

DOI: <https://doi.org/10.32345/2664-4738.3-4.2018.02>
УДК 616.379-008.64-092.9:577.115.3

ОСОБЛИВОСТІ ЗМІНИ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ТКАНИН ПРИ РІЗНИХ МОДЕЛЯХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1 ТИПУ

¹*Осадчук Ю.С. (ORCID 0000-0002-1365-4930),*

¹*Чайковський Ю.Б. (ORCID 0000-0002-8821-8930),*

²*Напрус Л.В. (ORCID 0000-0002-0416-2600),*

²*Брюзгина Т.С. (ORCID 0000-0003-1763-0618)*

¹*Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна*

²*Науково-дослідний інститут експериментальної та клінічної медицини,
Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, Київ, Україна
citrusju88@gmail.com*

Актуальність. Для експериментального моделювання гіперглікемії використовують аллоксан та стрептозотозин. Ушкодження в-клітин цими сполуками викликає зниження синтезу і секреції в кров інсуліну, в результаті чого у тварин розвиваються гіперглікемія і діабетичний синдром, аналогічний інсулінозалежному цукровому діабету (ЦД) 1 типу. Одним із методологічних підходів оцінки ступеню і розвитку пошкодження тканин життєвоважливих органів, в тому числі при ЦД, є вивчення їх жирнокислотного складу. Але для планування експерименту з ЦД 1 типу необхідно враховувати розбіжність даних, які отримані на різних моделях.

Мета: вивчення зміни жирнокислотного складу ліпідів кардіоміоцитів та гепатоцитів у щурів з ЦД 1 типу, створеним за різними моделями: аллоксановою (Аллох) та стрептозотозиновою (STZ).

Матеріали та методи. В експерименті на білих щурах створювали моделі ЦД 1 типу шляхом одноразового введення стрептозотозину (50 мг/кг) та аллоксану моногідрату в дозі 130 мг/кг. У більшості експериментальних тварин їх введення викликало стійку гіперглікемію (20-34 ммоль/л). Дослідження вмісту 9 найінформативніших жирних кислот (ЖК) у складі гомогенату міокарду та печінки проводили методом газорідинної хроматографії. Статистичну значущість відмінностей середніх величин груп порівнянь оцінювали за t-критерієм Стьюдента.

Результати. При Аллох моделі, на відмінність від STZ, ми виявили в гепатоцитах достовірне в 2 рази зменшення доли пальмітинової ЖК до $9,5 \pm 0,5$ % відносно показників контрольної групи $18,6 \pm 1,0$ % і стеаринової ЖК до $5,5 \pm 0,6$ % відносно контролю $11,1 \pm 1,0$ %. Поряд з цим спостерігали зростання в 12 разів вмісту міристинової ЖК та пентадеканової ЖК з $0,1 \pm 0,05$ % в контролі до $1,2 \pm 0,1$ % у щурів з Аллох моделлю ЦД. Серед ненасичених ЖК в печінці виявили достовірне в 2 рази зростання олеїнової ЖК з $14,8 \pm 1,5$ % до $34,2 \pm 1,6$ %, і достовірне в 1,5 рази зменшення арахідонової ЖК з $30,1 \pm 1,5$ % в контролі до $19,6 \pm 1,0$ % у щурів з ЦД.

В міокарді щурів з Аллох моделлю ЦД виявили достовірне в 2 рази зростання олеїнової ЖК з $15,1 \pm 0,7$ % в контролі до $33,1 \pm 1,5$ %, і зменшення в 1,3 рази лінолевої ЖК з $28,8 \pm 1,0$ % в контролі до $21,8 \pm 2,0$ %. У щурів із STZ моделлю, навпаки, підвищувався вміст лінолевої до $34,9 \pm 1,0$ %, що складало достовірну різницю із контролем та Аллох моделлю.

Вважаємо, розбіжність даних обумовлена різними патогенетичними механізмами дії препаратів на тканини, які стають мішенями ушкодження.

Висновок. Аллох модель ЦД 1 типу відзеркалює агресивну дію високоактивних радикалів і може успішно використовуватися для вивчення механізмів оксидативного стресу, який обов'язково виникає за умов гіперглікемії. Розвиток STZ моделі ЦД відображає менш трагічні наслідки ушкодження клітин, і таке моделювання доцільно використовувати при вивченні порушень тканин та органів, які виникають при тривалій та стійкій гіперглікемії.

Ключові слова: стрептозотозин, аллоксан, хроматографія, гепатоцити, міокард.

Актуальність. Захворювання на цукровий діабет (ЦД) 1 типу в усьому світі набуває загрозливого масштабу світової епідемії. Незважаючи на багаторічне вивчення розвитку ЦД і використання нових

сучасних методів лікування, хвороба продовжує прогресувати [14]. Суттєве значення для виявлення питань патогенезу, клініки, лікування та профілактики захворювання має експериментальна діабето-

логія. Відтворення моделі ЦД дозволяє отримати цінні відомості не тільки для розуміння патофізіології захворювання, а й механізму антидіабетичної дії різних препаратів, з метою спрямованого їх застосування.

В експерименті стійка гіперглікемія розвивається в організмі тварини на тлі абсолютної або відносної недостатності інсуліну, яку, в свою чергу, викликають шляхом руйнування в-клітин острівців Лангерганса підшлункової залози. У більшості досліджень, для пошкодження інсулінпродукуючих клітин використовують такі хімічні сполуки як аллоксан або стрептозотозин. Аллоксан (уреїд мезоксалевої кислоти) і стрептозотозин (антибіотик широкого спектру дії) являють собою структурні аналоги глюкози, за рахунок чого вони зв'язуються з транспортером глюкози GLUT2 і вибірково накопичуються в β -клітинах підшлункової залози експериментальних тварин [9, 11]. Одноразове внутрішньочеревинне введення дози препарату достатньо для розвитку гіперглікемії вже на 3-4 добу, а подальше спостереження демонструє стійку тривалу гіперглікемію. Ушкодження в-клітин цими сполуками викликає зниження синтезу і секреції в кров інсуліну, в результаті чого у тварин розвиваються гіперглікемія і діабетичний синдром, аналогічний інсулінозалежному ЦД, що надає можливість використовувати ці моделі для вивчення усіх прояв захворювання та ефективності лікування [1].

Доведено, що гормонально-біохімічні коливання, включаючи рівень гіпоінсулінемії та гіперглікемії, однакові у високочутливих до дії аллоксану або стрептозотозину щурів, що дозволяє використовувати обидві ці моделі експериментального діабету для дослідження механізмів, що розвиваються при гіпоінсулінемічних порушеннях метаболізму і за умов їх корекції різними сполуками [1]. Дослідники підкреслюють доцільність використання аллоксанової моделі для визначення антиоксидантних властивостей різних препаратів, для оцінки на рівні організму резистентності до індукції оксидативного стресу і дослідження способів його модуляції різними сполуками.

Основним механізмом деструктивної дії аллоксану є генерація в циклічній реакції з гіалуриновою кислотою активних форм кисню, які ініціюють руйнування в-клітин, запобігти якому система антиоксидантного захисту вже не може [4, 8, 9]. Руйнування β -клітин стрептозотозином, обумовлене алкілюванням ДНК, спричинює активацію процесів полі-ADP-рибозилування за участі ферменту полі-ADP-рибозополімерази, що супроводжується виснаженням клітинного пулу NAD і призводить до некрозу клітин [1, 11].

Стійка і тривала гіперглікемія в організмі, не залежно від етіологічного фактору, неминуче призводить до надлишкової генерації вільних радикалів

(ВР) – високореактивних нестабільних хімічних сполук. Вільні радикали пошкоджують ліпідні та білкові компоненти клітин, сприяють утворенню та накопиченню високотоксичних перекисних сполук, які підсилюють процеси дестабілізації клітинних мембран і субклітинних структур [4, 8, 10]. Хоча є дані про «неочікуваний» ефект продуктів ВР в нервовій системі. Автори описали антиоксидантну та протизапальну дію продукту перекисного окислення ліпідів – докозагексаєнової кислоти – на стимульовані ліпополісахаридом клітини мікроглії BV-2 [13].

В умовах інтенсифікації утворення ВР під впливом різних патогенних факторів, а також недостатності антиоксидантної системи, мембрани стають мішенями високореактивних радикалів кисню, причому об'єктами дезорганізації, перш за все, являються їх ліпіди – жирні кислоти (ЖК) [4]. Жирні кислоти (особливо поліненасичені) мають істотний вплив на структуру і фізичні властивості мембран. Вони модулюють активність ферментів, транспортерів та мембранних рецепторів (рецепторів ЛПНЩ, інсуліну, антитіл, нейромедіаторів, рецепторів для лікарських засобів і т.д.) [7].

Взагалі, роль ЖК в організмі неможливо переоцінити [12]. Перш за все, це енергетична функція, під час їх окислення виділяється основна маса енергії хімічних зв'язків більшої частини ліпідів. Так, при окисленні до кінцевих продуктів 1 молу стеаринової кислоти виділяється 2632 ккал енергії. Жирні кислоти виконують структурну функцію, оскільки вони входять до складу різноманітних, більш складних за хімічною будовою, ліпідів. Крім того, жирні кислоти забезпечують в організмі пластичну функцію, оскільки проміжні продукти їх окисного розпаду використовуються для синтезу інших сполук. Слід відзначити, що ряд поліненасичених вищих жирних кислот відносяться до незамінних компонентів їжі, оскільки вони не синтезуються в організмі.

Одним із методологічних підходів оцінки ступеню і розвитку пошкодження тканин життєвоважливих органів, в тому числі при ЦД, є вивчення їх жирнокислотного складу [2]. Але для планування експерименту з ЦД 1 типу необхідно враховувати розбіжність даних, які отримані на різних моделях.

Тому **метою** наших досліджень було вивчення зміни жирнокислотного складу ліпідів кардіоміоцитів та гепатоцитів у щурів з ЦД 1 типу, створеним за різними моделями: аллоксановою та стрептозотозиновою.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Усі експериментальні дослідження проведені згідно положень Директиви Європейського парламенту та Ради ЄС 2010/63/ЄС від 22.09.2010 р. про захист тварин, які використовуються для наукових

цілей, наказу МОЗ України № 944 від 14.12.2009 р. «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів», Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження», у повній відповідності до вимог комісії з біоетики НМУ імені О.О. Богомольця. Лабораторних тварин вирощували й утримували в стандартних умовах віварію Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.

Кров для визначення рівня глюкози (глюкометром) протягом експерименту брали натще з хвостової вени щурів. Виведення дослідних тварин із експерименту здійснювали шляхом введення летальної дози тіопенталу натрію (80-100 мг/кг). Після декапітації змішану кров збирали для визначення біохімічних показників та вилучали органи для створення гомогенату.

Дослідження складу ЖК проводили методом газової хроматографії в лабораторії експериментальних досліджень НДІ ЕКМ НМУ імені О.О. Богомольця за стандартною методикою [2, 6]. Ідентифікували ЖК за піками на газовій хроматограмі, порівнюючи час їх утримання з часом утримання піків стандартних чистих речовин з відомим якісним та кількісним складом. Кількісну оцінку спектру ЖК проводили методом нормування площин піків метильованих похідних ЖК та визначали їхній склад у відсотках. Похибка становила $\pm 10\%$

У спектрі ЖК ліпідів кардіоміоцитів та гепатоцитів було ідентифіковано 9 найінформативніших ЖК: із них міристинова $C_{14:0}$, пентодеканова $C_{15:0}$, пальмітинова $C_{16:0}$, маргарінова $C_{17:0}$, стеаринова $C_{18:0}$, що складають суму насичених жирних кислот (НЖК), а також олеїнова $C_{18:1}$, лінолева $C_{18:2}$, ліноленова $C_{18:3}$, арахідонова $C_{20:4}$, що складають групу ненасичених жирних кислот (ННЖК). Лінолева $C_{18:2}$, ліноленова $C_{18:3}$, арахідонова $C_{20:4}$ ЖК входять у суму поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) і визначаються як незамінні.

Отримані результати представлено у вигляді середньоарифметичного (M) і стандартної похибки (m), з урахуванням кількісної вибірки (n). Перевірку на нормальність проводили за критерієм Шапіро-Уїлка. Відмінність середніх значень порівнювали за критерієм Стьюдента (програма MedStat).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Рівень глюкози крові щурів вимірювали кожних 5 днів протягом місяця в обох групах і виявили значну розбіжність результатів, обумовлену індивідуальною гетерогенністю. Із групи тварин (n=20), яким вводили стрептозотин, ми виключили 1/4 щурів (n=5), в яких не розвилася гіперглікемія, і рівень глюкози на 7 добу в середньому складав

$6,87 \pm 1,18$ ммоль/л. У інших 15 щурів характерним була тенденція до зростання рівня глікемії на 5 добу ($20,90 \pm 0,45$ ммоль/л), у більшості щурів на 15 добу виникало зниження гіперглікемії, в середньому до $11,5 \pm 2,2$ ммоль/л, але к 30 добі в усіх тварин був високий рівень глюкози крові, в середньому складав $22,51 \pm 0,37$ ммоль/л. З них для подальшого спостереження була стохастично сформована група 6 тварин – STZ модель.

При введенні аллоксану щурам із групи з 20 тварин ми спостерігали загибель 3 тварин на 2-4 добу. Також із спостереження ми виключили щурів (n=3), у яких не розвилася гіперглікемія, і рівень глюкози в середньому складав $6,91 \pm 0,11$ ммоль/л. У останніх також ми виявили суттєве коливання рівня глюкози крові. Але воно було різноспрямованим. На 5 добу у 8 тварин рівень глюкози складав $30,6 \pm 3,7$ ммоль/л, а у 6 тварин він, навпаки, знизився до $13,54 \pm 2,2$ ммоль/л, але к 30 добі ми спостерігали стабілізацію рівня глюкози в середньому $24,9 \pm 0,26$ ммоль/л. З них для подальшого спостереження була стохастично сформована група 6 тварин – Allox модель.

Схожа розбіжність результатів при спостереженні глюкози крові щурів з аллоксановою та стрептозотоциновою моделлю ЦД описана дослідниками і пояснюється [1] тим, що експериментальні тварини проявляють виражену варіабельність в індивідуальній чутливості до діабетогенної дії цих цитотоксичних аналогів глюкози. Даний феномен може бути пов'язаний з відмінностями в стані окислювально-відновного балансу, з активністю процесів регенерації острівкового апарату підшлункової залози, відновлення його структури і функції, зі ступенем активації глюкোকортикоїдної функції надниркових залоз і т. д. Ми з цього приводу не маємо власної думки через зовсім невелику кількість досліджень в цьому напрямку, але підтверджуємо факт існування таких розбіжностей.

Таким чином, одноразове введення тваринам стрептозотину або аллоксану – препаратів-індукторів розвитку гіперглікемії у більшості експериментальних тварин викликає стійку гіперглікемію і може використовуватися для моделювання експериментального ЦД 1 типу. Поряд з цим набувають розвитку інші порушення метаболізму, пошкодження тканин і клітин, характерні для ЦД 1 типу. Але на їх розвиток не може не впливати суттєва різниця реалізації механізму гіпоінсулінемії, яку викликають введені речовини.

Наші спостереження базувалися на дослідженні жирнокислотного складу ліпідів міокарду та печінки експериментальних щурів, і ми виявили суттєві відмінності в групах щурів з різними моделями, що, з нашої точки зору, віддзеркалює різний рівень і ступень пошкодження тканин у щурів з стрептозотоциновим і аллоксановим ЦД, що необхідно враховувати дослідникам при плануванні експерименту.

Таблиця 1

Вміст (%) жирних кислот в міокарді інтактних щурів та щурів з різними моделями ЦД 1 типу (M±m)

Жирна кислота	Контроль	STZ модель	Allox модель
C14:0 Міристинова	0,3±0,1	0,7±0,1*	0,7± 0,1*
C15:0 Пентадеканова	0,8±0,1	0,5±0,1*	0,7± 0,1
C16:0 Пальмітинова	12,5±1,0	10,7±0,1	11,1±1,0
C17:0 Маргарінова	0,2±0,05	0,1±0,05	0,2±0,1
C18:0 Стеаринова	9,4±0,5	11,1±0,1	10,2±0,9
C18:1 Олеїнова	15,1±0,7	15,6±0,1	33,1±1,5*#
C18:2 Лінолева	28,8±1,0	34,9±1,0*	21,8±2,0*#
C18:3 Ліноленова	0,2±0,05	0,1±0,05	0,1±0,05
C20:4 Арахідонова	32,7±1,5	26,3±1,5*	22,1±1,3*#
∑ насичених	23,2±1,3	23,1±1,5	22,9±1,7
∑ Ненасичен	76,8±1,3	76,9±1,5	77,1±1,7
∑ ПНЖК	61,7±1,2	61,3±1,3	44,0±1,6*#

Примітки:

* – Статистично достовірна різниця порівняно з контролем (p<0,05); # – Статистично достовірна різниця між моделями (p<0,05); ПНЖК – сума поліненасичених жирних кислот; STZ модель – стрептозотоцинова модель ЦД; Allox модель – аллоксанова модель ЦД

В таблиці 1 наведені дані оцінки вмісту (%) складу жирних кислот в гомогенаті міокарду щурів із експериментальним ЦД, створеним за різними моделями у порівнянні з групою інтактних тварин.

Основним показником вважається співвідношення сумарної кількості НЖК, ННЖК та долі ПНЖК. Ми виявили, що ці показники в групах практично не відрізняються, але спостерігається достовірно в 1,4 рази зниження суми ПНЖК в групі Allox модель.

Для більш наочного аналізу ми пропонуємо розглянути розподіл ЖК та їх порівняння в групі насичених і ненасичених (рис.1, рис. 2).

Пальмітинову і стеаринову ЖК відносять до «основних» (мажорних) насичених ЖК, оскільки їх вміст практично визначає 95 % всієї суми НЖК. А міристинову, пентадеканову і маргарінову ЖК відносять до «слідових» (мінорних), оскільки вони присутні в організмі у невеличкій кількості. Але біологічну роль жодної з них не можна припинювати.

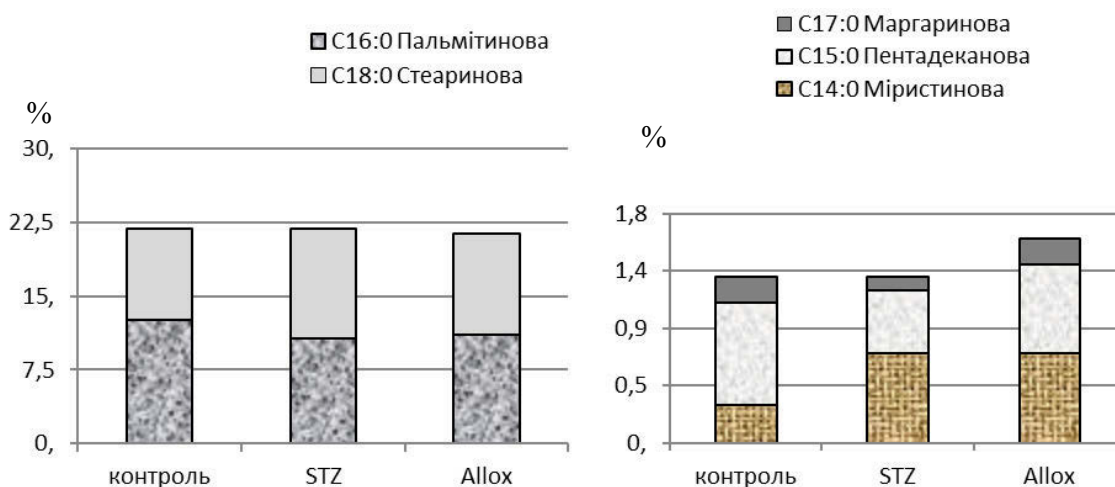


Рис.1. Розподіл насичених ЖК (%) у гомогенаті міокарду щурів з різними моделями ЦД у порівнянні із інтактними

ти. Важливим критерієм оцінки ліпідного обміну та його регуляції є співвідношення вмісту окремих ЖК в загальному спектрі, що виявляють в плазмі крові або в тканинах щурів із ЦД та у порівнянні із інтактними.

У інтактних щурів пальмітинова і стеаринова ЖК в міокарді присутні практично в рівних концентраціях, але в 1,3 рази переважає пальмітинова. Експериментальне моделювання ЦД знижує різницю, але статистично недостовірно. При дії аллоксану вміст пальмітинової і стеаринової ЖК практично урівнюється, а вплив стрептозотоцину викликає інший перерозподіл – збільшується вміст стеаринової ЖК.

Статистично достовірні зміни ми спостерігали при аналізі вмісту слідових ЖК. В контролі домінує пентадеканова, її вміст практично в 4 рази перевищує вміст міристинової та маргаринової. Експериментальне моделювання ЦД в обох групах викликає збільшення в 2 рази вмісту міристинової ЖК. При дії аллоксану зростає сума усіх слідових НЖК, із збереженням вмісту пентадеканової, а дія стрептозотоцину викликає достовірне зниження в 1,6 разів вмісту пентадеканової ЖК у порівнянні з контролем.

Аналіз розподілу ненасичених ЖК показав відмінності жирнокислотного спектру міокарду щурів різних груп. Дія аллоксану викликала достовірне збільшення олеїнової ЖК в 2 рази, за рахунок зменшення в 1,3 рази лінолевої та в 1,5 рази арахідонової ЖК. А при введенні стрептозотоцину ми спостерігали статистично достовірне збільшення вмісту лінолевої в 1,2 рази за рахунок зменшення в 1,2 рази арахідонової ЖК. Зменшення в 2 рази лінолевої ЖК відносно контролю було однаковим при створенні моделей ЦД.

Таким чином, створення моделей ЦД шляхом введення стрептозотоцину і аллоксану викликає деякі відмінності в тканині міокарду щурів. Співвідношення НЖК, ННЖК, ПНЖК в контрольній групі та при STZ моделі практично не відрізняється, а при Allox моделі достовірно знижується доля ПНЖК. Склад основних НЖК пальмітинової та стеаринової ЖК в міокарді щурів також статистично не відрізняється від контролю. Вміст слідових НЖК змінюється у порівнянні з контролем. В обох моделях ЦД зростає в 2 рази вміст міристинової ЖК, але в STZ моделі за рахунок пентадеканової, кількість якої зменшується, а в Allox моделі – за рахунок збільшення загальної доли слідових НЖК.

Також виявлені статистично достовірні протилежні зміни вмісту ННЖК в міокарді щурів при моделюванні ЦД. STZ модель призводить до підвищення відносно контролю лінолевої ЖК за рахунок зменшення арахідонової, а Allox модель викликає збільшення в 2 рази олеїнової ЖК за рахунок зменшення лінолевої і арахідонової ЖК, що і віддзеркалює сумарне зниження ПНЖК.

Аналіз жирнокислотного спектру печінки щурів різних груп є вкрай доцільним, оскільки саме цей орган є найбільш активним учасником процесу окиснення або утилізації ЖК і віддзеркалює самі наявні метаболічні розлади в організмі.

Найпотужнішим ендogenous джерелом ЖК є вісцеральна жирова тканина. Вісцеральний жир, присутній навколо внутрішніх органів, брижі і сальнику, відрізняється від підшкірного за типом адипоцитів, їх ендокринної функції, ліполітичної активності, чутливості до інсуліну та інших гормонів. Венозна кров, відтікає від вісцерального жиру і че-

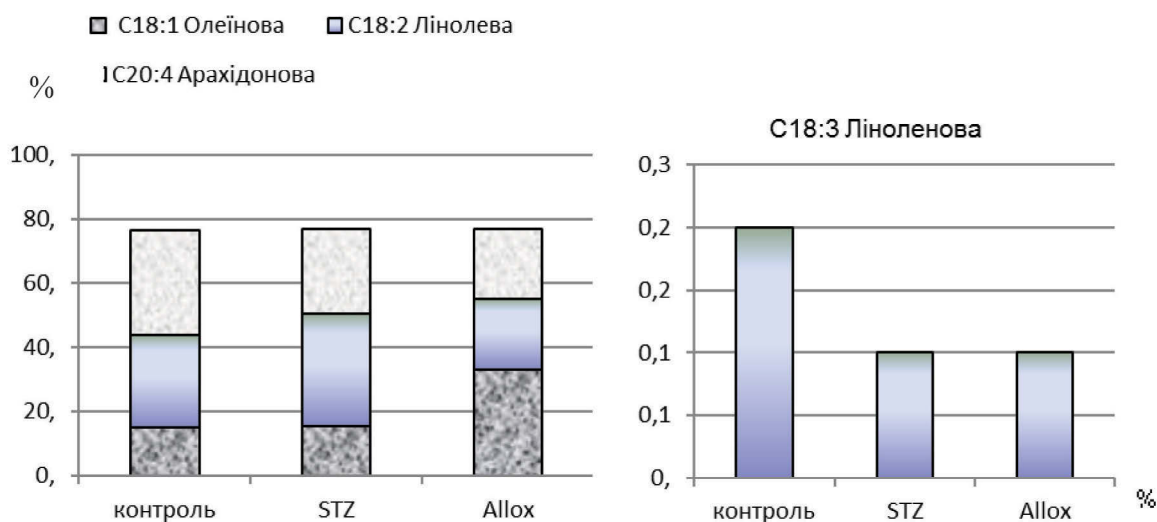


Рис. 2. Розподіл ненасичених ЖК (%) у гомогенаті міокарду щурів з різними моделями ЦД у порівнянні із інтактними

рез порталну систему безпосередньо надходить в печінку. Це обумовлює безпосереднє надходження в печінку великої кількості вільних ЖК, а також регуляторів їх обміну – адипокінів, які, в свою чергу, активують печінкові імунні механізми, що ведуть до утворення прозапальних медіаторів, таких як С-реактивний білок та інші. Так, при вісцеральному ожирінні, що притаманно для цукрового діабету 2 типу, в печінку через систему ворітної вени надходить надмірна (в 20-30 разів перевищує норму) кількість вільних ЖК, що є серйозним навантаженням на орган і, в підсумку, призводить до розвитку ряду метаболічних порушень.

При аналізі жирнокислотного складу в гомогенаті печінки щурів з різними моделями ЦД 1 типу ми виявили суттєві розбіжності, які були статистично достовірні. Перш за все, моделювання ЦД змінювало співвідношення суми НЖК, ННЖК і ПНЖК. При створенні стрептозотоцинової моделі ЦД незначно зменшувалась сума НЖК, але достовірно зростала доля ПНЖК. При аллоксановій моделі ЦД ці зміни носили інший характер: зменшувалась в 1,7 разів відносно контролю сума НЖК і в 1,1 раз зменшувалась сума ПНЖК, але в 1,2 рази зростала доля ННЖК. Особливо треба підкреслити, що ці показники статистично відрізнялися в групах тварин з різними моделями ЦД.

Детальний аналіз показав, що зміни спектру ненасичених ЖК у печінці щурів з ЦД носять односпрямований характер – зменшується кількість основ-

них ЖК пальмітинової та стеаринової, і зростає доля слідових ЖК. Однак їх вміст в гепатоцитах щурів з різними моделями суттєво розрізняється. У STZ моделі в 1,2 рази зменшується вміст стеаринової, а кількість пальмітинової суттєво не змінюється. В той же час при Alloх моделі вміст кожної з цих ЖК зменшується у порівнянні з контролем в 2 рази. Співвідношення слідових ЖК змінюється ще більш суттєво. Дія аллоксану призводить до перерозподілу ЖК і різкому – в 12 разів – збільшенню кількості міристинової та пентадеканової ЖК відносно контролю. Створення стрептозотоцинової моделі підвищує вміст цих ЖК тільки в 2 рази відносно контролю. Тобто різниця вмісту міристинової та пентадеканової ЖК між групами складає 6 разів.

Серед ненасичених ЖК ми також спостерігаємо розбіжність між показниками в експериментальних групах.

Створення аллоксанової моделі ЦД призводить до збільшення вмісту олеїнової ЖК в 2 рази відносно контролю і до зменшення в 1,5 разів вмісту арахідонової. Створення стрептозотоцинової моделі ЦД, навпаки, викликає незначне зменшення вмісту олеїнової та збільшення арахідонової ЖК. Ці показники достовірно відрізняються між собою в моделях. Також в аллоксановій моделі відносно контролю ми виявили збільшення в 1,1 раз вмісту лінолевої ЖК і зменшення в 2 рази ліноленової ЖК. При стрепто-

Таблиця 2

Вміст (%) жирних кислот у печінці інтактних щурів та з різними моделями ЦД 1 типу (M±m)

Жирна кислота	Контроль	STZ модель	Alloх модель
C14:0 Міристинова	0,1±0,05	0,2±0,1	1,2±0,1*#
C15:0 Пентадеканова	0,1±0,05	0,2±0,1	1,2±0,1*#
C16:0 Пальмітинова	18,6±1,0	17,6±1,5	9,5±0,5*#
C17:0 Маргарінова	0,1±0,05	0,2±0,1	0,1±0,05
C18:0 Стеаринова	11,1±1,0	9,5±0,6	5,5±0,6*#
C18:1 Олеїнова	14,8±1,5	12,7±0,8	34,2±1,6*#
C18:2 Лінолева	24,8±1,3	23,7±1,0	28,4±1,3#
C18:3 Ліноленова	0,2±0,1	0,2±0,1	0,1±0,05
C20:4 Арахідонова	30,1±1,5	35,7±1,5*	19,6±1,0*#
∑ насичених	30,0±1,6	27,7±1,8	17,5±1,8*#
∑ Ненасичен	70,0±1,6	72,3±1,8	82,5±1,8*#
∑ ПНЖК	55,1±1,5	59,6±1,6*	48,1±1,6*#

Примітки:

* – Статистично достовірна різниця порівняно з контролем (p<0,05); # – Статистично достовірна різниця між моделями (p<0,05);

∑ – ПНЖК – сума поліненасичених жирних кислот; STZ модель – стрептозотоцинова модель ЦД; Alloх модель – аллоксанова модель ЦД

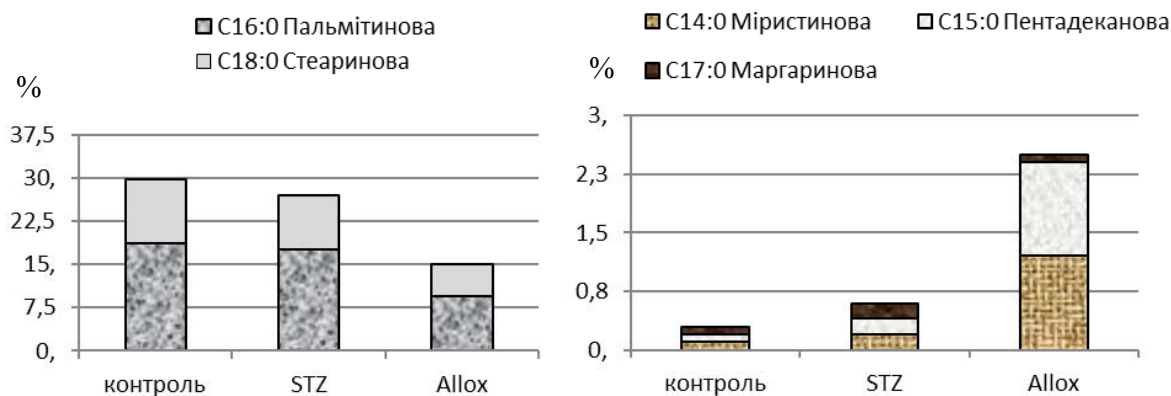


Рис. 3. Розподіл насичених ЖК (%) у гомогенаті печінки щурів з різними моделями ЦД у порівнянні із інтактними

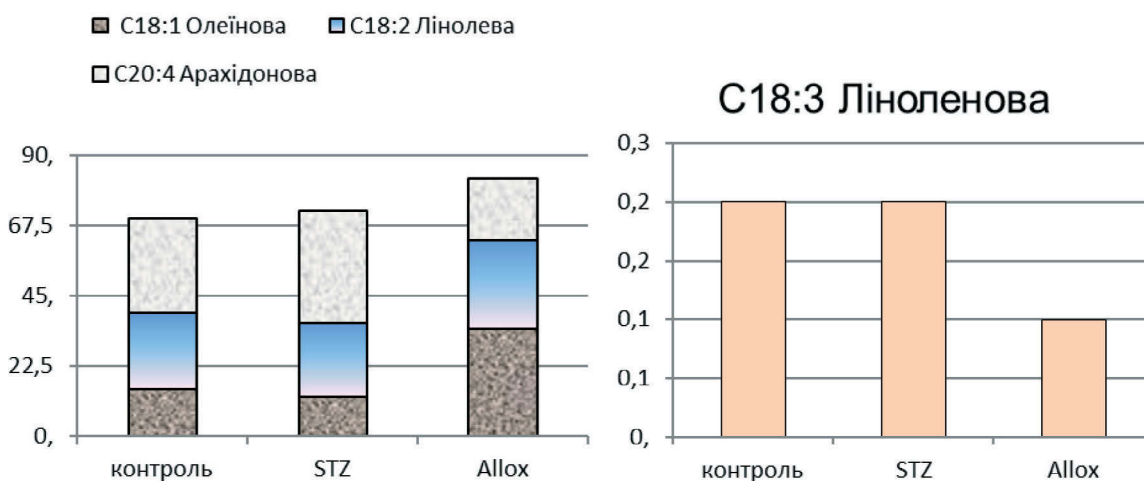


Рис. 4. Розподіл ненасичених ЖК (%) у гомогенаті печінки щурів з різними моделями ЦД у порівнянні із інтактними

зотоцинової моделі ЦД таких змін ми не спостерігали, показники були на рівні інтактних щурів.

Таким чином, жирнокислотний склад в гомогенаті печінки щурів з різними моделями ЦД суттєво розрізняється. Незначне коливання співвідношення суми НЖК, ННЖК і ПНЖК при STZ моделі викликане підвищенням в 2 рази усіх слідових НЖК, при зменшенні в 1,2 рази стеаринової ЖК. Серед ННЖК спостерігали незначне підвищення арахідонової ЖК.

А в Allox моделі ми виявили перерозподіл НЖК – зменшення в 2 рази відносно контролю стеаринової і пальмітинової ЖК і підвищення в 12 разів міристинової і пентадеканової ЖК. Серед ННЖК підвищення в 2 рази олеїнової ЖК, на тлі зменшення в 2 рази арахідонової і ліноленової ЖК, тобто протилежні зміни в різних моделях.

ВИСНОВОК

Allox модель ЦД 1 типу може успішно використовуватися для вивчення механізмів оксидативного стресу, який обов'язково виникає за умов гіперглікемії, або для вивчення антиоксидантних фармакологічних впливів, оскільки, за даними змін ЖК спектру, ця модель віддзеркалює агресивну дію високоактивних радикалів. Розвиток STZ моделі ЦД відображає менш трагічні наслідки ушкодження клітин, і таке моделювання доцільно використовувати при вивченні порушень тканин та органів, які виникають при тривалій та стійкій гіперглікемії.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування. Робота виконана, як фрагмент Держбюджетної НДР «Структурно-функціональні зміни нейронів медіо-базального гіпоталамусу при порушенні вуглеводного і ліпідного обміну» № держреєстрації 0119U101229, строки виконання 2019-2021 р.р.

REFERENCES

1. Palchikova N.A., Kuznetsova N.V., Kuzminova A.I., Selyatiatskaya V.G. Hormonal and biochemical features of the alloxan and streptozotocin models of experimental diabetes // Byul. RAMS. 2013; 6: 18-24. [in Russian]. Access mode: <https://cyberleninka.ru/article/n/gormonalno-biohimicheskie-osobennosti-alloksanovoy-i-streptozototsinovoy-modeley-eksperimentalnogo-diabeta>
2. Patent of Ukraine 125810 UA, МПК G01N 33/49 (2006.01) B01D15/08 (2006.01) Method of evaluation of mechanisms of tissue damage in experimental type 1 diabetes mellitus in rats / Natrus L.V., Ryzhko I.M., Chernovol P.A., Bruzgina T.S.; - u 201709175; zayavl. 18.09.2017; opublik. 12.03.2018, Byul. No. 15, 2018. [in Ukrainian]. Access mode: <http://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=245098>
3. Colin W. Fatty acid oxidation and synthesis // Diapedia. 2015. 5105592814 rev. no. 23. Access mode: <https://www.diapedia.org/5105592814/rev/22>
4. Dean R.T. Free radicals, membrane damage and cell-mediated cytolysis // Br J Cancer Suppl. 1987; 8: 39-45. PMID: 3307872 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2149455/>
5. Sun G.Y., et al. Docosahexaenoic acid (DHA): An essential nutrient and a nutraceutical for brain health and diseases // Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. 2018;136: 3-13. DOI: 10.1016/j.plefa.2017.03.006
6. Natrus L.V., Kryvosheyeva O.I., Lamazyay G.R., Bruzgina T.S. Effect of modification of the extraction technique of the substance in a Soxhlet for content of fatty acids // Medical science of Ukraine. 2018; 14 (1-2): 18-24. DOI: 10.32345/2664-4738.1-2.2018.03
7. Yang X, Sheng W, Sun GY, Lee JC. Effects of fatty acid unsaturation numbers on membrane fluidity and β -secretase-dependent amyloid precursor protein processing // Neurochem Int. 2011. 58 (3): 321-9. DOI: 10.1016/j.neuint.2010.12.004
8. Lane N. Oxygen: The Molecule that Made the World. – Oxford University Press. 2002. Access mode: <https://www.amazon.com/Oxygen-molecule-Oxford-Landmark-Science/dp/0198784937>
9. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes // Diabetologia. 2008; 51 (2): 216-26. DOI: 10.1007/s00125-007-0886-7
10. Qiu Jian Yu and Chunjiu Zhong. Membrane Aging as the Real Culprit of Alzheimer's Disease: Modification of a Hypothesis // Neurosci Bull. 2018. 34 (2): 369-81. DOI: 10.1007/s12264-017-0192-4
11. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas // Physiol. Res. 2001; 50 (6): 537-46. PMID: 11829314
12. Mazibuko-Mbeje et al. The Role of Glucose and Fatty Acid Metabolism in the Development of Insulin Resistance in Skeletal Muscle // 2018. DOI: 10.5772/intechopen.75904
13. Yang B, et al. Unveiling anti-oxidative and anti-inflammatory effects of docosahexaenoic acid and its lipid peroxidation product on lipopolysaccharide-stimulated BV-2 microglial cells // J Neuroinflammation. 2018. 15 (1): 202. DOI: 10.1186/s12974-018-1232-3
14. www.moz.gov.ua

Отримано: 15.12.2018

FEATURES OF CHANGES IN fatty acids COMPOSITION OF TISSUES IN DIFFERENT MODELS OF EXPERIMENTAL TYPE 1 DIABETES¹*Osadchuk Yu.S. (ID ORCID 0000-0002-1365-4930),*¹*Chaykovskii Yu.B. (ID ORCID 0000-0002-8821-8930),*²*Natrus L.V. (ID ORCID 0000-0002-0416-2600),*²*Bryuzgina T.S. (ID ORCID 0000-0003-1763-0618)*¹*Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine*²*Scientific research institute of experimental and clinical medicine,
Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine
citrusju88@gmail.com*

Relevance. Alloxan and streptozotocin are used for experimental modeling of hyperglycemia. Damaged β -cells with these compounds lead to the reduction of synthesis and secretion of the level of insulin in the blood, as a result of which animals develop hyperglycemia and diabetic syndrome, similar to insulin-dependent type 1 diabetes. One of the methodological approaches for assessing the degree and development of tissue damage of vital organs, including diabetes, is the study of their fatty acid composition. But for the planning of an experiment with type 1 diabetes, it is necessary to take into account the discrepancy between the data obtained on different models.

Objective. The aim of the work is to study the changes in the fatty acid composition of cardiomyocyte and hepatocyte lipids in type 1 diabetes of the rats which are created on different models: alloxan (Allox) and streptozotocin (STZ).

Material and methods. In the experiment, the model of type 1 diabetes was developed by the single-dose administration of streptozotocin (50 mg/kg) and alloxane monohydrate in a dose of 130 mg/kg to white rats. Their administration caused a persistent hyperglycemia (20-34 mmol/L) to the majority of experimental animals. Research of the contents of 9 most informative fatty acids (FA) in the composition of the myocardium and liver homogenate was carried out by gas-vapor chromatography in the experimental laboratory of Scientific research institute. The statistical significance of differences in the meanings of the groups of comparisons was estimated by the Student's t-criterion.

Results. In the Allox model, we discovered a significant ($p < 0,05$) 2-fold decrease in the proportion of palmitic FA to $9,5 \pm 0,5\%$ relative to the control group $18,6 \pm 1,0\%$ and stearic liquid crystal to $5,5 \pm 0,6\%$ relative to the control $11,1 \pm 1,0\%$ in the hepatocytes than in to STZ model. Additionally, we observed, a 12-fold increase in the content of meristic FA and pentadecane FA from $0,1 \pm 0,05\%$ in the control to $1,2 \pm 0,1\%$ in rats with the Allox model of diabetes. Among the unsaturated FA a significant increase ($p < 0,05$) of 2,4 times the growth of oleinic FA from $14,8 \pm 1,5\%$ to $34,2 \pm 1,6\%$, and a significant ($p < 0,05$) in 1,5 times reduction of arachidone FA from $30,1 \pm 1,5\%$ in control to $19,6 \pm 1,0\%$ in rats with diabetes in the liver could be noted.

A significant increase ($p < 0,05$) of oleinic FA from $15,1 \pm 0,7$ in the control to $33,1 \pm 1,5\%$ and a decrease of 1,3 times the linoleic FA from $28,8 \pm 1,0\%$ in control to $21,8 \pm 2,0\%$ in the Allox model of rats with 1 type diabetes was showed in the myocardium. On the other hand, the STZ model rats increased the content of linoleic acid to $34,9 \pm 1,0\%$, which was a significant ($p < 0,05$) difference with the control and Allox model.

It is believed that the discrepancy in data is due to different pathogenetic mechanisms of action of drugs on tissues, which become targets of damage.

Conclusions. The Allox model of type 1 diabetes shows the aggressive effects of high-level radicals and can be successfully used to study the mechanisms of oxidative stress, which necessarily occurs in conditions of hyperglycemia. The development of the STZ model of diabetes reflects the less awful effects of cell's damage, and such simulations should be used in the study of tissue and organ disorders that occur with prolonged and persistent hyperglycemia.

Key words: streptozotocin, alloxane, chromatography, hepatocytes, myocardium

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ТКАНЕЙ ПРИ РАЗНЫХ МОДЕЛЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА 1 ТИПА

¹Осадчук Ю.С., ¹Чайковский Ю.Б., ²Натрус Л.В., ²Брюзгина Т.С.

¹Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев, Украина

²Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины,

Национального медицинского университета имени А.А. Богомольца, Киев, Украина

Актуальность. Для экспериментального моделирования гипергликемии используют аллоксан и стрептозотоцин. Повреждения в-клеток этими веществами вызывает снижение синтеза и секреции в кровь инсулина, в результате чего у животных развивается гипергликемия и диабетический синдром, аналогичный инсулинозависимому сахарному диабету (СД) 1 типа. Одним из методологических подходов оценки степени и развития повреждения тканей жизненноважных органов, в том числе при СД, является изучение их жирнокислотного состава. Но для планирования эксперимента с СД 1 типа необходимо учитывать расхождение данных, полученных на различных моделях.

Цель: изучение изменения жирнокислотного состава липидов кардиомиоцитов и гепатоцитов у крыс с СД 1 типа, созданному по разным моделям: аллоксановой (Allox) и стрептозотоциновой (STZ).

Материалы и методы. В эксперименте на белых крысах создавали модели СД 1 типа путем однократного введения стрептозотоцина (50 мг/кг) и аллоксана моногидрата в дозе 130 мг/кг. У большинства экспериментальных животных указанное введение вызвало устойчивую гипергликемию (20-34 ммоль/л). Исследование содержания 9 наиболее информативных жирных кислот (ЖК) в составе гомогената миокарда и печени проводили методом газовой-жидкостной хроматографии в лаборатории экспериментальных исследований НИИ ЭКМ НМУ имени Богомольца. Статистическую значимость различий средних величин групп сравнений оценивали по t-критерию Стьюдента.

Результаты. При Allox модели в отличие от STZ мы обнаружили в гепатоцитах достоверное ($p < 0,05$) двукратное уменьшения доли пальмитиновой ЖК до $9,5 \pm 0,5\%$ относительно показателей контрольной группы $18,6 \pm 1,0\%$ и стеариновой ЖК до $5,5 \pm 0,6\%$ относительно контроля $11,1 \pm 1,0\%$. Наряду с этим наблюдали рост в 12 раз содержания миристиновой ЖК и пентадекановой ЖК с $0,1 \pm 0,05\%$ в контроле до $1,2 \pm 0,1\%$ у крыс с аллоксановой моделью СД. Среди ненасыщенных ЖК в печени обнаружили достоверное ($p < 0,05$) двукратное увеличение олеиновой ЖК с $14,8 \pm 1,5\%$ в контроле до $34,2 \pm 1,6\%$, и достоверное ($p < 0,05$) в 1,5 раза уменьшение арахидоновой ЖК с $30,1 \pm 1,5\%$ в контроле до $19,6 \pm 1,0\%$ у крыс с СД.

В миокарде крыс с Allox моделью СД обнаружили достоверное ($p < 0,05$) двукратное увеличение олеиновой ЖК с $15,1 \pm 0,7\%$ в контроле до $33,1 \pm 1,5\%$, и уменьшение в 1,3 раза линолевой ЖК с $28,8 \pm 1,0\%$ в контроле до $21,8 \pm 2,0\%$. У крыс с STZ моделью наоборот повышалось содержание линолевой до $34,9 \pm 1,0\%$, что составляло достоверную ($p < 0,05$) разницу с контролем и Allox моделью.

Считаем, расхождение данных обусловлено различными патогенетическими механизмами действия препаратов на ткани, которые становятся мишенями повреждения.

Вывод. Allox модель СД 1 типа отражает агрессивное воздействие высокоактивных радикалов и может успешно использоваться для изучения механизмов оксидативного стресса, который обязательно возникает в условиях гипергликемии. Развитие STZ модели СД отражает менее трагические последствия повреждения клеток и такое моделирование целесообразно использовать при изучении нарушений тканей и органов, которые возникают при длительной и устойчивой гипергликемии.

Ключевые слова: стрептозотоцин, аллоксан, хроматография, гепатоциты, миокард.