

УДК 615.252.349.7:616.349-008.64

І. П. БУХТІЯРОВА

Донецький національний медичний університет

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ АНТАГОНІСТА РЕЦЕПТОРІВ ІНТЕРЛЕЙКІНУ-1 НА ПЕРЕБІГ ДЕКСАМЕТАЗОНОВОГО ДІАБЕТУ В ЩУРІВ

Цукровий діабет (ЦД) посідає одне з перших місць у структурі ендокринних захворювань. Підкреслена роль і актуальність розширення арсеналу антидіабетичних засобів для оптимізації лікування ЦД II типу. Одним з перспективних напрямків оптимізації терапії ЦД II типу є антицитокінова терапія. Наведені результати експериментального вивчення впливу оригінального рекомбінантного антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну, отриманого у Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП, на перебіг дексаметазонавого діабету у щурів. Визначено, що в умовах інсулінорезистентності, викликаній введенням дексаметазону, антагоніст рецепторів інтерлейкіну-1 ралейкін чинить гіпоглікемічну та протизапальну дію, за якою переважає дію референс-препарату метформіну та достовірно не відрізняється від дії препарату анакітра. Можна припустити, що гіпоглікемічна дія ралейкіну є результатом не тільки блокади рецепторів інтерлейкіну-1 в підшлунковій залозі і подальшого захисту β-клітин від ушкоджувальної дії дексаметазону, але також пов'язана зі здатністю препарату гальмувати утворення продуктів неферментативного глікозилювання і пригнічувати розвиток запальних процесів у β-клітинах. Визначені властивості ралейкіну мають важливе значення також для запобігання та терапії ускладнень ЦД. Отже, рекомбінантний антагоніст рецепторів ІЛ-1 ралейкін є перспективним препаратом для застосування в комплексній терапії ЦД II типу.

Ключові слова: дексаметазонавий діабет; гіпоглікемічна дія; ралейкін; анакітра

ВСТУП

Цукровий діабет (ЦД) посідає одне з перших місць у структурі ендокринних захворювань [7]. Поширеність ЦД у популяції в середньому становить 1-8,6 %. За даними Міжнародної федерації діабету 2011 року кількість хворих на ЦД у світі досягла 366 млн осіб, а в 2030 році становитиме 552 млн осіб [10].

У 2012 р. в Україні зареєстровано понад 1 млн хворих на ЦД (близько 2 % від населення країни), з них 85-90 % припадає на ЦД II типу [10]. Таким чином, на теперішній час одна людина з десяти у світі страждає на явну чи приховану форму ЦД.

При ЦД II типу організм не реагує на ендогенний інсулін відповідним чином, хоча останній продовжує вироблятися (іноді в кількостях, що перевищують фізіологічні) потреби, проте втрачає здатність до засвоєння глюкози з крові [3]. Тобто ЦД II типу є синдромом хронічної гіперглікемії на тлі інсулінорезистентності [4].

Тому розширення арсеналу антидіабетичних засобів для оптимізації лікування ЦД II типу є важливим та актуальним.

Велику кількість світових і вітчизняних досліджень присвячено розробці нових способів лікуван-

ня ЦД II типу з урахуванням його патогенетичних механізмів. Одним з перспективних напрямків оптимізації терапії ЦД II типу є антицитокінова терапія [16, 17].

За даними сучасних досліджень важливу роль у патогенезі обох типів ЦД відіграють прозапальні цитокіни, а саме, інтерлейкін-1 (ІЛ-1). Відомо, що ІЛ-1 пригнічує стимульовану глюкозою секрецію інсуліну, порушує нормальну структуру острівців Лангерганса, що призводить до зниження виживаності β-клітин та індукції їх апоптозу [12, 14]. Тому препарати, здатні гальмувати синтез та активність ІЛ-1, підвищувати виживаність та нормалізувати функціональну активність β-клітин підшлункової залози, є перспективними патогенетичними антидіабетичними засобами [9, 17]. У переліку антидіабетичних засобів, що входять до формуляру ліків України, препарати з даним механізмом дії відсутні.

Враховуючи наявність у рекомбінантного антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну визначеного у попередніх дослідженнях гіпоглікемічного, протизапального ефекту та позитивного впливу на початкові реакції неферментативного глікозилювання на тлі модельного інсулінзалежного діабету [2], доцільним було вивчення його гіпоглікемічних та протизапальних властивостей в умовах ЦД II типу.

© Бухтіярова І. П., 2014

Таблиця 1

**ГІПОГЛІКЕМІЧНА ДІЯ РАЛЕЙКІНУ ПРИ ВОТТГ
НА ТЛІ ДЕКСАМЕТАЗОНОВОГО ДІАБЕТУ (24 ДОБА) (n=8)**

Групи тварин	Рівень глікемії (ммоль/л) через ... хвилин			ПГК ммоль/л*хв
	10	20	30	
Інтактний контроль	5,3 ± 0,3	5,7 ± 0,3	5,5 ± 0,3	648 ± 36
Контрольна патологія	9,6 ± 0,4*	10,7 ± 0,5*	12,7 ± 0,8*	1338 ± 72*
Ралейкін, 7 мг/кг	9,1 ± 0,5*	9,0 ± 0,5**/**	7,4 ± 0,4**/**#	990 ± 48**/**#
Анакінра, 8 мг/кг	8,9 ± 0,4*	8,7 ± 0,6**/**	7,0 ± 0,4**/**#	954 ± 48**/**#
Метформін, 30 мг/кг	9,9 ± 0,5*	10,3 ± 0,6*	10,3 ± 0,6**/**	1212 ± 66*

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

Метою даної роботи стало експериментальне вивчення впливу оригінального рекомбінантного антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну, отриманого у Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП, на перебіг дексаметазонового діабету у щурів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Модель дексаметазонового діабету відтворювала шляхом підшкірного введення дексаметазону в дозі 0,125 мг/кг маси тіла старим (18-місячним) щурам протягом 13 діб. Дану модель було обрано за умов доброї відтворюваності та інформативності [5].

В якості референс-препаратів було обрано метформін (діаформін виробництва ВАТ «Фармак», табл. 0,5 г) та анакінра (кінерет виробництва «Swedish Orphan Biovitrum» (Швеція), пор. д/і 0,1 г). Вибір препаратів порівняння зумовлений тим, що метформін є еталонним гіпоглікемічним препаратом, який входить до стандартів лікування ЦД обох типів [8, 13], а анакінра – рекомбінантний антагоніст рецепторів ІЛ-1 з доведеною гіпоглікемічною активністю, який є аналогом досліджуваного препарату [18].

Досліджувані препарати вводили в лікувальному режимі з 14 доби після закінчення відтворення моделі патології протягом 10 діб 1 раз на добу: ралейкін – у дозі 7 мг/кг та анакінра у дозі 8 мг/кг підшкірно [2, 18], метформін – у дозі 30 мг/кг внутрішньошлунково [7, 11]. Після останнього введення досліджуваних препаратів (24 доба експерименту) проводили внутрішньоочеревинний тест толерантності до глюкози (ВОТТГ), який відтворювали шляхом внутрішньоочеревинного введення щурам 2 г глюкози на 1 кг маси тіла. Проби крові для аналізу глюкози відбирали з судин хвоста експериментальних тварин перед та через 10, 20 та 30 хвилин після введення досліджуваних препаратів [5].

Глікемічну реакцію у щурів при проведенні тесту толерантності до глюкози оцінювали за змінами глікемії в динаміці (через 10, 20 та 30 хв) та площі під глікемічною кривою (ПГК). Рівень гемоглобіну (Hb), глікозильованого гемоглобіну (HbA_{1c}) і C-реактивного білка (С-РБ) в сироватці крові тварин визначали на 24 добу дослідження.

Вміст глюкози в крові оцінювали глюкозооксидазним методом за допомогою ферментативного аналізатора глюкози «Ексан-Г» (Литва), ПГК обчислювали за допомогою комп'ютерної програми «Mathlab» [6]. Рівень Hb визначали уніфікованим гемоглобінціанідним методом, рівень HbA_{1c} – колориметричним методом за реакцією с тіобарбітуровою кислотою, вміст С-РБ – імунотурбідиметричним методом за допомогою тест-наборів фірми «Lachema» [5, 6].

Облік результатів у вигляді середня±стандартна помилка та статистичну достовірність міжгрупових відмінностей розраховували за критерієм t Стьюдента з поправкою Бонфероні.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження наведені в табл. 1.

Введення дексаметазону на протязі 13 діб призвело до розвитку інсулінорезистентності у тварин внаслідок прямого впливу дексаметазону на експресію транспортерів глюкози GLUT1 та GLUT4 [9]. В той же час гальмувальний ефект дексаметазону на секреторну активність панкреатичних β-клітин, можливо, пов'язаний з інактивацією мітохондріальної ФАД-гліцерофосфатдегідрогенази – ферменту, який відіграє ключову роль у секреції інсуліну, індукованої глюкозою [16].

Аналіз даних табл. 1 виявив, що на 24 добу експерименту при відтворенні тесту ВОТТГ через 10 хв після введення глюкози вміст вуглеводів у сироватці крові піддослідних щурів групи контрольної патології достовірно виріс у 1,8 рази порівняно з показником у групі інтактних тварин, через 20 хв ця різниця дорівнювала 1,9 рази, через 30 хв – 2,3 рази.

На тлі ралейкіну в тесті ВОТТГ вміст глюкози в сироватці крові щурів достовірно збільшився через 10 хв у 1,7 рази, через 20 хв – у 1,6 рази, через 30 хв – у 1,4 рази порівняно з відповідними показниками групи інтактного контролю. Рівень глікемії через 10 хв у групі тварин, яких лікували ралейкіном, виявився в 1,1 рази нижчим, ніж у тварин групи контрольної патології, хоча ця різниця не була достовірною, але через 20 хв після відтворення тесту ВОТТГ вміст глюкози в сироватці крові тварин, яких лікували ралей-

**ВПЛИВ РАЛЕЙКІНУ НА ВМІСТ ПРОДУКТІВ НЕФЕРМЕНТАТИВНОГО ГЛІКОЗИЛЮВАННЯ
ТА С-РЕАКТИВНОГО БІЛКА НА МОДЕЛІ ДЕКСАМЕТАЗОНОВОГО ДІАБЕТУ (24 ДОБА)**

Групи тварин	Гемоглобін (Hb), г/л	Глікозильований гемоглобін (HbA1c), %	С-реактивний білок, мг/л
Інтактний контроль	148,9 ± 7,4	4,7 ± 0,5	1,5 ± 0,1
Контрольна патологія	114,3 ± 7,1*	8,8 ± 0,4*	5,9 ± 0,3*
Ралейкін, 7 мг/кг	136,5 ± 6,2**	5,9 ± 0,3**#	2,8 ± 0,2*/**#
Анакінра, 8 мг/кг	139,6 ± 7,1**	5,7 ± 0,3**#	2,8 ± 0,2*/**#
Метформін, 30 мг/кг	123,7 ± 6,7*	6,9 ± 0,3*/**	3,9 ± 0,2*/**

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

кіном, був достовірно в 1,2 рази, а через 30 хв – в 1,7 рази нижчим за відповідні показники групи контрольної патології.

Рівень глікемії в тесті ВОТТГ на 24 добу експерименту в групі щурів, які отримували препарат анакінра, достовірно виріс через 10 хв в 1,7 рази, через 20 хв – в 1,5 рази, через 30 хв – в 1,3 рази порівняно з показниками в групі інтактних тварин. Вміст глюкози в сироватці крові тварин даної групи через 10 хв був в 1,1 рази, через 20 хв – в 1,2 рази, через 30 хв – в 1,8 рази нижчим за аналогічні показники тварин групи контрольної патології.

У групі щурів, яких лікували метформіном, у тесті ВОТТГ на 24 добу дослідження через 10 хв вміст глюкози в сироватці крові достовірно перевищував у 1,9 рази, через 20 хв – у 1,8 рази, через 30 хв – у 1,9 рази відповідні показники групи інтактного контролю та достовірно відрізнявся від показника групи контрольної патології (в 1,2 рази) лише через 30 хв.

У тесті ВОТТГ величина ПГК у тварин групи контрольної патології достовірно перевищувала ПГК інтактних щурів у 2,1 рази. На тлі ралейкіну та анакінра ПГК достовірно знизилась в 1,4 рази порівняно з показниками групи контрольної патології, але ще в 1,5 рази перевищувала ПГК інтактних тварин. Застосування метформіну не викликало достовірних змін у величині ПГК, яка практично дорівнювала ПГК тварин групи контрольної патології (табл. 1).

Таким чином, за нормалізувальним впливом на рівень глікемії та ПГК у тесті ВОТТГ (після 10-добового введення) ралейкін достовірно перевищував дію метформіну та достовірно не відрізнявся від дії анакінра.

Розвиток модельного діабету супроводжувався активацією початкових реакцій неферментативного глікозилювання. Так, на 24 добу дослідження процентний вміст HbA1c в сироватці крові тварин групи контрольної патології достовірно збільшився в 1,9 рази, при цьому відповідно вміст Hb достовірно зменшився в 1,3 рази щодо показника у тварин групи інтактного контролю (табл. 2).

Під дією ралейкіну вміст Hb в сироватці крові щурів достовірно зріс в 1,2 рази, вміст HbA1c – достовірно знизився в 1,5 рази в порівнянні з показ-

никами групи контрольної патології та достовірно не відрізнявся від показників групи інтактного контролю. На тлі метформіну вміст HbA1c в сироватці крові експериментальних тварин достовірно зменшився в 1,3 рази порівняно з показником у крові тварин групи контрольної патології. Вміст Hb достовірно не відрізнявся від показника групи контрольної патології.

Введення анакінра сприяло достовірному підвищенню вмісту Hb в сироватці крові тварин в 1,2 рази, зниження рівня HbA1c – в 1,5 рази відносно показників групи контрольної патології. Дані показники достовірно не відрізнялися від відповідних показників групи інтактного контролю.

За нормалізувальним впливом на вміст Hb і HbA1c в сироватці крові експериментальних тварин ралейкін і анакінра достовірно не відрізнялися один від одного та достовірно перевершували дію метформіну.

Як відомо, однією з патогенетичних ланок інсуліннезалежного діабету є запалення [1], що підтверджує підвищення в сироватці крові щурів з дексаметазоновим ЦД вмісту одного з інформативних маркерів запалення С-РБ в 3,9 рази в порівнянні з показниками групи інтактного контролю.

Під дією ралейкіну, метформіну та анакінра рівень С-РБ у сироватці крові щурів достовірно знизився відповідно в 2,1, 1,5 та в 2,1 рази в порівнянні з аналогічним показником у групі контрольної патології. Тобто, всі досліджувані препарати знижували вираженість запальних процесів при модельному діабеті, проте за нормалізувальним впливом на вміст С-РБ у сироватці крові щурів ралейкін і анакінра достовірно перевершували метформін.

Можна припустити, що гіпоглікемічна дія ралейкіну є результатом не тільки блокади рецепторів інтерлейкіну-1 в підшлунковій залозі і подальшого захисту β -клітин від ушкоджувальної дії дексаметазону, але також пов'язана зі здатністю препарату гальмувати утворення продуктів неферментативного глікозилювання і пригнічувати розвиток запальних процесів у β -клітинах. Визначені властивості ралейкіну мають важливе значення також для запобігання та терапії ускладнень ЦД.

ВИСНОВКИ

Таким чином, в умовах інсулінорезистентності, викликаній введенням дексаметазону, антагоніст рецепторів інтерлейкіну-1 ралейкін чинить гіпоглікемічну та протизапальну дію, за якою переважає дію референс-препарату метформіну та достовірно не відрізняється від дії препарату анакінра.

Отже, рекомбінантний антагоніст рецепторів ІЛ-1 ралейкін є перспективним препаратом для застосування в комплексній терапії ЦД II типу.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Балаболкин М. И. Лечение сахарного диабета и его осложнений / М. И. Балаболкин, Е. М. Клебанова, В. М. Креминская. – М., 2005. – 512 с.
2. Бухтіярова І. П. Вплив ралейкіну на показники глюкозного гомеостазу щурів за умов порушеної толерантності до вуглеводів / І. П. Бухтіярова, С. М. Дрогвоз, О. М. Іщенко // Укр. журн. клін. та лабораторної медицини. – 2013. – Т. 8, № 4. – С. 183-186.
3. Дедов И. И. Сахарный диабет – опаснейший вызов мировому сообществу / И. И. Дедов // Вестник Рос. академии мед. наук. – 2012. – № 1. – С. 7-13.
4. Дедов И. И. Сахарный диабет: [руководство для врачей] / И. И. Дедов, М. В. Шестакова. – М., 2003. – С. 151-175.
5. Доклінічні дослідження лікарських засобів: [метод. рекоменд.] / За ред. чл.-кор. НАМН України О. В. Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.
6. Камышников В. С. Справочник по клиническо-биохимической лабораторной диагностике: в 2-х т. / В. С. Камышников. – Мн: Беларусь, 2002. – Т. 1. – 495 с.; – Т. 2. – 463 с.
7. Полторац В. В. Вплив метформіну на розвиток інсулінорезистентності, індукованої дексаметазоном у щурів / [В. В. Полторац, Н. І. Горбенко, О. В. Іванова та ін.] // Ендокринолог. – 2000. – Т. 5, № 2. – С. 249-251.
8. Полторац В. В. Стандарт современных пероральных антидиабетических препаратов / В. В. Полторац // Medicus Amicus. – 2005. – № 5. – С. 16.
9. Симбирцев А. С. Медицинские препараты на основе белков семейства интерлейкина-1 / А. С. Симбирцев // В кн.: Справочник по иммунотерапии для практического врача. – С.Пб.: Изд-во «Диалог», 2002. – С. 152-165.
10. Сунцов Ю. И. Эпидемиология сахарного диабета и прогноз его распространенности / [Ю. И. Сунцов, Л. Л. Болотская, О. В. Маслова и др.] // Сахарный диабет. – 2011. – № 1. – С. 15-18.
11. Шумейко О. Г. Експериментальне обґрунтування застосування екстракту з мідії чорноморської (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) у комплексній терапії цукрового діабету: дис. канд. мед. наук : 14.01.14 – ендокринологія. – Х., 2009. – 153 с.
12. Щокіна К. Г. Органотропні ефекти рекомбінантноантагоністарекцепторівінтерлейкіну-1 (експериментальне дослідження) : дис. д-ра фарм. наук: 14.03.05 – фармакологія. – Х., 2011. – 440 с.
13. Beisswenger P. Metformin inhibition of glycation processes / P. Beisswenger, D. Ruggiero-Lopez // Diabetes Metabol. – 2003. – Vol. 29, № 4. – P. 6S95-6S103.
14. Börjesson A. Altered proinsulin conversion in rat pancreatic islets exposed long-term to various glucose concentrations or interleukin-1beta / A. Börjesson, C. Carlsson // J. Endocrinol. – 2007. – Vol. 192 (2). – P. 381-387.
15. Cnop M. Mechanisms of pancreatic β -cell death in type 1 and type 2 diabetes. Many differences, few similarities / [M. Cnop, N. Welsh, J.C. Jonas et al.] // Diabetes. – 2005. – Vol. 54, Suppl. 2. – P. S97-S107.
16. Lagathu C. Long-term treatment with interleukin-1 β induces insulin resistance in murine and human adipocytes / [C. Lagathu, L. Yvan-Charvet, J. P. Bastard et al.] // Diabetol. – 2006. – № 49. – P. 2162-2173.
17. Morgan D. Glucose, palmitate and pro-inflammatory cytokines modulate production and activity of a phagocyte-like NADPH oxidase in rat pancreatic islets and a clonal β cell line / [D. Morgan, H. R. Oliveira-Emilio, D. Keane et al.] // Diabetol. – 2007 – Vol. 50. – P. 359-369.
18. Sandberg J. O. 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. – Vol. 202 (1). – P. 543-548.

УДК 615.252.349.7:616.349-008.64**И. П. Бухтиярова****ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АНТАГОНИСТА РЕЦЕПТОРОВ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 НА РАЗВИТИЕ ДЕКСАМЕТАЗОНОВОГО ДИАБЕТА У КРЫС**

Сахарный диабет (СД) занимает одно из первых мест в структуре эндокринных заболеваний. Поэтому расширение арсенала противодиабетических средств для оптимизации лечения СД II типа является важным и актуальным. Одним из перспективных направлений оптимизации терапии СД II типа является антицитокиновая терапия. Приведены результаты экспериментального изучения влияния оригинального рекомбинантного антагониста рецепторов ИЛ-1 ралейкина, полученного в Санкт-Петербургском НИИ ОЧБП, на развитие дексаметазонового диабета у крыс. Определено, что в условиях инсулинорезистентности, вызванной введением дексаметазона, антагонист рецепторов интерлейкина-1 ралейкин проявляет гипогликемическое и противовоспалительное действие, по которому превосходит действие референс-препарата метформина и достоверно не отличается от действия препарата анакинра. Можно предположить, что гипогликемическое действие ралейкина является результатом не только блокады рецепторов интерлейкина-1 в поджелудочной железе и дальнейшей защиты β -клеток от повреждающего действия дексаметазона, но также связано со способностью препарата тормозить образование продуктов неферментативного гликозилирования и подавлять развитие воспалительных процессов в β -клетках. Полученные свойства ралейкина имеют важное значение также для предотвращения и терапии осложнений СД. Таким образом, рекомбинантный антагонист рецепторов ИЛ-1 ралейкин является перспективным препаратом для применения в комплексной терапии СД II типа.

Ключевые слова: дексаметазоновый диабет; гипогликемическое действие; ралейкин, анакинра

UDC 615.252.349.7:616.349-008.64**I. P. Bukhtiarova****STUDY OF THE INFLUENCE RECEPTOR'S ANTAGONIST INTERLEUKIN-1 ON THE DEVELOPMENT OF DEXAMETHASONE DIABETES IN RATS**

Diabetes mellitus (DM) has one of the first places in the structure of endocrine diseases. Therefore expand the arsenal of anti-diabetic agents for optimizing the treatment of type II diabetes is important and relevant. Anticytokine therapy is one of the promising directions of optimization of therapy of type II diabetes. The article presents the results of experimental study of the influence of the original recombinant receptor antagonist IL-1 raleukin, obtained in St.-Petersburg Research Institute of Pure Biochemicals, on the development of dexamethasone diabetes in rats. It has been determined that on the conditions of insulin resistance caused by the introduction of dexamethasone receptor's antagonist interleukin-1 raleukin has hypoglycemic and anti-inflammatory effect which exceeds that of the reference drug metformin and is not significantly different from the effect of anakinra. We can assume that the hypoglycemic effect of raleukin is not only the result of the blockade of IL-1 receptors in the pancreas and further protect β -cells from the damaging effect of dexamethasone, but is connect with the ability of the drug to inhibit the formation of products of non-enzymatic glycosylation and inhibit the development of inflammatory processes in β -cells. Obtained properties of raleukin are important for the prevention and treatment of complications of diabetes mellitus. Thus, recombinant receptor's antagonist of IL-1 raleukin is the perspective drug for use in the adjuvant therapy of type II diabetes.

Key words: dexamethasone diabetes; hypoglycemic action; raleukin; anakinra

Адреса для листування:

83003, м. Донецьк, пр. Ілліча, 16.

Тел. (062) 385-95-00. E-mail: acya@ukr.net.

Донецький національний медичний
університет ім. М. Горького

Надійшла до редакції 14.04.2014 р.