

УДК 615.252.349.7:616.349-008.64

І. П. БУХТІЯРОВА, С. М. ДРОГОВОЗ, Е. Л. ТОРЯНИК

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

ОЦІНКА ВПЛИВУ АНТАГОНІСТУ РЕЦЕПТОРІВ ІНТЕРЛЕЙКІНУ-1 НА ПЕРЕБІГ СТРЕПТОЗОЦИНОВОГО ДІАБЕТУ У ЩУРІВ

У структурі ендокринних захворювань ЦД посідає друге місце після патології щитоподібної залози. Тому оптимізація терапії ЦД є однією з актуальних медичних та соціальних проблем сучасності. Відомо, що застосування існуючих цукрознижувальних препаратів може супроводжуватися значною кількістю ускладнень, що особливо небезпечно за умов довготривалої терапії. За даними сучасних досліджень, важливу роль у патогенезі ЦД обох типів відіграють прозапальні цитокіни, а саме, інтерлейкін-1 (ІЛ-1).

У статті наведено результати експериментального вивчення гіпоглікемічних властивостей антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну, який був отриман у Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП, на моделі високодозового стрептозоцинового діабету в щурів.

Визначено, в умовах абсолютної інсулінової недостатності антагоніст рецепторів інтерлейкіну-1 ралейкін в дозі 7 мг/кг чинить гіпоглікемічну дію, за якою переважає дію референс-препарату метформіну. Умовно-ефективна доза ралейкіну за гіпоглікемічною активністю 7 мг/кг може бути використана в подальших дослідженнях його гіпоглікемічних властивостей. Ралейкін є перспективним препаратом для застосування в комплексній терапії ЦД I типу як альтернатива метформіну або в комплексі з інсуліном, оскільки це дозволить одночасно впливати на декілька патогенетичних ланок ЦД.

Ключові слова: високодозовий стрептозоциновий діабет, гіпоглікемічна дія, ралейкін.

ВСТУП

У структурі ендокринних захворювань цукровий діабет (ЦД) посідає друге місце після патології щитоподібної залози. За даними Міжнародної федерації діабету в 2011 році кількість хворих на ЦД у світі досягла 366 млн, а в 2030 році становитиме 552 млн [2]. Поширеність ЦД у популяції, у середньому, становить 1-8,6 %. У 2011 році ЦД став причиною 4,6 млн смертей. У 2012 році в Україні зареєстровано понад 1 млн хворих на ЦД (близько 2 % від усього населення країни), з них 10-15 % припадає на ЦД I типу [10]. Таким чином, на теперішній час одна людина з десяти у світі страждає на явну чи приховану форму ЦД. Тому оптимізація терапії ЦД є однією з актуальних медичних та соціальних проблем сучасності.

Найбільш ефективним методом терапії ЦД I типу є постійні підшкірні ін'єкції інсуліну протягом усього життя. Існує досить багато сучасних препаратів інсуліну (людські та тваринні, напівсинтетичні та біосинтетичні) [1].

Але відомо, що застосування інсулінотерапії може супроводжуватися значною кількістю ускладнень, що особливо небезпечно за умов довготривалої терапії. До основних побічних реакцій належать гіпоглікемічні стани, інсулінові ліподистрофії, алергічні реакції, інсулінові набряки, ожиріння, інсулінорезистентність, хронічне передозування інсуліну (синдром Сомоджі), гіперемія, свербіж у місці ін'єкції тощо [6]. В комплексній терапії ЦД I типу також використовують пероральні гіпоглікемічні засоби, наприклад, метформін [3].

За даними сучасних досліджень, важливу роль у патогенезі ЦД обох типів відіграють прозапальні цитокіни, а саме, інтерлейкін-1 (ІЛ-1). Відомо, що ІЛ-1 пригнічує стимульовану глюкозою секрецію інсуліну та порушує нормальну структуру острівців Лангергансу, що призводить до зниження виживаності β -клітин та індукує їх апоптоз. Вищезазначене пов'язане з тим, що саме β -клітини мають найбільшу щільність рецепторів ІЛ-1. Тому препарати, які здатні гальмувати синтез та активність ІЛ-1, підвищувати виживаність та нормалізувати функціональну

© Бухтіярова І. П., Дрогозов С. М., Торяник Е. Л., 2013

активність β-клітин підшлункової залози є перспективними антидіабетичними засобами [8, 9]. У переліку антидіабетичних засобів, що входять до формулярної системи України, препарати з даним механізмом дії відсутні.

Метою даного дослідження є визначення гіпоглікемічних властивостей антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну, який було отримано у Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП, на моделі високодозового стрептозоцинового діабету у щурів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Вивчення гіпоглікемічної дії ралейкіну проводили у співставленні з препаратами порівняння інсуліном (фармасулін Н виробництва ВАТ «Фармак», р-н д/і 100 ОД/мл) та метформіном (діаформін виробництва ВАТ «Фармак», табл. 0,5 г) на білих щурах самцях на моделі стрептозоцинового діабету, яку відтворювали шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введенням стрептозоцину («Sigma», США) в дозі 70 мг/кг. Дану модель було обрано за умов доброї відтворюваності та інформативності [5].

Лабораторних тварин розподілили на групи відповідно до препарату, що вони одержували: перша група (6 щурів) інтактного контролю, друга група (7 тварин) контрольної патології; третя, четверта та п'ята групи (по 6 щурів у кожній) на тлі модельного діабету отримували підшкірно ралейкін у дозі 3; 7 та 10 мг/кг відповідно, шостій групі (6 тварин) вводили підшкірно інсулін, – 0,5 ОД/кг [7], сьома група (6 тварин) – отримували внутрішньошлунково метформін у дозі 30 мг/кг [11].

Дози ралейкіну було обрано за даними попередніх досліджень [12]. Досліджувані препарати вводили в лікувальному режимі через 48 годин після відтворення модельної патології протягом 3 діб 1 раз на добу.

В якості показників гіпоглікемічної дії обрано зниження глікемії в динаміці та площі під глікемічною кривою (ПГК). Ці показники є основними та найбільш інформативними показниками гіпоглікемічної дії [5, 11].

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 ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження наведені в таблиці.

Аналіз наведених у таблиці результатів досліду свідчить, що введення стрептозоцину призвело до розвитку абсолютної інсулінової недостатності у тварин внаслідок його прямого токсичного впливу на панкреатичні β-клітини [5]. Тобто під впливом стрептозоцину у щурів розвивається гострий некроз β-клітин та зниження секреції інсуліну. Це підтверджує виразна гіперглікемія, яка спостерігалась через 48 годин у всіх групах експериментальних тварин (табл.). У тварин групи контрольної патології рівень базальної гіперглікемії протягом наступних трьох

Таблиця 1

ГІПОГЛІКЕМІЧНА АКТИВНІСТЬ РАЛЕЙКІНУ В УМОВАХ ВИСОКОДОЗОВОГО СТРЕПТОЗОЦИНОВОГО ДІАБЕТУ У ЩУРІВ

Група тварин	Доза мг/кг	Вихідний рівень, ммоль/л	Динаміка базальної глікемії після введення препарату в різні строки, ммоль/л			ПГК ммоль/л·хв
			1 доба	2 доби	3 доби	
Інтактний контроль (n=6)	—	3,6 ± 0,3	4,1 ± 0,2	3,5 ± 0,5	3,4 ± 0,4	626,4 ± 58,1
Контрольна патологія (n=7)	—	15,2 ± 0,7*	15,4 ± 0,4*	16,1 ± 0,6*	15,9 ± 0,7*	1241,7 ± 71,3*
Ралейкін	3 (n=6)	15,6 ± 0,3*	15,0 ± 0,5*#	13,9 ± 0,4*/*#	12,1 ± 0,3*/*#	1167,6 ± 70,2*#
	7 (n=6)	15,4 ± 0,5*	11,9 ± 0,6*/*#	9,8 ± 0,7*/*#&	7,9 ± 0,6*/*#	825,8 ± 63,0*/*#&
	10 (n=6)	16,2 ± 0,6*	12,2 ± 0,7*/*#	11,7 ± 0,6*/*#	8,5 ± 0,9*/*#&	1078,4 ± 52,5*/*#&
Інсулін (n=6)	0,5 ОД/кг	16,0 ± 0,4*	8,1 ± 0,9*/*#&	5,6 ± 0,5*/*#&	4,1 ± 0,3**&	697,3 ± 45,8**&
Метформін (n=6)	30	14,9 ± 0,9*	13,7 ± 1,1*#	12,8 ± 0,8*/*#	10,1 ± 0,5*/*#	1112,5 ± 58,1*#

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

діб не знижувався, що свідчить про відсутність спонтанної ремісії за умов використаної моделі діабету.

Одноразове введення ралейкіну в дозі 3 мг/кг не викликало достовірного зниження глікемії, але на другу та третю добу під впливом препарату спостерігалось достовірне зниження глікемії в 1,2 та 1,3 разу порівняно з аналогічним показником групи контрольної патології. Достовірного зменшення ПГК у даній групі щурів не спостерігалось.

Застосування ралейкіну в дозах 7 та 10 мг/кг сприяло достовірному зниженню глікемії на першу добу – в середньому в 1,3 разу, на другу – в 1,6 та 1,4 разу відповідно, на третю – в 2 та 1,8 разу відповідно, та достовірному зменшенню ПГК у 1,5 та 1,2 разу відповідно, але не викликало зниження рівня глікемії до показників інтактних тварин. За нормоглікемічною дією (впливом на базальну глікемію та ПГК) досліджуваний препарат в усіх дозах поступався референс-препарату інсуліну, але ралейкін у дозі 7 мг/кг на другу та третю добу застосування та за впливом на ПГК достовірно перевищував гіпоглікемічну дію метформіну.

На тлі одноразового введення інсуліну базальна глікемія достовірно знизилась вдвічі порівняно з вихідним рівнем, але при цьому достовірно відрізнялась від показника групи контрольної патології. Після другого введення інсуліну рівень базальної глікемії був в 2,9 разу нижчий за вихідний рівень, але при цьому був у 1,6 разу вищий за аналогічний показник групи інтактного контролю. На третю добу застосування рівень базальної глікемії достовірно не відрізнявся від показника групи інтактного контролю, тобто нормоглікемічна дія препарату досягала практично 100 %. За гіпоглікемічною активністю наприкінці дослідження інсулін у 2,5 разу перевищував метформін.

За впливом на ПГК інсулін був у 1,6 разу перевищував метформін та достовірно не відрізнявся від аналогічного показника групи інтактного контролю.

Метформін після першого введення не викликав достовірного зниження глікемії та в 1,7 разу поступався за нормоглікемічною дією інсуліну, в 1,2 разу – ралейкіну в дозі 7 мг/кг. Після другого введення метформін спричинив достовірну гіпоглікемічну дію, але при цьому в 2,3 разу поступався інсуліну, в 1,3 разу – ралейкіну в дозі 7 мг/кг. На тлі третього введення препарату базальна глікемія знизилась в 1,5 разу порівняно з вихідним рівнем, але при цьому достовірно відрізнялась як від показника групи інтактного контролю (в 2,9 разу), так і від показника групи

інсуліну (в 2,5 разу) та від відповідного показника групи ралейкіну в дозі 7 мг/кг (в 1,3 разу).

За впливом на ПГК метформін теж достовірно поступався інсуліну (в 1,6 разу) та ралейкіну в дозі 7 мг/кг (в 1,3 разу). ПГК під дією метформіну достовірно не відрізнялась від показника групи контрольної патології.

Таким чином, на моделі високодозового стрептозоцинового діабету у щурів за нормоглікемічною дією досліджувані препарати можна розташувати наступним чином: інсулін > ралейкін, 7 мг/кг \geq ралейкін, 10 мг/кг > метформін \geq ралейкін, 3 мг/кг. Найвиразнішу гіпоглікемічну дію, за якою він перевершував метформін, хоча і поступався дії інсуліну, виявив ралейкін в дозі 7 мг/кг.

Як відомо, ЦД є поліетіологічним захворюванням [3]. Тому в терапії ЦД доцільно використовувати комплекс препаратів, що дозволить впливати на різні патогенетичні ланки хвороби. За механізмом дії ралейкін відрізняється від інсуліну та метформіну. Гіпоглікемічні властивості ралейкіну, певною мірою, можна пояснити здатністю препарату пригнічувати активність рецепторів ІІ-1, гальмувати активність ІІ-1 та за рахунок цього підвищувати виживаність та нормалізувати функціональну активність β -клітин підшлункової залози [8, 9].

ВИСНОВКИ

Таким чином, в умовах абсолютної інсулінової недостатності антагоніст рецепторів інтерлейкіну-1 ралейкін в дозі 7 мг/кг чинить гіпоглікемічну дію, за якою переважає дію референс-препарату метформіну. Умовно-ефективна доза ралейкіну за гіпоглікемічною активністю 7 мг/кг може бути використана в подальших дослідженнях його гіпоглікемічних властивостей. Ралейкін є перспективним препаратом для застосування в комплексній терапії ЦД I типу як альтернатива метформіну, або в комплексі з інсуліном, оскільки це дозволить одночасно впливати на декілька патогенетичних ланок ЦД.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Аметов А. С. Современный взгляд на инсулинотерапию у больных сахарным диабетом / А. С. Аметов, Е. В. Карпова // Фарматека : медицинский журнал. Руководства и рекомендации для семейных и терапевтов. – 2009. – № 17. – С. 73-78.
2. Анциферов М. Б. Постоянная подкожная инфузия инсулина: эффективный метод контроля сахарного диабета типа 1 / М. Б. Анциферов, О. М. Котешкова, С. А. Клейменова

- // Фарматека : медицинский журнал. Руководства и рекомендации для семейных и терапевтов. – 2010. – № 16. – С. 38-45.
3. Волчегорский И. А. Инсулинпотенцирующее действие антиоксидантов при экспериментальном сахарном диабете / И. А. Волчегорский, Л. М. Рассохина, И. Ю. Мирошниченко // Проблемы эндокринологии : Двухмесячный научно-практический журнал. – 2010. – Т. 56, № 2. – С. 27-35.
 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. член–кор. АМН України О. В. Стефанова. – К. : Авіценна, 2001. – 528 с.
 6. Компендіум 2007 – лікарські препарати / За ред. В. М. Коваленка, О. П. Вікторова. – К. : МОРІОН, 2007. – Т. 2. – С. С-186–С-187.
 7. Николаев С. Л. Исследование метаболизма инсулина в эритроцитах крыс в норме и при экспериментальном диабете : Дис. канд. биол. наук : 03.00.04 – биохимия, Санкт-Петербург, 2000. – 181 с.
 8. Никонова Т. В. Перспективы антигенспецифической иммунотерапии при сахарном диабете 1 типа / Т. В. Никонова, Ю. В. Алексеева // Сахарный диабет. – 2012. – № 4. – С. 28-32.
 9. Симбирцев А. С. Медицинские препараты на основе белков семейства интерлейкина-1 / А. С. Симбирцев // В кн. : Справочник по иммунотерапии для практического врача. – СПб : Изд-во «Диалог», 2002. – С. 152-165.
 10. Смирнова О. М. Перспективы лечения и профилактики сахарного диабета I типа // Сахарный диабет. – 2000. – № 2. – С. 13-16.
 11. Шумейко О. Г. Экспериментальне 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 рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 (експериментальне дослідження) : Дис. докт. фарм. наук : 14.03.05 – фармакологія, Х., 2011. – 440 с.

УДК 615.252.349.7:616.349-008.64

И. П. Бухтиярова, С.М. Дроговоз, Э.Л. Торяник

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ АНТАГОНИСТА РЕЦЕПТОРОВ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 НА РАЗВИТИЕ СТРЕПТОЗОЦИНОВОГО ДИАБЕТА У КРЫС

В структуре эндокринных заболеваний сахарный диабет (СД) занимает второе место после патологии щитовидной железы. Поэтому оптимизация терапии СД является одной из актуальных медицинских и социальных проблем современности. Известно, что применение существующих саракоснижающих препаратов может сопровождаться значительным количеством осложнений, что особенно опасно в условиях длительной терапии. По данным современных исследований, важную роль в патогенезе СД обоих типов играют провоспалительные цитокины, а именно, интерлейкин-1 (ИЛ-1).

В статье приведены результаты экспериментального изучения гипогликемических свойств антагониста рецепторов ИЛ-1 ралейкина, полученного в Санкт-Петербургском НИИ ОЧБП, на модели высокодозового стрептозоцинового диабета у крыс.

Доказано, что в условиях абсолютной инсулиновой недостаточности антагонист рецепторов интерлейкина-1 ралейкин в дозе 7 мг/кг проявляет гипогликемическое действие, по которому превосходит действие референс-препарата метформина. Условно-эффективная доза ралейкина по гипогликемической активности 7 мг/кг может быть использована в дальнейших исследованиях его гипогликемических свойств. Ралейкин является перспективным препаратом для использования в комплексной терапии СД I типа как альтернатива метформину, или в комплексе с инсулином, что позволит одновременно влиять на несколько патогенетических звеньев СД.

Ключевые слова: высокодозовый стрептозоциновый диабет, гипогликемическое действие, ралейкин.

UDK 615.252.349.7:616.349-008.64

I. P. Buhtiyarova, S. M. Drogovoz, E. L. Toryanic

ASSESSMENT OF THE IMPACT OF A RECEPTOR ANTAGONIST INTERLEUKIN-1 ON THE DEVELOPMENT OF STREPTOZOCIN DIABETES IN RATS

In the structure of endocrine diseases diabetes mellitus (DM) is second only to thyroid cancer. Therefore, optimization of diabetes therapy is one of the most pressing health and social issues of our time. It is known that the use of existing sarahosni capable of damaging drugs may be accompanied by a significant number of complications, it is especially dangerous in conditions of prolonged therapy. According to modern research, an important role in the pathogenesis of diabetes both types play an inflammatory cytokines, namely interleukin-1 (IL-1).

The paper presents the results of an experimental study of hypoglycemic properties of receptor antagonist IL-1 raleukin obtained in St. Peterburgkom Institute VCBP, on the model of high-dose streptozocin diabetes in rats.

Is shown in absolute insulin deficiency receptor antagonist interleukin-1 raleukin at 7 mg/kg exhibits hypoglycemic action by which exceeds that of the reference drug metformin. Conditional upon the effective dose of raleukin hypoglycemic activity 7 mg/kg may be used in further studies of its hypoglycemic properties. Raleukin is a promising drug for use in the treatment of type I diabetes metformin as an alternative or in combination with insulin, which will simultaneously affect several pathogenetic mechanisms diabetes.

Key words: high-dose streptozocin diabetes, hypoglycemic effect, raleukin.

Адреса для листування:
61002, м.Харків, вул. Мельникова, 12
Кафедра фармакології НФаУ
Тел. (057) 706-30-69

Надійшла до редакції:
13.09.2013