

ВПЛИВ N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІНУ НА ФОСФОЛІПІДНИЙ СКЛАД ПЕЧІНКИ ЩУРІВ З ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНІСТЮ, СПРИЧИНЕНОЮ АЛІМЕНТАРНИМ ОЖИРІННЯМ

О. В. ОНОПЧЕНКО, Г. В. КОСЯКОВА, Т. М. ГОРІДЬКО,
В. М. КЛІМАШЕВСЬКИЙ, Н. М. ГУЛА

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;
e-mail: onop.89.av@mail.ru

На моделі інсулінорезистентності (ІР) в щурів, спричиненої розвитком аліментарного ожиріння, вивчали вплив N-стеароїлетаноламіну на вміст фосфоліпідів печінки та їхній жирнокислотний склад. Результати проведених досліджень показали, що довготривале жирове навантаження спричинює дисбаланс у складі основних фосфоліпідів печінки і є одним із факторів розвитку ІР в щурів. Зокрема, виявлено вірогідне зростання вмісту фосфатидилхоліну, фосфатидилетаноламіну та значне зниження вмісту лізофосфатидилхоліну, сфінгомієліну, дифосфатидилгліцеролу, фосфатидилінозитолу, фосфатидилсерину. Розвиток ожиріння характеризується істотними змінами жирнокислотного складу фосфоліпідів печінки щурів, а саме: зростанням вмісту моноєнових (ерукової, нервонової, олеїнової), полієнових (ейкозатриєнової, докозатриєнової, арахідонової) жирних кислот та вірогідним зниженням рівня дієнових. Введення N-стеароїлетаноламіну (50 мг/кг маси тіла протягом 2 тижнів) сприяє нормалізації рівня індивідуальних фосфоліпідів в печінці щурів з ІР, що корелює зі зниженням вмісту інсуліну плазми крові та підвищенням чутливості до нього. За дії NSE спостерігається нормалізація жирнокислотного складу фосфоліпідів, що може бути пов'язано з його модулювальною дією на активність основних десатураз. З огляду на те, що дисбаланс фосфоліпідного складу печінки щурів, спричинений аліментарним ожирінням, зумовлює серйозні метаболічні зміни, пов'язані з розвитком ІР, його компенсація за дії NSE може сприяти відновленню інсулінового сигналіngu, пригніченню розвитку ожиріння та діабету 2-го типу, за рахунок послаблення ІР.

Ключові слова: N-стеароїлетаноламін, ожиріння, інсулінорезистентність, фосфоліпіди, десатурази.

Ожиріння – один із основних факторів, що безпосередньо пов'язаний з розвитком інсулінорезистентності (ІР) та цукрового діабету 2-го типу. З даних літератури відомо, що гіпертрофія вісцеральної жирової тканини призводить до зростання пулу вільних жирних кислот (ЖК) та їх надходження до печінки. Це, в свою чергу, спричинює виникнення дисліпідемії, розвиток інсулінорезистентності та гіперінсулінемії [1].

Саме дисліпідемія є одним із головних патогенетичних факторів, пов'язаних із розвитком цукрового діабету 2-го типу та метаболічного синдрому. Зокрема, дисбаланс у фосфоліпідному складі тканин призводить до серйозних метаболічних змін за діабету

2-го типу [2]. Відомо, що багато клітинних функцій, таких як ензиматична активність, гормональна відповідь та проникність мембран, залежать від фізико-хімічних властивостей ліпідного бішару плазматичної мембрани, основу якого складають саме фосфоліпіди. Тому дисбаланс у фосфоліпідному складі клітин за діабету 2-го типу впливає на мембранну плинність, проникність та, як наслідок, на активність ензимів, таких як PI3/Akt-кіназа та протеїнкіназа С, що залучені до інсулінового сигналіngu [3].

У зв'язку з цим сьогодні пошук біологічно активних речовин, здатних чинити компенсаторну та адаптогенну дію за діабету 2-го типу є актуальним. Серед таких сполук виділяють

мінорні сигнальні ліпіди N-ацилетаноламіни (NAE). Раніше нами було показано здатність насиченого N-стеароїлетаноламіну (NSE) нормалізувати вміст основних фосфоліпідів та компенсувати дисбаланс ЖК у складі клітин за низки патологій, проявляючи, таким чином, мембраностабілізуючі та мембранопротекторні властивості [4, 5].

Враховуючи те, що дисбаланс фосфоліпідного складу інсулінозалежних тканин корелює з показниками розвитку ІР, метою роботи було вивчити ефект N-стеароїлетаноламіну на вміст фосфоліпідів печінки щурів та їхній жирнокислотний склад за експериментальної ІР, яку спричинювали шляхом довготривалого навантаження ЖК.

Матеріали і методи

Експериментальну модель відтворювали на безпородних щурах-самцях з масою тіла 200–220 г. Протягом експерименту тварин утримували в стандартних клітках із вільним доступом до їжі та води згідно з «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах» (Україна, 2001 р.). Інсулінорезистентність індукували довготривалим жировим навантаженням за модифікованою методикою, описаною нами раніше [6]. Контрольні щури протягом експерименту отримували стандартний раціон віварію.

За показниками маси тіла (табл. 1) та тесту на толерантність до глюкози [6] щурів із порушеною толерантністю, в яких рівень глюкози через 150 хв після навантаження залишався на високому рівні (> 5 ммоль/л) було відібрано та розділено на дві групи: «ІР» ($n = 9$) та «ІР + NSE» ($n = 10$). Щурам останньої групи щоденно протягом двох тижнів до завершення експеримен-

ту вводили *per os* водну суспензію NSE в дозі 50 мг/кг маси тіла.

Контрольних щурів було поділено на групи: інтактного контролю «Інтактні» ($n = 7$) та контролю на NSE «Інтактні+NSE» ($n = 7$). Тварини групи «Інтактні+NSE» щоденно протягом двох тижнів до завершення експерименту отримували *per os* водну суспензію NSE в дозі 50 мг/кг маси тіла.

Оцінку рівня резистентності до інсуліну проводили за допомогою обчислення індексу НОМА (The Homeostasis Model Assessment), за співвідношенням вмісту глюкози та інсуліну в плазмі крові щурів (табл. 1) до їхніх показників у нормі [7].

Наприкінці експерименту щурів декапітували під нембуталовим наркозом. Для досліджень вилучали печінку тварин, яку одразу заморожували в скрапленому азоті.

Наважку печінки гомогенізували в об'ємі 1 : 10 ізотонічного фізіологічного розчину та екстрагували ліпіди методом Bligh і Dyer [8]. Фосфоліпіди розділяли методом двовимірної тонкошарової хроматографії. У першому напрямку використовували систему для розділення: хлороформ (65) : метанол (30) : аміак (6) : бензол (10), а у другому – хлороформ (5) : метанол (1) : оцтова кислота (1) : вода (0,5) : ацетон (2) [9, 10]. Вміст фосфоліпідів оцінювали за кількістю неорганічного фосфору в ліпідних екстрактах, який визначали за методом Васильковського і Костецького [11].

Метиллові естери ЖК із ліпідного екстракту одержували за модифікованим методом Carreau і Dubaso [12]. Після розділення ліпідного екстракту шляхом тонкошарової хроматографії в системі розчинників гексан : діетиловий етер : льодяна оцтова кислота (85 : 15 : 1)

Таблиця 1. Маса тіла, рівень глюкози, інсуліну в крові щурів та значення індексу НОМА ($M \pm m$, $n = 6-10$)

Показник	Інтактні	ІР	ІР + NSE
Маса тіла, г	348 ± 22	390,3 ± 16,5*	390,3 ± 16,5
Рівень глюкози, ммоль/л	3,40 ± 0,15	5,10 ± 0,17*	4,60 ± 0,22
Рівень інсуліну нмоль/л	2,30 ± 0,09	6,3 ± 0,4* [@]	5,1 ± 0,4* ^{@#}
НОМА, ум. од.	0,39 ± 0,01	1,34 ± 0,12*	0,75 ± 0,04 [#]

* Зміни вірогідні відносно значень в інтактних щурів, $P < 0,05$; [#] зміни вірогідні відносно значень у групі тварин «ІР», $P < 0,05$; [@] зміни вірогідні відносно значень у групі тварин «Інтактні+NSE», $P < 0,05$.

фракцію фосфоліпідів знімали та метилювали. Кількісний аналіз метилових естерів проводили за допомогою газорідинної хроматографії на хроматографі HRGC 5300 Carlo Erba Instruments (Італія). Ідентифікацію індивідуальних ЖК здійснювали з використанням стандартів фірм Sigma, Serva. Вміст ЖК розраховували у відсотках від їх загальної кількості.

Для оцінки активності десатураз використовували розрахункову активність за співвідношенням відсотків вмісту ЖК: ліноленової/лінолевої ($\Delta 6$ -десатураза), арахідонової/ліноленової та арахідонової/ейкозатрисенової ($\Delta 5$ -десатураза), олеїнової/стеаринової ($\Delta 9$ -десатураза) [13].

Статистичну та кореляційну обробку даних здійснювали за допомогою програми «Microsoft Excel». Для статистичної оцінки даних використовували стандартний *t*-критерій Стьюдента. Кореляційний аналіз проводили з використанням спеціальної функції «Корелл» для розрахунку парних коефіцієнтів лінійної кореляції. Вірогідними вважали результати, якщо $P < 0,05$.

Результати та обговорення

Результати досліджень показали, що тривале утримання на жировій дієті спричинює істотні зміни у фосфоліпідному складі печінки щурів, зокрема виявлено вірогідне зростання вмісту фосфатидилхоліну (PC), фосфатидилетаноламіну (PE) та значне зниження вмісту решти фосфоліпідів: лізофосфатидилхоліну (LPC), лізофосфатидилетаноламіну (LPE),

сфінгомієліну (SM), дифосфатидилгліцеролу (DPG), фосфатидилінозитулу (PI), фосфатидилсерину (PS) (табл. 2). Введення NSE інтактним тваринам спричинює зростання вмісту DPG та LPC і не змінює вміст решти досліджуваних фосфоліпідів. Введення NSE щурам з IP сприяє нормалізації вмісту PC, PE, PI та зростанню рівнів SM, DPG PS та LPC.

Виявлені зміни фосфоліпідного складу печінки щурів за IP, на нашу думку, пов'язані як із жировим навантаженням організму щурів, так і з компенсаторною гіперінсулінемією, що розвивається у відповідь на надмірне надходження жирів. Так, за даними літератури відомо, що інсулін через CDP-холінзалежний шлях стимулює синтез PC завдяки його здатності підвищувати активність холінкінази, та, як наслідок, перетворювати холін у холінфосфат, вірогідно збільшуючи пул останнього [14]. Одночасно за дії інсуліну зростає рівень ензиму гліцерофосфатацилтрансферази, який каталізує лімітуючу реакцію синтезу фосфоліпідів, збільшуючи рівень PC та PE [14]. Свідченням цього є висока позитивна кореляція між рівнем фосфоліпідів PC, PE та вмістом інсуліну в плазмі крові в щурів з IP ($r = 0,62$; $r = 0,57$). Також відомо, що за дії інсуліну відбувається активація фосфатидилетаноламін-N-метилтрансферазного шляху синтезу PC [15], що зумовлює порушення ліпідного гомеостазу в печінці тварин та призводить до загибелі клітин [16]. Виявлено також, що зниження вмісту PC у гепатоцитах мишей дикого типу до рівня мишей, нокаутних за геном фосфатидилетаноламін-N-

Т а б л и ц я 2. Вміст індивідуальних фосфоліпідів (мкг $P_i/г$ тканини) в печінці щурів ($M \pm m$, $n = 6-10$)

Індивідуальні фосфоліпіди	Інтактні	Інтактні+NSE	IP	IP + NSE
Фосфатидилхолін	7,83 \pm 0,28	7,22 \pm 0,39	9,15 \pm 0,45*	7,49 \pm 0,43 [#]
Фосфатидилетаноламін	2,67 \pm 0,47	3,52 \pm 0,43	4,06 \pm 0,21*	3,45 \pm 0,16 [#]
Дифосфатидилгліцерол	1,24 \pm 0,25	1,35 \pm 0,07*	0,43 \pm 0,03*	0,65 \pm 0,05 [#]
Сфінгомієлін	1,22 \pm 0,16	1,2 \pm 0,11	0,49 \pm 0,05*	0,70 \pm 0,08 [#]
Фосфатидилінозитол	0,75 \pm 0,14	0,9 \pm 0,12	0,41 \pm 0,05*	0,71 \pm 0,1 [#]
Фосфатидилсерин	0,62 \pm 0,15	0,69 \pm 0,15	0,26 \pm 0,03*	0,46 \pm 0,08 [#]
Лізофосфатидилетаноламін	0,65 \pm 0,13	1,09 \pm 0,17	0,30 \pm 0,07*	0,50 \pm 0,12
Лізофосфатидилхолін	0,52 \pm 0,07	0,92 \pm 0,07*	0,29 \pm 0,05*	0,53 \pm 0,08 [#]

* Зміни вірогідні відносно значень у групі тварин «Інтактні», $P < 0,05$; [#] зміни вірогідні відносно значень у групі тварин «IP», $P < 0,05$

метилтрансферази, призводить до підвищення чутливості до інсуліну та уповільнення процесів ожиріння [17].

Одержані нами дані щодо зниження рівня PS (табл. 2) за зростання вмісту PE в печінці щурів з IP може свідчити про активацію синтезу PE через декарбоксілювання PS за участю фосфатидилдекарбоксілази [18]. З іншого боку, зростання вмісту PC та PE може бути пов'язано зі зниженням вмісту їх лізоформ (табл. 2). Так, вміст лізофосфатидилхоліну та лізофосфатидилетаноламіну вірогідно знижується майже на 50% порівняно з інтактними щурами, що зворотно корелює із вмістом інсуліну плазми крові ($r = -0,52; -0,45$). У літературі є відомості про те, що вміст мембранного PE високо корелює з маркерами IP та може бути важливим регулятором проведення інсулінового сигналу [19]. В наших дослідженнях виявлено високу кореляцію між рівнем PE та значенням індексу НОМА ($r = 0,62$).

Введення NSE щурам з IP, спричиненою жировим навантаженням, сприяє нормалізації вмісту PC та PE в печінці щурів (табл. 2). З одного боку, це може бути обумовлено підвищенням чутливості клітин до інсуліну за дії NSE. З іншого, – бути наслідком активації фосфоліпази A_2 за введення NSE. Так, із даних літератури відомо, що насичені N-ацилетаноламіни з довжиною ланцюга 18 атомів вуглецю (N-стеароїлетаноламін) здатні підвищувати активність цитозольної фосфоліпази A_2 [20]. Ймовірно, що нормалізація вмісту PC та PE за дії NSE сприятиме відновленню рецепції інсуліну, оскільки відомо, що метаболізм цих фосфоліпідів тісно пов'язаний із проведенням трансмембранних сигналів у клітини та активацією протеїнкінази C.

Тривале жирове навантаження сприяє зменшенню рівня лізоформ фосфоліпідів у печінці щурів. Відомі результати клінічних досліджень, в яких виявлено зниження вмісту LPC у плазмі крові та печінці осіб із порушеною толерантністю до глюкози і діабетом 2-го типу [21]. Цей факт вказує на існування можливого кореляційного зв'язку між процесами, пов'язаними з утворенням LPC та розвитком метаболічних порушень.

Введення NSE щурам з експериментальною IP сприяє вірогідному зростанню вмісту LPC у печінці до його рівня в тварин інтактної групи. Можливо, це пов'язано з

модуляцію фосфоліпази A_2 за дії NSE, на що вказує зниження рівня PC (табл. 2). Відомо, що нормалізація рівня лізоформ фосфоліпідів та співвідношення їх із фосфоліпідом PE (який розріджує плазматичну мембрану) сприятиме відновленню структури плазматичної мембрани та активності мембранозв'язаних протеїнів [22]. Тому нормалізація вмісту LPC за дії NSE може приводити до покращення рецепції інсуліну та підвищення чутливості до нього ($r = -0,55$).

Аніонні фосфоліпіди, до яких відносять PI та PS, відіграють специфічну роль у визначенні топології вбудованих у мембрану протеїнів. Так, найвивченішим трансмембранним ензимом, який через C2-домен взаємодіє з PS, є протеїнкіназа C. Існують дані досліджень *in vitro* про залежність ступеня активації протеїнкінази C від вмісту PS [23]. Тому в наших дослідженнях вірогідне зниження вмісту PS у печінці щурів з IP (табл. 2), може бути пов'язано з порушенням інсулінового сигналіngu, на що вказує зворотна кореляція між вмістом PS та значенням індексу НОМА ($r = -0,47$). Інший аніонний фосфоліпід – фосфатидилінозитол також бере участь у сигнальній трансдукції. Показано, що PI є субстратом для утворення вторинних месенджерів – фосфоінозитидів, які модулюють активність тирозинзалежних протеїнкіназ [24], впливаючи, таким чином, на рецепцію інсуліну. За нашими даними, у печінці щурів з індукованою аліментарним ожирінням IP спостерігається істотне зниження вмісту PI порівняно з інтактним контролем, що, можливо, пов'язано зі зростанням рівня IP ($r = -0,62$).

Введення щурам NSE за IP нормалізує рівень PS та PI в печінці тварин, що корелює зі зниженням вмісту інсуліну в плазмі крові ($r = -0,58$) та може свідчити про ймовірну активацію протеїнкінази C, та, як наслідок, відновлення чутливості до інсуліну. Раніше було підтверджено здатність NSE сприяти нормалізації внутрішньоклітинного метаболізму за рахунок модуляції вмісту аніонних фосфоліпідів [25].

Зокрема відомо, що довголанцюговий насичений залишок SM надає мембрані жорсткості. Тому зниження вмісту SM може спричинювати зміни фізико-хімічних властивостей плазматичних мембран, впливаючи на рідинність ліпідних рафтів, які являють собою платформи для ліганд-рецепторних взаємодій та проведен-

ня сигналів [26]. Показано, що абдомінальне ожиріння супроводжується розвитком запалення та збільшенням продукції TNF α . Останній сприяє перетворенню сфінгомієліну в керамід, накопичення якого інгібує інсуліновий сигналінг завдяки блокуванню активації Akt-кінази [27].

Таким чином, зниження вмісту SM (табл. 2) за IP в печінці щурів може опосередковуватись його перетворенням у керамід і бути однією з причин інгібування інсулінового сигналінгу. Введення NSE за IP сприяє вірогідному зростанню вмісту SM, наближаючи показники до значень в інтактних тварин. Це є одним із факторів, який може сприяти зростанню чутливості до інсуліну, свідченням чого є висока зворотна кореляція між вмістом SM та значенням індексу НОМА ($r = -0,68$).

В наших дослідженнях виявлено, що тривале жирове навантаження спричинює в щурів значне зниження (майже у 3 рази) рівня дифосфатидилгліцеролу (DPG) порівняно з інтактними тваринами. У роботі М. Е. Widlansky et al. зазначено, що зменшення вмісту дифосфатидилгліцеролу в мітохондріях є однією з причин розвитку цукрового діабету та ожиріння [28]. Так, у щурів з неалкогольним стеатозом печінки відбувається зниження вмісту DPG, що обумовлено розвитком оксидативного стресу.

Введення NSE тваринам з експериментальною IP сприяє зростанню вмісту дифосфатидилгліцеролу (табл. 2). Це, можливо, пов'язано зі зниженням рівня оксидативного стресу за дії NSE, що опосередковано є виявленням його антиоксидантних властивостей. Так, раніше нами було показано зниження вмісту продуктів ПОЛ та відновлення прооксидантного балансу в печінці щурів з IP за дії NSE [6].

Дослідження вмісту ЖК у складі фосфоліпідів печінки щурів показало тенденцію до зростання співвідношення рівня насичених ЖК до ненасичених у щурів з IP порівняно з їх співвідношенням у щурів інтактної групи (табл. 3). Відомо, що це може бути спричинено довготривалим навантаженням жирОВОЮ дієтою. Так, на культурі гепатоцитів (Faо hepatoma cells) було виявлено інгібування інсулінового сигналінгу за дії насичених ЖК [29]. Введення NSE щурам з IP дещо знижує показник насичені/ненасичені ЖК (табл. 3), що можливо є проявом його мембраностабілізуючих вла-

стивостей, а також, імовірно, пов'язано зі зниженням неконтрольованого надходження насичених вільних ЖК до печінки. Водночас нами виявлено вірогідні зміни у складі ненасичених ЖК фосфоліпідів. Так, за експериментальної IP у печінці щурів відбувається вірогідне зростання вмісту моноенових ЖК порівняно з інтактними тваринами (рис.). Серед основних моноенових ЖК помітно збільшується рівень ерукової, нервонової та олеїнової кислот (табл. 3), що може бути обумовлено зростанням активності $\Delta 9$ -десатурази в умовах жирОВОГО навантаження [30]. Так, збільшення вмісту олеїнової кислоти може бути пов'язано зі зростанням активності стеароїл-СоА-десатурази-1 (SCD1) в печінці щурів групи «IP», яку визначали за співвідношенням олеїнової/стеаринової ЖК (табл. 4). З даних літератури відомо, що підвищення активності SCD1 у щурів, яких утримували на раціоні з високим вмістом насичених ЖК, сприяє розвитку IP у тканині печінки [31]. Такий зв'язок передбачає прямий вплив SCD1 на обмін ліпідів та інсуліновий сигналінг у печінці. В той самий час у щурів, нокаутних за геном SCD1, спостерігається зниження інтенсивності синтезу ліпідів, зростання ступеня їх окислення та загального поліпшення чутливості до інсуліну в різних тканинах, у тому числі і в печінці [32].

Одержані нами результати свідчать про зниження рівня десатурації за дії NSE в щурів із розвинутою IP (табл. 4). В літературі існує підтвердження пригнічення експресії SCD1 у печінці мишей за дії NSE [33]. Таким чином, можна припустити, що введення NSE за IP-стану знижує активність SCD1 у печінці щурів, що сприяє поліпшенню толерантності до глюкози і чутливості до інсуліну.

Водночас за ожиріння відбувається вірогідне зниження рівня дієнових ЖК (рис.) та зростання полієнових ЖК у фосфоліпідах печінки щурів. Так, зниження вмісту лінолевої ЖК у складі фосфоліпідів щурів групи «IP» (табл. 3) може бути пов'язано з активацією мембранозв'язаного мікросомного ензиму $\Delta 6$ -десатурази, що каталізує лімітуючу стадію перетворення лінолевої кислоти в арахідонову (остання є основним прекурсором для синтезу прозапальних ейкозаноїдів) [34]. Існують дані, які підтверджують безпосередній вплив високожирОВОї дієти на підвищення активності

Таблиця 3. Вміст індивідуальних жирних кислот фосфоліпідів (% від загальної кількості) в печінці щурів ($M \pm m$, $n = 6-10$)

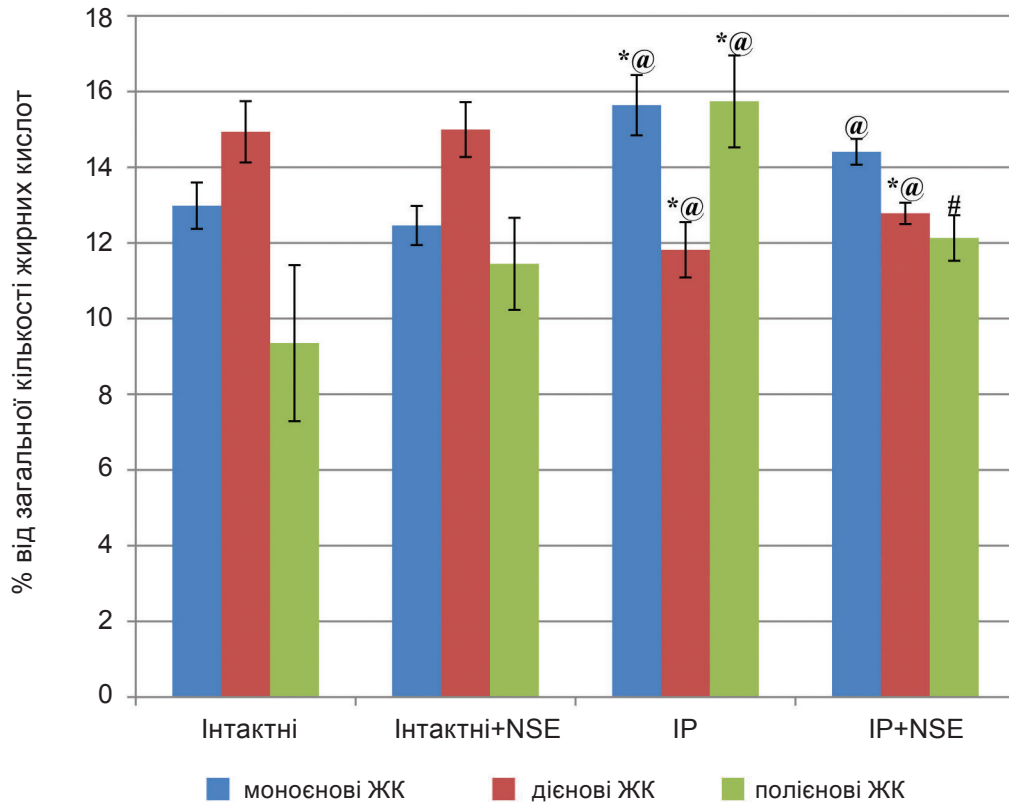
Жирні кислоти	Групи тварин			
	Інтактні	Інтактні + NSE	ІР	ІР + NSE
Миристинова 14:0	0,45 ± 0,095	0,28 ± 0,06	0,2 ± 0,02*	0,33 ± 0,04 [#]
Пентадеканова 15:0	0,66 ± 0,06	0,55 ± 0,03	0,25 ± 0,02* [@]	0,36 ± 0,03* [@]
Пентадеценова 15:1	0,34 ± 0,04	0,25 ± 0,04	0,11 ± 0,023* [@]	0,12 ± 0,02* ^{@#}
Гексадекадієнова 16:2	0,22 ± 0,025	0,17 ± 0,02	0,07 ± 0,01* [@]	0,10 ± 0,01* ^{@#}
Маргарінова 17:0	1,29 ± 0,07	1,25 ± 0,05	0,74 ± 0,05* [@]	0,66 ± 0,03* [@]
Гептадеценова 17:1w9	1,21 ± 0,10	0,94 ± 0,06*	0,29 ± 0,04* [@]	0,32 ± 0,07* [@]
Стеаринова 18:0	26,94 ± 0,66	30,34 ± 1,23*	30,82 ± 1,6*	27,49 ± 1,05
Ізостеаринова i18:0	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,007	0,04 ± 0,01* [@]	0,21 ± 0,01* ^{@#}
Олеїнова 18:1w9	9,82 ± 0,63	8,84 ± 0,54	11,65 ± 0,39* [@]	11,16 ± 0,44* [@]
Лінолева 18:2w6	12,89 ± 1,04	14,43 ± 0,71	12,01 ± 0,71 [@]	11,80 ± 0,33 [@]
Ліноленова 18:3w6	0,18 ± 0,01	0,140 ± 0,008*	0,02 ± 0,003* [@]	0,03 ± 0,005* [@]
Арахідова 20:0	0,20 ± 0,02	0,210 ± 0,004	0,15 ± 0,015 [@]	0,14 ± 0,01* [@]
Гондова 20:1w1	0,67 ± 0,03	0,600 ± 0,065	0,28 ± 0,02* [@]	0,29 ± 0,02* [@]
Ейкозатриєнова 20:3w6	0,300 ± 0,003	0,130 ± 0,001*	0,35 ± 0,03 [@]	0,47 ± 0,05* ^{@#}
Арахідонова 20:4	8,33 ± 1,74	9,40 ± 1,57	13,98 ± 1,19 * [@]	10,90 ± 0,44 [#]
Бегенова 22:0	0,49 ± 0,03	0,50 ± 0,05	0,65 ± 0,03* [@]	0,64 ± 0,04*
Ерукова 22:1	0,040 ± 0,003	0,05 ± 0,02	0,17 ± 0,06*	0,03 ± 0,001 [#]
Докозадієнова 22:2w6	0,39 ± 0,02	0,43 ± 0,03	0,41 ± 0,02	0,35 ± 0,02 [@]
Докозатриєнова 22:3	0,27 ± 0,01	0,30 ± 0,02	0,44 ± 0,04* [@]	0,29 ± 0,03 [#]
Докозапентаєнова 22:5w6	0,060 ± 0,001	0,070 ± 0,001*	0,045 ± 0,01* [@]	0,030 ± 0,003* ^{@#}
Лігноцеринова 24:0	1,30 ± 0,09	1,29 ± 0,05	1,56 ± 0,05* [@]	1,24 ± 0,12 [#]
Нервонова 24:1	0,97 ± 0,14	1,38 ± 0,36	2,13 ± 0,37*	1,72 ± 0,14*
Сума насичених	63,67 ± 2,91	59,90 ± 2,02	61,72 ± 2,90	60,70 ± 0,89
Сума ненасичених	36,11 ± 2,89	38,11 ± 2,44	38,06 ± 2,86	38,92 ± 0,87
Насичені/Ненасичені	1,480 ± 0,096	1,527 ± 0,129	1,638 ± 0,178	1,57 ± 0,06

*Зміни вірогідні відносно значень в інтактних щурів, $P < 0,05$; [#] зміни вірогідні відносно значень у групі тварин «ІР», $P < 0,05$; [@] зміни вірогідні відносно значень у групі тварин «Інтактні + NSE», $P < 0,05$

Δ6-десатурази, що призводить до збільшення вмісту арахідонової кислоти у складі фосфоліпідів печінки [35].

Як відомо, поліненасичені ЖК у складі мембранних фосфоліпідів здатні до автоокислення *in vivo* та, як наслідок, генерувати утворення суміші гідропероксидів, епоксидів та циклічних пероксидів [36]. За діабету відбувається підвищення неензиматичного автоокислювального гліколізу, тому збільшення вмісту поліненасичених фосфоліпідів може сприяти зростанню пероксидації ліпідів та роз-

витку окислювального стресу [37]. Згідно з даними, представленими в табл. 3, за ІР у складі фосфоліпідів печінки щурів спостерігається зростання вмісту ейкозатриєнової, докозатриєнової та арахідонової ЖК, порівняно з їх рівнем у тварин інтактної групи. Підвищення вмісту поліненасичених ЖК може бути обумовлено зростанням рівня TNF-α, секреція якого збільшується за гіпертрофії вісцеральної жирової тканини в умовах жирового навантаження. Згідно з даними літератури інфузія TNF-α щурам сприяє підвищенню в печінці



Вміст ненасичених жирних кислот у складі фосфоліпідів (% від загальної кількості жирних кислот) у печінці щурів ($M \pm m$, $n = 6-10$) * Зміни вірогідні відносно значень в інтактних щурів, $P < 0,05$; # зміни вірогідні відносно значень у групі тварин «IP», $P < 0,05$; @ зміни вірогідні відносно значень у групі тварин «Інтактні+NSE», $P < 0,05$

рівня фосфоліпідів зі вмістом ненасичених ЖК, що обумовлює розвиток IP [38]. Відомо, що зростання вмісту поліненасичених фосфоліпідів збільшує мембранну рідинність [39]. Як було вже зазначено зростання плинності мембран порушує функцію трансмембранних протеїнів.

Введення NSE тваринам за IP нормалізує вміст основних ненасичених ЖК у складі фосфоліпідів. Зниження рівня арахідонової ЖК фосфоліпідів за дії NSE (табл. 3) може бути опосередковано зниженням активності $\Delta 5$ -десату-

рази за співвідношенням ЖК 20:4/20:3 (табл. 4). Таким чином, NSE може сприяти зниженню рівня оксидативного стресу в умовах розвитку ожиріння та IP за рахунок зниження вмісту головного субстрату (арахідонової кислоти) процесів ПОЛ.

На підставі аналізу одержаних даних можна дійти висновку, що довготривале жирове навантаження спричинює дисбаланс фосфоліпідного складу печінки і є одним із факторів розвитку IP в щурів. Введення NSE щурам з

Таблиця 4. Розрахункова активність десатураз в печінці щурів ($M \pm m$, $n = 6-10$)

Жирні кислоти	Інтактні	Інтактні+NSE	IP	IP+NSE
Ліноленова/Лінолева	0,013 ± 0,002	0,010 ± 0,001	0,002 ± 0,001* [@]	0,002 ± 0,001* [@]
Олеїнова/Стеаринова	0,31 ± 0,03	0,27 ± 0,02	0,420 ± 0,047* [@]	0,38 ± 0,02* [@]
Арахідонова/Ейкозатриєнова	25,55 ± 0,26	38,48 ± 13,1	31,96 ± 1,87*	23,10 ± 1,13 [#]
Арахідонова/Лінолева	0,61 ± 0,09	0,73 ± 0,07	1,04 ± 0,04* [@]	0,94 ± 0,05* [@]

* Зміни вірогідні відносно значень в інтактних щурів, $P < 0,05$; # зміни вірогідні відносно значень у групі тварин «IP», $P < 0,05$; @ зміни вірогідні відносно значень у групі тварин «Інтактні+NSE», $P < 0,05$

Таблиця 5. Коефіцієнт кореляції (r) між рівнем інсуліну в плазмі крові, значенням індексу НОМА та вмістом індивідуальних фосфоліпідів печінки щурів з інсулінорезистентністю ($M \pm m$, $n = 6-10$)

Індивідуальні фосфоліпіди	Інсулін	НОМА
Фосфатидилхолін	0,62	0,62
Фосфатидилетаноламін	0,57	0,51
Дифосфатидилгліцерол	-0,52	-0,58
Сфінгомієлін	-0,7	-0,68
Фосфатидилінозитол	-0,58	-0,62
Фосфатидилсерин	-0,5	-0,47
Лізофосфатидилетаноламін	-0,45	-0,46
Лізофосфатидилхолін	-0,52	-0,55

аліментарним ожирінням нормалізує в печінці вміст фосфоліпідів та склад ЖК, що, в свою чергу, корелює з рівнем інсуліну в плазмі крові та рівнем резистентності до нього. Одержанні дані свідчать про виявлення мембраностабілізуючих властивостей NSE, його здатність компенсувати дисбаланс ліпідного мікрооточення мембранозв'язаних протеїнів, активність яких безпосередньо пов'язана з рецепцією інсуліну та проведенням внутрішньоклітинного сигналу.

**ВЛИЯНИЕ
N-СТЕАРОИЛЭТАНОЛАМИНА
НА ФОСФОЛИПИДНЫЙ
СОСТАВ ПЕЧЕНИ КРЫС С
ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ,
ВЫЗВАННОЙ АЛИМЕНТАРНЫМ
ОЖИРЕНИЕМ**

*А. В. Онопченко, Г. В. Косякова,
Т. Н. Горидько, В. М. Климашевский,
Н. М. Гулая*

Институт биохимии им. А. В. Палладина
НАН Украины, Киев;
e-mail: onop.89.av@mail.ru

На модели инсулинорезистентности (ИР) у крыс, вызванной алиментарным ожирением, изучали влияние N-стеароилэтанолламина на содержание фосфолипидов печени и их жирнокислотный состав.

Результаты исследований показали, что длительная жировая нагрузка вызывает дисбаланс в составе основных фосфолипидов печени крыс и является одним из факторов развития

ИР у крыс. В частности, установлено достоверное увеличение содержания фосфатидилхолина, фосфатидилэтанолламина и значительное уменьшение содержания лизофосфатидилхолина, лизофосфатидилэтанолламина, сфингомиелина, фосфатидилинозитола, фосфатидилсерина. Установлены изменения жирнокислотного состава фосфолипидов печени крыс при ожирении, а именно: увеличение содержания моноеновых (эруковой, нервоновой, олеиновой) и полиеновых (ейкозатриеновой, докозатриеновой, арахидоновой) жирных кислот, тогда как уровень диеновых кислот достоверно снижается.

Введение N-стеароилэтанолламина (50 мг/кг массы тела в течении 2 недель) способствует восстановлению уровня индивидуальных фосфолипидов печени крыс с ИР, что высоко коррелирует со снижением содержания инсулина в плазме крови и повышением чувствительности к нему. Также при действии NSE выявлена нормализация жирнокислотного состава фосфолипидов, что может быть связано с его модулирующим действием на активность основных десатураз.

Учитывая то, что дисбаланс фосфолипидного состава печени крыс вызывает серьезные метаболические изменения, связанные с ИР, его компенсация при действии NSE может способствовать восстановлению инсулинового сигнала, угнетению развития ожирения, ослаблению ИР и диабета 2-го типа.

Ключевые слова: N-стеароилэтанолламин, ожирение, инсулинорезистентность, фосфолипиды, десатуразы.

**THE EFFECT OF
N-STEAROYLETHANOLAMINE ON
LIVER PHOSPHOLIPID COMPOSITION
OF RATS WITH INSULIN RESISTANCE
CAUSED BY ALIMENTARY OBESITY**

*O. V. Onopchenko, G. V. Kosiakova,
T. M. Goridko, V. M. Klimashevsky,
N. M. Hula*

Palladin Institute of Biochemistry, National
Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: onop.89.av@mail.ru

We used alimentary obesity-induced insulin resistance (IR) model in rats to investigate the influence of N-stearoylethanolamine on the content of phospholipids and their fatty acid composition.

Our results show that prolonged high-fat diet triggers considerable aberrations in the composition of main phospholipids in the liver and can be one of the causes of IR in rats. In particular, the increase of phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine and significant decrease of other phospholipids: lysophosphatidylcholine, lysophosphatidylethanolamine, sphingomyelin, phosphatidylinositol, phosphatidylserine and diphosphoglycerol were observed. The levels of monounsaturated (erucic, nervonic, oleic) and polyunsaturated (eicosatrienoic, docosatrienoic, arachidonic) fatty acids were increased; meanwhile the content of diunsaturated acids was decreased.

The NSE administration (50 mg/kg of body weight) caused restoration of the phospholipids content in the liver of rats with diet-induced IR that highly correlated with the decrease in plasma insulin level and the improvement of insulin sensitivity. Moreover, the effect of NSE was accompanied by the normalization of fatty acids composition of phospholipids that could be related to modulating influence of NSE on the activity of the main fatty acid desaturases.

It is known that the imbalance in phospholipid composition of the rat liver causes substantial metabolic alterations that are associated with the development of IR. Accordingly, the compensations of the imbalance by NSE can help to restore insulin sensitivity, inhibit the development of obesity, IR and type 2 diabetes.

Key words: N-stearoylethanolamine, obesity, insulin resistance, phospholipids, desaturases.

1. *Pereira-Lancha L. O., Campos-Ferraz P. L., Lancha A. H. Jr. // Diabetes. Metab. Syndr. Obes. – 2012. – 5. – P. 75–87.*
2. *Zeghari N., Younsi M., Meyer L. et al. // Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. – 2000. – 24, N 12. – P. 1600–1607.*
3. *Saltiel A, Kahn C. R. // Nature. – 2001. – 414, N 6865. – P. 799–806.*
4. *Косякова Г. В., Гула Н. М. та ін. // Укр. біохім. журн. – 2007. – 79, № 6. – С. 53–59.*
5. *Гула Н. М., Горідько Т. М., Стогній Н. А. та ін. // Укр. біохім. журн. – 2010. – 82, № 2. – С. 42–52.*
6. *Онопченко О. В., Косякова Г. В., Горідько Т. М. та ін. // Укр. біохім. журн. – 2013. – 85, № 5. – С. 88–96.*
7. *Hosker J. P., Matthews D. R., Rudenski A. S. et al. // Diabetologia – 1985. – 28, N 7. – P. 401–411.*
8. *Bligh E. G., Dyer W. I. // Can. J. Biochem. Physiol. – 1959. – 37. – P. 911–917.*
9. *Vaskovsky V. E., Terekhova T. A. // J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun. – 1979. – 2. – P. 671–672.*
10. *Svetashev V. I., Vaskovsky V. E. // J. Chromatogr. – 1972. – 67. – P. 376–378.*
11. *Vaskovsky V. E., Kostetsky E. Y., Vasendin I. M. // J. Chromatogr. – 1975. – 114, N 1. – P. 129–141.*
12. *Carreau I. D., Dubaco I. P. // J. Chromatogr. – 1978. – 151, N 3. – P. 384–390.*
13. *Chow L. S., Li S., Eberly L. E. et al. // Metabolism. – 2013. – 62, N 1. – P. 100–108.*
14. *Uchida T. // Biochim. Biophys. Acta. – 1996. – 1304, N 2. – P. 89–104.*
15. *Kiechle F. L., Sykes E., Artiss J. D. // Ann. Clin. Lab. Sci. – 1995. – 25, N 4. – P. 310–317.*
16. *Cui Z., Houwelin M. // Biochim. Biophys. Acta. – 2002. – 1585, N 2–3. – P. 87–96.*
17. *Vance D. E. // Biochim. Biophys. Acta. – 2013. – 1831, N 3. – P. 626–632.*
18. *Schuiki I., Daum G. // IUBMB Life. – 2009. – 61, N 2. – P. 151–162.*
19. *Slater S. J., Kelly M. B., Taddeo F. et al. // J. Biol. Chem. – 1994. – 269, N 7. – P. 4866–4871.*
20. *Zolese G., Wozniak M., Mariani P. et al. // J. Lip. Res. – 2003. – 44, N 4. – P. 742–752.*
21. *Barber M. N., Risis S., Yang C. et al. // PLoS One. – 2012. – 7, N 7. – e 41456.*
22. *Fuller N., Rand R. P. // Biophys J. – 2001. – 81, N 1. – P. 243–254.*
23. *Mosior M., Newton A. C. // Biochemistry. – 1998. – 37, N 49. – P. 17271–17279.*

24. Sweet L., Dudley D. T., Pessin J. E., Spector A. A. // *FASEB J.* – 1987. – **1**. – P. 55–59.
25. Горідько Т. М., Гула Н. М., Смогній Н. А. // *Укр. біохім. журн.* – 2007. – **79**, № 5. – С. 175–185.
26. O'Brien N. W., Gelling N. M., Guo M. et al. // *Biochem. Soc. Trans.* – 2009. – **37**, N 5. – P. 955–960.
27. Stratford S., Hoehn K. L., Liu F., Summers S. A. // *J. Biol. Chem.* – 2004. – **279**, N 35. – P. 36608–36615.
28. Widlansky M. E., Wang J., Shenouda S. M. et al. // *Transl. Res.* – 2010. – **156**, N 1. – P. 15–25.
29. Ruddock M. W., Stein A., Landaker E. et al. // *J. Biochem.* – 2008. – **144**, N 5. – P. 599–607.
30. Wang Y., Botolin D., Xu J. et al. // *J. Lipid. Res.* – 2006. – **47**, N 9. – P. 2028–2041.
31. Gutiérrez-Juárez R., Poci A., Mulas C. et al. // *J. Clin. Invest.* – 2006. – **116**, N 6. – P. 1686–1695.
32. Flowers M. T., Ntambi J. M. // *Curr. Opin. Lipidol.* – 2008. – **19**, N 3. – P. 248–256.
33. Terrazzino S., Berto F., Dalle Carbonare M. et al. // *FASEB J.* – 2004. – **18**, N 13. – P. 1580–1582.
34. Guillou H., Zadravec D., Martin P. G., Jacobsson A. // *Prog. Lipid. Res.* – 2010. – **49**, N 2. – P. 186–199.
35. Demcakova E., Sebokova E., Ukropec J. et al. // *Endocr. Regul.* – 2001. – **35**, N 4. – P. 179–186.
36. Porter N. A., Caldwell S. E., Mills K. A. // *Lipids.* – 1995. – **30**, N 4. – P. 277–290.
37. Hunt J. V., Smith C. C., Wolff S. P. // *Diabetes.* – 1990. – **39**, N 11. – P. 1420–1424.
38. Raina N., Matsui J., Cunnane S. C., Jeejeebhoy K. N. // *Lipids.* – 1995. – **30**, N 8. – P. 713–718.
39. Ollila S., Hyvönen M. T., Vattulainen I. J. // *Phys. Chem. B.* – 2007. – **111**, N 12. – P. 3139–3150.

Отримано 24.09.2013