

Протективный эффект Т-активина при экспериментальном сахарном диабете

В.И. Новиков, О.В. Молотков, А.П. Подчеко

*Кафедры эндокринологии (зав. - доц. В.И. Новиков)
и патофизиологии (зав. - проф. О.В. Молотков)
Смоленской государственной медицинской академии*

Как известно, инсулинзависимый сахарный диабет (ИЗСД) является аутоиммунным заболеванием, с прогрессирующей деструкцией β -клеток и развитием абсолютной инсулиновой недостаточности. Подтверждением данной концепции является обнаружение у больных ИЗСД и на моделях экспериментального диабета (мыши линии NOD, C57B1, ВВ-крысы, стрептозототининдуцированный диабет) инфильтрации островков Лангерганса моноклеарными клетками (инсулит); аутоантител к инсулину, цитоплазматическим и поверхностным антигенам β -клеток; дисфункции тимуса (развитие хронической тимической недостаточности) с нарушением механизмов регуляции иммунной системы и в частности, образование аутореактивных клонов цитотоксических Т-лимфоцитов, Т-супрессорный дефицит и т.д. [2-5, 8, 11].

В инициации и прогрессирующей гибели β -клеток существенную роль отводят активации процессов свободнорадикального окисления, возникающего в результате действия факторов окружающей среды (вирусы, химические вещества, пищевые факторы, цитокины и т.д.), с последующим появлением "новых" модифицированных антигенов и иммунной атакой против инсулинпродуцирующих клеток [5, 7, 11, 12]. Названные иммунометаболические нарушения длительно предшествуют клинической манифестации ИЗСД, наблюдаемой только после гибели 80-90% β -клеток [5].

Актуальным является поиск методов и средств патогенетической терапии, направленных на блокаду иммуно-метаболической агрессии β -клеток на ранних стадиях развития ИЗСД. Перспективным направлением профилактики ИЗСД является антиоксидантная и иммунотерапия, включающая в себя иммуносупрессию и иммуномодуляцию [5, 7, 12].

Экспериментальные исследования показали положительный эффект превентивного применения антиоксидантов (α -токоферола) и никотинамида,

блокирующих индукцию ИЗСД [5, 6, 11, 12].

На основании этих данных проводится Европейское исследование по изучению эффективности больших доз никотинамида в качестве профилактического средства среди родственников I степени родства больных ИЗСД, имеющих диабетические предикторы заболевания (наличие аутоантител к антигенам β -клеток, снижение 1-й фазы секреции инсулина). Большие надежды на возможность блокады развития ИЗСД на доклинических стадиях связывают с иммунотерапией. Одним из перспективных подходов является селективная иммунотерапия с применением анти-CD4-, анти-CD2-, анти-ИЛ-2 рецепторов и т.д. [5].

Имеются немногочисленные сообщения о возможности блокады развития ИЗСД пептидами тимуса (5-я фракция тимозина, α_1 - и α_7 -тимозин, тимический сывороточный фактор) [9, 10, 13]. Интерес к пептидам тимуса усиливается в связи с открытием не только их иммуностропного, но и широкого спектрального метаболического действия: мембраностабилизирующего, гипохолестеринемического, инсулиноподобного. Показано их влияние на состояние эндокринной системы, активность цикла Кребса, пентозного цикла, монооксигеназной системы, на процессы репаративной регенерации и др. [1, 8, 10].

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния Т-активина на развитие стрептозототининдуцированного диабета.

Материалы и методы

Работа выполнена на 53 белых крысах-самцах линии WISTAR массой тела 130 ± 11 г (возраст 90 дней). Диабет вызывали 3-кратным внутрибрюшинным введением стрептозототина (SIGMA, США) в 0,1 М цитратном буфере pH 4,5 в дозе 30 мг/кг массы тела с интервалом в 1 день. Перед началом эксперимента животные методом случайной выборки разделены на 3 группы: 1-я группа (n=19) получала подкожно 0,1 мл физиологического раствора в течение 10 дней; 2-я группа (n=22) получала Т-активин в дозе 2

мкг/кг массы тела 1 раз в сутки подкожно в течение 10 дней; 3-я группа (n=12) — интактные животные.

Введение физиологического раствора и Т-активина начинали за 5 дней до первой инъекции стрептозотоцина. Началом диабета считали день появления глюкозурии. Определение концентрации глюкозы крови из хвостовой вены проводили глюкозооксидазным методом. После 12-часового голодания определяли уровень глюкозы натощак и через 60 и 120 мин после внутривентрального введения глюкозы в дозе 1 г/кг массы тела. Концентрацию инсулина в плазме крови определяли радиоиммунным методом с использованием стандартных наборов. Оценку состояния суммарной активности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) проводили методом индуцированной Fe^{2+} - H_2O_2 — хемилюминесценции сыворотки крови с использованием хемилюминометра «Диалог». Гистологическое исследование поджелудочной железы проводили после ее удаления под эфирной анестезией и фиксации в 15% растворе формальдегида. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином, альдегидфуксином.

Животные содержались на стандартном лабораторном пищевом рационе при температуре 22°C. Забой крыс производили под эфирным наркозом. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием непараметрических критериев Колмогорова-Смирнова, Mann-Whitney, Пирсона.

Результаты и их обсуждение

У 16 из 19 животных, получавших до введения стрептозотоцина 0,1 мл физиологического раствора, развился сахарный диабет. В день выявления диабета гликемия в ходе проведения глюкозотолерантного теста ГТТ составила: исходно — $12,1 \pm 2,6$ ммоль/л, на 60-й минуте $16,9 \pm 1,8$ ммоль/л, на 120-й — $16,0 \pm 0,6$ ммоль/л; у интактных животных соответственно — $3,9 \pm 0,84$ и $5,51 \pm 1,37$ ммоль/л, $4,5 \pm 0,44$ ммоль/л, ($p < 0,05$). Содержание инсулина в плазме крови было в 2 раза ниже по сравнению с животными интактной группы ($3,4 \pm 1,6$ мкЕД/л и $8,62 \pm 1,6$ мкЕД/л соответственно, $p < 0,05$). Следует отметить существенное (на 60%) повышение суммарного показателя активности процессов ПОЛ у животных этой группы по сравнению с интактными животными (3845 ± 586 и 2335 ± 312 имп/с соответственно, $p < 0,05$).

При гистологическом исследовании поджелудочной железы животных с диабетом выявлена выраженная гидропическая дистрофия большей части β -клеток, особенно в центре островков. Число и размер островков снижены. Одновременно отмечалась лимфоцитарная инфильтрация (инсулит) вокруг и внутри островков.

Во 2-й группе животных, получавших Т-активин до введения стрептозотоцина, диабет развился только у 6 из 22 крыс (27%). Защитный эффект Т-активина в развитии диабета был статистически значимым ($X^2 = 6,34$, $p < 0,05$). Гликемия у этих животных при проведении ГТТ составила: исходно $4,7 \pm 1,19$ ммоль/л, на 60-й минуте — $6,47 \pm 1,19$ и на 120-й ми-

нуте — $5,5 \pm 1,23$ ммоль/л, что не отличалось от контроля ($p < 0,05$). Содержание инсулина в плазме крови крыс данной группы также не отличалось от контроля ($10,4 \pm 1,8$ и $8,62 \pm 1,64$ мкЕД/л соответственно, $p < 0,05$). Показатель активности ПОЛ плазмы крови существенно не различался у животных 2-й и контрольной групп (2725 ± 285 имп/с и 2335 ± 312 имп/с соответственно, $p < 0,05$).

При гистологическом исследовании поджелудочной железы животных 2-й группы выявлено, что распределение и размеры островков не отличались от таковых показателей у интактных животных. Островки располагались преимущественно около внутридольковых протоков с сохранением архитектоники; признаки воспаления отсутствовали. Обращало на себя внимание более частое, чем в контроле, выявление одиночных гормонопродуцирующих β -клеток.

Таким образом, имеет место выраженное протективное влияние полипептидов тимуса, входящих в состав Т-активина, на индукцию ИЗСД.

При обсуждении возможных механизмов такого действия Т-активина следует исходить из диабетогенного влияния стрептозотоцина. Так, известно, что воздействуя на мембранные структуры β -клеток, стрептозотоцин ведет к активации процессов ПОЛ. Это сопровождается повреждением в структуре ДНК инсулинпродуцирующих клеток, стимуляцией патологической активности поли(АДФ-рибоз)синтетазы, ответственной за репликацию ДНК, повышенной утилизацией НАД⁺ с последующим истощением его запасов в клетке, что является причиной снижения синтеза протеинов, включая проинсулин [2, 10]. Одним из важных результатов модифицирующего действия свободных радикалов является изменение антигенной структуры β -клеток с последующим развитием аутоиммунного процесса [10, 11]. Конечным результатом действия стрептозотоцина является первоначальное снижение синтеза инсулина, затем тотальная гибель β -клеток [2, 5, 10, 11].

Обнаруженный нами блокирующий активацию процессов ПОЛ эффект Т-активина, по-видимому, может служить объяснением одного из механизмов его протективного действия. С учетом особенностей эксперимента (предварительное введение Т-активина интактным животным с дальнейшим введением стрептозотоцина) и полученных результатов механизм защитного действия пептидов тимуса может быть связан с их мембраностабилизирующим (первично-метаболическим) эффектом на β -клетки поджелудочной железы [1]. Следует отметить недавно полученные данные о прямой интернализации пептидов тимуса в β -клетки и, следовательно, возможности блокады внутриклеточных модифицирующих эффектов аллоксана, стрептозотоцина,

а также вирусов [9, 13, 14]. Не исключено, что такого рода блокада процессов ПОЛ, защищая β -клетки, предотвращает и выраженное изменение их антигенной структуры. Подтверждением этому служит отсутствие не только морфологических признаков повреждения β -клеток, но и лимфоцитарной инфильтрации островков Лангерганса после введения стрептозотоцина на фоне Т-активина, что свидетельствует об отсутствии аутоиммунной агрессии.

Протективный эффект пептидов тимуса на моделях генетически детерминированного ИЗСД (db/db) связывают с их первично иммуностропной активностью (нормализация функционального состояния вилочковой железы, Т-супрессорного дефицита и т.д.) и блокадой аутоагрессии против β -клеток [3, 10].

Можно полагать, что метаболические и иммунологические эффекты пептидов тимуса, в частности, Т-активина, и объясняют их протективное действие в развитии экспериментального диабета.

Литература

1. Арион В.Я. // Итоги науки и техники. Иммунология. - М., 1981. - Т.9. - С.10-50.
2. Балаболкин М.И. Сахарный диабет. - М. 1994.
3. Безверщенко И.А. // Пробл. эндокринологии. - 1998. - № 1. - С. 80-86.
4. Галенок В.А., Жук Е.А. // Тер. Архив. - 1995. - № 12. - С.80-84.
5. Дедов И.И., Абугова И.А., Шамхалова М.Ш. и др. // Пробл. эндокринологии. - № 4. - С.43-48.
6. Профилактика сахарного диабета: Доклад исследовательской группы ВОЗ. (Сер. техн. докл. ВОЗ 844) - Женева, 1995.
7. Харченко В.П., Саркисов Д.С., Ветшев П.С. и др. Болезни вилочковой железы. - М. 1998.
8. Mizutany M., El-Photoch M., Mory M. et al. // Arch. Virol. - 1996. - Vol. 141, N 1. P. 73-83.
9. Novitt A.D., Fiore R.P., Strausser H.R. // Thymic Hormones and Lymphokines. - New York, 1984. - P.455-461.
10. Shafir E. Animals with Diabetes : The Diabetes Annual/6 Eds: K.G.M.M. Albery and L.P. Krall. - Amsterdam, 1991. - P.634-663.
11. Skyler J.S., Marks J.B. // Diabetes Rev. - 1993. - Vol. 1, N1 - P.1-114.
12. Tabata T., Kinoshita J., Fujii S., et al. // Cell. and Mol Biol. - 1989. - V35, N2 - P. 121-127.
13. Yamanouchi T., Moromizato H., Kajima S. et al. // Eur. J. Pharmacol. - 1994. - Vol.257, - N1-2.P.39-46.