

УДК 615.252.349.7:616.349-008.64

І. П. БУХТІЯРОВА

*Донецький національний медичний університет ім. М. Горького*

## ВИВЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ РАЛЕЙКІНУ НА МОДЕЛІ ДИТИЗОНОВОГО ДІАБЕТУ У КРОЛІВ

*Сучасна терапія цукрового діабету (ЦД) базується на вивченні ряду патофізіологічних механізмів розвитку хвороби. В останні роки існує гіпотеза, згідно з якою універсальним механізмом, причетним до основних біохімічних порушень, індукованих гіперглікемією, є оксидативний стрес, який поєднує інсулінорезистентність із дисфункцією панкреатичних β-клітин, що обґрунтовує доцільність застосування антиоксидантів у комплексній терапії ЦД.*

*Враховуючи наявність у рекомбінантного антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну визначеної у попередніх дослідженнях гіпоглікемічної дії, цікаво було вивчити його антиоксидантні властивості.*

*У статті наведені результати експериментального вивчення впливу антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну на вміст первинних та вторинних продуктів ПОЛ та активність антиоксидантної системи захисту на моделі дитизонового діабету у кролів. Визначено, що ралейкін виявив виразний антиоксидантний ефект, знижуючи концентрацію первинних та вторинних продуктів ПОЛ, збільшуючи активність антиоксидантної системи тварин з абсолютною інсуліновою недостатністю. За нормалізувальним впливом на вищезазначені показники ралейкін не поступається референс-препарату анакінра та перевищує метформін. Поєднання антиоксидантних властивостей ралейкіну з позитивним впливом препарату на початкові реакції неферментативного глікозилювання та глюкозний обмін свідчить про перспективність його застосування в комплексній терапії ЦД 1 типу.*

*Ключові слова:* дитизоновий діабет; первинні продукти ПОЛ; антиоксидантна дія; ралейкін

### ВСТУП

Сучасна терапія цукрового діабету (ЦД) базується на вивченні ряду патофізіологічних механізмів розвитку хвороби. В останні роки існує гіпотеза, згідно з якою універсальним механізмом, причетним до основних біохімічних порушень, індукованих гіперглікемією, є оксидативний стрес – стан дисбалансу між продукцією та утилізацією вільних радикалів [8]. Оксидативний стрес є універсальним механізмом, який при ЦД об'єднує різні біохімічні процеси, що були індуковані гіперглікемією.

Таким чином, оксидативний стрес при ЦД поєднує інсулінорезистентність із дисфункцією панкреатичних β-клітин, що обґрунтовує доцільність застосування антиоксидантів у комплексній терапії ЦД. На особливу увагу заслуговують антидіабетичні препарати, яким поряд з гіпоглікемічним притаманний антиоксидантний ефект, а також які володіють здатністю зберігати або поліпшувати секреторну функцію β-клітин [10].

За даними сучасних досліджень важливу роль у патогенезі ЦД обох типів відіграють прозапальні цитокіни, а саме, інтерлейкін-1 (ІЛ-1) [9, 12].

З врахуванням наявності у рекомбінантного антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну визначеної у попередніх дослідженнях гіпоглікемічної дії інтерес становило вивчення його антиоксидантних властивостей.

Метою даної роботи є експериментальне вивчення впливу антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну, отриманого у Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП, на вміст первинних і вторинних продуктів ПОЛ та активність антиоксидантної системи захисту на моделі дитизонового діабету у кролів.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дитизоновий діабет викликали за допомогою одноразового внутрішньовенного введення розчину дитизону в дозі 35 мг/кг маси тіла самцям кролів породи Шиншила вагою 2,8-3,4 кг, які попередньо голодували протягом 16-18 годин [3].

В якості референс-препаратів було обрано метформін (діаформін виробництва ВАТ «Фармак», табл. 0,5 г) та анакінра (кінерет виробництва «Swedish Orphan Biovitrum» (Швеція), пор. р/і 100 мг). Вибір препаратів порівняння зумовлений тим, що метформін є еталонним гіпоглікемічним препаратом, який вхо-

© Бухтіярова І. П., 2013

**ВПЛИВ РАЛЕЙКІНУ НА ВМІСТ ПЕРВИННИХ ПРОДУКТІВ ПОЛ У СИРОВАТЦІ КРОВІ КРОЛІВ З ДИТИЗОНИМ ДІАБЕТОМ, (n=5)**

Група тварин	Дієнові кон'югати, ммоль/л	Триєнові кон'югати, ммоль/л	Тетраєнові кон'югати, ммоль/л	Оксидієнові кон'югати, ммоль/л
Інтактний контроль	0,23±0,02	0,36±0,05	0,42±0,03	0,27±0,01
Контрольна патологія	1,37±0,13*	0,76±0,08*	0,88±0,06*	1,12±0,14*
Ралейкін, 7 мг/кг	0,31±0,09**#	0,47±0,07**	0,48±0,05**	0,34±0,06***#
Метформін, 30 мг/кг	1,12±0,07*	0,54±0,03**/**	0,49±0,04**	0,81±0,10*
Анакінра, 8 мг/кг	0,38±0,04*/**#	0,52±0,06**	0,44±0,05**	0,32±0,03***#

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

дить до стандартів лікування ЦД обох типів [8], а анакінра – рекомбінантний антагоніст рецепторів ІЛ-1 з доведеною гіпоглікемічною та антиоксидантною активністю, який є аналогом досліджуваного препарату [13].

Дані препарати вводили в лікувальному режимі: ралейкін в дозі 7 мг/кг та анакінра в дозі 8 мг/кг підшкірно [7], метформін у дозі 30 мг/кг – внутрішньошлунково [5, 6] одноразово протягом 30 днів.

На 31 добу брали кров на аналіз. У сироватці крові визначали вміст первинних продуктів ПОЛ, а саме, дієнових, триєнових, тетраєнових та оксидієнових кон'югатів (метод Плацер З. та ін.), вміст відновленого глутатіону (ВГ) (Beutler E. et al.) та ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) (Стальна І. Д., Гаришвілі Г. Т.), а також активність каталази (Королюк М.А. та ін.) [4].

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

**РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ**

Результати дослідження наведені в табл. 1-2.

Обрана експериментальна модель являє собою абсолютну інсулінову недостатність прямого β-цитотоксичного генезу: дитизон (8-гідроксибензопіридин) здатен утворювати хелатні комплекси з цинком та індукувати інсулін-залежний ЦД. Незважаючи на те, що зв'язок між ЦД та метаболічними порушеннями цинку спостерігається як у людини, так і в експериментальних тварин, його роль у патогенезі інсулін-

незалежного ЦД залишається ще не до кінця з'ясованою [2].

Вже на другу добу після ін'єкції дитизону у тварин спостерігалось різке підвищення базальної гіперглікемії, яке продовжувалось протягом наступних 5 діб і залишалось на досягнутому високому рівні тривалий час. Базальна гіперглікемія також супроводжувалась значним зниженням концентрації інсуліну в сироватці крові. Слід відзначити, що в даному випадку відтворювався тільки абсолютний дефіцит інсуліну без включення аутоімунних компонентів, що характерно для ЦД 1 типу у людини [10, 11].

Як видно з табл. 1, збільшена концентрація первинних продуктів ПОЛ – дієнових, тетраєнових та оксидієнових кон'югатів у сироватці крові тварин групи контрольної патології порівняно з групою інтактного контролю свідчить про інтенсифікацію ПОЛ.

Слід зазначити також, що підвищення концентрації тетраєнових кон'югатів, окрім індукції ПОЛ, може бути також результатом активації ліпооксигеназного шляху синтезу ейкозаноїдів, які впливають на проникність судинної стінки і змінюють в'язкість та агрегаційні властивості крові [2].

Крім того, в сироватці крові кролів групи контрольної патології спостерігалось підвищення вмісту ТБК-АП, зниження концентрації ВГ та активності каталази (табл. 2), що підтверджує послаблення антиоксидантної системи захисту за умов дитизонового діабету.

Доведено, що застосування ралейкіну та анакінра впродовж місяця, на відміну від метформіну, сприяло нормалізації рівня первинних продуктів ПОЛ у си-

**ВПЛИВ РАЛЕЙКІНУ НА АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ТА ПОКАЗНИКИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ КРОЛІВ ІЗ ДИТИЗОНИМ ДІАБЕТОМ, (n=5)**

Група тварин	ТБК-АП, ммоль/л	Каталаза, мккат/л	ВГ, ммоль/л
Інтактний контроль	76,42±5,33	1,47±0,11	0,71±0,04
Контрольна патологія	124,58±6,29*	0,86±0,06*	0,32±0,05*
Ралейкін, 7 мг/кг	88,83±5,71**#	1,22±0,07**#	0,57±0,07**
Метформін, 30 мг/кг	118,34±8,67*	1,04±0,09*	0,49±0,06*
Анакінра, 8 мг/кг	90,75±7,58**#	1,11±0,08**/**#	0,52±0,08

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

роватці крові експериментальних тварин. На тлі ралейкіну вміст дієнових кон'югатів у сироватці крові кролів знизився в 4,4 рази, вміст триєнових кон'югатів знизився в 1,6 рази, вміст тетраєнових кон'югатів – в 1,8 рази, оксидієнових кон'югатів – в 3,3 рази порівняно з відповідними показниками групи контрольної патології. Всі вищезазначені показники первинних продуктів ПОЛ достовірно не відрізнялись від відповідних показників тварин групи інтактного контролю.

Під впливом анакінра вміст дієнових кон'югатів у сироватці крові кролів знизився в 3,6 рази, вміст триєнових кон'югатів – в 1,5 рази, вміст тетраєнових кон'югатів – у 2 рази, оксидієнових кон'югатів – у 3,5 рази порівняно з відповідними показниками групи контрольної патології. Всі вищезазначені показники первинних продуктів ПОЛ, крім вмісту дієнових кон'югатів, достовірно не відрізнялись від відповідних показників тварин групи інтактного контролю.

Застосування метформіну також сприяло нормалізації рівня первинних продуктів ПОЛ і достовірно знизило лише вміст триєнових та тетраєнових кон'югатів у сироватці крові експериментальних тварин – в 1,4 рази та в 1,8 рази порівняно з відповідними показниками групи контрольної патології. Інші зміни не були достовірними.

Тобто, за впливом на вміст первинних продуктів ПОЛ ралейкін та анакінра переважають метформін. Достовірних відмінностей в антиоксидантній дії ралейкіну та анакінра не зафіксовано. Гальмування інтенсивності ПОЛ під впливом ралейкіну та анакінра, ймовірно, є результатом активації антиоксидантної системи.

Підтвердженням антиоксидантних властивостей рекомбінантних антагоністів рецепторів ІІ-1 є достовірне підвищення вмісту ТБК-АП в 1,6 рази, зниження рівня ВГ в 2,2 рази та активності каталази в 1,7 рази в крові тварин групи контрольної патології порівняно з показниками тварин групи інтактного контролю (табл. 2). Ці дані підтверджують важливу роль оксидативного стресу в розвитку ЦД 1 типу. Каталаза та ВГ проявляють протекторний ефект відносно вільних радикалів, що накопичуються поблизу β-клітин під час інсульту. При важких формах ЦД спостерігається незворотне глікозування антиоксидантних ферментів, таких як каталаза, з втратою її властивостей і наступною інактивацією, що також спричиняє збільшення ВРО-уражень [1].

На тлі ралейкіну рівень ТБК-АП у сироватці крові кролів достовірно знизився в 1,4 рази, вміст ВГ зріс в 1,8 рази, активність каталази збільшилась в 1,4 рази порівняно з відповідними показниками в крові тварин групи контрольної патології. Всі показники достовірно не відрізнялись від відповідних показників групи інтактного контролю.

Під дією анакінра рівень ТБК-АП у сироватці крові кролів достовірно знизився в 1,4 рази, вміст ВГ зріс

в 1,6 рази, активність каталази збільшилась в 1,4 рази порівняно з відповідними показниками в крові тварин групи контрольної патології, але зміни вмісту ВГ не були достовірними.

Під впливом метформіну жоден з показників (вміст ТБК-АП, ВГ, активність каталази) достовірно не відрізнявся від показників тварин групи контрольної патології.

Тобто, за нормалізувальним впливом на вторинні продукти ПОЛ вміст ВГ та активність каталази ралейкін та анакінра достовірно переважають метформін. Достовірні відмінності у дії ралейкіну та анакінра не спостерігалися.

Отримані результати підтверджують наявність взаємозв'язку між розвитком оксидативного стресу, який характеризується підвищенням рівня вільнорадикального окиснення ліпідів, білків, ДНК і зниженням антиоксидантного захисту. Незважаючи на різні причини загибелі β-клітин за умов ЦД обох типів, детермінуючим чинником, що призводить до прогресуючого зниження маси інсулінопродукуючих клітин і далі до абсолютної інсулінової недостатності, є зростання генерації активних форм кисню, яка викликає активацію апоптозу [5]. Імовірно, антидіабетична дія ралейкіну проявляється у тому числі й за рахунок його антиоксидантних властивостей.

## ВИСНОВКИ

Таким чином, в умовах дитизонового діабету у кролів ралейкін виявив виразний антиоксидантний ефект і як наслідок знижені концентрації первинних та вторинних продуктів ПОЛ, збільшення активності антиоксидантної системи тварин з абсолютною інсуліновою недостатністю. За нормалізувальним впливом на вищезазначені показники ралейкін не поступається референс-препарату анакінра та перевищує метформін. Поєднання антиоксидантних властивостей ралейкіну з позитивним впливом препарату на початкові реакції неферментативного глікозилювання та глюкозний обмін свідчить про перспективність його застосування в комплексній терапії ЦД 1 типу.

## ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Брюханов А. Л., Нетрусов А. И. Каталаза и супероксиддисмутаза: распространение, свойства и физиологическая роль в клетках строгих анаэробов // Биохимия. – 2004. – Т. 69, вып. 9. – С. 1170-1186.
2. Горбенко Н. І., Полторак В. В., Гладких О. І. та ін. Протективний ефект фенсукцинала щодо розвитку дитизонового діабету у кролів / [Н. І. Горбенко, В. В. Полторак, О. І. Гладких, О. В. Іванова] // Вісник фармації. – 2000. – Т. 21, № 1. – С. 44-46.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рекоменд. / За ред. чл.-кор. НАМН України О. В. Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.

4. 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.
5. Полторац В. В. Вплив метформіну на розвиток інсулінорезистентності, індукованої дексаметазоном у щурів / [В. В.Полторац, Н. І. Горбенко, О. В. Іванова, М. Ю. Горшунська] // Ендокринолог. – 2000. – Т. 5, № 2. – С. 249-251.
6. 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.
7. Щокіна К. Г. Органотропні ефекти рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 (експериментальне дослідження): Дис. .... докт. фарм. наук: 14.03.05 – фармакологія. – Х., 2011. – 440 с.
8. Baynes J. W. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes / J. W. Baynes // Diabetes. – 1991. – Vol. 40, № 4. – P. 405-412.
9. 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.
10. Cnop M, Welsh N, Jonas J. C. et al. Mechanisms of pancreatic  $\beta$ -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.
11. Faure P., Roussel A., Coundray C. et al. Zinc and insulin sensitivity / P. Faure, A. Roussel, C. Coundray [et al.] // Biol. Trace Elements Res. – 1992. – Vol. 32, № 3. – P. 305-310.
12. Mandrup-Poulsen T. 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.
13. Van Asseldonk E. J. P. Treatment with Anakinra Improves Disposition Inde But Not Insulin Sensitivity in Nondiabetic Subjects with the Metabolic Syndrome: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study / E. J. P. van Asseldonk, R. Stienstra, T. B. Koenen [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2011. – Vol. 96, № 7. – P. 2119-2126.

УДК 615.252.349.7:616.349-008.64

И. П. Бухтиярова

## ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ РАЛЕЙКИНА НА МОДЕЛИ ДИТИЗОНОВОГО ДИАБЕТА У КРОЛЕЙ

Современная терапия сахарного диабета (СД) базируется на изучении ряда патофизиологических механизмов развития болезни. В последние годы существует гипотеза, согласно которой универсальным механизмом, причастным к основным биохимическим нарушениям, индуцированным гипергликемией, является оксидативный стресс, который объединяет инсулинорезистентность с дисфункцией панкреатических  $\beta$ -клеток, что обосновывает целесообразность применения антиоксидантов в комплексной терапии СД.

Учитывая наличие у рекомбинантного антагониста рецепторов ИЛ-1 ралейкина, определенно в предыдущих исследованиях гипогликемического действия, представляло интерес изучение его антиоксидантных свойств.

В статье приведены результаты экспериментального изучения влияния антагониста рецепторов ИЛ-1 ралейкина на содержание первичных и вторичных продуктов ПОЛ и активность антиоксидантной системы животных на модели дитизонового диабета у кролей. Определено, что ралейкин обнаружил выраженный антиоксидантный эффект, снижая концентрацию первичных и вторичных продуктов ПОЛ, увеличивая активность антиоксидантной системы животных с абсолютной инсулиновой недостаточностью. По нормализующему воздействию на вышеупомянутые показатели ралейкин не уступает референс-препарату анакинра и превышает метформин. Сочетание антиоксидантных свойств ралейкина с положительным влиянием препарата на начальные реакции неферментативного гликозилирования и глюкозный обмен свидетельствует о перспективности его применения в комплексной терапии СД 1 типа.

**Ключевые слова:** дитизоновый диабет; первичные продукты ПОЛ; антиоксидантное действие; ралейкин

UDC 615.252.349.7:616.349-008.64

I. P. Bukhtiyarova

## STUDY OF ANTIOXIDANT PROPERTIES OF RALEUKIN ON THE MODEL OF DITHIZONE DIABETES RABBITS

Current therapy is based on the study of diabetes a number of pathophysiological mechanisms of the disease. In recent years, there is a hypothesis, according to which universal mechanism involved in the major biochemical abnormalities induced by hyperglycemia, is oxidative stress, which combines the insulin resistance with dysfunction of pancreatic  $\beta$ -cells, and this proves the usefulness of antioxidants in the treatment of diabetes.

Given the presence in the recombinant receptor antagonist IL-1 raleukin defined in previous studies of hypoglycemic action of interest to study its antioxidant properties.

The paper presents the results of an experimental study of the influence of receptor antagonist IL-1 raleukin the maintenance of primary and secondary products of lipid peroxidation and antioxidant activity of animals in the model of dithizone diabetes in rabbits. Determined that raleukin detected lived pronounced antioxidant effect, reducing the concentration of primary and secondary products of lipid peroxidation, increasing the activity of antioxidant system in animals with an absolute insulin deficiency. By normalizing effect on these indicators raleukin not inferior to the reference drug anakinra and more than metformin. The combination of antioxidant properties with positive effect of raleukin on the initial reaction of non-enzymatic glycosylation and glucose metabolism suggests the prospect of its application in the treatment of type 1 diabetes.

**Key words:** dithizone diabetes mellitus; primary products of lipid peroxidation; an antioxidant effect; raleukin

Адреса для листування:

83003, м. Донецьк, пр. Ілліча, 16.

Донецький національний медичний університет  
ім. М. Горького.

E-mail-acya@ukr.net

Надійшла до редакції:

07.10.2013 р.