



ВЛИЯНИЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ БЕНЗОНАЛА НА СОСТОЯНИЕ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА У КРЫС ПРИ РАЗВИТИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА

Юлдашев Н. М. ORCID ID 0000-0003-3460-7444,
Нишантаев М. К. ORCID ID 0009-0002-2578-8597,
Абдурашидов А. Б.

*Ташкентский государственный медицинский университет,
Ташкент, Республика Узбекистан, e-mail: y_nosir@rambler.ru*

Целью исследования явилась оценка развития аллоксанового сахарного диабета у крыс при предварительном введении им индуктора монооксигеназной системы печени бензонала. Изначально 120 белых крыс были разделены на быстрые, средние и медленные метаболизаторы. Эксперименты проведены у средних метаболизаторов. Крысам опытной группы до моделирования диабета вводился бензонал в течение трех дней в дозе 50 мг/кг массы тела, перорально в крахмальном клейстере. У крыс контрольной и опытной групп сахарный диабет моделировался введением аллоксана моногидрата (Sigma, США) в дозе 150 мг/кг в 0,4 мл цитратном буфере, внутривенно однократно. Показатели углеводного обмена изучались до и на 7, 14 и 21-е сутки патологии. В плазме крови содержание глюкозы определялось с помощью реагентов Human (Германия) на автоматическом анализаторе Humastar 100, а содержание инсулина и С-пептида с помощью реагентов Rat Insulin, ELISA Kit и Rat C-Peptide ELISA Kit (США) на иммуноферментном анализаторе Mindray MR 96A (KHP). На основании полученных результатов оценивались индексы инсулинорезистентности – HOMA-IR, функциональная активность β -клеток (HOMA2-B%), Caro, QUICKI и TGI. Проведены глюкозотолерантный и инсулинотолерантный тесты. Выявлено, что на фоне предварительного введения бензонала наблюдается более благоприятное течение экспериментального сахарного диабета по сравнению с контрольной группой. Так, содержание глюкозы в крови крыс с предварительным введением бензонала оказалось сниженным на 26,7 и 49,6 % по сравнению со значениями контрольной группы на 14-е и 21-е сутки патологии. При этом предварительное введение бензонала способствовало улучшению как индексов инсулинорезистентности, так и результатов глюкозотолерантного и инсулинотолерантного тестов. Результаты позволяют предположить, что бензонал оказывает потенциальное протективное влияние в данной экспериментальной модели сахарного диабета.

Ключевые слова: аллоксановый сахарный диабет, бензонал, глюкоза, инсулин, С-пептид, индексы инсулинорезистентности, глюкозотолерантный тест, инсулинотолерантный тест

EFFECT OF PRELIMINARY ADMINISTRATION OF BENZONAL ON THE STATE OF CARBOHYDRATE METABOLISM IN RATS DURING THE DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

Yuldashev N. M. ORCID ID 0000-0003-3460-7444,
Nishantaev M. K. ORCID ID 0009-0002-2578-8597,
Abdurashidov A. B.

*Tashkent State Medical University, Tashkent, Republic of Uzbekistan,
e-mail: y_nosir@rambler.ru*

The aim of the study was to evaluate the development of alloxan-induced diabetes mellitus in rats following the preliminary administration of benzonol, an inducer of the hepatic monooxygenase system. Initially, 120 white rats were divided into fast, intermediate, and slow metabolizers. The experiments were performed on the intermediate metabolizers. Prior to diabetes induction, the rats in the experimental group were administered benzonol for 3 days at a dose of 50 mg/kg of body weight, orally in starch paste. In both the control and experimental groups, diabetes mellitus was induced by a single intraperitoneal injection of alloxan monohydrate (Sigma, USA) at a dose of 150 mg/kg in 0.4 ml of citrate buffer. Carbohydrate metabolism parameters were studied before the induction and on days 7, 14, and 21 of the pathology. In blood plasma, glucose levels were determined using HUMAN reagents (Germany) on a Humastar 100 automated analyzer, while insulin and C-peptide levels were measured using Rat Insulin ELISA Kit and Rat C-Peptide ELISA Kit reagents (USA) on a Mindray MR 96A enzyme immunoassay analyzer (China). Based on the obtained results, the following indices were evaluated: insulin resistance indices (HOMA-IR, HOMA2-B%, Caro, QUICKI) and β -cell functional activity. Glucose tolerance and insulin tolerance tests were performed. It was revealed that prior administration of benzonol results in a more favorable course of experimental diabetes mellitus compared to the control group. Thus, blood glucose levels in rats pre-treated with benzonol were found to be reduced by 26.7% and 49.6% compared to control group values on days 14 and 21 of the pathology. Furthermore, the preliminary administration of benzonol contributed to the improvement of both insulin resistance indices and the results of glucose and insulin tolerance tests. These results suggest that benzonol exerts a potential protective effect in this experimental model of diabetes mellitus.

Keywords: alloxan diabetes mellitus, benzonol, glucose, insulin, C-peptide, insulin resistance indices, glucose tolerance test, insulin tolerance test

Введение

На сегодняшний день взаимосвязь развития сахарного диабета СД 1 типа (СД1) и особенно 2 типа (СД2) с нарушением функции печени бесспорна. Это связано с тем, что печень, являясь «главной биохимической лабораторией» всего организма, непосредственно участвует практически во всех обменных процессах, и это отражается в той или иной степени на патогенетических звеньях развития заболеваний. Одной из главных функций печени является детоксицирующая функция, связанная с цитохром Р-450 зависимой монооксигеназной системой (МОС), локализованной в эндоплазматическом ретикулуме гепатоцитов. В этой системе протекает огромное количество метаболических реакций, направленных на изменения структуры как ксено-, так и эндобактериальных [1], поэтому ее активность должна играть существенную роль в развитии такой метаболической болезни, как СД. Причем в настоящее время даже появился термин «гепатогенный сахарный диабет» [2]. Известно, что инсулин выводится из циркулирующей крови от 50 до 80 % путем расщепления в печени. В то же время выявлена значительная вариабельность доли инсулина, выводимого печенью (от 20 до 80 %). В случае сниженного печеночного клиренса будет наблюдаться гиперинсулинемия, что в конечном итоге может привести к развитию СД2 [3]. Данные исследования указывают на связь между функциональным состоянием печени и развитием, а также степенью тяжести СД. Нас интересовал вопрос о степени тяжести СД в зависимости от фенотипа активности микросомальных оксидаз и было показано наличие такой связи: у быстрых метаболизаторов при аллоксановом СД степень нарушения углеводного обмена оказалась выше, чем у средних и медленных метаболизаторов [4]. В связи с индуцибельностью системы микросомальных оксидаз гепатоцитов возник закономерный вопрос о влиянии препаратов-индукторов микросомальных ферментов на риск развития и тяжесть течения СД.

Цель исследования – оценка степени развития аллоксанового диабета у крыс при предварительном введении индуктора монооксигеназных ферментов – бензонала (бензобарбитала).

Материалы и методы исследования

Для проведения экспериментов изначально были выбраны 120 белых крыс-самцов с исходной массой тела от 140 до 319 г (среднее $191 \pm 3,99$ г). Содержание живот-

ных и все остальные экспериментальные процедуры проводились согласно руководству «The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research» [5]. Фенотипирование животных по активности МОС печени проводилось на основе оценки длительности нембуталового сна. Животным внутрибрюшинно вводили нембутал (пентобарбитал) в дозе 40 мг/кг массы тела. Время наркотического сна рассчитывали в минутах, и по результатам крыс разделили на быстрых, средних и медленных метаболизаторов. Для опытов, через месяц после фенотипирования, из группы животных с умеренной скоростью метаболизма формировали выборку из 24 крыс методом случайного отбора. У всех отобранных крыс брали кровь для исследований, по результатам которых определили интактный уровень показателей. Далее крысы были разделены на две группы. Опытная группа (12 крыс) – получала перорально через зонд бензонал в крахмальном клейстере (для равномерного распределения препарата, нерастворимого в воде) в дозе 50 мг/кг массы тела, в течение трех дней. Контрольная группа (12 крыс) в течение трех дней получала соответствующий объем крахмального клейстера. Экспериментальный СД у всех 24 крыс моделировался внутрибрюшинным введением аллоксана моногидрата (Sigma, США) в дозе 150 мг/кг в 0,4 мл цитратного буфера, однократно. Показатели углеводного обмена изучались до (исходный показатель) и на 7, 14 и 21-е сутки (опытные показатели) патологии. При взятии крови из хвостовой вены создавалась гиперемия, помещением хвоста крысы в воду с температурой 40–50 °С на несколько мин. Далее в хвостовую вену вводилась игла размером G-24, и кровь собиралась в пробирки с гепарином. Плазма выделялась центрифугированием крови в центрифуге ЕВА 200 (компания Hettich) в течение 15 мин со скоростью 3000 об/мин. В плазме крови содержание глюкозы определялось с помощью реагентов Human (Германия) на автоматическом анализаторе Humastar 100, а содержание инсулина и С-пептида с помощью реагентов Rat Insulin, ELISA Kit и Rat C-Peptide ELISA Kit (США) на иммуноферментном анализаторе Mindray MR 96A (Китай). На основании полученных результатов оценивалась инсулинорезистентность – HOMA-IR, Caro, QUICKI, TGI и функциональная активность β -клеток (HOMA2-B%) [6]. На 21-е сутки у все крыс проводился глюкозотолерантный тест (ГТТ): у животных, оставленных на ночь без корма, утром бралась кровь, через зонд вводился 20 % раствор глюкозы в дозе 2 г/кг веса. Содержание глюкозы в кро-

ви определялось с помощью глюкометра (Contour TS, Bayer) на 30, 60, 90 и 120 мин. На 24-е сутки у этих крыс проводился инсулинотолерантный тест (ИТТ): у животных, оставленных на ночь без корма, утром бралась кровь, далее подкожно вводился инсулин НовоРапид Пенфил (Novo Nordisk A/S, Дания) в дозе 0,75 ЕД/кг. Содержание глюкозы в крови определялось с помощью глюкометра (Contour TS, Bayer) на 15, 30, 60, 90 и 120 мин. Площадь под кривой «концентрация глюкозы – время» в обоих тестах (AUC) рассчитывалась линейно-логарифмическим трапецевидным методом (<https://www.certara.com/knowledge-base/calculating-auc-linear-and-log-linear/>). Коэффициент скорости утилизации глюкозы рассчитывали на основе ИТТ ($K_{ИТТ}$). Для расчета использовали формулу: $K = 0,693 \cdot 100 / t_{1/2}$, где 0,693 – $\ln 2$, величина, отражающая экспоненциальный распад, $t_{1/2}$ – период полувыведения глюкозы, рассчитанный из графика линейной регрессии и 100 – коэффициент перевода на проценты. $K_{ИТТ}$ выражали в % глюкозы/мин. Количественные характеристики выборок описывались посредством средней (М), медианы (Me), интерквартильного размаха (LQ 25 %; UQ 75 %). При сравнении двух независимых выборок использовали критерий Манна – Уитни. Критиче-

ский уровень статистической значимости принят $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Для проведения исследований, учитывая различия животных по активности метаболизирующей функции печени, общая популяция крыс была разделена на быстрых, средних и медленных метаболизаторов с помощью теста наркотического сна. Из 120 животных была отбракована 1 крыса, так как она резко отличалась от остальных по длительности наркотического сна (спала всего 3 мин). Статистические показатели общей популяции и разных фенотипов крыс по метаболизирующей функции печени приведены в табл. 1. В выбранной выборке 77 крыс (64,7 %) оказались средними метаболизаторами.

Через месяц после разделения крыс на фенотипы, из группы средних метаболизаторов случайным образом были отобраны 12 крыс для контрольной и 12 крыс для опытной группы. Крысам опытной группы в течение трех дней перорально вводился бензонал в крахмальном клейстере в дозе 50 мг/кг веса. На 4-й день для оценки степени индукции МОС печени у крыс обеих групп проводился тест наркотического сна (табл. 2).

Таблица 1

Статистические показатели общей популяции и разных фенотипов крыс по метаболизирующей функции печени (М в мин)

Группы	Статистические показатели							
	n	М	σ	$\pm m$	p	Mediana	Min	Max
Общая популяция (1)	119	204,33	102	9,42		177	48	414
Быстрые метаболизаторы (2)	25	84,20	15	3,05	$P_{1-2} < 0,001$	82	48	102
Средние метаболизаторы (3)	77	205,53	69	7,90	$P_{1-3} = \text{н. д.}$ $P_{2-3} < 0,001$	192	118	330
Медленные метаболизаторы (4)	17	375,53	18	4,60	$P_{1-4} < 0,001$ $P_{2-4} < 0,001$ $P_{3-4} < 0,001$	367	354	414

Примечание: составлена авторами на основе полученных данных в ходе исследования.
Н. д. – недостоверно.

Таблица 2

Результаты наркотического сна крыс со средней скоростью метаболизма ксенобиотиков и на фоне введения бензонала

Группы	Статистические показатели							
	n	М	σ	$\pm m$	p	Mediana	Min	Max
Контроль (1)	12	180,92	34	10,18		175,5	132	246
Бензонал (2)	12	104,83	21	6,42	$P_{1-2} < 0,001$	113	68	135

Примечание: составлена авторами на основе полученных данных в ходе исследования.

Таблица 3

Показатели метаболизма углеводов в процессе развития аллоксанового диабета у крыс при предварительном введении бензонала

Индикатор Ме [25; 75]	Группы	Исходное (1)	7-е сутки (2)	14-е сутки (3)	21-е сутки (4)	P
Глюкоза (ммоль/л)	Контроль	5,60 [5,25; 6,00]	12,44 [10,91; 13,39]	12,73 [11,85; 13,65]	15,62 [14,25; 16,80]	P ₁₋₂ < 0,001 P ₁₋₃ < 0,001 P ₁₋₄ < 0,001 P ₂₋₃ = н. д. P ₂₋₄ < 0,001 P ₃₋₄ < 0,001
	Бензонал	5,14 [4,61; 5,70]	15,20 [12,38; 17,06]	9,33* [8,55; 10,21]	7,87* [6,54; 8,82]	P ₁₋₂ < 0,001 P ₁₋₃ < 0,001 P ₁₋₄ < 0,01 P ₂₋₃ < 0,001 P ₂₋₄ < 0,001 P ₃₋₄ < 0,05
Инсулин (пг/мл)	Контроль	3,49 [2,98; 3,87]	1,95 [1,75; 2,08]	1,70 [1,61; 1,79]	1,31 [1,28; 1,44]	P ₁₋₂ < 0,001 P ₁₋₃ < 0,001 P ₁₋₄ < 0,001 P ₂₋₃ < 0,05 P ₂₋₄ < 0,001 P ₃₋₄ < 0,001
	Бензонал	3,17 [2,67; 3,56]	1,96 [1,47; 2,39]	1,86 [1,33; 2,41]	1,54 [1,15; 1,89]	P ₁₋₂ < 0,001 P ₁₋₃ < 0,001 P ₁₋₄ < 0,001 P ₂₋₃ = н. д. P ₂₋₄ = н. д. P ₃₋₄ = н. д.
С-пептид (нг/мл)	Контроль	2,57 [2,05; 3,23]	2,32 [2,24; 2,40]	1,98 [1,85; 2,10]	1,64 [1,52; 1,79]	P ₁₋₂ = н. д. P ₁₋₃ < 0,05 P ₁₋₄ < 0,001 P ₂₋₃ < 0,001 P ₂₋₄ < 0,001 P ₃₋₄ > 0,001
	Бензонал	2,52 [2,31; 2,85]	2,32 [1,71; 2,79]	2,23 [1,59; 2,74]	1,82 [1,40; 2,20]	P ₁₋₂ = н. д. P ₁₋₃ = н. д. P ₁₋₄ < 0,001 P ₂₋₃ = н. д. P ₂₋₄ < 0,001 P ₃₋₄ < 0,001

Примечание: составлена авторами на основе полученных данных в ходе исследования.

* – P < 0,05 по сравнению с показателем контрольной группы.

Видно, что у крыс при введении бензонала длительность наркотического сна уменьшилась на 42,1 % (P₁₋₂ < 0,001). На следующий день у крыс брали кровь (для определения исходного уровня показателей углеводного обмена). Затем моделировался СД однократным внутривенным введением аллоксана моногидрата (Sigma, США) в дозе 150 мг/кг массы тела в 0,4 мл цитратного буфера. Показатели углеводного обмена у экспериментальных животных изучались на 7, 14 и 21-е сутки развития экспериментального СД. К 7-м суткам в кон-

трольной группе пали 2 крысы, а к 14-м – еще 1. Следовательно, из 12 крыс пали 3, смертность составила 25 %. У группы крыс, предварительно получавших бензонал, из 12 крыс до 7-х суток пали 2 крысы, смертность составила 16,7 %. Результаты изучения показателей углеводного обмена при экспериментальном СД на фоне предварительного введения бензонала приведены в табл. 3.

Из нее видно, что на 7, 14 и 21-е сутки аллоксанового СД содержание глюкозы в крови крыс оказалось повышенным по сравнению с исходным показателем на 122,1;

127,3 и 178,9 % соответственно. При этом содержание инсулина в крови крыс оказалось сниженным на 44,1; 51,3 и 62,5 % соответственно на 7, 14 и 21-е сутки аллоксанового СД. Наконец, содержание С-пептида в крови крыс на 7, 14 и 21-е сутки аллоксанового СД оказалось сниженным на 9,7; 23,0 и 36,2 % соответственно. При этом снижение содержания С-пептида на 9,7 % на 7-е сутки оказалось статистически незначимым ($P > 0,05$).

У крыс с предварительным введением бензонала на 7, 14 и 21-е сутки аллоксанового СД содержание глюкозы в крови оказалось повышенным по сравнению с исходным показателем на 195,7; 81,5 и 53,1 % соответственно. При этом повышенное содержание глюкозы в крови крыс с бензоналом на 22,2 % по сравнению с контрольной группой оказалось статистически незначимым ($U_{\text{эмп}} = 27$, для $p \leq 0,01$ $U_{\text{кр}} = 19$ и $p \leq 0,05$ $U_{\text{кр}} = 27$), в то же время его снижение на 26,7 ($U_{\text{эмп}} = 2$, для $p \leq 0,01$ $U_{\text{кр}} = 16$ и $p \leq 0,05$ $U_{\text{кр}} = 24$) и 49,6 % ($U_{\text{эмп}} = 0$, для $p \leq 0,01$ $U_{\text{кр}} = 16$ и $p \leq 0,05$ $U_{\text{кр}} = 24$) на 14-е и 21-е сутки оказалось статистически значимым.

В содержании инсулина в крови у крыс с предварительным введением бензонала наблюдалось снижение на 38,2; 41,3 и 51,4 % по сравнению с исходным значением, соответственно срокам исследования. При этом значения инсулина статистически значимо не отличались от значений в контрольных группах ($U_{\text{эмп}} = 41$ и $U_{\text{эмп}} = 30$ на 14-е и 21-е сутки соответственно). В содержании С-пептида в крови у крыс с предварительным введением бензонала также наблюдалось снижение, однако, в отличие

от содержания инсулина, снижение его на 7,9 и 11,5 % по сравнению с исходным показателем на 7-е и 14-е сутки патологии оказалось статистически незначимым. Статистически значимое снижение его уровня на 27,8 % наблюдалось на 21-е сутки экспериментального СД. При этом значения С-пептида статистически значимо не отличались от значений в контрольных группах ($U_{\text{эмп}} = 41$ и $U_{\text{эмп}} = 36$ на 14-е и 21-е сутки соответственно).

Изучение индексов инсулинорезистентности показало, что у крыс контрольной группы НОМА-IR оказался повышенным от исходного значения на 25 % только на 7-е сутки патологии, на 14-е и 21-е сутки он не отличался статистически значимо от исходного значения (табл. 4). Вместе с тем индекс Саго оказался резко повышенным от исходного значения: на 291,4; 353,8 и 633,4 % соответственно на 7, 14 и 21-е сутки патологии. Индекс QUICKI изменился не сильно: наблюдалось его статистически значимое снижение только на 7-е сутки всего на 3,4 %. Неинсулиновый показатель TGI, аналогично индекса Саго, оказался повышенным от исходного значения: на 15,7; 17,4 и 20,7 % соответственно на 7, 14 и 21-е сутки патологии.

При предварительном введении бензонала индекс НОМА-IR оказался повышенным от исходного значения на 81,2 % на 7-е сутки, на 14-е сутки статистически значимого отличия от исходного значения не наблюдалось, и на 21-е сутки он оказался ниже исходного значения на 25,9 %. При этом по сравнению с контрольным значением он оказался выше на 23,2 % на 7-е сутки и ниже его на 40,6 % на 21-е сутки.

Таблица 4

Индексы инсулинорезистентности в процессе развития аллоксанового диабета у крыс и при предварительном введении бензонала

Группы	Показатели	Исходный	Сроки аллоксанового СД		
			7-е сутки	14-е сутки	21-е сутки
Контроль	НОМА-IR	1,00 ± 0,05	1,25 ± 0,08 ^a	1,12 ± 0,05	1,06 ± 0,07
	Саго	1,427 ± 0,104	5,585 ± 0,429 ^a	6,475 ± 0,376 ^a	10,466 ± 0,762 ^{a,b,c}
	QUICKI	0,384 ± 0,003	0,371 ± 0,004 ^a	0,377 ± 0,003	0,381 ± 0,004
	TGI	7,83 ± 0,09	9,06 ± 0,06 ^a	9,19 ± 0,08 ^a	9,45 ± 0,06 ^{a,b,c}
Бензонал	НОМА-IR	0,85 ± 0,07	1,54 ± 0,21 ^a	0,91 ± 0,13 ^b	0,63 ± 0,07 ^{a,b,c}
	Саго	1,445 ± 0,121	7,327 ± 0,916 ^a	4,786 ± 0,593 ^{a,b}	4,660 ± 0,459 ^{a,b}
	QUICKI	0,398 ± 0,006	0,364 ± 0,009 ^a	0,397 ± 0,009 ^b	0,421 ± 0,009 ^{a,b,c}
	TGI	7,94 ± 0,07	8,74 ± 0,14 ^a	8,73 ± 0,15 ^a	8,72 ± 0,21 ^a

Примечание: составлена авторами на основе полученных данных в ходе исследования.

a – $P < 0,05$ по сравнению с исходным показателем; b – $P < 0,05$ по сравнению с показателями, 7-е сутки; c – $P < 0,05$ по сравнению с показателями, 14-е сутки.

Индекс Саго оказался повышенным от исходного значения на 407,1; 231,2 и 222,5 % соответственно на 7, 14 и 21-е сутки патологии. По сравнению с контрольным значением его повышение на 31,2 % оказалось статистически незначимым ($P > 0,05$). На 7-е сутки он оказался ниже на 26,1, а на 21-е сутки на 55,5 % от контрольных значений. Индекс QUICKI изменился не сильно: наблюдалось его статистически значимое снижение только на 7-е сутки всего на 3,4 %. При предварительном введении бензонала данный индекс оказался выше контрольного значения на 10,5 % только на 21-е сутки. Неинсулиновый показатель TGI оказался повышенным от исходного значения на 10,1; 10,0 и 9,8 % соответственно на 7, 14 и 21-е сутки патологии. При введении бензонала он также оказался статистически значимо ниже от значений контрольной группы на 5,0 и 7,7 % на 14-е и 21-е сутки патологии.

Результаты индексов инсулинорезистентности оказались не совсем однозначными. Возможно, это связано с тем, что они в основном разработаны для СД2 у людей. В то же время в научной литературе имеются работы, где применены эти индексы у крыс [7–9] и собак [10]. Неоднозначность результатов заставила нас провести тест прямого определения чувствительности тканей к глюкозе – ГТТ и инсулину – ИТТ. ГТТ, проведенный на 21-е сутки патологии, все же показал значительные нарушения чувствительности к глюкозе при аллоксановом диабете (рис. 1). У крыс с аллоксановым диабетом исходный уровень глюкозы в крови был значительно по-

вышен после ночного голодания и во все интервалы времени после введения глюкозы (рис. 1, а). При экспериментальном СД с предварительным введением бензонала, хотя исходный уровень глюкозы крови был почти вдвое ниже, чем у контроля, однако ее содержание в крови во все интервалы времени после введения глюкозы практически не снижалось. При этом площадь под кривой при проведении ГТТ у крыс с предварительным введением бензонала была в 5,8 раза ниже по сравнению с контрольным значением (рис. 1, б).

По графику ИТТ видно (рис. 2), что концентрация глюкозы в крови крыс контрольной группы (аллоксановый СД) после введения инсулина максимально уменьшалась через 60 мин (до 7,44 ммоль/л), в крови крыс с предварительным введением бензонала – спустя 30 мин (до 2,7 ммоль/л). При этом площадь под кривой «концентрация глюкозы – время» при ИТТ в предварительном введении бензонала оказалась ниже на 31,3 % от значения контрольной группы (рис. 2, б).

Учитывая схожесть изменений кривых до 30 мин, была рассчитана константа скорости утилизации глюкозы на основании ИТТ ($K_{ИТТ}$) (рис. 3). При этом был выбран отрезок в 15 мин, учитывая строгое линейное снижение содержания глюкозы в этот период исследования (рис. 3, а). Показатель $K_{ИТТ}$ у интактных животных был равен 2,13 % глюкозы/мин, у животных контрольной группы (аллоксановый СД) он равнялся 1,21 % глюкозы/мин, тогда как при предварительном введении бензонала этот показатель был равен 4,57 % глюкозы/мин (рис. 3, б).

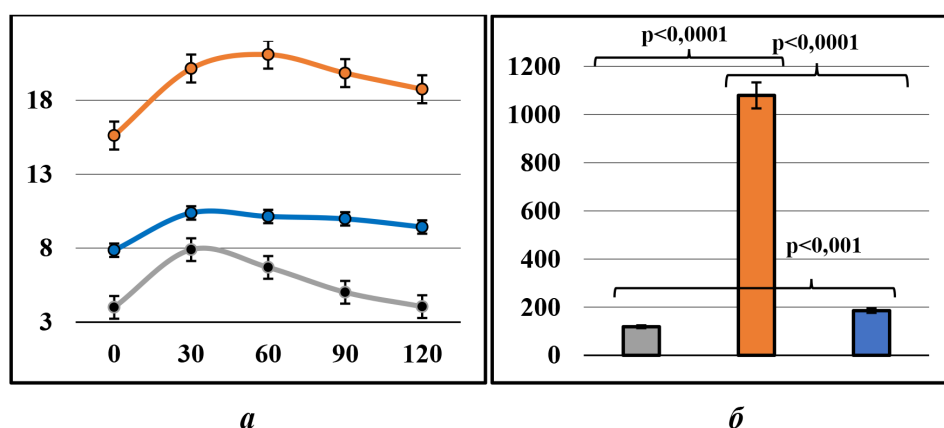


Рис. 1. Тест на толерантность к глюкозе у интактных крыс (серая кривая), крыс с аллоксановым диабетом (оранжевая кривая) и с предварительным введением бензонала (голубая кривая) (а): по оси абсцисс – время после введения глюкозы, мин; ось ординат – концентрация глюкозы в крови, ммоль/л; б – площадь под кривой «концентрация глюкозы – время» (ммоль·мин/л) при глюкозотолерантном тесте у интактных крыс (серый столбик), у крыс с аллоксановым диабетом (оранжевый столбик) и при предварительном введении бензонала (голубой столбик)
Примечание: составлен авторами по результатам данного исследования

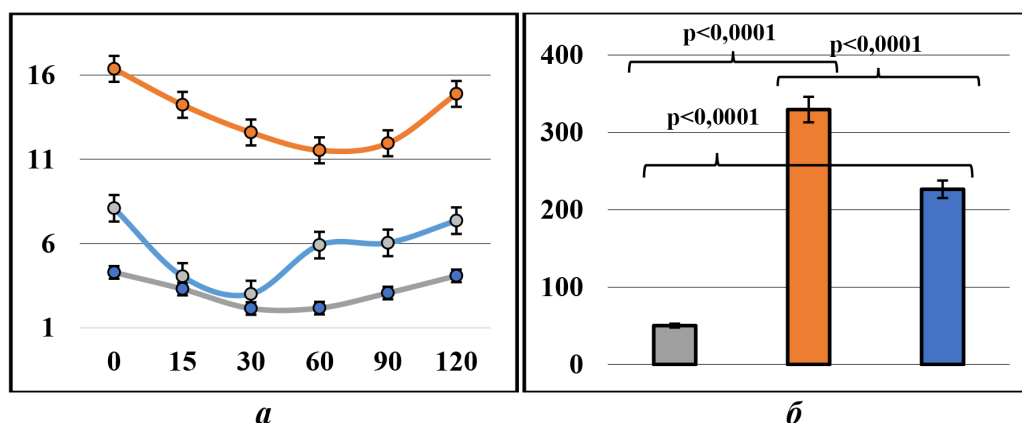


Рис. 2. Тест на толерантность к инсулину у intactных крыс (серая кривая), крыс с аллоксановым диабетом (оранжевая кривая) и с предварительным введением бензонала (голубая кривая) (а): по оси абсцисс – время после введения инсулина, мин; ось ординат – концентрация глюкозы в крови, ммоль/л; б – площадь под кривой «концентрация глюкозы – время» (ммоль·мин/л) при инсулинотолерантном тесте у intactных крыс (серый столбик), у крыс с аллоксановым диабетом (оранжевый столбик) и при предварительном введении бензонала (голубой столбик)
Примечание: составлен авторами по результатам данного исследования

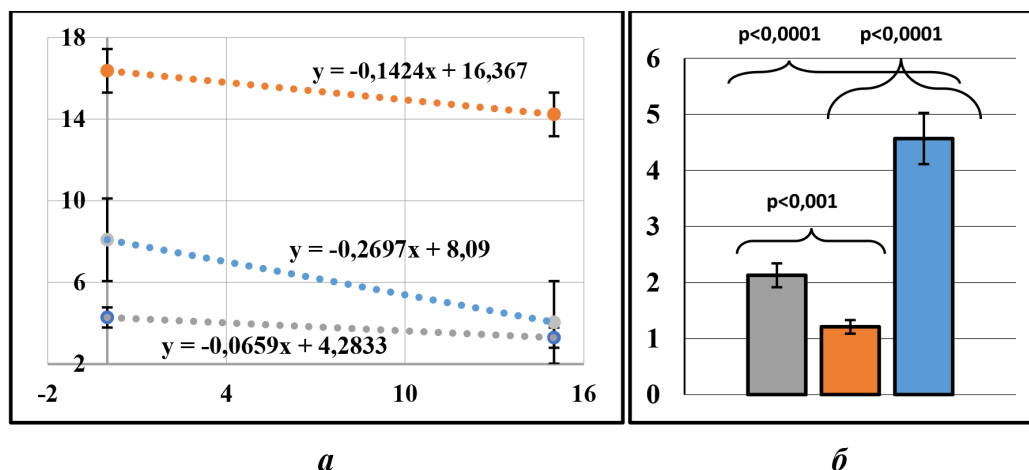


Рис. 3. Характер кривой при ИТТ в отрезке времени 0–15 мин у intactных (серая кривая), контрольных крыс (оранжевая линия) и крыс с предварительным введением бензонала (голубая кривая) (а): по оси абсцисс – время после подкожного введения инсулина, мин; ось ординат – константа скорости утилизации глюкозы на основании ИТТ ($K_{ИТТ}$) у intactных (серый столбик), контрольных крыс (оранжевый столбик) и крыс с предварительным введением бензонала (голубой столбик) (б): в % глюкозы/мин.
Примечание: составлен авторами по результатам данного исследования

Анализ результатов по изучению скорости утилизации ($K_{ИТТ}$) свидетельствует о развитии инсулинорезистентности у крыс с аллоксановым СД. Это несколько парадоксально, поскольку аллоксановый диабет 1 типа обусловлен дефицитом инсулина, а не резистентностью к нему. В то же время некоторые авторы показали, что аллоксан вызывает инсулинопенический диабет с нарушением толерантности к глюкозе и инсулинорезистентностью [10]. Возможно, реакция организма крыс с аллоксановым диабетом на введение инсулина не обусловлена

развитием истинной инсулинорезистентности. Это может быть реакцией измененного исходного статуса организма за счет первичного диабета, вызванного аллоксаном.

В литературе имеются данные о негативной роли в усугублении тяжести СД за счет глюкокортикоидных гормонов, которые повышаются при СД1 [11–13]. Известно, что они стимулируют процесс глюконеогенеза в печени и почках. Представляет интерес также довольно резкое повышение значения $K_{ИТТ}$ у крыс с предварительным введением бензонала.

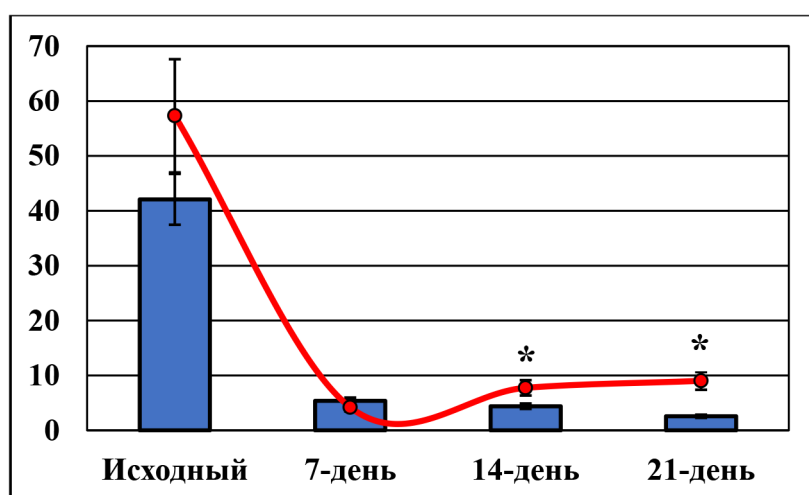


Рис. 4. Функциональная активность β -клеток в динамике развития аллоксанового сахарного диабета (столбики) и на фоне предварительного введения бензонала (кривая).

По оси ординат — функциональная активность β -клеток в усл. ед.,

* — $P < 0,05$ по сравнению со значениями контрольной группы

Примечание: составлен авторами по результатам данного исследования

Известно, что бензонал является мощным индуктором МОС печени. Можно предполагать, что на фоне индукции ферментов печени ускоряется метаболизм аллоксана, и это снижает его токсическое действие на β -клетки поджелудочной железы. Однако метаболизм аллоксана прямо не связан с ферментами системы цитохрома Р-450. Аллоксан детоксицируется на II фазе путем конъюгации его токсичных интермедиатов с восстановленным глутатионом при участии ферментов глутатионтрансфераз. В то же время известно, что фенобарбитал индуцирует глутатионтрансферазу [14, 15]. Тогда можно предполагать об усилении выведения аллоксана из организма при индукции его МОС предварительным введением бензонала. Это означает снижение количества токсичных интермедиатов аллоксана и менее существенное повреждение β -клеток поджелудочной железы. Изучение функциональной активности β -клеток показало, что введение аллоксана приводит к резкому ее снижению. Так, на 7, 14 и 21-е сутки она оказалась ниже исходного показателя на 87,2; 89,6 и 93,9 % (рис. 4). При предварительном введении бензонала функциональная активность β -клеток на 7, 14 и 21-е сутки исследования оказалась ниже исходного показателя на 92,7; 86,5 и 84,3 % от исходного значения. При этом сниженное значение этого показателя на 21,7 % от значения контрольной группы на 7-е сутки оказалось статистически незначимым

($P > 0,05$), а на 14-е и 21-е сутки оно оказалось выше на 76,1 и 251 % соответственно от значений контрольной группы.

Заключение

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о более благоприятном течении экспериментального аллоксанового диабета у крыс на фоне предварительного введения противоэпилептического препарата бензонала (бензобарбитала). Целью данного исследования была только оценка степени аллоксанового диабета у крыс при предварительном введении бензонала (бензобарбитала), и она не включала раскрытие механизмов положительного влияния его на течение патологии. Противоречивые данные в литературе о влиянии противоэпилептических препаратов на течение СД требуют дальнейших исследований этого вопроса с целью раскрытия механизмов положительного влияния бензонала на течение СД.

Список литературы

1. Esteves F., Rueff J., Kranendonk M. The Central Role of Cytochrome P450 in Xenobiotic Metabolism — A Brief Review on a Fascinating Enzyme Family // Journal of Xenobiotics. 2021. Vol. 11, Is. 3. P. 94–114. DOI: 10.3390/jox11030007.
2. Амосова М. В., Полубояринова И. В., Сальникова П. В., Жеребникова К. Ю., Фадеев В. В. Гепатогенный сахарный диабет: обзор литературы и описание трех клинических случаев // Проблемы Эндокринологии. 2025. Т. 71(2). С. 66–74 DOI: 10.14341/probl13443.

3. Bergman R. N., Piccinini F., Kabir M., Kolka C. M., Ader M. Hypothesis: Role of Reduced Hepatic Insulin Clearance in the Pathogenesis of Type 2 Diabetes // *Diabetes*. 2019. Vol. 68(9). P. 1709-1716. DOI: 10.2337/db19-0098. Erratum in: *Diabetes*. 2019. Vol. 68(12). P. 2350. DOI: 10.2337/db19-er12a.
4. Юлдашев Н. М., Мамазулунов Н. Х., Хабибуллаев С. М. Особенности развития экспериментального диабета у крыс с разным фенотипом по активности микросомальных оксидаз // *Научное обозрение. Биологические науки*. 2025. № 2. С. 51-57. DOI: 10.17513/srbs.1406.
5. Percie du Sert N., Hurst V., Ahluwalia A., Alam S., Avey M. T., Baker M., et al. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research // *PLoS Biol*. 2020. Vol. 18(7). № e3000410. DOI: 10.1371/journal.pbio.3000410.
6. Сорокина Ю. А., Занозина О. В., Постникова А. Д. Индексы инсулинорезистентности: возможность и необходимость их применения для оптимизации ведения больных сахарным диабетом 2-го типа // *Клиническая медицина*. 2020. № 98 (7). С. 529–535. DOI: 10.30629/0023-2149-2020-98-7-529-535.
7. Azubuike R. N., Sunday A. B., Atim B. A., Chibuzor S. A., Deborah E. I., Chidiebube S. O., Uduak A. I., Obinna O. U. Determination of Insulin Resistance, β -cell Function and Insulin Sensitivity Using Modified Homeostatic Model Assessment in Diabetic Rats Treated with Melatonin // *Arch Razi Inst*. 2025. Vol. 80(3). P. 665-673. DOI: 10.32592/ARI.2025.80.3.665.
8. Ojo O. A., Grant S., Amanze J. C., Oni A. I., Ojo A. B., Elebiyo T. C., et al. *Annona muricata* L. peel extract inhibits carbohydrate metabolizing enzymes and reduces pancreatic β -cells, inflammation, and apoptosis via upregulation of PI3K/AKT genes // *PLoS ONE*. 2022. Vol. 17(10). № e0276984. DOI: 10.1371/journal.pone.0276984.
9. Antunes L. C., Elkfury J. L., Jornada M. N., Foletto K. C., Bertoluci M. C. Validation of HOMA-IR in a model of insulin-resistance induced by a high-fat diet in Wistar rats // *Arch Endocrinol Metab*. 2016. Vol. 60(2). P. 138-142. DOI: 10.1590/2359-3997000000169.
10. Ader M., Richey J. M., Bergman R. N. Evidence for direct action of alloxan to induce insulin resistance at the cellular level // *Diabetologia*. 1998. Vol. 41(11). P. 1327-1336. DOI: 10.1007/s001250051073. PMID: 9833941.
11. Kuo T., McQueen A., Chen T. C., Wang J. C. Regulation of Glucose Homeostasis by Glucocorticoids // *Adv Exp Med Biol*. 2015. Vol. 872. P. 99-126. DOI: 10.1007/978-1-4939-2895-8_5.
12. Mosili P., Mkhize B. C., Sibiya N. H., Ngubane P. S., Khathi A. Review of the direct and indirect effects of hyperglycemia on the HPA axis in T2DM and the co-occurrence of depression // *BMJ Open Diabetes Research & Care*. 2024. Vol. 12. № e003218. DOI: 10.1136/bmjdc-2022-003218.
13. Maggie Chang, Jen-Chywan Wang. Hepatic Glucocorticoid Receptor Action and Glucose Homeostasis // *Endocrine Reviews*. 2026. Vol. 47, Is. 1. P. 52–74. DOI: 10.1210/endo/bnaf030.
14. Okuda H., Potter B. J., Blades B., McHugh T. A., Jacobs L. N., Berk P. D. Dose-related effects of phenobarbital on hepatic glutathione-S-transferase activity and ligandin levels in the rat // *Drug Metab Dispos*. 1989. Vol. 17(6). P. 677-682. PMID: 2575507.
15. Cantiello M., Carletti M., Giantin M., Gardini G., Capolongo F., Cascio P., Pauletto M., Girolami F., Dacasto M., Nebbia C. Induction by Phenobarbital of Phase I and II Xenobiotic-Metabolizing Enzymes in Bovine Liver: An Overall Catalytic and Immunochemical Characterization // *Int J Mol Sci*. 2022. Vol. 23(7). № 3564. DOI: 10.3390/ijms23073564.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest: The authors declare that there is no conflict of interest.

Финансирование: Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования.

Financing: The research was performed without external funding.