

сравнению с контрольными ($p^K < 0,001$). При этом активно повышаются уровни восстановленных форм глутатиона и тиолов до 70% от значений интактных животных, что превышает как контрольные показатели ($p^K < 0,001$), так и эффект тиоцетама ($p^T < 0,001$) и ронколейкина ($p^P < 0,01$). Также под действием РАИЛ-1 восстанавливается состояние ферментов тиол-дисульфидной системы – в остром периоде СД активность ГПР и ГР повышается практически до уровня интактных животных ($p^K < 0,001$).

Таким образом, развитие экспериментального АСД у крыс сопровождалось формированием дисфункции тиол-дисульфидной системы. Применение ронколейкина в дозе 0,01 мг/кг и РАИЛ-1 в дозе 7,5 мг/кг нормализует состояние ферментов ТДС (ГПР, ГР), что приводит к нормализации уровней восстановленных форм глутатиона и тиолов на фоне снижения их окисленных форм в клетках головного мозга крыс с экспериментальным сахарным диабетом. Таким образом, цитокиновые препараты интерлейкинового ряда – рекомбинантные IL-1ra (РАИЛ-1) и IL-2 (ронколейкин) являются эффективными корректорами патологических изменений ТДС при постгипоксических повреждениях в условиях экспериментального СД у крыс.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дедов И.И. Сахарный диабет: развитие технологий в диагностике, лечении и профилактике (пленарная лекция) // Сахарный диабет. – 2010. – № 3 (48). – С. 6-13.
2. Кетлинский С.А. Цитокины / С.А. Кетлинский, А.С. Симбирцев – СПб.: Фолиант, 2008. – 552 с.
3. Nathan D.M., Buse J.B., Davidson M.B., Ferranini E., Holman R.R., Sherwin R., Zinman B. American Diabetes Association; European Association for the Study of Diabetes. Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy. A consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes / D.M. Nathan, J.B. Buse, M.B. Davidson [et al.] // Diabetes Care. – 2009. – Vol. 32. – P. 193-203.

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА В ТКАНЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ НА ФОНЕ КОРРЕКЦИИ РОНКОЛЕЙКИНОМ

Супрун Э.В., Кузнецова В.М., Цубанова Н.А., Лукиенко О.В.

**Институт повышения квалификации специалистов фармации
Национального фармацевтического университета,
г. Харьков, Украина
Кафедра общей фармации и безопасности лекарств**

Сахарный диабет (СД) является глобальной медико-социальной проблемой и характеризуется неуклонным ростом распространенности – в Украине за последние 10 лет количество больных сахарным диабетом

увеличилось более чем в 1,5 раза и составляет около 1 млн. человек, поэтому решение проблем терапии СД поставлено на уровень государственных задач [2]. В настоящее время во всем мире накоплены доказательства того, что эффективный контроль диабета может свести к минимуму развитие многих связанных с ним осложнений [12]. Считается, что утолщение базальной мембраны сосудов микроциркуляторного русла может быть следствием нескольких причин – нарушений углеводного обмена, перекисного окисления липидов и избыточного образования высокотоксичных гидроперекисей, свободных радикалов и активных форм кислорода, способствующих патологическим изменениям, происходящим в стенке [10]. Индуцированный гипергликемией оксидативный стресс вызывает эндотелиальную дисфункцию, активацию тромбоцитов и моноцитов, пролиферацию гладкомышечных волокон, что приводит к развитию диабетических ангиопатий, формированию гипоксии/ишемии и постгипоксических осложнений [7]. Поэтому лечение диабетических ангиопатий требует вместе со средствами реперфузионного и метаболического действия обязательного применения антигипоксантов [2]. Однако, применение препаратов антигипоксического действия при СД имеет значительные побочные эффекты, противопоказания и особенности взаимодействия с другими лекарственными препаратами. Это ограничивает возможности их использования и требует введения в практику новых безопасных и высокоэффективных антигипоксантов.

Важную роль в системе защиты организма от повреждений вследствие оксидантного стресса и ишемии/гипоксии выполняют цитокины – высокопотентные (активные в пикомолярных концентрациях) белками, которые имеют широкий спектр биологических эффектов. Цитокины являются необходимыми трансмиссерами межклеточного взаимодействия в норме и при патологии. Они формируют сеть коммуникативных сигналов между клетками иммунной системы и клетками других органов и тканей. Первым из провоспалительных цитокинов в зоне ишемии продуцируется интерлейкин IL-1, который также обладает свойством стимулировать синтез секретируемых Т-хелперами ростовых факторов – IL-2 и IL-4 [3].

IL-2 участвует в формировании быстрого иммунного ответа организма – индуцирует пролиферацию В-лимфоцитов, активирует цитотоксические Т-лимфоциты, стимулирует естественные киллеры, генерирует лимфокин-активированные киллеры (ЛАК), поэтому в клинической практике рекомбинантный IL-2 (ронколейкин) используется для коррекции вторичной иммунной недостаточности в комплексной терапии тяжелых гнойно-воспалительных заболеваний разной этиологии и онкологических процессов [5, 6]. Так как при СД формирование постишемических патофизиологических изменений зависит от дефицита энергетического метаболизма, взаимосвязанного с формированием «цитокинового каскада», в настоящей работе была поставлена задача изучить влияние рекомбинантного IL-2 (ронколейкина) на динамику

показателей энергетического и углеводного обмена на модели экспериментального сахарного диабета у крыс.

Материалы и методы. Исследования проводились на 50 белых крысах линии Вистар массой 250-300г, содержащихся в стандартных условиях вивария и распределенных на 4 группы по десять животных в каждой. Первая группа – интактные животные, вторая – животные с экспериментальным аллоксановым сахарным диабетом (контроль, АСД), третья – животные с патологией, которым вводили пирацетам (группа П) в дозе 500 мг/кг внутримышечно сразу после выхода животных из наркоза и в дальнейшем 1 раз в сутки в течение 18 дней; четвертая – животные с патологией, которым вводили ронколейкин (группа Р) в дозе 0,01 мг/кг в том же режиме [3]. Животным первой и второй групп на протяжении исследования в соответствующем объеме внутримышечно вводили стерильный физиологический раствор. Экспериментальный диабет моделировали с помощью однократного подкожного введения водного раствора аллоксана моногидрата (Sigma, США) в дозе 150 мг/кг в виде 5% раствора в ацетатном буфере, рН 4,5. Введение данного вещества осуществляли после предварительной 24-часовой депривации пищи при сохраненном доступе к воде. С целью формирования полного и стабильного диабета животных содержали на протяжении 11 суток на стандартной диете. Уровень глюкозы крови определялся на 11-е сутки после введения аллоксана с помощью глюкометра Optium Omega (Abbot Diabetes Care Inc., США). Для последующих исследований использованы только животные с повышенным уровнем глюкозы (> 11 ммоль/л). По истечении острого периода ишемии (4 дня) животных выводили из эксперимента под этаминал-натриевым наркозом путем декапитации. Для биохимических исследований использованы фрагменты мозга, находящиеся в области средне-мозговой артерии и гомогенизированные в жидком азоте. Для оценки процессов углеводно-энергетического обмена и окисления в цикле Кребса в гомогенате мозга определяли уровень адениловых нуклеотидов (АТФ, АДФ, АМФ) [11]. На основании полученных данных были вычислены следующие показатели энергетического обмена [9]:

– энергетический заряд (ЭЗ) по формуле:

– энергетический потенциал (ЭП) по соотношению:

$$\text{ЭП} = \frac{\text{АТФ}}{\text{АДФ}}$$

– индекс фосфорилирования (ИФ) по соотношению:

$$\text{ИФ} = \frac{\text{АТФ}}{\text{АДФ} + \text{АМФ}}$$

– термодинамический контроль дыхания по формуле:

$$\text{ТКД} = \frac{\text{АДФ}}{\text{АМФ}}$$

Полученные данные были проанализированы вариационно-статистическим методом с использованием критерия Стьюдента (t). Достоверными считали отличия с уровнем значимости более 95% ($p < 0,05$), которые отмечали как p^I (относительно интактных животных) или p^K (относительно контрольной группы).

Результаты и обсуждение. Развитие АСД и формирование ангиопатий с постгипоксическими изменениями тканей привело к дисбалансу пула макроэргических фосфатов в ткани мозга контрольных животных на 4-е сутки эксперимента. Отмечено значительное снижение уровней АТФ и АДФ – соответственно на 70% и 71% ($p^I < 0,001$). Уровень АМФ в контрольной группе достоверно отличался от уровней интактных животных – был выше на 89% ($p^I < 0,001$), что адекватно снижению в эти периоды АТФ и, возможно, отражает его усиленный распад на фоне ишемического повреждения. Следует отметить, что АМФ является активным прооксидантом, поэтому рост его количеств дополнительно усиливает агрессивные последствия оксидантного стресса в постишемической зоне.

На фоне введения пирацетама отмечена некоторая стабилизация энергетических показателей ткани мозга экспериментальных животных относительно интактных – уровни АТФ и АДФ были снижены соответственно на 60% на 67% ($p^I < 0,001$), показатели АМФ повышены на 76% ($p^I < 0,001$). Относительно контрольной группы имеется отличие по показателям АТФ – они выше на 32% ($p^K < 0,05$). Применение ронколейкина при постишемическом повреждении ткани мозга при АСД привело к стабильному повышению относительно контрольной группы уровней АТФ на 137% ($p^K < 0,001$) и АДФ на 158% ($p^K < 0,001$) на фоне выраженного снижения АМФ – на 44% ($p^K < 0,01$).

Для углубленного анализа состояния энергообеспечения были оценены дополнительные параметры энергообмена. Показатель энергетического заряда в контрольной группе был снижен на 11%, что отражает значительное снижение степени заполнения высокоэнергетическими связями системы АТФ-АДФ-АМФ. Показатель энергетического потенциала в контрольной группе был повышен на 15%, что свидетельствует об изменении активности дыхательной цепи митохондрий.

В группе пирацетама отмечен незначительный рост относительно контроля показателей ЭЗ и ЭП, последний превысил контрольные показатели на 75% и интактные – на 23%. Применение ронколейкина привело к коррекции митохондриальных нарушений и нормализации показателей ЭЗ и ЭП, которые к 4-м суткам практически достигли уровня интактных животных ($p^K < 0,01$).

Сходная динамика отмечена относительно показателей ИФ и ТКД. В контрольной группе величина ИФ снижена на 47% ($p^I < 0,01$), что свидетельствует о нарушении соотношения между АТФ и пулом АДФ-АМФ. Показатель ТКД, отражающий зависимость активности

дыхательной цепи митохондрий от интенсивности фосфорилирования в целом, в контрольной группе снижен на 84% ($p^I < 0,001$).

Применение пирацетама у экспериментальных животных привело к росту относительно контрольной группы показателей ИФ и ТКД на 26% и 25%, однако относительно интактных животных эти показатели были ниже на 33% и 80% ($p^I < 0,01$). На фоне применения ронколейкина отмечено достоверное повышение относительно контроля показателей ИФ и ТКД в остром постишемическом периоде соответственно на 76% и 348% ($p^K < 0,001$), что указывает на коррекцию дисбаланса соотношения отдельных макроэргических фосфатов.

При АСД ишемическое повреждение ткани мозга приводит к ряду последовательных биохимических и патофизиологических изменений. Снижение мозгового кровотока ограничивает доступ к глиальным клеткам и нейронам кислорода и глюкозы, что нарушает процессы окислительного фосфорилирования, состояние митохондриальных ферментных комплексов и приводит к ряду регуляторных функционально-метаболических изменений [8]. При этом изменения в пуле макроэргов предшествуют изменениям других функционально-метаболических показателей жизнедеятельности клетки [1]. Формирование патологических молекулярных и биохимических изменений при СД происходит каскадообразно, при этом каждое патогенетическое звено подключается в четкой последовательности и имеет определенные временные границы влияния на развитие осложнений СД – ангиопатий и постишемических повреждений тканей. Для получения максимального протективного эффекта при лечении СД необходимо добиться прерывания патогенетического постгипоксического каскада на более ранних этапах, в том числе на этапе формирования энергетического дисбаланса в зонах постгипоксического повреждения тканей.

Выводы. Результаты нашего исследования подтверждают, что у крыс развитие экспериментального АСД сопровождалось типичными патофизиологическими признаками постгипоксического энергетического дефицита за счет формирования митохондриальной дисфункции. Доказано, что ронколейкин в дозе 0,01 мг/кг оказывает влияние на энергетическое состояние клеток головного мозга крыс с АСД. Под влиянием ронколейкина отмечено восстановление баланса высокоэргических макрофосфатов, активация синтеза АТФ, АДФ и увеличение их уровней на фоне снижения уровней прооксидантного АМФ. на изученной модели СД энерготропная активность ронколейкина превышает таковую пирацетама. Таким образом, ронколейкин является эффективным корректором патологических изменений энергетического метаболизма при СД и в перспективе может применяться в качестве антигипоксанта метаболитного действия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Губский Ю.И., Беленичев И.Ф., Павлов С.В. Токсикологические последствия окислительной модификации белков при различных

патологических состояниях (обзор литературы) // Совр. пробл. токсикол. – 2005. – № 3. – С. 20-26.

2. *Дедов И.И.* Сахарный диабет: развитие технологий в диагностике, лечении и профилактике (пленарная лекция) // Сахарный диабет. – 2010. – № 3 (48). – С. 6-13.

3. *Доклинические* исследования лекарственных средств: Методические рекомендации / Под ред. А.В. Стефанова. – К.: Авиценна, 2002. – 567 с.

4. *Кетлинский С.А., Симбирцев А.С.* Цитокины. – СПб.: Фолиант, 2008. – 552 с.

5. *Козлов В.К.* Сепсис: этиология, иммунопатогенез, концепция современной иммунотерапии. – К.: «АННА-Т», 2007. – 296 с.

6. *Крыжановский Г.Н., Магаева С.В., Макаров С.В. и др.* Нейроиммунопатология. Руководство. М.: Изд-во НИИ общей патологии и патофизиологии, 2003. – 438 с.

7. *Лукьянова Л.Д., Дудченко А.М.* Регуляторная роль митохондриальной дисфункции при гипоксии и ее взаимодействие с транскрипционной активностью // Вестник РАМН. – 2007. – № 2. – С. 3-13.

8. *Манухина Е.Б., Дауни Х.Ф., Маллет Р.Т., Малышев И.Ю.* Защищающие и повреждающие эффекты периодической гипоксии: роль оксида азота // Вестник Российской АМН. – 2007. – № 2. – С. 27-33.

9. *Мецлер Д.* Биохимия: в 3 т.: Пер. с англ. – М.: Мир, 1980. – Т. 2. Химические реакции в живой клетке. – 606 с.

10. *Петрищев Н.Е., Власов Т.Д.* Функциональное состояние эндотелия при ишемии-реперфузии (Обзор литературы) // Рос. физиол. журнал им. И.М. Сеченова. – 2000. – Т. 86, № 2. – С. 148-163.

11. *Прохорова М.И.* Современные методы в биохимии (углеводный и энергетический обмен). – Л.: Изд-во ЛГУ, 1986. – 368с.

12. *Nalcox J.* Endothelial dysfunction and prognosis // Circulation. – 2002. – Vol. 88, № 1. – P. 653-959.

**АНАЛИЗ ОРИГИНАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ
ТИОЛ-ДИСУЛЬФИДНОЙ СИСТЕМЫ
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ
Супрун Э.В., Пиминов А.Ф., Губченко Т.Д., Ролик С.Н.
Институт повышения квалификации специалистов фармации
Национального фармацевтического университета
г. Харьков, Украина
Кафедра общей фармации и безопасности лекарств**

Сахарный диабет (СД) – неуклонно прогрессирующее заболевание, поражающее преимущественно лиц зрелого возраста, которое быстро приводит к развитию системных сосудистых осложнений. Для СД характерны неуклонный рост заболеваемости, снижение качества жизни,