

СОХРАНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ Ca^{2+} -АТФ-АЗЫ САРКОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА КАРДИОМИОЦИТОВ В ИШЕМИЗИРОВАННОМ МИОКАРДЕ ПРИ НЕБОЛЬШОМ СРОКЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Кондратьева Д. С., Афанасьев С. А., Канев А. Ф., Козлов Б. Н.

Цель. Исследовать уровень Ca^{2+} -АТФ-азы саркоплазматического ретикулума (СР) в миокарде человека при ишемической болезни сердца (ИБС) и при ИБС, ассоциированной с сахарным диабетом (СД) II типа, а также у животных с постинфарктным кардиосклерозом, сочетанным с СД.

Материал и методы. Работа выполнена на биопсийном материале сердца пациентов и крыс с хронической ишемией миокарда, сочетанной с СД. Фрагмент ушка правого предсердия (биопсийный материал) иссекали на стадии подключения аппарата искусственного кровообращения. Постинфарктный кардиосклероз (ПИКС) формировался в течение 6 недель после окклюзии коронарной артерии. СД развивался в течение 6 недель после внутрибрюшинной инъекции стрептозотоцина (60 мг/кг). Уровень Ca^{2+} -АТФ-азы определяли при помощи иммуноблоттинга.

Результаты. Обнаружено, что в обеих группах были пациенты, миокард которых содержал высокий уровень Ca^{2+} -АТФ-азы и, пациенты с низким содержанием этого белка. При этом миокард пациентов с ИБС, имеющих "высокое содержание" Ca^{2+} -АТФ-азы, содержал на $26,6 \pm 0,53\%$ ($p < 0,05$) меньше исследуемого белка, чем миокард больных ИБС с СД. Сравнение пациентов с "низким содержанием" Ca^{2+} -АТФ-азы не показало статистически значимой разницы между группами. Определение содержания Ca^{2+} -АТФ-азы в миокарде животных показало, что ишемическое и диабетическое ремоделирование миокарда приводит к снижению экспрессии Ca^{2+} -АТФ-азы СР до $38,6 \pm 0,92\%$ и $49 \pm 2,71\%$, соответственно. Сочетанное формирование этих патологий характеризуется наименьшим снижением исследуемого белка и составило $52,3 \pm 2,6\%$ от контрольных значений.

Заключение. Миокард больных ИБС, а также и крыс с ПИКС характеризуется более высоким уровнем Ca^{2+} -АТФ-азы при наличии СД с небольшим сроком заболевания.

Российский кардиологический журнал 2014, 12 (116): 59–63

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2014-12-59-63>

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет, Ca^{2+} -АТФ-аза саркоплазматического ретикулума.

ФГБНУ Научно-исследовательский институт кардиологии, Томск, Россия.

Кондратьева Д. С.* — к.б.н., н.с. лаборатории молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики, Афанасьев С. А. — д.м.н., профессор, руководитель лаборатории молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики, Канев А. Ф. — студент 5-го курса СибГМУ, Козлов Б. Н. — д.м.н., заведующий отделением сердечно-сосудистой хирургии.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
dina@cardio-tomsk.ru

АТФ — аденозинтрифосфорная кислота, ИБС — ишемическая болезнь сердца, ПИКС — постинфарктный кардиосклероз, СД — сахарный диабет, СР — саркоплазматический ретикулум, NYHA — New York Heart Association.

Рукопись получена 24.11.2014

Рецензия получена 26.11.2014

Принята к публикации 03.12.2014

MAINTENANCE OF Ca^{2+} -ATP-ASE AMOUNT IN SARCOPLASMATIC RETICULUM CARDIOMYOCYTES IN ISCHEMIC MYOCARDIUM DURING SHORT DURATION OF DIABETES MELLITUS COURSE

Kondratyeva D. S., Afansyev S. A., Kanev A. F., Kozlov B. N.

Aim. To study the level of Ca^{2+} -ATP-ase of sarcoplasmatic reticulum (SR) in human myocardium in ischemic heart disease (CHD) and in CHD with diabetes mellitus 2nd type (DM), and also in animals with postinfarction cardiosclerosis with DM.

Material and methods. The study performed on biopsy material of the hearts from patients and rats with chronic ischemic heart disease with DM. A piece of left atrial appendage (biopsy material) was cut away during the period of the artificial circulation device setup. Postinfarction cardiosclerosis (PICS) had being formed during 6 weeks after coronary artery occlusion. DM developed during 6 weeks after intraperitoneal injection of streptozotocine (60 mg/kg). The level of Ca^{2+} -ATP-ase was measured by immunoblotting.

Results. It was shown that in both groups there were patients, whose myocardium contained high level of Ca^{2+} -ATP-ase and patients with low levels of this protein. At the same time myocardium of patients with CHD having high level of Ca^{2+} -ATP-ase, contained by $26,6 \pm 0,53\%$ ($p < 0,05$) more of the protein studied, than myocardium of CHD patients with DM. Comparison of low Ca^{2+} -ATP-ase level patients did not

show statistically significant difference between groups. Measurement of Ca^{2+} -ATP-ase in animals' myocardium showed that ischemic and diabetic remodeling of myocardium leads to the decrease of Ca^{2+} -ATP-ase CP to $38,6 \pm 0,92\%$ and $49 \pm 2,71\%$, resp. Concomitant development of these pathologies characterizes by the lowest amount of the protein studied and is $52,3 \pm 2,6\%$ from controls.

Conclusion. Myocardium of CHD patients, and rats with PICS shows higher level of Ca^{2+} -ATP-ase with DM with short disease duration.

Russ J Cardiol 2014, 12 (116): 59–63

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2014-12-59-63>

Key words: ischemic heart disease, diabetes mellitus, Ca^{2+} -ATP-ase of sarcoplasmatic reticulum.

FSBSI Scientific-Research Institute for Cardiology, Tomsk, Russia.

Известно, что сахарный диабет (СД) утяжеляет течение сердечно-сосудистой патологии и является самостоятельным фактором, провоцирующим нарушения сердечного ритма. Так, для пациентов, имеющих СД 2-го типа, характерна большая частота хронических и пароксизмальных фибрилляций предсер-

дий (ФП), желудочковых экстрасистол (ЖЭ) высоких градаций и их сочетание [1, 2]. Более того, результаты клинического исследования VALURE (Valsartan Antihypertensive Long — Term Use Evaluation) показали, что среди больных гипертонической болезнью с впервые выявленным СД частота развития ФП

достоверно выше, чем среди лиц без нарушений углеводного обмена [3]. В то же время в литературе существуют данные о парадоксальных эффектах повышения резистентности к ишемии у животных с моделированным СД [4]. Предыдущими нашими работами также было показано, что на ранних стадиях развития коронарной недостаточности индуцирование СД способствует нормализации сократительной активности папиллярных мышц крыс [5]. Более того, было обнаружено, что у пациентов с ИБС, сочетанной с СД с небольшим сроком заболевания, лучше сохраняется функциональная активность саркоплазматического ретикулума в сравнении с больными ИБС без СД [6].

Принято считать, что неблагоприятное развитие ИБС при СД обусловлено специфическими метаболическими расстройствами, усугубляющими дисбаланс внутриклеточных процессов, следствием которых является снижение сократительной способности кардиомиоцитов и их электрическая нестабильность. Как известно, при хронической ишемии так же, как и при диабетической кардиомиопатии происходит нарушение внутриклеточного транспорта ионов кальция, основным звеном которого является уменьшение Ca^{2+} -депонирующих свойств саркоплазматического ретикулума (СР) кардиомиоцитов [7, 8]. Это может быть связано с уменьшением активности и/или экспрессии Ca^{2+} -АТФ-азы СР. В результате происходит перегрузка Ca^{2+} кардиомиоцитов, которая может стать триггером эктопической активности клеток и, соответственно, вызывать аритмии. Действительно, и у пациентов, и в экспериментах на животных показано, что ремоделирование миокарда в условиях коронарной недостаточности и диабетического поражения сопровождается снижением содержания Ca^{2+} -АТФ-азы СР в миокарде [7, 9]. Однако совершенно недостаточно данных об изменении экспрессии этого белка при сочетанном развитии сердечной недостаточности и СД.

Цель работы: исследовать уровень Ca^{2+} -АТФ-азы СР в миокарде человека при ИБС и при ИБС, ассоциированной с СД II типа, а также у животных с постинфарктным кардиосклерозом, сочетанным с СД.

Материал и методы

Исследование было выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинской декларации. Протокол исследования был одобрен этическим комитетом НИИ кардиологии. До включения в исследование было получено письменное согласие пациентов. Экспериментальная часть работы была выполнена в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» Приказ Министе-

ства Здравоохранения СССР № 755 от 12 августа 1977г.

В исследование включили 2 группы пациентов. В I группу были отобраны 14 пациентов с диагнозом; хроническая коронарная недостаточность, стенокардия напряжения III-IV класса по NYHA с мульти-сосудистым поражением коронарных артерий. Во II группу вошли 13 больных хронической ИБС (III-IV класса по NYHA), ассоциированной с СД II типа. Длительность заболевания СД II типа составляла на момент исследования 1-3 года. Фракция выброса левого желудочка у больных обеих групп составляла $49,0 \pm 17,3\%$ ($M \pm \sigma$). Средний возраст пациентов был $50,6 \pm 2,4$ лет. Всем пациентам была выполнена операция аортокоронарного шунтирования с использованием техники искусственного кровообращения. Биопсийный материал (фрагмент ушка правого предсердия) иссекали на стадии подключения аппарата искусственного кровообращения, затем замораживали и хранили до проведения исследования в низкотемпературном холодильнике при -80°C .

Патологические состояния были смоделированы на 34 крысах-самцах линии Вистар, массой тела 180-200 г. Развитие СД индуцировали однократным введением стрептозотоцина («Sigma», США) в дозе 60 мг/кг (внутрибрюшинно, разведенного ex tempore 0,01 моль/л цитратным буфером, pH 4,5) [10]. СД верифицировали по увеличению концентрации глюкозы в крови крыс и снижению массы тела более чем на 30% по сравнению с животными, которым вводили вместо препарата его растворитель — цитратный буфер. Концентрацию глюкозы в сыворотке крови определяли при помощи ферментно-колориметрического теста («Biocon Diagnostic», Германия). Исследование сердца животных проводили через 6 недель после индукции диабета.

Постинфарктный кардиосклероз (ПИКС) развивался у животных через 6 недель после наложения лигатуры в верхней трети левой нисходящей коронарной артерии [5]. Для моделирования сочетанной патологии животным через 2 недели после коронароокклюзии моделировали СД, как описано выше [5].

Были сформированы следующие группы животных: контрольная — интактные животные ($n=8$), группа СД ($n=8$), группа ПИКС ($n=8$) и группа животных с сочетанной патологией ПИКС+СД ($n=10$). Группа ложнооперированных животных в этой работе не представлена, поскольку по предварительным исследованиям нами не были обнаружены различия с интактной группой по изучаемым параметрам.

Определение Ca^{2+} -АТФ-азы СР проводили при помощи метода иммуноблоттинга. Исследуемые образцы ткани (~ 30 мг) гомогенизировали в лизирующем буфере (50 mM Tris-Cl, pH 7,4 содержащий 150 mM NaCl, 1% CHAPS, 20 mM NaF, 1 mM Na_3VO_4 ,

1х ингибитор протеаз и 1х ингибитор фосфатаз) при помощи гомогенизатора (T10basic ULTRA-TURRAX). Затем в гомогенатах образцов разрушали мембраны клеток с использованием ультразвукового гомогенизатора Sonopuls (Bandelin). После этого образцы центрифугировали при 16 000 g в течение 25 мин при 4°С. Надосадочную жидкость замораживали и хранили при -80°С.

Разделение белков проводили в 4% концентрирующем и 6% разделяющем полиакриламидных гелях по методу Лэммли. Электрофорез проводили в камере Mini-PROTEAN® II (BioRad) при постоянном напряжении 75В в концентрирующем геле, и в разделяющем геле — при 120В. Перенос белков из геля на нитроцеллюлозную мембрану (Sigma) осуществляли методом полусухого электроблоттинга при 60 V. После переноса белков на мембрану проводили ее инкубацию с первичными моноклональными антителами специфичными к белку Ca^{2+} -АТФ-азы (Sigma). Затем мембрану инкубировали с вторичными антителами, конъюгированными с пероксидазой хрена. Для визуализации результатов эксперимента использовали метод колориметрической детекции при помощи BCIP/NBT (Sigma). Количество общего белка в образце определяли в ультрафиолетовом свете (280 нм) на спектрофотометре (NanoVueTM UV/Visible, Thermo Fisher Scientific).

Полученные данные обрабатывали статистически ($M \pm SEM$), для разделения групп на подгруппы с “высоким содержанием белка” и “низким содержанием” использовали метод кластерного анализа данных. Достоверность различий между группами и подгруппами оценивали по непараметрическому критерию U Манна-Уитни.

Результаты

Исследования, выполненные на биопсийном материале миокарда пациентов, показали, что в обеих группах были пациенты с высоким и низким содержанием белка Ca^{2+} -АТФ-аза CP или SERCA2a в миокарде. По этому признаку каждую из групп пациентов разделили при помощи кластерного анализа данных на подгруппы с “высоким содержанием” Ca^{2+} -АТФ-азы и с “низким содержанием” этого белка (табл. 1).

В I группе 7 пациентов имели “высокое содержание” Ca^{2+} -АТФ-азы, среднее значение которого по подгруппе составило $15,32 \pm 1,2$ ед./мг белка, и 6 пациентов были с “низким содержанием” белка со средним значением $4,53 \pm 1,01$ ед./мг. Во II группе пациентов, имеющих ИБС, ассоциированную с СД, “высокое содержание” белка наблюдалось у 11 больных и составило $20,87 \pm 2,22$ ед./мг, “низкое содержание” белка было у 12 пациентов, среднее значение этого показателя составило $7,05 \pm 0,92$ ед./мг (табл. 1). Обнаруженное расщепление групп на подгруппы

Таблица 1
Выраженность различий между I и II группами пациентов в зависимости от содержания Ca^{2+} -АТФ-азы ($M \pm SD$)

Подгруппы	Группы пациентов	
	I (ИБС)	II (ИБС+СД)
Высокое содержание Ca^{2+} -АТФ-азы, ед./мг белка	$15,32 \pm 4,4$	$20,87 \pm 7,38^*$
Низкое содержание Ca^{2+} -АТФ-азы, ед./мг белка	$4,53 \pm 2,49$	$7,05 \pm 3,19$

Примечание: * — $p < 0,05$ достоверное различие между I и II группами пациентов.

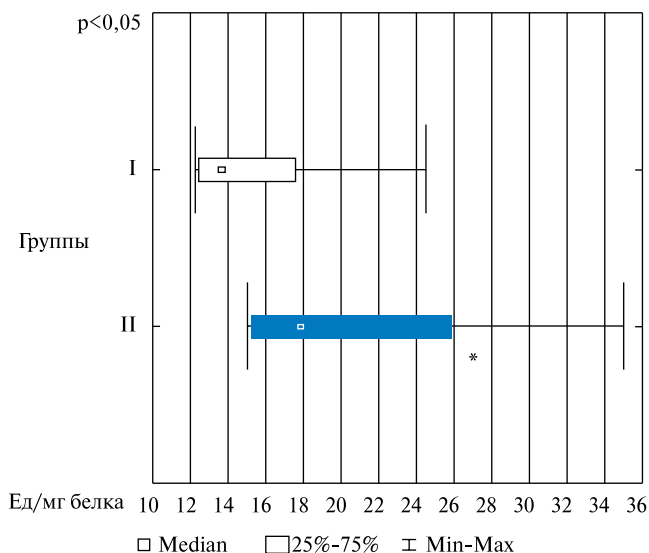


Рис. 1. Уровень экспрессии Ca^{2+} -АТФ-азы саркоплазматического ретикула миокарда пациентов с “высоким уровнем белка”.

Примечания: I — группа больных ИБС, II — группа пациентов с ИБС, ассоциированной с СД II типа; * — $p < 0,05$ достоверное различие между I и II группами пациентов.

с разным содержанием Ca^{2+} -АТФ-азы согласуется с нашими данными о том, что в клинически однородной выборке больных ИБС могут присутствовать пациенты с разной инотропной реакцией миокарда [5]. Вероятно, несмотря на однородность клинических показателей пациентов одной группы, на клеточном уровне у каждого конкретного пациента процесс ремоделирования может существенно различаться.

Сравнение подгрупп “с высоким содержанием” Ca^{2+} -АТФ-азы в миокарде обеих групп пациентов показало, что в I группе содержание этого белка оказалось на $26,6 \pm 0,53\%$ ($p < 0,05$) меньше, чем во II группе (рис. 1). Подгруппы с “низким содержанием” Ca^{2+} -АТФ-азы I и II группы пациентов статистически значимо не различались, однако у пациентов II группы наблюдались более высокие значения уровня Ca^{2+} -АТФ-азы (табл. 1).

Определение содержания Ca^{2+} -АТФ-азы в миокарде животных показало, что ремоделирование сердца при разных патологических состояниях сопровождается

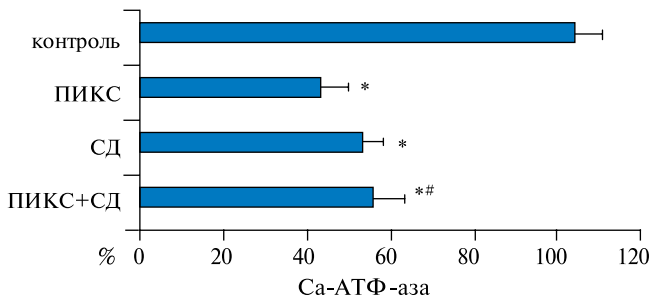


Рис. 2. Содержание Ca²⁺-АТФ-азы в миокарде крыс с постинфарктным кардиосклерозом (ПИКС) и с СД.

Примечание: по оси ординат: процентное значение количества белков от значений контрольных животных; * — $p < 0,05$ достоверное различие в сравнении с контрольной группой, # — $p < 0,05$ достоверное различие по сравнению с группой животных с ПИКС.

выраженным изменением содержания этого белка по сравнению с контрольными значениями (рис. 2). Так, ремоделирование миокарда в условиях хронической ишемии характеризовалось наиболее низким содержанием Ca²⁺-АТФ-азы. Её величина составляла только $38,6 \pm 0,92\%$ от значений контрольных животных.

Формирование СД у животных через 6 недель после индукции вызывало снижение содержания Ca²⁺-АТФ-азы в миокарде до $49 \pm 2,71\%$ ($p < 0,05$) относительно значений интактных животных (рис. 2). Как видно из рисунка 2, на фоне моделирования патологических состояний наибольшее содержание Ca²⁺-АТФ-азы наблюдалось в группе животных с сочетанным развитием постинфарктного кардиосклероза и СД. Снижение уровня экспрессии изучаемого белка в этой группе составило $52,3 \pm 2,6\%$ от контрольных значений. Проведение анализа полученных данных показало, что, несмотря на достаточно серьезное уменьшение уровня белка в группе с сочетанной патологией, этот показатель был на $13,7 \pm 0,51\%$ ($p < 0,05$) больше, чем у животных с ПИКС.

Обсуждение

В настоящем исследовании мы обнаружили интересный феномен разной реакции пациентов на воздействие патологических факторов, в результате которой у части пациентов формировалась более адекватная адаптивная реакция с сохранением структурной основы функциональной активности СР (Ca²⁺-АТФ-азы СР). При этом следует отметить, что у пациентов с ИБС или у животных с ПИКС при наличии СД с небольшим сроком заболевания содержание Ca²⁺-АТФ-азы СР сохранялось в значительно лучшей степени.

При этом, как было нами обнаружено, ремоделирование миокарда в процессе формирования сердечной недостаточности ишемического генеза как у пациентов, так и у животных приводит к сниже-

нию содержания Ca²⁺-АТФ-азы СР. Эти результаты согласуются с данными о снижении экспрессии Ca²⁺-АТФ-азы у пациентов с ишемической и дилатационной кардиомиопатией, а также с митральной регургитацией [7]. Вместе с тем есть данные о снижении функциональной активности Ca²⁺-АТФ-азы СР без изменения количества этого белка в клетках [11]. Однако в любом случае уменьшение содержания и/или активности Ca²⁺-АТФ-азы нарушает обратный захват Ca²⁺ при расслаблении кардиомиоцитов [7]. Это может быть одним из механизмов сократительной дисфункции и фактором, индуцирующим возникновение аритмий при сердечной недостаточности. Действительно, при исследовании сократительной функции папиллярных мышц крыс с ПИКС мы наблюдали значительную депрессию постэкстрасистолических сокращений и сокращений после периодов покоя, что обусловлено угнетением именно Ca²⁺-транспортирующей функции СР, сопряженной с состоянием Ca²⁺-АТФ-азы [5]. При этом экстрасистолические сокращения превышали амплитуду интактных животных, что свидетельствует о снижении электрической стабильности миокарда [5].

Развитие СД, как показало наше исследование, также приводит к уменьшению содержания Ca²⁺-АТФ-азы. Эти результаты согласуются с данными других исследований. Так, согласно Sakata et al. у крыс со стрептозотоцин-индуцированным диабетом наблюдалось снижение содержания Ca²⁺-АТФ-азы на 34% [8]. В других исследованиях было показано снижение только активности, без изменения содержания Ca²⁺-АТФ-азы у животных с СД II типа [12]. Вполне вероятно, что эти процессы взаимосвязаны, и по механизму обратной связи снижение активности Ca²⁺-АТФ-азы при серьезных метаболических нарушениях приводит к уменьшению экспрессии этого белка. Уменьшение содержания Ca²⁺-АТФ-азы в СР кардиомиоцитов при СД согласуется с результатами наших предыдущих исследований, в которых было обнаружено снижение сократительной активности папиллярных мышц крыс со стрептозотоцин-индуцированным диабетом [5]. Более того, у этих животных наблюдалось значительное снижение электрической стабильности мембран кардиомиоцитов [5].

Вместе с тем, несмотря на то, что у животных после моделирования рассматриваемых монопатологий (ПИКС и СД) происходит значительное уменьшение содержания Ca²⁺-АТФ-азы СР, согласно полученным результатам, индукция диабета на фоне формирования постинфарктного ремоделирования сердца способствует сохранению в кардиомиоцитах более высокого содержания этого белка. Этот факт достаточно хорошо согласуется с результатами других исследований, свидетельствующих об усилении ишемической резистентности миокарда животных с небольшим сроком стреп-

тозотацин-индуцированного диабета [4]. Вполне вероятно, что при сочетанном развитии постинфарктного кардиосклероза и СД в эксперименте совокупность метаболических изменений в ранний период развития патологических состояний приводит к реализации адаптационных возможностей миокарда. Вместе с тем вопрос о конкретных механизмах и продолжительности такого эффекта и возможности ее проявления в условиях реальной патологии человека требует дальнейшего исследования.

Однако можно предположить, что механизмы, обеспечивающие адаптивные реакции при сочетанном развитии хронической ишемии и диабетическом поражении миокарда, могут быть связаны с особенностями внутриклеточного энергетического метаболизма. Известно, что положительный эффект глюкозы на работу сердца при экспериментальной ишемии миокарда связан с повышением гликолитической продукции АТФ [13]. Поскольку АТФ, образующаяся в процессе гликолиза, является незаменимым источником энергии для Ca^{2+} -АТФазы ионного насоса СР [13], сдвиг энергетического метаболизма в сторону гликолитической продукции АТФ, вероятно, позволяет сохранять функциональную активность Ca^{2+} -транспортирующих насосов СР при сочетанной пато-

логии. Это предположение согласуется с нашими данными, что при сочетанном развитии постинфарктного кардиосклероза и СД в кардиомиоцитах крыс в качестве энергетического субстрата используются как жирные кислоты, так и глюкоза [5], что является благоприятным фактором для энергообеспеченности кардиомиоцитов животных.

С другой стороны, защитный эффект сочетанного развития патологий на ранней стадии развития может быть связан с тем, что на фоне развивающейся гипергликемии продукты гликозилирования увеличивают ригидность мембран кардиомиоцитов [14]. В этом случае не только снизится активность ферментов, противодействующих ишемическому повреждению, но будет сдерживаться избыточный приток Ca^{2+} в миоплазму.

Заключение

Таким образом, результаты нашего исследования показали, что миокард больных ИБС, а также и крыс с ПИКС содержит кардиомиоциты, характеризующиеся более высоким уровнем Ca^{2+} -АТФ-азы СР при наличии ранних стадий СД, что может иметь существенное значение при прогнозировании исхода заболевания и выборе тактики лечения.

Литература

1. Bokarev IN, Velikov BK, Shubina OI. Diabetes mellitus. M.: Medicinskoe informacionnoe agentstvo 2006. Russian (Бокарев И. Н., Великов Б. К., Шубина О. И. Сахарный диабет. М.: Медицинское информационное агентство 2006).
2. Movahed MR, Hashemzadeh M, Jamal MM. Diabetes mellitus is a strong, independent risk for atrial fibrillation and flutter in addition to other cardiovascular disease. *Int J Cardiol.* 2005;105(3):315-18.
3. Aksnes TA, Schmieder RE, Kjeldsen SE et al. Impact of new-onset diabetes mellitus on development of atrial fibrillation and heart failure in high-risk hypertension (from the VALUE Trial). *Am J Cardiol.* 2008; 101(5): 634-8.
4. Ooie T, Takahashi N, Nawata T, et al. Ischemia-induced translocation of protein kinase C-epsilon mediates cardioprotection in the streptozotocin-induced diabetic rat. *Circ J.* 2003; 67(11): 955-61.
5. Kondratieva DS, Rebrova TJu, Capko LP, et al. Inotropic reaction of myocardium rats with postinfarction and diabetic remodeling on extrasystolic influences. *Patol Fiziol Eksp Ter* 2011; 2: 29-33. Russian (Кондратьева Д. С., Реброва Т. Ю., Цанко Л. П. и др. Инотропная реакция миокарда крыс с постинфарктным и диабетическим ремоделированием на экстрасистолические воздействия. *Патол физиол и эксперим тер* 2011; 2: 29-33).
6. Kondratieva DS, Afanasiev SA, Kozlov BN, et al. Functional insufficiency of the sarcoplasmic reticulum of cardiomyocytes in chronic heart disease. *Translacionnaja med* 2012; 2: 61-5. Russian (Кондратьева Д. С., Афанасьев С. А., Козлов Б. Н. и др. Функциональная недостаточность саркоплазматического ретикула кардиомиоцитов при хронических патологиях сердца. *Трансляционная мед* 2012; 2: 61-5).
7. Lehnart SE, Maier LS, Hasenfuss G. Abnormalities of calcium metabolism and myocardial contractility depression in the failing heart. *Heart Fail Rev* 2009; 14(4): 213-24.
8. Sakata S, Lebeche D, Sakata N, et al. Targeted gene transfer increases contractility and decreases oxygen cost of contractility in normal rat hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007; 292(5): H2356-63.
9. Razeghi P, Young ME, Cockrill TC et al. Downregulation of myocardial myocyte enhancer factor 2C and myocyte enhancer factor 2C-regulated gene expression in diabetic patients with nonischemic heart failure. *Circulation* 2002; 106(4): 407-11.
10. Afanasiev SA, Kondratieva DS, Popov SV. Development of an experimental model of cardiac failure combined with type I diabetes mellitus. *Bull Exp Biol Med* 2012; 153(4): 523-26. Russian (Афанасьев С. А., Кондратьева Д. С., Попов С. В. Разработка модели сочетанной патологии сердечной недостаточности и сахарного диабета 1-го типа в эксперименте. *Бюлл эксперим биол и мед* 2012; 153(4): 523-26).
11. Piacentino V III, Weber CR, Chen X, et al. Cellular basis of abnormal calcium transients of failing human ventricular myocytes. *Circ Res* 2003; 92(6): 651-8.
12. Shao CH, Capek HL, Patel KP, et al. Carbonylation contributes to SERCA2a activity loss and diastolic dysfunction in a rat model of type 1 diabetes. *Diabetes* 2011; 60(3): 947-59.
13. Vanoverschelde JL, Janier MF, Bakke JE, et al. Rate of glycolysis during ischemia determines extent of ischemic injury and functional recovery after reperfusion. *Am J Physiol* 1994; 267 (5 Pt 2): H1785-H1794.
14. Ziegelhöffer-Mihalovicová B, Waczuliková I, Sikurová L, et al. Remodelling of the sarcolemma in diabetic rat hearts: the role of membrane fluidity. *Mol Cell Biochem* 2003; 249(1-2):175-82.