

1. Абрамов А. В. // Вестн. пробл. биол. и мед. — 1997. — № 22. — С. 48—54.
2. Абрамов А. В. // Пробл. эндокринолог. — 1997. — № 5. — С. 35—38.
3. Акмаев И. Г. // Морфология. — 1992. — Т. 102, № 3. — С. 5—39.
4. Колесник Ю. М., Василенко Г. В., Абрамов А. В. // Арх. пат. — 1994. — № 4. — С. 56—60.
5. Brelje T. C., Sorenson R. L. // Endocrinology. — 1991. — Vol. 212, N 1. — P. 45—57.
6. Harfstrand A., Fuxe K., Agnati L. F. et al. // Acta physiol. scand. — 1986. — Vol. 128, N 2. — P. 195—200.
7. Jones P. M., Pierson A. M., Williams G. et al. // Diabet. Med. — 1992. — Vol. 9, N 1. — P. 76—80.
8. Leibowitz S. F., Sladek C., Spencer L., Tempel D. // Brain Res. Bull. — 1988. — Vol. 21. — P. 905—912.
9. Marks J. L., Waite K. // J. Neuroendocrinol. — 1997. — Vol. 9, N 2. — P. 99—103.
10. Myrsten U., Ahren B., Sundler F. // Regul. Peptides. — 1995. — Vol. 60, N 1. — P. 19—31.
11. O'Donohue T. L., Chronwall B. M., Pruss R. M. et al. // Peptides. — 1985. — Vol. 6. — P. 755—768.
12. Opara E. C., Burch W. M., Taylor I. L., Akwari O. // Regul. Peptides. — 1991. — Vol. 34, N 3. — P. 225—230.
13. Parker S. L., Crowley W. R. // Endocrinology. — 1993. — Vol. 132. — P. 658—666.
14. Paxinos G. B., Watson C. C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. — Sydney, 1986.
15. Pettersson M., Lundquist I., Ahren B. // Endocrine Res. — 1987. — Vol. 13, N 4. — P. 407—417.
16. Rettori V., Milenkovic L., Riedel M. et al. // Endocrinol. exp. — 1990. — Vol. 24, N 12. — P. 37—45.
17. Samols E., Stagner J. I. // Amer. J. Med. — 1988. — Vol. 85, N 5A. — P. 31—35.
18. Tatemoto K., Carlquist M., Mutt V. // Nature. — 1982. — Vol. 296. — P. 659—662.
19. Teitelman G., Alpert S., Polak J. M. et al. // Development. — 1993. — Vol. 118, N 4. P. 1031—1039.
20. Willoughby J. O., Blessing W. W. // Neurosci. Lett. — 1987. — Vol. 75. — P. 17—22.

Поступила 28.07.98

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1999

УДК 615.272.4.015.2:615.276.41.03:616.379-008.64

В. И. Новиков, О. В. Молотков, А. П. Подчеко, С. А. Исаева, О. В. Тутарчук

### ВЛИЯНИЕ РАЗДЕЛЬНОГО И СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ Т-АКТИВИНА И $\alpha$ -ТОКОФЕРОЛА НА ТЕЧЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА

Кафедры эндокринологии (зав. — доц. В. И. Новиков) и патофизиологии (зав. — проф. О. В. Молотков), ЦНИЛ (зав. Г. Н. Федоров) Смоленской государственной медицинской академии

Представлены данные о влиянии Т-активина и  $\alpha$ -токоферола в монотерапии и сочетанной терапии на состоянии процессов перекисного окисления липидов и углеводный обмен при стрептозотоцинидуцированном сахарном диабете (белые крысы-самцы;  $n = 102$ ).

Полученные данные свидетельствуют о том, что Т-активин обладает антиоксидантной активностью, сопоставимой с  $\alpha$ -токоферолом. Сочетанная терапия Т-активин и  $\alpha$ -токоферолом обладает более выраженной антиоксидантной активностью, чем при монотерапии. При введении Т-активина на фоне нормализации показателей перекисного окисления липидов происходят нормализация гликемических показателей и повышение уровня инсулина плазмы крови, что можно расценивать как начало становления процессов репаративной регенерации инсулинпродуцирующих клеток;  $\alpha$ -токоферол не ведет к существенному повышению уровня инсулина и полной нормализации уровня глюкозы крови.

Проведенные исследования свидетельствуют о том, что Т-активин дает более широкоспектральный лечебный эффект при экспериментальном сахарном диабете по сравнению с  $\alpha$ -токоферолом.

*Effects of T-activin and  $\alpha$ -tocopherol alone and together on lipid peroxidation (LPO) and carbohydrate metabolism are studied in rats with streptozotocin diabetes (male rats,  $n=102$ ).*

*Antioxidative activity of T-activin is compatible to that of  $\alpha$ -tocopherol. The antioxidative effect of combined therapy with both agents is more expressed than of monotherapy. T-activin normalized LPO and glycaemic values and increased blood plasma insulin level, which can be regarded as the onset of reparative regeneration of insulin-producing cells;  $\alpha$ -tocopherol did not notably increase the level of insulin or normalize blood glucose level.*

*Thus, T-activin is characterized by a wider spectrum of therapeutic effects in experimental diabetes than  $\alpha$ -tocopherol.*

Сформированная в настоящее время концепция инсулинзависимого сахарного диабета (ИЗСД) как органоспецифического аутоиммунного заболевания выдвигает задачу разработки методов патогенетической терапии, направленной на блокаду (сдерживание) иммунной агрессии против  $\beta$ -клеток поджелудочной железы и развития абсолютной инсулиновой недостаточности [1—3, 8, 9, 11].

В механизмах инициации, а также в дальнейшем поддержании прогрессирующей деструкции  $\beta$ -клеток поджелудочной железы существенное значение имеет активация процессов свободнорадикального окисления, в том числе перекисное окисление липидов (ПОЛ), возникающее в результате действия средовых (триггерных) факторов (вирусы, химические вещества, цитокины), с последующим появлением "новых" чужеродных

антигенов и иммунной атакой инсулинпродуцирующих клеток [1—3, 12]. Повышенная чувствительность  $\beta$ -клеток поджелудочной железы к токсическому действию свободных радикалов ( $O_2$ ,  $OH^-$ ,  $NO^-$ ) предопределяется слабостью систем антиоксидантной защиты инсулинпродуцирующих клеток [9, 12].

Следует отметить, что традиционная терапия ИЗСД (заместительная инсулинотерапия, диетотерапия, рациональная физическая нагрузка) не может в полной мере устранить названные нарушения, ведущие в конечном итоге к полной гибели  $\beta$ -клеток поджелудочной железы [2, 3, 12]. На основании вышесказанного в патогенетической терапии ИЗСД ведутся разработка и оценка эффективности двух направлений: антиоксидантной тера-

пии и иммунотерапии, включающей в себя иммуносупрессию и иммуномодуляцию [1—3, 8, 9, 11].

Экспериментально-клинические исследования показали эффективность антиоксидантов ( $\alpha$ -токоферол, никотинамид), цитостатиков (циклоспорин А, азатиоприн) в лечении впервые выявленного ИЗСД [2, 3, 9, 11, 14]. Показана также эффективность применения тимических пептидов (Т-активин, тимоген, тимозин) при ИЗСД, связанная с их иммуномодулирующим действием и нормализацией исходно нарушенного иммунного гомеостаза [4, 8, 10, 13]. Вместе с тем имеются данные не только об иммуностропном, но и о метаболическом эффекте пептидов тимуса: мембраностабилизирующем, гипохолестеринемическом действии, влиянии на активность ферментов цикла Кребса, пентозного цикла, цитохромной системы, функциональную активность эндокринных желез; об их участии в процессе репаративной регенерации, в частности при ИЗСД [4—6, 8, 10].

Вместе с тем многие аспекты лечебного действия тимических пептидов при ИЗСД остаются малоизученными, в частности вопрос их влияния на состояние процессов ПОЛ. Не изучена также эффективность сочетанной терапии антиоксидантами и иммуномодуляторами при ИЗСД.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния пептидов тимуса (Т-активина) и антиоксиданта  $\alpha$ -токоферола в монотерапии и сочетанной терапии на состояние процессов ПОЛ и некоторые показатели углеводного обмена при экспериментальном ИЗСД.

## Материалы и методы

Эксперименты проводили на 102 белых беспородных крысах-самцах массой  $150 \pm 20$  г. Диабет вызывали 3-кратным внутрибрюшинным введением стрептозотоцина ("Sigma", США) в 0,1 М цитратном буфере рН 4,5 в дозе 30 мг/кг массы тела с интервалом 1 день. Начало диабета определяли по появлению выраженной глюкозурии (набор "Glucosphan"). Определение концентрации глюкозы в крови проводили глюкозооксидазным методом. Для экспериментов отбирали животных, имеющих стойкую гипергликемию не менее 10 ммоль/л после 12-часового голодания, наблюдаемую в течение 2 нед. Животные со стойким ИЗСД методом случайной выборки были распределены в зависимости от характера будущего медикаментозного воздействия на 3 группы: животные 1-й группы с ИЗСД получали Т-активин по

2 мкг/кг 1 раз в сутки подкожно в течение 10 дней, 2-й группы —  $\alpha$ -токоферол по 10 мг/кг внутримышечно 1 раз в сутки в течение 10 дней, 3-й группы — Т-активин и  $\alpha$ -токоферол в тех же дозах и в те же сроки. Контролем служили животные, получавшие 0,1 мл физиологического раствора 1 раз в сутки подкожно в течение 10 дней (плацебо). Помимо этого, изучено влияние Т-активина на показатели ПОЛ, инсулина и гликемии у здоровых животных в той же дозе и в те же сроки наблюдения.

После 12-часового голодания у этих животных определяли уровень глюкозы крови натощак и через 60 и 120 мин после внутрибрюшинного введения глюкозы в дозе 1 г/кг массы тела. Концентрацию инсулина в плазме крови определяли радиоиммунологическим методом с использованием стандартных наборов.

Оценку состояния суммарной активности процессов ПОЛ проводили методом индуцированной  $Fe^{2+}$ - $H_2O_2$ -хемилюминесценции сыворотки крови с использованием хемилюминометра фирмы "Диалог" [7]. Животных забивали под легким эфирным наркозом.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием непараметрических критериев Колмогорова—Смирнова и Mann—Whitney.

## Результаты и их обсуждение

Как видно из представленных данных (см. таблицу), у животных со стрептозотоцину индуцированным сахарным диабетом (СД) на фоне выраженной гипергликемии, инсулинопении существенно (на 64%) повышены показатели активности процессов ПОЛ по сравнению с интактными животными.

Назначение Т-активина (1-я группа) приводило к снижению показателя активности процессов ПОЛ в среднем на 25%, нормализации гликемических показателей (глюкозотолерантный тест) и повышению уровня инсулина плазмы крови на 47% по сравнению с контролем (плацебо). Следует отметить, что к окончанию опыта показатель активности ПОЛ и гликемический профиль у животных этой группы не отличались от таковых у интактных животных ( $p < 0,05$ ).

Назначение  $\alpha$ -токоферола (2-я группа) приводило к снижению показателя активности процессов ПОЛ в среднем на 24% по сравнению с контролем. При изучении содержания глюкозы в

Показатели активности процессов ПОЛ, гликемии и инсулинемии у животных с экспериментальным СД в зависимости от вида терапии

Показатель	Интактные животные (n = 12)	СД до лечения (n = 8)	Контроль (СД + плацебо-терапия) (n = 23)	Лечение		
				1-я группа (Т-активин) (n = 21)	2-я группа (токоферол) (n = 8)	3-я группа (Т-активин + токоферол) (n = 16)
ПОЛ (хемилюминесценция), имп/с	2335 ± 312	3845 ± 586*	3764 ± 347	2834 ± 358**	2849 ± 507**	1556 ± 75**
Глюкозотолерантный тест, ммоль/л:						
натощак	3,9 ± 0,81	12,8 ± 3,1*	9,68 ± 1,4	4,32 ± 0,5**	2,85 ± 0,4**	3,6 ± 0,3**
через 60 мин	5,51 ± 1,37	16,9 ± 1,8*	14,2 ± 0,67	4,72 ± 0,5**	10,6 ± 2,1	6,67 ± 0,3**
через 120 мин	4,5 ± 0,46	16,0 ± 0,6*	10,7 ± 1,31	5,24 ± 0,4**	9,6 ± 1,95	6,06 ± 0,52**
Инсулин, мкЕд/мл	8,62 ± 1,64	2,1 ± 0,78*	2,46 ± 0,34	5,2 ± 0,52**	2,94 ± 1,52	5,64 ± 0,87**

Примечание. Звездочки — достоверность ( $p < 0,05$ ) различий: одна — с группой интактных животных, две — с контролем.

крови выявлена нормогликемия натошак. Однако в ходе глюкозотолерантного теста содержание глюкозы в крови через 1 и 2 ч после нагрузки было существенно выше (на 44,5 и 54,6% соответственно), чем у животных, получавших Т-активин ( $p < 0,05$ ). Содержание же инсулина плазмы крови к окончанию эксперимента у животных этой группы имело тенденцию к повышению по сравнению с контролем, но было существенно снижено (на 44%) по сравнению с животными, получавшими Т-активин ( $p < 0,05$ ).

Сочетанная терапия Т-активином и  $\alpha$ -токоферолом (3-я группа) приводила к более существенному, чем при монотерапии, снижению показателя активности ПОЛ: на 58% по сравнению с контролем и на 33% по сравнению с интактными животными ( $p < 0,05$ ), а также к нормализации гликемических показателей. Уровень инсулина плазмы крови к окончанию терапии был на 57% выше, чем в контроле.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что иммуномодулирующий препарат Т-активин обладает антиоксидантной активностью, причем степень ингибирования процессов ПОЛ сопоставима с таковой при приеме  $\alpha$ -токоферола. Считают, что реализация антиоксидантного эффекта  $\alpha$ -токоферола связана с образованием малоактивных, не способных поддерживать цепные реакции ПОЛ радикалов, увеличением плотности упаковки мембранных фосфолипидов, что делает их менее доступными процессам переокисления [3, 9].

Антиоксидантный эффект Т-активина, по-видимому, может быть обусловлен его влиянием на липидный обмен за счет снижения уровня холестерина, триглицеридов, НЭЖК крови, а также за счет нормализации фосфолипидного спектра крови, стабилизации клеточных мембран, изменения активности ферментов монооксигеназной системы [5, 6].

Существенное снижение показателя активности ПОЛ при сочетанной терапии Т-активином и  $\alpha$ -токоферолом может свидетельствовать об их взаимопотенцирующем действии на системы антиоксидантной защиты, имеющем, по-видимому, различную биохимическую основу. Подтверждением этого предположения могут являться данные о снижении на 20% показателя активности ПОЛ у интактных животных, получавших Т-активин, по сравнению с показателем активности ПОЛ у здоровых (интактных) животных ( $2335 \pm 312$  имп/с — интактные животные;  $1885 \pm 213$  имп/с — интактные + Т-активин;  $p < 0,05$ ). Следует отметить, что введение Т-активина здоровым животным не влияло на уровень инсулина ( $7,59 \pm 1,3$  мкЕД/мл) и глюкозы крови (натошак —  $4,4 \pm 0,2$  ммоль/л, через 60 мин —  $5,05 \pm 0,4$  ммоль/л, через 120 мин —  $4,61 \pm 0,7$  ммоль/л).

Такого рода сочетанное антиоксидантное действие Т-активина и  $\alpha$ -токоферола и приводит к блокаде "радикальной атаки", стабилизации мембран оставшихся не разрушенными  $\beta$ -клеток поджелудочной железы и сохранению их функциональной активности [3, 8].

Мы полагаем, что повышение функциональной активности  $\beta$ -клеток поджелудочной железы под влиянием Т-активина может быть следствием начинающихся восстановительных процессов в

инсулинпродуцирующих клетках, принимая во внимание данные о наличии гена регенерации  $\beta$ -клеток (reg gene), а также об описанных феноменах "ацино-инсулярной трансформации", новообразовании  $\beta$ -клеток в протоковом эпителии [1, 8, 15].

Вместе с тем при равнозначном ингибировании процессов ПОЛ существенного повышения функциональной активности  $\beta$ -клеток поджелудочной железы при монотерапии  $\alpha$ -токоферолом в отличие от терапии Т-активином не происходит. Эти результаты могут свидетельствовать о том, что терапевтический эффект Т-активина при ИЗСД связан не только с его антиоксидантным действием, но и с его иммуностропной активностью [4, 5, 8].

Принимая во внимание имеющиеся данные о наличии коррелятивной связи между функциональной активностью тимуса, существенно сниженной при ИЗСД, и  $\beta$ -клетками поджелудочной железы, не исключено, что введение пептидов тимуса может являться своеобразным индуктором восстановительных процессов инсулинпродуцирующих структур с учетом существенной роли иммунной системы в регуляции течения процессов физиологической и особенно репаративной регенерации [4—6, 8, 13].

## Выводы

1. Т-активин в монотерапии эспериментального СД обладает антиоксидантной активностью, сопоставимой с таковой  $\alpha$ -токоферола.

2. Сочетанная терапия Т-активином и  $\alpha$ -токоферолом ведет к более выраженному ингибированию процессов ПОЛ, чем при монотерапии.

3. Под влиянием Т-активина и сочетанной терапии Т-активином и  $\alpha$ -токоферолом происходят повышение функциональной активности  $\beta$ -клеток поджелудочной железы и нормализация гликемических показателей.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Галенок В. А., Жук Е. А. // Тер. арх. — 1995. — № 12. — С. 80—84.
2. Дедов И. И., Абугова И. А., Шахмалова М. Ш., Шишко П. И. // Пробл. эндокринологии. — 1995. — № 4. — С. 43—48.
3. Дедов И. И., Горельшева В. А., Смирнова О. М. и др. // Там же. — № 5. — С. 16—20.
4. Дорошенко Е. О., Мартынова М. И., Арион В. Я., Смирнов В. В. // Всероссийский съезд эндокринологов, 3-й: Тезисы докладов. — М., 1996. — С. 47—48.
5. Иммунология гормонов тимуса / Под ред. Ю. А. Гриневича, В. Ф. Чеботарева. — Киев, 1989.
6. Кемилева З. Вилочковая железа. — М., 1984.
7. Лопухин Ю. М., Владимиров Ю. А., Молоденков М. Н. и др. // Бюл. экспер. биол. — 1983. — № 2. — С. 61—63.
8. Новиков В. И., Шостак В. А. // Пробл. эндокринологии. — 1997. — № 3. — С. 23—25.
9. Профилактика сахарного диабета: Доклад исследовательской группы ВОЗ. — Женева, 1995.
10. Туркина Т. И., Марченко Л. Ф., Дорошенко Е. О. и др. // Пробл. эндокринологии. — 1996. — № 1. — С. 18—21.
11. Immunotherapy of Type 1 Diabetes / Ed. D. Andreani. — Chichester, 1989.
12. Nerup J., Mandrup-Poulsen T., Helqvist S. // Diabetologia. — 1994. — Vol. 37, Suppl. 2. — P. 582—589.
13. Novitt A. D., Fiore R. P., Strausser H. R. // Thymic Hormones and Lymphokines. — New York, 1984. — P. 455—461.
14. Pozzill P., Browne P. D., Kolb H. // Diabet. Care. — 1996. — Vol. 19, N 12. — P. 1357.
15. Terazono K., Yamamoto H., Takasawa S. et al. // J. Biol. Chem. — 1988. — Vol. 263, N 5. — P. 2111—2114.

Поступила 29.07.98