

ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДА СЕЛАНК НА МАССУ ТЕЛА, ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ И УРОВЕНЬ ГЛЮКОЗЫ КРОВИ КРЫС ЛИНИИ ВИСТАР

Шубина Т.А., Оберган Т.Ю.

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва,
e-mail: shubina.74@mail.ru

В настоящей работе проводилось исследование влияния синтезированного аналога эндогенного пептида тафтцина (пептида селанк – Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro) на массу тела, параметры липидного и углеводного обмена крыс линии Вистар. Было показано, что 10-кратное интраназальное введение животным регуляторного пептида селанк в дозе 75 мкг/кг 1 раз в сутки положительно влияло на параметры жирового обмена. В плазме крови крыс снижались общий холестерин, что отмечалось через 7 суток после прекращения введения данного препарата, достоверно уменьшалась концентрация холестерина липопротеидов низкой плотности на 35% и триглицеридов на 19%, а также увеличивался уровень холестерина липопротеидов высокой плотности на 19%. Интраназальное курсовое поступление пептида селанк не влияло на углеводную составляющую обменных процессов в организме, т.е. концентрация глюкозы в плазме крови экспериментальных животных соответствовала норме весь период наблюдений. Впервые была обнаружена способность изучаемого пептида при данных условиях эксперимента замедлять рост массы тела и накопление жировых отложений в организме крыс линии Вистар. Делается вывод о перспективности изучения синтезированного аналога эндогенного пептида селанка в качестве препарата, предупреждающего развитие ожирения.

Ключевые слова: глюкоза, масса тела, селанк, триглицериды, холестерин

THE EFFECT OF THE PEPTIDE SELANK ON BODY WEIGHT, PARAMETERS OF LIPID PROFILE AND BLOOD GLUCOSE LEVEL OF WISTAR RATS

Shubina T.A., Obergan T.Yu.

Lomonosov Moscow State University, Moscow, e-mail: shubina.74@mail.ru

In the present work the influence of the synthesized analog of endogenous peptide taftsin (peptide selank – Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro) on body weight, parameters of lipid and carbohydrate metabolism of Wistar rats was studied. It was shown that 10-fold intranasal administration of regulatory peptide of selank in animals at a dose of 75 µg / kg once a day had a positive effect on the parameters of fat metabolism. In the blood plasma of rats, total cholesterol decreased, which was noted 7 days after the cessation of this drug, the concentration of low density lipoprotein cholesterol decreased significantly by 35% and triglycerides by 19%, as well as the level of high density lipoprotein cholesterol increased by 19%. Intranasal exchange rate receipt of the peptide did not affect the carbohydrate component of metabolic processes in the body, i.e. the normal concentration of glucose remained. For the first time it was found the ability of this peptide under the given conditions of experiment, to slow growth of body weight and accumulation of fat deposits in the body of Wistar rats. The conclusion is made about the prospects of studying the synthesized analogue of the endogenous peptide selank as a drug that prevents the development of obesity.

Keywords: glucose, body weight, selank, triglycerides, cholesterol

Ведутся активные исследования регуляторных пептидов класса глипролинов, в том числе и их синтетических аналогов, каковым является и пептид селанк, в качестве лекарственных препаратов для коррекции нарушений углеводного и липидного обменов [1]. Клинически данные нарушения проявляются развитием ожирения и сахарного диабета, которые в совокупности означают развитие метаболического синдрома [2]. В последние десятилетия наблюдается острый подъем частоты встречаемости данного недуга, что связывают со снижением физической активности и пищевыми привычками. Ожирение – хроническое нарушение обмена веществ, патогенез которого до конца не изучен [3]. Жировая ткань рассматривает-

ся как самостоятельный секреторный орган, обладающий ауто-, пара- и эндокринной функциями [4].

Селанк является аналогом эндогенного пептида тафтцина – периферического регулятора иммунитета, способного оказывать и некоторые центральные эффекты. Он представляет собой гептапептид, С-конца к которому добавлена группировка Pro-Gly-Pro, защищающая его от быстрой деградации под действием протеолитических ферментов. В клинике селанк применяют в качестве анксиолитика, без побочных эффектов, свойственных препаратам данной группы (седативных, снотворных, миорелаксантных) [5].

Для получения доказательств безопасности, качества и эффективности лекар-

ственного средства исследование препарата на здоровых животных является крайне необходимой частью эксперимента. Ранее было показано, что при введении селанка здоровым животным в плазме крови наблюдался одновременный антитромбоцитарный, антикоагулянтный и фибриндеполимеризационный эффект [6]. Также показана эффективность данного пептида при лечении пациентов с расстройствами пищевого поведения [7].

Цель исследования: изучить влияние пептида селанка на массу тела, показатели липидного профиля и концентрацию глюкозы в крови белых крыс линии Вистар.

Материалы и методы исследования

В исследовании использовался коммерческий препарат селанк (Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro), изготовленный в НИИ фармакологии им. В.В. Закусова и Институте молекулярной генетики РАН. Эксперимент был проведен на 28 лабораторных белых крысах-самцах линии Вистар с массой тела 340–364 г (в соответствии с методическими рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных средств), которые содержались на естественном лабораторном рационе в стандартных условиях вивария. Работа с животными была проведена в соответствии с этическими принципами, установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 15.06.2006 г). Животные были разделены на 2 группы (по 14 крыс в каждой группе). Опытным крысам вводили пептид интраназально, чтобы он не вступал в контакт с кислой средой желудка, не подвергался действию пищеварительных ферментов и мог непосредственно поступать в кровоток, оказывая максимальное действие (группа Опыт). Селанк вводили по 20 мкл/животное в дозе 75 мкг/кг массы тела 1 раз в сут в дневное время в течение 10 дней (с 1-го по 10-й день эксперимента включительно). Контрольные животные получали в эти же сроки и подобным образом вместо пептида 0,85%-ный раствор NaCl (группа Контроль).

Отбор образцов крови для исследований осуществляли натошак из *v.jugularis* через 20 ч после последнего введения селанка (11-й день) и через 7 сут после отмены его применения (18-й день эксперимента). В качестве консерванта использовали 3,8%-ный раствор цитрата натрия в соотношении кровь:консервант как 9:1. Образцы крови центрифугировали при 3000 g в течение 10 мин для получения бедной тромбоцитами плазмы.

Показатели жирового обмена в плазме крови исследовали энзиматическим колориметрическим методом с использованием набора реагентов фирмы Ольвекс-Диагностикум (Россия). При этом определяли концентрацию общего холестерина (ОХ), холестерина липопротеидов высокой плотности (Хс-ЛПВС) и липопротеидов низкой плотности (Хс-ЛПНП), триглицеридов в соответствии с инструкцией к наборам. Концентрацию глюкозы в крови определяли на биохимическом анализаторе One Touch Horizon (США), используя специальные тест-полоски для данного прибора.

Измерение массы тела животных производилось при помощи весов ВТ-500 в одно и то же время суток

(в 9 ч утра) три раза: перед первым введением пептида (1-й день), через 20 ч после 10-го введения селанка перед первым взятием крови (11-й день) и через 1 нед после прекращения введения препаратов перед вторым взятием крови (18-й день).

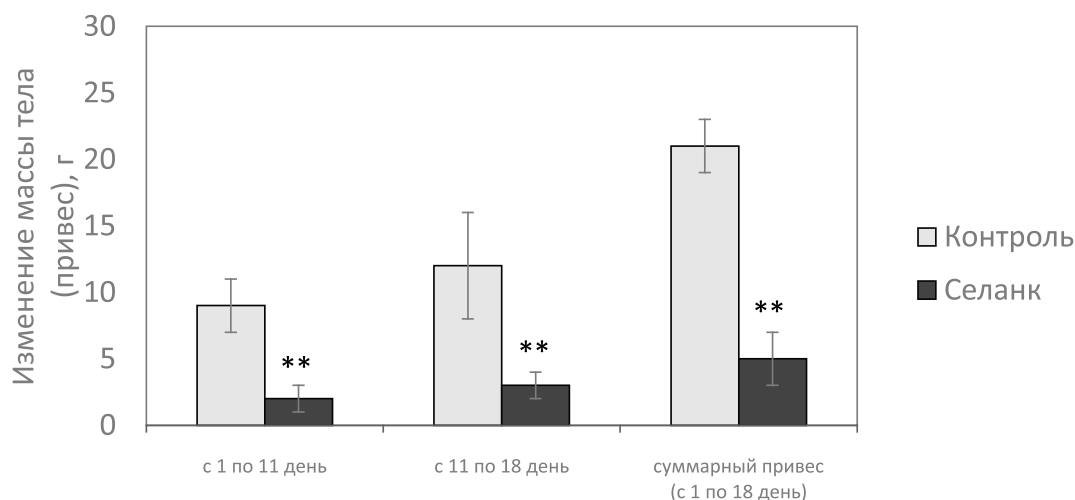
Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета прикладных программ Microsoft Office Excel 2010 и Statistica 7. После проверки количественных данных на нормальность распределения с помощью критерия Шапиро – Уилка, сравнительный анализ результатов осуществляли методом вариационной статистики для независимых выборок с вычислением t-критерия Стьюдента. Полученные данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое значение, m – стандартная ошибка среднего. Различия считали достоверными при уровне статистической значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Как показали наши эксперименты, у крыс контрольной группы с 1 по 18 день эксперимента происходило равномерное увеличение массы тела (рис. 1). Так, средняя масса тела с 1-го по 11-й день наблюдения увеличилась с $352,0 \pm 12,4$ г до $361,0 \pm 9,6$ г, а к 18-м суткам достигла $373,0 \pm 12,3$ г. Таким образом, прирост массы тела в этой группе с 1-го по 11-й день составил 9 г, с 11-го по 18-й день – 12 г, а суммарный привес (с 1-го по 18-й день) – 21 г.

У крыс группы Опыт, которым интраназально вводили селанк, выявлено замедление роста массы тела: с 1-го по 11-й день средняя масса тела животных возросла с $353,0 \pm 11,5$ г (исходный уровень) до $355,0 \pm 12,1$ г, а прирост массы тела составил 2 г, что в 4,5 раза меньше по сравнению с контролем. После отмены применения пептида увеличение массы тела животных группы Опыт происходило более медленными темпами, чем у контрольных животных: через 1 неделю после прекращения введения селанка (на 18-й день эксперимента) масса тела крыс группы Опыт увеличилась до $358,0 \pm 9,6$ г, т.е. прирост массы тела с 11-го по 18-й день составил всего 3 г, а суммарный привес за все время проведения эксперимента – 5 г, что в 4 и 4,2 раза меньше, чем в контроле, соответственно.

Известно, что центры, регулирующие потребление пищи и энергетический баланс, находятся в гипоталамусе: одни гормоны и нейромедиаторы увеличивают потребление пищи, а другие – снижают. Нарушение синтеза, метаболизма и секреции нейротрансмиттеров может приводить к гормональным сдвигам, что имеет значение для развития ожирения и специфичности отложения жира [8, 9]. Селанк проявляет тропность к серотонинергической системе [10].



Изменение массы тела крыс в процессе проведения эксперимента.
** – $p < 0,01$ по сравнению с контролем

Изменение показателей липидного профиля и концентрации глюкозы в плазме крови здоровых крыс через 20 ч после 10-кратного интраназального введения селанка и через 1 нед после его отмены ($M \pm m$)

	Через 20 ч после 10-го введения селанка или NaCl		Через 1 нед после отмены введения селанка или NaCl	
	селанк	контроль	селанк	контроль
ОХ, ммоль/л (%)	1,307 ± 0,054 (107)	1,222 ± 0,115 (100)	1,630 ± 0,106* (82)	1,985 ± 0,042 (100)
Хс-ЛПВП, ммоль/л (%)	1,117 ± 0,062* (119)	0,939 ± 0,093 (100)	1,069 ± 0,077* (72)	1,482 ± 0,032 (100)
Хс-ЛПНП, ммоль/л (%)	0,184 ± 0,026* (65)	0,283 ± 0,022 (100)	0,562 ± 0,044 (112)	0,503 ± 0,034 (100)
ТГ, ммоль/л (%)	0,394 ± 0,025** (79)	0,501 ± 0,099 (100)	0,527 ± 0,039** (69)	0,767 ± 0,043 (100)
Глюкоза, ммоль/л (%)	4,580 ± 0,950 (98)	4,700 ± 0,032 (100)	4,150 ± 0,710 (96)	4,410 ± 0,122 (100)

Примечание. ОХ – общий холестерин, Хс-ЛПВП – холестерин липопротеидов высокой плотности, Хс-ЛПНП – холестерин липопротеидов низкой плотности, ТГ – триглицериды. Статистические показатели рассчитаны относительно соответствующих проб контроля, принятых за 100%. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$.

Было показано, что интраназальное введение 0,15%-ного препарата Селанк в течение 14 дней пациентам с ожирением, страдающих расстройствами пищевого поведения, приводило к уменьшению эпизодов переедания вследствие более быстрого наступления эффекта насыщения и, таким образом, к снижению веса [7].

В наших экспериментах интраназальное введение синтетического пептида селанка крысам линии Вистар не выявило влияния на инсулярную систему: уровень глюкозы в крови крыс группы Опыт в течение всего срока наблюдений не изменялся и соответствовал значениям группы Контроль

(таблица). В исследованиях Мясоедова с соавторами (2014) было установлено, что у животных с экспериментальным метаболическим синдромом 10-кратное интраназальное введение селанка в той же дозе не приводило к снижению концентрации глюкозы. Однако увеличение показателя было недостоверным по сравнению со значениями у здоровых крыс, которым не вводили пептид.

Селанк обладает анксиолитическим действием со стимулирующим компонентом, а в условиях эмоционального напряжения улучшает деятельность вегетативной системы, а также оказывает положительное

влияние на адекватность адаптивного поведения. Известно, что при интраназальном введении он способен связываться со специфическими рецепторами на мембранах нервных клеток и оказывать влияние на обмен моноаминов в эмоциогенных структурах мозга и активность мозговых ферментов [11]. Возможно, наблюдаемый нами в эксперименте неизменный уровень глюкозы и связан с тем, что она является основным энергетическим субстратом для оптимальной работы мозга и ее содержание должно быть стабильным.

Следовательно, пептид Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro, применяемый многократно интраназально в дозе 75 мкг/кг, замедлял рост массы тела у здоровых животных, не затрагивая звенья углеводного обмена.

После 10-кратного интраназального введения селанка при неизменном уровне ОХ в обеих группах, в опыте наблюдалось достоверное снижение ТГ на 19% и Хс-ЛПНП на 35% по сравнению с контролем, а также увеличение уровня Хс-ЛПВП на 19% (таблица).

Через 7 суток после отмены введения пептида в плазме крови опытных животных концентрация ОХ составила 82% по сравнению с контролем. При этом в этой группе обнаружено достоверное уменьшение концентрации Хс-ЛПВП на 28% и ТГ на 31% относительно контрольных значений. Уровень Хс-ЛПНП в плазме практически соответствовал показателям у контрольных животных (таблица).

Показано, что исследуемый пептид восстанавливал нормальные значения показателей липидного профиля у крыс с метаболическим синдромом (животные постоянно употребляли высококалорийную пищу с избытком насыщенных жирных кислот и глюкозы), причем эффекты были значимыми и сохранялись даже после прекращения введения селанка в течение 2-х недель [12].

В механизме нарушения липидного обмена у больных ожирением помимо балансовых отклонений имеет значение расстройство нервной и эндокринной регуляции [13], сопровождающееся изменением соотношения жиромобилизующих и жиросжигающих гормонов и степени активности тканевых липаз. Процесс пищеварения активирует секрецию инсулина, который стимулирует использование метаболитов для запасания энергоносителей. В жировой ткани он индуцирует синтез липопротеидлипазы, что обеспечивает транспорт жирных кислот, глицерина в адипоциты, убирая субстрат для формирования атерогенных липопротеидов [8]. Адипо-

циты вырабатывают пептидный гормон лептин, дефицит которого в крови служит сигналом недостаточного запаса ТГ в организме, что приводит к увеличению аппетита и, в результате синтеза ТГ, повышению массы тела. Лептин является ключевым медиатором между жировой тканью и гипоталамо-гипофизарной системой [2, 14]. Возможно, селанк способен восстанавливать секрецию нейропептидов, регулирующих пищевое поведение и расход энергии, при нарушении восприятия лептиновых сигналов.

Итак, после применения синтетического пептида селанка наблюдалось пролонгированное (в течение 2-х недель) снижение концентрации триглицеридов, а уменьшение содержания в плазме крови общего холестерина отмечалось через 7 дней после отмены введения данного препарата (отставленный эффект).

Заключение

Таким образом, полученные данные указывают на способность селанка при 10-кратном интраназальном введении в дозе 75 мг/кг влиять на параметры жирового обмена у животных без патологий, а именно, снижать в крови общий холестерин, атерогенные липопротеиды низкой плотности, а также триглицериды. Впервые нами была показана способность данного пептида замедлять рост массы тела и блокировать накопление жировых отложений в организме здоровых животных. Следовательно, просматривается перспективность изучения пептида селанка в качестве препарата, предупреждающего развитие ожирения.

Список литературы

1. Ляпина Л.А., Григорьева М.Е., Оберган Т.Ю., Шубина Т.А., Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф. Пептидная регуляция метаболических процессов при гиперхолестеринемических состояниях организма // Изв. РАН. Сер. биол. – 2015. – № 6. – С. 634–644.
2. Mamedov M.N. Metabolic syndrom in Russia: prevalence, clinical peculiarities and treatment. – М.: MIG med. kniga, 2011. – 140 p.
3. Удинцев В.Ю., Серебров В.Ю. Ожирение и другие нарушения метаболизма липидов. – Томск: Изд. Том. гос. ун-та, 2008. – 326 с.
4. Шварц В. Жировая ткань как эндокринный орган // Пробл. эндокринологии. – 2009. – № 1. – С. 38–44.
5. Петровский А.К., Петровская А.Ю., Косенко М.В., Андреева Л.А., Смирнов Н.А., Федоров В.Н. Адаптогенная активность семакса и селанка: экспериментальное исследование // Мед. альманах. – 2017. – № 1. – С. 114–118.
6. Ляпина Л.А., Григорьева М.Е., Оберган Т.Ю., Майстренко Е.С. Роль пептидов тафтидина и селанка в регуляции первичного и плазменного гемостаза // Изв. РАН. Сер. биол. – 2017. – № 2. – С. 202–205.
7. Вербенко В.А. Эффективность аналога эндогенного пептида тафтидина при терапии расстройств пищевого поведения // Лечение и профилактика. – 2017. – № 3. – С. 49–57.

8. Кроненберг Г.М., Шоломо К., Полонски К.С., Ларсен П.Р. пер. с англ. Под ред. Дедова И.И., Мельниченко Г.А. Ожирение и нарушения липидного обмена. – М.: Мед. информ. агенство, 2010. – 264 с.
9. Xu A., Kaelin C., Takeda K., Akira S., Schwartz M., Barsh G. PI3K integrates the action of insulin and leptin on hypothalamic neurons // *J. Clin. Invest.* – 2005. – V. 115. – № 4. – P. 951–958.
10. Семенова Т.П., Козловская М.М., Захарова Н.М., Козловский И.И. Сравнительная оценка влияния селанка и тафтидина на обмен серотонина в мозге крыс в условиях блокады его синтеза // *Эксп. и клин. фарм.* – 2009. – № 4. – С. 6–8.
11. Телешова Е.С., Бочкарев В.К., Сюняков Т.С., Бугаева Т.П., Незнамов Г.Г. Результаты клинико-фармакологического исследования пептидного анксиолитика селанка // *Психиатрия.* – 2010. – № 4. – С. 26–35.
12. Мясоедов Н.Ф., Андреева Л.А., Григорьева М.Е., Оберган Т.Ю., Шубина Т.А., Ляпина Л.А. Влияние селанка на параметры гемостаза, липидный профиль и уровень сахара крови при развитии экспериментального метаболического синдрома // *Докл. акад. наук.* – 2014. – Т. 458, № 1. – С. 112–115.
13. Kornstein S.G. Epidemiology and Recognition of binge-disorder in psychiatry and primary care // *J. Clin. Psychiatry* – 2017. – V. 78 (suppl 1). – P. 3–8.
14. Myers M.G. Leptin receptor signaling and the regulation of mammalian physiology // *Recent Prog. Horm. Res.* – 2004. – V. 59. – P. 287–304.