

УДК 57.01:612.1

НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ПРИ АЛЛОКСАНОВОМ ДИАБЕТЕ У КРЫС

Кучкарова Л.С., Ачилов Р.Х.

*Национальный университет Узбекистана имени Мирзо Улугбека, Ташкент,
e-mail: ochilovrashidbek81@gmail.com*

Индукция экспериментального диабета с помощью аллоксана позволяет глубоко изучить патогенез сахарного диабета 1 типа и испытывать новые лечебные средства. Цель – определить изменения в активности некоторых органических субстратов и ферментов в сыворотке крови при диабете, вызванном аллоксаном. Белые лабораторные крысы были разделены на две группы и получали физиологический раствор или аллоксан (в дозе 50 мг/кг каждые 24 ч, объемом 0,3 мл, трижды). Для биохимического анализа кровь была получена путем декапитации и собрана в центрифужные пробирки с гепарином. В полученной сыворотке крови были определены следующие показатели: глюкоза, холестерин, триглицериды, общий белок, мочевины, а также активность следующих ферментов: α -амилаза (α -1,4-глюкан-4-глюканогидролаза), креатинфосфокиназа (креатин-N-фосфотрансфераза), аланинаминотрансфераза (L-аланин:2-оксоглутарат аминотрансфераза), аспартатаминотрансфераза (L-аспартат:2-оксоглутарат аминотрансфераза) и щелочная фосфатаза. Изменения проводились с помощью автоматического биохимического анализатора RT-904C (Китай). В состоянии диабета наблюдалось резкое повышение уровня глюкозы и липидов в крови, снижение содержания общего белка и снижение активности α -амилазы. Также было выявлено повышение активности креатинфосфокиназы, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы и щелочной фосфатазы у крыс, что указывает на наличие метаболических нарушений в тканях печени, мышц и костей. Эти изменения свидетельствуют о нарушении функционирования ферментных систем на фоне сахарного диабета и развитии множественных системных функциональных расстройств. Таким образом, глубокий анализ метаболических и физиологических механизмов сахарного диабета является одной из важнейших научно-исследовательских задач специалистов в области диабетологии. Это служит основой для предупреждения и своевременной коррекции данного опасного заболевания и его осложнений.

Ключевые слова: белые крысы, аллоксановый диабет, органические субстраты крови, ферменты крови

SOME BLOOD PARAMETERS IN RATS WITH ALLOXAN-INDUCED DIABETES

Kuchkarova L.S., Achilov R.Kh.

*Mirzo Ulugbek National University of Uzbekistan, Tashkent,
e-mail: ochilovrashidbek81@gmail.com*

Induction of experimental diabetes using alloxan allows for an in-depth study of the pathogenesis of type 1 diabetes mellitus and provides an opportunity to test new therapeutic agents. Objective: To determine changes in the activity of certain organic substrates and enzymes in blood serum in alloxan-induced diabetes. White laboratory rats were divided into 2 groups and were administered either physiological saline or alloxan (at a dose of 50 mg/kg, every 24 hours, in a volume of 0.3 ml, three times). For biochemical analysis, blood was collected by decapitation and placed into centrifuge tubes containing heparin. The following parameters were measured in the obtained blood serum: glucose, cholesterol, triglycerides, total protein, urea, as well as the activity of the following enzymes: α -amylase (α -1,4-glucan-4-glucanohydrolase), creatine phosphokinase (creatine-N-phosphotransferase), alanine aminotransferase (L-alanine:2-oxoglutarate aminotransferase), aspartate aminotransferase (L-aspartate:2-oxoglutarate aminotransferase), and alkaline phosphatase. Measurements were performed using the RT-904C (China) automatic biochemical analyzer. In the diabetic state, there was a significant increase in blood glucose and lipid levels, a decrease in total protein content, and a reduction in α -amylase activity. An increase in the activity of creatine phosphokinase, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, and alkaline phosphatase in the rats indicated the presence of metabolic disorders in liver, muscle, and bone tissues. These changes suggest that the activity of enzymatic systems is impaired in diabetes and that multisystem functional disorders are developing. Thus, a thorough analysis of the metabolic and physiological mechanisms of diabetes mellitus is one of the key scientific research tasks in the field of diabetology. This is essential for the prevention and timely correction of this dangerous pathology and its complications.

Keywords: white rats, alloxan diabetes, organic blood substrates, blood enzymes

Введение

Сахарный диабет (СД) – это хроническое метаболическое заболевание, развивающееся в результате нарушения секреции инсулина или его действия, влияющее на обмен углеводов, жиров и белков в организме. В последние годы широкое распространение данного заболевания в эпи-

демиологических масштабах представляет серьезную угрозу для здоровья человечества. По данным Всемирной организации здравоохранения, в 2021 г. количество больных диабетом достигло 537 млн чел., и этот показатель с каждым годом увеличивается. Согласно прогнозам, к 2045 г. это число может превысить 783 млн [1]. Основными

факторами риска считаются неправильное питание, физическая неактивность, стрессовые состояния и наследственная предрасположенность. Сахарный диабет не ограничивается лишь нарушением метаболизма глюкозы, но также затрагивает липидный и белковый обмен, систему антиоксидантной защиты, глюконеогенез, гликогенолиз, окислительный стресс и воспалительные маркеры, нарушая множество метаболических путей. Это приводит к резкому нарушению гомеостаза, апоптозу клеток и развитию инсулинорезистентности. Указанные патофизиологические процессы вызывают снижение функции β -клеток поджелудочной железы и снижение чувствительности к инсулину в периферических тканях. Кроме того, сахарный диабет снижает синтез и накопление гликогена в печени, вызывает глюкозурию в почках, влияет на сердечно-сосудистую и центральную нервную системы, вызывая патологические изменения в их структуре и функции. Осложнения, связанные с диабетом, такие как ангиопатия, нефропатия, ретинопатия и невропатия, значительно снижают качество и продолжительность жизни пациентов. Развитие этих осложнений связано с повреждением эндотелиальных клеток, нарушением микроциркуляции и усилением окислительного стресса на фоне гипергликемии [2]. В связи с этим изучение уровня органических субстратов (таких как глюкоза, лактат, пировиноградная кислота и аминокислоты) и активности ферментов (таких как ALT, AST, КК, АР) в крови, а также определение их роли в патологическом процессе является важным направлением современной экспериментальной и клинической биологии.

Создание моделей диабета в лабораторных условиях предоставляет возможность более глубокого изучения патогенеза данного заболевания, а также его физиологических и биохимических механизмов. Одним из широко применяемых методов для этой цели является индукция экспериментального диабета с помощью аллоксана. Аллоксан – это производное мочевины, обладающее селективной токсичностью по отношению к β -клеткам, проникающее в них как аналог глюкозы и вызывающее образование большого количества активных форм кислорода. Это приводит к повреждению мембраны клеток, ДНК и белков, вызывая некроз клеток. Данная модель позволяет глубже понять патогенез сахарного диабета 1 типа, а также тестировать новые лечебные препараты. Кроме того, модель диабета, вызванного аллоксаном, позволяет анализировать компенсаторные реакции организма в условиях гипергли-

кемии, включая изменения уровня стресс-гормонов (кортизол, адреналин), медиаторов воспаления и гормонов-антагонистов инсулина (глюкагон, соматотропин) [3]. С помощью модели диабета, вызванного аллоксаном, также возможно изучение митохондриальной дисфункции, нарушения энергетического баланса и сбоев в клеточных сигнальных путях. Это имеет важное значение для понимания молекулярных основ диабета и определения мишеней для новых лекарственных средств. Наряду с этим для ранней диагностики и эффективного лечения сахарного диабета важно оценивать метаболические показатели, определяющие его развитие, в частности уровень субстратов и активность ферментов в крови. Такой подход позволяет осуществлять индивидуальный контроль над заболеванием, мониторинг фармакологического воздействия и разработку стратегий диетотерапии.

Цель исследования – определить изменения активности некоторых органических субстратов и ферментов в сыворотке крови при аллоксановом диабете.

Материалы и методы исследования

Эксперименты проводились на половозрелых беспородных крысах-самцах массой тела 180–200 г. Животные содержались при естественном свето-темновом режиме, температуре воздуха $23,0 \pm 2,1^\circ\text{C}$ и относительной влажности воздуха 50–70% на стандартном рационе вивария при неограниченном доступе к воде и пище. Все экспериментальные работы выполнялись в соответствии с международными биоэтическими нормами проведения исследований на лабораторных животных.

Крысы были разделены случайным образом на две группы – контрольную и опытную. У крыс опытной группы вызывали диабет тремя внутривенными инъекциями аллоксана моногидрата (Sigma-Aldrich, США) в дозе 50 мг/кг каждые 24 ч в объеме 0,3 мл. Контрольной группе крыс вводили физиологический раствор в том же объеме и в то же время, что и опытной группе. Через 5–6 дней после введения аллоксана моногидрата у крыс определяли содержание глюкозы в крови. Для этого хвост крысы обрабатывали новокаином с целью обезболивания и осторожно его кончик надрезали острыми хирургическими ножницами. К полученной капле крови прикладывали тест-полоску, которая пропитывалась кровью. Интенсивность окрашивания содержащейся в тест полоске глюкозы крови, оксидоредуктазой глюкозы, согласно инструкции производителя, была пропорциональна

концентрации моносахарида в крови. Окрашенная полоска переносилась в специальную ячейку глюкометра (ACCU-CHEK, Германия), в результате просвечивания которой на дисплее прибора отражалась концентрация глюкозы в сыворотке крови в ммоль/л. Только те крысы, уровень глюкозы у которых в крови был выше 15 ммоль/л считались диабетическими и были использованы в дальнейших исследованиях.

Кровь для биохимических анализов собирали при декапитации в гепаринизированные центрифужные пробирки. Кровь отстаивали в течение 30 мин при комнатной температуре и затем центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин на высокоскоростной микроцентрифуге D2012 PLUS (Китай). Сыворотку крови осторожно отсасывали и в ней определяли содержание глюкозы, холестерина, триглицеридов, общего белка, мочевины, а также активность α -амилазы (α -1,4-глюкан-4-глюканогидролаза), креатинфосфокиназы (креатин-N-фосфотрансфераза), аланинаминотрансферазы (L-аланин:2-оксоглутаратинотрансфераза), аспаратаминотрансферазы (L-аспартат:2-оксоглутаратминотрансфераза) и щелочной фосфатазы при помощи автоматического биохимического анализатора RT-904C Китай. Кроме того, в моче были определены содержание глюкозы и общего белка с использованием анализатора мочи URIT-50 (Китай). Полученные данные были обработаны при помощи статистической программы Origin Pro 8.6 с определением критерия Стьюдента (t) и определение показателя достоверности P. Разница между показателями опытной и контрольных групп считалась достоверной при $P < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Данные по изменению содержания белка и глюкозы в сыворотке крови крыс представлены на рис. 1.

Как видно из рис. 1, содержание глюкозы у крыс опытной группы в сыворотке крови возрастало на 184,7%, а содержание белка, напротив, не возрастало а уменьшалось на 18,7%. В отличие от сыворотки крови содержание как глюкозы, так и белка в моче диабетических крыс статистически достоверно увеличивалось по сравнению с животными контрольной группы.

Разрушение β клеток островков Лангерганса поджелудочной железы аллоксаном моногидратом, естественно, снижая уровень секретируемого инсулина, приводило к повышению уровня глюкозы у диабетических крыс. Доказано, что инсулин является единственным гормоном, вызывающим снижение уровня глюкозы в крови путем утилизации его в гликоген печени [4]. Если уровень глюкозы у крыс с аллоксановым диабетом в сыворотке крови повышался, то уровень общего белка, напротив, заметно снижался в группе крыс с аллоксановым диабетом, по сравнению с контрольной группой (рис. 1). Изменение концентрации общего белка в плазме крови, скорее всего, обусловлено скоростью либо его катаболизма, либо анаболизма и, возможно, перераспределением белка среди тканей. У диабетических крыс на фоне уменьшения содержания белка, в моче его количество возрастало. Такая же тенденция была обнаружена в клинических исследованиях у больных сахарным диабетом, что авторы связывали с повреждением почечной ткани [5].

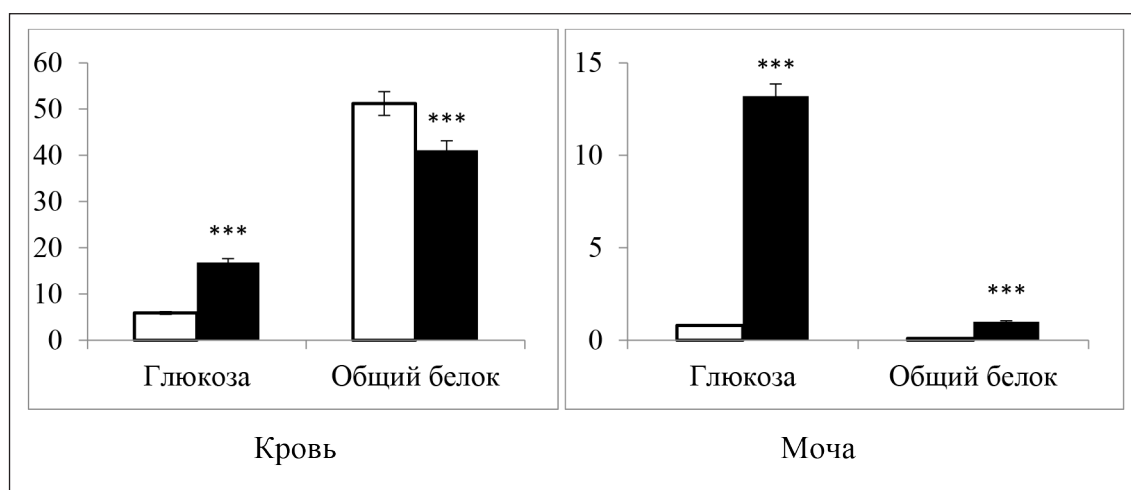


Рис. 1. Влияние аллоксанового диабета на содержание глюкозы и общего белка в крови и моче крыс ($M \pm m$, при $n = 6$); *** – $P < 0,001$

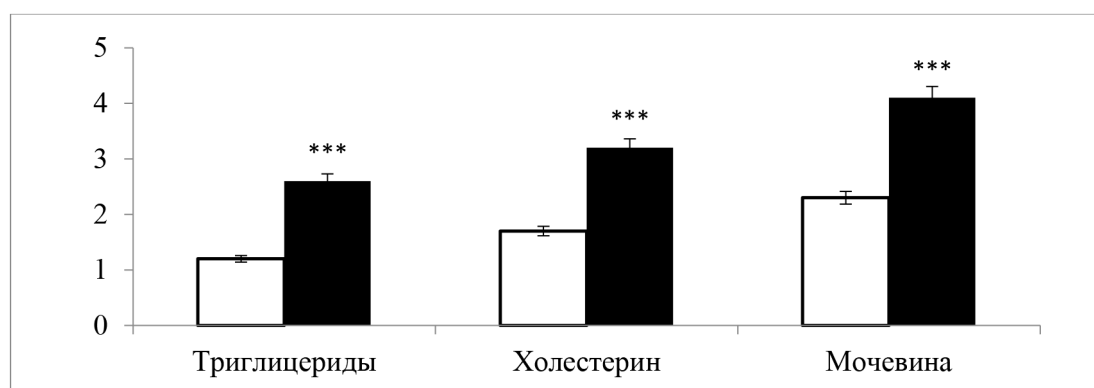


Рис. 2. Влияние аллоксанового диабета на содержание триглицеридов, холестерина и мочевины в сыворотке крови ($M \pm m$, при $n = 6$); *** – $P < 0,001$

В нормальных условиях фильтрационная система почек предотвращает проникновение крупных белковых молекул в мочу. Однако при диабете фильтрация из-за повреждения почечных клубочков нарушается, что вызывает протеинурию, то есть повышенное выделение белков с мочой. Этот процесс является одним из первых признаков развития диабетической нефропатии. Кроме того, снижение уровня белка в крови свидетельствует о развитии общих метаболических нарушений, связанных с уменьшением синтеза белка и его повышенной потерей. Уровень триглицеридов, холестерина и мочевины в сыворотке крови диабетических крыс представлен на рис. 2.

Как видно из рис. 2, у крыс с сахарным диабетом в сыворотке крови уровень триглицеридов возрос на 116,7%, содержание холестерина на 88,2%, а уровень мочевины 78,2% по сравнению с уровнем этих субстратов в крови у животных, которых инъецировали физиологическим раствором.

Эти данные подтверждают, что у диабетических крыс при отсутствии лечения избыточная глюкозная нагрузка способствует резкому нарушению липидного обмена, которое проявляется повышением уровня триглицеридов и холестерина в сыворотке крови. Действительно, было отмечено, что особенности липидного спектра при сахарном диабете характеризуются увеличением концентрации триглицеридов, снижением уровня холестерина липопротеинов высокой плотности и преобладанием в крови липопротеинов низкой плотности, то есть «плохого холестерина» [6]. Отмеченное увеличение общего холестерина в данном эксперименте явно связано с возрастанием содержания, скорее всего, «плохого» холестерина. Наряду с изменением липидного обмена, нарушается и белковый обмен, который в данных экспериментах проявляется не только в гипопроteinемии и протеинурии (рис. 2), но и в увеличении концентрации мочевины – одного из конечных продуктов белкового распада в крови и маркера диабетической нефропатии [7].

Влияние аллоксанового диабета на активность некоторых ферментов в сыворотке крови крыс ($M \pm m$, при $n = 6$)

Фермент	Контроль	Опыт	% по отношению к контролю	P
α -Амилаза	140,2 $\pm$ 12,1	99,1 $\pm$ 7,7	70,7	< 0,01
Креатининкиназа	188,4 $\pm$ 10,4	245,2 $\pm$ 12,8	130,1	< 0,01
Аланинаминотрансфераза	120,1 $\pm$ 9,2	235,2 $\pm$ 19,4	195,8	< 0,001
Аспаратаминотрансфераза	63,4 $\pm$ 5,3	150,4 $\pm$ 8,2	237,2	< 0,001
Щелочная фосфатаза	70,4 $\pm$ 6,4	140,1 $\pm$ 7,7	199,0	< 0,001

Примечание: PP < 0,001 – достоверность различий при сравнении показателей экспериментальных групп с контрольными группами.

Изменения активности некоторых ферментов в сыворотке крови при аллоксановом диабете представлены в таблице. Активность всех определяемых ферментов у крыс с аллоксан-индуцированным диабетом статистически достоверно изменялась, что свидетельствует о выраженных метаболических нарушениях, сопровождающих развитие данного патологического состояния.

Так, активность α -амилазы у диабетических крыс уменьшалась на 29,3%, что, вероятно, связано с угнетением синтеза фермента в ацинарных клетках поджелудочной железы вследствие деструкции β -клеток островков Лангерганса. Считаем, что уменьшение активности α -амилазы обусловлено замедлением темпов синтеза фермента, приводящим к уменьшению экскреции фермента в кровь. Этот процесс, вероятно, усиливается на фоне повреждения поджелудочной железы и дефицита ферментпродуцирующих клеток. Кроме того, при диабетической нефропатии α -амилаза в большем количестве выводится с мочой, что также приводит к снижению активности фермента в плазме крови. Следует подчеркнуть, что уменьшение активности α -амилазы в крови, отмеченное в данном наблюдении, при прогрессировании заболевания и развитии осложнений, может замениться возрастанием активности фермента, выявленным в других работах. Возрастание инкреции α -амилазы в гемоциркуляции в таких случаях свидетельствует о том, что сахарный диабет может быть поводом или причиной нарушения экзокринной функции поджелудочной железы, способствуя развитию панкреатита [8, 9].

Активность креатинфосфокиназы возрастала на 30,1%, что указывает на усиление катаболизма мышечных белков и нарушение энергообеспеченности клеток. Креатинфосфокиназа в основном присутствует в мышечной ткани и играет важную роль в энергетическом обмене. Увеличение активности креатинфосфокиназы у крыс с аллоксановым диабетом ассоциирует с дегенерацией мышечной ткани из-за нарушения метаболизма по причине дефицита инсулина. При повреждении мышечных клеток креатинфосфокиназа в большем количестве поступает в кровь. Эти данные предполагают, что при аллоксан-индуцированном диабете гликемический стресс негативно влияет на здоровье мышц [10].

Активность аланинаминотрансферазы увеличивалась на 95,8%, а активность аспартатаминотрансферазы – на 137,2%, что убедительно отражает глубокие деструктивные изменения в гепатоцитах, так как эти ферменты являются маркерами

повреждения печени. Это связано с тем, что гипергликемия вызывает экссудативный стресс и воспаление печени, что способствует выходу аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы в кровь.

Активность щелочной фосфатазы увеличивалась на 99,0%, что свидетельствует о возможном вовлечении в патологический процесс костной ткани или развитии осложнений, связанных с нарушением функции печени и желчевыводящих путей. Активное изучение взаимосвязи между сахарным диабетом и здоровьем костной ткани показало, что центральным звеном патогенеза развития повышенной ломкости костей у пациентов с сахарным диабетом 1 типа является нарушение активности и дифференцировки остеобластов [11].

Изменение активности ферментов при аллоксановом диабете в сыворотке крови крыс является сложным и многокомпонентным процессом, который зависит от стадии развития заболевания, состояния метаболических процессов, а также функционального статуса отдельных органов и тканей. Нарушения в углеводном, липидном и белковом обмене, вызванные инсулиновой недостаточностью, оказывают системное воздействие на органы и ферментные системы, способствуя развитию вторичных изменений. Очевидно, что аллоксановый диабет способен вызвать не только нарушение функции β -клеток островков Лангерганса поджелудочной железы, но и ряда висцеральных и соматических функциональных систем.

Заключение

Результаты данного исследования позволили подробно проанализировать метаболические изменения при экспериментальном диабете 1 типа, индуцированном аллоксаном. Они доказывают, что сахарный диабет и сопутствующая гипергликемия являются факторами, вызывающими осложнения во многих, если не во всех тканях и функциональных системах организма. Выявленное у диабетических крыс значительное увеличение уровня глюкозы и мочевины, триглицеридов и холестерина, активностей аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, креатинфосфокиназы и щелочной фосфатазы на фоне снижения уровня общего белка и активности α -амилазы в сыворотке крови способствует более широкому пониманию этиогенеза и патогенеза модели диабета и создает фундаментальную основу для разработки новых терапевтических стратегий. Эти метаболические изменения, скорее всего, и приводят к серьезным морфофункцио-

нальным сдвигам, лежащим в основе таких осложнений диабета, как нефропатия, ретинопатия, диабетическая стопа, стенокардия, инфаркт миокарда, полинейропатия и др. Кроме того, они подчеркивают важность контроля метаболических показателей у пациентов, страдающих диабетом.

Следовательно, глубокий анализ метаболических и физиологических механизмов сахарного диабета является одной из ключевых научно-исследовательских задач специалистов в области диабетологии, с целью предупреждения и своевременной коррекции этой опасной патологии и ее осложнений.

Список литературы

1. Gandhi N., Wareham N.J. Epidemiology of diabetes: basic facts // *Medicine*. 2022. Vol. 50, Is. 10. P. 638–643. DOI: 10.1016/j.mpmed.2022.07.005.
2. Yang D.-R., Wang M.-Y., Zhang C.-L., Wang Y. Endothelial dysfunction in vascular complications of diabetes: a comprehensive review of mechanisms and implications // *Frontiers in Endocrinology*. 2024. Published: April 5. DOI: 10.3389/fendo.2024.1359255.
3. Dab H., Ben Hamed S., Hodroj W., Zourgui L. Combined diabetes and chronic stress exacerbates cytokine production and oxidative stress in rat liver and kidney // *Biotechnology and Biotechnological Equipment*. 2023. Vol. 37, Is. 1. P. 250–259. DOI: 10.1080/13102818.2023.2182137.
4. Lenzen S. The mechanisms of alloxan and streptozotocin-induced diabetes // *Diabetologia*. 2008. Vol. 51, Is. 2. P. 216–226. DOI: 10.1007/s00125-007-0886-7.
5. Nishiwaki H., Niihata K., Kinoshita M., Fujimura M., Kurosawa K., Sakuramachi Y., Takano K., Matsunaga S., Okamura S., Kitatani M., Tsujii S., Hayashino Y., Kurita N. Diabetes Distress Care Registry at Tenri Study Group. Urinary C-megalin as a novel biomarker of progression to microalbuminuria: A cohort study based on the diabetes Distress and Care Registry at Tenri (DDCRT 22) // *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2022. Article 109810. DOI: 10.1016/j.diabres.2022.109810.
6. Спасов А.А., Смирнов А.В., Соловьева О.А., Кузнецова В.А., Панышин Н.Г., Мацевич А.И. Экспериментальная модель диабетической нефропатии у крыс // *Вестник ВолГМУ*. 2015. № 3 (55). С. 36–40. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/eksperimentalnaya-model-diabeticheskoy-nefropatii-u-kryys/viewer> (дата обращения: 15.05.2025).
7. Burski K., Ueland T., Maciejewski R. Serum amylase activity disorders in the course of experimental diabetes in rabbits // *Vet Med – Czech*. 2004. Vol. 49, Is. 6. P. 197–200. DOI: 10.17221/5695-VETMED.
8. Kuchkarova L.S., Rokhimova S.O., Syrov V.N. Effect of Turkesterone on the Pancreas Histology and Function in Diabetic Rats // *International Journal of Current Research and Review*. 2020. Vol. 12. P. 2–5. DOI: 10.31782/IJCRR.2020.12216.
9. Richardson A., Park W.G. Acute pancreatitis and diabetes mellitus: a review // *Korean Journal of Internal Medicine*. 2021. Vol. 36, Is. 1. P. 15–24. DOI: 10.3904/kjim.2020.505.
10. Yokokawa H., Kinoshita I., Hashiguchi T., Kako M., Sasaki K., Tamura A., Kintaka Y., Suzuki Y., Ishizuka N., Arai K., Kasahara Y. Enhanced exercise-induced muscle damage and muscle protein degradation in streptozotocin-induced type 2 diabetic rats // *Diabetes Metabolism Research and Reviews*. 2011. Vol. XX, Is. XX. P. XX–XX. DOI: 10.1111/j.2040-1124.2011.00130.x.
11. Khan S.S., Khosla S. Type 1 Diabetes and Osteoporosis: From Molecular Pathways to Bone Phenotype // *Journal of Osteoporosis*. 2015. Vol. 2015. Article ID 174186. DOI: 10.1155/2015/174186.