

УДК 615.252.349.7:616.349-008.64

## ВЛИЯНИЕ РАЛЕЙКИНА НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ ЖИВОТНЫХ И ЛИПИДНЫЙ ОБМЕН В УСЛОВИЯХ АЛЛОКСАНОВОГО ДИАБЕТА У КРЫС

**И.П. БУХТИЯРОВА<sup>1</sup>****С.М. ДРОГОВОЗ<sup>2</sup>****Е.Г. ЩЕКИНА<sup>2</sup>****А.М. ИЩЕНКО<sup>3</sup>**<sup>1</sup>*Донецкий национальный  
медицинский университет, Украина*<sup>2</sup>*Национальный фармацевтический  
университет, Украина*<sup>3</sup>*Государственный НИИ особо  
чистых биопрепаратов,  
г. Санкт-Петербург**e-mail: acya@ukr.net*

В статье приведены результаты экспериментального изучения влияния рекомбинантного антагониста рецепторов ИЛ-1 ралейкина, разработанного в Санкт-Петербургском НИИ ОЧБП, на липидный обмен на модели аллоксанового СД у крыс. Определено, что на модели аллоксанового диабета у крыс ралейкин проявляет выраженные гиполипидемические свойства, по которым превосходит референс-препарат метформин. По выраженности гиполипидемического и гипохолестеринемического действия ралейкин не уступает своему аналогу - рекомбинантному антагонисту рецепторов ИЛ-1 анакинра.

Сочетание у ралейкина гипогликемических, антиоксидантных и гиполипидемических свойств является очень ценным для терапии СД 1 типа, так как позволяет воздействовать одновременно на несколько звеньев патогенеза заболевания и делает ралейкин перспективным препаратом для дальнейшего изучения с целью включения в комплексной терапии СД 1 типа.

Ключевые слова: аллоксановый диабет, гиполипидемическое, гипохолестеринемическое действие, ралейкин.

В структуре эндокринных заболеваний сахарный диабет (СД) занимает одно из первых мест [9]. По данным Международной федерации диабета в 2013 году количество больных СД в мире достигло 366 млн, а по прогнозам в 2030 году составит 552 млн [8]. Поэтому оптимизация терапии СД сегодня является одной из актуальных медицинских проблем.

Согласно современным представлениям о патогенезе СД, одну из ведущих ролей в гибели  $\beta$ -клеток играют провоспалительные цитокины, а именно интерлейкин-1 (ИЛ-1) [2, 18]. Так, ИЛ-1 подавляет продукцию инсулина  $\beta$ -клетками и стимулирует их апоптоз [5, 12]. За счет активации ИЛ-1 в  $\beta$ -клетках возрастает содержание оксида азота, который индуцирует активность NO-синтетазы и в конечном итоге приводит  $\beta$ -клетки к гибели [12, 13]. Исследования доказали, что повышение содержания ИЛ-1 в сыворотке крови является характерным признаком у больных СД [7, 18].

Следует отметить также, что ИЛ-1 инициирует неспецифический иммунный ответ. В норме, при любом повреждающем воздействии происходит активация клеток, продуцирующих необходимые защитные факторы [20]. За счет активации последних, помимо прочего, в крови возрастает уровень липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП) [15]. ЛПОНП превращаются в высокоатерогенные липопротеиды промежуточной плотности, а те, соответственно, превращаются в липопротеиды низкой плотности (ЛПНП). Любой фактор, способствующий усилению образования ЛПОНП, усиливает также синтез ЛПНП. Скорость синтеза ЛПОНП регулируется концентрацией инсулина в плазме крови и наличием субстратов - свободных жирных кислот и глюкозы [1, 6]. Таким образом, оценка липидного обмена является одной из важных характеристик состояния больных СД.

Также нельзя не учитывать значение холестерина (ХС), играющего важную роль в стабилизации плазматических мембран клеток [10]. Этот естественный метаболит доставляется к тканям организма белками-транспортерами, т.е. липопротеидами [10, 11, 15]. Кроме ХС, в крови содержатся триглицериды (ТГ), которые являются компонентами эндогенных липидов [10].

Исходя из вышеприведенного, можно предположить, что антагонисты рецепторов ИЛ-1 способны защищать  $\beta$ -клетки от разрушения при СД [5, 14, 16, 17], а также могут способствовать нормализации содержания липопротеидов и ХС в крови.

Таким образом, разработка лекарственных средств на основе антагонистов ИЛ-1 является очень актуальной и перспективной направлением оптимизации терапии СД. Такие препараты будут тормозить активность ИЛ-1 и нормализовать функциональное состояние  $\beta$ -клеток.

**Целью** данного исследования стало изучение влияния оригинального рекомбинантного антагониста рецепторов ИЛ-1 ралейкина, разработанного в Санкт-Петербургском НИИ ОЧБП, на липидный обмен на модели аллоксанового СД у крыс.



**Материалы и методы.** Абсолютную инсулиновую недостаточность прямого  $\beta$  - цитотоксического генеза вызывали с помощью одноразового подкожного введения аллоксана (5% раствор гидрата аллоксана в ацетатном буфере в дозе 20 мг на 100 г массы тела) белым беспородным крысам-самкам массой 160-220 г, которых предварительно сутки держали на голодной диете [3].

В качестве препаратов сравнения использовали синтетический гипогликемический препарат метформин, который входит в стандарты лечения СД обоих типов и обладает способностью тормозить образование продуктов неферментативного гликозилирования, и анакинра, рекомбинантный антагонист рецепторов ИЛ-1 с доказанной гипогликемической активностью, который является структурным аналогом исследуемого препарата [21].

Препараты вводили в лечебном режиме один раз в день в течение 10 суток, начиная с 4 суток после воспроизведения модельной патологии: ралейкин в дозе 7 мг/кг и анакинра в дозе 8 мг/кг подкожно [21], метформин в дозе 30 мг/кг внутривентрикулярно [5, 19].

На 15 сутки животных выводили из эксперимента летальной дозой тиопенталового наркоза и собирали кровь для биохимических исследований. Фармакологическое действие исследуемых препаратов оценивали по следующим показателям: выживаемость животных, содержание ХС, ТГ, ЛПНП, ЛПОНП, липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) в сыворотке крови. Содержание ХС, ТГ, ЛПНП, ЛПВП определяли с помощью тест-наборов «Lachema» (Чехия) на полуавтоматическом биохимическом анализаторе ФП-901 [4].

В случае учета результатов в виде средняя  $\pm$  стандартная ошибка, статистическую достоверность внутригрупповых различий оценивали по критерию Вилкоксона, межгрупповых - по t критерию Стьюдента с поправкой Бонферони.

**Результаты и их обсуждение.** Результаты исследований механизмов диабетогенного действия аллоксана в экспериментах *in vitro* и *in vivo* позволяют рассматривать модель аллоксанового диабета как приближенную к СД 1 типа у человека [19]. Несмотря на отсутствие аутоиммунной составляющей в механизмах аллоксанового диабета, токсическое действие аллоксаном модулирует события, подобные аутоиммунному повреждению  $\beta$ -клеток поджелудочной железы в условиях СД 1 типа, свободнорадикальные повреждения, модификацию белков и нуклеиновых кислот, индукцию апоптоза [3, 19]. Все вышесказанное дает основания экстраполировать данные, полученные в эксперименте на животных на модели аллоксанового диабета, на клинику и терапию СД 1 типа.

Аллоксан представляет собой нестабильный пиримидин (2,4,5,6 - тетраоксогексагидропиримидин), обладающий выраженным диабетогенным действием. После введения в организм аллоксан связывается с мембранами панкреатических  $\beta$ -клеток, что приводит к быстрому снижению секреции инсулина. Примерно через два часа после инъекции аллоксана гипергликемия сменяется выраженной гипогликемией и значительным высвобождением инсулина за счет гибели  $\beta$ -клеток. Через одни-два суток развивается стойкая гипергликемия. Токсический эффект аллоксана проявляется в течение первых минут после введения, выраженная инсулиновая недостаточность - через несколько суток. Известно, что развитие аллоксанового диабета у животных происходит при участии активных форм кислорода и сопровождается апоптозом [3].

Таблица 1

**Влияние ралейкина на динамику выживаемости животных на модели аллоксанового диабета у крыс (n=8)**

Группы животных	Выживаемость (в %) через		
	3 часа	3 суток	14 суток
Интактный контроль	100	100	100
Контрольная патология	100	100	62,5*
Ралейкин, 7 мг/кг	100	100	75
Метформин, 30 мг/кг	100	100	75
Анакинра, 8 мг/кг	100	100	62,5*

Примечание: статистически значимые различия ( $p \leq 0,05$ ):

\* - к группе интактного контроля;

\*\* - к группе контрольной патологии.

Как свидетельствуют данные табл. 1, развитие аллоксанового диабета привело к гибели экспериментальных животных. Через 3 часа и 3 суток после введения диабетогенного вещества экспериментальные животные во всех группах были живы.

На 14 сутки эксперимента в группе контрольной патологии погибло 3 животных из 8 (выживаемость составила 62,5%). В группах животных, которым вводили ралейкин и метформин, выжило 6 крыс из 8 (выживаемость составила 75%). В группе животных, которые получа-



ли анакинра, выживаемость не отличалась от выживаемости в группе контрольной патологии (62,5%).

На фоне развития диабета у крыс группы контрольной патологии наблюдались существенные нарушения липидного обмена, а именно, содержание ХС в сыворотке крови достоверно увеличилось в 1,4 раза, ТГ - в 2,7 раза, ЛПНП - в 1,6 раза, ЛПОНП - в 1,8 раза, уровень ЛПВП снизился в 1,5 раза по сравнению с соответствующими показателями у животных группы интактного контроля (табл. 2).

Под влиянием ралейкина уровень ХС в сыворотке крови экспериментальных животных достоверно снизился в 1,3 раза, содержание ТГ снизилось в 2 раза, содержание ЛПНП - в 1,5 раза, содержание ЛПОНП - в 1,2 раза по сравнению с аналогичными показателями в группе контрольной патологии. На фоне ралейкина уровень ЛПВП достоверно увеличился в 1,5 раза по сравнению с показателем у крыс группы контрольной патологии. Вышеупомянутые показатели липидного обмена в группе животных, получавших ралейкин, достоверно не отличались от соответствующих показателей у крыс группы интактного контроля, кроме содержания ТГ и ЛПОНП.

Под действием анакинра уровень ХС в сыворотке крови экспериментальных животных достоверно снизился в 1,4 раза, содержание ТГ - в 1,9 раза, содержание ЛПНП - в 1,5 раза, содержание ЛПОНП - в 1,5 раза по сравнению с аналогичными показателями в группе контрольной патологии. На фоне анакинра уровень ЛПВП в сыворотке крови экспериментальных животных достоверно увеличился в 1,4 раза по сравнению с показателем группы контрольной патологии. Вышеупомянутые показатели липидного обмена в группе животных, получавших анакинра, достоверно не отличались от соответствующих показателей у крыс группы интактного контроля, кроме содержания ТГ. Достоверных различий в выраженности гиполипидемической и гипохолестеринемической действия ралейкина и анакинра не наблюдалось.

Полученные данные совпадают с результатами предыдущих исследований гиполипидемических свойств ралейкина в условиях алиментарной гиперлипидемии у крыс [5].

Таблица 2

**Влияние ралейкина на показатели липидного обмена на модели аллоксанового диабета у крыс, 15 сутки исследования**

Группы животных	ХС, мг/дл	ЛПВП, мг/дл	ЛПНП, мг/дл	ЛПОНП, мг/дл	ТГ, мг/дл
Интактный контроль (n = 8)	45,4±3,7	13,2±0,4	35,0±3,1	6,6±0,3	36,9±2,0
Контрольная патология (n = 5)	64,3±4,0*	8,6±0,4*	61,8±3,1*	10,6±0,6*	98,2±5,1*
Ралейкин, 7 мг/кг (n = 6)	48,9±3,1**#	12,5±0,5**#	40,8±2,1**#	8,0±0,3**/**	49,8±3,0**/**#
Метформин, 30 мг/кг (n = 6)	58,5±3,0*	10,5±0,5**/**	51,0±3,7**	9,1±0,4*	61,3±3,9**/**
Анакинра, 8 мг/кг (n = 5)	46,4±3,4**#	12,0±0,5**#	40,8±2,1**#	7,1±0,3**#	50,6±3,1**/**

Примечание: статистически значимые различия (p≤0,05):

\* - к группе интактного контроля;

\*\* - к группе контрольной патологии; # - к группе метформина.

На фоне метформина содержание ТГ в сыворотке крови крыс достоверно снизилось в 1,6 раза, содержание ЛПОНП - в 1,2 раза по сравнению с аналогичными показателями в группе контрольной патологии. Уровень ЛПВП достоверно увеличился в 1,2 раза по сравнению с показателем у крыс группы контрольной патологии. Полученные результаты совпадают с данными литературы о наличии у метформина способности нормализовать уровень ТГ и ЛПВП в сыворотке крови [19]. На содержание ХС и ЛПНП метформин не выявил достоверной действия. По положительному влиянию на большую часть исследуемых показателей метформин уступал анакинра и ралейкину.

То есть, в условиях аллоксанового диабета у крыс ралейкин обнаружил мощное гиполипидемическое и гипохолестеринемическое действие, по выраженности которого не уступал анакинра и превосходил метформин. На основании полученных результатов можно предположить, что блокада рецепторов ИЛ-1 на фоне СД 1 типа позволяет не только нормализовать глюкозный обмен, проявить протекторное действие, увеличить выживаемость β-клеток, уменьшить проявления оксидативного стресса, но и поможет снизить выраженность нарушений липидного обмена при СД.

**Выводы.** Таким образом, на модели аллоксанового диабета у крыс рекомбинантный антагонист рецепторов ИЛ-1 ралейкин, полученный в Санкт-Петербургском НИИ ОЧБП, проявляет выраженное гиполипидемическое и гипохолестеринемическое действие, по выраженности которого превосходит референт - препарат метформин.

По выраженности гиполипидемического и гипохолестеринемического действия ралейкин не уступает своему аналогу - рекомбинантному антагонисту рецепторов ИЛ-1 анакинра.



Сочетание у ралейкина гипогликемических, антиоксидантных и гиполипидемических свойств является очень ценным для терапии СД 1 типа, поскольку позволяет воздействовать одновременно на несколько звеньев патогенеза заболевания и делает ралейкин перспективным препаратом для дальнейшего изучения с целью включения в комплексную терапию СД.

### Литература

1. Бабак О.Я. Лечение печени при метаболическом синдроме: поражение органа или организма / 100 избранных лекций по эндокринологии [под ред. Ю.И. Караченцева, А.В. Казакова, Н.А. Кравчун, И.М. Ильиной]. – Х.: Тов. «С.А.М.», 2009. – С. 22-28.
2. Бережная Н.М. Цитокиновая регуляция при патологии: стремительное развитие и неизбежные вопросы / Н.М. Бережная // Цитокины и воспаление. – 2007. – Т. 6, № 2. – С. 26-34.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / за ред. член-кор. АМН України О.В. Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.
4. Камышников В.С. Справочник по клинической-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. / В.С. Камышников. – Минск: «Беларусь», 2002. – Т.1. – 495 с. – Т.2. – 463 с.
5. Експериментальне вивчення антиоксидантної та гіполіпідемічної дії рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 / К.Г. Щокіна, С.Ю. Штриголь, Ю.В. Столетов, О.М. Іщенко // Вісник фармації. – 2010. – № 3 (63). – С. 79-82.
6. Журавльова Л.В. Жирова дистрофія печінки у хворих на цукровий діабет 2-го типу: шляхи оптимізації лікування / Л.В. Журавльова, О.В. Лавриненко; В.М. Хворостінка // Ліки України. – 2010. – № 7 (143). – С. 58-62.
7. Интерлейкины и хемокины при остром ишемическом инсульте, отягощенном и не отягощенном диабетом / А. С. Бояджян, Э. А. Аракелова, В. А. Айвазян и др. // Цитокины и воспаление. – 2008. – № 1. – С. 41-44.
8. Информационный бюллетень ВОЗ. – 2013. – № 312. режим перегляду – <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/ru>
9. Інформаційне повідомлення МОЗ України. Режим перегляду – [http://moz.gov.ua/ua/portal/dn\\_20130718\\_1.html](http://moz.gov.ua/ua/portal/dn_20130718_1.html)
10. Кольман Я. Наглядная биохимия / Я. Кольман, К.-Г. Рем. – Пер. с нем. – 3-е изд. – М.: Изд-во «МИР», «БИНОМ. Лаборатория знаний», – 2009. – 469 с.
11. Коноваленко О.В. Ефективність впливу на лінійний обмін постійної підшкірної інфузії інсуліну та безперервного моніторингу глікемії при лікуванні хворих на цукровий діабет 1 та 2 типу / О.В. Коноваленко, В.І. Кресюн // Журн. АМН України, – 2010, – № 2. Т. 16, – С. 313-322.
12. Прозапальні цитокини при цукровому діабеті 1-го типу / В.А. Скибчик, Я.Г. Гурор, М.О. Войнович та ін. // Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. – 2012. – № 1. – С. 57-60.
13. Роль цитокинов в патогенезе аутоиммунного диабета, вопросы иммуоинтервенции / Кравец Е.Б., Саприна Т.В., Лазаренко Ф.Э. и др. // Бюллетень сибирской медицины, – 2010. – № 1. – С. 76-83.
14. Савон И.Л. Роль про- и противовоспалительных цитокинов у больных с осложненным синдромом диабетической стопы / И.Л. Савон // Сучасні медичні технології, – 2010. – № 3. – С. 73-80.
15. Согуйко Ю.Р. Оцінка параметрів глюко- та ліпотоксичності в сироватці крові щурів зі стрептозототициновим цукровим діабетом на ранніх етапах перебігу / Ю.Р. Согуйко // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія, – 2010. – № 1. – С. 41-46.
16. Супрун Е.В. Експериментальне вивчення антигіпоксичної активності антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 / Е.В. Супрун, В.П. Вереїтинова, О.С. Супрун // Теоретична і експериментальна медицина. – 2009. – № 4. – с. 57-61.
17. Супрун Э.В. Коррекция антагонистом рецепторов интерлейкина-1 показателей энергетического метаболизма в головном мозге крыс с экспериментальным ишемическим инсультом / Э.В. Супрун // Теоретическая и экспериментальная медицина – 2010 – №1. – С. 64-68.
18. Тихонова Т. М. Порівняльна оцінка вмісту цитокинів у хворих на повільнопрогресуючий аутоімунний діабет дорослих / Т. М. Тихонова // Проблеми ендокринної патології – 2013 – № 1. – С. 27-34.
19. 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.
20. Autoantibodies against oxidatively modified low-density lipoproteins in NIDDM / G. Bellomo, E. Maggi, M. Poli et al. // Diabetes. – 1995. – Vol. 44, № 1. – P. 60-66.
21. 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. - Vol. 202 (1). - P. 543-548.



## **EFFECT OF RALEUKIN ON SURVIVAL OF ANIMALS AND LIPID METABOLISM IN THE ALLOXANE DIABETES IN RATS**

**I.P. BUHTIYAROVA<sup>1</sup>**  
**S.M. DROGOVOZ<sup>2</sup>**  
**K.G. SHCHOKINA<sup>2</sup>**  
**A.M. ISCHENKO<sup>3</sup>**

*<sup>1</sup>Donetsk National Medicinal  
University, Ukraine*

*<sup>2</sup>National Pharmaceutical  
University, Ukraine*

*<sup>3</sup>Research Institute of Pure  
Biochemical, St. Petersburg*

*e-mail: acya@ukr.net*

The paper presents the results of an experimental study of the influence of recombinant receptor antagonist IL-1 raleukin developed in the St. Petersburg Institute of VCHBP, on lipid metabolism in the model alloxane diabetes in rats. Defined that in model of alloxane diabetes in rats raleukin exhibits potent hypolipidemic properties which exceed the reference metformin. In the expression of lipid-lowering and hypocholesterolemic action raleukin not inferior to its counterpart - a recombinant receptor antagonist IL-1 anakinra.

The combination hypoglycemic, lipid-lowering and antioxidant properties in raleukin is very valuable for the treatment of type 1 diabetes, as it allows to act simultaneously on several of the pathogenesis of the disease and does raleukin promising drug for further study in order to include the treatment of type 1 diabetes.

Key words: alloxane diabetes, lipid-lowering, cholesterol-lowering effect, raleukin.