УДК 615.252.349.7:616.349-008.64

І. П. Бухтіярова*, К. Г. Щокіна, С. М. Дроговоз

** Донецький національний медичний університет ім. Максима Горького*
Національний фармацевтичний університет

ВПЛИВ РАЛЕЙКІНУ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ НЕФЕРМЕНТАТИВНОГО ГЛІКОЗИЛЮВАННЯ ТА ЛІПІДНИЙ ОБМІН НА МОДЕЛІ МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ У ЩУРІВ

Метаболічний синдром (МС) є однією з важливих медико-соціальних проблем сучасності. Результати досліджень останніх років довели, що одним з важливих факторів формування МС є наявність системного запалення в організмі. Вищезазначене свідчить про провідну роль прозапальних цитокінів, а саме, ІЛ-1 та ФНП-α у розвитку МС та його ускладнень. Тому препарати, здатні гальмувати синтез та активність ІЛ-1, є перспективними засобами для лікування МС та ЦД. В статті наведені результати дослідження впливу оригінального рекомбінантного рецепторного антагоніста ІЛ-1 ралейкіну на інтенсивність початкових реакцій неферментативного глікозилювання та ліпідний обмін тварин на тлі модельного МС. Визначено, що в умовах інсулінорезистентності, викликаної хронічним введенням фруктози, ралейкін в дозі 7 мг/кг ефективно гальмує інтенсивність початкових реакцій неферментативного глікозилювання, сприяє нормалізації рівня гемоглобіну та відновленню ліпідного обміну. За позитивним впливом на рівень фруктозаміну, гемоглобіну, глікозильованого гемоглобіну, холестеролу, ліпопротеїдів низької та дуже низької щільності в сироватці крові тварин ралейкін не поступається референс-препарату анакінра та переважає метформін. Тобто, ралейкін є перспективним препаратом для застосування в комплексній терапії МС.

Ключові слова: метаболічний синдром; гіпоглікемічна, гіполіпідемічна дія; ралейкін; анакінра

ВСТУП

Метаболічний синдром (МС) є однією з важливих медико-соціальних проблем сучасності. Поширеність МС в два рази перевищує поширеність цукрового діабету (ЦД), на цю недугу страждає близько 25 % дорослого населення, і в найближчі 25 років очікується збільшення темпів його росту на 50 % [10].

Однією з домінантних складових МС є абдомінально-вісцеральне ожиріння. Це пов'язано з ендокринною та паракринною функціями жирової тканини, секрецією протеїну Вс 1-2, нейронально-апоптозінгібувального протеїну, секрецією лептину, медіатора інсулінорезистентності, фактором некрозу пухлини альфа (ФНП-α), який стимулює синтез інтерлейкінів (ІЛ) 1 і 6 [1, 15, 18, 19, 21]. Отже, збільшення обсягів адипоцитів і інфільтрація жирової тканини макрофагами приводять до вивільнення прозапальних цитокінів і сприяють розвитку резистентності до інсуліну [6, 8, 20]. Беручи до уваги провідну роль інсулінорезистентності в маніфестації МС, його фармакотерапія, в першу чергу, повинна бути спрямована на підвищення чутливості тканин до дії інсуліну. Результати досліджень останніх років довели також, що одним з важливих факторів формування МС є наявність системного запалення в організмі [10, 17]. Вищезазначене свідчить про провідну роль прозапальних цитокінів, а саме, ІЛ-1, ІЛ-6 та ФНП-α у розвитку МС та його ускладнень. Зокрема, ІЛ-1 здатен пригнічувати стимульовану глюкозою секрецію інсуліну, що призводить до індукції апоптозу β-клітин [2, 13]. Тому препарати, які здатні гальмувати синтез та активність ІЛ-1, нормалізувати функціональну активність β-клітин підшлункової залози та підвищувати чутливість тканин до інсуліну, є перспективними засобами для лікування МС та ЦД.

Відомо, що в основі патогенезу ускладнень ЦД (тромбози, атеросклероз, ниркова недостатність, катаракта тощо) лежать процеси неферментативного глікозилювання. Утворення продуктів раннього та посиленого глікозилювання починається з формування ковалентного зв'язку між альдегідною групою молекули глюкози та реактивною аміногрупою протеїнів, яка найчастіше локалізована на N-кінці лізинового фрагменту. Альдимінозв'язана основа Шифа є нестабільною сполукою та повільно перетворюється на більш стійкі продукти Амадорі (фруктозолізин),

© Бухтіярова І. П., Щокіна К. Г., Дроговоз С. М., 2015

Таблиця 1

ВПЛИВ РАЛЕЙКІНУ НА КОНЦЕНТРАЦІЮ ПОЧАТКОВИХ ПРОДУКТІВ НЕФЕРМЕНТАТИВНОГО ГЛІКОЗИЛЮВАННЯ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ З МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ (n = 7)

Група тварин	Фруктозамін, ммоль/л	Hb, г/л	$HbA1_C$, г/л	$HbA1_C$, %
Інтактний контроль	1,4 ± 0,1	144,4 ± 9,8	9,6 ± 0,6	7,5 ± 0,9
Контрольна патологія	2,1 ± 0,1*	109,7 ± 9,0*	16,0 ± 1,1*	8,7 ± 0,8
Ралейкін,7 мг/кг	1,7 ± 0,1**	140,8 ± 8,5**	10,8 ± 0,5**#	8,4 ± 0,7
Метформін, 30 мг/кг	1,9 ± 0,1*/**	123,7 ± 7,4	13,3 ± 0,6*/**	9,0 ± 0,7
Анакінра, 8 мг/кг	1,6 ± 0,1**	138,4 ± 7,9**	10,5 ± 0,5**#	8,4 ± 0,3

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

до яких належить HbA_{1c} та фруктозамін [6]. Неферментативне приєднання глюкози до білка спочатку призводить до оборотних, а згодом – до необоротних метаболічних порушень [5, 6].

Враховуючи наявність у рекомбінантного антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну антиоксидантних властивостей та визначеної у попередніх дослідженнях гіпоглікемічної дії [2, 3], інтерес становило вивчення його впливу на інтенсивність початкових реакцій неферментативного глікозилювання, що призводять до утворення продуктів Амадорі – гликозильованого гемоглобіну (HbA_{1c}) та фруктозаміну, а також дослідження його впливу на ліпідний обмін тварин на тлі модельного МС.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Модельну патологію відтворювали за допомогою введення білим безпородним щурам-самцям масою 220-280 г фруктози в дозі 200 мг/л з питною водою протягом двох місяців [7].

В якості референс-препаратів було обрано метформін (діаформін виробництва ВАТ «Фармак», табл. 0,5 г) та анакінра (кінерет виробництва «Swedish Orphan Biovitrum» (Швеція), пор. д/і 0,1 г). Вибір препаратів порівняння зумовлений тим, що метфомін є еталонним гіпоглікемічним препаратом, який входить до стандартів лікування ЦД обох типів [12], а анакінра – рекомбінантний антагоніст рецепторів ІЛ-1 з доведеною гіпоглікемічною активністю, який є аналогом досліджуваного препарату [2-4].

Досліджувані препарати вводили в профілактично-лікувальному режимі з першої доби відтворення модельної патології протягом 2 місяців 1 раз на добу: ралейкін в дозі 7 мг/кг та анакінра в дозі 8 мг/кг – підшкірно [2-4], метформін в дозі 30 мг/кг – внутрішньошлунково [5, 11]. Після останнього введення фруктози та досліджуваних препаратів (62 доба експерименту) тварин виводили з експерименту в стані евтаназії та збирали кров для біохімічних досліджень.

Вплив досліджуваних речовин на інтенсивність початкових реакцій неферментативного глікозилювання оцінювали за вмістом фруктозаміну, гемоглобіну (Hb) та HbA_{1c} в сироватці крові щурів. Для оцінки впливу препаратів на ліпідний обмін в сироватці крові тварин визначали рівень холестеролу (ХС), ліпопротеїдів високої (ЛПВЩ), низької (ЛПНЩ) та дуже низької (ЛПДНЩ) щільності. Рівень $HbA1_c$ в крові визначали колориметричним методом за реакцією з тіобарбітуровою кислотою, вміст фруктозаміну – за методом Johnson R.N. [7, 9]. Вміст показників гіперліпідемії (ХС, ЛПДНЩ, ЛПНЩ, ЛПВЩ) визначали за допомогою тест-наборів фірми «Lachema», використовуючи напівавтоматичний біохімічний аналізатор ФП-901.

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

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження наведені в табл. 1-2.

Існує гіпотеза, згідно з якою хронічне надходження фруктози до організму експериментальних тварин впливає на активність ферментів, які регулюють метаболізм вуглеводів у печінці, зокрема, активність глюкокінази знижується, а активність глюкозо-6-фосфатази зростає. Вищезазначені зміни сприяють збільшенню продукції печінкою глюкози і призводять до розвитку печінкової інсулінорезистентності [5, 7].

Крім того, на тлі тривалого введення фруктози підвищується концентрація фруктозаміну в сироватці крові тварин, що спричиняє утворення продуктів неферментативного глікозилювання, а також за рахунок глікозилювання відповідних ферментів, розвитку оксидативного стресу [3, 5].

Рівень фруктозаміну в сироватці крові щурів групи контрольної патології на 62 добу дослідження достовірно збільшився у півтора рази порівняно з показником групи інтактного контролю (табл. 1). Вміст Hb в сироватці крові тварин групи контрольної патології достовірно зменшився в 1,3 рази, вміст $HbA1_C$ збільшився в 1,7 рази, що склало 1,2 % порівняно з показниками в групі інтактного контролю. Отримані результати свідчать про зростання інтенсивності початкових реакцій неферментативного глікозилювання [5].

Таблиця 2

ВПЛИВ РАЛЕЙКІНУ НА ПОКАЗНИКИ ЛІПІДНОГО ОБМІНУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ З МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ (n = 7)

Група тварин	ХС, мг/дл	ЛПВЩ, мг/дл	ЛПНЩ, мг/дл	ЛПДНЩ, мг/дл
Інтактний контроль	46,2 ± 3,6	13,9 ± 1,0	21,1 ± 1,9	8,2 ± 0,3
Контрольна патологія	64,0 ± 4,4*	8,1 ± 0,4*	43,3 ± 3,5*	13,1 ± 0,7*
Ралейкін, 7 мг/кг	48,3 ± 3,0**	12,0 ± 0,6**	26,7 ± 2,5**#	8,9 ± 0,4**#
Метформін, 30 мг/кг	57,3 ± 3,7	10,6 ± 0,4*/**	35,4 ± 2,6*	10,3 ± 0,4*/**
Анакінра, 8 мг/кг	50,1 ± 2,9**	12,7 ± 0,6**#	29,1 ± 2,2*/**	9,2 ± 0,4**#

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

Застосування досліджуваних речовин сприяло гальмуванню утворення продуктів Амадорі, тобто знижувало інтенсивність реакцій неферментативного глікозилювання. Так, на тлі ралейкіну рівень фруктозаміну в сироватці крові експериментальних тварин достовірно знизився в 1,2 рази, під дією анакінра – в 1,3 рази, вміст $HbA1_C$ знизився в 1,5 та 1,2 рази відповідно у порівнянні з показниками в групі контрольної патології. Вищезазначені показники в групах щурів, яких лікували ралейкіном та анкінра, достовірно не відрізнялись один від одного та від показників групи інтактного контролю. Метформін також достовірно знижував рівні фруктозаміну та $HbA1_C$ в сироватці крові щурів в 1,1 та 1,2 рази відповідно, але при цьому вищезазначені показники достовірно відрізнялись від показників групи інтактного контролю [16].

Можна припустити, що в умовах МС фармакологічна дія ралейкіну проявляється не тільки внаслідок блокування рецепторів ІЛ-1 в підшлунковій залозі, а ще й за рахунок гальмування утворення продуктів неферментативного глікозилювання. Імовірно, здатність ралейкіну пригнічувати синтез продуктів Амадорі ($HbA1_c$, фруктозамін) може також бути одним з аспектів механізму реалізації його ангіопротекторних властивостей за умов МС [3, 5, 7].

Тривале введення тваринами фруктози призвело також до розвитку інших порушень, притаманних МС, а саме до порушень ліпідного обміну [7, 10]. Так, у групі контрольної патології вміст ХС в сироватці достовірно збільшився в 1,4 рази, рівень ЛПДНЩ – в 1,6 рази, ЛПНЩ – в 2,1 рази, вміст ЛПВЩ знизився в 1,7 рази порівняно з відповідними показниками в групі інтактного контролю (табл. 2).

Застосування досліджуваних речовин сприяло достовірному покращенню основних показників ліпідного обміну. На тлі ралейкіну вміст ХС знизився в 1,3 рази порівняно з показником у групі контрольної патології, вміст ЛПДНЩ зменшився в 1,5 рази, ЛПНЩ – в 1,6 рази, вміст ЛПВЩ збільшився в 1,6 рази порівняно з показниками групи контрольної патології.

Всі показники ліпідного обміну в групі щурів, які отримували ралейкін, достовірно не відрізнялись від показників групи інтактного контролю, що підтверджує наявність у досліджуваного препарату виявлених у попередніх дослідженнях потужних гіполіпідемічних та гіпохолестеринемічних властивостей [14]. Під впливом анакінра вміст ХС в сироватці крові експериментальних тварин зменшився в 1,3 рази, рівень ЛПДНЩ – в 1,4 рази, ЛПНЩ – в 1,5 рази, вміст ЛПВЩ зріс в 1,6 рази. Достовірних відмінностей у вираженості гіполіпідемічної та гіпохолестеринемічної дії ралейкіну та анакінра не зафіксовано. Під дією метформіну спостерігалась достовірна нормалізація вмісту ЛПВЩ та ЛПДНЩ (в середньому в 1,3 рази порівняно з відповідними показниками групи контрольної патології). Метформін виявив лише тенденцію до нормалізації вмісту ХС та ЛПНЩ в сироватці крові тварин.

Таким чином, проведені дослідження дозволяють зробити висновок про те, що в умовах інсулінорезистентності, викликаної хронічним введенням фруктози, антагоніст рецепторів інтерлейкіну-1 ралейкін в дозі 7 мг/кг ефективно гальмує інтенсивність початкових реакцій неферментативного глікозилювання, про що свідчить достовірне зниження вмісту продуктів Амадорі, та сприяє нормалізації рівня гемоглобіну та відновленню ліпідного обміну. За позитивним впливом на рівень фруктозаміну, гемоглобіну, глікозильованого гемоглобіну, холестеролу, ліпопротеїдів низької та дуже низької щільності в сироватці крові експериментальних тварин ралейкін не поступається дії референс-препарату анакінра та переважає метформін. Тобто, оригінальний рекомбінантний антагоніст рецепторів ІЛ-1 ралейкін є перспективним препаратом для застосування в комплексній терапії МС.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Бутрова С. А. Висцеральное ожирение – ключевое звено метаболического синдрома / С. А. Бутрова, Ф. Х. Дзогоева // Ожирение и метабол. – 2004. – № 1. – С. 10-16.
2. Бухтіярова І. П. Вплив ралейкіну на показники глюкозного гомеостазу щурів за умов порушеної толерантності до вуглеводів / І. П. Бухтіярова, С. М. Дроговоз, О. М. Іщенко // Укр. журн. клін.

та лабораторної медицини. – 2013. – Т. 8, № 4. – С. 183-186.

3. Бухтіярова І. П. Експериментальне вивчення впливу ралейкіну на перебіг дитизонового діабету в кролів / І. П. Бухтіярова, С. М. Дроговоз, Є. М. Коваленко // Клінічна фармація. – 2014. – Т. 18, № 1. – С. 18-22.
4. Бухтиярова И. П. Влияние ралейкина на выживаемость животных и липидный обмен в условиях аллоксанового диабета у крыс / [И. П. Бухтиярова, И. М. Дроговоз, Е. Г. Щекина и др.] // Научные ведомости Белгородского государственного университета. – 2014. – № 11 (182), вып. 26/1. – С. 131-135.
5. Горбенко Н. І. Патогенетичне обґрунтування ефективності похідного янтарної кислоти – фенсукциналу у терапії цукрового діабету та його судинних ускладнень: дис. …. докт. біол. наук. – Х., 2004. – 331 с.
6. Дедов И. И. Ожирение, руководство для врачей / И. И. Дедов, Г. А. Мельниченко. – М.: МИА, 2004. – 450 с.
7. Доклінічні дослідження лікарських засобів: [метод. рекоменд.] / За ред. чл.-кор. НАМН України О. В. Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.
8. Кайдашев И. П. Аутоиммунные повреждения панкреатических островков при сахарном диабете / И. П. Кайдашев // Клин. иммунол. Аллергол. Инфектол. – 2013. – № 1. – С. 12-15.
9. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. / В. С. Камышников. – Мн: Беларусь, 2002. – Т. 1. – 495 с.; Т. 2. – 463 с.
10. Котовская Ю. В. Метаболический синдром: прогностическое значение и современные подходы к комплексной терапии / Ю. В. Котовская // Сердце. –2005. –Т. 4, №5 (23). – С. 236 242.
11. Полторак В. В. Вплив метформіну на розвиток інсулінорезистентності, індукованої дексаметазоном у щурів / [В. В. Полторак, Н. І. Горбенко, О. В. Іванова и др.] // Ендокринол. – 2000. – Т. 5, № 2. – С. 249-251.
12. Полторак В. В. Стандарт современных пероральных антидиабетических препаратов / В. В. Полторак // Medicus Amicus. – 2005. – № 5. – С. 16.
13. Симбирцев А. С. Медицинские препараты на основе белков семейства интерлейкина-1 / А. С. Симбирцев // В кн.: Справочник по иммунотерапии для практического врача. – С.Пб.: Изд-во «Диалог», 2002. – С. 152-165.
14. Щокіна К. Г. Експериментальне вивчення антиоксидантної та гіполіпідемічної дії рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 / К. Г. Щокіна, С. Ю. Штриголь, Ю. В. Столєтов, О. М. Іщенко // Вісник фармації. – 2010. – № 3 (63). – С. 79-82.
15. Aldhahi W. Adipokines, inflammation, and the endothelium in diabetes / W. Aldhahi, O. Hamdy // Curr. Diab. Rep. – 2003. – Vol. 3 (4). – P. 293-298.
16. Beisswenger P. Metformin inhibition of glycation processes / P. Beisswenger, D. Ruggiero-Lopez // Diabetes Metabol. – 2003. – Vol. 29, № 4. – P. 6S95-6S103.
17. Brent E. W. The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity / E. W. Brent // J. Am. Soc. Nephrol. – 2004. – Vol. 15. – P. 2792-2800.
18. Esposito K. Obesity, cytokines and endothelial dysfunction: a link for the raised cardiovascular risk associated with visceral obesity / K. Esposito, G. Nicoletti, D. Giugliano // J. Endocrinol. Invest. – 2002. – № 25. – P. 646-649.
19. Hoene M. The role of interleukine-6 in insulin resistence, body fat distribution and energy balance / M. Hoene, C. Weigert // Obesity Rew. – 2008. – № 9. – P. 20-29.
20. Lagathu C. Long-term treatment with interleukin-1β induces insulin resistance in murine and human adipocytes / [C. Lagathu, L. Yvan-Charvet, J. P. Bastard et al.] // Diabetologia. – 2006. – № 49. – P. 2162-2173.
21. Papanicolaou D. Interleukin-6: the endocrine cytokine / D. Papanicolaou // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2000. – Vol. 85. – P. 1331-1333.

УДК 615.252.349.7:616.349-008.64

И. П. Бухтиярова, Е. Г. Щекина, С. М. Дроговоз

ВЛИЯНИЕ РАЛЕЙКИНА НА ИНТЕНСИВНОСТЬ НЕФЕРМЕНТАТИВНОГО ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЯ И ЛИПИДНЫЙ ОБМЕН НА МОДЕЛИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА У КРЫС

Метаболический синдром (МС) является одной из важных медико-социальных проблем современности. Результаты исследований последних лет показали, что одним из важных факторов формирования МС является наличие системного воспаления в организме. Вышеперечисленное свидетельствует о ведущей роли провоспалительных цитокинов, а именно, ИЛ-1 и ФНО-α в развитии МС и его осложнений. Поэтому препараты, способные тормозить синтез и активность ИЛ-1, являются перспективными средствами для лечения МС и СД. В статье приведены результаты исследования влияния оригинального рекомбинантного рецепторного антагониста ИЛ-1 ралейкина на интенсивность начальных реакций неферментативного гликозилирования и липидный обмен животных на фоне модельного МС. Определено, что в условиях инсулинорезистентности, вызванной хроническим введением фруктозы, ралейкин в дозе 7 мг/кг эффективно термозит интенсивность начальных реакций неферментативного гликозилирования, способствует нормализации уровня гемоглобина и восстановлению липидного обмена. По положительному влиянию на уровень фруктозамина, гемоглобина, гликозилированного гемоглобина, холестерола, липопротеидов низкой и очень низкой плотности в сыворотке крови животных ралейкин не уступает референс-препарату анакинра и превосходит метформин. То есть, ралейкин является перспективным препаратом для применения в комплексной терапии МС.

Ключевые слова: метаболический синдром; гипогликемическое, гиполипидемическое действие; ралейкин; анакинра

UDC 615.252.349.7:616.349-008.64

I. P. Bukhtiyarova, K. G. Shchokina, S. M. Drogovoz

INFLUENCE OF RALEUKIN ON INTENSIFY OF NONENZYMATIC GLYCOSYLATION AND LIPID METABOLISM ON THE MODEL OF METABOLIC SYNDROME IN RATS

Metabolic syndrome (MS) is an important medical and social problem of our time. Recent studies have shown that one of the important factors in the formation of MS is the presence of systemic inflammation in the body. Above suggests a leading role of proinflammatory cytokines, namely, IL-1 and TNF-α in the development of MS and its complications. Therefore, drugs that can inhibit the synthesis and activity of IL-1 are promising agents for the treatment of MS and CD. The results of studies of the effect of the original recombinant receptor antagonist IL-1 raleukin on the intensity of the initial reactions of non-enzymatic glycosylation and lipid metabolism of animals at the model of MS. Determined that in the conditions of insulin resistance induced by chronic administration of fructose, raleukin at a dose of 7 mg/kg effectively inhibits intensity of the initial reactions of non-enzymatic glycosylation contributes to the normalization of hemoglobin level and the restoration of lipid metabolism. Raleukin is not inferior to the reference drug anakinra and superior metformin for a positive impact on the level of fructosamine, hemoglobin, glycosylated hemoglobin, cholesterol, lipoproteins of low and very low density in the serum of animals. That is, raleukin is promising drug for use in complex therapy of MS.

Key words: metabolic syndrome; hypoglycemic, hypolipidemic action; raleukin; anakinra

Адреса для листування:
61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.
Тел. (057) 706-30-69.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції
02.02.2015 р.