

**ВЛИЯНИЕ 2-МЕСЯЧНОГО ЛЕЧЕНИЯ БРОМОКРИПТИНОМ
НА АКТИВНОСТЬ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНОЙ СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ
В МИОКАРДЕ И СЕМЕННИКАХ КРЫС С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА**

© К. В. Деркач, В. М. Бондарева, И. В. Мойсеюк, А. О. Шпаков¹

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург;

¹ электронный адрес: alex_shpakov@list.ru

Одними из распространенных осложнений сахарного диабета 2-го типа (СД2) являются сердечно-сосудистые заболевания и дисфункции репродуктивной системы, что указывает на актуальность разработки новых подходов для их коррекции. В последние годы для лечения СД2 стали использовать бромокриптин (БК), агонист дофаминовых рецепторов 2-го типа, который не только восстанавливает энергетический обмен, но и предотвращает развитие сердечно-сосудистых заболеваний. Однако механизмы и мишени действия БК изучены недостаточно. Цель работы состояла в изучении влияния лечения БК на функциональную активность аденилатциклазной сигнальной системы (АЦСС) в миокарде и семенниках самцов крыс с СД2, который вызывали диетой с высоким содержанием жиров и обработкой стрептозотоцином (25 мг/кг). Лечение БК (60 сут, перорально, в дозе 0.6 мг/кг 1 раз в течение 2 сут) начинали через 90 сут после начала высокожировой диеты. У диабетических крыс повышались масса тела, уровень триглицеридов, нарушилась толерантность к глюкозе, развивалась инсулиновая резистентность. Лечение БК приводило к восстановлению гликометаболических показателей и повышению чувствительности тканей к инсулину. В миокарде диабетических крыс снижались стимулирующие аденилатциклазу (АЦ) эффекты гуанилилимидодифосфата (ГИДФ), релаксина и агонистов β -адренергических рецепторов (β -АР) — изопротеренола и норадреналина. Соответствующие эффекты β_3 -агонистов BRL-37344 и CL-316243 при этом сохранялись. Ингибирующий эффект соматостатина на стимулированную форсколином активность АЦ ослаблялся, в то время как ингибирующий эффект норадреналина, реализуемый через α_2 -АР, усиливался. Лечение БК приводило к нормализации адренергической сигнализации в миокарде и частично восстанавливало АЦ эффекты релаксина и соматостатина. В семенниках диабетических крыс снижалась базальная и стимулированная ГИДФ, форсколином, хорионическим гонадотропином человека и питуитарным АЦ-активирующими полипептидом активность АЦ и ослаблялся ингибирующий эффект соматостатина. При лечении БК изменения в АЦСС семенников были выражены слабо. Таким образом, длительное лечение БК восстанавливает функциональную активность АЦСС в миокарде и семенниках диабетических крыс, что лежит в основе терапевтического эффекта БК на нарушенные в условиях СД2 функции сердечно-сосудистой и репродуктивной систем и должно учитываться при разработке стратегии лечения СД2 и его осложнений.

Ключевые слова: адренергический агонист, аденилатциклаза, бромокриптин, гонадотропин, дислипидемия, инсулиновая резистентность, миокард, норадреналин, семенники, соматостатин, толерантность к глюкозе.

Принятые сокращения: АР — адренергический receptor, АЦ — аденилатциклаза, АЦСС — аденилатциклазная сигнальная система, БК — бромокриптин, ГИДФ — гуанилилимидодифосфат, Δ_2 Р — дофаминовые рецепторы 2-го типа, ИГТТ — инсулиновоглюкозотолерантный тест, ЛГ — лютеинизирующий гормон, СД1 и СД2 — сахарный диабет 1-го и 2-го типов, СТЗ — стрептозотоцин, ХГЧ — хорионический гонадотропин человека, G_s - и G_i -белки — G-белки стимулирующего и ингибирующего типов соответственно, HOMA-IR — гомеостатическая модель для оценки резистентности к инсулину (HOMeostasis Model Assessment — Insulin Resistance), PACAP-38 — гипофизарный аденилатциклазу активирующий полипептид длиной 38 аминокислотных остатков (pituitary adenylyl cyclase-activating polypeptide-38).

Сахарный диабет 2-го типа (СД2) является одним из самых распространенных заболеваний — им в мире страдают более 380 млн человек. Характерными чертами СД2 являются отчетливо выраженное снижение чувствительности тканей к действию инсулина (инсулиновая резистентность), умеренно выраженные гиперинсулинемия и

гипергликемия, нарушение липидного обмена. Функциональные и метаболические нарушения, вызванные СД2, приводят к развитию осложнений СД2, среди которых наиболее распространены заболевания сердечно-сосудистой системы (диабетическая кардиомиопатия, гипертензия, атеросклероз и др.), от которых погибают около 80 %

пациентов с СД2. Другими осложнениями СД2 являются заболевания выделительной (диабетическая нефропатия), нервной (диабетическая энцефалопатия, периферическая диабетическая нейропатия) и сенсорной (диабетическая ретинопатия) систем. Однако в последние годы все больше внимания уделяют дисфункциям репродуктивной системы — синдрому поликистоза яичников у женщин, гипоандрогенемии и нарушениям сперматогенеза у мужчин, которые характеризуются высокой встречаемостью у пациентов с СД2 и часто приводят к бесплодию (Шпаков, 2010; Isidro, 2012).

Основными причинами осложнений СД2 являются нарушения окислительно-восстановительного баланса, приводящие к развитию стресса эндоплазматического ретикулума и повреждению клеток, системная дислипидемия, липотоксичность и гипергомоцистинемия (Pitocco et al., 2013; Su et al., 2013). Среди других причин осложнений СД2 необходимо выделить нарушения в функционировании гормональных сигнальных систем в мозге и периферических тканях. Наибольший интерес здесь представляет аденилатциклазная сигнальная система (АЦСС), через которую свое регуляторное действие на клетку оказывает множество гормонов и ростовых факторов (Shpakov, Derkach, 2013). АЦСС играет ключевую роль в регуляции сократительной функции сердца лигандами адренергических рецепторов (AP), функционально сопряженных с ферментом аденилатциклазой (АЦ) — катализитическим компонентом АЦСС — через посредство гетероротимерных G-белков стимулирующего (G_s) или ингибитирующего (G_i) типа (Altan et al., 2007). Регуляция стероидогенеза в клетках Лейдига семенников, дифференцировки и регенерации репродуктивных клеток также реализуется через АЦСС, чувствительную к действию лютеинизирующего гормона (ЛГ) (Zirkin, Chen, 2000).

Нами и другими авторами показано, что изменения функционального состояния и гормональной чувствительности АЦСС в тканях положительно коррелируют с тяжестью и продолжительностью СД2 и его осложнений. Изменения в АЦСС и других сигнальных каскадах могут быть как первичными, являясь причинами осложнений СД2, так и вторичными, возникающими в ответ на метаболические нарушения, вызванные СД2. В последнем случае они являются компенсаторными. Соответственно восстановление функциональной активности АЦСС представляет собой эффективный подход для предупреждения развития осложнений СД2 и их коррекции, что в первую очередь относится к меланокортиновой, серотонинергической и дофаминергической системам мозга, нарушения в которых вызывают инсулиновую резистентность в ЦНС и периферических тканях и могут стать причинами СД2 (Lustman, Clouse, 2005; Nogueiras et al., 2007; Шпаков, 2012; Шпаков, Деркач, 2012; Shpakov, 2012). Получены данные о том, что агонисты меланокортиновых рецепторов 3-го и 4-го типов, серотонин и селективные ингибиторы обратного захвата серотонина способны повышать чувствительность тканей к инсулину и предупреждать развитие СД2 (Lustman, Clouse, 2005; Nogueiras et al., 2007). При лечении пациентов с болезнью Паркинсона в сочетании с СД2 бромокриптином (БК) — селективным агонистом дофаминовых рецепторов 2-го типа (D_2R) — было установлено, что БК положительно влияет не только на паркинсонизм, но и на метаболические нарушения, вызванные СД2 (Cincotta et al., 1999; Mahajan, 2009; Scranton, Cincotta, 2010; Mikhail, 2011; Garber et al., 2013). Лечение БК улучшало гликометаболические пара-

метры и снижало риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, что указывает на перспективность БК для предупреждения диабетической кардиомиопатии, атеросклероза и других грозных осложнений СД2 (Gaziano et al., 2012). Однако изучение терапевтического потенциала БК для лечения преддиабета и СД2 ограничивается в основном клиническими исследованиями. Недостаточно исследованы молекулярные механизмы и мишени действия БК в условиях диабетической патологии, его влияние на гормональные сигнальные системы в ЦНС и периферических тканях, что необходимо для разработки оптимальных схем применения БК в клинике. Совершенно не изучено влияние БК на функционирование репродуктивной системы в условиях СД2, несмотря на то что этот препарат давно применяется для лечения заболеваний репродуктивной системы (Bolyakov, Paduch, 2011).

Цель работы состояла в изучении влияния длительно-го лечения БК самцов крыс с СД2, который вызывали высокожировой диетой и обработкой низкой дозой стрептозотоцина (СТЗ), на их гликометаболические показатели и функциональную активность чувствительной к гормонам АЦСС в миокарде и семенниках животных. Выбор миокарда и семенников для исследования был обусловлен тем, что, с одной стороны, нарушения в сердечно-сосудистой и репродуктивной системах являются наиболее часто встречающимися и социально значимыми осложнениями СД2, а с другой — миокард и семенники являются одними из мишеней терапевтического действия БК. Выбор АЦСС связан с тем, что, согласно данным наших предыдущих исследований, оценка функционального состояния этой системы в тканях может быть использована для мониторинга эффективности лечения СД2 и идентификации мишеней действия исследуемого лекарственного препарата (Shpakov, 2012; Shpakov et al., 2012a, 2012b, 2013; Shpakov, Derkach, 2013).

Материал и методика

Модель СД2 вызывали специально подобранной высокожировой диетой с последующей обработкой крыс низкой дозой СТЗ. Для экспериментов были взяты самцы крыс Wistar (возраст 2 мес), которых разделили на две группы. Группа К ($n = 12$) находилась на стандартном рационе, в то время как группа Д ($n = 18$) получала обогащенную жиром диету. Суточный рацион в группе К составил 20–25 г сухого корма, в то время как в группе Д — 10 г сухого корма и 15 г жировой смеси (состав жировой смеси — 524 г свиного сала, 417 г творога, 50 г печени, 5.3 г L-метионина, 1.85 г дрожжей и 1.85 г поваренной соли). Через 75 сут после начала эксперимента крысы группы Д были обработаны СТЗ, который вводили интраперитонеально в дозе 25 мг/кг. СТЗ растворяли в 0.1 М цитратном буфере, pH 4.5, и немедленно использовали для инъекции. Крысы группы К вместо СТЗ получали цитратный буфер в том же объеме. Через 90 сут группа К была разделена на две группы — К0 ($n = 6$) и К+БК ($n = 6$), группа Д — также на две группы — Д0 ($n = 10$) и Д+БК ($n = 8$). Группы К+БК и Д+БК получали БК, в то время как группы К0 и Д0 — плацебо. БК давали в течение 60 сут перорально в дозе 0.6 мг/кг 1 раз (в 10.00) каждые 2 сут. Через 150 сут животных наркотизировали и подвергали декапитации.

Измерение уровня глюкозы проводили в цельной крови, полученной из хвостовой вены крыс в начале экс-

перимента и на 60, 90 и 150-е сут, используя тест-полоски One Touch Ultra (США) и глюкометр Life Scan Johnson & Johnson (Дания). Для оценки толерантности к глюкозе животным внутрибрюшинно вводили раствор глюкозы в дозе 2 г/кг. Для оценки чувствительности к инсулину использовали инсулинглюкозотолерантный тест (ИГТТ), для чего крысам одновременно вводили глюкозу (2 г/кг) и инсулин («Хумалог», 0.8 МЕ/кг). Концентрацию глюкозы в крови животных измеряли на протяжении 2 ч после инъекции глюкозы. Концентрацию инсулина в сыворотке крови измеряли с помощью набора Rat Insulin ELISA (Mercodia AB, Швеция). Для оценки чувствительности тканей к инсулину (инсулиновой резистентности) использовали индекс HOMA-IR (homeostasis model assessment — insulin resistance), который рассчитывали по формуле $(G \cdot I)/22.5$, где концентрация тощаковой глюкозы (G) выражена в ммоль/л, концентрация инсулина (I) — в мкЕД/мл (Matthews et al., 1985). Концентрацию триглицеридов измеряли с помощью наборов фирмы Ольвекс Диагностикум (Россия).

Фракции плазматических мембран из сердечной мышцы и семенников крыс выделяли, как описано ранее (Shpakov et al., 2012a, 2013). Желудочки отделяли от предсердий, жира и сердечных клапанов, промывали охлажденным физиологическим раствором, измельчали и гомогенизировали с помощью Polytron в 20 объемах охлажденного до 4 °C 50 mM Tris-HCl-буфера (pH 7.4), содержащего 5 mM MgCl₂, 320 mM сахарозу и ингибиторы протеаз (500 мкМ *O*-фенантролина, 2 мкМ пепстатина и 1 mM фенилметилсульфонилфторида) (буфер А). Гомогенат подвергали центрифугированию при 480 g в течение 10 мин, осадок отбрасывали, супернатант центрифугировали при 27 500 g в течение 20 мин, полученный осадок ресуспендировали в буфере А без сахарозы и повторно центрифугировали при 27 500 g в течение 20 мин. Для выделения фракций тестикулярных мембран ткани семенников измельчали, гомогенизировали на холоде в буфере А, гомогенат центрифугировали (1500 g, 10 мин), осадок отбрасывали и супернатант повторно центрифугировали (20 000 g, 30 мин). Полученный осадок ресуспендировали в буфере А без сахарозы и центрифугировали в том же режиме.

Активность аденилатцилазы (АЦ) определяли, как описано ранее (Shpakov et al., 2010). Ферментативную реакцию проводили в течение 12 мин при 37 °C в инкубационной смеси, которая содержала 50 mM Tris-HCl (pH 7.5), 5 mM MgCl₂, 0.1 mM цАМФ, 1 mM АТФ, 37 кБк [α -³²P]-АТФ, 20 mM креатинфосфата, 0.2 мг/мл креатинфосфокиназы и 50—75 мкг мембранных белка. Для определения активности АЦ использовали [α -³²P]-АТФ (150 ГБк/ммоль) (Изотоп, Россия). Активность фермента выражали в пмоль цАМФ за 1 мин на 1 мг мембранных белка. Базальную активность АЦ измеряли в отсутствие воздействий, а ингибирующий эффект гормонов изучали по их влиянию на стимуляцию АЦ форсколином (10⁻⁵ M), эффект которого в отсутствие гормонов принимали за 100 %.

В работе использовали БК, изопротеренол, норадреналин, релаксин-2, соматостатин, хорионический гонадотропин человека (ХГЧ), гипофизарный активирующий аденилатцилазу полипептид длиной 38 аминокислотных остатков (pituitary adenylyl cyclase-activating polypeptide-38, PACAP-38), селективные β_3 -АР-агонисты — [4-[(2-(3-хлорофенил)-2-гидроксиэтил]амино]пропил]уксусной кислоты натриевую соль (BRL-37344) и 5-[(2R)-2-(3-хло-

рофенил)-2-гидроксиэтил]амино]пропил]-1,3-бензодиоксол-2,2-дикарбоновой кислоты динатриевую соль (CL-316243), 5'-гуанилилимидофосфат (ГИДФ), форсколин, цАМФ, АТФ, креатинфосфокиназу из мышц кролика и креатинфосфат (Sigma, США).

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием компьютерной программы ANOVA. Данные представлены в виде $M \pm SD$ нескольких независимых экспериментов. Различия между значениями активности АЦ в различных группах животных оценивали как достоверные при $P < 0.05$.

Результаты

В пользу развития СД2 у крыс в группе Д свидетельствуют повышение у них массы тела, уровня тощаковой глюкозы и триглицеридов, возрастание индекса HOMA-IR, а также результаты теста на толерантность к глюкозе и ИГТТ, которые демонстрируют развитие у животных инсулиновой резистентности. Так, уже после 2-месячной высокожиревой диеты масса тела крыс в группе Д была в среднем на 24 % больше, чем в группе К, а уровень глюкозы был повышен на 51 % (табл. 1). Через 15 сут после обработки СТЗ (90-е сут эксперимента) наблюдали развитие отчетливо выраженной гипергликемии, которая ослабевала к окончанию эксперимента. На 150-е сут у диабетических крыс, леченных БК, наблюдали снижение массы (на 13 %) в сравнении с группой Д0, но различия между группами Д0 и Д+БК в уровне тощаковой глюкозы отсутствовали (табл. 1).

Далее оценивали развитие инсулиновой резистентности в группах Д0 и Д+БК. В конце эксперимента в группе Д0 индекс HOMA-IR составил 2.24 ± 0.29 , что достоверно выше, чем в группе К0 (0.98 ± 0.19 , $P < 0.05$ в сравнении с группой Д0). У диабетических животных, получавших БК, значение индекса HOMA-IR было снижено в сравнении с группой Д0, но не достоверно (1.69 ± 0.34). С помощью теста с глюкозной нагрузкой было установлено, что после 2-месячной высокожиревой диеты (59-е сут) и через 15 сут после обработки СТЗ перед началом лечения (89-е сут) крысы в группе Д имели нарушенную толерантность к глюкозе (рис. 1, а, б). После 2-месячного лечения (149-е сут, непосредственно перед декапитацией) в группе Д+БК наблюдали отчетливо выраженное повышение интенсивности утилизации глюкозы в сравнении с группой Д0. Так, в тесте с глюкозной нагрузкой через 2 ч после инъекции глюкозы ее уровень в группе Д+БК составил 9.6 mM и был на 51 % ниже, чем в группе Д0 (14.5 mM), хотя и оставался выше уровня глюкозы в группах К0 и К+БК (рис. 1, в). За 10 сут до декапитации (на 140-е сут) проводили ИГТТ. В группе Д0 было отмечено достоверное снижение утилизации глюкозы в сравнении с контрольными животными на протяжении 2 ч после ее инъекции (рис. 2). В группе Д+БК через 15 и 30 мин после совместного введения глюкозы и инсулина уровень глюкозы был ниже, чем в группе Д0 (через 15 мин различия были достоверными, $P < 0.05$), и сходным с таковым в группе К0 (рис. 2). Полученные данные указывают на снижение чувствительности к инсулину и скорость утилизации глюкозы у диабетических крыс и на частичное их восстановление при лечении диабетических животных БК.

В группах К0 и К+БК уровень триглицеридов составил 0.92 ± 0.19 и 1.29 ± 0.23 ммоль/л, в группах Д0 и

Таблица 1

Масса тела и уровень глюкозы (натощак) в плазме крови контрольных крыс и животных с СД2, получавших и не получавших БК

Показатель	Начало эксперимента	60-е сут	90-е сут (начало лечения)	150-е сут (перед декапитацией)
	Группа К (n = 12)	Группа К0 (n = 6)		
Масса, г	185 ± 13	301 ± 14	332 ± 28	359 ± 27
Глюкоза, мМ	4.1 ± 0.1	3.9 ± 0.1	4.4 ± 0.2	3.8 ± 0.2
	Группа К + БК (n = 6)	Группа Д0 (n = 10)		
Масса, г	—	325 ± 26	407 ± 21 ^a	351 ± 28
Глюкоза, мМ	—	4.1 ± 0.3	7.6 ± 0.6 ^a	4.5 ± 0.2
	Группа Д (n = 18)	Группа Д + БК (n = 8)		
Масса, г	196 ± 13	369 ± 16 ^a	403 ± 19	390 ± 28
Глюкоза, мМ	3.9 ± 0.2	5.9 ± 0.2 ^a	7.5 ± 0.8	6.0 ± 0.7
Масса, г	—	—	—	—
Глюкоза, мМ	—	—	—	—

* Достоверное различие между группами К и Д или К0 и Д0 ($P < 0.05$).

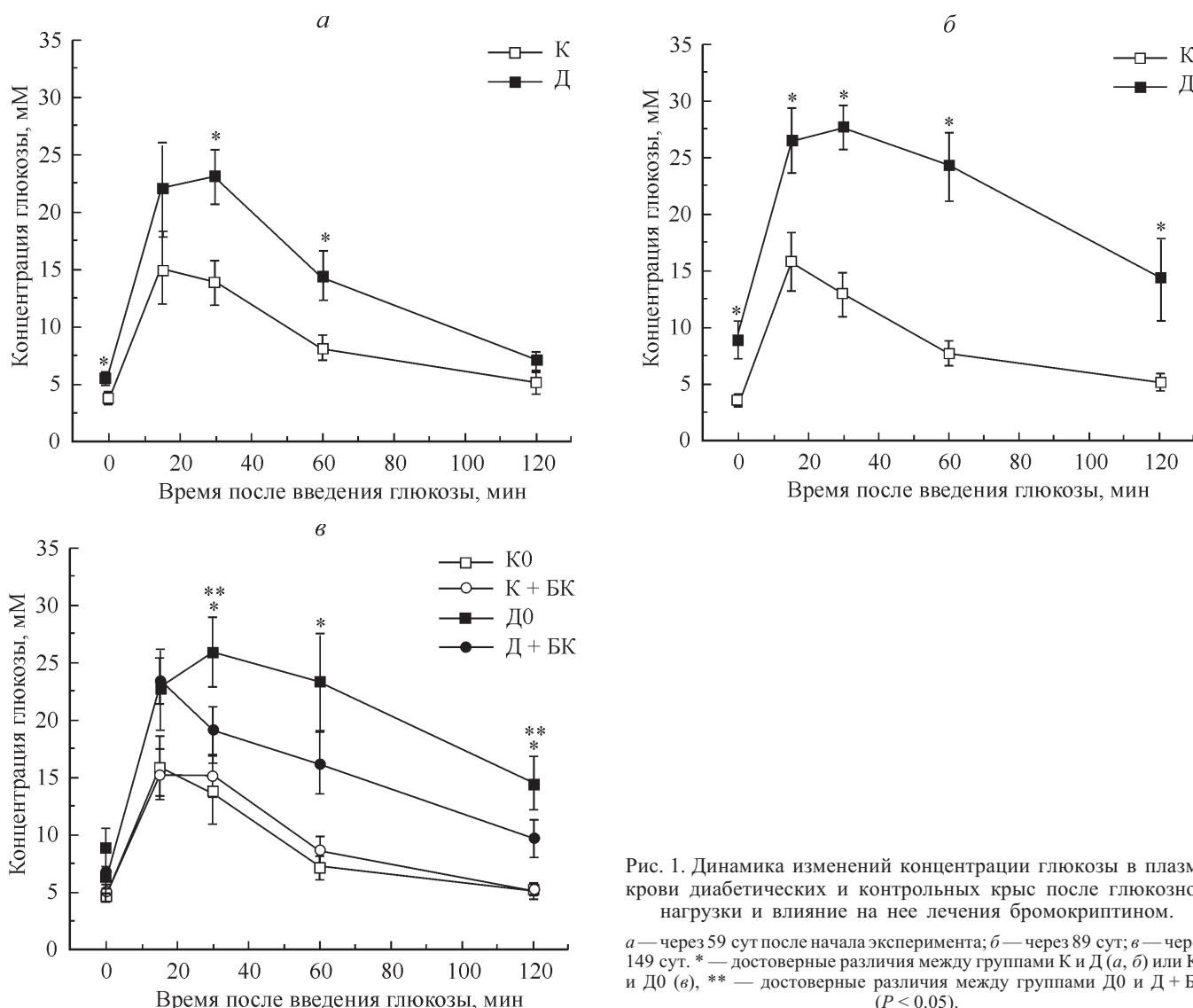


Рис. 1. Динамика изменений концентрации глюкозы в плазме крови диабетических и контрольных крыс после глюкозной нагрузки и влияние на нее лечения бромокриптином.

а — через 59 сут после начала эксперимента; б — через 89 сут; в — через 149 сут. * — достоверные различия между группами К и Д (а, б) или К0 и Д0 (в), ** — достоверные различия между группами Д0 и Д + БК ($P < 0.05$).

Д+БК он был достоверно выше, чем в группе К0 ($P < 0.05$), и составил 1.53 ± 0.24 и 1.46 ± 0.17 ммол/л. При этом уровень триглицеридов в группах Д0 и Д+БК не различался. Это свидетельствует о развитии триглицеридемии у крыс с СД2 и об отсутствии заметного влияния на уровень триглицеридов длительной терапии БК. Следует отметить, что в группе К+БК было отмечено повышение, хотя и не достоверное, уровня триглицеридов, что может указывать на негативное влияние длительной обработки БК на липидный обмен у здоровых животных.

Базальная активность АЦ и ее стимуляция форсколином, действующим непосредственно на каталитический сайт фермента, во фракциях плазматических мембран, выделенных из миокарда контрольных и диабетических крыс, существенно не различались и практически не менялись при лечении БК (табл. 2). Стимулирующий эффект активатора G_s-белков ГИДФ — негидролизуемого аналога ГТФ — в группе Д0 снижался на 27 % в сравнении с контролем и частично восстанавливался при лечении БК. В семенниках диабетических крыс снижались как базальная, так и стимулированная форсколином и ГИДФ активность АЦ, причем эффект ГИДФ снижался на 42 %. Лечение БК диабетических животных частично восстанавливало эти эффекты (табл. 2). Полученные данные указывают на существенное снижение функциональной активности АЦСС в семенниках, что связано с ослаблением каталитических потенций АЦ и ее сопряжения с G_s-белками.

В миокарде диабетических крыс наблюдали достоверное снижение ($P < 0.05$ в сравнении с контролем) стимулирующего влияния на АЦ норадреналина и изопротеренола, действующих преимущественно через β_1 - и β_2 -АР, и релаксина, полипептидного гормона инсулиновой группы, действующего через G_s-сопряженные релаксиновые рецепторы. При этом стимулирующие эффекты BRL-37344 и CL-316243, агонистов β_3 -АР, даже немного

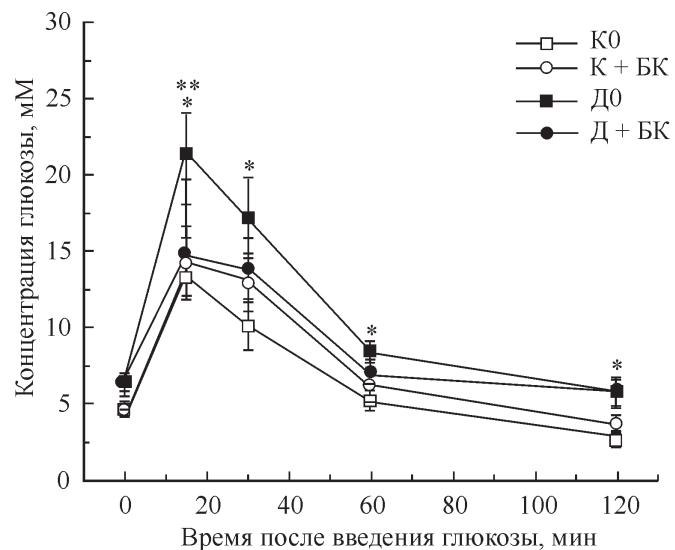


Рис. 2. Результаты инсулиноплюкозотolerантного теста у диабетических и контрольных крыс с лечением бромокриптином и без него.

* — достоверные различия между группами К0 и Д0, ** — между группами Д0 и Д+БК ($P < 0.05$).

повышались (рис. 3). Лечение БК полностью восстанавливало стимулирующие эффекты норадреналина и изопротеренола и частично — эффект релаксина (рис. 3). Эти данные указывают на нормализацию стимулирующих эффектов β -АР-агонистов и релаксина на АЦ в миокарде диабетических животных, леченных БК. В то же время длительная обработка БК контрольных крыс приводила к дисбалансу регуляции АЦ гормонами, что выражалось в повышении на 19 и 21 % стимулирующих эффектов норадреналина и изопротеренола в группе К+БК.

Таблица 2

Влияние лечения БК на базальную активность АЦ во фракциях плазматических мембран, выделенных из миокарда и семенников контрольных и диабетических крыс, и на ее стимуляцию ГИДФ и форсколином

Вариант опыта	Активность АЦ, пмоль цАМФ за 1 мин на 1 мг белка, $M \pm SD$			
	группа К0	группа К+БК	группа Д0	группа Д+БК
Миокард				
Базальная	29 ± 1	31 ± 1	32 ± 2	30 ± 2
ГИДФ, 10^{-5} М	92 ± 3 (63, 100 %)	88 ± 4 (57, 90 %)	78 ± 3^a (46, 73 %)	87 ± 2^b (57, 90 %)
Форсколин, 10^{-5} М	158 ± 4 (129, 100 %)	170 ± 6 (139, 108 %)	153 ± 4 (121, 94 %)	149 ± 2 (119, 92 %)
Семенники				
Базальная	20 ± 1	19 ± 2	16 ± 1^a	18 ± 1
ГИДФ, 10^{-5} М	46 ± 2 (26, 100 %)	49 ± 2 (30, 115 %)	31 ± 3^a (15, 58 %)	41 ± 1^b (23, 88 %)
Форсколин, 10^{-5} М	104 ± 3 (84, 100 %)	108 ± 6 (89, 106 %)	83 ± 5^a (67, 80 %)	89 ± 6 (71, 85 %)

Примечание. ^a Различия между группами К0 и Д0. ^b Различия между группами Д0 и Д+БК ($P < 0.05$). В скобках приведен прирост активности АЦ, вызванный ее стимуляцией ГИДФ и форсколином, над базальным уровнем АЦ, выраженный в абсолютных (пмоль цАМФ за 1 мин на 1 мг белка) и относительных значениях (в процентах). Прирост активности фермента в группе К0 принят за 100 %.

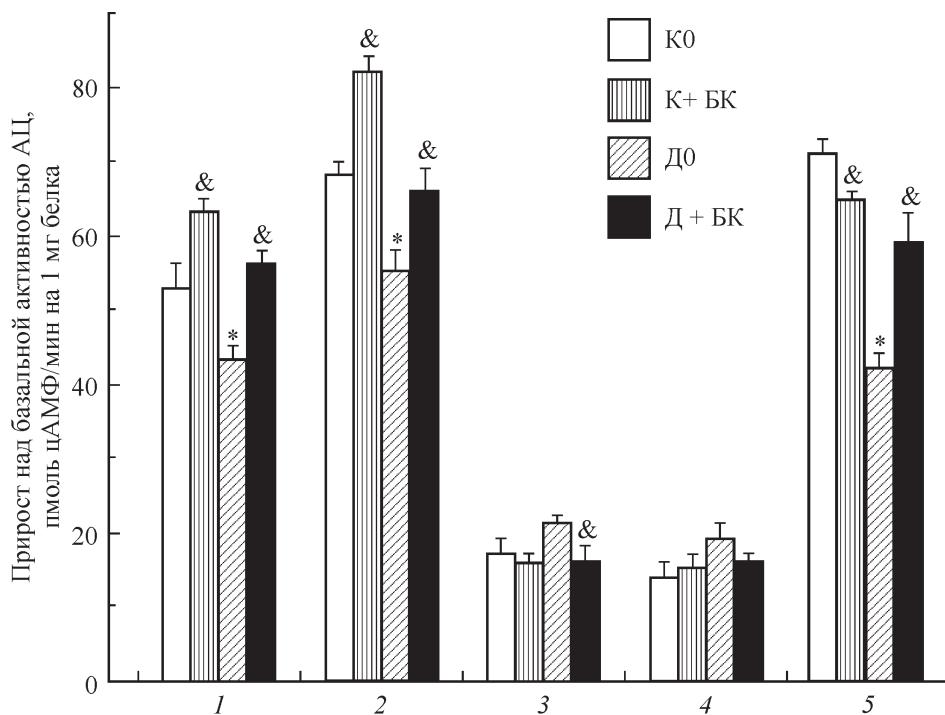


Рис. 3. Влияние лечения бромокриптином на стимулирующие аденилатциклазу (АЦ) эффекты гормонов в миокарде диабетических и контрольных крыс.

1 — норадреналин, 2 — изопротеренол, 3 — BRL-37344, 4 — CL-316243 (все — 10^{-5} М), 5 — релаксин (10^{-8} М). * — достоверные различия между группами К0 и Д0, & — между группами К0 и К + БК или Д0 и Д + БК ($P < 0.05$). Прирост активности — превышение над базальной активностью АЦ в присутствии гормона.

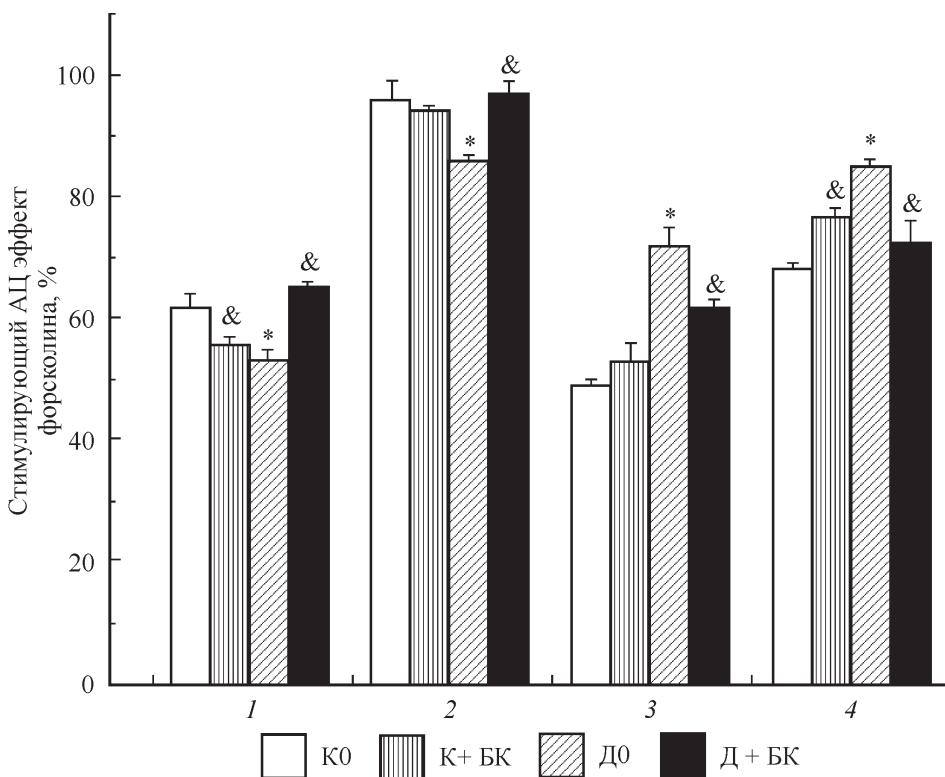


Рис. 4. Влияние лечения бромокриптином на ингибирование гормонами активности аденилатциклазы (АЦ), стимулированной фосфоркиолином, в миокарде и семенниках диабетических и контрольных крыс.

1 — норадреналин (10^{-5} М), миокард; 2 — BRL-37344 (10^{-5} М), миокард; 3 — соматостатин (10^{-6} М), миокард; 4 — соматостатин (10^{-6} М), семенники. Стимулирующий АЦ эффект фосфоркиolina в отсутствие гормонов принят за 100 %. * — достоверные различия между группами К0 и Д0, & — между группами К0 и К + БК или Д0 и Д + БК ($P < 0.05$).

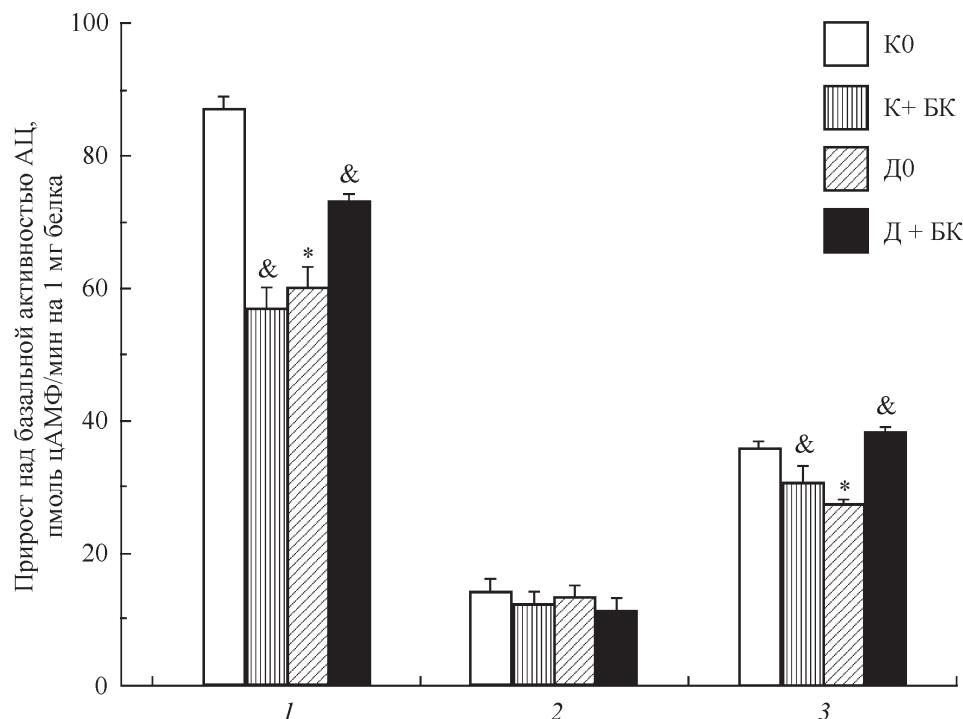


Рис. 5. Влияние лечения бромокриптином на стимулирующие аденилатциклазу (АЦ) эффекты гормонов в семенниках диабетических и контрольных крыс.

1 — ХГЧ (10^{-8} М), 2 — изопротеренол (10^{-5} М), 3 — PACAP-38 (10^{-6} М). * — достоверные различия между группами К0 и Д0, & — между группами К0 и К + БК или Д0 и Д + БК ($P < 0.05$). Прирост активности — превышение над базальной активностью АЦ в присутствии гормона.

Ингибирующий эффект норадреналина на стимулированную форсколином активность АЦ в миокарде диабетических крыс усиливался в сравнении с группой К0 ($P < 0.05$). Наряду с этим выявлялся (хотя и слабо выраженный) ингибирующий эффект β_3 -АР-агониста BRL-37344, который в контрольной группе отсутствовал (рис. 4). Ингибирующий эффект соматостатина в миокарде диабетических крыс снижался на 45 % в сравнении с группой К0. Лечение диабетических животных БК приводило к нормализации ингибирующих эффектов норадреналина и соматостатина и к исчезновению ингибирующего эффекта BRL-37344. Таким образом, лечение диабетических крыс БК приводит к частичному или полному восстановлению ингибирующих эффектов гормонов на АЦ, измененных в условиях СД2. Следует отметить, что в группе К+БК ингибирующий эффект норадреналина, напротив, усиливался в сравнении с контролем, хотя и незначительно (рис. 4).

Стимулирующие эффекты ХГЧ, структурного и функционального гомолога ЛГ, и PACAP-38 на активность АЦ в семенниках диабетических крыс были существенно снижены и частично (ХГЧ) или полностью (PACAP-38) восстанавливались при лечении БК (рис. 5). Длительная обработка здоровых крыс БК приводила к снижению стимулирующего АЦ эффекта ХГЧ и в незначительной степени снижала эффект PACAP-38. Стимулирующий эффект изопротеренола на активность АЦ в семенниках был выражен слабо и мало менялся в условиях СД2 и при лечении БК (рис. 5). Ингибирующий эффект соматостатина на стимулированную форсколином активность АЦ в семенниках диабетических крыс снижался вдвое и отчетливо восстанавливался при лечении БК. В группе К+БК ингибирующий эффект соматостатина ослабевал, что указывает на подавление соматостатино-

вых сигнальных путей в репродуктивной системе здоровых самцов крыс при их обработке БК (рис. 4). Таким образом, длительное лечение БК улучшает регуляторные эффекты гормонов на активность АЦСС в семенниках диабетических крыс, но при этом нарушает гормональную регуляцию у здоровых животных.

Обсуждение

Нами показано, что длительная (2 мес) терапия БК крыс с СД2, вызванным высокожировой диетой и обработкой СТЗ, восстанавливает у них энергетический обмен и повышает чувствительность тканей к инсулину. В сравнении с диабетическими крысами, не получавшими лечения, в группе Д+БК снижались уровень глюкозы и инсулина, толерантность к глюкозе, повышалась скорость ее утилизации. Полученные нами данные согласуются с результатами клинических исследований по применению БК для лечения пациентов с метаболическим синдромом и СД2 (Cincotta et al., 1999; Mahajan, 2009; Scranton, Cincotta, 2010; Mikhail, 2011; Garber et al., 2013), а также с результатами экспериментальных исследований по изучению влияния БК на гликометаболические показатели у крыс с метаболическим синдромом и аллоксановой моделью СД 1-го типа (СД1) (Nade et al., 2012; Kumar et al., 2013).

Впервые о гипогликемическом эффекте препарата БК (Cycloset, бромокриптина мезилат) было сообщено еще в 1999 г. (Cincotta et al., 1999). Лечение БК пациентов с СД2 приводило к снижению у них уровня постпрандиальной глюкозы и не вызывало повышения концентрации инсулина. В ходе дальнейших исследований было установлено, что длительная терапия БК пациентов с СД2 и

метаболическим синдромом приводит к снижению индекса инсулиновой резистентности, уровня гликированного гемоглобина, триглицеридов и ЛПНП-холестерина, что свидетельствует о нормализации у них углеводного и липидного обменов (Scranton, Cincotta, 2010). Лечение крыс с метаболическим синдромом, вызванным диетой с высоким содержанием фруктозы, с помощью БК, который вводили интраперitoneально в течение 6 нед в суточной дозе 10 мг/кг, вызывало снижение концентраций постпрандиальной глюкозы, инсулина и триглицеридов на 58, 39 и 48 % соответственно до их уровня у здоровых животных (Nade et al., 2012). По эффективности действия на гликометаболические показатели БК был сопоставим с такими широко используемыми антидиабетическими препаратами, как метформин и пиоглитазон. Неожиданным представляется тот факт, что применение БК совместно с метформином и пиоглитазоном не приводило к дальнейшему усилению его терапевтического эффекта (Nade et al., 2012).

На основе данных клинических и экспериментальных исследований было высказано предположение о том, что снижение инсулиновой резистентности и продукции глюкозы печенью в условиях терапии БК обусловлено восстановлением активности дофаминергической системы и функционально связанных с ней сигнальных каскадов в гипоталамических нейронах, вовлеченных в контроль чувствительности мозга и периферических тканей к инсулину (Scranton, Cincotta, 2010). В этой связи необходимо отметить, что дофаминергическая система мозга, в первую очередь D_2R -зависимые сигнальные каскады, мишени действия БК, опосредованно участвуют в контроле пищевого поведения и расхода энергии, являясь важнейшими регуляторами системного гомеостаза глюкозы (Kok et al., 2006). Способность БК восстанавливать чувствительность к инсулину в условиях СД2 может быть объяснена с позиций развиваемой в последние годы гипотезы о центральном генезе инсулиновой резистентности, в основе которой лежит представление о нарушениях в дофаминергической и других нейромедиаторных системах мозга как первопричинах преддиабета и СД2 (De la Monte et al., 2010; Shpakov, 2012). Установлено, что нарушения в сигнальной сети гипоталамуса, которые включают в себя снижение активности дофаминергической системы в гипоталамических нейронах, повышение активности норадренергической и серотонинергической сигнализации в вентромедиальном гипоталамусе, повышение концентрации нейропептида Y и кортиколибера в паравентрикулярных ядрах гипоталамуса, приводят к гиперактивации гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси и высвобождению кортизола, усиливают действие симпатической части нервной системы на печень, жировую ткань и сердечно-сосудистую систему (Liang, Cincotta, 2001; Cincotta, 2002; Gaziano et al., 2013). Повышение активности симпатической нервной системы в жировой ткани вызывает нарушения липидного метabolизма, липотоксичность, усиливает секрецию провоспалительных белков и, как следствие, ведет к развитию инсулиновой резистентности (Cusi, 2010). Повышение уровня кортизола и усиление симпатической регуляции в печени усиливает выброс и снижает захват глюкозы гепатоцитами, результатом чего являются постпрандиальная гипергликемия и в дальнейшем снижение чувствительности тканей к инсулину (Nielsen et al., 2004; Dicostanzo et al., 2006). Таким образом, восстановление дофаминергической системы мозга вследствие активации D_2R -агонистом БК препятствует

ослаблению сигнальных и регуляторных функций гипоталамуса и прерывает представленную выше цепь патологических изменений в ЦНС и на периферии.

Как известно, функции сердечно-сосудистой системы также непосредственно зависят от центральной сигнализации, в том числе от функционального состояния дофаминергической системы мозга, снижение активности которой приводит к гиперактивации симпатической нервной системы миокарда и вносит значительный вклад в развитие сердечно-сосудистых заболеваний (Vinik et al., 2011). Другими причинами дисфункций сердечно-сосудистой системы в условиях СД2 являются нарушения углеводного и липидного метаболизма, липотоксичность, окислительный стресс, инсулиновая резистентность и повышение содержания провоспалительных белков, которые ведут к повреждению клеток эндотелия сосудов, активации в них воспалительных процессов и образованию атеросклеротических бляшек (Schulz et al., 2011). Лечение БК диабетических пациентов является одним из подходов для предотвращения сосудистой патологии. Более того, как показали результаты клинических исследований и эксперименты с гипертензивными крысами, нарушение функций сердечно-сосудистой системы может быть веским основанием для применения БК при лечении СД2 (Scranton, Cincotta, 2010; Gaziano et al., 2013).

Поскольку одним из маркеров функционального состояния сердечно-сосудистой системы является активность АЦСС в миокарде, основной задачей исследования было изучение ее активности у крыс с СД2, получавших и не получавших БК. Ранее нами и другими авторами было показано, что регулируемая адренергическими агонистами и соматостатином АЦСС в миокарде крыс с различными моделями СД2 претерпевает значительные изменения (Huisamen et al., 2001; Шпаков и др., 2005, 2013; Mishra et al., 2011; Shpakov et al., 2012a, 2013). Было продемонстрировано снижение чувствительности АЦ к действию агонистов β -АР и ослабление ингибирующего влияния соматостатина на активность АЦСС. Нами было показано, что лечение крыс с неонатальной моделью СД2 интраназальным инсулином и интраназальным серотонином, которые повышают активность инсулиновой и серотонинергической систем мозга, не только улучшает гликометаболические показатели, но и частично восстанавливает активность АЦСС в миокарде (Shpakov et al., 2012a, 2012b).

В рамках предпринятого исследования показано, что у крыс с СД2, который вызывали высокожировой диетой и обработкой СТЗ, снижалась стимуляция АЦ изопротеренолом и норадреналином, действующими преимущественно через β_1 - и β_2 -АР, в то время как сигнализация через β_3 -АР сохранялась и даже немногим усиливалась. Это, как мы полагаем, связано с изменением соотношения между различными типами β -АР в миокарде диабетических крыс. Сходную картину наблюдали у пациентов с СД2 и метаболическим синдромом и при экспериментальном СД1, где передача сигналов через миокардиальные β_1 -АР существенно снижалась, в то время как β_3 -АР-сигнализация, напротив, возрастила (Matsuda et al., 1999; Moniotte et al., 2001; Rozec, Gauthier, 2006). Усиление функциональной активности β_3 -АР в диабетическом миокарде связано с запуском двух компенсаторных механизмов. Первый из них состоит в снижении стимулирующего влияния катехоламинов на активность АЦ, уровень которых существенно повышается в условиях диабетической кардиомиопатии (Dincer et al., 2001). В этой связи

следует отметить, что стимулирующий эффект катехоламинов на АЦ осуществляется в основном через β_1 - и β_2 -АР. Второй механизм заключается в компенсаторном усилении ослабленных в условиях СД2 NO-сигназных сигнальных путей, которые являются мишенью β_3 -агонистов (Rozec, Gauthier, 2006). Выявленное нами в диабетическом миокарде ослабление стимулирующего эффекта ГИДФ на активность АЦ также можно рассматривать как компенсаторную реакцию, направленную на снижение гиперактивации АЦСС в миокарде катехоламинами. Проведенное нами лечение диабетических животных БК приводило к частичному восстановлению β -АР-сигнализации, причем стимулирующие эффекты β_1/β_2 -агонистов на активность АЦ усиливались, а соответствующие эффекты β_3 -агонистов, напротив, снижались, что в конечном итоге вызывало восстановление соотношения β -АР-зависимых путей. Наряду с этим лечение БК в значительной степени восстанавливала стимулирующий эффект пептидного гормона релаксина, который вовлечен в контроль сократимости сосудов, регулирует процессы регенерации и дифференцирования кардиомиоцитов (Teichman et al., 2010). Полученные данные свидетельствуют о системном влиянии БК на стимулирующие АЦ сигнальные каскады в миокарде крыс с СД2. Это влияние может быть реализовано как на уровне регуляции экспрессии и функциональной активности гормональных рецепторов, так и на уровне регуляции функций G_s -белков, на что указывает повышение в группе Д+БК стимулирующего эффекта ГИДФ.

В миокарде диабетических крыс усиливался ингибиторный АЦ эффект норадреналина, реализуемый через α_2 -АР, сопряженные с G_i -белками. Наряду с этим выявлялся небольшой по величине ингибиторный эффект β_3 -агониста BRL-37344, который, как можно полагать, осуществляется через β_3 -АР, сопряженные с двумя типами G -белков — G_s и G_i . Усиление ингибиторного влияния адренергических агонистов на АЦСС миокарда в условиях СД2 может быть одним из компенсаторных механизмов, обеспечивающих защиту кардиомиоцитов от гиперактивации катехоламинами (Altan et al., 2007). Лечение БК снижало (норадреналин) или полностью подавляло (BRL-37344) ингибиторное влияние адренергических агонистов на АЦСС в миокарде. При этом в случае ингибиторного эффекта соматостатина, который снижался в диабетическом миокарде, лечение БК, напротив, его усиливало. Следует отметить, что лечение крыс с неонатальной моделью СД2 с помощью интраназального инсулина также приводило к восстановлению ингибиторного эффекта соматостатина на АЦСС в миокарде, ослабленного в условиях диабетической патологии (Shpakov et al., 2012a).

Нарушения функциональной активности гормональных систем в клетках Лейдига семенников, в первую очередь в чувствительной к гонадотропинам АЦСС, приводят к снижению их способности продуцировать тестостерон и являются факторами, вызывающими гипоандrogenемию и другие дисфункции репродуктивной системы в условиях СД2 (Шпаков, 2010). В рамках проведенного исследования было выявлено снижение базальной и стимулированной негормональными агентами (ГИДФ и форсколином) активности АЦ в семенниках, а также ослабление регуляторных эффектов стимуляторов (ХГЧ и РАСАР-38) и ингибиторов (соматостатин) АЦСС. Выявленные изменения в АЦСС семенников близки к таким у самцов крыс с СД1 и неонатальной моделью СД2

(Шпаков и др., 2009, 2010). Ранее было показано, что изменения в гормональной чувствительности АЦ к гонадотропинам положительно коррелируют со снижением уровня тестостерона у диабетических животных и ослаблением стимулирующего влияния люлиберина на синтез и секрецию тестостерона клетками Лейдига (Деркач и др., 2013). Предпринятое нами лечение диабетических животных БК приводило к восстановлению функциональной активности АЦСС в семенниках, что указывает на способность БК нормализовать гормональный статус мужской репродуктивной системы в условиях СД2. Следует отметить, что имеются клинические исследования, в которых доказана эффективность БК при лечении дисфункций мужской репродуктивной системы, вызванных гиперпролактинемией и ослаблением дофаминергической системы мозга, но эти дисфункции никак не связаны с диабетической патологией (Bolyakov, Paduch, 2011).

Достаточно неожиданные результаты были получены нами при изучении влияния БК на АЦСС миокарда и семенников у здоровых крыс. Так, в миокарде крыс группы К+БК усиливалась стимулирующие эффекты изопротеренола и норадреналина на активность АЦ, а в семенниках ослаблялись регуляторные эффекты активаторов (ХГЧ) и ингибиторов (соматостатин) АЦСС. Эти данные свидетельствуют о том, что гиперактивация дофаминергической системы мозга у здоровых крыс, так же как и ее ослабление при СД2, приводит к нарушению центральной регуляции функций сердечно-сосудистой и репродуктивной систем и вызывает в них компенсаторные изменения, которые проявляются в изменении реактивности АЦСС к гормонам. В этой связи необходимо отметить, что длительное (12 нед) воздействие на крыс Sprague-Dawley БК в суточной дозе 2 мг/кг приводило к снижению стимулирующего эффекта ЛГ на активность АЦ и подавляло продукцию тестостерона (Dirami, Cooke, 1998). Введение половозрелым крысам БК в течение 8 сут в суточной дозе 1 мг/кг снижало специфическое связывание рецепторов с ЛГ и уровень тестостерона в крови и семенниках (Pakarinen et al., 1994). В то же время у крыс с хронической почечной недостаточностью, как и в нашем случае, обработка БК приводила к нормализации ответа на ХГЧ. Наряду с этим повышался уровень тестостерона и восстанавливался сперматогенез (Yamamoto et al., 1997). Эти данные указывают на то, что восстанавливающий эффект БК на функции репродуктивной системы выявляется только при определенных патологиях, к которым, согласно нашим результатам, относится СД2.

Таким образом, нами впервые показано, что длительное лечение крыс с СД2, вызванным высокожировой диетой и обработкой СТЗ, с помощью D_2 -Агониста БК восстанавливает функциональную активность АЦСС в миокарде и семенниках диабетических животных, что связано с улучшением гликометаболических параметров и повышением чувствительности тканей к инсулину. Мы полагаем, что определенный вклад вносит и вызываемое БК восстановление интегративной сигнальной сети мозга, нарушенной в условиях СД2. Полученные данные указывают на то, что БК является эффективным препаратом для лечения СД2 и его осложнений со стороны сердечно-сосудистой и репродуктивной систем, представляющих опасность для жизнедеятельности и социального статуса пациентов с этими патологиями.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российской научного фонда (проект 14-15-00413).

Список литературы

- Деркач К. В., Мойсюк И. В., Чистякова О. В., Шпаков А. О. 2013. Андрогенная недостаточность у самцов крыс с долгосрочным неонатальным стрептозотоциновым диабетом. Бюл. эксперим. биол. мед. 155 (3) : 315—318. (Derkach K. V., Moyseyuk I. V., Chistyakova O. V., Shpakov A. O. 2013. Androgen deficiency in male rats with prolonged neonatal streptozotocin diabetes. Bull. Exp. Biol. Med. 155 (3) : 339—342.)
- Шпаков А. О. 2010. Функциональное состояние гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы при сахарном диабете. Пробл. эндокринол. 56 (5) : 23—29. (Shpakov A. O. 2010. Functional state of hypothalamo-pituitary-gonadal system in diabetes mellitus. Probl. Endokrinol. 56 (5) : 23—29.)
- Шпаков А. О. 2012. Функциональное состояние регулируемых биогенными аминами и ацетилхолином сигнальных систем мозга при сахарном диабете. Цитология. 54 (6) : 459—468. (Shpakov A. O. 2012. The functional state of biogenic amines- and acetylcholine-regulated signalling systems of the brain in diabetes mellitus. Tsitologiya. 54 (6) : 459—468.)
- Шпаков А. О., Бондарева В. М., Деркач К. В., Перцева М. Н. 2009. Исследование регулируемой гормонами аденилатциклазной системы в репродуктивных тканях крыс при экспериментальном сахарном диабете. Технол. живых систем. 7 (8) : 10—21. (Shpakov A. O., Bondareva V. M., Derkach K. V., Pertseva M. N. 2009. The study of hormone-regulated adenylyl cyclase system in the reproductive tissues of rats with experimental diabetes mellitus. Tekhnol. Zhiv. System. 7 (8) : 10—21.)
- Шпаков А. О., Деркач К. В. 2012. Пептидергические сигнальные системы мозга при сахарном диабете. Цитология. 54 (10) : 733—741. (Shpakov A. O., Derkach K. V. 2013. Peptidergic signaling brain systems in diabetes mellitus. Cell Tissue Biol. 7 (3) : 212—220.)
- Шпаков А. О., Деркач К. В., Бондарева В. М. 2010. Снижение чувствительности аденилатциклазы и гетеротримерных G-белков к действию хорионического гонадотропина и пептидных гормонов в тканях репродуктивной системы крыс с экспериментальным диабетом 2-го типа. Биomed. химия. 56 (6) : 700—709. (Shpakov A. O., Derkach K. V., Bondareva V. M. 2010. A decrease of the sensitivity of adenylyl cyclase and heterotrimeric G proteins to chorionic gonadotrophin and peptide hormones action in the tissues of reproductive system in rats with experimental type 2 diabetes. Biochemistry (Moscow). Suppl. Ser. B: Biomed. Chem. 4 (3) : 258—263.)
- Шпаков А. О., Деркач К. В., Чистякова О. В., Мойсюк И. В., Бондарева В. М. 2013. Влияние длительного диабета, вызванного обработкой стрептозотоцином 1,5-месячных крыс, на функциональную активность аденилатциклазной системы. Цитология. 55 (9) : 609—618. (Shpakov A. O., Derkach K. V., Chistyakova O. V., Moyseyuk I. V., Bondareva V. M. 2014. The effect of long-term diabetes mellitus induced by treatment with streptozotocin in 6-week-old rats on functional activity of the adenylyl cyclase system. Cell Tissue Biol. 8 (1) : 68—79.)
- Шпаков А. О., Кузнецова Л. А., Плеснева С. А., Гурьянов И. А., Перцева М. Н. 2005. Молекулярные причины изменения чувствительности аденилатциклазной сигнальной системы сердечной мышцы к биогенным аминам при экспериментальном стрептозотоциновом диабете. Цитология. 47 (6) : 540—548. (Shpakov A. O., Kuznetsova L. A., Plesneva S. A., Guryanov I. A., Pertseva M. N. 2005. Molecular causes of changes in sensitivity of adenylyl cyclase signaling system to biogenic amines in the heart muscle during experimental streptozotocin diabetes. Tsitologiya. 47 (6) : 540—548.)
- Altan V. M., Arioglu E., Guner S., Ozcelikay A. T. 2007. The influence of diabetes on cardiac β -adrenoceptor subtypes. Heart Fail. Rev. 12 : 58—65.
- Bolyakov A., Paduch D. A. 2011. Prolactin in men's health and disease. Curr. Opin. Urol. 21 : 527—534.
- Cincotta A. H. 2002. Hypothalamic role in insulin resistance and insulin resistance syndrome. In: Frontiers in animal diabetes research. London: Taylor and Francis. 271—312.
- Cincotta A. H., Meier A. H., Cincotta M. 1999. Bromocriptine improves glycaemic control and serum lipid profile in obese type 2 diabetic subjects: a new approach in the treatment of diabetes. Expert. Opin. Investig. Drugs. 8 : 1683—1707.
- Cusi K. 2010. The role of adipose tissue and lipotoxicity in the pathogenesis of type 2 diabetes. Curr. Diab. Rep. 10 : 306—315.
- De la Monte S. M., Tong M., Nguyen V., Setshedi M., Longato L., Wands J. R. 2010. Ceramide-mediated insulin resistance and impairment of cognitive-motor functions. J. Alzheimers Dis. 21 : 967—984.
- Dicostanzo C. A., Dardevet D. P., Neal D. W., Lautz M., Allen E., Snead W., Cherrington A. D. 2006. Role of the hepatic sympathetic nerves in the regulation of net hepatic glucose uptake and the mediation of the portal glucose signal. Amer. J. Physiol. 290 : E9—E16.
- Dincer U. D., Bidasee K. R., Guner S., Tay A., Ozcelikay A. T., Altan V. M. 2001. The effect of diabetes on expression of β_1 -, β_2 - and β_3 -adrenoreceptors in rat hearts. Diabetes. 50 : 455—461.
- Dirami G., Cooke B. A. 1998. Effect of a dopamine agonist on luteinizing hormone receptors, cyclic AMP production and steroidogenesis in rat Leydig cells. Toxicol. Appl. Pharmacol. 150 : 393—401.
- Garber A. J., Blonde L., Bloomgarden Z. T., Handelsman Y., Dagogo-Jack S. 2013. The role of bromocriptine-QR in the management of type 2 diabetes expert panel recommendations. Endocr. Pract. 19 : 100—106.
- Gaziano J. M., Cincotta A. H., Vinik A., Blonde L., Bohannon N., Scranton R. 2012. Effect of bromocriptine-QR (a quick-release formulation of bromocriptine mesylate) on major adverse cardiovascular events in type 2 diabetes subjects. J. Amer. Heart Assoc. 1 (5) : e002279. doi: 10.1161/JAHA.112.002279.
- Huisamen B., Marais E., Genade S., Lochner A. 2001. Serial changes in the myocardial (-adrenergic signalling system in two models of non-insulin dependent diabetes mellitus. Mol. Cell. Biochem. 219 : 73—82.
- Isidro M. L. 2012. Sexual dysfunction in men with type 2 diabetes. Postgrad. Med. J. 88 : 152—159.
- Kok P., Roelfsema F., Frolich M., van Pelt J., Stokkel M. P., Meinders A. E., Pijl H. 2006. Activation of dopamine D₂ receptors simultaneously ameliorates various metabolic features of obese women. Amer. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 291 : E1038—E1043.
- Kumar V. S. H., Vinutha M. B., Aithal S., Baleed S. R., Patil U. N. 2013. Bromocriptine, a dopamine (d2) receptor agonist, used alone and in combination with glipizide in sub-therapeutic doses to ameliorate hyperglycaemia. J. Clin. Diagn. Res. 7 : 1904—1907.
- Liang Y., Cincotta A. H. 2001. Increased responsiveness to the hyperglycemic, hyperglucagonemic and hyperinsulinemic effects of circulating norepinephrine in ob/ob mice. Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. 25 : 698—704.
- Lustman P., Clouse R. 2005. Depression in diabetic patients: the relationship between mood and glycemic control. J. Diabetes Complications. 19 : 113—122.
- Mahajan R. 2009. Bromocriptinemesylate: FDA-approved novel treatment for type-2 diabetes. Indian J. Pharmacol. 41 : 197—198.
- Matsuda N., Hattori Y., Gando S., Akaishi Y., Kemmotsu O., Kanno M. 1999. Diabetes-induced down-regulation of β_1 -AR mRNA expression in rat heart. Biochem. Pharmacol. 58 : 881—885.
- Matthews D. R., Hosker J. P., Rudenski A. S., Naylor B. A., Treacher D. F., Turner R. C. 1985. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. Diabetologia. 28 : 412—419.
- Mikhail N. 2011. Quick-release bromocriptine for treatment of type 2 diabetes. Curr. Drug Deliv. 8 : 511—516.
- Mishra P. K., Awe O., Metreveli N., Qipshidze N., Joshua I. G., Tyagi S. C. 2011. Exercise mitigates homocysteine —

- β_2 -adrenergic receptor interactions to ameliorate contractile dysfunction in diabetes. *Int. J. Physiol. Pathophysiol. Pharmacol.* 3 : 97—106.
- Moniotte S., Kobzik L., Feron O., Trochu J. N., Gauthier C., Balligand J. L. 2001. Upregulation of β_3 -adrenoceptors and altered contractile response to inotropic amines in human failing myocardium. *Circulation.* 103 : 1649—1655.
- Nade V. S., Kawale L. A., Todmal U. B., Tajanpure A. B. 2012. Effect of bromocriptine on cardiovascular complications associated with metabolic syndrome in fructose fed rats. *Indian J. Pharmacol.* 44 : 688—693.
- Nielsen M. F., Caumo A., Chandramouli V., Schumann W. C., Cobelli C., Landau B. R., Vilstrup H., Rizza R. A., Schmitz O. 2004. Impaired basal glucose effectiveness but unaltered fasting glucose release and gluconeogenesis during short-term hypercortisolemia in healthy subjects. *Amer. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 286 : E102—E110.
- Nogueiras R., Wiedmer P., Perez-Tilve D., Veyrat-Durebex C., Keogh J. M., Sutton G. M., Pfluger P. T., Castaneda T. R., Neischen S., Hofmann S. M., Howles P. N., Morgan D. A., Benoit S. C., Szanto I., Schrott B., Schürmann A., Joost H. G., Hammond C., Hui D. Y., Woods S. C., Rahmouni K., Butler A. A., Farooqi I. S., O’Rahilly S., Rohner-Jeanrenaud F., Tschöp M. H. 2007. The central melanocortin system directly controls peripheral lipid metabolism. *J. Clin. Invest.* 117 : 3475—3488.
- Pakarinen P., Niemimaa T., Huhtaniemi I. T., Warren D. W. 1994. Transcriptional and translational regulation of LH, prolactin and their testicular receptors by hCG and bromocriptine treatments in adult and neonatal rats. *Mol. Cell. Endocrinol.* 101 : 37—47.
- Pitocco D., Tesauro M., Alessandro R., Ghirlanda G., Cardillo C. 2013. Oxidative stress in diabetes: implications for vascular and other complications. *Int. J. Mol. Sci.* 14 : 21 525—21 550.
- Rozec B., Gauthier C. 2006. β_3 -adrenoceptors in the cardiovascular system: putative roles in human pathologies. *Pharmacol. Ther.* 111 : 652—673.
- Schulz E., Gori T., Munzel T. 2011. Oxidative stress and endothelial dysfunction in hypertension. *Hypertens. Res.* 34 : 665—673.
- Scranton R., Cincotta A. 2010. Bromocriptine—unique formulation of a dopamine agonist for the treatment of type 2 diabetes. *Expert. Opin. Pharmacother.* 11 : 269—279.
- Shpakov A. O. 2012. Alterations in hormonal signaling systems in diabetes mellitus: origin, causality and specificity. *Endocrinol. Metab. Syndr.* 1 (2) : <http://dx.doi.org/10.4172/2161-1017.1000e106>.
- Shpakov A. O., Chistyakova O. V., Derkach K. V., Moiseyuk I. V., Bondareva V. M. 2012a. Intranasal insulin affects adenylyl cyclase system in rat tissues in neonatal diabetes. *Central Eur. J. Biol.* 7 : 33—47.
- Shpakov A. O., Derkach K. V. 2013. The functional state of hormone-sensitive adenylyl cyclase signaling system in diabetes mellitus. *J. Signal Transduction.* 2013 : 594213. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/594213>.
- Shpakov A. O., Derkach K. V., Chistyakova O. V., Sukhov I. B., Shipilov V. N., Bondareva V. M. 2012b. The brain adenylyl cyclase signaling system and cognitive functions in rat with neonatal diabetes under the influence of intranasal serotonin. *J. Metab. Syndr.* 1 : <http://dx.doi.org/10.4172/jms.1000104>.
- Shpakov A., Derkach K., Moiseyuk I., Chistyakova O. 2013. Alterations of hormone-sensitive adenylyl cyclase system in the tissues of rats with long-term streptozotocin diabetes and the influence of intranasal insulin. *Dataset Papers in Science.* 2013 : 698435. <http://dx.doi.org/10.7167/2013/698435>.
- Shpakov A. O., Shpakova E. A., Tarasenko I. I., Derkach K. V., Vlasov G. P. 2010. The peptides mimicking the third intracellular loop of 5-hydroxytryptamine receptors of the types 1B and 6 selectively activate G proteins and receptor-specifically inhibit serotonin signaling via the adenylyl cyclase system. *Int. J. Pept. Res. Ther.* 16 : 95—105.
- Su J., Zhou L., Kong X., Yang X., Xiang X., Zhang Y., Li X., Sun L. 2013. Endoplasmic reticulum is at the crossroads of autophagy, inflammation, and apoptosis signaling pathways and participates in the pathogenesis of diabetes mellitus. *J. Diabetes Res.* 2013 : 193461.
- Teichman S. L., Unemori E., Teerlink J. R., Cotter G., Metra M. 2010. Relaxin: review of biology and potential role in treating heart failure. *Curr. Heart Fail. Rep.* 7 : 75—82.
- Vinik A. I., Maser R. E., Ziegler D. 2011. Autonomic imbalance: prophet of doom or scope for hope? *Diabet. Med.* 28 : 643—651.
- Yamamoto Y., Sofikitis N., Miyagawa I. 1997. Effects of erythropoietin, bromocriptine and hydralazine on testicular function in rats with chronic renal failure. *Andrologia.* 29 : 141—144.
- Zirkin B. R., Chen H. 2000. Regulation of Leydig cell steroidogenic function during aging. *Biol. Reprod.* 63 : 977—981.

Поступила 27 VI 2014

**THE INFLUENCE OF TWO-MONTH TREATMENT WITH BROMOCRYPTINE
ON ACTIVITY OF THE ADENYLYL CYCLASE SIGNALING SYSTEM
IN THE MYOCARDIUM AND TESTES OF RATS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS**

K. V. Derkach, V. M. Bondareva, I. V. Moiseyuk, A. O. Shpakov¹

I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry RAS, St. Petersburg;

¹ e-mail: alex_shpakov@list.ru

One of the common complications of type 2 diabetes mellitus (DM2) are cardiovascular diseases and dysfunctions of the reproductive system, indicating the urgency of developing new approaches to their correction. Last years for the treatment of DM2 began to use bromocriptine (BC), the agonist of type 2 dopamine receptors, which not only restores the energy metabolism, but also prevents the development of cardiovascular diseases. However, the mechanisms and targets of BC action are poorly understood. The purpose of this study was to investigate the effect of BC treatment on functional activity of adenylyl cyclase signaling system (ACSS) in the myocardium and testes of male rats with DM2, which is caused by high-fat diet and treatment with streptozotocin (25 mg/kg). The treatment with BC (60 days, orally at a dose of 0.6 mg/kg once every two days) was started 90 days after the beginning of high-fat diet. Diabetic rats had an increased body weight, elevated triglycerides level, impaired glucose tolerance, and insulin resistance. The treatment with BC resulted in the restoration of glycometabolic indicators and in the improvement of insulin sensitivity. Adenylyl cyclase (AC) stimulating effects of guanylylimidodiphosphate (GppNHP), relaxin, and agonists of β -adrenergic receptors (β -AR) — isoproterenol and norepinephrine were decreased in the myocardium of the diabetic rats. The corresponding effects of the β_3 -agonists BRL-37344 and CL-316243 was preserved. The inhibitory effect of somatostatin on forsko-

lin-stimulated AC activity was attenuated, while the inhibitory effect of noradrenaline mediated through α_2 -AR increased. The treatment with BC resulted in the normalization of the adrenergic signaling in the myocardium and partially restoration of AC effects of relaxin and somatostatin. In the testes of diabetic rats, the basal and stimulated by GppNHp, forskolin, human chorionic gonadotropin and pituitary AC-activating polypeptide AC activity were decreased, and the inhibitory effect of somatostatin was attenuated. The changes in testicular ACSS in the case of BC treatment were weakly expressed. Thus, long-term BC treatment restores the functional activity of ACSS in the myocardium and testes of diabetic rats that underlies the therapeutic effect of BC on functions of the cardiovascular and reproductive systems disturbed in DM2 and should be considered when developing strategies for treatment type 2 diabetes and its complications.

Key words: adrenergic agonist, adenylyl cyclase, bromocryptine, gonadotropin, dyslipidemia, insulin resistance, myocardium, norepinephrine, testes, somatostatin, glucose tolerance.