ СИСТЕМІ ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ
2 ТИПУ НА ТЛІ ГІПОЕСТРОГЕНІЇ
(експериментальне дослідження)**

14.01.14 – ендокринологія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ – 2018

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Державній установі «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України».

Науковий керівник:

доктор біологічних наук, професор **Горбенко Наталія Іванівна**, Державна установа «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», завідувачка відділу експериментальної фармакології та токсикології.

Офіційні опоненти:

доктор біологічних наук, професор **Кучмеровська Тамара Муратівна**, Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, провідний науковий співробітник відділу біохімії вітамінів і коензимів;

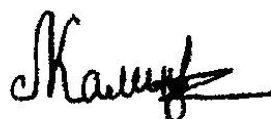
доктор біологічних наук, старший науковий співробітник **Пушкарьов Володимир Михайлович**, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України», головний науковий співробітник відділу фундаментальних та прикладних проблем ендокринології.

Захист відбудеться «___» _____ 2018 р. о ___ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.558.01 з ендокринології у Державній установі «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України» (04114, м. Київ-114, вул. Вишгородська, 69).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Державної установи «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України» (04114, м. Київ-114, вул. Вишгородська, 69).

Автореферат розісланий «___» _____ 2018 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
доктор біологічних наук



Калинська Л. М.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Цукровий діабет (ЦД) 2 типу є глобальною медико-соціальною проблемою 21 сторіччя, яка обумовлена пандемічним характером розповсюдженості захворювання та високим ризиком інвалідизації та смертності. При цьому близько 60 % хворих на ЦД 2 типу помирають від серцево-судинних ускладнень [Schnell O. et al., 2016].

Відомо, що ризик розвитку кардіоваскулярних захворювань у жінок репродуктивного віку значно нижчий у порівнянні з чоловіками, що обумовлено вазопротекторним ефектом естрогенів, тоді як втрата ендогенних естрогенів під час менопаузи у жінок асоціюється із негативним впливом на серцево-судинну систему та нівелює гендерні відмінності в частоті виникнення кардіоваскулярної патології [Recarti C. et al., 2015]. В той же час, ЦД посилює атерогенну дію інших факторів та знижує протективні ефекти естрогенів, що призводить до збільшення серцево-судинних катастроф у жінок порівняно з чоловіками. Так, смертність внаслідок ішемічної хвороби серця у жінок із діабетом підвищується у 2,2–3,8 рази, тоді як у чоловіків відзначають збільшення в 1,9–2,8 рази у порівнянні з особами без діабету [Kanaya A. M. et al., 2002].

Патогенез діабетичних серцево-судинних ускладнень – багатofакторний і є результатом взаємодії таких чинників, як інсулінорезистентність (ІР) та гіперінсулінемія, гіперглікемія і оксидативний стрес, гіпер- і дисліпідемія, що більше і частіше характерні для ЦД 2 типу, системне запалення, ендотеліальна дисфункція, артеріальна гіпертензія та гемореологічні порушення (підвищена агрегація тромбоцитів, активація коагуляційних процесів, пригнічення фібринолізу) [Paneni F. et al., 2013; Kayama Y. et al., 2015].

Встановлено, що основні метаболічні порушення, які спостерігають за умов ЦД 2 типу, індукують каскад молекулярних подій, що змінюють структуру та функцію судинної стінки. Ці зміни включають зниження біодоступності оксиду нітрогену (NO), підвищення оксидативного стресу, розвиток прозапального стану та активацію рецепторів до кінцевих продуктів посиленого глікування [Yamagishi S. I. et al., 2012].

Одним із проявів вазопротекторного ефекту естрогенів є індукуючий вплив на активність ендотеліальної NO-синтази (eNOS). В той же час, процес старіння спричиняє «роз'єднання» активності eNOS, що супроводжується зростанням продукції активних форм кисню (АФО) замість вазодилататорної молекули NO [Scioli M. G. et al., 2014]. У жінок похилого віку зі зниженою біодоступністю NO та оксидативним стресом стимулювання eNOS естрогенами може призводити до посилення окисно-відновлювального дисбалансу та прогресування серцево-судинної патології. Припускають, що діабетичний стан, подібно до процесу старіння, здатний трансформувати вазопротекторний ефект естрогенів на негативний вплив щодо серцево-судинної системи, обумовлений естроген-стимульованою індукцією оксидативного стресу [White R. E. et al., 2010].

На сьогодні мітохондріальну дисфункцію розглядають як один із провідних патогенетичних механізмів ЦД 2 типу, макросудинних ускладнень та

діабетичної кардіоміопатії. Відповідно до «мітохондріальної гіпотези старіння», в основі вікових та кардіоваскулярних порушень лежить зниження продукції енергії мітохондріями, посилення оксидативного стресу і прискорений апоптоз клітин [Sack M. N., 2009]. Наявність рецепторів до естрогенів у мітохондріях кардіоміоцитів та клітин ендотелію відіграє важливу роль у регулюванні цими гормонами мітохондріальної функції та продукції вільних радикалів. Дослідження останнього десятиріччя довели, що мітохондріальна функція може бути мішенню для регуляторного ефекту естрогенів у багатьох типах клітин та тканин, який реалізується за рахунок кооперативної дії рецепторів естрогенів та їх ко-активаторів як у ядерному, так і в мітохондріальному геномі [Rettberg J. R., 2014]. Взаємодіючи з рецепторами в мітохондріях, естрогени підвищують продукцію АТФ та знижують оксидативний стрес і апоптоз у кардіоміоцитах та ендотеліальних клітинах, що може сприяти профілактиці серцево-судинних захворювань та збільшенню тривалості життя жінок [Velarde M. C., 2013].

Оскільки за даними клінічних досліджень позитивний вплив традиційної замісної гормональної терапії (ЗГТ) на основні чинники кардіоваскулярного ризику у діабетичних жінок нівелюється або навіть змінюється на протилежний [Furberg C. D. et al., 2002; Manson J. E. et al., 2003], альтернативним способом запобігання розвитку діабетичних макроангіопатій, окрім ретельного глікемічного контролю, може бути застосування гендерно-специфічних кардіопротекторних засобів. До останніх можуть належати селективні модулятори естрогенових рецепторів, які б позитивно впливали на мітохондріальну функцію в серці та судинах, але не проявляли негативних побічних ефектів, притаманних ЗГТ.

У зв'язку з цим, дослідження механізмів вазо- та кардіопротекторної дії ендогенних та екзогенних естрогенів за наявності глюкометаболічних порушень є необхідним для розширення уявлень про патогенез та обґрунтування нових напрямків профілактики та лікування серцево-судинних ускладнень у жінок, хворих на ЦД 2 типу.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота була виконана згідно з планом науково-дослідних робіт ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» і є фрагментом науково-дослідної роботи лабораторії біохімічних досліджень відділу експериментальної фармакології та токсикології АМН 03.13 «Визначення механізмів розвитку діабетичних серцево-судинних ускладнень при гіпоестрогенії та можливості корекції порушень за допомогою сполук із селективною естрогеноподібною активністю (експериментальне дослідження)» (№ держреєстрації 0113U001284, 2013–2015 рр.).

Мета і завдання дослідження. Мета – визначити вплив ендогенних та екзогенних естрогенів на біохімічні та функціональні порушення в серцево-судинній системі щурів за умов ЦД 2 типу.

Для досягнення поставленої мети були сформульовані наступні завдання:

1. Визначити особливості метаболічних порушень (гіперглікемія, дисліпідемія, накопичення інтрацелюлярних нейтральних ліпідів, окисно-

відновлювальний дисбаланс) у самиць щурів із ЦД 2 типу за умов різної забезпеченості естрогенами.

2. Оцінити роль дефіциту естрогенів, ЦД 2 типу та їх сполучення у розвитку порушень окисно-відновлювального гомеостазу та функціонального стану мітохондрій серця експериментальних щурів.

3. Дослідити біохімічні маркери ендотеліальної дисфункції в інтактних та оваріектомованих щурів із ЦД 2 типу.

4. Оцінити прозапальний стан у самиць щурів із нормо- та гіпоестрогенією за умов ЦД 2 типу.

5. Визначити вплив ЦД 2 типу, гіпоестрогенії та їх поєднання на систему коагуляційного гемостазу у самиць щурів.

6. Охарактеризувати функціональний стан серцево-судинної системи у щурів із нормо- та гіпоестрогенією за умов ЦД 2 типу.

7. Дослідити вплив 17β -естрадіолу та його похідного із селективною естрогеноподібною активністю – сполуки ПЕ0607 – на розвиток біохімічних та функціональних порушень у серцево-судинній системі самиць щурів із ЦД 2 типу на тлі нормо- та гіпоестрогенії.

Об'єкт дослідження – біохімічні та функціональні показники серцево-судинної системи на тлі нормо- та гіпоестрогенії за умов ЦД 2 типу.

Предмет дослідження – вуглеводний та ліпідний обмін, функціональний стан і окисно-відновлювальний гомеостаз мітохондрій серця, активність NO-синтази та гемоксигенази в судинах, маркери запалення, показники системи коагуляційного гемостазу та електрокардіографічні показники оваріектомованих та інтактних щурів із ЦД 2 типу.

Методи дослідження: фармакологічні, біохімічні, біофізичні, електрофізіологічні, імунологічні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. У дисертаційній роботі розширено уявлення щодо ролі естрогенів у розвитку біохімічних та функціональних порушень серцево-судинної системи за умов ЦД 2 типу.

Встановлено, що дефіцит естрогенів у щурів посилює негативний вплив висококалорійної дієти на прогресування ІР, але не впливає на зниження функції β -клітин підшлункової залози, індуковане введенням стрептозотоцину.

Виявлено, що гіпоестрогенія на тлі ЦД 2 типу посилює інтенсивність оксидативного стресу в мітохондріях серця, сприяє розвитку прозапального стану та поглиблює функціональні порушення в серцево-судинній системі щурів, проте не змінює активність eNOS та гемоксигенази в судинах тварин.

Встановлено, що ЦД 2 типу нівелює протективний ефект екзогенних естрогенів щодо порушень глюкозного гомеостазу, вісцерального ожиріння та оксидативного стресу в ендотелії судин тварин із гіпоестрогенією.

Вперше визначено вплив оригінального похідного 17β -естрадіолу – сполуки ПЕ0607 – на метаболічні та функціональні порушення кардіоваскулярної системи за умов ЦД 2 типу на тлі дефіциту естрогенів. Показано, що пероральне введення діабетичним щурам із дефіцитом естрогенів селективного модулятора естрогенових рецепторів ПЕ0607 у дозі 0,2 мг/кг упродовж чотирьох тижнів подібно до препарату порівняння 17β -естрадіолу

знижує гіпертригліцеридемію і рівень загальних ліпідів у печінці, гальмує порушення окисно-відновлювального гомеостазу в сироватці крові, значною мірою попереджає розвиток мітохондріальної дисфункції у кардіоміоцитах, підвищує знижену активність eNOS у судинах, ослаблює інтенсивність запального процесу та сприяє відновленню нормального серцевого ритму, внутрішньошлуночкової провідності та процесів реполяризації шлуночків серця, проте, на відміну від 17 β -естрадіолу, не впливає на масу матки експериментальних тварин.

Обґрунтованість і достовірність наукових положень, висновків та рекомендацій. Положення та висновки ґрунтуються на достатній кількості спостережень (роботу виконано на 60 щурах) із використанням сучасних методів досліджень. Статистичний аналіз даних проведено за допомогою параметричних і непараметричних методів. Результати дослідження проаналізовано й обговорено з урахуванням даних літератури. Положення та висновки дисертації базуються на результатах проведеного дослідження.

Наукове значення роботи. Результати дослідження розширюють уявлення про патогенез діабетичних кардіоваскулярних ускладнень щодо змін функціонального стану мітохондрій кардіоміоцитів та біохімічних порушень в судинах у залежності від рівня забезпеченості ендogenousними естрогенами. Отримані дані обґрунтовують перспективність подальшого дослідження сполук із селективною естрогеноподібною активністю як потенційних засобів профілактики та лікування діабетичної кардіоваскулярної патології у жінок після менопаузи.

Практичне значення. Встановлені особливості біохімічних та функціональних порушень в серцево-судинній системі за умов ЦД 2 типу на тлі гіпоестрогенії сприятимуть розвитку нових шляхів оптимізації гендерно-специфічної профілактики та лікування діабетичної кардіоваскулярної патології у жінок після менопаузи.

Виявлені протективні властивості селективного модулятора естрогенових рецепторів – сполуки ПЕ0607 – щодо ліпідного обміну, мітохондріальної функції кардіоміоцитів та функціонального стану серцево-судинної системи в оваріектомованих щурів із ЦД 2 типу обґрунтовують необхідність подальшого вивчення ПЕ0607 як потенційного засобу профілактики та корекції діабетичних серцево-судинних ускладнень на тлі дефіциту естрогенів.

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно здійснено патентно-інформаційний пошук, узагальнення даних літератури за проблемою, відтворення експериментальної моделі ЦД 2 типу, проведення біохімічних, біофізичних та фармакологічних досліджень, статистичний аналіз та обговорення отриманих даних, сформульовано основні положення та висновки роботи, підготовлено наукові праці до друку.

Дизайн дисертаційного дослідження розроблено під керівництвом д-ра біол. наук, проф. Горбенко Н. І. Електрокардіографічні дослідження проведені спільно з канд. біол. наук, старш. наук. співр. Івановою О. В., визначення показників прозапального стану та коагуляційного гемостазу – з канд. мед. наук, старш. наук. співр. Козар В. В.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на науково-практичних конференціях «Досягнення та перспективи експериментальної та клінічної ендокринології» (Данилевські читання, Харків, 2014–2017), «Ендокринна патологія у віковому аспекті» (Харків, 2015), на VIII щорічному міжнародному з'їзді Групи з Вивчення Діабету та Кардіоваскулярних Захворювань Європейської Асоціації з Дослідження Діабету «Метаболізм діабету та серце» («Diabetes metabolism and the heart» – 8th Annual meeting of the diabetes & cardiovascular disease EASD Study Group, Мюнхен, Німеччина, 2015).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 15 наукових праць, серед яких 6 статей у наукових фахових виданнях, що затверджені Міністерством освіти і науки України та включені до міжнародних наукометричних баз, 1 патент України на корисну модель, 8 тез доповідей на науково-практичних конференціях.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 160 сторінках друкованого тексту і включає анотацію українською і англійською мовами, вступ, огляд літератури, матеріали та методи дослідження, п'ять розділів власних експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів, висновки і перелік використаних джерел, що містить 292 посилання та займає 37 сторінок. Робота проілюстрована 18 таблицями та чотирма рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. На проведення експерименту було отримано дозвіл Комісії з питань біоетики ДУ «ІПЕП ім. В. Я. Данилевського НАМН України». Дослідження проводили згідно з національними Загальними етичними принципами експериментів на тваринах (Київ, 2001), вимогами GLP (належна лабораторна практика), Директивою Ради ЄС № 86/609/ЄЕС від 24 листопада 1986 року про наближення законів, підзаконних та адміністративних положень держав-членів ЄС про захист тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових цілей та наказу Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України № 249 від 01.03.2012 р. «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах».

В роботі було використано 60 статевозрілих самиць щурів популяції Wistar масою 150–180 г із розплідника віварію ДУ „ІПЕП ім. В. Я. Данилевського НАМН України”. Щурів утримували в стандартних умовах за природного освітлення та харчового режиму, рекомендованого для даного виду тварин [Западнюк І. П. і др., 1962]. Оварієктомію тварин, процедури, що викликають біль, та знеживлення проводили під ефірним наркозом.

17 β -естрадіол та його похідне – сполука ПЕ0607 – були синтезовані й аналітично атестовані у відділі медичної хімії ДУ «ІПЕП ім. В. Я. Данилевського НАМН України» (лабораторія синтезу гормоно-подібних сполук та лабораторія аналітичних і фізико-хімічних досліджень).

Загальна схема експерименту

Гіпоестрогенію відтворювали шляхом двобічної оварієктомії у тримісячних щурів під ефірним наркозом [Киршенблат Я. Д., 1969]. Через два тижні після хірургічного втручання в оварієктомованих щурів і щурів із інтактними яєчниками моделювали ЦД 2 типу в два етапи [Горбенко Н. І. та ін., 2014]. ІР викликали протягом десяти тижнів за допомогою висококалорійної дієти (ВКД), яка складалася з 15 % жиру, 25 % сахарози, 1 % жовчних кислот та 59 % стандартного раціону. Контрольні інтактні та контрольні оварієктомовані 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 (Sigma-Aldrich, США) на цитратному буфері (0,1 М лимонна кислота, 0,1 М цитрат натрію, рН 4,5) в дозі 25 мг/кг маси тіла один раз на тиждень протягом двох тижнів; контрольні тварини за аналогічною схемою внутрішньочеревно отримували цитратний буфер [Горбенко Н. І. та ін., 2015]. Через сім діб після останньої ін'єкції стрептозотоцину у тварин вимірювали базальну глікемію та розподіляли на групи. 17 β -естрадіол та сполуку ПЕ0607 суспендували в 1,6 % розчині диметилсульфоксиду. Суспензії досліджуваних речовин вводили перорально за допомогою зонду в дозі 0,2 мг речовини на кг маси тіла [Mukhina T. V. et al., 2003] один раз на добу протягом чотирьох тижнів.

Оцінку *глюкозного гомеостазу* проводили за рівнем базальної глікемії, *внутрішньочеревного тесту толерантності до глюкози (ВЧТТГ)* (3 г глюкози на кг маси тіла) [Стефанов О. В., 2001] та концентрацією *фруктозаміну* в сироватці крові [Baker J. et al., 1991]. Чутливість периферичних тканин до інсуліну визначали за допомогою "*короткого інсулінового тесту*" (0,5 Од інсуліну на кг маси тіла) [Akinmokun A. et al., 1992]. Концентрацію *глюкози в цільній крові* вимірювали глюкозооксидазним методом із використанням автоматичного аналізатора глюкози Ексан-Г (Литва). Площі під *глікемічними кривими (ППК)*, отриманими під час проведення ВЧТТГ, розраховували за допомогою комп'ютерної програми "Mathlab". Глюкозний гомеостаз у *печінці* оцінювали за вмістом *глікогену* в гомогенаті органу [Прохорова М. И. и др., 1965].

Серед інтегральних показників визначали *приріст маси тіла, відносну масу серця та матки. Масу вісцерального жиру* розраховували як суму епігонадального, ретроперитонеального та мезентерального жиру.

Для оцінки *ліпідного профілю* щурів концентрацію *загальних ліпідів в сироватці крові* визначали за допомогою набору реактивів ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика» (Україна), концентрацію *загального холестерину та тригліцеридів (ТГ)* – ензиматичними методами наборами реактивів фірми PZ CORMAY S. A. (Польща), рівень *неестерифікованих жирних кислот (НЕЖК)* – спектрофотометрично за Duncombe W. G. [Duncombe W. G., 1963]. Для оцінки накопичення ТГ в *печінці* вимірювали концентрацію *загальних ліпідів в екстракті*, отриманому з тканини органу [Folch J. et al., 1957; Колб В. Г. и др., 1976].

Окисно-відновлювальний гомеостаз у сироватці крові тварин характеризували за рівнем дієнових кон'югатів (ДК) [Волчегорский И. А. и др., 1989] та загальної антиоксидантної активності (ЗАА) [Арутюнян А. В. и др., 2000].

Мітохондрії серця щурів отримували методом диференційного центрифугування за 10000 g у середовищі, яке містило 250 мМ цукрозу, 10 мМ етилендіамінтетраацетат, 0,5 % бичачий сироватковий альбумін, 10 мМ Трис-НСІ, рН 7,4 [Чанс Б., 1962]. Концентрацію білка в суспензії ізольованих мітохондрій визначали за методом Лоурі в модифікації Міллера [Lowry O. et al., 1951; Miller G. L., 1959]. Інтенсивність продукції активних форм кисню (АФО) ізольованими мітохондріями серця оцінювали під час їх інкубації у середовищі з субстратом окислення (сукцинат), АДФ та екзогенною супероксиддис-мутазою (СОД) за кількістю утвореного пероксиду гідрогену [Staniek K. et al., 1999]. Систему антиоксидантного захисту мітохондрій серця характеризували за активністю Mn-залежної СОД [L'Abbé M. R. et al., 1990], глутатіон-пероксидази (ГПО) та глутатіонредуктази (ГР) [Арутюнян А. В. и др., 2000] спектрофотометричними методами. Для оцінки функціонального стану мітохондрій серця визначали активність аконітази [Talbot D. A. et al., 2005], сукцинатдегідрогенази (СДГ) [Кривченкова Р. С., 1977] та вміст цитохромів дихального ланцюга [Лемешко В. В., 1987].

Систему вазодилатації тварин характеризували за показниками активності гемоксигенази [Nowell S. et al., 1998] та ендотеліальної синтази оксиду нітрогену (eNOS) [Berger V. et al., 2001] в гомогенаті судин.

Прозапальний стан оцінювали за концентрацією ФНП- α та С-реактивного білка (СРБ) в сироватці крові. Рівень СРБ визначали напівкількісним методом латексної аглютинації за кінцевим титром сироватки крові [Козар В. В. та ін., 2009]. Концентрацію ФНП- α вимірювали імуноферментним методом за допомогою набору реагентів фірми ЗАО «Вектор-Бест» (Росія), оскільки гомологія амінокислотної послідовності молекули ФНП- α людини та щурів становить 78,3 % [Rees G. S. et al., 1999].

Для дослідження системи коагуляційного гемостазу щурів вміст фібриногену в плазмі крові, протромбіновий час (ПТ) й активований частковий тромбoplastиновий час (АЧТЧ) визначали наборами реактивів фірми ООО фирма «Технология-Стандарт» (Росія), рівень Д-димеру – напівкількісним методом латексної аглютинації за кінцевим титром плазми крові [Singer J. M. et al., 1956; Горбенко Н. І. та ін., 2011].

Для вивчення функціонального стану серцево-судинної системи тварин використовували метод електрокардіографії [Фогельсон Л. И., 1957].

Статистичний аналіз отриманих даних проводили методами варіаційної статистики. Розподіл ознаки у виборці визначали за допомогою критерію Шапіро-Уїлка. Для множинного порівняння даних з нормальним розподілом проводили параметричний однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA та застосовували критерій Ст'юдента-Н'юмена-Кейлса; дані представляли у вигляді ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$), де \bar{X} – середнє арифметичне значення, $S_{\bar{X}}$ – стандартна похибка середнього арифметичного значення. У разі розподілу, який відрізнявся від

нормального, використовували непараметричний дисперсійний аналіз із критерієм Краскела-Уолліса, порівняння вибірок проводили за допомогою критерію Данна; дані представляли у вигляді середнього арифметичного (\bar{X}) та мінімальних (*min*) і максимальних (*max*) дат. Розходження вважали статистично значущим, якщо ($p \leq 0,05$) [Гланс С., 1998].

Результати досліджень та їх обговорення. В результаті дослідження впливу ендогенних і екзогенних естрогенів на показники вуглеводного обміну було встановлено, що гіпоестрогенія не змінює рівень базальної гіперглікемії у тварин із діабетом (табл. 1). Останнє підтверджувалось відсутністю значущих відмінностей у рівнях фруктозаміну, який є необхідною складовою ретроспективної оцінки концентрації глюкози в крові, між оваріектомованими діабетичними щурами та інтактними самицями з діабетом. Введення 17β -естрадіолу, як і сполуки ПЕ0607, не впливало на виразність гіперглікемії за умов ЦД 2 типу на тлі дефіциту естрогенів (див. табл. 1).

Таблиця 1

Вплив гіпоестрогенії та екзогенних естрогенів на показники глюкозного гомеостазу у щурів із цукровим діабетом 2 типу, ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Група	n	Базальна глікемія, ммоль/л	ППК під час ВЧТТГ, ммоль/л*хв	Коефіцієнт чутливості до інсуліну, %	Концентрація фруктозаміну, ммоль/л
Інтактний контроль	6	4,27±0,20	982,90±81,15	32,92±1,15	1,55±0,06
Діабет	6	8,10±0,25 ^a	1306,31±163,77 ^a	22,81±0,91 ^a	2,49±0,16 ^a
Гіпоестрогенія	6	3,89±0,33 ^b	945,18±10,35 ^b	31,29±1,29 ^b	1,37±0,09 ^b
Гіпоестрогенія + діабет + плацебо	6	8,40±0,42 ^{a,c}	1680,68±45,43 ^{a,b,c}	13,02±0,74 ^{a,b,c}	2,69±0,39 ^{a,c}
Гіпоестрогенія + діабет + 17β -естрадіол	6	7,57±0,29 ^{a,c}	1712,99±109,49 ^{a,b,c}	16,03±1,14 ^{a,c}	2,23±0,23 ^{a,c}
Гіпоестрогенія + діабет + ПЕ0607	6	7,66±0,56 ^{a,c}	1631,37±90,73 ^{a,b,c}	17,86±1,42 ^{a,c}	2,39±0,19 ^{a,c}

Примітки:

- 1) a – статистично значущі відмінності у порівнянні з даними групи «Інтактний контроль» ($p \leq 0,05$);
- 2) b – статистично значущі відмінності у порівнянні з даними групи «Діабет» ($p \leq 0,05$);
- 3) c – статистично значущі відмінності у порівнянні з даними групи «Гіпоестрогенія» ($p \leq 0,05$).

В той же час, аналіз даних ВЧТТГ показав, що гіпоестрогенія за умов ЦД 2 типу посилює знижену чутливість периферичних тканин до дії інсуліну. На користь цього також свідчили результати інсулінового тесту, згідно з якими у тварин із діабетом на тлі дефіциту естрогенів коефіцієнт чутливості до

інсуліну знижувався не тільки у порівнянні з контрольною групою, але й відносно діабетичних тварин із інтактними яєчниками (див. табл. 1).

Введення екзогенного 17β -естрадіолу або сполуки ПЕ0607 щурам після розвитку діабету не змінювало виразність ІР (див. табл. 1). Останнє може бути пов'язане зі специфічними епігенетичними змінами, викликаними довготривалою некомпенсованою гіперглікемією, що отримали назву феномену «метаболическої пам'яті» [Robert R. V. et al., 2012; Reddy M. A. et al., 2015].

За умов обраної експериментальної моделі ЦД 2 типу було встановлено збільшення приросту маси тіла самиць щурів майже вдвічі (від $(46,62 \pm 1,41)$ до $(81,50 \pm 5,84)$ %, $p < 0,05$) за рахунок маси вісцерального жиру, яке не залежало від рівня ендogenous естрогенів. Як і у випадку з показниками вуглеводного обміну, гіпоестрогенія безпосередньо не впливала на приріст маси тіла та вісцеральне ожиріння у експериментальних тварин.

Застосування 17β -естрадіолу та сполуки ПЕ0607 не мало значущого ефекту на приріст маси тіла та масу вісцерального жиру дослідних тварин із діабетом. Оскільки вміст жирів у раціоні щурів, які отримували ВКД, становив 40 % від загальної кількості калорій, ймовірно, що регулюючого впливу екзогенних естрогенів виявилось недостатньо для запобігання накопичення тригліцеридів у жировій тканині за даних умов.

Підтвердженням відтворення естрогенодефіцитного стану в експериментальних тварин було кількаразове зниження відносної маси матки після двобічної оваріектомії ($(0,027 \pm 0,003)$ проти $(0,254 \pm 0,035)$ %, $p < 0,05$). Введення 17β -естрадіолу оваріектомованим щурам призводило до часткового відновлення маси органу ($(0,097 \pm 0,011)$ %, $p < 0,05$), в той час як застосування ПЕ0607 не впливало на масу матки, що може свідчити про відсутність у вказаній сполуки стимулюючого ефекту на проліферативні процеси в ендометрії.

При оцінці деяких показників ліпідного обміну в групах діабетичних тварин було встановлено, що підвищення рівня загальних ліпідів у сироватці крові (від $(1,97 \pm 0,08)$ до $(3,53 \pm 0,62)$ г/л, $p < 0,05$) обумовлене, насамперед, підвищенням концентрації ТГ (від $(0,68 \pm 0,04)$ до $(1,67 \pm 0,36)$ ммоль/л, $p < 0,05$), тоді як рівень НЕЖК та загального холестерину не відрізнявся у жодній з експериментальних груп. Розвиток та виразність дисліпідемії, як і вісцерального ожиріння, за умов ЦД 2 типу не залежали від рівня ендogenous естрогенів. Разом із тим, у щурів, яким вводили 17β -естрадіол або сполуку ПЕ0607, спостерігали зниження концентрації ТГ (відповідно до $(0,87 \pm 0,12)$ та $(0,72 \pm 0,07)$ ммоль/л, $p < 0,05$) та загальних ліпідів (відповідно до $(2,06 \pm 0,18)$ та $(2,07 \pm 0,11)$ г/л, $p < 0,05$) у сироватці крові відносно діабетичних тварин, які не отримували препаратів.

Відомо, що ІР, індукована ВКД, супроводжується акумуляцією жиру в печінці [Birkenfeld A. L., Shulman G. I., 2014]. В результаті проведеного дослідження у діабетичних щурів було встановлено підвищення рівня загальних ліпідів у тканині печінки ($(27,38 \pm 3,04)$ мг/г тканини) незалежно від наявності або відсутності ендogenous естрогенів у порівнянні з інтактними ($(15,94 \pm 0,83)$ мг/г тканини, $p < 0,05$) та оваріектомованими

тваринами без діабету ($(14,80 \pm 0,90)$ мг/г тканини, $p < 0,05$). Також у тварин із ЦД 2 типу відзначалося достовірне зниження вмісту глікогену ($(18,42 \pm 0,81)$ проти $(38,57 \pm 1,20)$ мг/г тканини, $p < 0,05$), яке, скоріше за все, є наслідком зниження глікогенезу, або посилення глікогенолізу на тлі ІР за умов ВКД.

Застосування 17β -естрадіолу, як і його синтетичного похідного ПЕ0607, призводило до зниження концентрації загальних ліпідів у печінці діабетичних самиць щурів ($(15,75 \pm 0,94)$ та $(17,97 \pm 0,78)$ мг/г тканини відповідно, $p < 0,05$). Разом із тим, введення препаратів на тлі зниженого рівня глікогену в печінці дослідних тварин не змінювало його вміст.

Відсутність впливу ендогенних естрогенів на концентрацію ТГ в сироватці крові та загальних ліпідів у печінці експериментальних тварин із інтактними яєчниками може бути пов'язана з порушенням синтезу та/або біодоступності естрогенів за умов ЦД 2 типу [Wellons M. F. et al., 2017; Kavanagh K. et al., 2013]. За даних умов використання екзогенних естрогенів може сприяти відновленню гормональної регуляції ліпідного метаболізму.

Відомо, що оксидативний стрес відіграє провідну роль у патогенезі діабетичних кардіоваскулярних ускладнень. Гіперпродукція АФО, яка асоційована з гіперглікемією та окисним дисбалансом, індукує розвиток хронічного запалення та фіброзу цілої низки тканин, зокрема, судин, що спричиняє розвиток діабетичних ускладнень. Антиоксидантні властивості естрогенів обумовлені їх здатністю виступати скевенджерями вільних радикалів завдяки фенольній гідроксильній групі у складі структури молекули, а також модулювати НАДФН-оксидазну активність через пригнічення експресії субодиниць Nox1, Nox2 і Nox4 (знижуючи таким чином продукцію $O_2^{\cdot-}$) та стимулювати генну експресію Mn-SOD через MAPK-сигнальний шлях [Mancini A. et al., 2013; Wong P. S. et al., 2015; Kander M. C. et al., 2017].

В результаті проведеного дослідження було встановлено порушення окисно-відновлювального гомеостазу в сироватці крові діабетичних щурів із інтактними яєчниками, про що свідчило підвищення концентрації ДК ($(2,52 \pm 0,16)$ мкмоль/л) та зниження ЗАА ($(13,03 \pm 1,40)$ у. о./мл) у сироватці крові порівняно з показниками групи інтактного контролю ($(1,79 \pm 0,16)$ мкмоль/л та $(19,11 \pm 1,50)$ у. о./мл відповідно, $p < 0,05$). Дефіцит естрогенів посилював розвиток оксидативного стресу, оскільки спостерігалось збільшення рівня ДК ($(3,84 \pm 0,25)$ мкмоль/л, $p < 0,05$) та зниження ЗАА ($(7,57 \pm 0,94)$ у. о./мл, $p < 0,05$) у сироватці крові відносно не лише інтактних тварин, але й діабетичних щурів із еуестрогенією.

Введення оваріектомованим щурам 17β -естрадіолу, як і сполуки ПЕ0607, призводило до вірогідного зниження концентрації ДК ($(2,45 \pm 0,33)$ та $(2,18 \pm 0,27)$ мкмоль/л відповідно, $p < 0,05$) та збільшення ЗАА ($(15,34 \pm 0,98)$ та $(16,71 \pm 1,23)$ у. о./мл відповідно, $p < 0,05$) у сироватці крові, що підтверджує антиоксидантні властивості естрогенів.

На сьогодні терміном «діабетична кардіоміопатія» називають шлуночкову дисфункцію серця хворих на ЦД, яка розвивається незалежно від наявності або відсутності ішемічної хвороби серця та артеріальної гіпертензії [Vando Y. K. et al., 2014]. Клінічні та численні експериментальні

дослідження довели наявність у діабетичному серці мітохондріальної дисфункції [Duncan J. G., 2011; Ikun O. et al., 2013]. Повідомляється, що естрогени відіграють регуляторну роль в мітохондріях, модулюючи продукцію АТФ, генерацію мембранного потенціалу, мітохондріальний біогенез та обмін йонів кальцію. Вказані ефекти реалізуються через класичний геномний шлях або негеномні механізми [Klinge C. M., 2008; Ronda A. C. et al., 2013].

Дослідження ізольованих мітохондрій серця за умов експериментального ЦД 2 типу показало, що інтенсивність продукції АФО в кардіоміоцитах діабетичних щурів із інтактними яєчниками на 40 % перевищує аналогічний показник для контрольної групи (табл. 2). Поєднання діабету з гіпоестрогенією супроводжувалось посиленням оксидативного стресу, про що свідчило збільшення кількості АФО в мітохондріях серця експериментальних тварин у порівнянні з діабетичними щурами з еуестрогенією (див. табл. 2).

Таблиця 2

Вплив гіпоестрогенії та екзогенних естрогенів на інтенсивність продукції активних форм оксигену та активність ферментів антиоксидантного захисту в ізольованих мітохондріях серця щурів із цукровим діабетом 2 типу, ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Група	n	Інтенсивність продукції АФО, нмоль Н ₂ О ₂ /хв/мг білка	Активність Mn-SOD, у.о./мг білка	Активність ГПО, мкмоль/хв/мг білка	Активність ГР, мкмоль/хв/мг білка
Інтактний контроль	6	0,295±0,015	45,28±3,75	18,06±2,28	11,25±0,54
Діабет	6	0,484±0,049 ^a	25,76±2,61 ^a	16,33±1,88	7,74±0,26 ^a
Гіпоестрогенія	6	0,318±0,035 ^b	35,36±1,96 ^{a,b}	19,32±1,96	8,12±0,65 ^a
Гіпоестрогенія + діабет + плацебо	6	0,609±0,028 ^{a,b,c}	29,85±1,41 ^a	15,00±2,09	7,69±0,59 ^a
Гіпоестрогенія + діабет + 17β-естрадіол	6	0,453±0,029 ^{a,c,d}	35,02±1,54 ^{a,b,d}	21,21±2,16	10,99±0,63 ^{b,c,d}
Гіпоестрогенія + діабет + ПЕ0607	6	0,427±0,027 ^{a,c,d}	35,97±1,69 ^{a,b,d}	20,60±1,51	11,42±0,88 ^{b,c,d}

Примітки:

- 1) a – статистично значущі відмінності у порівнянні з даними групи «Інтактний контроль» ($p \leq 0,05$);
- 2) b – статистично значущі відмінності у порівнянні з даними групи «Діабет» ($p \leq 0,05$);
- 3) c – статистично значущі відмінності у порівнянні з даними групи «Гіпоестрогенія» ($p \leq 0,05$);
- 4) d – статистично значущі відмінності у порівнянні з даними групи «Гіпоестрогенія + діабет + плацебо» ($p \leq 0,05$).

Встановлено, що як гіпоестрогенія, так і ЦД 2 типу призводять до зниження активності таких ферментів антиоксидантного захисту, як Mn-SOD та ГР, проте поєднання ЦД і дефіциту естрогенів не має адитивного супресивного ефекту на активність зазначених ферментів (див. табл. 2).

Показано, що введення дослідним щурам 17 β -естрадіолу або ПЕ0607 знижує продукцію АФО мітохондріями кардіоміоцитів та підвищує активність ГР і Mn-SOD у порівнянні з групою оварієктомованих діабетичних тварин, які отримували плацебо (див. табл. 2).

Серед життєво важливих для кардіоміоцитів біоактивних молекул слід відзначити фермент циклу Кребсу аконітазу, що каталізує реакцію перетворення цитрату на ізоцитрат. Мітохондріальна ізоформа аконітази є досить чутливою до рівнів АФО, гіперпродукція яких здатна інактивувати фермент та обмежити ефективність циклу трикарбонових кислот [Kang P. T. et al., 2015].

В результаті проведеного дослідження виявлено, що активність аконітази в мітохондріях серця оварієктомованих тварин та щурів із ЦД 2 типу та нормоестрогенією знижується на 20 % відносно групи інтактного контролю (табл. 3). Сполучення діабету та гіпоестрогенії супроводжувалося майже дворазовим зниженням активності ферменту, що узгоджується з даними щодо стимулюючого впливу дефіциту естрогенів та діабету на інтенсивність продукції АФО мітохондріями кардіоміоцитів (див. табл. 3).

Таблиця 3

Вплив гіпоестрогенії та екзогенних естрогенів на активність ферментів енергетичного обміну в ізольованих мітохондріях серця щурів із цукровим діабетом 2 типу, ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Група	n	Активність аконітази, нмоль/хв/мг білка	Активність СДГ, нмоль/хв/мг білка
Інтактний контроль	6	407,70 \pm 36,53	36,74 \pm 0,66
Діабет	6	323,73 \pm 34,32 ^a	28,85 \pm 2,39 ^a
Гіпоестрогенія	6	311,67 \pm 27,75 ^a	36,07 \pm 1,42 ^b
Гіпоестрогенія + діабет + плацебо	6	215,08 \pm 23,51 ^{a, b, c}	29,82 \pm 0,76 ^{a, c}
Гіпоестрогенія + діабет + 17 β -естрадіол	6	464,08 \pm 18,61 ^{b, c, d}	29,20 \pm 0,35 ^{a, c}
Гіпоестрогенія + діабет + ПЕ0607	6	450,07 \pm 41,55 ^{b, c, d}	30,09 \pm 1,52 ^{a, c}

Примітки:

- 1) a – статистично значущі відмінності у порівнянні з даними групи «Інтактний контроль» ($p \leq 0,05$);
- 2) b – статистично значущі відмінності у порівнянні з даними групи «Діабет» ($p \leq 0,05$);
- 3) c – статистично значущі відмінності у порівнянні з даними групи «Гіпоестрогенія» ($p \leq 0,05$);
- 4) d – статистично значущі відмінності у порівнянні з даними групи «Гіпоестрогенія + діабет + плацебо» ($p \leq 0,05$).

У тварин із діабетом, які отримували 17β -естрадіол або сполуку ПЕ0607, спостерігали відновлення активності аконітази в мітохондріях серця до рівня показника контрольної групи (див. табл. 3). Даний ефект може бути обумовлений як здатністю естрогенів знижувати оксидативний стрес в мітохондріях, так і безпосереднім їх впливом на експресію ферменту [Chen J. Q. et al., 2009].

Визначення активності СДГ, яка одночасно є компонентом і циклу Кребсу, і дихального ланцюга мітохондрій (комплекс II) показало зниження активності ферменту в мітохондріях серця діабетичних щурів незалежно від забезпеченості ендogenous естрогенами (див. табл. 3). Останнє може бути пов'язане з пост-трансляційними окисними модифікаціями молекули ферменту [Chen Y. R. et al., 2007] та з ацетилюванням каталітичної субодиниці СДГ через накопичення ацетил-КоА внаслідок інактивації аконітази [Cimen H. et al., 2010].

Пероральне введення екзогенних естрогенів оварієктомованим діабетичним тваринам не впливало на знижену активність СДГ (див. табл. 3).

Серед негативних наслідків інсулінорезистентного стану для мітохондрій називають зниження вмісту цитохромів комплексів III і IV дихального ланцюга, а також посилене окислення їх простетичних груп [Bugger H. et al., 2010]. З іншого боку, естрогени залучені до регуляції експресії компонентів дихального ланцюга, стимулюючи синтез факторів реплікації, транскрипції і трансляції мітохондріальної ДНК, а також протеїнів електрон-транспортного ланцюга, що кодуються ядерним геномом [Chen J. Q. et al., 2009].

За умов експериментального ЦД 2 типу в оварієктомованих тварин та самиць із інтактними яєчниками було встановлено зниження концентрації цитохромів c, c₁, b та a+a₃ в ізольованих мітохондріях серця (табл. 4). Слід зазначити, що дефіцит естрогенів без діабету спричинив також зниження вмісту цитохрому a+a₃, але не посилив гальмуючого впливу ЦД на даний показник (див. табл. 4).

Застосування 17β -естрадіолу та його синтетичного похідного ПЕ0607 супроводжувалось підвищенням рівнів усіх досліджуваних цитохромів мітохондрій серця діабетичних тварин із гіпоестрогенією (див. табл. 4), що свідчить про позитивний вплив екзогенних естрогенів на функціонування дихального ланцюга мітохондрій кардіоміоцитів.

Відомо, що ендотеліальна дисфункція є раннім маркером діабетичного ушкодження судин і незалежним фактором кардіоваскулярного ризику. При цьому, ініціація патологічного процесу включає «роз'єднання» як ендотеліальної NO-синтазної активності, так і окисного фосфорилування у мітохондріях, а також активацію судинних НАДФН-оксидаз [Hwang M. H. et al., 2014].

Численні судинні ефекти естрогенів реалізуються або опосередковано, через вплив на обмін ліпопротеїдів та зворотний позанейрональний захват норадреналіну, або через пряму дію на модуляцію молекулярних шляхів у судинній стінці, зокрема в ендотелії. Показано, що 17β -естрадіол підвищує активність eNOS, ослаблює оксидативний стрес (збільшуючи біодоступність NO), стимулює продукцію вазорелаксантів – простагліцину та фактора

гіперполяризації EDHF. Окрім того, периферична дія естрогенів може мати антигіпертензивний ефект завдяки негативній регуляції факторів вазоконстрикції, таких як ендотелін 1, та внаслідок пригнічення ренін-ангіотензинової системи шляхом зниження транскрипції ангіотензин-перетворюючого ферменту [Arnal J. F. et al., 2010; Santos R. L. D. et al., 2014].

Таблиця 4

Вплив гіпоестрогенії та екзогенних естрогенів на вміст цитохромів дихального ланцюга ізольованих мітохондрій серця у щурів із цукровим діабетом 2 типу, ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Група	n	Цитохром c, нмоль/ мг білка	Цитохром c ₁ , нмоль/ мг білка	Цитохром b, нмоль/мг білка	Цитохром a+a ₃ , нмоль/мг білка
Інтактний контроль	6	0,69±0,03	0,37±0,03	1,43±0,08	1,47±0,09
Діабет	6	0,48±0,03 ^a	0,23±0,04 ^a	1,03±0,07 ^a	1,05±0,06 ^a
Гіпоестрогенія	6	0,64±0,06 ^b	0,28±0,02	1,23±0,07	1,16±0,07 ^a
Гіпоестроенія + діабет + плацебо	6	0,52±0,03 ^{a,c}	0,24±0,04 ^a	1,04±0,06 ^a	0,95±0,07 ^a
Гіпоестрогенія + діабет + 17β-естрадіол	6	0,68±0,03 ^{b,d}	0,36±0,02 ^{b,d}	1,42±0,05 ^{b,d}	1,39±0,05 ^{b,c,d}
Гіпоестроенія + діабет + ПЕ0607	6	0,70±0,06 ^{b,d}	0,40±0,05 ^{b,d}	1,85±0,15 ^{a,b,c,d}	1,78±0,12 ^{a,b,c,d}

Примітки:

- 1) a – статистично значущі відмінності у порівнянні з даними групи «Інтактний контроль» ($p \leq 0,05$);
- 2) b – статистично значущі відмінності у порівнянні з даними групи «Діабет» ($p \leq 0,05$);
- 3) c – статистично значущі відмінності у порівнянні з даними групи «Гіпоестрогенія» ($p \leq 0,05$);
- 4) d – статистично значущі відмінності у порівнянні з даними групи «Гіпоестрогенія + діабет + плацебо» ($p \leq 0,05$).

Встановлено, що за умов ЦД 2 типу активність eNOS в гомогенаті судин самиць щурів знижується у 1,5 рази незалежно від рівня ендогенних естрогенів. В той же час, пероральне введення 17β-естрадіолу та ПЕ0607 підвищувало активність eNOS (відповідно до $(36,96 \pm 4,83)$ та $(37,75 \pm 3,49)$ нмоль/хв/мг білка) як відносно оваріектомованих діабетичних щурів ($(22,47 \pm 1,24)$ нмоль/хв/мг білка, $p < 0,05$), так і самиць із інтактними яєчниками та діабетом ($(25,34 \pm 3,62)$ нмоль/хв/мг білка, $p < 0,05$).

Одним зі стрес-чутливих білків, експресія якого підвищується у відповідь на розвиток гіперглікемії та оксидативного стресу, є фермент гемоксигеназа (ГО). Повідомляється, що активатори ГО мають

антидіабетичний ефект, сприяють підвищенню чутливості до інсуліну та захищають судинну систему, регулюючи тонус судин, пригнічуючи проліферацію гладких м'язових клітин і апоптоз в ендотелії [Ndisang J. F., 2010].

В результаті проведеного експерименту було виявлено підвищення активності ГО в гомогенаті судин діабетичних тварин у 2 рази як у самиць із інтактними яєчниками, так і в оваріектомованих щурів ($(68,25 \pm 6,64)$ та $(75,44 \pm 7,26)$), відповідно, проти $(34,64 \pm 3,60)$ мкмоль/хв/мг білка, $p < 0,05$). Введення екзогенного 17β -естрадіолу або сполуки ПЕ0607 не впливало на підвищену активність ГО. Останнє узгоджується з відсутністю впливу екзогенних естрогенів на глікемічний контроль, оскільки підвищені рівні кінцевих продуктів глікування за умов гіперглікемії сприяють активації індукцибельної ізоформи ГО [Bao W. et al., 2010].

Відомо, що розвиток кардіоваскулярної патології, як і ЦД 2 типу, тісно корелює із запаленням низької інтенсивності, ініціацією атерогенних процесів у стінках судин та прокоагулянтною активністю крові.

Одним із провідних медіаторів запалення, який є потужним індуктором NF- κ B-сигнального шляху і відіграє важливу роль в патогенезі ІР, є ФНП- α [Lee B. C. et al., 2014]. Серед факторів неспецифічної імунологічної резистентності слід відзначити СРБ як маркер запального процесу. Підвищення рівня СРБ вважають незалежним передвісником серцево-судинних подій [Grossmann V. et al., 2015].

Показано, що розвиток запальної відповіді може бути як причиною, так і наслідком регуляторного впливу естрогенів. Протизапальні ефекти естрогенів пов'язують, в основному, з їх позитивною дією на загальний стан метаболізму, хоча можливий їх безпосередній вплив на запальні сигнальні шляхи. Окрім того, естрогени залучені до регуляції імунної відповіді вродженого й адаптивного характеру [Monteiro R. et al., 2014; Kovats S., 2015].

Підтвердженням розвитку запалення у дослідних тварин із ЦД 2 типу й інтактними яєчниками було збільшення концентрацій ФНП- α (від $(5,01 \pm 0,47)$ до $(11,18 \pm 1,08)$ пг/мл, $p < 0,05$) та СРБ (від (\bar{X} , *min*, *max*: 170,67; 128,00; 256,00) до (\bar{X} , *min*, *max*: 469,33; 384,00; 512,00) звор. титрів сиров. крові, $p < 0,05$) в сироватці крові відносно контрольної групи. Дефіцит естрогенів також призводив до вірогідного підвищення рівня ФНП- α у самиць щурів порівняно з інтактним контролем. Сполучення ЦД 2 типу та дефіциту естрогенів супроводжувалось зростанням рівня ФНП- α ($(16,19 \pm 1,06)$ пг/мл, $p < 0,05$) у дослідних тварин відносно діабетичних щурів із еуестрогенією та збереженням високої концентрації СРБ в оваріектомованих тварин із діабетом, що свідчить про подальшу стимуляцію запальної відповіді.

Введення 17β -естрадіолу та сполуки ПЕ0607 не впливало на рівень СРБ, проте достовірно знижувало концентрацію ФНП- α в сироватці крові самиць щурів із ЦД 2 типу та гіпоестрогенією до рівня показника діабетичних тварин із інтактними яєчниками.

Відомо, що розвиток ендотеліальної дисфункції, запалення, підвищена експресія молекул клітинної адгезії, антиагрегаційна резистентність тромбоцитів призводять до порушення балансу в системі гемостазу у пацієнтів

із ЦД. Сполучення підвищеного рівня циркулюючих зимогенів, інгібування фібринолізу, зміни структури/функції фібрину та тромбоцитарної реактивності утворюють кластер протромботичного ризику [Ruszkowska-Ciastek B. et al., 2015].

Фібриноген, як один із маркерів запального процесу і важливий гемокоагуляційний фактор, має тісний зв'язок із серцево-судинною патологією. Підвищення концентрації Д-димеру – продукту деградації фібрину – свідчить про посилення процесів як коагуляції, так і фібринолізу, і є вагомим фактором ризику кардіотромбозу [Reiner A. P. et al., 2009; Belalcazar L. M. et al., 2011].

Дані про вплив естрогенів на систему гемостазу є суперечливими. Не зважаючи на позитивні ефекти естрогенів щодо регуляції судинного тону, модуляції імунної відповіді та процесів коагуляції, отримані в експериментах на тваринах, рандомізовані клінічні дослідження встановили вірогідне зниження рівнів інгібіторів коагуляції, збільшення маркерів її активації та підвищення ризику серцево-судинних катастроф внаслідок прийому екзогенних естрогенів [Williams M. S. et al., 2016].

В результаті проведеного експериментального дослідження було виявлено підвищення концентрації фібриногену в плазмі крові як діабетичних щурів із інтактними яєчниками, так і оваріектомованих тварин без діабету ($(4,50 \pm 0,22)$ та $(3,14 \pm 0,17)$), відповідно, проти $(2,34 \pm 0,16)$ г/л, $p < 0,05$), причому у випадку гіпоестрогенії збільшення рівня фібриногену було хоча й незначним, але статистично значущим. Оскільки фібриноген, окрім участі у процесах згортання крові, є білком гострої фази, підвищення його концентрації скоріше за все обумовлене розвитком запального процесу. Показано, що поєднання дефіциту естрогенів та ЦД 2 типу призводить до подальшого зростання концентрації фібриногену ($(5,21 \pm 0,18)$ г/л, $p < 0,05$) в плазмі крові щурів порівняно з оваріектомованими тваринами з нормоглікемією, що може свідчити про посилення запальної реакції або процесів гемокоагуляції.

Встановлено, що застосування як 17β -естрадіолу, так і сполуки ПЕ0607 сприяє достовірному зниженню концентрації фібриногену в плазмі крові оваріектомованих щурів із діабетом до рівня показника діабетичних тварин із інтактними яєчниками, що узгоджується з даними щодо протизапальних ефектів естрогенів.

Визначення Д-димеру показало суттєве збільшення його рівня в плазмі крові діабетичних щурів із інтактними яєчниками відносно контрольної групи ($(\bar{X}, \min, \max: 24,0; 16,0; 32,0)$ проти $(\bar{X}, \min, \max: 6,7; 4,0; 8,0)$ звор. титрів плазми крові, $p < 0,05$), що співпадає з даними літератури щодо можливого розвитку гіперкоагуляційного стану за умов ЦД. Сполучення дефіциту естрогенів та діабету супроводжувалося збереженням високої концентрації Д-димеру в дослідних тварин, яка не залежала від забезпеченості ендogenous естрогенами. Застосування 17β -естрадіолу та ПЕ0607 не змінювало підвищений рівень Д-димеру в плазмі крові оваріектомованих щурів із ЦД 2 типу.

При оцінці функціонального стану зовнішнього (основного) і внутрішнього (контактного) шляхів згортання крові було встановлено, що як гіпоестрогенія, так і ЦД 2 типу не впливають на ПЧ згортання крові. В той же

час, у діабетичних самиць із інтактними яєчниками та в оварієктомованих щурів із ЦД було виявлено скорочення АЧТЧ у порівнянні з контрольною групою ($(20,57 \pm 0,73)$ та $(19,88 \pm 1,00)$, відповідно, проти $(24,08 \pm 0,88)$ с, $p < 0,05$). Згідно з даними літератури, зниження АЧТЧ може бути пов'язане з накопиченням коагуляційних факторів у кровотоці та з підвищеним ризиком серцево-судинних подій у хворих на ЦД 2 типу [Lippi G. et al., 2009; Mina A. et al., 2010].

При пероральному введенні діабетичним щурам із гіпоестрогенією 17β -естрадіолу та його похідного – сполуки ПЕ0607 – не спостерігали суттєвих змін АЧТЧ згортання крові.

Дослідження функціонального стану серцево-судинної системи показало, що в усіх експериментальних групах спостерігався нормальний регулярний синусовий серцевий ритм, який підтверджувався наявністю нормальної і постійної форми зубця Р, нормальною та стабільною тривалістю інтервалу Р–Q та різницею у тривалості інтервалів R–R' різних серцевих циклів кожного щура у межах 5 %. Дефіцит естрогенів не викликав порушень серцевого ритму, натомість, розвиток ЦД 2 типу у щурів із інтактними яєчниками та в оварієктомованих тварин спричинив зменшення інтервалу R–R' (від $(0,130 \pm 0,002)$ до $(0,123 \pm 0,002)$ та $(0,124 \pm 0,002)$ с відповідно, $p < 0,05$) та збільшення частоти серцевих скорочень (від $(461,0 \pm 7,7)$ до $(487,1 \pm 7,6)$ та $(485,8 \pm 7,9)$ уд./хв відповідно, $p < 0,05$), що може свідчити про розвиток синусової тахікардії. Введення діабетичним щурам із гіпоестрогенією сполуки ПЕ0607 або препарату порівняння 17β -естрадіолу збільшувало інтервал R–R' та знижувало частоту серцевих скорочень до рівня показників контрольної групи ($p < 0,05$).

Проведене дослідження також встановило, що як ЦД 2 типу, так і гіпоестрогенія окремо призводять до зростання загальної тривалості потенціалу дії шлуночків, що підтверджувалося пролонгацією інтервалів Q–T (від $(0,058 \pm 0,002)$ до $(0,067 \pm 0,004)$ мс, $p < 0,05$) та QTc (від $(0,160 \pm 0,005)$ до $(0,191 \pm 0,010)$, $p < 0,05$) у кардіограмах експериментальних тварин. Поєднання діабету та дефіциту естрогенів збільшувало тривалість Q–T й QTc (до $(0,078 \pm 0,001)$ мс та $(0,221 \pm 0,004)$ відповідно, $p < 0,05$), що свідчить про порушення процесів збудження усіх відділів шлуночків серця. Окрім того, в оварієктомованих тварин та щурів із інтактними яєчниками і діабетом було виявлено зростання систолічного показника ($(52,51 \pm 1,59)$ та $(54,35 \pm 2,81)$, відповідно, проти $(44,24 \pm 1,43)$ %, $p < 0,05$), тоді як ЦД 2 типу на тлі дефіциту естрогенів супроводжувався ще виразнішим порушенням скорочувальної активності серця дослідних щурів ($(62,92 \pm 1,65)$ %, $p < 0,05$). Застосування 17β -естрадіолу та його похідного ПЕ0607 не змінювало тривалість Q–T і QTc та систолічний показник, що узгоджується з результатами клінічних досліджень щодо відсутності значущих ефектів ЗГТ на інтервал QTc [Kadish A. H. et al., 2004; Kurokawa J. et al., 2008].

Виявлено, що ЦД 2 типу призводить до порушення процесів збудження передсердь (зростання амплітуди зубця Р від $(0,043 \pm 0,004)$ до

($0,059 \pm 0,003$) мВ, $p < 0,05$), а його сполучення із дефіцитом естрогенів супроводжується змінами у розповсюдженні збудження в шлуночках (зниження амплітуди зубця R від ($0,156 \pm 0,008$) до ($0,099 \pm 0,014$) мВ, $p < 0,05$) та подовженням потенціалу дії кардіоміоцитів (продовження зубця T від ($0,032 \pm 0,003$) до ($0,047 \pm 0,003$) с, $p < 0,05$), яке може бути обумовлене розвитком ішемії у серці самиць щурів. Разом із тим, пероральне введення оварієктомованим щурам із діабетом 17β -естрадіолу або сполуки ПЕ0607 нормалізувало амплітуду зубця R та запобігало подовженню зубця T ($p < 0,05$).

Отримані дані свідчать про те, що дефіцит естрогенів призводить до порушень процесів деполяризації та реполяризації міокарда шлуночків серця, а за наявності ЦД 2 типу – поглиблює функціональні порушення у серцево-судинній системі самиць щурів, що підтверджується ознаками розвитку синусової тахікардії та систолічної й діастолічної дисфункції міокарда.

Таким чином, в результаті проведених досліджень встановлено, що гіпоестрогенія посилює такі чинники кардіоваскулярного ризику як інсулінорезистентність, оксидативний стрес у мітохондріях серця, прозапальний стан, що призводить до функціональних порушень у серцево-судинній системі самиць щурів із ЦД 2 типу.

Виявлені протективні ефекти селективного модулятора естрогенових рецепторів – сполуки ПЕ0607 – свідчать на користь його можливого застосування у якості потенційного засобу профілактики та терапії серцево-судинних ускладнень за умов ЦД 2 типу на тлі дефіциту естрогенів.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення наукового завдання щодо визначення впливу ендогенних та екзогенних естрогенів на біохімічні та функціональні порушення в серцево-судинній системі за умов цукрового діабету 2 типу та обґрунтована перспективність подальших досліджень оригінального похідного 17β -естрадіолу ПЕ0607 як потенційного засобу профілактики та лікування діабетичної кардіоваскулярної патології на тлі дефіциту естрогенів.

1. Гіпоестрогенія посилює негативний вплив висококалорійної дієти на розвиток інсулінорезистентності та порушення окисно-відновлювального гомеостазу в сироватці крові щурів із цукровим діабетом 2 типу, проте не впливає на зниження функції β -клітин підшлункової залози та інтенсивність дисліпідемії і вісцерального ожиріння.

2. Дефіцит естрогенів є самостійним чинником, що порушує мітохондріальну функцію кардіоміоцитів у щурів, знижуючи активність аконітази, вміст цитохромів $a+a_3$ дихального ланцюга та активність Mn-залежної супероксиддисмутази і мітохондріальної глутатіонредуктази. Сполучення цукрового діабету 2 типу та гіпоестрогенії адитивно посилює продукцію активних форм кисню та зниження активності аконітази в

мітохондріях серця щурів у порівнянні з діабетичними тваринами з інтактними яєчниками.

3. Експериментальний цукровий діабет 2 типу супроводжується зниженням активності синтази оксиду нітрогену та підвищенням активності гемоксигенази в судинах самиць щурів, в той час як гіпоестрогенія не виявляє суттєвого впливу на активність досліджених ферментів у судинах тварин із нормоглікемією або діабетом.

4. Діабетичний стан призводить до підвищення рівнів маркерів запалення і активації коагуляційного гемостазу у самиць щурів. При цьому, дефіцит естрогенів є незалежним фактором збільшення концентрації фактора некрозу пухлин- α та фібриногену в кровотоці тварин, тоді як рівні С-реактивного білка і Д-димеру в крові не залежать від забезпеченості ендogenous естрогенами.

5. Гіпоестрогенія поглиблює функціональні порушення в серцево-судинній системі самиць щурів із цукровим діабетом 2 типу, про що свідчить підвищення систолічного показника, збільшення амплітуди передсердного проведення імпульсу, зростання загальної тривалості скорочення шлуночків і пролонгація процесів відновлення міокарда шлуночків серця експериментальних тварин.

6. Пероральне введення діабетичним щурам із дефіцитом естрогенів селективного модулятора естрогенових рецепторів ПЕ0607 подібно до препарату порівняння 17β -естрадіолу знижує гіпертригліцеридемію і рівень загальних ліпідів у печінці, гальмує порушення окисно-відновлювального гомеостазу в сироватці крові, значною мірою попереджає розвиток мітохондріальної дисфункції у кардіоміоцитах, підвищує знижену активність ендотеліальної синтази оксиду нітрогену, ослаблює інтенсивність запального процесу, сприяє відновленню нормального серцевого ритму, внутрішньошлуночкової провідності та процесів реполяризації шлуночків серця, проте, на відміну від 17β -естрадіолу, не впливає на масу матки експериментальних тварин.

7. Виявлений протективний вплив сполуки ПЕ0607 на основні чинники кардіометаболічного ризику та функціональний стан серцево-судинної системи за умов цукрового діабету 2 типу та дефіциту естрогенів може свідчити про перспективність її застосування в якості додаткового гендерно-специфічного засобу профілактики та корекції діабетичних серцево-судинних порушень на тлі гіпоестрогенії.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Біохімічні маркери васкулярної дисфункції у самиць щурів із цукровим діабетом 2 типу за умов нормо- та гіпоестрогенії [Текст] / О. Ю. Боріков, Н. І. Горбенко, О. В. Іванова, Т. В. Кіприч, К. В. Таран, С. Д. Тржецинський // Пробл. ендокрин. патології. – 2015. – № 3. – С. 94–100.

(Дисертант брав участь у постановці модельного експерименту, проведенні біохімічних досліджень, здійснював статистичний аналіз отриманих даних, оформлював результати досліджень у вигляді статті).

2. Порухення окисно-відновлювального гомеостазу в мітохондріях серця діабетичних щурів із гіпоестрогенією [Текст] / Н. І. Горбенко, О. Ю. Боріков, О. В. Іванова, Т. В. Кіприч, К. В. Таран // Пробл. ендокрин. патології. – 2015. – № 3. – С. 101–106.

(Дисертант брав участь у постановці модельного експерименту, проведенні біохімічних досліджень, здійснював статистичний аналіз отриманих даних, оформлював результати досліджень у вигляді статті).

3. Вплив ендогенних та екзогенних естрогенів на метаболічні порушення у самиць щурів із цукровим діабетом 2 типу [Текст] / Т. В. Кіприч, Н. І. Горбенко, О. Ю. Боріков, О. В. Іванова // Пробл. ендокрин. патології. – 2016. – № 1 (55). – С. 41–48.

(Дисертант брав участь у постановці модельного експерименту, проведенні біохімічних досліджень, здійснював статистичний аналіз отриманих даних, оформлював результати досліджень у вигляді статті).

4. Вплив екзогенних естрогенів на біохімічні маркери ендотеліальної дисфункції у діабетичних щурів із гіпоестрогенією [Текст] / Т. В. Кіприч, Н. І. Горбенко, О. Ю. Боріков, О. В. Іванова, К. В. Таран // Пробл. ендокрин. патології. – 2017. – № 1 (59). – С. 46–52.

(Дисертант брав участь у постановці модельного експерименту, проведенні біохімічних досліджень, здійснював статистичний аналіз отриманих даних, оформлював результати досліджень у вигляді статті).

5. Кіприч, Т. В. Вплив селективного модулятора естрогенових рецепторів – сполуки ПЕ0607 – на функціональний стан мітохондрій серця оваріектомованих щурів із цукровим діабетом 2 типу [Текст] / Т. В. Кіприч // Пробл. ендокрин. патології. – 2017. – № 2 (60). – С. 57–63.

(Дисертант брав участь у постановці модельного експерименту, проведенні біохімічних досліджень, здійснював статистичний аналіз отриманих даних, оформлював результати досліджень у вигляді статті).

6. Вплив ендогенних та екзогенних естрогенів на функціональний стан мітохондрій серця щурів із цукровим діабетом 2 типу [Текст] / Н. І. Горбенко, Т. В. Кіприч, О. Ю. Боріков, О. В. Іванова // Ендокринологія. – 2017. – № 2 (23). – С. 121–126.

(Дисертант брав участь у постановці модельного експерименту, проведенні біохімічних досліджень, здійснював статистичний аналіз отриманих даних, оформлював результати досліджень у вигляді статті).

7. Пат. 96493 UA, МПК G09B 23/28 (2006.01). Спосіб моделювання цукрового діабету 2 типу за умов дефіциту естрогенів [Текст] / Н. І. Горбенко, О. В. Іванова, В. В. Козар, О. Ю. Боріков, К. В. Таран, Т. С. Звягіна, Т. В. Кіприч (UA); заявник і патентовласник ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» (UA). – № u 201408832; заявл. 02.09.14; опубл. 10.02.15, Бюл. № 3. – 4 с.

(Дисертант брав участь у постановці модельного експерименту, проведенні біохімічних досліджень, здійснював статистичний аналіз отриманих даних).

АНОТАЦІЯ

Кіпріч Т. В. Особливості біохімічних та функціональних порушень в серцево-судинній системі за умов цукрового діабету 2 типу на тлі гіпоестрогенії (експериментальне дослідження). – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.01.14 «Ендокринологія» (біологічні науки). – Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка Національної академії медичних наук України», Київ, 2018.

Дисертацію присвячено експериментальному визначенню впливу ендогенних та екзогенних естрогенів на біохімічні та функціональні порушення в серцево-судинній системі за умов цукрового діабету 2 типу, відтвореного за допомогою висококалорійної дієти та ін'єкцій низьких доз (25 мг/кг) стрептозотоцину в інтактних та оваріектомованих тримісячних щурів Wistar.

Встановлено, що гіпоестрогенія посилює прогресування інсулінорезистентності на тлі висококалорійної дієти, а за умов цукрового діабету 2 типу – збільшує інтенсивність оксидативного стресу в мітохондріях серця, знижуючи в них активність антиоксидантних ферментів та ензимів, залучених до окисного метаболізму, і зменшуючи вміст деяких компонентів дихального ланцюга мітохондрій, що поглиблює функціональні порушення в серцево-судинній системі дослідних тварин.

Показано, що пероральне введення діабетичним щурам із гіпоестрогенією селективного модулятора естрогенових рецепторів ПЕ0607 в дозі 0,2 мг/кг маси тіла упродовж чотирьох тижнів подібно до препарату порівняння 17 β -естрадіолу знижує гіпертригліцеридемію і рівень загальних ліпідів у печінці, гальмує порушення окисно-відновлювального гомеостазу в сироватці крові, значною мірою попереджає розвиток мітохондріальної дисфункції у кардіоміоцитах, підвищує знижену активність ендотеліальної синтази оксиду нітрогену, ослаблює інтенсивність запального процесу, сприяє відновленню нормального серцевого ритму, внутрішньошлуночкової провідності та процесів реполяризації шлуночків серця, проте, на відміну від 17 β -естрадіолу, не впливає на масу матки експериментальних тварин.

Ключові слова: цукровий діабет 2 типу, гіпоестрогенія, серцево-судинні ускладнення, похідні 17 β -естрадіолу.

АННОТАЦИЯ

Киприч Т. В. Особенности биохимических и функциональных нарушений в сердечно-сосудистой системе при сахарном диабете 2 типа на фоне гипоестрогении (экспериментальное исследование). – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.14 «Эндокринология» (биологические науки). – Государственное учреждение «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В. П. Комиссаренко Национальной академии медицинских наук Украины», Киев, 2018.

Диссертация посвящена экспериментальному изучению влияния эндогенных и экзогенных эстрогенов на биохимические и функциональные нарушения в сердечно-сосудистой системе при сахарном диабете 2 типа. Исследование проведено на модели сахарного диабета 2 типа, воспроизведенного с помощью высококалорийной диеты и инъекций низких доз (25 мг/кг массы тела) стрептозотоцина у интактных и овариэктомированных трехмесячных самок крыс Wistar.

Установлено, что гипоэстрогения усиливает негативное влияние высококалорийной диеты на прогрессирование инсулинорезистентности, однако не влияет на развитие и выраженность дислипидемии у самок крыс с сахарным диабетом 2 типа. Дефицит эстрогенов на фоне диабета повышает интенсивность оксидативного стресса в митохондриях сердца животных, снижая активность антиоксидантных ферментов и ферментов окислительного метаболизма, а также содержание некоторых компонентов дыхательной цепи митохондрий. В то же время, активность синтазы оксида азота и гемоксигеназы в сосудах крыс с диабетом не зависит от уровня эндогенных эстрогенов.

Выявлено, что длительная гипоэстрогения у крыс с нормогликемией сопровождается увеличением уровней фактора некроза опухоли- α и фибриногена в кровотоке и приводит к нарушению процессов деполяризации и реполяризации миокарда желудочков сердца, а в условиях диабета 2 типа – усугубляет функциональные нарушения в сердечно-сосудистой системе животных, что подтверждается признаками развития синусовой тахикардии, систолической и диастолической дисфункции миокарда.

Показано, что пероральное введение овариэктомированным крысам с сахарным диабетом 2 типа селективного модулятора эстрогеновых рецепторов ПЭ0607 в дозе 0,2 мг/кг массы тела в течение четырех недель аналогично препарату сравнения 17β -эстрадиолу снижает гипертриглицеридемию и уровень общих липидов в печени, тормозит нарушения окислительно-восстановительного гомеостаза в сыворотке крови, в значительной мере предупреждает развитие митохондриальной дисфункции в кардиомиоцитах, повышает сниженную активность эндотелиальной синтазы оксида азота, ослабляет интенсивность воспалительного процесса, способствует восстановлению нормального сердечного ритма, внутрижелудочковой проводимости и процессов реполяризации желудочков сердца, но, в отличие от 17β -эстрадиола, не влияет на массу матки экспериментальных животных.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, гипоэстрогения, сердечно-сосудистые осложнения, производные 17β -эстрадиола.

SUMMARY

Kiprych T. V. «Peculiarities of biochemical and functional disorders in cardiovascular system in type 2 diabetes mellitus under estrogen deficiency». – Manuscript.

Thesis for the Degree of Candidate of Biological Sciences, specialty 14.01.14 “Endocrinology” (biological sciences). – State Institution «V. P. Komisarenko Institute

of Endocrinology and Metabolism of National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv, 2018.

The dissertation is devoted to the experimental study of endogenous and exogenous estrogen effects on biochemical and functional disorders in cardiovascular system in type 2 diabetes.

The study was conducted on the three-month-old intact and ovariectomized Wistar rats with type 2 diabetes mellitus induced by low streptozotocin (25 mg/kg body weight) injections and high calorie diet. Exogenous 17β -estradiol and its derivative with estrogen-like activity –PE0607 compound – were administered orally by gavage in a dose of 0.2 mg/kg of body weight during 4 weeks and 7 days after the last streptozotocin injection.

It was established that estrogen deficiency enhances negative effect of high calory diet on progression of insulin resistance, but doesn't influence the development and severity of dyslipidemia in female diabetic rats. Hypoestrogenic state in type 2 diabetes was found to increase oxidative stress in cardiomyocyte mitochondria through inhibition of antioxidant enzymes and decrease in some components of respiration chain. At the same time endothelial NO-synthase and heme oxygenase activity appeared to be independent of endogenous estrogen in diabetic rats.

Increased levels of serum tumor necrosis factor- α and plasma fibrinogen and also disturbances of ventricular myocardial depolarization and repolarization processes were observed in non-diabetic ovariectomized rats, while accentuated impairment of functional state of cardiovascular system (sinus tachycardia, systolic and diastolic dysfunction) was detected in diabetic animals with estrogen deficiency compared to those with intact ovaries.

It was shown that *per os* administration of selective estrogen receptor modulator PE0607 to ovariectomized diabetic rats as well as 17β -estradiol resulted in lowering of hypertriglyceridemia and total lipids in liver, restricted oxidative imbalance in serum, prevented significantly cardiomyocyte mitochondrial dysfunction, increased endothelial NO-synthase activity, attenuated inflammation intensity and contributed largely to the maintenance of normal heart rate, intraventricular impulse conduction and ventricular repolarization process, but in contrast to 17β -estradiol it didn't influence the uterus mass.

Key words: type 2 diabetes mellitus, estrogen deficiency, cardiovascular complications, 17β -astradiol derivatives.

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ

ANOVA – параметричний дисперсійний аналіз (ANalysis Of Variance)
EDHF – ендотелій-залежний фактор гіперполяризації (endothelium-derived hyperpolarizing factor)
eNOS – ендотеліальна синтаза оксиду нітрогену (endothelial nitric oxide synthase)
GLP – належна лабораторна практика (good laboratory practice)
МАРК – протеїнкінази, що активуються мітогеном (mitogen-activated protein kinases)
Mn-СОД – марганець-залежна супероксиддисмутаза
NF-κB – ядерний фактор «капа-бі» (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)
NO – оксид нітрогену (nitric oxide)
АТФ – аденозинтрифосфат
АФО – активні форми кисню
АЧТЧ – активований частковий тромбoplastиновий час
ВКД – висококалорійна дієта
ВЧТТГ – внутрішньочеревний тест толерантності до глюкози
ГО – гемоксигеназа
ГПО – глутатіонпероксидаза
ГР – глутатіонредуктаза
ДК – дієнові кон'югати
ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота
ЗАА – загальна антиоксидантна активність
ЗГТ – замісна гормональна терапія
ІР – інсулінорезистентність
КоА – коензим А
НАДФН – нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат відновлений
НЕЖК – неетерифіковані жирні кислоти
O₂^{•-} – супероксиданіон
ПЕ0607 – похідне естрадіолу 0607
ППК – площа під глікемічною кривою
ПТ – протромбіновий час
СДГ – сукцинатдегідрогеназа
СРБ – С-реактивний білок
ТГ – тригліцериди
ФНП-α – фактор некрозу пухлин альфа
ЦД – цукровий діабет