

УДК 615.252.349.7:616.349-008.64

ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ГІПОГЛІКЕМІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ РЕКОМБІНАНТНОГО АНТАГОНІСТА РЕЦЕПТОРІВ ІНТЕРЛЕЙКІНУ-1

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

Донецький національний медичний університет
Національний фармацевтичний університет*
Науково-дослідний інститут особливо чистих біопрепаратів, м. Санкт-Петербург**

Ключові слова: стрептозотоциновий діабет з нікотинамідом; гіпоглікемічна дія; ралейкін; анакінра

THE PHARMACOLOGICAL STUDY OF HYPOGLYCEMIC PROPERTIES OF THE RECOMBINANT ANTAGONIST INTERLEUKIN-1 RECEPTOR

I.P.Bukhtiyarova, K.G.Shchokina, S.M.Drogovoz*, O.M.Ischenko***

Donetsk National Medicinal University, National University of Pharmacy, Research Institute of Pure Biochemicals***

Key words: streptozotocin-induced diabetes with nicotinamide; hypoglycemic effect; raleukin; anakinra

Diabetes mellitus (DM) is one of global medical and social problems of the XXI-th century and according to the WHO definition it is a non-infectious pandemic. Over the past 10 years the number of diabetic patients in Ukraine increased by more than 1.5 times, and is more than 1.3 million people. According to modern concepts of the pathogenesis of diabetes type II, pro-inflammatory cytokines, namely interleukin-1 (IL-1), play one of the leading roles in development of the disease. The paper presents the results of the experimental study of hypoglycemic properties of the original recombinant antagonist IL-1 receptor raleukin on the model of II type diabetes. It has been found that on the model of streptozotocin-induced diabetes in rats with nicotinamide raleukin revealed the antidiabetic properties, namely, showed the hypoglycemic action, inhibited development of hyperinsulinemia and the reduced signs of insulin resistance. By the hypoglycemic effect and influence on the HOMA-IR insulin resistance index raleukin is not inferior to reference drugs metformin and anakinra, by its effect on the level of insulin in the blood serum of the experimental animals raleukin is as good as metformin and does not differ significantly from anakinra. The results obtained confirm the important role of IL in development of type II diabetes and indicate that raleukin is a promising drug for further preclinical and clinical study in order to include it in the complex therapy of diabetes.

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 хворі 347 млн осіб [1]. Прогнозується, що у 2035 р. загальна чисельність людей, які страждають на ЦД, збільшиться на 55% і досягне 592 млн

осіб, при цьому понад 90% з них матимуть ЦД II типу [9]. За останні 10 років кількість хворих на ЦД в Україні зросла більш ніж у 1,5 рази і становить понад 1,3 млн хворих на ЦД, що складає понад 2% від усього населення країни. Тому оптимізація терапії ЦД є однією з актуальних медичних та соціальних проблем сучасності [3].

Численні світові і вітчизняні дослідження присвячені розробці нових способів лікування ЦД II типу з урахуванням його патогенетичних механізмів. Сформульована в останні роки мультигенна концепція розвитку ЦД

дала змогу відійти від «глюкоцентричної» теорії, яка обґрунтувала терапію ЦД протягом ряду 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 патогенетичних ланок захворювання [1, 3]. Згідно з сучасними уявленнями одним з перспективних напрямків оптимізації терапії ЦД II типу є антиінтерлейкінова терапія [8, 12].

Як відомо, при ожирінні клітини жирової тканини секретують прозапальні цитокіни (ФНП- α , ІЛ-6 та ІЛ-1), які беруть участь в розвитку запалення та формуванні інсулінорезистентності. ІЛ-1 також гальмує секрецію інсуліну, що викликає пригнічення утилізації глюкози тка-

І.П.Бухтіярова – канд. фармацевт. наук, доцент кафедри управління та економіки фармації Донецького національного медичного університету

К.Г.Щокіна – доктор фармацевт. наук, професор кафедри фармакології Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

О.М.Іщенко – канд. біол. наук, завідувач лабораторії Науково-дослідного інституту особливо чистих біопрепаратів (м. Санкт-Петербург)

Таблиця 1

Вплив ралейкіну на динаміку глікемії на тлі стрептозотоцинового діабету з нікотинамідом (n = 7)

Група тварин	Вміст глюкози в сироватці крові (ммоль/л) на ... добу		
	1	14	28
Інтактний контроль	3,9 ± 0,2	4,1 ± 0,2	3,9 ± 0,2
Контрольна патологія	8,0 ± 0,2*	10,3 ± 0,1*	9,0 ± 0,2*
Ралейкін, 7 мг/кг	8,0 ± 0,2*#	6,9 ± 0,2*/**#	6,2 ± 0,2*/**#
Метформін, 30 мг/кг	9,1 ± 0,2*/**	8,6 ± 0,2*/**	7,8 ± 0,2*/**
Анакінра, 8 мг/кг	8,3 ± 0,2*#	7,3 ± 0,2*/**#	6,8 ± 0,2*/**#

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

нинами і депресію глікогенуотворення. Таким чином, інсулінорезистентність, посилення глюконеогенезу і пригнічення утилізації глюкози, зрештою, призводять до розвитку гіперглікемії та до порушення толерантності до глюкози [2, 6, 11, 13, 15, 16].

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

Враховуючи вищезазначене, метою даної роботи стало експериментальне вивчення гіпоглікемічних властивостей оригінального рекомбінантного антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну, отриманого у Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП в умовах 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 нікотинамідом в дозі 230 мг/кг [4].

В якості референс-препаратів було обрано метформін (діаформін виробництва ПАТ «Фармак», табл. 0,5 г) та анакінра (кі-

нерет 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 [7, 10], а анакінра – рекомбінантний антагоніст рецепторів ІЛ-1 з доведеною гіпоглікемічною активністю, який є аналогом досліджуваного препарату [6, 14].

Досліджувані речовини вводили в профілактично-лікувальному режимі з початку відтворення модельної патології протягом 28 діб 1 раз на добу: ралейкін в дозі 7 мг/кг та анакінра в дозі 8 мг/кг підшкірно [2], метформін у дозі 30 мг/кг внутрішньошлунково [7]. Гіпоглікемічні властивості досліджуваних препаратів оцінювали за наступними показниками: базальна глікемія в динаміці – на 1, 14 та 28 добу дослідження; на 28 добу дослідження – вміст інсуліну в сироватці крові, індекс інсулінорезистентності НОМА-ІР.

Вміст глюкози в крові оцінювали глюкозооксидазним методом за допомогою ферментативного аналізатора глюкози «Ексан-Г» (Литва) [5], інсулінемію – методом імуноферментного аналізу за допомогою тест-набору (Марбург, Німеччина). НОМА-ІР розраховували за формулою (1) [4]:

$$\text{НОМА-ІР} = \frac{\text{глюкоза} \times \text{інсулін}}{22,5} \cdot (1)$$

(ммоль/л) (мкОд/мл)

Облік результатів у вигляді середня ± стандартна помилка та статистичну достовірність міжгрупових відмінностей розраховували за критерієм t Стьюдента з поправкою Бонфероні.

Результати та їх обговорення

Результати дослідження наведені в табл. 1-2.

В основі відтворення даної моделі ЦД лежить частковий захист β-клітин від цитотоксичної дії стрептозотоцину за допомогою відповідних доз нікотинамідом. Введення нікотинамідом за 15 хвилин до внутрішньоочеревинного введення стрептозотоцину сприяє розвитку стабільної помірної базальної гіперглікемії та 40% збереження запасів інсуліну. Вищезазначена 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 [4].

Встановлено, що зв'язування інсуліну з мембранами клітин печінки за умов даної моделі прогресивно знижується, починаючи з 15 доби після індукції діабету, та досягає максимуму через 60 діб від початку експерименту, що призводить до розвитку вторинної інсулінорезистентності [4, 10].

Так, на першу добу дослідження вміст глюкози в сироватці крові тварин групи контрольної патології достовірно збільшився в 2,1 рази, на 14 – в 1,8 рази, на 28 добу – в 2,3 рази порівняно з показниками щурів групи інтактного контролю (табл. 1).

При цьому вміст інсуліну в сироватці крові тварин на 28 добу експерименту знизився в 1,7 ра-

Таблиця 2

Вплив ралейкіну на НОМА-IR та вміст інсуліну в сироватці крові на тлі стрептозотоцинового діабету з нікотинамідом у щурів на 28 добу дослідження (n = 7)

Показники	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Ралейкін, 7 мг/кг	Метформін, 30 мг/кг	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	1,2 ± 0,10*	0,48 ± 0,04*/**	0,41 ± 0,03*/**	0,47 ± 0,04*/**

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

зи, а індекс інсулінорезистентності НОМА-IR зріс в 4 рази порівняно з відповідними показниками в групі інтактного контролю (табл. 2). Отримані результати свідчать про розвиток помірної базальної гіперглікемії, зниження секреції інсуліну та утворення інсулінорезистентності.

У першу добу дослідження базальна глікемія в усіх групах тварин, які отримували досліджувані речовини, достовірно не відрізнялась від показника групи контрольної патології, а в групі метформіну навіть перевищувала даний показник в 1,1 рази. 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 рази відповідно. На 28 добу експерименту вміст інсуліну в сироватці крові тварин, які отримували ралейкін, був в 1,6 рази 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 в 2,5 рази порівняно з контрольною патологією.

На тлі анакінра базальна глікемія на 14 добу експерименту знизилась в 1,4 рази, на 28 добу – в 1,3 рази порівняно з по-

казниками групи контрольної патології. Рівень інсуліну в сироватці крові щурів, яким вводили анакінра, на 28 добу дослідження був в 1,9 рази нижче, ніж у групі контрольної патології, індекс НОМА-IR достовірно знизився в 2,6 рази.

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

Тобто, в даному дослідженні всі досліджувані препарати достовірно знижували гіперглікемію, інсулінемію та інсулінорезистентність і таким чином гальмували розвиток модельного ЦД II типу. За нормалізувальним впливом на динаміку базальної глікемії ралейкін та анакінра дещо перевершували дію метформіну, але достовірної різниці у показниках не спостерігалось. За нормалізувальним впливом на рівень інсуліну в сироватці крові експериментальних тварин метформін достовірно перевищував дію ралейкіну та анакінра, а за впли-

вом на НОМА-IR – виявив тенденцію до перевищення. Отримані результати збігаються з даними численних досліджень механізму дії та фармакодинаміки метформіну, пов'язаних, перш за все, зі зниженням інсулінорезистентності на тлі ЦД [7, 10]. Ралейкін дещо краще за анакінра знижував ознаки базальної гіперглікемії, але достовірної різниці між відповідними показниками не зафіксовано.

ВИСНОВКИ

Таким чином, на моделі стрептозотоцинового діабету з нікотинамідом у щурів оригінальний рекомбінантний антагоніст рецепторів ІЛ-1 ралейкін виявив антидіабетичні властивості, а саме, спричинив гіпоглікемічну дію, гальмував розвиток гіперінсулінемії та знижував ознаки інсулінорезистентності. За гіпоглікемічною дією та впливом на індекс інсулінорезистентності НОМА-IR ралейкін не поступався препаратам порівняння метформіну та рекомбінантному антагоністу рецепторів ІЛ-1 з доведеними антидіабетичними властивостями анакінра, за впливом на вміст інсуліну в сироватці крові експериментальних тварин ралейкін поступався метформіну та достовірно не відрізнявся від анакінра. Отримані результати дослідження свідчать про важливу роль ІЛ у розвитку ЦД II типу та роблять ралейкін перспективним препаратом для подальшого доклінічного і клінічного вивчення з метою включення до комплексної терапії ЦД.

ЛІТЕРАТУРА

1. Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., Креминская В.М. Лечение сахарного диабета и его осложнений. – М., 2005. – 512 с.
2. Бухтіярова І.П. // Укр. біофармац. журн. – 2014. – №3 (32). – С. 50-54.
3. Дедов И.И. // Вестник Рос. академии мед. наук. – 2012. – №1. – С. 7-13.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації. / За ред. чл.-кор. НАМН України О.В.Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.
5. Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П. и др. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В.В.Меньшикова. – М.: Медицина, 1997. – 368 с.
6. Пат. на корисну модель 92304 U, МПК А 61 Р 3/10. Застосування антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 ралейкіну в терапії інсулінонезалежного цукрового діабету / І.П.Бухтіярова, С.М.Дрогозов, О.М.Іщенко. – № у 2014 02454. Заявл.: 12.03.2014. Опубл.: 11.08.2014. – Бюл. №15. – 6 с.
7. Полторац В.В., Горбенко Н.І., Іванова О.В., Горшунська М.Ю. // Ендокринолог. – 2000. – Т. 5, №2. – С. 249-251.
8. Скибчик В.А., Гутор Я.Г., Войнович М.О. та ін. // Експериментальна та клінічна фізіол. та біохімія. – 2012. – №1. – С. 57-60.
9. Сунцов Ю.И., Болотская Л.Л., Маслова О.В. и др. // Сахарный диабет. – 2011. – №1. – С. 15-18.
10. 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.
11. Börjesson A., Carlsson C. // J. Endocrinol. – 2007. – Vol. 192 (2). – P. 381-387.
12. Snop M., Welsh N., Jonas J.C. et al. // Diabetes. – 2005. – Vol. 54, Suppl. 2. – P. S97-S107.
13. Lagathu C., Yvan-Charvet L., Bastard J.P. et al. // Diabetol. – 2006. – №49. – P. 2162-2173.
14. Larsen C.M., Faulenbach M., Ehses J.A. et al. // Diabetes Care. – 2009. – Vol. 32, №9. – P. 1663-1668.
15. Mandrup-Poulsen T., Bendtzen K., Dinarello C.A. et al. // J. Immunol. – 1987. – Vol. 139 (12). – P. 4077-4082.
16. Sandberg J.O., Andersson A., Eizirik D.L. et al. // Biochem. Biophys. Res Commun. – 1994. – Vol. 202 (1). – P. 543-548.

ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ГІПОГЛІКЕМІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ РЕКОМБІНАНТНОГО АНТАГОНІСТА РЕЦЕПТОРІВ ІНТЕРЛЕЙКІНУ-1

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

Донецький національний медичний університет, Національний фармацевтичний університет*, Науково-дослідний інститут особливо чистих біопрепаратів**

Ключові слова: стрептозотоциновий діабет з нікотинамідом; гіпоглікемічна дія; ралейкін; анакінра

Цукровий діабет (ЦД) є однією з глобальних медико-соціальних проблем ХХІ століття та визначений ВОЗ як неінфекційна пандемія. За останні 10 років кількість хворих на ЦД в Україні зросла більш ніж у 1,5 рази і становить понад 1,3 млн хворих. Згідно з сучасними уявленнями про патогенез ЦД II типу одну з провідних ролей у розвитку захворювання відіграють прозапальні цитокіни, а саме інтерлейкін-1 (ІЛ-1). Наведені результати експериментального вивчення гіпоглікемічних властивостей оригінального рекомбінантного антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну на моделі ЦД II типу. Визначено, що на моделі стрептозотозин-індукованого діабету з нікотинамідом у щурів ралейкін виявив антидіабетичні властивості, а саме, спричинив 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 анакінра, за впливом на вміст інсуліну в сироватці крові експериментальних тварин ралейкін поступався метформіну та достовірно не відрізнявся від анакінра. Отримані результати дослідження свідчать про важливу роль ІЛ у розвитку ЦД II типу та роблять ралейкін перспективним препаратом для подальшого доклінічного і клінічного вивчення з метою включення до комплексної терапії ЦД.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ РЕКОМБИНАНТНОГО АНТАГОНИСТА РЕЦЕПТОРОВ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1

И.П.Бухтиярова, Е.Г.Щекина*, С.М.Дрогозов*, А.М.Ищенко**

Донецкий национальный медицинский университет, Национальный фармацевтический университет*, Научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратив**

Ключевые слова: стрептозотоциновый диабет с никотинамидом; гипогликемическое действие; ралейкин; анакинра

Сахарный диабет (СД) является одной из глобальных медико-социальных проблем ХХІ века и определен ВОЗ как неинфекционная пандемия. За последние 10 лет количество больных СД в Украине выросло более чем в 1,5 раза и составляет более 1,3 млн человек. Согласно современным представлениям о патогенезе СД II типа одну из

ведущих ролей в развитии заболевания играют провоспалительные цитокины, а именно интерлейкин-1 (ИЛ-1). Приведены результаты экспериментального изучения гипогликемических свойств оригинального рекомбинантного антагониста рецепторов ИЛ-1 ралейкина на модели СД II типа. Определено, что на модели стрептозотоцин-индуцированного диабета с никотинамидом у крыс ралейкин обнаружил противодиабетические свойства, а именно проявил гипогликемическое действие, тормозил развитие гиперинсулинемии и снижал признаки инсулинорезистентности. По гипогликемическому действию и влиянию на индекс инсулинорезистентности HOMA-IR ралейкин не уступал препаратам сравнения метформину и анакинра, по влиянию на содержание инсулина в сыворотке крови экспериментальных животных ралейкин уступал метформину и достоверно не отличался от анакинра. 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 комплексной терапии СД.

Адреса для листування:

61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.

Тел. (57) 706-30-69. E-mail: асуа@ukr.net.

Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 27.03.2015 р.