

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-
фармацевтический университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации

Кафедра фармакологии и клинической фармакологии

Кафедра биохимии

Тема исследовательской работы:

Изучение влияния

4,4 – (пропандиамидо)-дибензоата натрия

**на биохимические показатели животных при нарушении жирового и
углеводного обменов**

Работа выполнена студенткой 5 курса
фармацевтического факультета
Дзейтовой Л.М.

Руководители: доц. О.М. Спасенкова
доц. Н.А. Анисимова

Санкт- Петербург

2019



Актуальность

Число больных НАЖБП
увеличилось
на 10 % за 7-летний
период

DIREG-1

(2007 г., 30754 пациента)

Встречаемость НАЖБП у амбулаторных пациентов, обратившихся к терапевтам поликлиник, **составила 27%:**

- южных регионах европейской части России – 19,6%
- население Сибири – 31,6%.

DIREG-2

(2013-2014 гг., 50 000 пациентов)

Общая распространенность НАЖБП по России **составила 37,3%.**

Факторы риска были выявлены у **92% пациентов с НАЖБП:** индекс массы тела более 27 кг/м², ожирение, **сахарный диабет**, гиперхолестеринемия.

	Цель ИР	

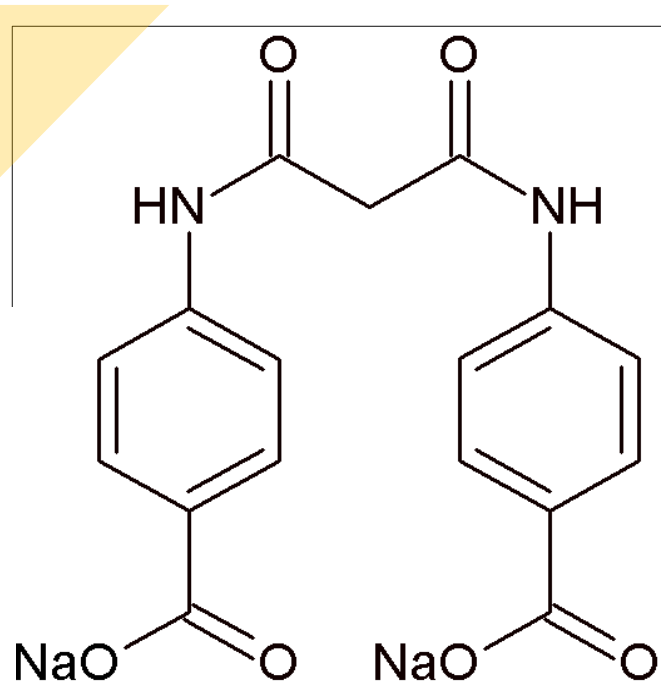
Изучение гипOLIпидемической и гипогликемической активности экспериментального вещества – 4,4 – (пропандиамидо)-дибензоата натрия (**малобена**) на фоне моделей неалкогольной жировой болезни печени и сахарного диабета.

- Создать модель СД 2 типа в лабораторных условиях.
- Изучить показатели углеводного обмена в скелетных мышцах и крови интактных животных и животных с моделями НАЖБП и СД-2.
- Исследовать уровень гликогена скелетных мышц и глюкозы крови у животных с экспериментальными моделями на фоне введения производного малоновой кислоты.
- Оценить показатели липидного обмена в норме и в условиях патологии жирового обмена и гипергликемии.
- Изучить эффективность влияния производного малоновой кислоты на показатели липидного обмена у экспериментальных животных с НАЖБП и СД 2.

Цели и задачи

	Задачи ИР	

Объект исследования



4,4' (пропандиамидо)дibenзоат натрия

Анализ влияния экспериментального вещества на липидный и углеводный обмены проводился в сыворотке крови и скелетных мышцах мышеч-самцов линии *C57bl/6* массой 18-22 г на фоне экспериментальной модели НАЖБП.

В случае модели СД-2 в эксперименте были задействованы аутбредные крысы-самцы массой 200-450 г. Анализ биохимических показателей проводится в аналогичных условиях с дополнительным определением уровня глюкозы в цельной крови.

Исследование активности экспериментального вещества на модели НАЖБП



Высококалорийная диета (24 недели):

- Стандартный корм – 63%
- Топленый животный жир – 19%
- Сахарозы – 10%;
- Изолированного соевого белка – 8%.



Забор крови методом кардиальной пункции в пробирки с активатором свертывания крови с целью получения сыворотки. **Забор скелетных** (бедренной) **мышц**.



Определение уровня гликогена в скелетных мышцах 4-ех экспериментальных групп (Прил. 1).



Определение уровня холестерина (ХС) и триацилглицеридов (ТАГ) в сыворотке крови экспериментальных групп по методике (Прил. 2).

№ группы	Идентификация	Количество крыс	Суточная доза
1	Интактная группа (Стандартный корм)	7-12	Вода питьевая
2	Контроль (ВЖД)		Вода питьевая
3	МФ (метформин на фоне ВЖД)		300 мг/кг
4	МЛ (малобен на фоне ВЖД)		10 мг/кг

Результаты определения гликогена в СМ при НАЖБП

Группа мышей	Число животных в группе	Гликоген СМ, мг/г ткани
1. Интактные мыши (стандартный корм)	8	0,48±0,04
2. Контроль, неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) (высококалорийная диета)	10	0,12±0,07* -75%
3. Высококалорийная диета+лекарственный препарат метформин (МФ)	7	0,18±0,04** +50%
4. Высококалорийная диета+экспериментальное вещество, производное малоновой кислоты (МЛ)	7	0,076±0,02 -37%

* $p < 0.05$ в сравнении с интактной группой

** $p < 0.05$ в сравнении с контрольной группой

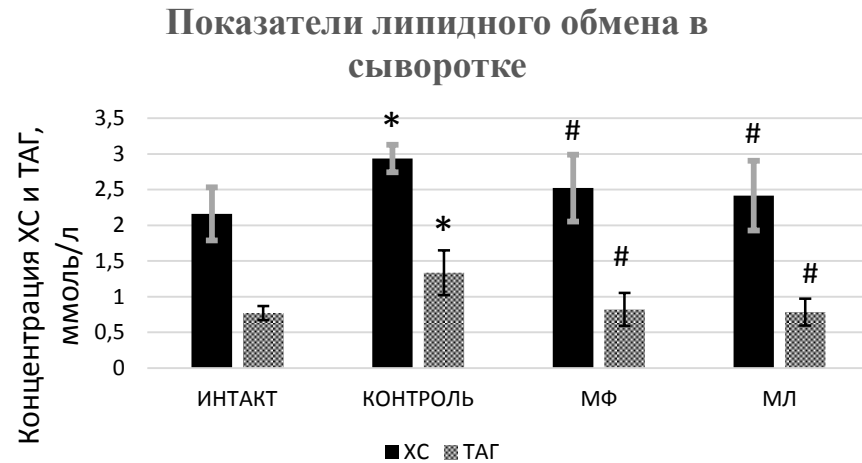


Гистограмма по содержанию гликогена в скелетных мышцах экспериментальных групп

* $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой

$p < 0,05$ по сравнению с группой контроля

Результаты определения ХС и ТАГ в сыворотке крови при НАЖБП



Гистограмма по содержанию холестерина и триацилглицеридов в сыворотке крови

* $p < 0,05$ по сравнению с интактной группой

$p < 0,05$ по сравнению с группой контроля

Группа мышей	Содержание холестерина, ммоль/л	Содержание ТАГ, ммоль/л
1. Интактные мыши (стандартный корм)	2,16±0,37	0,77±0,1
2. Контроль, неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) (высококалорийная диета)	+36% 2,93±0,19*	+73% 1,33±0,31*
3. Высококалорийная диета+лекарственный препарат метформин	-14% 2,52±0,47**	-38% 0,82±0,23**
4. Высококалорийная диета+экспериментальное вещество, производное малоновой кислоты	-17,4% 2,42±0,49**	-41% 0,78±0,19**

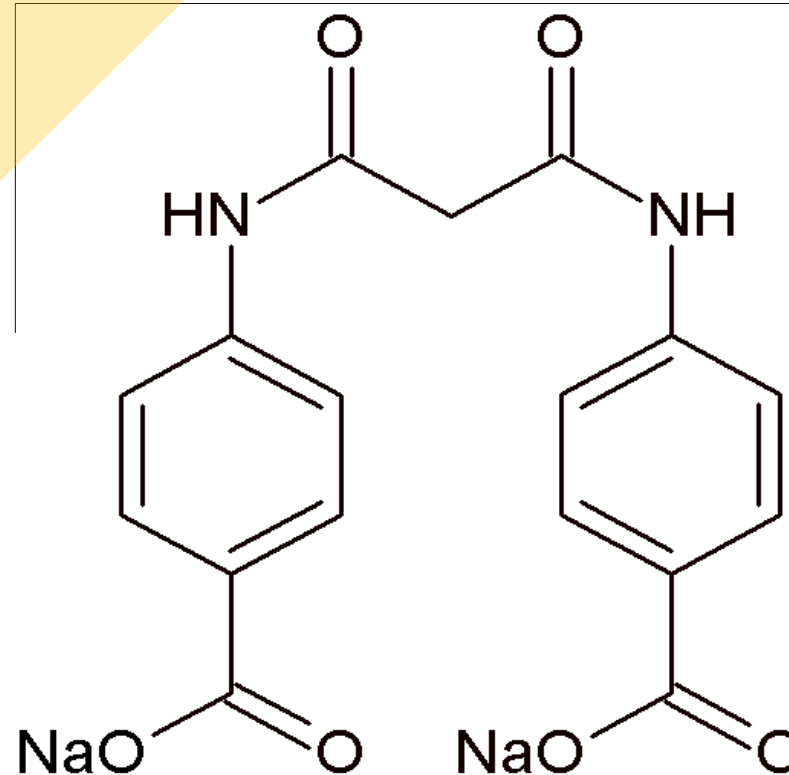
* $p < 0.05$ в сравнении с интактной группой

** $p < 0.05$ в сравнении с контрольной группой

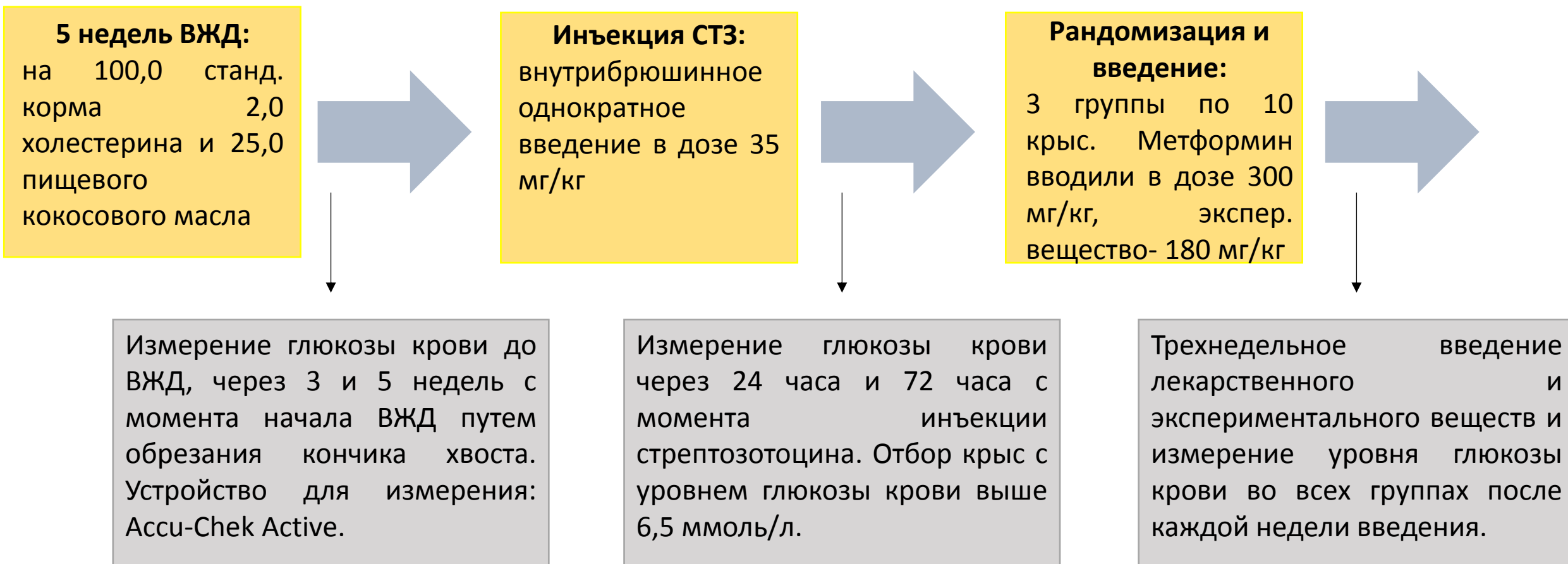
Вывод по результатам анализа модели НАЖБП

На фоне НАЖБП введение экспериментального вещества
(производного малоновой кислоты):

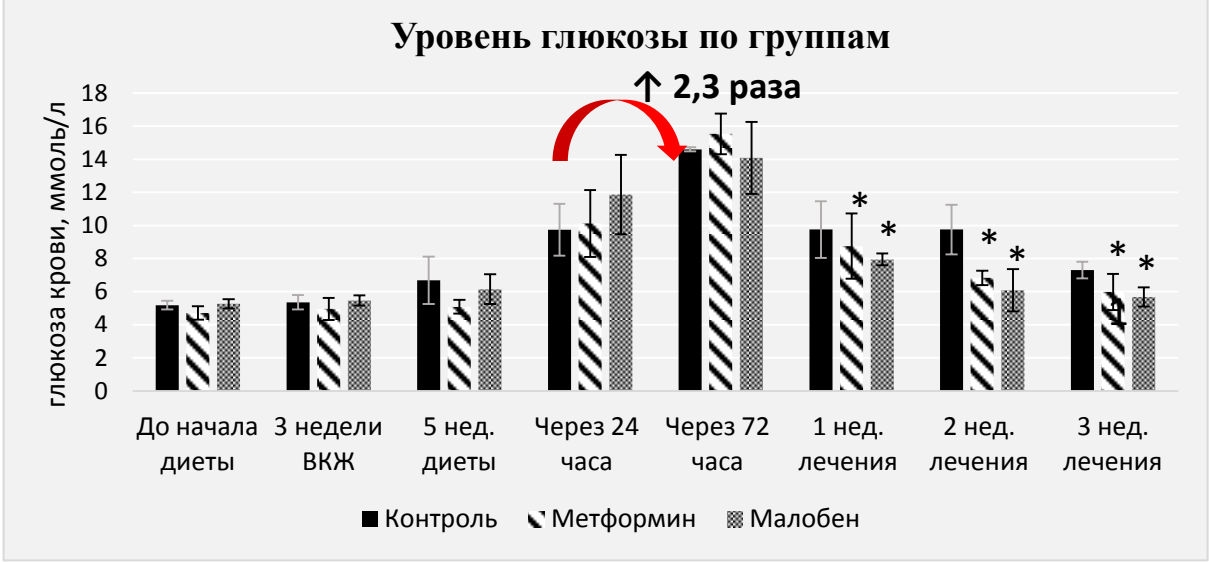
1. Приводит к нормализации показателей липидного обмена по сравнению с контрольной группой. При этом интенсивность изменения концентрации ХС и ТАГ на фоне малобена выше, чем на фоне ежедневного введения метформина.
2. Не приводит к повышению запаса гликогена скелетных мышц. Метформин и **малобен** в данном эксперименте показали противоположное влияние на углеводный обмен.



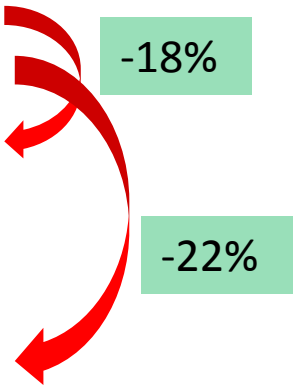
Исследования активности **малобена** на модели СД-2



Концентрацию глюкозы крови в экспериментальных группах крыс



Группа	До ВЖД	3 нед. ВЖД	5 нед. ВЖД	24 ч. после СТЗ	72 ч. после СТЗ	1 нед. лечения	2 нед. лечения	3 нед. Лечения
Контроль (вода питьевая)	5,2±0,26	5,4±0,44	6,7±1,43	9,7±1,57	14,6±0,13	9,8±1,71	9,8±1,50	7,3±0,5
Метформин (300 мг/кг)	4,7±0,41	5,0±0,66	5,1±0,42	10,1±2,02	15,5±1,23	8,8±2,12*	6,8±0,44*	6,0±1,10*
Производное малоновой кислоты (180 мг/кг)	5,3±0,28	5,5±0,30	6,2±0,9	11,9±2,40	13,1±2,53	8,0±0,36*	6,1±1,28*	5,7±0,58*



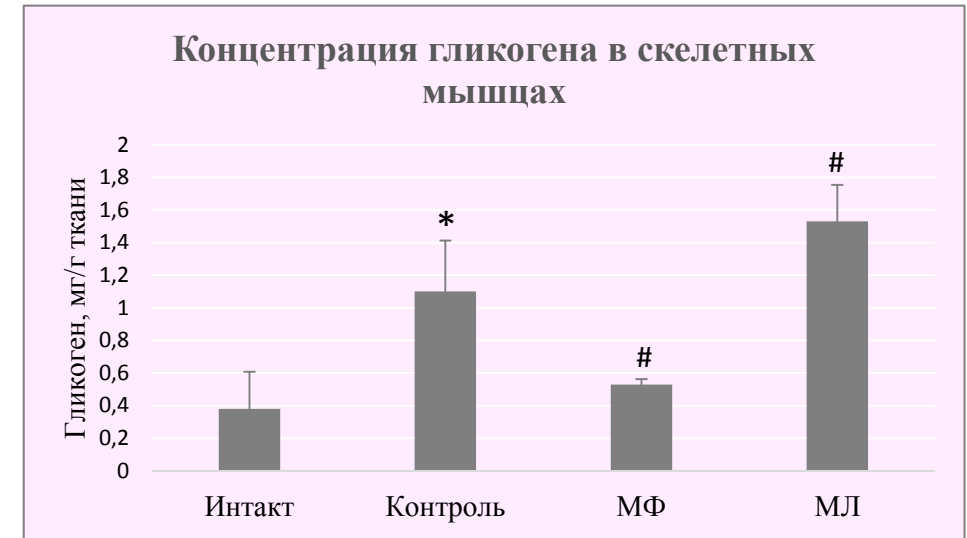
* $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой

Анализ уровня гликогена в СМ на фоне СД-2

Группы	Количество крыс	Концентрация гликогена, мг/г ткани
Интактная группа	10	0,38±0,23
Контрольная группа (СД на фоне ВЖД и СТЗ)	10	1,1±0,31* ↑ в 3 раза
Прием метформина на фоне СД	10	0,53±0,03** ↓ в 2 раза
Прием производного малоновой кислоты на фоне СД	10	1,50±0,23** ↑ в 1,4 раза

* $p < 0.05$ в сравнении с интактной группой

** $p < 0,05$ в сравнении с группой контроля



Анализ ХС и ТАГ в сыворотке на фоне СД-2

Группы	Количество крыс	Концентрация холестерина, ммоль/л	Концентрация триацилглицеридов, ммоль/л
Интактная группа	10	5,14±0,21	0,7±0,31
Контрольная группа (СД на фоне ВЖД и СТЗ)	10	12,1±0,56*	2,7±0,73*
Прием метформина на фоне СД	10	1,55±0,61**	1,1±0,70**
Прием малобена на фоне СД	10	1,62±1,16**	0,88±0,27**

↑ в 4 раза

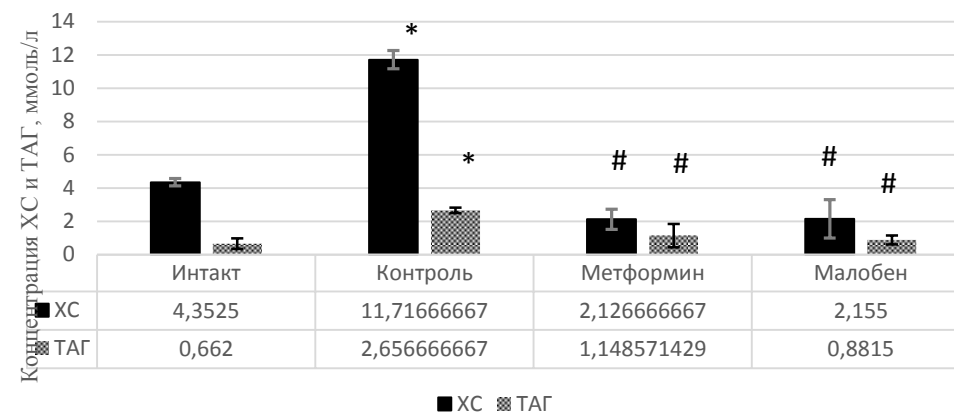
↓ в 2,5 раза

↓ в 3 раза

* $p < 0.05$ в сравнении с интактной группой

** $p < 0.05$ в сравнении с группой контроля

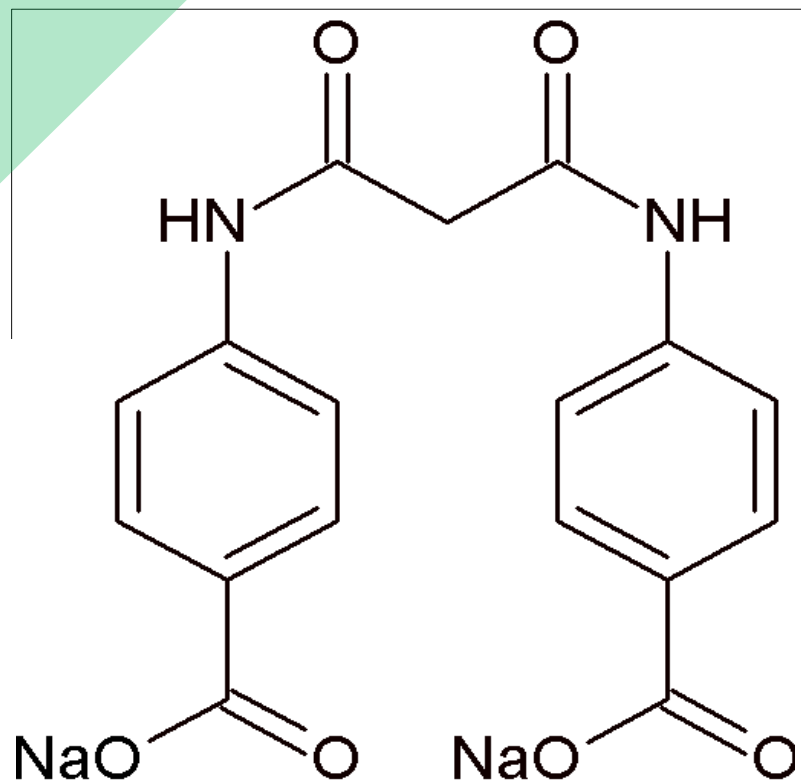
ХС и ТАГ в сыворотке крови при СД-2



* $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой

$p < 0,05$ по сравнению с группой контроля

Вывод по результатам анализа модели СД-2



На фоне СД-2 введение экспериментального вещества

(производного малоновой кислоты):

1. **Приводит к достоверному снижению уровня глюкозы в крови** по сравнению с контрольной группой.
2. **Приводит к повышению запасающей способности скелетных мышц** и повышению уровня гликогена в них в сравнении с группой контроля
3. **Способствует нормализации содержания холестерина и триацилглицеридов** в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой.

Выводы по исследовательской работе

1) Воспроизведена модель сахарного диабета 2 типа на основе однократной инъекции стрептозотоцина в дозе 35 мг/кг и пятинедельной высококалорийной диеты.

2) Выявлено снижение уровня гликогена в скелетных мышцах животных с НАЖБП в 4 раза по сравнению с интактной группой и повышение этого показателя в 2,9 раза у животных с гипергликемией.

3) Доказано, что экспериментальное вещество (4,4 – (пропандиамидо)-дibenзоат натрия) незначительно снижает уровень гликогена в скелетных мышцах у животных с НАЖБП по сравнению с группой контроля и на 36% повышает этот показатель у животных с гипергликемией.

4) Выявлено, что введение экспериментального вещества животным с моделью СД-2 типа приводило к понижению (нормализации) уровня глюкозы на 22% в периферической крови крыс по сравнению с группой контроля к третьей неделе введения.

5) Выявлено достоверное повышение концентрации ХС и ТАГ в сыворотке крови животных по сравнению с интактной группой в 1,4 и 1,7 раза в условиях НАЖБП и 2,3 и 3,8 раза в условиях гипергликемии соответственно.

6) Установлено, что действие экспериментального вещества приводило к нормализации показателей ХС и ТАГ в сыворотке крови животных с НАЖБП и СД-2 и достижению целевых показателей.