

УДК 615.252.349.7:616.349-008.64

*І. П. БУХТІЯРОВА¹, канд. фарм. наук, С. М. ДРОГОВОЗ², д-р мед. наук, проф.,
О. М. ІЩЕНКО³, канд. хім. наук., ст. наук. співр.*

¹ *Донецький національний медичний університет ім. М. Горького*

² *Національний фармацевтичний університет, м. Харків*

³ *Науково-дослідний інститут особливо чистих біопрепаратів,
м. Санкт-Петербург, Росія*

ВИВЧЕННЯ ГІПОГЛІКЕМІЧНОЇ ДІЇ РАЛЕЙКІНУ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ І ТИПУ У ЩУРІВ

Ключові слова: цукровий діабет, гіпоглікемічна дія, ралейкін

На сьогодні у світі існує багато хвороб, розповсюдженість яких все більше стає схожою на пандемію. Одним із таких захворювань є цукровий діабет (ЦД), який посідає одне з перших місць в структурі ендокринних захворювань [1]. За даними Міжнародної діабетичної федерації (IDF) у світі вже 372 млн. хворих на ЦД. На кінець 2012 р. хворих на ЦД в Україні налічувалось близько 1 300 тис. осіб.

Незважаючи на різноманітність існуючих лікарських засобів для терапії ЦД, одним з пріоритетних напрямів сучасної ендокринології та фармакології є активний пошук нових мішеней для дії антидіабетичних засобів.

Критичну роль в ініціації загибелі β -клітин відіграють цитокіни [2]. Серед останніх одну з провідних ролей відіграє інтерлейкін-1 (ІЛ-1), який належить до прозапальних цитокінів. Він сприяє зростанню в β -клітинах вмісту оксиду азоту за рахунок підвищення активності індукованої NO-сінтетази, що призводить до ушкодження β -клітин [3, 4].

Для хворих на ЦД І типу підвищення вмісту ІЛ-1 є особливо характерним [2]. Антагоністи рецепторів ІЛ-1 можуть блокувати ці рецептори та захищати β -клітини, але не виявляють при цьому самостійної біологічної активності [5]. Виходячи із зазначеного, розроблення антидіабетичних препаратів, здатних гальмувати активність рецепторів ІЛ-1, є перспективним напрямом фармакотерапії ЦД. Використання таких препаратів зумовить підвищення виживаності β -клітин та нормалізацію їх функцій.

Мета дослідження – визначення на моделі низькодозового стрептозоцинового діабету у щурів гіпоглікемічних властивостей ралейкіну – антагоніста рецепторів ІЛ-1, отриманого рекомбінантним методом у Санкт-Петербурзькому науково-дослідному інституті особливо чистих біопрепаратів.

Матеріали та методи дослідження

Моделювання ЦД І типу у статевозрілих самців-щурів здійснювали внутрішньоочеревинним введенням 40 мг стрептозоточину («Sigma», США) на 1 кг маси тіла упродовж 5 діб згідно з методичними рекомендаціями [6, 7]. Введення виконували після чотиритижневого утримання тварин на високожировому раціоні харчування. Використання цього антибіотика спричинює виникнення патофізіологічних ознак ЦД І типу також і у людини (зростання інсулінової залежності, некроз β -клітин та гіперглікемія) [6, 7].

Як препарат порівняння обрано анакінру (Кінерет, «Swedish Orphan Biovitrum», Швеція) – антагоніст рецепторів ІЛ-1, який вводили в дозі 8 мкг/кг маси тіла тварин підшкірно [8].

Тварини було розподілено на 5 груп: 1 група (7 тварин) – контрольна, 2 група (6 тварин) – тварини з ЦД І типу, 3 група (6 тварин) – тварини, які отримували анакінру на тлі модельованого ЦД І типу та 4 група (7 тварин) – тварини, які отримували ралейкін на тлі модельованого ЦД І типу. Ралейкін тваринам вводили в дозі, яка була визначена в попередніх скринінгових дослідженнях – 7 мкг/кг.

Препарати тваринам вводили в лікувальному режимі, починаючи з 14-ї доби експерименту, тобто після виникнення ЦД [9]. Такий режим введення було обрано, оскільки численні експериментальні дані свідчать про те, що виразність діабетичної глікемії сягає свого піка на 14-ту добу [9].

Як показники гіпоглікемічної дії обрано зниження рівня глікемії в динаміці та ступінь змін площі під глікемічною кривою (ПГК). Вони є основними та найбільш інформативними показниками гіпоглікемічної дії. Вміст глюкози в крові оцінювали глюкозооксидазним методом, використовуючи ферментативний аналізатор глюкози «Ексан-Г» (Литва), ПГК обчислювали за допомогою комп'ютерної програми «Mathlab». Цей показник свідчить про порушення толерантності до вуглеводів та за умов виникнення ЦД значно підвищується.

З метою параметричної оцінки результатів дослідження використовували t критерій Ст'юдента.

Результати дослідження та обговорення

Результати, отримані в ході експерименту, свідчать, що введення стрептозоцину призводить до підвищення рівня глікемії, що узгоджується з іншими експериментальними даними [9]. Вивчення гіпоглікемічної дії досліджуваних препаратів на відтвореній моделі ЦД показало, що вони виявляють цю дію вже за першого введення, на 14-ту добу експерименту (таблиця).

Т а б л и ц я

Вплив ралейкіну та анакінри на динаміку глікемії у щурів за відтворення низькодозового стрептозоцинового діабету

Група тварин	Рівень глікемії у тварин	
	на 14-ту добу, ммоль/л	на 28-му добу, ммоль/л
Контроль	4,6 ± 0,3	4,6 ± 0,2
З цукровим діабетом	12,3 ± 0,8 ¹⁾	9,3 ± 0,4 ¹⁾
З цукровим діабетом, за введення анакінри	9,0 ± 0,4 ¹⁾²⁾	6,1 ± 0,3 ¹⁾²⁾
З цукровим діабетом, за введення ралейкіну	9,0 ± 0,4 ¹⁾²⁾	5,8 ± 0,3 ¹⁾²⁾

П р и м і т к и: ¹⁾ – вірогідна відмінність від групи контролю; ²⁾ – вірогідна відмінність від групи тварин з цукровим діабетом.

Дані таблиці свідчать, що застосування стрептозоцину у низьких дозах упродовж 14 діб з метою відтворення ЦД І типу призвело до суттєвої зміни базального рівня глікемії порівняно з контролем – на 14-ту добу вміст глюкози підвищився на 179,6% та на 28-му добу – на 111,4%.

В групі тварин, яким вводили анакінру, на 14-ту добу експерименту, після введення препарату рівень глікемії перевищував такий в контролі на 100,0%, а на 28-му добу – на 34,1%. Порівняння результатів у групі тварин, які отримували анакінру, з показниками в групі тварин з ЦД виявило таку різницю – на 14-ту добу, після отримання препарату, рівень глікемії виявився меншим на 75,0%, на 28-му добу застосування цього лікарського засобу – меншим на 72,7%.

Ралейкін в умовах відтворення ЦД за допомогою стрептозоцину також показав позитивні результати щодо гіпоглікемічної дії. На 14-ту добу порівняно з контролем рівень глікемії виявився вищим на 100,0% та на 28-му добу – на 27,3%. Порівняння рівня глікемії у тварин, які отримували Ралейкін, з рівнем глікемії у тварин з ЦД свідчить, що досліджуваний показник на 14-ту добу відтворюваної патології, після введення препарату, виявився меншим на 75,0% та на 28-му добу експерименту – на 79,6%.

Порівняння отриманих результатів між групами тварин, які отримували анакінру та ралейкін, виявило, що вірогідна різниця між рівнями глікемії наприкінці експерименту була відсутня. Як видно з табл. 1, на 14-ту добу експерименту вміст глюкози в обох групах був однаковий; на 28-му добу експерименту рівень глікемії у тварин, які отримували ралейкін, виявився невірогідно (тільки на 6,8%) нижчим, ніж у тварин, які отримували анакінру. Таким чином, гіпоглікемічні ефекти ралейкіну та анакінри були однакові як на 14-ту, так на 28-му добу експерименту.

Отримані дані щодо впливу ралейкіну на рівень глікемії в умовах стрептозоцинового ЦД свідчать, що препарат виявляє добру гіпоглікемічну дію.

Іншим показником, вивчення якого є важливим під час діагностики ЦД та спостереження за його компенсацією, є ПГК, який свідчить, наскільки швидко організм шурів засвоює глюкозу і як змінюється рівень цукру в крові [10]. Результати вивчення цього показника наведено на рисунку.

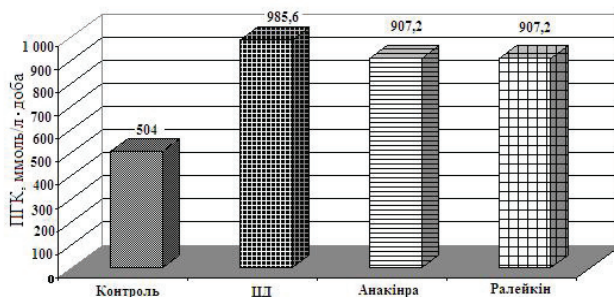


Рис. Ступінь змін ПГК за порівняльного вивчення анакінри та ралейкіну на моделі ЦД I типу

Порівняно з контролем показник ПГК в групі тварин з ЦД виявився більшим на 95,6%, в групі тварин, які отримували анакінру, – на 80,0%, в групі тварин, які отримували ралейкін, – так само.

Порівняння цього показника в групах тварин, які отримували анакінру та ралейкін, з групою тварин з ЦД свідчить, що він виявився меншим на 15,6% в обох групах, тобто різниця між за цим параметром глікемічного стану між групами тварин, які отримували досліджувані препарати, відсутня. Крім того, такий результат свідчить, що завдяки застосуванню як ралейкіну, так й анакінри, утилізація глюкози тваринами покращується, а також підвищується толерантність організму до вуглеводів.

В и с н о в о к

Застосування стрептозоцину у низьких дозах призводить до виникнення ознак ЦД І типу – суттєвого підвищення рівня гіперглікемії та відповідних змін ПГК.

В умовах відтворення даної патології застосування антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну спричинило гіпоглікемічну дію за рахунок блокування патологічної дії цитокіну ІЛ-1. Порівняння результатів, отриманих експериментально під час вивчення ралейкіну та референс-препарату анакінри свідчить, що досліджуваний препарат не поступається препарату порівняння за своєю ефективністю. Це, в свою чергу, свідчить, що ралейкін, одержаний рекомбінантним методом, виявляє властивості антагоніста рецептора ІЛ-1, як і препарат анакінра.

Таким чином, подальші дослідження ралейкіну як антидіабетичного лікарського препарату є дуже актуальними, оскільки жодного препарату – антагоніста рецепторів ІЛ-1 в Україні не зареєстровано.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. Информационный бюллетень ВОЗ. – 2013. – № 312. Режим доступа – <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/ru>
2. Тихонова Т. М. Порівняльна оцінка вмісту цитокінів у хворих на повільнопрогресуючий автоімунний діабет дорослих // Проблеми ендокринної патології. – 2013. – № 1. – С. 27–34.
3. Скибчик В. А., Гутор Я. Г., Войнович М. О. та ін. Прозапальні цитокіни при цукровому діабеті 1-го типу // Експерим. клін. фізіол. біохім. – 2012. – № 1. – С. 57–60.
4. Кравець Е. Б., Сапріна Т. В., Лазаренко Ф. Э. и др. Роль цитокинов в патогенезе аутоімунного діабета, вопросы иммуноинтервенции // Бюлл. сибирской медицины. – 2010. – № 1. – С. 76–83.
5. Супрун Э. В. Коррекция антагонистом рецепторов интерлейкина-1 показателей энергетического метаболизма в головном мозге крыс с экспериментальным ишемическим инсультом // Теор. эксперимент. медицина. – 2010. – № 1. – С. 64–68.
6. Родинський О. Г., Гузь В. А. Механізми формування ураження центральної та периферичної нервової системи за умов експериментального цукрового діабету // Медичні перспективи. – 2009. – Т. XIV, № 3. – С. 4–14.
7. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації / За редакцією О. В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – С. 396–409.
8. Schwarzna A., Hanson M. S., Sperger J. M. Et al. IL-1 β Receptor Blockade Protects Islets Against Pro-inflammatory Cytokine Induced Necrosis and Apoptosis // J. Cell Physiol. Author manuscript. – 2009. – V. 220, N 2. – P. 341–347.
9. Хохла М., Клевета Г., Чайка Я. та ін. Вплив галегі лікарської на апоптоз лейкоцитів щурів за умов експериментального цукрового діабету 1-го типу // Вісн. Львівського ун-ту. Серія біологічна. – 2012. – Вип. 60. – С. 117–125.
10. Ференц І. В., Бродяк І. В., Люта М. Я. та ін. Вплив агматину на показники системи крові щурів за умов експериментального цукрового діабету // Біологічні Студії / Studia Biologica. – 2012. – Т. 6, № 3. – С. 65–72.

Надійшла до редакції 04. 09. 2013.

И. П. Бухтиярова¹, С. М. Дроговоз², А. М. Ищенко³

¹Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького

²Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

*³Научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов,
г. Санкт-Петербург, Россия*

ИЗУЧЕНИЕ ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ РАЛЕЙКИНА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА I ТИПА У КРЫС

Ключевые слова: сахарный диабет, гипогликемическое действие, ралейкин

А Н Н О Т А Ц И Я

Целью статьи было изучение гиполипидемических свойств препарата-антагониста рецепторов интерлейкина-1 – ралейкина. Препарат был получен рекомбинантным методом в Санкт-Петербургском научно-исследовательском институте особо чистых биопрепаратов. Это обусловлено тем, что на фармацевтическом рынке Украины отсутствуют препараты такого класса. Однако механизмы возникновения сахарного диабета свидетельствуют о необходимости разработки таких лекарственных средств.

Исследования проводили на модели сахарного диабета I типа. Модель воспроизводили с помощью низких доз стрептозоцина, поскольку он вызывает возникновение патофизиологических признаков сахарного диабета I типа у человека (рост инсулиновой зависимости, некроз β -клеток и гипергликемия).

Результатом моделирования стало повышение уровня гликемии по сравнению с контролем на 111,4%. Площадь под гликемической кривой в группе животных с сахарным диабетом оказалась больше на 95,6%. Сравнение результатов, полученных в конце эксперимента, между группой животных, получавших анакинру, и группой животных с сахарным диабетом показало, что после введения препарата уровень гликемии оказался меньше на 72,7%. Площадь под гликемической кривой в группе животных, получавших анакинру, была меньше на 15,6%. В ходе эксперимента показано, что при введении исследуемого препарата ралейкина в лечебном режиме опытным крысам на модели сахарного диабета I типа существенно снижается уровень гликемии (79,6%). Величина площади под гликемической кривой, по которой определяется толерантность к углеводам, уменьшилась так же, как и при применении референс-препарата анакинры (15,6%). При сравнении выявленных обоими препаратами эффектов было доказано, что по данным показателям достоверная разница между препаратами отсутствует.

Таким образом, дальнейшие исследования ралейкина в качестве антидиабетического лекарственного препарата являются очень актуальными, поскольку ни одного препарата – антагониста рецепторов интерлейкина-1 в Украине не зарегистрировано.

I. P. Bukhtiyarova¹, S. M. Drogovoz², O. M. Ishchenko³

¹ Donetsk National Medical University of M. Gorky

² National University of Pharmacy, Kharkiv

³ Scientific-Research Institute of Pure Biochemicals, Saint-Petersburg, Russia

STUDY OF HYPOGLYCEMIC EFFECT OF RALEYKIN UNDER EXPERIMENTAL DIABETES OF TYPE I IN RATS

Key words: diabetes, hypoglycemic action, raleykin

ABSTRACT

The aim of this article was the study the lipid-lowering properties of the drug - antagonist receptor interleukin-1 – raleykin. The medication was got by recombinantly way in St. Petersburg Scientific-Research Institute of Pure Biochemicals. This is due to the fact that the pharmaceutical formulations in Ukraine no such class. However, the mechanisms of diabetes mellitus indicate the necessity for such drugs. Investigations were carried out on the model of diabetes mellitus.

The model was reproduced by low-dose streptozotocin, as it causes a pathophysiological signs of type I diabetes in humans (insulin-dependent growth, β -cell necrosis and hyperglycemia).

Simulation result was the increase of blood glucose levels compared with the control – by 111.4%. The area under the curve of glycemia in diabetes group was more than 95.6%. Comparison of the results obtained at the end of the experiment, between the group of animals treated with reference medication – anakinra and diabetic group showed that, after a preparation is less than the level of glucose was 72.7%. The area under the glycemia curve in a group of animals receiving anakinra, was reduced by 15.6%. The experiment had showed that administration of raleykin in therapy regimen experimental rats model of type 1 diabetes is significantly reduced blood glucose levels (79.6%). Meaning of the area under the glycemia curve that determines the tolerance for carbohydrates, decreased as well as the application of the reference preparation – anakinra (15.6%). The comparing effects of both medications revealed it was shown that for these indicators significant difference between the drugs is absent.

Thus, further studies raleykin as an anti-diabetic medication are very relevant, since no one drug – receptor antagonist, interleukin-1 in Ukraine not registered.

Електронна адреса для листування з авторами: ivolchik75@gmail.com