

І. П. Бухтіярова<sup>1</sup>, К. Г. Щокіна<sup>2</sup>, С. М. Дроговоз<sup>2</sup>, О. М. Іщенко<sup>3</sup>

## Фармакологічне дослідження гіпоглікемічних властивостей рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1

<sup>1</sup>Донецький національний медичний університет

<sup>2</sup>Національний фармацевтичний університет, м. Харків

<sup>3</sup>Науково-дослідний інститут особливо чистих біопрепаратів, м. Санкт-Петербург

*Ключові слова:* стрептозотоциновий діабет, нікотинамід, гіпоглікемічна дія, ралейкін

Незважаючи на досягнення в галузі сучасної діабетології та фармакології, цукровий діабет (ЦД) є невиліковною хворобою, а його ускладнення посідають третє місце після серцево-судинних і онкологічних захворювань і є однією з провідних причин інвалідизації та смертності населення світу. Міжнародна Федерація Діабету (IDF) нещодавно опублікувала оновлені дані, які показали, що в світі на ЦД хворіє 347 млн осіб [1]. Прогнозується, що в 2035 році загальна чисельність страждаючих на ЦД збільшиться на 55 % і досягне 592 млн осіб, при цьому понад 90 % з них матимуть ЦД II типу [2]. За останні 10 років кількість хворих на ЦД в Україні зростає більше ніж у 1,5 разу і становить понад 1,3 млн, а це складає понад 2 % від усього населення країни. Тому оптимізація терапії ЦД є однією з актуальних медичних та соціальних проблем сучасності [3].

Численні світові та вітчизняні дослідження присвячено розробці нових способів лікування ЦД II типу з урахуванням його патогенетичних механізмів. Сформульована останніми роками мультигенна концепція розвитку ЦД дала змогу відійти від «глюкоцентричної» теорії, яка обґрунтовувала терапію ЦД протягом багатьох років, та визначити нові підходи до його лікування. Сьогодні пріоритет слід надавати антидіабетичним препаратам, фармакодинаміка яких не обмежується гіпоглікемічною дією, а дозволяє виявляти позитивний вплив на декілька основних патогене-

тичних ланок захворювання [1, 3]. Згідно з сучасними уявленнями, одним з перспективних напрямів оптимізації терапії ЦД II типу є антиінтерлейкінова терапія [4, 5].

Як відомо, при ожирінні клітини жирової тканини секретують прозапальні цитокіни (ФНП- $\alpha$ , ІЛ-6 та ІЛ-1), які беруть участь у розвитку запалення та формуванні інсулінорезистентності. ІЛ-1 також гальмує секрецію інсуліну, що викликає пригнічення утилізації глюкози тканинами та депресію глікогенуотворення. Таким чином, інсулінорезистентність, посилення глюконеогенезу та пригнічення утилізації глюкози зрештою призводять до розвитку гіперглікемії та порушення толерантності до глюкози [6–11].

Оскільки доведено участь прозапальних цитокінів, зокрема, ІЛ-1 у патогенезі ЦД II типу, постає питання щодо обґрунтування блокади рецепторів до ІЛ-1 як одного з перспективних напрямів удосконалення патогенетичної терапії ЦД.

*Мета дослідження* – експериментальне вивчення гіпоглікемічних властивостей оригінального рекомбінантного антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну, отриманого в Санкт-Петербурзькому НДІ особливо чистих біопрепаратів (Росія), за умов модельного ЦД у щурів.

*Матеріали та методи.* Модельну патологію відтворювали за допомогою одноразового внутрішньоочеревинного введення білим безпородним щурам стрептозотоцину в дозі 65 мг/кг через 15 хв після внутрішньоочеревинного введення нікотинаміду в дозі 230 мг/кг [12].

Як референс-препарати було обрано метформін (Діаформін, виробництва

ВАТ «Фармак», табл. 0,5 г) та анакінру (Кінерет, виробництва «Swedish Orphan Biovitrum» (Швеція), пор. д/і 0,1 г). Вибір препаратів порівняння зумовлений тим, що метофмін є еталонним гіпоглікемічним препаратом, який входить до стандартів лікування ЦД обох типів [13, 14], а анакінра – рекомбінантний антагоніст рецепторів ІЛ-1 з доведеною гіпоглікемічною активністю, який є аналогом досліджуваного препарату [7, 15].

Досліджувані речовини вводили в профілактично-лікувальному режимі з початку відтворення модельної патології протягом 28 діб 1 раз на 1 добу: ралейкін у дозі 7 мг/кг та анакінру в дозі 8 мг/кг – підшкірно [6], метформін у дозі 30 мг/кг – внутрішньошлунково [13]. Гіпоглікемічні властивості досліджуваних препаратів оцінювали за наступними показниками: базальною глікемією в динаміці – на 1, 14 та 28 добу дослідження; на 28 добу дослідження – за вмістом інсуліну в сироватці крові, індексом інсулінорезистентності НОМА-IR.

Уміст глюкози в крові оцінювали глюкозооксидазним методом за допомогою ферментативного аналізатора глюкози «Ексан-Г» (Литва) [16], інсулінемію – методом імуноферментного аналізу за допомогою тест-набору (Марбург, Німеччина). НОМА-IR розраховували за формулою [12]:

$$\text{НОМА-IR} = \frac{\text{глюкоза (ммоль/л)} \cdot \text{інсулін (мкОд/мл)}}{22,5}$$

Облік результатів у вигляді середнього арифметичного  $\pm$  стандартної

похибки середнього та статистичну достовірність міжгрупових відмінностей розраховували за критерієм t Стьюдента з поправкою Бонфероні.

**Результати та їх обговорення.** Результати дослідження наведено в таблицях 1–2.

В основі відтворення даної моделі ЦД лежить частковий захист  $\beta$ -клітин від цитотоксичної дії стрептозотоцину за допомогою відповідних доз нікотинаміду. Уведення нікотинаміду за 15 хв до внутрішньоочеревинного введення стрептозотоцину сприяє розвитку стабільної помірної базальної гіперглікемії та 40 % збереженню запасів інсуліну. Зазначена модель характеризується інтолерантністю до вуглеводів, відносною недостатністю секреції інсуліну у відповідь на підвищений рівень глюкози та збереженням секреторної реакції на неглюкозні секретогени, тобто дозволяє відтворити головні патогенетичні ознаки ЦД II типу у людини [12].

Встановлено, що зв'язування інсуліну з мембранами клітин печінки за умов даної моделі прогресивно знижується, починаючи з 15 доби після індукції діабету, та сягає максимуму через 60 діб від початку експерименту, що призводить до розвитку вторинної інсулінорезистентності [12, 14].

Так, на 1 добу дослідження вміст глюкози в сироватці крові тварин групи контрольної патології достовірно збільшився в 2,1 разу, на 14 добу – у 2,5 разу, на 28 добу – у 2,3 разу порівняно з показниками щурів групи інтактного контролю (табл. 1).

Таблиця 1

*Динаміка глікемії в щурів за умов моделювання цукрового діабету та впливу ралейкіну,  $M \pm m$  (n = 7)*

Група тварин	Уміст глюкози в сироватці крові, ммоль/л		
	1 доба	14 доба	28 доба
Інтактний контроль	3,9 $\pm$ 0,2	4,1 $\pm$ 0,2	3,9 $\pm$ 0,2
Діабет (контрольна патологія)	8,0 $\pm$ 0,2*	10,3 $\pm$ 0,1*	9,0 $\pm$ 0,2*
Діабет + ралейкін (7 мг/кг)	8,0 $\pm$ 0,2*/#	6,9 $\pm$ 0,2*/*/#	6,2 $\pm$ 0,2*/*/#
Діабет + метформін (30 мг/кг)	9,1 $\pm$ 0,2*/**	8,6 $\pm$ 0,2*/**	7,8 $\pm$ 0,2*/**
Діабет + анакінра (8 мг/кг)	8,3 $\pm$ 0,2*/#	7,3 $\pm$ 0,2*/*/#	6,8 $\pm$ 0,2*/*/#

Примітка. Тут і в табл. 2: статистично значущі відмінності ( $p \leq 0,05$ ): \*до групи інтактного контролю; \*\*до групи контрольної патології, \*до метформіну; n – кількість тварин у групі.

*Уміст інсуліну в крові щурів та індекс інсулінорезистентності НОМА-IR на 28 добу після моделювання цукрового діабету та застосування ралейкіну (n = 7)*

Показник	Інтактний контроль	Діабет (контрольна патологія)	Діабет + ралейкін (7 мг/кг)	Діабет + метформін (30 мг/кг)	Діабет + анакінра (8 мг/кг)
Інсулін, мкОД/мл	1,7 ± 0,1	2,9 ± 0,2*	1,8 ± 0,1**/#	1,2 ± 0,1***	1,5 ± 0,1***/#
НОМА-IR	0,30 ± 0,02	1,20 ± 0,10*	0,48 ± 0,04***	0,41 ± 0,03***	0,47 ± 0,04***

При цьому вміст інсуліну в сироватці крові тварин на 28 добу експерименту підвищився в 1,7 разу, а індекс інсулінорезистентності НОМА-IR зріс у 4 рази порівняно з відповідними показниками в групі інтактного контролю (табл. 2). Отримані результати свідчать про розвиток помірної базальної гіперглікемії, зниження секреції інсуліну та розвиток інсулінорезистентності.

Через 1 добу після моделювання діабету базальна глікемія в усіх групах тварин, що отримували досліджувані речовини, достовірно не відрізнялася від показника групи контрольної патології, а в групі метформіну навіть перевищувала даний показник у 1,1 разу. Але подальше застосування всіх досліджуваних речовин сприяло зниженню гіперглікемії. Так, під дією ралейкіну вміст глюкози в сироватці крові тварин на 14 та 28 добу був достовірно нижчим за показники групи контрольної патології в 1,7 та 1,6 разу відповідно. На 28 добу експерименту вміст інсуліну в сироватці крові тварин, що отримували ралейкін, був в 1,6 разу нижчий за вміст інсуліну в крові тварин групи контрольної патології та достовірно не відрізнявся від відповідного показника в групі інтактного контролю. Також зафіксовано значне зниження інсулінорезистентності, про що свідчить достовірне зниження НОМА-IR у 2,5 разу порівняно з контрольною патологією.

На тлі анакінри базальна глікемія на 14 добу експерименту знизилася в 1,4 разу, на 28 добу – у 1,3 разу порівняно з показниками групи контрольної патології. Рівень інсуліну в сироватці крові щурів, яким вводили анакінру, на 28 добу дослідження був в 1,9 разу

нижчим, ніж у групі контрольної патології, індекс НОМА-IR достовірно знизився в 2,6 разу.

Уведення метформіну сприяло достовірному зниженню вмісту глюкози в сироватці крові тварин на 14 та 28 добу в середньому в 1,2 разу відносно показників групи контрольної патології. Рівень інсуліну на тлі метформіну достовірно знизився в 2,4 разу, індекс НОМА-IR – у 2,9 разу. Тобто, за впливом на інсулінемію метформін достовірно перевершував дію ралейкіну та анакінри. Подібна тенденція спостерігалася також за впливом на НОМА-IR, але достовірної різниці цих показників у групах тварин, що отримували досліджувані речовини, не зафіксовано (табл. 2).

Таким чином, усі досліджені препарати гальмували розвиток модельного ЦД II типу, достовірно знижували гіперглікемію, інсулінемію та інсулінорезистентність. За гіпоглікемічною дією ралейкін та анакінра достовірно не відрізнялися між собою, але дещо перевершували дію метформіну. За нормалізуючим впливом на рівень інсуліну в сироватці крові експериментальних тварин метформін достовірно перевищував дію ралейкіну та анакінри, а за впливом на НОМА-IR – виявив тенденцію до перевищення. Отримані результати збігаються з даними численних досліджень щодо механізму дії та фармакодинаміки метформіну, пов'язаних, перш за все, зі зниженням інсулінорезистентності на тлі ЦД [13, 14].

### Висновки

Таким чином, на моделі стрептозотоцинового діабету з нікотинамідом у щурів оригінальний рекомбінантний антаго-

ність рецепторів ІЛ-1 ралейкін виявив антидіабетичні властивості, а саме, спричиняв гіпоглікемічну дію, гальмував розвиток гіперінсулінемії та знижував ознаки інсулінорезистентності. За гіпоглікемічною дією та впливом на індекс інсулінорезистентності НОМА-ІР ралейкін не поступався препаратам порівняння метформіну та рекомбінантному антагоністу рецепторів ІЛ-1 з доведеними антидіабетичними власти-

востями – анакінрі, за впливом на вміст інсуліну в сироватці крові експериментальних тварин ралейкін поступався метформіну та достовірно не відрізнявся від анакінри. Отримані результати дослідження свідчать про важливу роль ІЛ у розвитку ЦД II типу та роблять ралейкін перспективним препаратом для подальшого доклінічного та клінічного вивчення з метою включення до комплексної терапії ЦД.

1. Балаболкин М. И. Лечение сахарного диабета и его осложнений / М. И. Балаболкин, Е. М. Клебанова, В. М. Кремінская. – М., 2005. – 512 с.
2. 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.
3. Дедов И. И. Сахарный диабет – опаснейший вызов мировому сообществу / И. И. Дедов // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2012. – № 1. – С. 7–13.
4. Прозапальні цитокіни при цукровому діабеті 1-го типу / В. А. Скибчик, Я. Г. Гутор, М. О. Войнович та ін. // Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. – 2012. – № 1. – С. 57–60.
5. Mechanisms of pancreatic  $\beta$ -cell death in type 1 and type 2 diabetes. Many differences, few similarities / М. Сноп, N. Welsh, J. C. Jonas et al. // Diabetes. – 2005. – V. 54, Suppl. 2. – P. S97–S107.
6. Бухтіярова І. П. Вивчення впливу антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 на перебіг дексаметазонавого діабету в щурів / І. П. Бухтіярова // Український біофармацевтичний журнал. – 2014. – № 3 (32). – С. 50–54.
7. Патент на корисну модель 92304 U, МПК А61Р 3/10. Застосування антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 ралейкіну в терапії інсуліннезалежного цукрового діабету / Бухтіярова І. П., Дрогозов С. М., Іщенко О. М. – № u 2014 02454; заявл. 12.03.2014; опубл. 11.08.2014, Бюл. № 15. – 6 с.
8. Börjesson A. Altered proinsulin conversion in rat pancreatic islets exposed long-term to various glucose concentrations or interleukin-1beta / A. Bjrjesson, C. Carlsson // J Endocrinol. – 2007. – V. 192 (2). – P. 381–387.
9. 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. – V. 139 (12). – P. 4077–4082.
10. 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.
11. Long-term treatment with interleukin-1 $\beta$  induces insulin resistance in murine and human adipocytes / С. Lagathu, L. Yvan-Charvet, J. P. Bastard [et al.] // Diabetologia. – 2006. – № 49. – P. 2162–2173.
12. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – К. : Авіценна, 2001. – 528 с.
13. Вплив метформіну на розвиток інсулінорезистентності, індукованої дексаметазоном у щурів / В. В. Полторац, Н. І. Горбенко, О. В. Іванова, М. Ю. Горшунська // Ендокринологія. – 2000. – Т. 5, № 2. – С. 249–251.
14. 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 / О. Г. Шумейко. – Х., 2009. – 153 с.
15. Sustained Effects of Interleukin-1 Receptor Antagonist Treatment in Type 2 Diabetes / С. М. Larsen, М. Faulenbach, J.A. Ehses [et al.] // Diabetes Care. – 2009. – V. 32, № 9. – P. 1663–1668.
16. Лабораторные методы исследования в клинике : справочник / В. В. Меньшиков, Л. Н. Делекторская, Р. П. Золотницкая [и др.]; под ред. В. В. Меньшикова. – М. : Медицина, 1997. – 368 с.

**І. П. Бухтіярова, К. Г. Щокіна, С. М. Дрогозов, О. М. Іщенко**

### **Фармакологічне дослідження гіпоглікемічних властивостей рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1**

Згідно з сучасними уявленнями про патогенез цукрового діабету (ЦД) II типу, одну з провідних ролей у розвитку захворювання відіграють прозапальні цитокіни, а саме інтерлейкін-1 (ІЛ-1). У статті наведено результати експериментального вивчення гіпоглікемічних властивостей оригінального рекомбінантного антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну на моделі ЦД II типу.

Визначено, що на моделі стрептозоточин-індукованого діабету з нікотинамідом у щурів ралейкін виявив антидіабетичні властивості, а саме, спричиняв гіпоглікемічну дію, гальмував розвиток

---

---

гіперінсулінемії та знижував ознаки інсулінорезистентності. За гіпоглікемічною дією та впливом на індекс інсулінорезистентності НОМА-ІR ралейкін не поступався препаратам порівняння метформіну та анакінри, за впливом на вміст інсуліну в сироватці крові експериментальних тварин ралейкін поступався метформіну та достовірно не відрізнявся від анакінри. Отримані результати дослідження свідчать про важливу роль ІЛ у розвитку ЦД II типу та роблять ралейкін перспективним препаратом для подальшого доклінічного та клінічного вивчення з метою включення до комплексної терапії ЦД.

*Ключові слова: стрептозотоциновий діабет, нікотинамід, гіпоглікемічна дія, ралейкін*

**И. П. Бухтиярова, Е. Г. Щекіна, С. М. Дрогвоз, А. М. Ищенко**  
**Фармакологическое исследование гипогликемических свойств**  
**рекомбинантного антагониста рецепторов интерлейкина-1**

Согласно современным представлениям о патогенезе сахарного диабета (СД) II типа, одну из ведущих ролей в развитии заболевания играют провоспалительные цитокины, а именно, интерлейкин-1 (ИЛ-1). В статье приведены результаты экспериментального изучения гипогликемических свойств оригинального рекомбинантного антагониста рецепторов ИЛ-1 ралейкина на модели СД II типа. Определено, что на модели стрептозототин-индуцированного диабета с никотинамидом у крыс ралейкин обнаружил противодиабетические свойства, а именно, вызывал гипогликемическое действие, тормозил развитие гиперинсулинемии и снижал признаки инсулинорезистентности. По гипогликемическому действию и влиянию на индекс инсулинорезистентности НОМА-ІR ралейкин не уступал препаратам сравнения метформину и анакинре, по влиянию на содержание инсулина в сыворотке крови экспериментальных животных ралейкин уступал метформину и достоверно не отличался от анакинры. Полученные результаты исследования свидетельствуют о важной роли ИЛ в развитии СД II типа и делают ралейкин перспективным препаратом для дальнейшего доклинического и клинического изучения с целью включения в комплексную терапию СД.

*Ключевые слова: стрептозотоциновый диабет, никотинамид, гипогликемическое действие, ралейкин*

**I. P. Bukhtiyarova, K. G. Shchokina, S. M. Drogvoz, A. M. Ishenko**  
**Pharmacological study of hypoglycemic properties of recombinant**  
**interleukin-1 receptor antagonist**

According to modern concepts of the diabetes mellitus (DM) pathogenesis type II pro-inflammatory cytokines, namely interleukin-1 (IL-1), play one of the leading roles in the development of the disease. The article presents the results of the experimental study of original recombinant antagonist IL-1 receptor raleukin hypoglycemic properties on the model of DM II type. It is determined that raleukin possesses antidiabetic properties on the model of streptozotocin-induced diabetes with nicotinamide in rats, namely, showed hypoglycemic effect, inhibited the development of hyperinsulinemia and reduced signs of insulin resistance. According to the hypoglycemic effect and influence on insulin resistance index HOMA-IR raleukin was not inferior to the reference drugs metformin and anakinra, raleukin was inferior to metformin and did not differ significantly from anakinra according to influence on the insulin level in the blood serum of experimental animals. The results obtained confirm the important role of IL in the development of DM type II and make raleukin the promising drug for further preclinical and clinical study with aim to be included in the complex DM therapy.

*Key words: streptozotocin diabetes, nicotinamide, hypoglycemic effect, raleukin*

---

*Надійшла: 27.02.2015 р.*

**Контактна особа:** Щокіна Катерина Геннадіївна, доктор фармацевтичних наук, професор, кафедра фармакології, Національний фармацевтичний університет, буд. 12, вул. Мельникова, м. Харків. Тел.: + 38 057 706 30 69. Електронна пошта: асуа@ukr.net