

УДК 577.124.22.636.02.615.27

DOI: 10.31040/2222-8349-2024-0-4-141-145

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ 20-ГИДРОКСИЭКДИЗОНА НА УГЛЕВОДНЫЙ ОБМЕН У ПОРОСЯТ

© О.В. Обвинцева, К.Т. Еримбетов

Исследовано влияние 20-гидроксиэкдизона на показатели углеводного обмена у помесных поросят (♂ датский йоркшир × ♀ датский ландрас) в постнатальный период онтогенеза. В возрасте 60 суток были сформированы 2 группы животных: 1 (контроль, $n=3$) и 2 (опыт, $n=4$), получавшие комбикорм с содержанием (г/кг) сырого протеина 158.7; лизина 7.7; треонина 4.8; метионина 4.6 и обменной энергии (МДж/кг) 12.7. В рацион поросят опытной группы вводили 20-гидроксиэкдизон из расчета 30 мг/кг корма. Изучали показатели углеводного обмена (концентрацию глюкозы, пирувата, лактата, активность альфа-амилазы, лактатдегидрогеназы в крови, содержание гликогена в длиннейшей мышце спины и печени). Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета прикладных программ STATISTICA v.12.5. Для выявления различий между выборками животных применили U-критерий Манна-Уитни. Различия между группами рассматривали статистически значимыми при $p \leq 0.05$. Применение 20-гидроксиэкдизона животным в постнатальный период онтогенеза в течение двух месяцев приводит к снижению уровня лактата в сыворотке крови (на 17.1%; $p < 0.05$). У животных опытной группы по сравнению с контролем установлено повышение содержания пирувата (на 15.8%; $p < 0.05$), активности ферментов лактатдегидрогеназы и альфа-амилазы в сыворотке крови на фоне низкого уровня глюкозы в цельной крови (на 22.8%; $p < 0.05$). В то же время у животных, получавших 20-гидроксиэкдизон по сравнению с контролем, выявлено повышение уровня гликогена в печени и длиннейшей мышце спины (на 23.0 и 20.7% соответственно; $p < 0.05$). Заключение, что 20-гидроксиэкдизон активирует внутриклеточный сигнальный путь фосфатидилинозитол-3-киназы и протеинкиназы B, что приводит к усилению интенсивности и направленности углеводного обмена, сопровождающийся полным окислением глюкозы до пирувата с большим образованием аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) и эффективной утилизацией глюкозы на синтез гликогена в печени и длиннейшей мышце спины.

Ключевые слова: 20-гидроксиэкдизон, поросята, углеводный обмен, лактат, пируват, глюкоза, гликоген, лактатдегидрогеназа, сахарный диабет.

Введение. Имеющиеся в настоящее время знания о механизмах регуляции метаболизма дают основания полагать, что вопросы коррекции процессов обмена углеводов в норме и при патологии имеют огромное научно-практическое значение. Количество заболеваний сахарным диабетом 2 типа и его осложнений из года в год растет, при этом не только в пожилом возрасте, но и среди молодого поколения, что отражается в социально-экономическом положении общества. Эндокринологи в настоящее время имеют высокий уровень компетенций по эффективной терапии сахарного диабета 2 типа, что позволяет осуществлять надежный контроль над гипергликемией. Современные имеющиеся в распоряжении эндокринологов

противодиабетические средства, входящие в стандартную терапию сахарного диабета, имеют значительные недостатки, которые снижают их эффективность и безопасность [1]. В связи с этим разработка и экспериментальное исследование новых эффективных и безопасных противодиабетических препаратов с другим механизмом действия является актуальной задачей.

Одним из препаратов, способных влиять на обменные процессы углеводов, может быть 20-гидроксиэкдизон, который относится к фитоэкдистероидам. В некоторых исследованиях показано, что 20-гидроксиэкдизон активирует серин-треониновую протеинкиназу B (AKt-1), которая в клетке в активном состоянии обеспечивает фосфорилирование протеинов, изменяя

ОБВИНЦЕВА Ольга Витальевна – к.б.н., Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных, e-mail: obvintseva.olga@yandex.ru
ЕРИМБЕТОВ Кенес Тагаевич – д.б.н., Научно-исследовательский Технологический центр ПРИМ; Калужский государственный университет им. К.Э. Циолковского, e-mail: erimbetovkt@mail.ru

их функции и клеточный метаболизм [2, 3]. В связи с этим обращает на себя внимание регулирующее действие 20-гидроксиэкдизона касаясь метаболических процессов в организме, в том числе в связи с возрастом, а также при различных физиологических состояниях [4–7]. В недавних исследованиях показано, что ежедневное потребление крысами 20-гидроксиэкдизона в составе функционально-пищевых ингредиентов в рамках 36-дневной модели повышенных физических энерготрат оказало положительное влияние на целый ряд биохимических показателей, характеризующих метаболические изменения на фоне физических нагрузок, и состояние стресса [8]. В другом исследовании продемонстрировано, что наноструктурный клатратный комплекс 20-гидроксиэкдизона с арабиногалактаном на стрептозотоциновой модели сахарного диабета у крыс обеспечивает снижение уровня глюкозы на 45.0 % ($p \leq 0.05$) по сравнению со значениями в контроле, коррекцию обменных процессов после введения диабетогенного токсина [9].

В настоящее время для моделирования сахарного диабета в основном применяются грызуны (мыши и крысы, реже – морские свинки, песчанки и дегу) и нечеловекообразные обезьяны [10]. При этом в последнее время все шире начинают использоваться мини-свиньи. По мнению большинства ученых свиньи используются в качестве превосходной модели для изучения сахарного диабета и связанных с ним осложнений. Это связано с тем фактом, что морфология поджелудочной железы свиньи и ее общий метаболический статус схожи с таковым у человека [11, 12]. У мини-свиней признаки возникновения аллоксанового и/или стрептозотоцинового сахарного диабета развиваются гораздо лучше и быстрее, чем у грызунов: инсулинорезистентность возрастает почти в 5 раз [10].

Следовательно, исследования на свиньях, как наиболее подходящей модели, которая гораздо ближе к человеку для изучения интенсивности и направленности обмена углеводов как в норме, так при его нарушениях на фоне применения метаболических средств, в частности 20-гидроксиэкдизона, приобретают особую значимость.

Целью исследования явилось изучение влияния 20-гидроксиэкдизона на углеводный обмен у поросят (♂ датский йоркшир × ♀ датский ландрас) в период интенсивного роста.

Материалы и методы исследования.

Объектом исследования явились поросята (♂ датский йоркшир × ♀ датский ландрас). Эксперимент проводился на животных с 60- по 125-суточный возраст. Были сформированы 2 группы поросят по 3 и 4 особи. Животные получали диету 2 раза в сутки. Животные находились в клетках, при свободном доступе к питьевой воде из автопоилок. Диета для животных обеих групп была одинаковой. Поросятам опытной группы задавали в рацион препарат 20-гидроксиэкдизон из расчета 30 мг/кг.

Для оценки углеводного обмена брали венозную кровь из наружной яремной вены животных в пробирки. При взятии крови ее небольшая капля была введена в глюкометр «Accu-Chek®Active» с целью определения уровня глюкозы. Кровь брали в пробирки с фторидом натрия и ЭДТА- Na_2 для установления уровня лактата и пирувата, после центрифугирования при 5000 об/мин 20 мин отбирали супернатант. Супернатант разливали в эппендорфы и замораживали. После размораживания образцов определяли концентрацию лактата на основе набора компании «Ольвекс Диагностикум», а пирувата – по цветной реакции с 2,4-динитрофенилгидрозином [13]. Для получения сыворотки крови ее отбирали в пробирки с активатором свертывания (сухой SiO_2) и гелем, после центрифугирования при 5000 об/мин 20 минут отбирали образцы и замораживали. После размораживания определяли в ней активности ферментов лактатдегидрогеназы (ЛДГ) (КФ 1.1.1.27) и альфа-амилазы (КФ 3.2.1.1) на автоматическом биохимическом анализаторе АРД 300 (ООО «ВИТАКО», 2014, Россия) с применением наборов UTS («Юнимед»). После вскрытия животных были извлечены длиннейшая мышца спины и печень. В пробах печени и мышц, замороженных в жидком азоте, определяли орциновым методом содержание гликогена [13].

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета прикладных программ STATISTICA v.12.5. Полученные данные в таблице представлены в виде средней арифметической $\pm$ стандартного отклонения. Для выявления различий между выборками животных применили U-критерий Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение. Одними из основных метаболитов углеводного обмена являются глюкоза, пируват и лактат. По их содер-

жанию и соотношению в организме можно судить о направленности и интенсивности углеводного обмена [14]. Полученные нами данные свидетельствуют, что введение 20-гидроксиэкдизона животным обеспечивает уменьшение концентрации лактата в сыворотке крови. При этом у поросят опытной группы отмечено увеличение концентрации пирувата и снижение содержания глюкозы в крови. Соотношение лактат/пируват в крови представляет собой важный биохимический показатель, отражающий метаболические процессы в организме. По данному показателю установлено уменьшение соотношения лактат/пируват (на 28.4%; $p<0.05$) (табл.). Эти результаты говорят об усилении процессов аэробного обмена и увеличении активности митохондрий. Следовательно, стимулирование 20-гидроксиэкдизоном анаболизма в организме приводит к интенсификации углеводного обмена в сторону усиления пируватдегидрогеназного комплекса с образованием ацетил-кофермента А. В данном контексте повышение активности лактатдегидрогеназы и альфа-амилазы в сыворотке крови животных, которым вводили 20-гидроксиэкдизон, в значительной мере свидетельствует о смещении ферментативной реакции в сторону полного катаболизма глюкозы. Высокая активность ферментов лактатдегидрогеназы и альфа-амилазы на фоне низкого соотношения лактат/пируват в крови (табл.) при воздействии 20-гидроксиэкдизона может свидетельствовать о полном катаболизме глюкозы до конечных продуктов – воды и углекислого газа, сопровождающийся синтезом богатых энергией макроэргических эквивалентов в виде АТФ.

В этой ситуации в организме животных, получавших 20-гидроксиэкдизон, зафиксировано статистически значимое увеличение содержания гликогена в печени и длинной мышце спины. Стимулирование поглощения глюкозы тканями и образования гликогена определяется активирующим действием 20-гидроксиэкдизона на протеинкиназу В(Akt) [15].

Заключение. Таким образом, 20-гидроксиэкдизон, активируя протеинкиназу В, обеспечивает усиление интенсивности и направленности углеводного обмена в сторону полного катаболизма глюкозы с образованием большого количества АТФ и гликогена в тканях поросят. Полученные результаты существенно дополняют имеющиеся сведения об уникальных свойствах 20-гидроксиэкдизона, в особенности их способности регулировать процессы обмена углеводов, продемонстрированные у свиней с общим метаболическим статусом, схожим с таковым у человека. Исследования на свиньях по влиянию 20-гидроксиэкдизона на метаболизм углеводов как таковой отсутствуют в литературе. Результаты исследований имеют важное научно-практическое значение для разработки способов коррекции углеводного обмена и связанных с ним метаболических нарушений в организме животного.

Литература

1. Куркин Д.В., Абросимова Е.Е., Бакулин Д.А., Ковалев Н.С., Дубровина М.А., Борисов А.В., Петров В.И., Тюренков И.Н. Роль NO-ергической системы в регуляции углеводного обмена и развитии сахарного диабета // Успехи физиологических наук. 2022. Т. 53. № 1. С. 88–104. DOI: 10.31857/S0301179822010052.

Т а б л и ц а

Показатели углеводного обмена у подопытных поросят

Показатели	Группы	
	Контроль	Опыт
Лактат в сыворотке крови, ммоль/л	1.17±0.06	0.97±0.04*
Пируват в сыворотке крови, ммоль/л	0.076±0.004	0.088±0.003*
Лактат/пируват	15.39±1.01	11.02±0.92*
Глюкоза в крови, ммоль/л	5.89±0.40	4.55±0.31*
Лактатдегидрогеназа в сыворотке крови, Ед/л	350.2±50.3	512.6±40.5
Альфа-амилаза в сыворотке крови, Ед/л	46.3±2.02	52.6±1.98
Концентрация гликогена в печени, мг/г	16.89±1.02	20.78±1.10*
Концентрация гликогена в мышце, мг/г	7.10±0.29	8.57±0.42*

Примечание. * $p<0.05$ по U-тесту.

2. Сидорова Ю.С. Физиолого-биохимическая оценка *in vivo* адаптогенных свойств фитоэкдистероидсодержащего экстракта серпухи венценосной. М., 2014. 115 с.
3. Соловьева А.Г., Еримбетов К.Т., Обвинцева О.В., Федорова А.В., Михайлов В.В. Физиологические механизмы действия и перспективы применения фитоэкдистероидов в медико-биологических технологиях // Проблемы биологии продуктивных животных. 2021. № 1. С. 26–40. DOI: 10.25687/1996-6733.prodanimbior.2021.1.26-40.
4. Володин В.В., Сидорова Ю. С., Мазо В.К. 20-гидроксиэкдизон – растительный адаптоген: анаболическое действие, возможное использование в спортивном питании // Вопросы питания. 2013. Т. 82. № 6. С. 24–30.
5. Phunphong S., Kijawornrat A., Chaiduang S., Saengsirisuwan V., Bupha-Intr T. 20-Hydroxyecdysone attenuates cardiac remodeling in spontaneously hypertensive rats // Steroids. 2017. Vol. 126. P. 79–84. DOI: 10.1016/j.steroids.2017.08.004.
6. Khaziev D., Galina C., Gadiev R., Valitov F., Gumarova G., Galyautdinov I. Phytoecdysteroids from *Serratula coronata* when growing ducklings // Res. Veter. Sci. 2020. Vol. 128. P. 170–176. DOI: org/10.1016/j.rvsc.2019.11.012.
7. Akopova O., Korkach Y., Sagach, V. The effects of ecdysterone and enalapril on nitric oxide synthesis and the markers of oxidative stress in streptozotocin-induced diabetes in rats: a comparative study // Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol. 2024. Vol. 9. DOI: org/10.1007/s00210-024-03154-z.
8. Шипелин В.А., Бирюлина Н.А., Сидорова Ю.С., Петров Н.А., Зорин С.Н., Мазо В.К., Бессонов В.В. Физиолого-биохимическое исследование *in vivo* влияния полифенолов и 20-гидроксиэкдизона из зерен киноа на устойчивость к физическим нагрузкам у крыс Вистар // Вопросы питания. 2024. Т. 93. № 1. С. 80–91. DOI: org/10.33029/0042-8833-2024-93-1-80-91.
9. Федорова А.В. физиолого-биохимическое обоснование применения наноструктурного клатратного комплекса 20-гидроксиэкдистерона с арабиногалактаном для коррекции обмена веществ, роста и развития животных. М., 2024. 172 с.
10. Макарова М.Н., Макаров В.Г. Диет-индуцированные модели метаболических нарушений. Сообщение 3: экспериментальный сахарный диабет // Лабораторные животные для научных исследований. 2018. № 3. С. 80–89. DOI: org/10.29926/2618723X-2018-03-08.
11. Koopmans S.J., Schuurman T. Considerations on pig models for appetite, metabolic syndrome and obese type 2 diabetes: From food intake to metabolic disease // Eur. J. Pharmacol. 2015. Vol. 759. P. 231–239. DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.03.044.
12. Kottaisamy C.P.D., Raj D.S., Prasanth Kumar V., Sankaran U. Experimental animal models for diabetes and its related complications-a review // Lab. Anim. Res. 2021. Vol. 37(1):23. P. 1–14. DOI: 10.1186/s42826-021-00101-4.
13. Методы биохимического анализа: Справоч. пособие. Боровск: ВНИИФБиП с.-х. животных, 1997. 356 с.
14. Никитаева Н.Н., Рыжкова Г.Ф. Влияние пропиленгликоля на углеводный обмен у ягнят // Известия Уфимского научного центра РАН. 2019. № 2. С. 62–65. DOI: 10.31040/2222-8349-2019-0-2-62-65.
15. Chen L., Zheng S., Huang M., Ma X., Yang J., Deng S., Huang Y., Wen Y., Yang X. β -ecdysterone from *Cyanotis arachnoidea* exerts hypoglycemic effects through activating IRS-1/Akt/GLUT4 and IRS-1/Akt/GLUT2 signal pathways in KK-Ay mice // J. Funct. Foods. 2017. Vol. 39. P. 123–132. DOI:10.1016/j.jff.2017.09.061.

References

1. Kurkin D.V., Abrosimova E.E., Bakulin D.A., Kovalev N.S., Dubrovina M.A., Borisov A.V., Petrov V.I., Tjurenkov I.N. Rol' NO-ergicheskoy sistemy v reguljacii uglevodnogo obmena i razvitii sahnogo diabeta // Uspehi fiziologicheskikh nauk, 2022, vol. 53, no. 1, pp. 88-104. DOI: 10.31857/S0301179822010052.
2. Sidorova Ju.S. Fiziologo-biohimicheskaja oцена *in vivo* adaptogennyh svojstv fitojekdisterooidsoderzhashhego jekstrakta serpuhi vencionsoj. Moscow, 2014, 115 p.
3. Solov'jova A.G., Erimbetov K.T., Obvinceva O.V., Fedorova A.V., Mihajlov V.V. Fiziologicheskie mehanizmy dejstvija i perspektivy primenenija fitojekdisterojdov v mediko-biologicheskikh tehnologijah // Problemy biologii produktivnyh zhivotnyh, 2021, no. 1, pp. 26-40. DOI: 10.25687/1996-6733.prodanimbior.2021.1.26-40.
4. Volodin V.V., Sidorova Ju. S., Mazo V.K. 20-gidroksijekdizon – rastitel'nyj adaptogen: anabolicheskoe dejstvie, vozmozhnoe ispol'zovanie v sportivnom pitanii // Voprosy pitanija, 2013, vol. 82, no. 6, pp. 24-30.
5. Phunphong S., Kijawornrat A., Chaiduang S., Saengsirisuwan V., Bupha-Intr T. 20-Hydroxyecdysone attenuates cardiac remodeling in spontaneously hypertensive rats // Steroids, 2017, vol. 126, pp. 79-84. DOI:10.1016/j.steroids.2017.08.004.
6. Khaziev D., Galina C., Gadiev R., Valitov F., Gumarova G., Galyautdinov I. Phytoecdysteroids from *Serratula coronata* when growing ducklings // Res. Veter. Sci., 2020, vol. 128, pp. 170-176. DOI:org/10.1016/j.rvsc.2019.11.012.
7. Akopova O., Korkach Y., Sagach, V. The effects of ecdysterone and enalapril on nitric oxide synthesis and the markers of oxidative stress in streptozotocin-induced diabetes in rats: a comparative study // Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 2024, vol. 9. DOI: org/10.1007/s00210-024-03154-z.
8. Shipelin V.A., Birjulina N.A., Sidorova Ju.S., Petrov N.A., Zorin S.N., Mazo V.K., Bessonov V.V.

Fiziologo-biohimicheskoe issledovanie in vivo vlijanija polifenolov i 20-gidroksijekdizona iz zeren kinoa na ustojchivost' k fizicheskim nagruzkam u krysv Vistar // Voprosy pitaniya, 2024, vol. 93, no. 1, pp. 80-91. DOI:org/10.33029/0042-8833-2024-93-1-80-91.

9. Fedorova A.V. fiziologo-biohimicheskoe obosnovanie primeneniya nanostrukturnogo klatratnogo kompleksa 20-gidroksijekdisterona s arabinogalaktanom dlja korrektsii obmena veshchestv, rosta i razvitiya zhivotnyh, Moscow, 2024, 172 p.

10. Makarova M.N., Makarov V.G. Diet-inducirovannye modeli metabolicheskikh narushenij. Soobshhenie 3: jeksperimental'nyj saharnyj diabet // Laboratornye zhivotnye dlja nauchnyh issledovanij. 2018, no. 3, pp. 80-89. DOI: org/10/29926/2618723X-2018-03-08.

11. Koopmans S.J., Schuurman T. Considerations on pig models for appetite, metabolic syndrome and obese type 2 diabetes: From food intake to metabolic disease // Eur. J. Pharmacol, 2015, vol. 759, pp. 231-239. DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.03.044.

12. Kottaisamy C.P.D., Raj D.S., Prasanth Kumar V., Sankaran U. Experimental animal models for diabetes and its related complications-a review // Lab. Anim. Res., 2021, vol. 37(1):23, pp. 1-14. DOI: 10.1186/s42826-021-00101-4.

13. Metody biohimicheskogo analiza: Spravochnik. posobie. Borovsk: VNIIFBiP s.-h. Zhivotnyh, 1997, 356 p.

14. Nikitaeva N.N., Ryzhkova G.F. Vliyanie propilenglikolja na uglevodnyj obmen u jagnjat // Izvestiya Ufimskogo nauchnogo centra RAN, 2019, no. 2, pp. 62-65. DOI:10.31040/2222-8349-2019-0-2-62-65.

15. Chen L., Zheng S., Huang M., Ma X., Yang J., Deng S., Huang Y., Wen Y., Yang X. β -ecdysterone from *Cyanotis arachnoidea* exerts hypoglycemic effects through activating IRS-1/Akt/GLUT4 and IRS-1/Akt/GLUT2 signal pathways in KK-Ay mice // J. Funct. Foods, 2017, vol. 39, pp. 123-132. DOI: 10.1016/j.jff.2017.09.061.

STUDY OF THE EFFECT OF 20-HYDROXYECDYSONE ON CARBOHYDRATE METABOLISM IN PIGLETS

© O.V. Obvintseva¹, K.T. Erimbetov²

¹ All-Russia Research Institute of Animal Physiology, Biochemistry, and Nutrition (VNIIFBiP), Branch of Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst, poselok Institut, 249013, Borovsk, Kaluga Region, Russian Federation

² Research and Technology Center,
3, Kievskoe shosse, 249035, Obninsk, Russian Federation

Kaluga State University named after K.E. Tsiolkovski,
26, ulitsa Stepana Razina, 248023, Kaluga, Russian Federation

The effect of 20-hydroxyecdysone on carbohydrate metabolism indices was studied in crossbred piglets (♂ Danish Yorkshire × ♀ Danish Landrace) during the postnatal period of ontogenesis. At the age of 60 days, 2 groups of animals were formed: 1 (control, n=3) and 2 (experiment, n=4), which received compound feed containing (g/kg) crude protein 158.7; lysine 7.7; threonine 4.8; methionine 4.6 and metabolizable energy (MJ/kg) 12.7. 20-hydroxyecdysone was introduced into the diet of piglets in the experimental group at the rate of 30 mg/kg of feed. The parameters of carbohydrate metabolism (glucose, pyruvate, lactate concentrations, α -amylase and lactate dehydrogenase activity in the blood, glycogen content in the longissimus dorsi muscle and liver) were studied. Statistical processing of the obtained results was performed using the STATISTICA v.12.5 software package. The Mann-Whitney U-test was used to identify differences between animal samples. Differences between groups were considered statistically significant at $p \leq 0.05$. The use of 20-hydroxyecdysone in animals during the postnatal period of ontogenesis for 2 months leads to a decrease in the lactate level in the blood serum (by 17.1%; $p < 0.05$). In animals of the experimental group, compared to the control, an increase in the pyruvate content (by 15.8%; $p < 0.05$), the activity of lactate dehydrogenase and α -amylase enzymes in the blood serum was found against the background of a low glucose level in whole blood (by 22.8%; $p < 0.05$). At the same time, in animals receiving 20-hydroxyecdysone, compared to the control, an increase in the glycogen level in the liver and longissimus dorsi muscle was found (by 23.0% and 20.7%, respectively; $p < 0.05$). It was concluded that 20-hydroxyecdysone activates the intracellular signaling pathway of phosphatidylinositol-3-kinase and protein kinase B, which leads to an increase in the intensity and direction of carbohydrate metabolism, accompanied by complete oxidation of glucose to pyruvate with a large formation of adenosine triphosphoric acid (ATP) and effective utilization of glucose for glycogen synthesis in the liver and longissimus dorsi muscle.

Keywords: 20-hydroxyecdysone, piglets, carbohydrate metabolism, lactate, pyruvate, glucose, glycogen, lactate dehydrogenase, diabetes mellitus.