

## ИММУНО-ЭНДОКРИННЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПРИ АЛЛОКСАНОВОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ У КРЫС И ЕГО КОРРЕКЦИИ ЛИПОВОЙ КИСЛОТОЙ

Емельянов В. В.<sup>1</sup>, Шмакова С. Е.<sup>2,1</sup>, Черешнев В. А.<sup>2,1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина»; <sup>2</sup>Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия.

В проведенном исследовании впервые показана роль липоевой кислоты в коррекции содержания глюкозы, гликированного гемоглобина, инсулина, про- и противовоспалительных цитокинов в крови крыс при формировании аллоксанового сахарного диабета.

*Ключевые слова:* сахарный диабет, липоевая кислота, гипергликемия, инсулин, цитокины

Современная концепция патогенеза сахарного диабета (СД) и его осложнений, как в клинике, так и в эксперименте, предполагает наличие тесной взаимосвязи между дисрегуляцией метаболических процессов и иммунопатологическими нарушениями, выражающимися в формировании провоспалительного состояния [1]. Это обосновывает применение в экспериментальной терапии СД соединений, способных модулировать течение воспалительной реакции. К их числу следует отнести липоевую кислоту (ЛК), успешно применяемую в терапии осложнений СД, а также показавшую способность корректировать метаболические нарушения, инсулинорезистентность, гиперпродукцию провоспалительных цитокинов клетками иммунной системы на различных моделях экспериментальной патологии [2, 3, 4]. Однако в литературе отсутствуют сведения о специфике иммуно-эндокринных взаимодействий при аллоксановом СД и его коррекции ЛК.

Целью настоящей работы стала характеристика нарушений метаболизма, содержания в крови регулирующих гормонов, а также про- и противовоспалительных цитокинов при аллоксановом СД у крыс и его коррекции ЛК.

Эксперимент был проведен на 50 белых крысах-самцах линии Wistar массой 200-250 г. Животные содержались в условиях лабораторного вивария, где поддерживалась постоянная температура в пределах 22-25°C и естественная смена дня и ночи, имели свободный

доступ к пище и воде. Все манипуляции с животными осуществлялись с соблюдением этических принципов и в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях.

Аллоксановый СД моделировали путем трехкратного внутривентриального введения аллоксана в суммарной дозе 300 мг/кг массы животного [2]. Препарат ЛК («Октолипен», Россия) вводили внутримышечно в дозе 40 мг/кг с периодичностью 3 раза в неделю в течение 4-х недель. Было сформировано 4 группы животных: интактные (1), контрольная с аллоксановым СД (2), опытная с аллоксановым СД и его коррекцией ЛК (3) и группа интактных животных на фоне введения ЛК (4). На 30-е сутки эксперимента в плазме крови крыс определяли концентрации глюкозы унифицированным глюкозооксидазным методом, в цельной крови – гликированного гемоглобина (HbA1c) методом колоночной хроматографии наборами «Диабет-тест». В плазме крови крыс также определяли содержание методом ИФА инсулина наборами фирмы «Millipore Corporation», кортикостерона наборами фирмы «Immunodiagnostic Systems Ltd», интерлейкинов (ИЛ) ИЛ-1α, ИЛ-6 и ИЛ-10 наборами фирмы «Thermo Scientific» на автоматическом анализаторе «LAZURITE AUTOMATED ELISA SYSTEM».

Статистическая обработка результатов эксперимента проводилась с применением про-

граммного комплекса Biostatistica и MS Excel. Для сравнения двух независимых групп (1-2, 1-3, 2-3, 1-4) по количественному признаку использован непараметрический критерий Манна-Уитни. Различия между показателями считались статистически значимыми, если уровень значимости  $p$  не превышал 0,05.

Введение аллоксана, непосредственно поражающего  $\beta$ -клетки поджелудочной железы, приводило к снижению плазменной концентрации инсулина на 34% с  $0,66 \pm 0,19$  до  $0,42 \pm 0,06$  нг/мл ( $p_{1-2} < 0,05$ ), наблюдалась тенденция к увеличению концентрации кортикостерона на 23% с  $65,8 \pm 7,28$  до  $81,0 \pm 13,93$  нг/мл. Абсолютный дефицит инсулина и преобладание эффектов контринсулярных гормонов приводили к выраженной гипергликемии и гликированию гемоглобина. Так, концентрация глюкозы в крови крыс составила  $20,0 \pm 1,3$  ммоль/л, а HbA1c –  $7,5 \pm 0,93$ %, против  $3,8 \pm 0,30$  ммоль/л и  $2,3 \pm 0,1$ % у интактных животных, соответственно ( $p_{1-2} < 0,05$ ). Согласно литературным данным, гипергликемия при СД служит триггером продукции провоспалительных цитокинов иммунокомпетентными клетками [1]. В нашем исследовании это выражалось в увеличении содержания ИЛ-1 $\alpha$  с  $318 \pm 9,7$  до  $359 \pm 15,6$  пг/мл и ИЛ-6  $433 \pm 10$  до  $532 \pm 36,5$  пг/мл ( $p_{1-2} < 0,05$ ) и компенсаторном увеличении концентрации ИЛ-10 с  $27 \pm 3,0$  до  $99 \pm 1,1$  пг/мл ( $p_{1-2} < 0,05$ ), у крыс с СД по сравнению с интактными животными.

Применение препарата ЛК позволило существенно скорректировать показатели нарушенного метаболизма и его иммуно-эндокринной регуляции при развитии аллоксанового СД у крыс. Введение ЛК оказало выраженный антигипергликемический эффект: концентрации глюкозы и HbA1c в крови снизились до  $7,2 \pm 1,51$  ммоль/л и  $4,5 \pm 0,86$ % ( $p_{2-3} < 0,05$ ), соответственно, хотя и не достигли уровня интактных животных ( $p_{1-3} > 0,05$ ). В механизмах данного эффекта ЛК может иметь значение сохраняющаяся на уровне интактных крыс концентрация инсулина  $0,70 \pm 0,19$  нг/мл ( $p_{1-3} > 0,05$ ), несмотря на остававшуюся повышенной концентрацию кортикостерона –  $88 \pm 9,0$  нг/мл ( $p_{1-3} > 0,05$ ).

Введение ЛК при аллоксановом СД у крыс корригировало уровни цитокинемии, снижая содержание провоспалительных ИЛ-1 $\alpha$  до  $261 \pm 25,6$  пг/мл и ИЛ-6 до  $451 \pm 14,8$  пг/мл ( $p_{1-3} < 0,05$ ,  $p_{2-3} < 0,05$ ) и еще более увеличивая кон-

центрацию противовоспалительного ИЛ-10 до  $116 \pm 13,6$  пг/мл ( $p_{1-3} < 0,05$ ,  $p_{2-3} > 0,05$ ). Указанное действие ЛК частично проявлялось и в отсутствии СД у интактных крыс. Так, плазменные концентрации цитокинов в этой группе составили  $173 \pm 23,0$  пг/мл для ИЛ-1 $\alpha$  ( $p_{1-4} < 0,05$ ),  $424 \pm 23,0$  пг/мл для ИЛ-6 и  $35 \pm 4,0$  пг/мл для ИЛ-10 ( $p_{1-4} > 0,05$ ).

Известно антиоксидантное и антигликирующее действие ЛК [2, 3, 4]. Поэтому способность ЛК предотвращать гипоинсулинемию, снижать гипергликемию и накопление HbA1c можно связать с защитой  $\beta$ -клеток островков Лангерганса от гибели в условиях индуцированного аллоксаном оксидативного стресса. Однако полученные данные свидетельствуют также о наличии иных, иммуотропных, эффектов ЛК, реализующихся в противовоспалительном действии при моделировании аллоксанового СД.

Таким образом, в проведенном исследовании впервые показана способность ЛК корригировать иммуно-эндокринные взаимодействия при формировании аллоксанового СД у крыс, что способствует снижению выраженности метаболических нарушений.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 16-15-00039.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Клинические и метаболические факторы, ассоциированные с хроническим воспалением низкой интенсивности, у больных сахарным диабетом 2 типа / В.В. Климонтов, Н.В. Тянь, О.Н. Фазуллина, Н.Е. Мякина, А.П. Лыков, В.И. Коненков // Сахарный диабет. – 2016. – Т. 19, № 4. – С. 295-302.
2. Атомно-силовая микроскопия эритроцитов и метаболические нарушения при экспериментальном сахарном диабете и его коррекции липоевой кислотой / В.В. Емельянов, Д.В. Леонтьев, А.В. Ищенко, Т.С. Булавинцева, Е.А. Саватеева, И.Г. Данилова // Биофизика. – 2016. – Т. 61, № 5. – С. 922-926.
3. Влияние реамберина и  $\alpha$ -липоевой кислоты на устойчивость к острой церебральной ишемии при экспериментальном сахарном диабете / И.А. Волчегорский, И.Ю. Мирошниченко, Л.М. Рассохина, Р.М. Файзуллин // Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова. – 2016. – Т. 116, № 6. – С. 53-59.
4. Lipoic acid: its antioxidant and anti-inflammatory role and clinical applications / F.A. Moura, K.Q. de Andrade, J.C. dos Santos, M. O. Goulart // Curr. Top. Med. Chem. – 2015. – V. 15, № 5. – P. 458-483.

## IMMUNO-ENDOCRINE INTERACTION IN ALLOXAN DIABETES MELLITUS IN RATS AND ITS CORRECTION BY LIPOIC ACID

Emelyanov V. V.<sup>1</sup>, Shmakova S. E.<sup>2,1</sup>, Chereshnev V. A.<sup>2,1</sup>

<sup>1</sup>Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «Ural Federal University named after the first President of Russia B. N. Yeltsin»; <sup>2</sup>Institute of immunology and physiology of UB RAS, Ekaterinburg, Russia

In this study, for the first time, shows the role of lipoic acid in the correction of glucose, glycated hemoglobin, insulin, pro – and anti-inflammatory cytokines in the blood of rats in the formation of alloxan diabetes.

**Key words:** diabetes mellitus, lipoic acid, hyperglycemia, insulin, cytokines

## БАКТЕРИИ КАК ПРОДУЦЕНТЫ ЦИТОКИНО-ПОДОБНЫХ ВЕЩЕСТВ

Зурочка А. В.<sup>1,2</sup>, Дукардт В. В.<sup>1</sup>, Зурочка В. А.<sup>1,2</sup>, Добрынина М. А.<sup>1</sup>, Зуева Е. Б.<sup>1</sup>, Тяпаева Я. В.<sup>3</sup>, Гриценко В. А.<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург; <sup>2</sup>ФГАОУ ВО Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет), Челябинск; <sup>3</sup>Оренбургский государственный медицинский университет, Оренбург; <sup>4</sup>ФГБУН Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург; <sup>5</sup>ФГБУН Оренбургский научный центр УрО РАН, Оренбург, Россия

В экспериментах *in vitro* на 61 клиническом изоляте *S. aureus* (n=23), *S. haemolyticus* (n=10), *Enterococcus faecalis* и *E. faecalis* (n=8), *Pseudomonas aeruginosa* (n=8), энтеробактерий – *Klebsiella pneumoniae* и *E. coli* (n=12) с помощью тест-системы Multiplex (Luminex, США) для определения 15 цитокинов (G-CSF, GM-CSF, INF- $\gamma$ , IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-17A, IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, MCP-1, MIP-1 $\beta$ , TGF- $\alpha$ ) изучали продукцию цитокино-подобных веществ (ЦПВ). Выявлена и охарактеризована межродовая и внутривидовая вариабельность бактерий по способности продуцировать ЦПВ в среду культивирования. Установлено, что изоляты *S. aureus* являются наиболее активными продуцентами ЦПВ. Обсуждается возможное патогенетическое значение продукции ЦПВ бактериями и пути дальнейшего исследования данного феномена.

**Ключевые слова:** цитокины, *S. aureus*, *S. haemolyticus*, *Enterococcus spp.*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, цитокино-подобные вещества

**Введение.** Инфекционно-воспалительный процесс развивается в результате взаимодействия патогенных микроорганизмов с организмом хозяина, и в его регуляцию вовлекаются различные цитокины, вырабатываемые иммунокомпетентными клетками [1]. Ранее нами экспериментально установлено, что синтетический пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) существенно влиял на продукцию ряда цитокинов нейтрофилами периферической крови человека, а совместное до-

бавление к фагоцитам синтетического пептида GM-CSF и супернатантов бульонных культур стафилококков и энтеробактерий разных видов существенно изменяло ответную реакцию нейтрофилов по цитокино-продукции [2,3]. Нельзя исключить, что подобное модифицирующее действие бактериальных супернатантов на нейтрофилы могло быть обусловлено экскрецией в культуральную среду цитокинов (цитокино-подобных веществ – ЦПВ) самими микроорганизмами, поскольку известна способность ряда бактерий (например, *Escherichia coli*, *Sta-*