© Український журнал клінічної та лабораторної медицини, 2013
УДК 615.252.349.7: 616.349 — 008.64

Вплив ралейкіну на показники глюкозного гомеостазу щурів за умов порушеної толерантності до вуглеводів

І.П.Бухтіярова, С.М.Дроговоз, О.М.Іщенко

Національный фармацевтичний університет
Харків, Україна

Цукровий діабет (ЦД) і надалі залишається медико-соціальною проблемою у світі. Одним із найважливіших прогностичних маркерів розвитку ЦД 2 типу є порушення толерантності до глюкози (ПТГ), що вказує на те, що ступінь інсулінової резистентності та інсулінової секреції знаходиться у стані ненадійного балансу. Подальше погіршення резистентності до інсуліну або зниження його секреції призводить до прогресування гіперглікемії та розвитку ЦД. Велику кількість світових досліджень присвячено розробці нових способів лікування ПТГ та ЦД з урахуванням його патогенетичних механізмів. Одним з перспективних напрямів оптимізації терапії ПТГ та ЦД є антицитокінова терапія.

У статті наведено результати вивчення гіпоглікемічних властивостей рекомбінантного антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну, отриманого в Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП, в умовах порушеної толерантності до вуглеводів. Визначено, що рекомбінантний антагоніст рецепторів ІЛ-1 ралейкін є перспективним антидіабетичним препаратом. В умовах внутрішньоочеревинного тесту толерантності до глюкози на тлі порушеної толерантності до вуглеводів найвираженішу гіпоглікемічну дію виявив ралейкін у дозі 7 мг/кг. За нормалізувальним впливом на інтегральну глікемію ралейкін у дозі 7 мг/кг не поступався референс-препарату метформіну. Ця доза є умовно-ефективною дозою ралейкіну за гіпоглікемічною дією та може бути використана в подальших дослідженнях антидіабетичних властивостей ралейкіну.

Ключові слова: порушена толерантність до вуглеводів, цукровий діабет, гіпоглікемічна дія, ралейкін.

ВСТУП

Цукровий діабет (ЦД) і надалі залишається медико-соціальною проблемою у світі. Діабет небезпідставно називають фатумом тисячоліття, ця хвороба з року в рік прогресує і молодшає. У світі на цю недугу хворіє понад 170 млн людей. На думку експертів, число хворих на ЦД у 2010 р. зросло до 239 млн, а до 2025 р. — до 300 млн осіб [9].

Одним із найважливіших прогностичних маркерів розвитку ЦД 2 типу є порушення толерантності до глюкози (ПТГ), що вказує на те, що ступінь інсулінової резистентності та інсулінової секреції знаходиться у стані ненадійного балансу. Подальше погіршення резистентності до інсуліну або зниження його секреції призводить до прогресування гіперглікемії та розвитку ЦД [3]. Так, за даними ВООЗ, через 5-10 років після визначення інтолерантності у 60% обстежених було виявлено ЦД 2 типу [1].

Тобто схильність до ЦД 2 типу можна виявити за 5-10 років до моменту, коли ПТГ перейде в захворювання. При цьому можна уникнути захворювання або відстрочити його розвиток. До того ж доведено, що наявність ПТГ збільшує ризик гіпертонічної хвороби, ішемічної хвороби серця, запалення атеросклеротичних бляшок, інсульту тощо [3, 4]. У зв'язку із цим фармакологічна корекція ПТГ є одним із вирішальних заходів попередження та лікування ЦД 2 типу.

Велику кількість світових досліджень присвячено розробці нових способів лікування ПТГ та ЦД з урахуванням його патогенетичних механізмів. Одним з перспективних напрямів оптимізації терапії ПТГ та ЦД є антицитокінова терапія [11, 14].

За даними сучасних досліджень, прозапальні цитокіни, а саме інтерлейкін-1 (ІЛ-1), відіграють важливу роль у розвитку ПТГ та ЦД [6]. Ві-

домо, що β-клітини мають найбільшу щільність рецепторів ІЛ-1. Доведено, що ІЛ-1 здатний пригнічувати стимульовану глюкозою секрецію інсуліну та порушує нормальну структуру острівців Лангергансу, що знижує виживаність β-клітин та сприяє індукції їх апоптозу [8, 10, 16]. Тому препарати, які здатні гальмувати синтез та активність ІЛ-1, підвищувати виживаність та нормалізувати функціональну активність β-клітин підшлункової залози, є перспективними антидіабетичними засобами [12, 13, 15].

Метою дослідження стало вивчення в умовах порушеної толерантності до вуглеводів гіпоглікемічних властивостей рекомбінантного антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну, отриманого в Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Скринінгові дослідження антигіперглікемічних властивостей рекомбінантного антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну в широкому діапазоні доз проводили на щурах із порушеною толерантністю, яку відтворювали за допомогою підшкірного введення дексаметазону в дозі 0,125 мг/кг маси тіла протягом 13 діб трьохмісячним щурам [5]. Експеримент було проведено на 36 білих безпородних самцях щурів масою 180-210 г. Експериментальні тварини було розподілено на шість груп по 6 тварин у кожній.

Дана експериментальна модель є моделлю переддіабету та є доцільною для дослідження потенційних цукрознижувальних препаратів, механізм дії яких пов'язаний із поліпшенням толерантності до вуглеводів та чутливості периферичних тканин до дії інсуліну (бігуаніди, тіазолідиндіони тощо) [2].

За препарат порівняння обрано пероральний гіпоглікемічний засіб метформін у дозі 30 мг/кг. Досліджувані препарати вводили за 30 хв. до внутрішньочеревинного введення глюкози (3 г на кг маси тіла): ралейкін — підшкірно в дозах 3, 7 та 10 мг/кг, метформін — внутрішньошлунково в дозі 30 мг/кг [2, 7]. Дози ралейкіну було обрано згідно з результатами попередніх досліджень [8]. Антигіперглікемічний ефект препаратів оцінювали за зниженням інтегральної глікемії під час внутрішньоочеревинного тесту толерантності до глюкози та площею під глікемічними кривими (ПГК).

Вміст глюкози в крові оцінювали глюкозооксидазним методом за допомогою ферментативного аналізатора глюкози «Ексан-Г» (Литва), ПГК обчислювали за допомогою комп'ютерної програми «Mathlab» [5].

У разі обліку результатів у вигляді середня±стандартна помилка статистичну достовірність міжгрупових відмінностей розраховували за критерієм t Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження наведені в табл. 1 та на рис. 1.

Відомо, що високі дози глюкокортикоїдів спричиняють порушення секреторної функції панкреатичних β-клітин та розвиток інсулінорезистентності. Введення дексаметазону призводить до помірної базальної гіперглікемії, дворазового зростання концентрації інсуліну та неестерифікованих жирних кислот у сироватці крові експериментальних тварин. Крім того, у них відмічається погіршення толерантності до вуглеводів та зниження чутливості периферичних тканин до дії інсуліну [2].

В останні роки доведено, що зниження утилізації глюкози адипоцитами після ін'єкцій дексаметазону є наслідком прямого впливу препарату на експресію транспортерів глюко-

ТАБЛИЦЯ 1

Гіпоглікемічна активність ралейкіну в умовах порушеної толерантності до глюкози у щурів (M±m, n=6)

Група тварин	Доза, мг/кг	Інтегральна глікемія, ммоль/л	% зміни інтегральної глікемії в порівнянні з групою контрольної патології
Інтактний контроль	-	15,4±1,5	-39,8±3,2
Контрольна патологія	-	25,6±2,3*	-
Ралейкін	3	22,5±1,9*	-12,1±1,3#
	7	18,2±2,2**	-28,9±1,9
	10	19,6±2,8	-23,4±1,6#
Метформін	30	17,9±1,7**	-30,1±2,4

Примітки: *1. статистично значущі відмінності (p≤0,05): * — до інтактного контролю, ** — до контрольної патології, # — до метформіну; 2. n — кількість тварин у групі.*

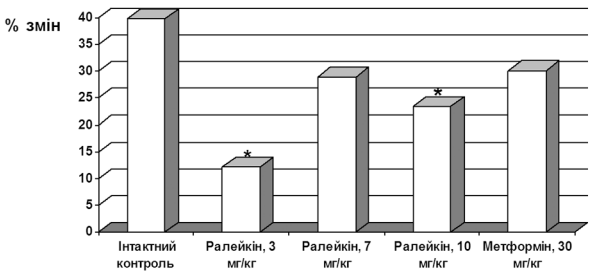

Рис. 1. Зміни інтегральної глікемії (у %) у порівнянні з групою контрольної патології в умовах внутрішньоочеревинного тесту толерантності до глюкози на тлі порушеної толерантності до вуглеводів.

Примітка: ** — статистично значущі відмінності до метформіну (p≤0,05).*

зи, що призводить до розвитку інсулінорезистентності [5].

Також гальмувальний ефект глюкокортикоїдів на секреторну активність панкреатичних β-клітин, імовірно, пов'язаний з інактивацією мітохондріальної ФАД-гліцерофосфатдегідрогенази — ферменту, який відіграє ключову роль у секреції інсуліну, індукованій глюкозою [2, 5].

Під час тесту толерантності до глюкози у щурів з ПТГ визначено, що в сироватці крові тварин групи контрольної патології рівень інтегральної глікемії достовірно зріс в 1,7 разу порівняно з показником тварин групи інтактного контролю — з 15,4±1,5 до 25,6±2,3 ммоль/л (табл. 1).

Введення досліджуваних препаратів різною мірою сприяло зниженню інтегральної глікемії в сироватці крові експериментальних тварин.

Так, на тлі ралейкіну в дозі 3 мг/кг рівень інтегральної глікемії знизився в 1,1 разу, але недостовірно. Під впливом ралейкіну в дозі 7 мг/кг відбувалось достовірне зниження вищезазначеного показника в 1,4 разу. Введення ралейкіну в дозі 10 мг/кг сприяло зниженню інтегральної глікемії в сироватці крові щурів в 1,3 разу, але ці зміни не були достовірними. Застосування референс-препарату метформіну викликало достовірне зниження інтегральної глікемії в 1,4 разу. Тобто в умовах даної моделі достовірну гіпоглікемічну дію виявили лише ралейкін у дозі 7 мг/кг та метформін 30 мг/кг. Ралейкін у дозах 3 та 10 мг/кг виявив лише тенденцію до гіпоглікемічної дії.

Зміни інтегральної глікемії у тварин порівняно з показником групи контрольної патології наведено на рис. 1.

За даними, наведеними на рис. 1, можна стверджувати, що в умовах внутрішньоочеревинного тесту толерантності до глюкози на тлі порушеної толерантності до вуглеводів антигіперглікемічна дія ралейкіну в дозі 7 мг/кг достовірно не відрізнялась від дії референс-препарату метформіну. Ралейкін в дозах 3 та 10 мг/кг в умовах даної моделі достовірно поступався дії метформіну.

Тобто в умовах даної моделі достовірну гіпоглікемічну дію на рівні метформіну виявив ралейкін у дозі 7 мг/кг. Гіпоглікемічні властивості ралейкіну, імовірно, пов'язані з його механізмом дії, а саме, зі здатністю препарату блокувати рецептори ІЛ-1, гальмувати активність ІЛ-1 та за рахунок цього підвищувати виживаність та нормалізувати функціональну активність β-клітин підшлункової залози [15, 17].

ВИСНОВКИ

Таким чином, проведені дослідження свідчать, що рекомбінантний антагоніст рецепторів ІЛ-1 ралейкін є перспективним антидіабетичним препаратом. В умовах внутрішньоочеревинного тесту толерантності до глюкози на тлі порушеної толерантності до вуглеводів найвиразнішу гіпоглікемічну дію виявив ралейкін у дозі 7 мг/кг. За нормалізувальним впливом на інтегральну глікемію ралейкін у дозі 7 мг/кг не поступався референс-препарату метформіну. Ця доза є умовно-ефективною дозою ралейкіну за гіпоглікемічною дією та може бути використана в подальших дослідженнях антидіабетичних властивостей ралейкіну.

Ралейкін у перспективі може стати першим антицитокіновим препаратом з гіпоглікемічними властивостями в Україні та застосовуватись у комплексній терапії ЦД, що дозволить удосконалити її за рахунок впливу на рецептори ІЛ-1.

ЛІТЕРАТУРА

1. Балаболкин М.И. Лечение сахарного диабета и его осложнений / М.И.Балаболкин, Е.М.Клебанова, В.М.Креминская. — М., 2005. — 512 с.
2. Вплив метформіну на розвиток інсулінорезистентності, індукованої дексаметазоном у щурів / В.В.Полторак, Н.І.Горбенко, О.В.Іванова, М.Ю.Горшунська // Ендокринологія. — 2000. — Т. 5, №2. — С. 249-251.
3. Дедов И.И. Сахарный диабет — опаснейший вызов мировому сообществу / И.И.Дедов // Вестник Российской академии медицинских 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. рек. / За ред. члена-кор. АМН України О.В.Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — 528 с.
6. Симбирцев А.С. Медицинские препараты на основе белков семейства интерлейкина-1 / А.С.Симбирцев // В кн.: Справочник по иммунотерапии для практического врача. — СПб: Диалог, 2002. — С. 152-165.

7. Шумейко О.Г. Експериментальне обґрунтування застосування екстракту з мідії чорноморської *(Mytilus galloprovincialis Lam.)* у комплексній терапії цукрового діабету: Автореф. дис. ... к.мед.н.: 14.01.14 — Ендокринологія. — Х., 2009. — 153 с.
8. Щокіна К.Г. Органотропні ефекти рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 (експериментальне дослідження): Автореф. дис. ... д.фарм.н.: 14.03.05 — Фармакологія. — Х., 2011. — 440 с.
9. Эпидемиология сахарного диабета и прогноз его распространенности / Ю.И.Сунцов, Л.Л.Болотская, О.В.Маслова и соавт. // Сахарный диабет. — 2011. — №1. — С. 15-18.
10. 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.
11. Cytokines affect PDX-1 expression, insulin and proinsulin secretion from iNOS deficient murine islets / A.K.Andersson, A.Borjesson, J.Sandgren et al. // Mol Cell Endocrinol. — 2005. — Vol. 240. — P. 50-57.
12. Fève B. The role of interleukins in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus / B.Fève, J.-P. Bastard // Nature Reviews Endocrinology. — 2009. — №5. — P. 305-311.
13. Human tumor necrosis factor potentiates human interleukin 1-mediated rat pancreatic beta-cell cytotoxicity / T.Mandrup-Poulsen, K.Bendtzen, C.A.Dinarello et al. // J. Immunol. — 1987. — Vol. 139 (12). — P. 4077-4082.
14. Inflammatory process in type 2 diabetes: The role of cytokines / K.Alexandraki, C.Piperi, C.Kalofoutis et al. // Ann. N. Y. Acad. Sci. — 2006. — Vol. 1084. — P. 89-117.
15. Interleukin-1 — Receptor Antagonist in Type 2 Diabetes Mellitus / C.M.Larsen, M.Faulenbach, A.Vaag et al. // N. Engl. J. Med. — 2007. — Vol. 356. — P. 1517-1526.
16. Long-term treatment with interleukin-1β induces insulin resistance in murine and human adipocytes / C.Lagathu, L.Yvan-Charvet, J.P.Bastard et al. // Diabetologia. — 2006. — №49. — P. 2162-2173.
17. Sustained effects of interleukin-1 receptor antagonist treatment in type 2 diabetes / C.M.Larsen, M.Faulenbach, A.Vaag et al. // Diabetes Care. — 2009. — Vol. 32. — P. 1663-1668.

И.П.Бухтиярова, С.М.Дроговоз, А.М.Ищенко. Влияние ралейкина на показатели глюкозного гомеостаза крыс в условиях нарушенной толерантности к углеводам. Харьков, Украина.

Ключевые слова: *нарушенная толерантность к углеводам, сахарный диабет, гипогликемическое действие, ралейкин.*

Сахарный диабет (СД) и далее остается медико-социальной проблемой в мире. Одним из важнейших прогностических маркеров развития СД 2 типа является нарушение толерантности к глюкозе (НТГ), что указывает на то, что степень инсулиновой резистентности и инсулиновой секреции находится в состоянии ненадежного баланса. Дальнейшее ухудшение резистентности к инсулину или снижение его секреции приводит к прогрессированию гипергликемии и развитию СД. Большое число мировых исследований посвящено разработке новых способов лечения НТГ и СД с учетом его патогенетических механизмов. Одним из перспективных направлений оптимизации терапии НТГ и СД является антицитокиновая терапия.

В статье приведены результаты изучения гипогликемических свойств рекомбинантного антагониста рецепторов ИЛ-1 ралейкина, полученного в Санкт-Петербургском НИИ ОЧБП, в условиях нарушенной толерантности к углеводам. Определено, что рекомбинантный антагонист рецепторов ИЛ-1 ралейкин является перспективным противодиабетическим препаратом. В условиях внутрибрюшинного теста толерантности к глюкозе на фоне нарушенной толерантности к углеводам выраженное гипогликемическое действие обнаружил ралейкин в дозе 7 мг/кг. По нормализующему влиянию на интегральную гликемию ралейкин в дозе 7 мг/кг не уступал референс-препарату метформину. Эта доза является условно-эффективной дозой ралейкина по гипогликемическому действию и может быть использована в дальнейших исследованиях антидиабетических свойств ралейкина.

I.P.Buhtiyarova, S.M.Drogovoz, A.M.Ishenko. Impact of raleukin to the indicators of glucose homeostasis of rat on impaired carbohydrate tolerance. Kharkiv, Ukraine.

Key words: *Impaired carbohydrate tolerance, diabetes, hypoglycemic effect, raleukin.*

Diabetes mellitus (DM) and stays medical and social problem in the world. One of the most important prognostic markers for diabetes type 2 is impaired glucose tolerance (IGT), which indicates that the degree of insulin resistance and insulin secretion in a state of balance unreliable. Further worsening insulin resistance or reduced secretion leads to progressive development of hyperglycemia and diabetes. A large number of the world studies are devoted to the development of new treatments for diabetes and impaired glucose tolerance in view of its pathogenetic mechanisms. Anticytokine therapy is one of the perspective directions of optimization of therapy IGT and DM.

In this study, the hypoglycemic properties of the recombinant receptor antagonist IL-1 raleukin obtained in the St. Petersburg Institute of OCHBP in conditions of impaired carbohydrate tolerance. It was determined that the recombinant receptor antagonist of IL-1 raleukin is a perspective antidiabetic drug. Under intraperitoneal glucose tolerance test against violation shennoy carbohydrate tolerance raleukin at 7 mg/kg found remarkable hypoglycemic action. By normalizing effect on integral glycemia raleukin in dose of 7 mg/kg did not yield the reference drug metformin. This dose is conditional on the effective dose of raleukin on hypoglycemic effect and can be used in future studies of anti-diabetic properties of raleukin.

Надійшла до редакції 28.06.2013 р.