

УДК 615.015.23:615.21/26:577.175.14

**ДОСЛІДЖЕННЯ ГІПОУРИКЕМІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ
АНТАГОНІСТУ РЕЦЕПТОРІВ ІНТЕРЛЕЙКІНУ-1**

Щокіна Катерина Геннадіївна

д. фарм. н., професор,

Белік Галина Володимирівна

к. фарм. н., доцент,

Дроговоз Світлана Мефодіївна

д. мед. н., професор

Національний фармацевтичний університет

м. Харків, Україна

асуа@ukr.net

Анотація: В статті наведено результати експериментального дослідження гіпоурикемічної дії рекомбінантного антагоністу рецепторів інтерлейкіну-1 ралейкіну у співставленні з алопуринолом на моделі оксонат-індукованої гіперурикемії у щурів. Гіпоурикемічну активність досліджуваних препаратів оцінювали за наступними показниками: рівень сечової кислоти в крові та сечі, екскреція сечової кислоти. Для з'ясування стану видільної функції нирок визначали діурез за 2 години, інтенсивність виведення водного навантаження та екскрецію креатиніну. Отримані результати свідчать про наявність у ралейкіну не тільки гіпоурикемічних, але й урикозуричних властивостей на відміну від алопуринолу, який має урикодепресивну активність та не впливає на екскрецію сечової кислоти. З'ясовано також, що ралейкін чинить діуретичний ефект, до механізму дії якого долучається збільшення клубочкової фільтрації.

Ключові слова: гіперурикемія, рекомбінантний антагоніст рецепторів інтерлейкіну-1 (ралейкін), гіпоурикемічна, урикозурична дія, алопуринол.

Згідно з останніми епідеміологічними дослідженнями, розповсюдження підвищеного рівня сечової кислоти (СК) в плазмі крові (гіперурикемії) становить у середньому 2-12% (до 25%) у світовій популяції [1, с. 319]. Подагра – ге-

терогенне за походженням захворювання, яке характеризується порушенням пуринового обміну та відкладенням у різних тканинах кристалів уратів у формі моноурату натрію чи СК, є одним з найпоширеніших захворювань суглобів у людей похилого віку. Також відомо, що підвищений вміст сечової кислоти в крові є складовим фактором метаболічного синдрому, фактором ризику розвитку гострої та хронічної ниркової недостаточності, артеріальної гіпертензії, порушень мозкового кровообігу, інсулінорезистентності [2, с. 25; 3, с. 862, с. 82; 5, с. 613].

Корекція гіперурикемії здійснюється за допомогою урикодепресивних та урикозуричних засобів. Еталонним урикодепресивним препаратом є алопуринол. Він пригнічує ксантиноксидазу, яка бере участь у перетворенні гіпоксантину на ксантин та ксантину на СК, що гальмує утворення уратів, знижує їх концентрацію в крові, суглобах та нирках [6, с. 88; 7, с. 2451]. Але вживання алопуринолу може призвести до загострення захворювання на початку лікування, також можливе виникнення диспепсичних явищ, еозинофілії, алергічних реакцій, гіпертермії [7, с. 2452]. До основних урикозуричних засобів, що збільшують виведення сечової кислоти нирками, належать пробенецид, сульфінпіразон, бензбромарон, етамід і колхіцін. Використання урикозуричних засобів обмежене, їх призначають як альтернативу алопуринолу при нирковому типі гіперурикемії з недостатнім виведенням сечової кислоти, але лише за відсутності хронічної ниркової недостатності, уролітіазу, захворювань печінки та шлунково-кишкового тракту. При гіперпродукції уратів, зниженні діурезу і наявності ниркових конкрементів урикозуричні засоби зумовлюють збільшення виділення сечової кислоти нирками, сприяють випадінню її кристалів у сечовивідних шляхах, викликаючи напади ниркової кольки [9, с. 5]. Отже, створення ефективних та безпечних препаратів з урикозуричною та гіпоурикемічною дією є актуальним завданням.

Згідно сучасних уявлень про патогенез гіперурикемії, підвищення рівня сечової кислоти є наслідком активності інфламасом - білків імунної системи, які спричиняють розвиток запального процесу [10, с. 927; 11, с. 1209]. Інфлама-

сома Nalp3 розщеплює неактивну молекулу про-каспазу, активатором якої є кріопірин [12, с. 12]. Активний фермент розщеплює молекули про-інтерлейкіну-1 та сприяє вивільненню інтерлейкіну-1 бета, який володіє потужною прозапальною дією [13, с. 28; 14. с. 475]. Оскільки доведена важлива роль інтерлейкіну-1 у розвитку гіперурикемії та подагри, було цікавим дослідити гіпоурикемічну дію антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1.

При дослідженні гіпоурикемічних засобах на гризунах, які, на відміну від людини, перетворюють СК на алантоїн за допомогою ферменту урикази, викликає необхідність інгібувати цей фермент [15, с. 357].

Мета дослідження - експериментальне вивчення впливу рекомбінантного антагоністу рецепторів інтерлейкіну-1 на перебіг гіперурикемії експериментальних тварин. В якості об'єкта дослідження використано оригінальний антагоніст рецепторів інтерлейкіну-1 (ралейкін), отриманий у Санкт-Петербурзькому науково-дослідному інституті особливо чистих біопрепаратів.

Матеріали на методи дослідження. Вивчення гіпоурикемічної дії ралейкіну проводили у співставленні з препаратом порівняння алопуринолом у дозі 10 мг/кг на білих щурах самцях масою 170-200 г на моделі гіперурикемії, яку відтворювали шляхом внутрішньоочеревинного введення оксонату калію (Aldrich, Німеччина) в дозі 250 мг/кг. Через 2 год. відбирали проби крові з судин кінчика хвоста та визначали видільну функцію нирок в умовах водного діурезу; водне навантаження (3% від маси тіла) вводили внутрішньошлунково [16, с. 2232; 17, с. 91].

Лабораторних тварин розподілили на 4 групи відповідно до препарату, що вони одержували: 1 та 3 – групи контрольної патології, які одержували оксонат калію в дозі 250 мг/кг; 2 – тварини, яким вводили підшкірно ралейкін в дозі 3 мг/кг та оксонат калія в дозі 250 мг/кг; 4 – щури, яким вводили алопуринол в дозі 10 мг/кг та оксонат калію.

Гіпоурикемічну дію ралейкіну та референс-препарату оцінювали за наступними показниками: рівень СК в крові та сечі, екскреція СК. Для з'ясування стану видільної функції нирок визначали діурез за 2 год., інтенсивність виведен-

ня водного навантаження та екскрецію креатиніну, яка за умов його незмінного рівня в крові є мірою швидкості клубочкової фільтрації [18, с. 82].

Вміст СК в біологічних рідинах визначали за реакцією з фосфорновольфрамовим реактивом, креатиніну – за реакцією Яффе за допомогою стандартних наборів ВТ «Реагент» (Україна) [19, с. 113]. Екскрецію СК та креатиніну розраховували за наступними формулами:

$$E_{ua} = U_{ua} \times V,$$

де E_{ua} – екскреція сечової кислоти, мкмоль/100 г за період дослідження, %,

U_{ua} – концентрація сечової кислоти в сечі, мкмоль/мл,

V – діурез, мл/100 г за період дослідження.

$$E_{cr} = U_{cr} \times V,$$

де E_{cr} – екскреція креатиніну, мкмоль/100 г за період дослідження, %,

U_{cr} – концентрація креатиніну в сечі, мкмоль/мл,

V – діурез, мл на 100 г за період дослідження.

У разі обліку результатів у вигляді середня ± стандартна помилка статистичну достовірність міжгрупових відмінностей розраховували за критерієм t Ст'юдента, внутрішньогрупових – за парним критерієм Вілкоксона; у разі реєстрації результатів в альтернативній формі – за кутовим перетворенням Фішера.

Результати та їх обговорення. Аналіз даних в табл. 1 свідчить, що ралейкін протидіяв розвитку гіперурикемії - концентрація СК в крові піддослідних тварин була достовірно меншою, ніж у групі контрольної патології (урикемія в групі контрольної патології зросла в 8,7 разу, тимчасом як на тлі ралейкіну – у 3,8 разу). Введення алопуринолу сприяло зменшенню концентрації СК в крові щурів в 1,4 разу, що майже в 3 рази поступається дії ралейкіну (табл. 2).

Екскреція СК в групі щурів, що отримували ралейкін, збільшилась в 2,4 разу ($p < 0,001$), що достовірно вище аналогічного показника в групі контрольної патології. Це відрізняє дію ралейкіну від алопуринолу, застосування якого сприяло зниженню екскреції сечової кислоти в 1,4 разу порівняно з контрольною патологією.

Таблиця 1

**Вплив ралейкіну на концентрацію сечової кислоти в крові,
ниркову екскрецію сечової кислоти та креатиніну**

Показник	Контрольна патологія (калію оксонат), n=5		Ралейкін в дозі 3 мг/кг, n=5	
	Вихідний стан	Після введення калію оксонату	Вихідний стан	Після введення калію оксонату
Вміст СК в плазмі крові, ммоль/л	0,035±0,01	0,303±0,03*	0,038±0,008	0,214±0,01*
Збільшення урикемії, %	766±255		463±108*	
Діурез, мл/100 г за 2 год.	1,88±0,25	1,75±0,3	2,47±0,19	3,83±0,56#
Виведення водного на- вантаження, %	62,7	58,3	82,3	128,0
Екскреція СК, мкмоль/100 г за 2 год.	0,93±0,18	1,69±0,3	0,93±0,07	2,25±0,14#^
Збільшення екскреції СК, %	152±33		246±16*	
Екскреція креатиніну, мкмоль/100 г за 2 год.	3,13±0,49	2,07±0,31	2,33±0,24	4,26±0,57#^

Примітка: * - достовірно відносно вихідного стану ($p \leq 0,05$); # - достовірно відносно групи контрольної патології ($p \leq 0,05$); ^ - достовірно відносно алопуринолу ($p \leq 0,05$) (див. табл. 2).

Останнє узгоджується з механізмом дії алопуринолу, як відомо, пов'язаним зі зменшенням синтезу сечової кислоти внаслідок інгібування ферменту ксантинооксидази, що порушує перетворення гіпоксантину на ксантин і далі в СК. Тобто, алопуринол має урикодепресивну активність та не впливає на екскрецію сечової кислоти (не чинить урикозуричної дії). Отримані дані дослідження свідчать про наявність у ралейкіну не тільки гіпоурикемічної, але й урикозуричної активності.

Таблиця 2

**Вплив алопуринолу на концентрацію сечової кислоти в крові,
ниркову екскрецію сечової кислоти та креатиніну**

Показник	Контрольна патологія (калію оксонат), n=8		Алопуринол 10 мг/кг, n=7	
	Вихідний стан	Після введення калію оксонату	Вихідний стан	Після введення калію оксонату
Вміст СК в плазмі крові, ммоль/л	0,078±0,008	0,259±0,024*	0,064±0,007	0,177±0,023*
Збільшення урикемії, %	256±50		181±34	
Діурез, мл/100 г за 2 год.	1,80±0,46	2,28±0,38	2,31±0,26	2,27±0,27
Виведення водного навантаження, %	60,0	76,0	77,0	75,7
Екскреція СК, мкмоль/100 г за 2 год.	0,89±0,10	9,43±1,78*	0,84±0,10	6,40±1,16#
Збільшення екскреції СК, %	1040±271		737±191	
Екскреція креатиніну, мкмоль/100 г за 2 год.	1,90±0,23	2,12±0,35	2,73±0,28	1,89±0,26#

Примітка: * - достовірно відносно вихідного стану ($p \leq 0,05$); # - достовірно відносно групи контрольної патології ($p \leq 0,05$); ^ - достовірно відносно алопуринолу ($p \leq 0,05$).

В групі тварин, які одержували ралейкін, на відміну від контрольної патології та тварин, лікованих алопуринолом, спостерігалось збільшення діурезу в 1,4 разу в порівнянні з вихідним станом тварин ($p < 0,05$). Також у групі тварин, які одержували ралейкін, у порівнянні з вихідним станом було зафіксоване достовірне підвищення екскреції креатиніну в 1,8 разу, що свідчить про участь збільшення клубочкової фільтрації в механізмі діуретичного ефекту. Введення аллопуринолу не сприяло збільшенню діурезу та не впливало на екскрецію креатиніну, що відповідає його відомим фармакологічним властивостям.

У попередніх дослідженнях встановлено, що ралейкін чинить потужну протизапальну та антиоксидантну дію [20, с. ; 21, с. 1115; 22, с. 307; 23, с. 1760]. Поєднання гіпоурикемічної, урикозуричної та протизапальної активностей у ралейкіну є надзвичайно корисним для лікування подагри, в патогенезі якої запалення відіграє значну роль, а в лікуванні переважно використовуються препарати, що мають велику кількість побічних ефектів: НПЗЗ та глюкокортикостероїди [24, с. 68].

Висновки. Таким чином, вперше отримано експериментальне обґрунтування протиподагричної дії антагоністу рецепторів інтерлейкіну-1 (ралейкіну), яка, на відміну від алопуринолу, складається з гіпоурикемічного, урикозуричного та, за даними попередніх досліджень, протизапального і антиоксидантного ефектів, і може бути рекомендований для застосування в якості ефективного засобу для лікування гіперурикемії та подагри.

Список літератури

1. Wortmann R. L. Recent advances in the management of gout and hyperuricemia // *Curr. Opin. Rheumatol.* — 2005. - Vol. 17. — P. 319-324.
2. Feig D.I., Rodriguez-Iturbe B., Nakagawa T., Johnson R.J. Nephron number, uric acid, and renal microvascular disease in the pathogenesis of essential hypertension // *Hypertension.* – 2006. – Vol. 48 (1). – P. 25-26.
3. Hotamisligil G.S. Inflammation and metabolic disorders // *Nature.* - 2006. – Vol. 444. – P. 860-867.
4. Nakagawa T., Tuttle K.R., Short R.A., Johnson R.J. Hypothesis: fructose-induced hyperuricemia as a casual mechanism for the epidemic of the metabolic syndrome // *Nat. Clin. Pract. Nephrol.* – 2005. - Vol. 1, №2. – P. 80-86.
5. Reginato, A. M. et al. The genetics of hyperuricaemia and gout // *Nat Rev Rheumatol.* – 2012. - № 8. – P. 610–621.

6. Pacher P., Nivorozhkin A., Szabo C. Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: renaissance half a century after the discovery of allopurinol // *Pharmacol. Rev.* — 2006.— Vol.58. — P.87-114.
7. Besker M.A., Schumacher H.R., Wortmann R.L. et al. Febuxostat compared with allopurinol in patients with hyperuricemia // *N. Engl. J. Med.* — 2005. — Vol. 353 (23). — P. 2450-2461.
8. Terkeltaub R., Bushinsky D.A., Besker M.A. Recent developments in our understanding of the renal basis of hyperuricemia and development of novel antihyperuricemic therapeutics // *Arthritis Res. Ther.* — 2006. — № 8 (Suppl. 1) — P. 4-7.
9. Harris M.D., Siegel L.B., Alloway J.A. Gout and hyperuricemia // *Am. Fam. Physician.* — 1999. - № 15. — P. 925-934.
10. Randle J.C., Harding M.W., Ku G. et al. ICE/Caspase-1 inhibitors as novel anti-inflammatory drugs // *Expert Opin. Investig. Drugs.* — 2001. — № 10 (7). — P. 1207-1209.
11. Martinon F., Tschopp J. Inflammatory caspases and inflammasomes: master switches of inflammation // *Cell Death Differ.* — 2007. - № 14. — P.10–22.
12. So A., De Smedt T., Revaz S., Tschopp J. A pilot study of IL-1 inhibition by anakinra in acute gout // *Arthritis Res. Ther.* — 2007. — № 9 (2). — P. 28.
13. Kim, S. K. et al. Rebamipide Suppresses Monosodium Urate Crystal-Induced Interleukin-1 β Production Through Regulation of Oxidative Stress and Caspase-1 in THP-1 Cells // *Inflammation.* — 2016. - № 39. — P. 473–482.
14. Watanabe S., Kang D.H., Feng L. et al. Uric acid, hominoid evolution, and the pathogenesis of salt-sensitivity // *Hypertension.* — 2002. — Vol. 40 (3). — P. 355-360.
15. Mai Thanh, Thi Ngulen, Surech Awale et al. Hypouricemic Effects of Acacetin and 4,5-O-Dicaffeoylquinic acid Methyl on Serum Uric Acid Levels in Potassium Oxonate-Pretreated Rats // *Biol. Pharm. Bull.* — 2005. - №12, Vol. 28. — P. 2231-2234.
16. Штрыголь С.Ю. Модуляція фармакологічних ефектів при різних солевих режимах. — Харків: Ависта-ВЛТ, 2007. — 360 с.

17. Nagura, M. et al. Uric acid metabolism of kidney and intestine in a rat model of chronic kidney disease // *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. – 2016. - № 35. – P. 550–558.
18. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск: «Беларусь», 1982. – 366 с.
19. Щокіна К.Г. Органотропні ефекти рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 (експериментальне дослідження): ... дис. на здобуття наук. ступеня докт. фарм. наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія / К.Г. Щокіна. – Харків, 2011. – 440 с.
20. Furst, D. E., Keystone, E. C., Kirkham et al. Updated consensus statement on biological agents for the treatment of rheumatic diseases // *Ann Rheum Dis*. - 2008. - N67. – P. 1112-1125.
21. T. Lequerré, P. Quartier, D. Rosellini et al. Interleukin-1 receptor antagonist (anakinra) treatment in patients with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis or adult onset Still disease: preliminary experience in France / *Annals of the Rheumatic Diseases*. – 2008. - № 67. – P. 302-308.
22. Zamudio-Cuevas, Y. et al. Molecular basis of oxidative stress in gouty arthropathy // *Clin Rheumatol*. – 2015. - № 34. – P. 1667–1672.
23. Gartlehner G., Hansen R.A., Jonas B.L. et al. Biologics for the treatment of juvenile idiopathic arthritis: A systematic review and critical analysis of the evidence // *Clin Rheumatol*. – 2008. - № 27(1). – P. 67-76.