

**МОДУЛЯЦИЯ ЭТАНОЛАМИДАМИ ЖИРНЫХ КИСЛОТ
БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ КРЫС
С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ**

Жаворонок И.П., Басалай А.А., Михальчук А.Л.

Жаворонок И.П.

*Кандидат биологических наук, доцент, заведующий центром изучения боли государственного научного учреждения «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси»,
г. Минск, Беларусь
iri8308@yandex.ru*

Басалай А.А.

*Старший научный сотрудник лаборатории физиологии питания и спорта государственного научного учреждения «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси»,
г. Минск, Беларусь
anastasiya.basalay@gmail.com*

Михальчук А.Л.

*Кандидат химических наук, и.о. заведующего лабораторией химии липидов государственного научного учреждения «Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси»,
г. Минск, Беларусь
lipmal@iboch.by*

Определено влияние этаноламидов жирных кислот на биохимические показатели сыворотки крови животных с экспериментальным сахарным диабетом. Курсовое применение монокомпонентных этаноламидов жирных кислот и их композиций нормализовало биохимические показатели крови, характеризующие функциональную активность поджелудочной железы и печени. Более выраженный эффект оказала композиция PEA:SEA. Этаноламиды жирных кислот и композиции на их основе можно рассматривать как перспективные соединения-модуляторы клеточно-тканевого гомеостаза.

Ключевые слова: крысы; сахарный диабет; этаноламиды жирных кислот; биохимический анализ крови

MODULATION OF BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BLOOD SERUM IN RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS BY FATTY ACID ETHANOLAMIDES

Zhavoronok I.P.

*Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the Pain Research Center of the State Scientific Institution “Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus”,
Minsk, Belarus
iri8308@yandex.ru*

Basalai A.A.

*Senior Researcher of the Laboratory of Nutrition and Sports Physiology of the State Scientific Institution “Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus”, Minsk, Belarus
anastasiya.basalay@gmail.com*

Mikhailchuk A.L.

*Candidate of Chemical Sciences, Acting Head of the Lipid Chemistry Laboratory of the State Scientific Institution “Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus”, Minsk, Belarus
lipmal@iboch.by*

The effect of fatty acid ethanolamides on serum biochemistry in animals with experimental diabetes mellitus was determined. Long-term use of monocomponent fatty acid ethanolamides and its compositions normalized biochemical blood parameters characterizing the functional activity of the pancreas and liver. The PEA:SEA composition had a more pronounced effect. Fatty acid ethanolamides and compositions based on them can be considered promising modulator compounds for cellular and tissue homeostasis.

Key words: *rats; diabetes mellitus; fatty acid ethanolamides; biochemical blood analysis*

Введение. Сахарный диабет — это группа хронических заболеваний эндокринной системы, связанных с развивающимися патологиями β -клеток островков Лангерганса поджелудочной железы и характеризующихся повышением глюкозы в крови в результате нарушения выработки инсулина либо неспособностью организма эффективно использовать эндогенный инсулин [1]. Распространенность данной патологии с каждым годом растет, по данным Международной диабетической федерации на сегодняшний день сахарный диабет диагностирован у более чем 530 миллионов человек по всему миру.

Возникающая гипергликемия в долгосрочной перспективе приводит к повреждению и нарушению функций многих органов и систем организма (особенно глаз, почек, центральной и периферической нервной системы, сердца и кровеносных сосудов), с этим фактом связано развитие многочисленных осложнений заболевания [1]. Проводимая инсулинотерапия недостаточна для нивелирования произошедших изменений, например ретинопатии, нефропатии, нейропатии и

т.д., данные состояния требуют комплексного подхода для лечения [2]. В связи с вышеизложенным представляется актуальным поиск веществ, способных эффективно и безопасно устранять нежелательные последствия сахарного диабета.

Цель работы — изучить влияние этаноламидов жирных кислот на биохимические показатели сыворотки крови животных с экспериментальной моделью сахарного диабета.

Материалы и методы исследования. Опыты выполнены на крысах-самцах Wistar в соответствии с международными и республиканскими стандартами качества планирования и проведения исследований на животных. Эксперименты были одобрены комиссией по биоэтике Института физиологии НАН Беларуси.

В экспериментальной работе использованы субстанции, синтез которых был осуществлен Институтом биоорганической химии НАН Беларуси: пальмитоилэтаноламид (PEA), стеароилэтаноламид (SEA), композиция этаноламидов жирных кислот пальмитоилэтаноламид:стеароилэтаноламид (PEA:SEA) в соотношении 1:1.

Моделирование сахарного диабета (СД) проводили с помощью однократной внутрибрюшинной инъекции стрептозотоцина в дозе 65 мг/кг (STZ, Chem Cruz Streptozotocin (U-9889), производитель Santa Cruz Biotechnology) [3].

Для оценки влияния анализируемых субстанций на биохимические показатели сыворотки крови животных с экспериментальной моделью СД были сформированы следующие группы: 1) интактный контроль, 2) СД, 3) СД + PEA, 4) СД + SEA, 5) СД + PEA:SEA. Животные каждой группы исследования были разделены на две подгруппы в зависимости от длительности введения веществ: 14 и 28 суток соответственно. Субстанции вводили интрагастрально с помощью металлического атравматического зонда в дозе 100 мг/кг массы тела, начиная с 21-х суток после моделирования СД.

Эвтаназию животных проводили на 35-е и 49-е сутки эксперимента с последующим взятием крови и проведением пробоподготовки для дальнейших исследований.

Биохимические показатели сыворотки крови экспериментальных животных определяли на биохимическом автоматическом анализаторе Chemray 330 (Rayto, Китай). Для проведения анализа использовали коммерческие наборы «Диасенс» (Республика Беларусь) согласно инструкциям производителя с обязательным проведением контроля качества (контрольные сыворотки производства Randox, Великобритания).

Статистическую обработку полученных данных выполняли с использованием программы Statistica 12.0. Применяли непараметрические методы статистики: данные были представлены в виде медианы, 25 и 75 перцентилей (Me (25; 75)), статистическую значимость различий рассчитывали с использованием *U*-критерия Манна–Уитни. Отличия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В таблицах 1 и 2 представлены результаты биохимического анализа сыворотки крови крыс с моделью СД и различными вариантами коррекции данной патологии на 35-е и 49-е сутки эксперимента соответственно.

По результатам биохимического исследования сыворотки крови на 35-е сутки после моделирования СД у крыс выявлено статистически значимое пятикратное увеличение уровня глюкозы и снижение активности α -амилазы на 57,3 % ($p < 0,05$) по отношению к контролю, что связано с повреждением поджелудочной железы [4]. Зафиксировано достоверное повышение активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) в 4,2 раза ($p < 0,05$) и щелочной фосфатазы (ЩФ) в 5,4 раза ($p < 0,05$) по сравнению с группой «Контроль», что косвенно указывает на нарушение функциональной активности печени [4]. Уровни мочевины, креатинина, общего билирубина и аспартатаминотрансферазы (АСТ) не имели статистически значимых различий с контрольными значениями (таблица 1).

Таблица 1

Биохимический анализ сыворотки крови крыс всех опытных групп на 35-е сутки эксперимента

Показатель	Группы				
	Контроль	СД 35 сут	СД 35 сут + РЕА	СД 35 сут + SEA	СД 35 сут + РЕА:SEA
Глюкоза, ммоль/л	6,72 (5,21; 8,45)	35,81 (30,46; 36,13) *	12,83 (6,17; 14,43) #	40,49 (28,04; 44,21) * Δ •	3,79 (3,27; 8,13) #
α -Амилаза, Ед/л	745,05 (586,35; 776,83)	318,22 (263,55; 474,69) *	467,34 (360,93; 693,15)	499,20 (317,52; 587,55)	671,56 (625,41; 712,20) #&
Мочевина, ммоль/л	5,86 (4,49; 6,66)	8,06 (7,47; 8,34)	11,20 (10,95; 12,06) *#	9,33 (6,56; 11,38)	6,08 (3,79; 12,35)
Креатинин, мкмоль/л	36,55 (31,40; 43,66)	37,94 (35,35; 39,29)	34,67 (32,79; 35,46)	43,18 (37,27; 51,68) Δ •	33,14 (32,55; 35,25) #
Общий билирубин, мкмоль/л	6,83 (6,46; 7,56)	6,72 (5,30; 7,56)	8,51 (7,93; 10,78)	7,56 (5,03; 8,30)	8,57 (6,72; 8,83)
АСТ, Ед/л	157,61 (137,51; 191,19)	256,03 (139,56; 352,40)	205,55 (204,75; 273,70)	167,92 (141,71; 495,30)	182,00 (177,57; 253,02)
АЛТ, Ед/л	36,05 (28,77; 38,80)	151,04 (67,70; 329,90) *	80,65 (65,85; 124,73) *	80,74 (79,42; 396,03) *	76,80 (20,71; 84,86)
ЩФ, Ед/л	455,6 (364,5; 668,1)	2445,7 (2057,8; 2495,4) *	1361,8 (1245,3; 1883,9) *#	1845,3 (1793,3; 3360,6) *•	620,4 (294,4; 1257,5) #

Примечание. Статистически значимые различия при $p < 0,05$: * от «Контроль», # от «СД 35 сут», Δ от «СД 35 сут + РЕА», & от «СД 35 сут + SEA», • от «СД 35 сут + РЕА:SEA».

На 49-е сутки после моделирования СД у животных в сыворотке крови зафиксировано статистически значимое трехкратное увеличение уровня глюкозы и снижение активности α -амилазы на 42,0 % ($p < 0,05$) по сравнению с группой

«Контроль», что указывает на хронизацию процесса поражения поджелудочной железы. Уровень креатинина неизменен, концентрация мочевины увеличена в 2,5 раза ($p < 0,05$) по отношению к контролю, что косвенно указывает на возможное нарушение фильтрационной функции почек. Выявлено статистически значимое изменение всех исследуемых показателей печеночного метаболизма относительно контрольных значений: увеличение уровня общего билирубина на 36,6 % ($p < 0,05$), повышение активности печеночных ферментов АСТ на 74,3 % ($p < 0,05$), АЛТ и ЩФ в 4,4 раза ($p < 0,05$) и 3,5 раза ($p < 0,05$) соответственно (таблица 2).

Таблица 2

Биохимический анализ сыворотки крови крыс всех опытных групп на 49-е сутки эксперимента

Показатель	Группы				
	Контроль	СД 49 сут	СД 49 сут + РЕА	СД 49 сут + SEA	СД 49 сут + РЕА:SEA
Глюкоза, ммоль/л	6,72 (5,21; 8,45)	20,82 (10,15; 25,83) *	8,82 (5,55; 25,57)	36,80 (33,98; 42,27) *#Δ•	11,43 (6,87; 11,51)
α-Амилаза, Ед/л	745,05 (586,35; 776,83)	432,35 (410,68; 504,09) *	550,41 (535,03; 571,96) *	497,00 (308,26; 561,12) *	602,16 (595,67; 626,72) #
Мочевина, ммоль/л	5,86 (4,49; 6,66)	14,61 (13,21; 15,56) *	14,43 (6,66; 15,01) *	8,93 (8,38; 10,53) *#	10,45 (10,25; 12,20) *
Креатинин, мкмоль/л	36,55 (31,40; 43,66)	41,39 (40,11; 45,47)	36,04 (35,46; 38,21)	39,93 (37,05; 40,96)	40,80 (40,46; 42,16)
Общий билирубин, мкмоль/л	6,83 (6,46; 7,56)	9,33 (9,07; 9,57) *	8,08 (7,09; 8,99)	6,80 (5,61; 8,91)	6,31 (6,23; 7,18) #
АСТ, Ед/л	157,61 (137,51; 191,19)	274,64 (245,37; 334,14) *	257,34 (184,42; 300,74)	236,75 (171,92; 356,54)	240,76 (163,10; 491,57)
АЛТ, Ед/л	36,05 (28,77; 38,80)	158,14 (78,80; 350,39) *	78,41 (33,52; 93,18)	145,67 (107,53; 229,20) *Δ	43,95 (43,81; 190,32)
ЩФ, Ед/л	455,6 (364,5; 668,1)	1582,5 (1255,3; 2133,7) *	563,6 (550,5; 967,8) #	2439,2 (2241,9; 3099,6) *#Δ•	797,5 (403,2; 999,5) #

Примечание. Статистически значимые различия при $p < 0,05$: * от «Контроль», # от «СД 49 сут», Δ от «СД 49 сут + РЕА», & от «СД 49 сут + SEA», • от «СД 49 сут + РЕА:SEA».

После курсового введения РЕА крысам с экспериментальным СД выявлено, что уровень глюкозы в сыворотке крови оставался сохранным и не отличался от контрольных значений. Активность α-амилазы имела тенденцию к снижению к 35-м суткам эксперимента и достигала статистически значимого

понижения к 49-м суткам по отношению к контролю. У крыс из группы «СД 35 сут + РЕА» зафиксировано статистически значимое увеличение концентрации мочевины на 91,1 % ($p < 0,05$), активности АЛТ в 2,2 раза ($p < 0,05$) и ЩФ 3 раза ($p < 0,05$) по отношению к контролю, однако концентрация ЩФ была в 1,8 раза ($p < 0,05$) ниже, чем в группе с моделью «СД 35 сут» (таблица 1). У крыс из группы «СД 49 сут + РЕА» также достоверно увеличен уровень мочевины в 2,5 раза ($p < 0,05$), сохранялась тенденция к повышению активности АЛТ, но активность ЩФ оставалась в пределах нормы, что указывает на положительное влияние данного вещества на функциональную активность печени (таблица 2).

У крыс из групп «СД 35 сут + SEА» и «СД 49 сут + SEА» выявлено статистически значимое увеличение уровня глюкозы и снижение активности α -амилазы в сыворотке крови по отношению к контролю. Зафиксировано достоверное повышение активности АЛТ и ЩФ, а также увеличение концентрации мочевины к 49-м суткам эксперимента. Полученные данные косвенно указывают на сохранение нарушений функциональной активности поджелудочной железы, почек и печени у животных данных групп и отсутствие выраженного стабилизирующего гомеостаз действия курсового применения SEА.

У крыс из групп «СД 35 сут + РЕА:SEА» и «СД 49 сут + РЕА:SEА» практически все исследуемые показатели оставались сохранными и не отличались от контрольных значений. Зафиксировано статистически значимое увеличение уровня мочевины в группе «СД 49 сут + РЕА:SEА» по сравнению с контролем. Полученные данные указывают на протекторную эффективность композиции этаноламидов жирных кислот РЕА:SEА при коррекции патологических проявлений СД.

Заключение. По результатам биохимического анализа сыворотки крови после однократного введения критической дозы стрептозотоцина для моделирования экспериментального сахарного диабета у крыс отмечено нарушение функциональной активности поджелудочной железы, почек и печени.

Курсовое введение композиции этаноламидов жирных кислот РЕА:SEА животным с СД приводило к восстановлению ферментативной активности поджелудочной железы и печени крыс. Аналогичное по направленности, но менее выраженное по эффективности действие было зарегистрировано после курсового применения РЕА при СД. Курсовое применение SEА у животных с экспериментальным СД оказалось минимально эффективным.

Таким образом, полученные результаты позволяют рассматривать этаноламиды жирных кислот и композиции на их основе в качестве альтернативных эффективных соединений-модуляторов клеточно-тканевого гомеостаза при коморбидных состояниях (сахарный диабет).

Список литературы

1. Diagnosis and classification of diabetes mellitus / American Diabetes Association // Diabetes Care. – 2011. – Vol. 34, suppl. 1. – P. S62–S69.
2. Стрептозотоциновая модель стабильного сахарного диабета / Г.Н. Скалецкая, Н.Н. Скалецкий, А.Е. Волкова [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – Т. 20, № 4. – С. 83–88.

3. Impairment of insulin-stimulated Akt/GLUT4 signaling is associated with cardiac contractile dysfunction and aggravates I/R injury in STZ-diabetic rats / J.P. Huang, S.S. Huang, J.Y. Deng [et al.] // J Biomed Sci. – 2009. – Vol. 16. – Art. 77. – P. 1–13.

4. Сравнение биохимических показателей и патоморфологических изменений в органах крыс при стандартной и высокожировой диете в модели индуцированного стрептозоцином диабета / Н.А. Бороздина, Э.Р. Шайхутдинова, В.А. Паликов [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2021. – Т. 172, № 9. – С. 367–371.