

# КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

УДК 615.03 : 577.115 + 577.15

## ВПЛИВ N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІНУ НА АКТИВНІСТЬ АНГІОТЕНЗИНПЕРЕТВОРЮЮЧОГО ЕНЗИМУ У СТРУКТУРАХ МОЗКУ ТА ПЛАЗМІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА СТРЕПТОЗОТОЦИНІНДУКОВАНОГО ДІАБЕТУ

© Л. М. КАЛИНСЬКА<sup>1</sup>, Г. В. КОСЯКОВА<sup>2</sup>, Н. М. ГУЛА<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України, Київ;

<sup>2</sup>Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;

e-mail: ngula@biochem.kiev.ua, iem\_admi@bigmir.net

У роботі досліджено вплив насиченого N-ацилетаноламіну – N-стеароїлетаноламіну (NSE) на активність ангіотензинперетворюючого ензиму (АПЕ, 3.4.17.23) в структурах головного мозку щурів із стрептозотоциніндукованим цукровим діабетом. Показано, що у тварин із 8-тижневим стрептозотоциніндукованим цукровим діабетом активність АПЕ знижується в гіпоталамусі, зростає в аденогіпофізі та залишається незмінною у гіпокампі та плазмі крові. Введення інтактним тваринам перорально суспензії NSE в дозі 50 мг/кг маси тіла протягом 10 днів спричиняло вірогідне зменшення активності досліджуваного ензиму в гіпокампі, аденогіпофізі та плазмі крові. Застосування суспензії NSE у щурів із цукровим діабетом спричинювало зменшення активності АПЕ тільки в гіпоталамусі та плазмі крові тварин. Відомо, що найбільша кількість АПЕ у структурах мозку і гіпофізі знаходиться в мембранозв'язаному стані. Отже, виявлені нами зміни активності АПЕ у контрольних та тварин з індукованим діабетом можуть бути пов'язані зі здатністю NSE до модуляції ліпідного профілю клітинних мембран. Зміни активності АПЕ за дії N-ацилетаноламінів можуть бути одним із механізмів реалізації гіпотензивної та протизапальної дії цих сполук.

**Ключові слова:** ангіотензинперетворюючий ензим (АПЕ), N-стеароїлетаноламін (NSE), інсулінозалежний цукровий діабет.

Численні експериментальні та клінічні дослідження показали участь ренін-ангіотензинової системи в розвитку і прогресуванні діабетичної органної патології, зокрема діабетичної нефропатії, ретинопатії тощо [1]. Раніше нами було виявлено порушення активності компонентів ангіотензинової системи (АС) у структурах гіпоталамо-гіпофізарно-адренкортикального комплексу – гіпоталамусі, гіпофізі, надниркових залозах на ранніх стадіях розвитку стрептозотоциніндукованого діабету (СД) у щурів [2, 3].

Як імовірні модулятори адренкортикальної функції в останній час привертають увагу низькомолекулярні біорегулятори ліпідної природи – N-ацилетаноламіни (NAE) [4–6]. Реакція кори надниркових залоз на дію NAE може бути пов'язана зі змінами функції центральних ланок гіпоталамо-гіпофізарно-адренкортикальної системи (ГГАС) – гіпоталамуса і аденогіпофіза.

Враховуючи це, важливо і доцільно було дослідити вплив NAE на активність ангіотензинперетворюючого ензиму (АПЕ, 3.4.17.23) – ензиму протеолітичного процесингу ангіотензину I в центральних структурах ГГАС та плазмі крові інтактних і діабетичних щурів.

### Матеріали і методи

Досліди проводили на білих безпородних щурах-самцях із масою тіла 200–250 г. Цукровий діабет індукували одноразовим введенням тваринам розчину стрептозотину (Sigma, США) у Na<sup>+</sup>-цитратному буфері (рН 4,5) внутрішньочеревинно з розрахунку 50 мг/кг маси тіла. Розвиток захворювання контролювали за зростанням вмісту глюкози в крові, який визначали глюкозооксидазним методом [7]. Через 2 місяці після індукції діабету інтактним і діабетичним щурам вводили водну суспензію N-стеароїлетаноламіну (NSE)

Активність АПЕ в структурах ГГАС і плазмі крові щурів ( $M \pm m, n = 9$ )

Об'єкт дослідження	Контроль	NSE	СД	СД + NSE
Гіпоталамус, нмоль His-Leu/хв·мг протеїну	0,58 ± 0,01	0,56 ± 0,01	0,46 ± 0,02*	0,45 ± 0,01*
Гіпокамп, нмоль His-Leu/хв·мг протеїну	0,30 ± 0,01	0,26 ± 0,01*	0,30 ± 0,01	0,32 ± 0,01
Аденогіпофіз, нмоль His-Leu/хв·100 мг тканини	2,67 ± 0,04	2,29 ± 0,12*	2,83 ± 0,05*	2,68 ± 0,04 <sup>#</sup>
Плазма крові, нмоль His-Leu/хв·мг протеїну	7,55 ± 0,33	6,26 ± 0,40*	6,92 ± 0,46	6,25 ± 0,38*

СД – стрептозотозиніндукований діабет; \* вірогідно порівняно із групою контрольних тварин,  $P < 0,05$ ; <sup>#</sup> вірогідно порівняно із групою «СД»,  $P < 0,05$

*per os* протягом 10 днів в дозі 50 мг/кг. Окремо була відібрана група інтактних тварин для контролю.

Активність АПЕ в мембранних фракціях гіпоталамуса, гіпокампа і в гомогенатах аденогіпофіза визначали за допомогою флуоресцентного методу [8], використовуючи як субстрат Benzoyl-Gly-His-Leu (Sigma, США). Активність ензиму виражали в нмоль His-Leu, який відщепився за 1 хв інкубації в розрахунку на 1 мг протеїну, а також у розрахунку на 100 мг тканини. Активність АПЕ в плазмі крові визначали методом Л. В. Павліхіної [9]. Вміст протеїну визначали за Лоурі [10]. Результати досліджень опрацьовували статистично, використовуючи *t*-критерій Стьюдента.

### Результати та обговорення

Введення щурам розчину стрептозотозину спричинювало стійке зростання вмісту глюкози в крові тварин. Вже через місяць після індукції діабету вміст глюкози в крові щурів зростав до  $8,41 \pm 0,54$  ммоль/л, а в кінці експерименту становив  $13,58 \pm 1,73$  ммоль/л.

Результати досліджень показали, що введення NSE контрольним щурам призводить до зниження активності АПЕ в гіпокампі, аденогіпофізі та плазмі крові. Активність ензиму в гіпоталамусі після 10-денного введення NSE не змінюється (таблиця).

Вивчення активності АПЕ в структурах ГГАС щурів з індукованим 8-тижневим цукровим діабетом показало зниження активності цього ензиму в гіпоталамусі та зростання – в аденогіпофізі (таблиця). Раніше нами було показано, що на ранніх стадіях розвитку діабету (2 і 4 тижні) активність АПЕ в усіх досліджуваних структурах ГГАС –

гіпоталамусі, гіпокампі, аденогіпофізі та надниркових залозах – знижується [2, 3]. Таким чином, на різних стадіях розвитку діабету в щурів спостерігається не однотипний характер змін активності АПЕ в структурах ГГАС. Слід зазначити, що в плазмі щурів з 8-тижневим діабетом активність АПЕ спостерігається в межах контрольних значень.

Введення щурам із стрептозотозиніндукованим діабетом NSE протягом 10 днів спричиняє виразне зниження активності АПЕ в аденогіпофізі – структурі, в якій активність ензиму на цьому етапі розвитку діабету є значно підвищеною. У гіпоталамусі діабетичних щурів після введення NSE активність АПЕ істотно не змінюється і залишається суттєво зниженою порівняно з контролем. Зниженою порівняно з контрольною групою тварин виявилась також активність АПЕ в плазмі крові діабетичних щурів після 10-денного введення їм NSE (табл.).

Враховуючи те, що найбільша концентрація АПЕ в структурах мозку і гіпофізі знаходиться в мембранозв'язаному стані [11–13], виявлені нами зміни активності АПЕ в контрольних та тварин з індукованим діабетом можуть бути пов'язані зі здатністю NSE до модуляції ліпідного профілю клітинних мембран.

Отже, здатність NSE знижувати активність АПЕ – ензиму синтезу ангіотензину II – може бути однією із складових біологічної активності цих представників біологічно активних ліпідів, їхньої гормональної активності. На нашу думку, деякі фармакологічні ефекти NAE, зокрема їхня гіпотензивна та протизапальна дія, можуть бути реалізованими через зниження активності АПЕ.

**ВЛИЯНИЕ  
N-СТЕАРОИЛЭТАНОЛАМИНА  
НА АКТИВНОСТЬ  
АНГИОТЕНЗИНПРЕВРАЩАЮЩЕГО  
ЭНЗИМА В СТРУКТУРАХ МОЗГА  
И ПЛАЗМЫ КРОВИ КРЫС  
СО СРЕПТОЗОТОЦИНИНДУЦИ-  
РОВАННЫМ ДИАБЕТОМ**

*Л. Н. Калининская<sup>1</sup>, Г. В. Косякова<sup>2</sup>,  
Н. М. Гулая<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Институт эндокринологии и обмена веществ  
им. В. П. Комиссаренко НАМН Украины, Киев;

<sup>2</sup>Институт биохимии им. А. В. Палладина  
НАН Украины, Киев;  
e-mail: ngula@biochem.kiev.ua;  
iem\_admi@bigmir.net

В работе исследовано влияние насыщенного N-ацилэтанолamina – N-стеароилэтанолamina (NSE) на активность ангиотензинпревращающего энзима (АПЭ) в структурах головного мозга крыс со стрептозотоциновым сахарным диабетом. Показано, что у животных с 8-недельным сахарным диабетом активность АПЭ снижена в гипоталамусе, увеличена – в аденогипофизе и остается на уровне контрольных значений в гиппокампе и плазме крови. Введение интактным животным суспензии NSE в дозе 50 мг/кг массы тела в течение 10 дней вызывало достоверное снижение активности АПЭ в гиппокампе, аденогипофизе и плазме крови. Применение суспензии NSE в указанной дозе у крыс с индуцированным диабетом вызвало снижение активности исследуемого энзима только в гипоталамусе и плазме крови. Известно, что наибольшее количество АПЭ в структурах мозга находится в мембраносвязанном состоянии. Таким образом, обнаруженные нами изменения активности АПЭ у контрольных крыс и у животных с индуцированным диабетом могут быть связаны со способностью NSE к модуляции липидного профиля клеточных мембран. Изменение активности АПЭ под действием N-ацилэтаноламинов может быть одним из механизмов реализации гипотензивного и антивоспалительного действия этих соединений.

**Ключевые слова:** ангиотензинпревращающий энзим (АПЭ), N-стеароилэтаноламин (NSE), инсулинозависимый сахарный диабет.

**EFFECT OF  
N-STEAROYLETHANOLAMINE(NSE)  
ON ACTIVITY OF ANGIOTENSINE-  
CONVERTING ENZYME IN THE BRAIN  
STRUCTURES AND BLOOD PLASMA  
OF RATS WITH STREPTOZOTOCINE-  
INDUCED DIABETES**

*L. M. Kalynska<sup>1</sup>, G. V. Kosiakova<sup>2</sup>,  
N. M. Gula<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Komisarenko Institute of Endocrinology  
and Metabolism, National Academy  
Medical of Sciences of Ukraine, Kyiv;

<sup>2</sup>Palladin Institute of Biochemistry, National  
Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;  
e-mail: ngula@biochem.kiev.ua;  
iem\_admi@bigmir.net

**S u m m a r y**

The influence of saturated N-acylethanolamine – N-stearoylethanolamine (NSE) on the activity of angiotensin-converting enzyme (ACE) in the brain structures of rats with streptozotocine-induced diabetes was studied. It was shown that decreased activity of ACE was observed in the hypothalamus, increased – in the anterior pituitary. The NSE suspension administration to rats with experimental diabetes in a dose 50 mg/kg of body weight during 10 days caused a decrease in ACE activity in the anterior pituitary, whereas in the hypothalamus and hippocampus ACE activity did not change significantly. At the same time, introduction of NSE to intact animals led to the reduction of activity of ACE in the hippocampus, anterior pituitary and blood plasma. It is known that the highest amount of ACE in the brain structures is located in the membrane-bound state. Thus, the changes we have found in the activity of ACE in the control rats and in animals with induced diabetes may be related to the ability of NSE to the modulation of cell membranes lipid profile. Changes in the activity of ACE under the action of N-acylethanolamines may be one of the mechanisms for implementation of anti-hypertensive and anti-inflammatory action of these compounds.

**Key words:** angiotensin-converting enzyme (ACE), N-stearoylethanolamine (NSE), diabetes mellitus.

1. Ефимов А. С., Маньковский Б. Н., Костюк Е. П. и др. // Журн. АМН України. – 2000. – **6**, № 3. – С. 471–484.
2. Калинська Л. М. // Ендокринологія. – 2007. – **12**. – С. 91.
3. Калинська Л. М., Єфімов А. С. // Патологія. – 2008. – № 2. – С. 54–55.
4. Гуляя Н. М., Мельник А. А., Смирнов И. М. // Докл. АН УССР. – 1993. – № 4. – С. 142–145.
5. Pagotto U., Marsicano G., Cota D. et al. // Endocrine Rev. – 2006. – **27**. – Р. 73–100.
6. Гуля Н. М., Маргітич В. М. Жирні кислоти та їх похідні при патологічних станах. – К.: Наук. думка, 2009. – С. 334.
7. Колб В. Г., Калашикова В. С. Клиническая биохимия. – Минск: Беларусь, 1976. – 311 с.
8. Yang H., Neff N. // J. Neurochem. – 1972. – **19**. – Р. 2443–2450.
9. Павлихина Л. В., Елисеєва Ю. Е., Позд-нев В. Ф., Орехович В. Н. // Вопр. мед. химии. – 1975. – **21**, № 1. – С. 54–59.
10. Lowry O., Rosebrough N., Lewis A. et al. // J. Neurochem. – 1972. – **19**. – Р. 2443–2450.
11. Correa F., Guilhaume S., Saavedra J. // Brain Res. – 1991. – **515**. – Р. 215–222.
12. Hooper N. // Intern. J. Biochem. – 1991. – **23**, N 7–8. – Р. 641–647.
13. Вернигора А. Н., Генгин М. Т. // Биохимия. – 1996. – **61**, вип. 5. – С. 771–785.

Отримано 01.11.2011