

І. П. Бухтіярова

Вивчення гіполідемічних властивостей ралейкіну на моделі стрептозоцинового діабету в щурів

Донецький національний медичний університет імені М. Горького

Ключові слова: стрептозоциновий діабет, гіполідемічна, гіпохолестеринемічна дія, ралейкін

З кожним роком збільшується тягар соціально-значущих захворювань людства. Одне з перших місць серед них посідає цукровий діабет (ЦД) [8]. За даними Міжнародної діабетичної асоціації в 2012 році було зафіксовано 1300 тис. хворих на ЦД [9].

Що стосується механізмів виникнення захворювання, то головною мішенню, яка страждає за ЦД, є β -клітини, точніше, їхня загибель. Важливу роль у цьому процесі відіграють прозапальні цитокіни, а саме інтерлейкін-1 (ІЛ-1) [2, 18]. ІЛ-1 пригнічує продукцію інсуліну β -клітинами та призводить до їхнього апоптозу [5, 12]. За рахунок активності ІЛ-1 у клітинах відбувається збільшення вмісту оксиду азоту, який індукує активність NO-синтетази. Такий механізм призводить до загибелі β -клітин [12, 13]. Дослідження довели, що для хворих на ЦД підвищення вмісту ІЛ-1 у сироватці крові є характерною ознакою [18].

Слід зауважити, що ІЛ-1 також ініціює неспецифічну імунну відповідь. У нормі, при будь-якому пошкодjuвальному впливі відбувається активація клітин, що продукують необхідні захисні фактори [20]. За рахунок останніх відбувається, крім іншого, підвищення в крові рівня ліпопротеїдів дуже низької щільності (ЛПДНЩ) та ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ) [15]. ЛПДНЩ перетворюються на високоатерогенні ліпопротеїди проміжної щільності, а ті, відповідно, перетворюються на ліпопротеїди низької щільності (ЛПНЩ). Будь-який фактор, що сприяє підсилению утворення ЛПДНЩ, посилює також синтез ЛПНЩ. Швид-

кість синтезу ЛПДНЩ регулюється концентрацією інсуліну в плазмі крові та наявністю субстратів – вільних жирних кислот та глюкози [1, 6]. Таким чином, оцінка ліпідного обміну є однією з важливих характеристик стану хворих на ЦД.

Не можна також не враховувати значення холестеролу, що відіграє важливу роль у стабілізації плазматичних мембран клітин [10]. Цей природний метаболіт доставляється до тканин організму білками-транспортерами, тобто ліпопротеїдами [10, 11, 15]. Саме тому визначення його при діабеті має суттєве значення. Крім холестеролу, у крові містяться тригліцериди, які також є компонентами ендогенних ліпідів [10]. Оцінка їхнього вмісту для ЦД також має велике значення.

Виходячи з вищенаведеного, можна припустити, що антагоністи рецепторів ІЛ-1 можуть захистити β -клітини [5, 16, 17], а також сприятимуть нормалізації вмісту ліпопротеїдів та, звісно, холестеролу.

Таким чином, розробка лікарських засобів для лікування ЦД на основі антагоністів ІЛ-1 є перспективною. Такі препарати будуть гальмувати активність ІЛ-1 та захищати β -клітини, сприяти нормалізації їхнього функціонального стану.

Мета дослідження – вивчення впливу рекомбінантного антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну, розробленого в Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП, на ліпідний обмін на моделі стрептозоцинового ЦД у щурів.

Матеріали та методи. Модельну патологію відтворювали внутрішньоочеревинним введенням розчину стрептозоцину в дозі 40 мг/кг маси тіла протягом 5 діб статевозрілим самцям білих щурів масою 230–280 г [3].

Референс-препаратом було обрано метформін (Діаформін виробництва ВАТ «Фармак», табл. 0,5 г) та анакінру (Кінерет виробництва «Swedish Orphan Biovitrum», Швеція, пор. р/і 100 мг). Вибір препаратів порівняння зумовлений тим, що метформін є еталонним гіпоглікемічним препаратом, який входить до стандартів лікування ЦД обох типів [19], а анакінра – рекомбінантний антагоніст рецепторів ІЛ-1 з доведеною гіпоглікемічною активністю, що є аналогом досліджуваного препарату [21].

Дані препарати вводили в лікувальному режимі: ралейкін у дозі 7 мг/кг та анакінру в дозі 8 мг/кг – підшкірно [21], метформін у дозі 30 мг/кг – внутрішньошлунково [19] один раз на день протягом 14 днів. Лікування розпочинали з чотирнадцятої доби після останнього введення стептозоцину, оскільки саме на чотирнадцяту добу зафіксована максимальна виразність інфільтрації панкреатичних островців макрофагами та лімфоцитами [3].

На 29 добу тварин виводили з експерименту летальною дозою тіопенталового наркозу, збирали кров для біохімічних досліджень. Гіполіпідемічну дію досліджуваних препаратів оцінювали за наступними показниками: уміст холестеролу (ХЛ), тригліцеридів (ТГ), ЛПНЩ, ЛПДНЩ, ЛПВЩ у сироватці крові експериментальних тварин. Уміст ХС, ТГ, ЛПНЩ, ЛПВЩ визначали за допомогою тест-наборів «Lachema» (Чехія) на напівавтоматичному біохімічному аналізаторі ФП-901 [4].

У разі обліку результатів у вигляді середня \pm стандартна помилка статистичну достовірність міжгрупових відмінностей оцінювали за t-критерієм Стьюдента з поправкою Бонфероні.

Результати та їх обговорення. Результати дослідження наведено в таблиці. У статевозрілих самців щурів внутрішньоочереви́нне введення стрептозоцину протягом 5 діб призвело до повільного розвитку інсулін-залежного ЦД з виразним аутоімунним компонентом, подібного за провідними патогенетичними ознаками до ЦД 1 типу у людини [3, 19].

Після введення останньої дози стрептозоцину кілька днів відзначали підвищення інсулінової залежності, яка зазвичай завершується некрозом β -клітин та важкою гіперглікемією. Одразу після появи первинної гіперглікемії починалася інтенсивна інфільтрація панкреатичних островців макрофагами та лімфоцитами (інсуліт). Максимальну виразність інсуліту в нашому дослідженні зафіксували на 14 добу після першої ін'єкції стрептозоцину.

На тлі розвитку діабету в щурів групи контрольної патології спостерігали суттєві порушення ліпідного обміну, а саме, уміст ХС у сироватці крові достовірно збільшився в 1,3 разу, ТГ – у 3 рази, ЛПНЩ – у 1,4 разу. ЛПДНЩ – у 1,7 разу, рівень ЛПВЩ знизився в 1,4 разу порівняно з відповідними показниками в тварин групи інтактного контролю (таблиця).

Таблиця

Показники ліпідного обміну за умов моделювання стрептозоцинового діабету в щурів та впливу ралейкіну (29 доба дослідження), $M \pm m$, $n = 6$

Група тварин	ХС, мг/дл	ЛПВЩ, мг/дл	ЛПНЩ, мг/дл	ЛПДНЩ, мг/дл	ТГ, мг/дл
Інтактний контроль	53,0 \pm 5,4	12,7 \pm 0,9	29,0 \pm 2,1	6,9 \pm 0,4	36,2 \pm 2,3
Контрольна патологія (діабет)	68,4 \pm 4,2*	9,3 \pm 0,6*	39,7 \pm 2,6*	11,5 \pm 0,6*	110,0 \pm 6,2*
Діабет + Ралейкін, 7 мг/кг	51,1 \pm 3,4**	10,9 \pm 0,5**	30,1 \pm 2,5**	8,3 \pm 0,4*/***	71,2 \pm 4,0*/***#
Діабет + Метформін, 30 мг/кг	55,3 \pm 4,0**	9,1 \pm 0,8*	33,1 \pm 1,4**	11,2 \pm 1,1*	87,3 \pm 5,7*/**
Діабет + Анакінра, 8 мг/кг	53,1 \pm 4,7**	11,3 \pm 0,5***	31,2 \pm 2,6**	8,4 \pm 0,4*/***	74,9 \pm 4,1*/**

Примітка. Статистично значущі відмінності ($p \leq 0,05$): *до групи інтактного контролю; **до групи контрольної патології, #до метформіну; n – кількість тварин у групі.

Під впливом ралейкіну рівень ХС у сироватці крові експериментальних тварин достовірно знизився в 1,3 разу, уміст ТГ – у 1,5 разу, уміст ЛПНЩ – у 1,3 разу, уміст ЛПДНЩ – у 1,4 разу порівняно з аналогічними показниками в групі контрольної патології. На тлі ралейкіну рівень ЛПВЩ достовірно збільшився в 1,2 разу порівняно з показником у щурів групи контрольної патології. Вищезазначені показники ліпідного обміну в групі тварин, що отримували ралейкін, достовірно не відрізнялись від відповідних показників у щурів групи інтактного контролю, крім умісту ТГ та ЛПДНЩ.

Під дією анакінри рівень ХС у сироватці крові експериментальних тварин достовірно знизився в 1,3 разу, уміст ТГ – у 1,5 разу, уміст ЛПНЩ – у 1,3 разу, уміст ЛПДНЩ – у 1,4 разу порівняно з аналогічними показниками в групі контрольної патології. На тлі анакінри рівень ЛПВЩ у сироватці крові експериментальних тварин достовірно збільшився в 1,2 разу порівняно з показником групи контрольної патології. Вищезазначені показники ліпідного обміну в групі тварин, що отримували анакінру, достовірно не відрізнялися від показників у щурів групи інтактного контролю, крім умісту ТГ та ЛПДНЩ. Достовірних відмінностей у вираженості гіполіпідемічної та гіпохолестеринемічної дії ралейкіну та анакінри не спостерігали.

Отримані дані співпадають з даними попередніх досліджень гіполіпідемічних властивостей ралейкіну за умов аліментарної гіперліпідемії в щурів [5].

На тлі метформіну рівень ХС у сироватці крові щурів достовірно знизився в 1,2 разу, уміст ТГ – у 1,3 разу, уміст ЛПНЩ – у 1,2 разу порівняно з аналогічними показниками в групі контрольної патології, рівень ЛПВЩ достовірно збільшився в 1,2 разу порівняно з показником у щурів групи контрольної патології. За позитивним впливом на уміст ЛПВЩ у крові тварин метформін

поступався анакінрі, за впливом на рівень ТГ метформін поступався ралейкіну. На рівень ЛПДНЩ та ЛПВЩ метформін не виявив нормалізувального впливу – дані показники достовірно не відрізнялись від відповідних показників у сироватці крові тварин групи контрольної патології. Отримані результати співпадають з даними літератури щодо здатності метформіну позитивно впливати на рівень ХС, ТГ та ЛПВЩ у сироватці крові [19].

Тобто, за умов стрептозоцинового діабету в щурів ралейкін виявив потужну гіполіпідемічну та гіпохолестеринемічну дію, за якою не поступався анакінрі, та перевершував метформін. На підставі отриманих результатів можна припустити, що блокада рецепторів ІЛ-1 на тлі цукрового діабету 1 типу дозволить не тільки нормалізувати глюкозний обмін, виявити протекторну дію та збільшити виживаність β -клітин, зменшити прояви оксидативного стресу, але й допоможе знизити вираженість порушень ліпідного обміну.

Висновки

Визначено, що на моделі стрептозоцинового діабету в щурів рекомбінантний антагоніст рецепторів ІЛ-1 ралейкін, отриманий в Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП, виявляє потужні гіполіпідемічні властивості, за якими переважає референс-препарат метформін.

За вираженістю гіполіпідемічної та гіпохолестеринемічної дії ралейкін не поступається своєму аналогу – рекомбінантному антагоністу рецепторів ІЛ-1 анакінрі.

Поєднання в ралейкіну гіпоглікемічних, антиоксидантних та гіполіпідемічних властивостей є дуже цінним для терапії ЦД 1 типу, оскільки дозволяє впливати одночасно на декілька ланок патогенезу захворювання та робить ралейкін перспективним препаратом для подальшого вивчення з метою включення до комплексної терапії ЦД 1 типу.

1. Бабак О. Я. Лечение печени при метаболическом синдроме: поражение органа или организма / 100 избранных лекций по эндокринологии [под ред. Ю. И. Караченцева, А. В. Казакова, Н. А. Кравчун, И. М. Ильиной] / О. Я. Бабак. – Х.: ТОВ «С.А.М.», 2009. – С. 22–28.
2. Бережная Н. М. Цитокиновая регуляция при патологии: стремительное развитие и неизбежные вопросы / Н. М. Бережная // Цитокины и воспаление. – 2007. – Т. 6, № 2. – С. 26–34.

3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек. / за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.
4. Камышников В. С. Справочник по клинической-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. / В. С. Камышников. – Минск: Беларусь, 2002. – Т. 1. – 495 с.; Т. 2. – 463 с.
5. Експериментальне вивчення антиоксидантної та гіполіпідемічної дії рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 / К. Г. Щокіна, С. Ю. Штриголь, Ю. В. Столетов, О. М. Іщенко // Вісник фармації. – 2010. – № 3 (63). – С. 79–82.
6. Журавльова Л. В. Жирова дистрофія печінки у хворих на цукровий діабет 2-го типу: шляхи оптимізації лікування / Л. В. Журавльова, О. В. Лавриненко; В. М. Хворостінка // Ліки України. – 2010. – № 7 (143). – С. 58–62.
7. Интерлейкины и хемокины при остром ишемическом инсульте, отягощенном и не отягощенном диабетом / А. С. Бояджян, Э. А. Аракелова, В. А. Айвазян [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2008. – № 1. – С. 41–44.
8. Информационный бюллетень ВОЗ. – 2013. – № 312. режим доступу. – <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/ru>.
9. Інформаційне повідомлення МОЗ України. Режим доступу. – http://moz.gov.ua/ua/portal/dn_20130718_1.html.
10. Кольман Я. Наглядная биохимия / Я. Кольман, К. Г. Рем. – Пер. с нем. – [3-е изд.]. – М.: Изд-во «МИР», «БИНОМ. Лаборатория знаний», 2009. – 469 с.
11. Коноваленко О. В. Ефективність впливу на ліпідний обмін постійної підшкірної інфузії інсуліну та безперервного моніторингу глікемії при лікуванні хворих на цукровий діабет 1 та 2 типу / О. В. Коноваленко, В. Й. Кресюн // Журн. АМН України. – 2010. – № 2, т. 16. – С. 313–322.
12. Прозапальні цитокини при цукровому діабеті 1 типу / В. А. Скибчик, Я. Г. Гугор, М. О. Войнович [та ін.] // Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. – 2012. – № 1. – С. 57–60.
13. Роль цитокинов в патогенезе аутоімунного діабета, вопросы иммуоинтервенции / Кравец Е. Б., Саприна Т. В., Лазаренко Ф. Э. [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2010. – № 1. – С. 76–83.
14. Савон И. Л. Роль про- и противовоспалительных цитокинов у больных с осложненным синдромом диабетической стопы / И. Л. Савон // Сучасні медичні технології. – 2010. – № 3. – С. 73–80.
15. Согуйко Ю. Р. Оцінка параметрів глюко- та ліпотоксичності в сироватці крові щурів зі стрептозотоциновим цукровим діабетом на ранніх етапах перебігу / Ю. Р. Согуйко // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2010. – № 1. – С. 41–46.
16. Супрун Е. В. Експериментальне вивчення антигіпоксичної активності антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 / Е. В. Супрун, В. П. Верейтінова, О. С. Супрун // Теоретична і експериментальна медицина. – 2009. – № 4. – С. 57–61.
17. Супрун Э. В. Коррекция антагонистом рецепторов интерлейкина-1 показателей энергетического метаболизма в головном мозге крыс с экспериментальным ишемическим инсультом / Э. В. Супрун // Теоретическая и экспериментальная медицина – 2010 – № 1. – С. 64–68.
18. Тихонова Т. М. Порівняльна оцінка вмісту цитокинів у хворих на повільнопрогресуючий аутоімунний діабет дорослих / Т. М. Тихонова // Проблеми ендокринної патології. – 2013 – № 1. – С. 27–34.
19. Шумейко О. Г. Експериментальне обґрунтування застосування екстракту з мідії чорноморської (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) у комплексній терапії цукрового діабету: автореф. дис. канд. мед. наук: 14.01.14 – ендокринологія. – Х., 2009. – 21 с.
20. Autoantibodies against oxidatively modified low-density lipoproteins in NIDDM / G. Bellomo, E. Maggi, M. Poli [et al.] // Diabetes. – 1995. – V. 44, № 1. – P. 60–66.
21. Interleukin-1 receptor antagonist prevents low dose streptozotocin induced diabetes in rats / J. O. Sandberg, A. Andersson, D. L. Eizirik [et al.] // Biochem Biophys Res Commun. – 1994. – V. 202 (1). – P. 543–548.

И. П. Бухтиярова

Изучение гиполлипидемических свойств ралейкина на модели стрептозоцинового диабета у крыс

С каждым годом увеличивается бремя социально-значимых заболеваний человечества. Одно из первых мест среди них занимает сахарный диабет (СД). Важную роль в развитии СД играют провоспалительные цитокины, а именно интерлейкин-1 (ИЛ-1). Можно предположить, что антагонисты рецепторов ИЛ-1 могут защитить β-клетки, а также способствовать нормализации содержания липопротеидов и холестерина. В статье приведены результаты экспериментального изучения влияния рекомбинантного антагониста рецепторов ИЛ-1 ралейкина, разработанного в НИИ ОЧБП (Санкт-Петербург), на липидный обмен на модели стрептозоцинового СД у крыс. Определено, что на модели патологии у крыс ралейкин проявляет мощные гиполлипидемические свойства, по которым превосходит референс-препарат метформин. По выраженности гиполлипидемического и гипохолестеринемического действия ралейкин не уступает своему аналогу – рекомбинантному антагонисту рецепторов ИЛ-1 – анакинре. Сочетание у ралейкина гипогликемических, антиоксидантных и

гиполипидемических свойств является очень ценным для терапии СД 1 типа, так как позволяет воздействовать одновременно на несколько звеньев патогенеза заболевания и делает ралейкин перспективным препаратом для дальнейшего изучения с целью включения в комплексную терапию СД 1 типа.

Ключевые слова: стрептозоциновый диабет, гиполипидемическое, гипохолестеринемическое действие, ралейкин

I. P. Buhtiyarova

Pharmacological study of hypolipidemic effects of raleukin on the model of streptozocine diabetes mellitus in rats

It is well known that one of the most important roles in the development of diabetes mellitus play proinflammatory cytokines, such as interleukin-1 (IL-1). It can be assumed that antagonists of IL-1 may protect β -cells, and may also contribute to normalization of the lipoproteins and, certainly, cholesterol. The main goal of this study was to research the influence of recombinant receptor antagonist IL-1 raleukin developed in the Scientific Research Institute of Pure Biochemicals of St. Petersburg, on lipid metabolism on the model of streptozocine diabetes mellitus in rats. It was shown that raleukin has powerful hypolipidemic effect that exceeds the reference medicine metformin on the model of streptozocine diabetes mellitus in rats. In the expression of hypolipidemic and hypocholesterolemic effects raleukin is not inferior to its analogue – a recombinant receptor antagonist IL-1 anakinra. In conclusion, the combination of hypoglycemic, hypolipidemic and antioxidant effects of raleukin is very valuable for the treatment of diabetes mellitus type 1, as it allows to affect simultaneously on several chains of pathogenesis of the disease and makes raleukin perspective medicine for further studies its therapeutic effectiveness in the treatment of diabetes mellitus type 1.

Key words: streptozocine, diabetes mellitus, hypolipidemic effect, hypocholesterolemic effect, raleukin

Надійшла: 28.10.2013 р.

Контактна особа: Бухтіарова І. Р., Донецький національний медичний університет імені Максима Горького, буд. 16, просп. Ілліча, м. Донецьк, 83003. Тел.: +38 062 385 95 04.