

ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 577.112.6:577.112.382

СОПОСТАВЛЕНИЕ ГАСТРОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ СЕМАКСА И ЕГО МЕТАБОЛИТОВ

З.В. Бакаева, К.Е. Багликова, П.А. Климова*, Л.А. Андреева*, Г.Е. Самонина

(кафедра физиологии человека и животных; e-mail: g_samonina@mail.ru)

Семакс (МЕНFPGP) увеличивает гомеостаз слизистой оболочки желудка к действию таких ulcerогенных факторов, как этанол и стресс. На стрессорной модели язвообразования семакс и его два метаболита — HFPGP и FPGP в большом диапазоне доз 0,06—3,7 мкмоль/кг, внутривенно, проявляют протекторные противоязвенные эффекты. На этаноловой модели только семакс в двух использованных дозах (0,06 и 0,37 мкмоль/кг) демонстрировал достоверное противоязвенное свойство. Предположили, что гастропротекторная активность семакса на периферические механизмы ulcerогенеза не зависит от активности его метаболитов. В отличие от этого, гастропротекторная активность семакса на центральные механизмы ulcerогенеза может определяться и активностью двух его метаболитов — HFPGP и FPGP.

Ключевые слова: семакс, метаболиты, гастропротекторные свойства.

Семакс был получен путем присоединения последовательности Pro-Gly-Pro к C-концу нестабильного пептида Met-Glu-His-Phe — фрагмента гипофизарного гормона кортикотропина — АКТГ(4—7). Полученный таким образом пептид МЕНFPGP проявил большую устойчивость к действию протеаз, что позволило существенно увеличить длительность его действия (Ашмарин и др., 1997).

Семакс, не обладая гормональной активностью, стимулирует обучение животных в различных тестах в норме и при патологии (Яснецов и др., 1995; Ашмарин и др., 1997), проявляет антигипоксические и антиамнестические свойства (Каплан и др., 1992; Яснецов и др., 1998), улучшает кровообращение мозга у людей и животных (Ашмарин и др., 1997; Хугаева, Александрин, 1997). В клинике семакс применяется для лечения больных с ишемическим инсультом (Мясоедов и др., 1999).

Изучение влияния семакса на процессы свертывания и тромбоза показало, что присоединение последовательности RGP к АКТГ_{4—7} не только усилило его изначальную биологическую активность, но и дополнило ее эффектами самого RGP. Так, *in vivo* семакс обладает несколько меньшей, чем у глипролинов, но достаточно выраженной антикоагулянтной, фибринолитической и антитромботической активностью. *In vitro* семакс нейтрален по отношению к параметрам гемостаза, что наводит на мысль о том, что для осуществления влияния на процессы фибринолиза и тромбоза необходим гидролиз семакса до RGP (Ашмарин и др.,

1996). Сам RGP является классическим глипролином с ярко выраженным антитромботическим, фибринолитическим и антикоагулянтным свойствами (Пасторова и др., 1998).

Семакс повышает устойчивость слизистой оболочки желудка (СОЖ) к действию ряда ulcerогенных факторов, таких как этанол и стресс. Он также препятствует развитию ацетатных язв и ускоряет их заживление (Жуйкова и др., 2000).

Показано, что в присутствии плазматических мембран мозга крысы время полураспада семакса превышает 1 ч. Биодegradация пептида осуществляется преимущественно отщеплением N-концевых аминокислот от исходной пептидной последовательности. Основными продуктами биодegradации гептапептида являются HFPGP, FPGP и RGP с преобладанием пентапептида и трипептида (Долотов и др., 2004).

Защитные свойства RGP в отношении слизистой оболочки желудка (СОЖ) были показаны на различных классических экспериментальных моделях язвообразования (Абрамова и др., 1996; Samonina et al., 2000; Бакаева, Самонина, 2005). Метаболиты RGP — дипептиды PG и GP обнаруживаются в крови крыс уже через 30 мин (Золотарев и др., 2003) и обладают собственной дифференцированной гастропротективной активностью. PG более эффективен на моделях повреждения СОЖ, вызванных нарушением в основном периферических механизмов поддержания желудочного гомеостаза, GP — центральных (Абрамова и др., 1996).

* ИМГ РАН, г. Москва.

Противоязвенная активность других метаболитов семакса ранее не изучалась, поэтому целью настоящей работы было исследование возможного влияния этих пептидов на устойчивость СОЖ к таким повреждающим факторам, как этанол и стресс, а также анализ роли дериватов семакса в проявлении его гастропротекторных свойств.

Материалы и методы

Активность семакса (МЕНFPGP) и его метаболитов — HFPGP, FPGP и PGP, синтезированных в Институте молекулярной генетики РАН, исследовали на двух экспериментальных моделях язвообразования: этаноловой в дозах 0,06 и 0,37 мкмоль/кг, и стрессорной водоиммерсионной в дозах 0,06, 0,37 и 3,7 мкмоль/кг. Увеличение классической клинической дозы (0,06 мкмоль/кг) семакса и его метаболитов до 0,37 и 3,7 мкмоль/кг позволило нам сравнить противоязвенные эффекты исследуемых пептидов с эффектами глипролинов (PGP, PG и GP), известными противоязвенными агентами.

В качестве подопытных животных использовали в первом случае самцов беспородных белых крыс, во втором — самцов крыс линии Вистар массой 200—300 г. За сутки до опыта животных лишали пищи, а при этаноловой модели и воды, и помещали в клетку с решетчатым дном для предотвращения капрофагии. Опытным и контрольным животным за 1 ч до язвенной болезни желудка внутривенно вводили исследуемый препарат в объеме 0,5 мл/200 г веса или физиологический раствор в таком же объеме.

Спустя 1 ч после инъекции препарата крысам интрагастрально вводили 96%-й этанол в объеме 1 мл/200 г массы тела или помещали в бассейн с водой (температура воды 21°), где они плавали в течение получаса. Далее животных обтирали и помещали в теплые обогреваемые клетки. Через 1 ч крыс умерщвляли эфиром.

Площадь каждого язвенного поражения в мм² оценивали с помощью бинокля с окулярмикроскопом. Далее вычисляли суммарную площадь повреждений в каждом желудке. Так как средняя площадь повреждений у контрольных животных в разных экспериментах значительно варьировала, площади повреждения нормировали, т.е. представляли в процентах к среднему контрольному значению в каждом конкретном эксперименте. Для каждой группы вычисляли среднюю площадь язвенных поражений, т.е. величину повреждений в процентах к контролю. Противоязвенное действие препаратов выражали как обратную величину, т.е. на сколько процентов действие пептидов уменьшает среднюю площадь опытных язв по сравнению с контролем. Для оценки статистической достоверности различий групп использовали компьютерную программу Statistica 5.0, LSD-тест.

Эксперименты с животными выполняли в соответствии с этическими принципами и нормативными документами, рекомендованными Европейским научным фондом и Хельсинкской декларацией о гуманном отношении к животным.

Результаты и обсуждение

Через 1 ч после введения этанола на СОЖ выявляются большие повреждения, выражающиеся в значительных геморрагиях и эрозиях большой протяженности. При стрессорном методе вызова язв на слизистой оболочке образуются точечные эрозивные повреждения размером от 0,1 × 0,1 мм до 1 × 1 мм, которые в литературе называются стрессорными язвами.

В развитии язвенных повреждений участвуют как периферические, так и центральные механизмы, которые могут иметь различный вклад в развитие язвенной болезни желудка. Развитие этаноловых повреждений СОЖ в основном связано с периферическими механизмами язвенной болезни (Sibilia et al., 2003), стрессорное действие холодного плаванья — с центральными механизмами (Maier, 2000).

Этаноловая модель язвообразования. В группе, предварительно получившей семакс в классической клинической дозе 0,06 мкмоль/кг, этаноловые повреждения составили 36% по сравнению с площадью повреждения у контрольных животных, принятой за 100% (рис. 1). Противоязвенный эффект составил 64%. Несколько меньший противоязвенный эффект (60%) проявил тетрапептид FPGP. Пентапептид HFPGP практически не влиял на этаноловое язвообразование.

Увеличение дозы семакса в 6 раз почти не изменило его гастропротекторного действия (рис. 1). Интересно, что в дозе 0,37 мкмоль/кг произошла инверсия эффектов пента- и тетрапептидов. У HFPGP наблюдалась значительная гастропротекция — 80%, FPGP проявлял лишь тенденцию.

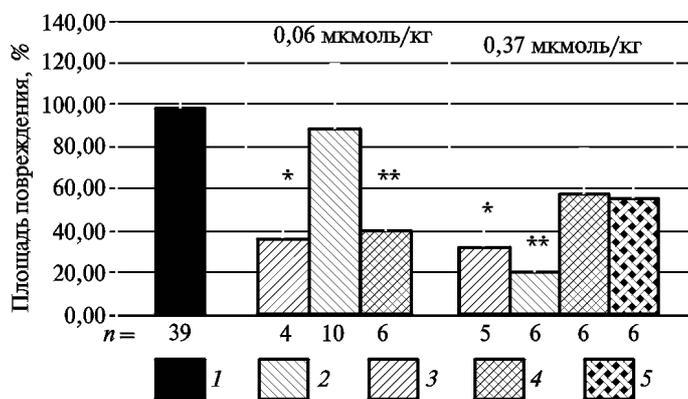


Рис. 1. Влияние семакса и его метаболитов на этаноловое язвообразование у крыс. *P < 0,05; **P < 0,01 к контролю, n — количество животных в группе. 1 — контроль, 2 — МЕНFPGP, 3 — HFPGP, 4 — FPGP, 5 — PGP

Известно, что гастропротекторный эффект трипептида PGP стабилен в широком диапазоне доз от 0,5 до 53 мкмоль/кг. Аналогично ему действует дипептид PG, а вот GP уменьшает этаноловые повреждения только при увеличении дозы до 53 мкмоль/кг (Жуйкова и др., 2003).

Вероятно, дальнейший гидролиз FPGP не дает метаболита PGP, так как в классической дозе глипролинов 3,7 мкмоль/кг тетрапептид не действует (на рис. 1 не показано), в то время как трипептид обладает ярко выраженной противоязвенной активностью (Жуйкова и др., 2003). Эффект FPGP, а точнее его отсутствие, напоминает индифферентные свойства GP в отношении повреждений, вызванных периферическими механизмами ulcerogenesis. Поэтому можно предположить, что дальнейшим продуктом гидролиза FPGP может быть именно GP, не проявляющий защитных свойств на этаноловой модели язвообразования. Не исключено, что методика, используемая авторами (Долотов и др., 2004) при исследовании биодеградации семакса в присутствии плазматических мембран мозга крысы, не позволила выявить короткие дипептиды в инкубационной смеси.

Таким образом, защита семаксом СОЖ от этаноловых повреждений определяется, по-видимому, действием гептапептида в целом, при этом его метаболиты обладают собственными, зависимыми от дозы гастропротекторными эффектами. В нашей практике имеются результаты, указывающие на противоязвенную активность таких тетрапептидов, как GPGG (Абрамова и др., 1996) и GPGR (Багликова и др., 2009), хотя FPGP нельзя отнести к глипролинам из-за наличия в молекуле фенилаланина.

Стрессорная водоиммерсионная модель язвообразования. На стрессорной модели семакс в дозах 0,06 и 0,37 мкмоль/кг имел примерно одинаковую противоязвенную активность — 60%, в дозе 3,7 мкмоль/кг — 89% (рис. 2). Этот эффект на 18% больше, чем действие самого активного в отношении стрессорных язв глипролина — дипептида GP в классической дозе 3,7 мкмоль/кг (Жуйкова и др., 2003а). Дериваты семакса HFPGP и FPGP в дозе 0,06 мкмоль/кг проявили значительные гастропротекторные эффекты — 92 и 90% соответственно. Увеличение доз в 6 и 60 раз практически не изменило эти свойства. Сопоставление противоязвенных эффектов МЕНFPGP и его непосредственных метаболитов — HFPGP, FPGP и PGP — при введении их в дозе 3,7 мкмоль/кг показало достоверное повышение устойчивости СОЖ к действию стресса с наибольшей тенденцией эффективности для МЕНFPGP.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Абрамова М.А., Самонина Г.Е., Ашмарин И.П. 1996. Пролин и простейшие пролинсо-

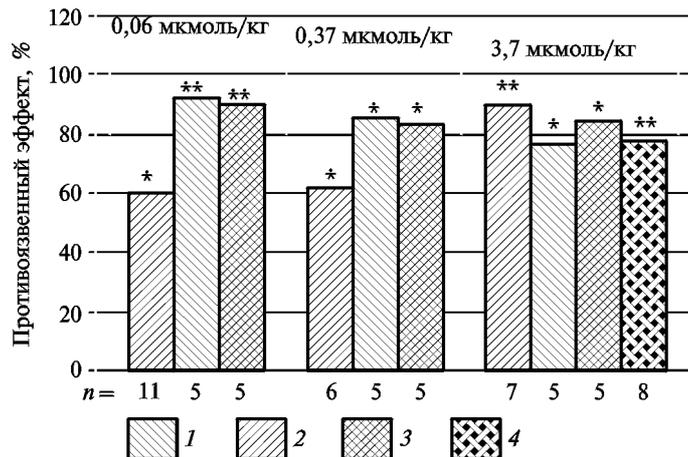


Рис. 2. Влияние семакса и его метаболитов на стрессорное язвообразование у крыс. *P < 0,005; **P < 0,001 к контролю. 1 — МЕНFPGP, 2 — HFPGP, 3 — FPGP PGP. 4 — Остальные обозначения те же, что и на рис. 1

Таким образом, метаболиты семакса — HFPGP и FPGP — обладают собственным гастропротекторным потенциалом в большом диапазоне доз — от 0,06 до 3,7 мкмоль/кг при внутрибрюшинном введении и могут вносить свой вклад в проявление защитных свойств МЕНFPGP в отношении слизистой желудка от воздействия стресса. Достоверно высокий протекторный эффект гептапептида выявляется только при самой большой используемой дозе.

Итак, полученные нами данные еще раз свидетельствуют о том, что гастропротективные свойства семакса могут осуществляться как на периферическом, так и на центральном уровне. Основными механизмами противоязвенного действия семакса могут быть его влияние на кровоток (Жуйкова и др., 2002), на желудочную секрецию (Жуйкова и др., 2003б) и на ЦНС (Яснецов и др., 1995; Ашмарин и др., 1997).

Следует полагать, что противоязвенная активность семакса в отношении повреждений, вызванных периферическими механизмами ulcerogenesis, в основном определяется эффектами самого гептапептида и почти не зависит от продуктов его гидролиза. Гастропротекторное действие МЕНFPGP в отношении язв, вызванных центральными нарушениями регуляции желудочного гомеостаза, может быть связана с высвобождением его метаболитов — HFPGP и FPGP.

* * *

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 06—04 48833).

держающие фрагменты нейропептидов модулируют через центральные и периферические механизмы состояние

слизистой оболочки желудка // *Нейрохимия*. **13**. Вып. 3. 209—214.

Ашмарин И.П., Ляпина Л.А., Пасторова В.Е. 1996. Модуляция гемостатических реакций *in vitro* и *in vivo* представителями семейств регуляторных пептидов // *Вестн. РАМН*. № 6. 50—57.

Ашмарин И.П., Незавибатько В.Н., Мясоедов Н.Ф., Каменский А.А., Гривенников И.А., Пономарева-Степная М.А., Андреева Л.А., Каплан А.Я., Кошелев В.Б., Рясина Т.В. 1997. Ноотропный аналог адренокортикотропина 4—10 — семакс (15-летний опыт разработки и изучения) // *Журн. высш. нервн. деятельности*. **47**. Вып. 2. 420—430.

Багликова К.Е., Труфанова А.В., Бакаева З.В., Самонина Г.Е., Андреева Л.А., Климова П.А., Васильковский Б.В. 2009. Влияние гидроксипролин- и пролинсодержащих глипролинов на этаноловое язвобразование у крыс // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. Биология*. № 1. 3—8.

Бакаева З.В., Самонина Г.Е. 2005. Влияние глипролинов на развитие и заживление ацетатных язв у крыс // *Патофизиол. и эксперимент. терапия*. № 2. 25—27.

Долотов О.В., Золотарев Ю.А., Дорохова Е.М., Андреева Л.А., Алфеева Л.Ю., Гривенников И.А., Мясоедов Н.Ф. 2004. Связывание аналога АСТН-(4—10)-гептапептида семакс с плазматическими мембранами базальных ядер переднего мозга крысы и его биодegradация // *Биоорг. химия*. **30**. № 3. 241—246.

Жуйкова С.Е., Смирнова Е.А., Бакаева З.В., Самонина Г.Е. 2000. Влияние семакса на гомеостаз слизистой оболочки желудка белых крыс // *Бюл. эксперимент. биол. и мед.* **129**. № 10. 300—302.

Жуйкова С.Е., Сергеев В.И., Самонина Г.Е., Мясоедов Н.Ф. 2002. Влияние семакса на индометациновое язвобразование у крыс и один из возможных механизмов его действия // *Бюл. эксперимент. биол. и мед.* **133**. № 6. 665—667.

Жуйкова С.Е., Бакаева З.В., Самонина Г.Е. 2003а. Дифференцированные противоязвенные эффекты возможных метаболитов пептида PGP—PG и GP — на этаноловой и стрессорной моделях вызова язв у крыс // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. Биология*. № 2. 20—22.

Жуйкова С.Е., Хропычева Р.П., Золотарев В.А., Поленов С.А., Самонина Г.Е. 2003б. Новые пептидные регуляторы желудочной секреции крыс (амилин, PGP и семакс) // *Эксперимент. и клинич. гастроэнтерология*. № 2. 86—91.

Золотарев Ю.А., Жуйкова С.Е., Ашмарин И.П., Мясоедов Н.Ф., Васильковский Б.В., Самонина Г.Е. 2003. Метаболизм пептида PGP при разных способах введения // *Бюл. эксперимент. биол. и мед.* **135**. № 4. 423—426.

Каплан А.Я., Кошелев В.Б., Незавибатько В.Н., Ашмарин И.П. 1992. Повышение устойчивости организма к гипоксии с помощью нейропептидного лекарственного препарата семакс // *Физиология человека*. **18**. № 5. 104—107.

Мясоедов Н.Ф., Скворцова В.И., Насонов Е.Л., Журавлева Е.Ю., Гривенников И.А., Арсеньева Е.Л., Суханов И.И. 1999. Изучение механизмов нейропротективного действия семакса в остром периоде ишемического инсульта // *Журн. неврол. психиат.* **99**. № 5. 15—19.

Пасторова В.Е., Ляпина Л.А., Смолина Т.Ю., Ашмарин И.П. 1998. Антикоагулянтные и фибринолитические эффекты коротких пролинсодержащих пептидов // *Изв. РАН. Сер. биол.* № 3. 390—394.

Хугаева В.К., Александрин В.В. 1997. Зависимость терапевтического эффекта пептидного препарата семакс от степени тяжести ишемии мозга // *Бюл. эксперимент. биол. и мед.* **124**. № 7. 39—42.

Яснецов В.В., Попов В.М., Кисилева Н.М., Каменский А.А., Незавибатько В.Н. 1995. Вестибулярные и антиамнестические свойства фрагментов адреноректорного гормона и их аналогов // *Бюл. эксперимент. биол. и мед.* **119**. № 6. 634—636.

Яснецов В.В., Крылова И.Н., Проворнова Н.А. 1998. Фармакологическая коррекция нарушений мнестических функций, вызванных гипоксией и ишемией головного мозга у крыс // *Авиакосмическая и экологическая медицина*. **132**. № 1. 55—60.

Mayer E.A. 2000. The neurobiology of stress and gastrointestinal disease (review) // *Gut*. **47**. 861—869.

Samonina G., Lyapina L., Kopylova G., Pastorova V., Bakaeva Z., Jeliashnik N., Zuykova S., Ashmarin I. 2000. Protection of gastric mucosal integrity by gelatin and simple proline-containing peptides // *Pathophysiology*. N 7. 69—73.

Sibilia V., Rindi G., Pagani F., Rapetti D., Locatelli V., Torsello A., Campanini N., Deghenghi R., Netti C. 2003. Ghrelin protects against ethanol-induced gastric ulcers in rats: studies on the mechanisms of action // *Endocrinology*. **144**. N 1. 353—359.

Поступила в редакцию
25.12.06

THE COMPARISON OF GASTROPROTECTIVE PROPERTIES OF SEMAX AND ITS METABOLITES

Z.V. Bakaeva, K.E. Baglikova, P.A. Klimova, L.A. Andreeva, G.E. Samonina

Semax (MEHFPGP) increases of gastric mucosal homeostasis to such ulcerogenic factors as ethanol and stress. On stress ulcer model Semax and its two metabolites — HFPGP and FPGP in the wide range of doses — 0,06—3,7 mkmol/kg show protective antiulcer properties. On ethanol ulcer model only Semax in both of used doses (0,06 and 0,37 mkmol/kg) demonstrates reliable protective antiulcer property. It was supposed that Semax's gastroprotective activity concerning of

peripheral mechanisms of ulcerogenesis did not depend on its metabolites. On the contrary to this fact Semax's gastroprotective activity connected with central mechanisms of ulcerogenesis may be caused and gastroprotective activity of HFPGP and FPGP.

Key words: *semax, metabolites, gastroprotective activity.*

Сведения об авторах

Бакаева Занда Валерьевна — докторант кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел. (495) 939-46-04; e-mail: Элиста.Zanda@bk.mail.ru

Багликова Кермен Евгеньевна — преподаватель Калмыцкого государственного университета. Тел. (495) 939-46-04; e-mail: kermenev@mail.ru

Климова Полина Александровна — лаборант ИМГ РАН. Тел. (495) 939-46-04; e-mail: g_samonina@gmail.com

Андреева Людмила Александровна — зав. сектором ИМГ РАН. Тел. (495) 939-46-04; e-mail: landr@img.ras.ru

Самонина Галина Ефимовна — докт. биол. наук, проф. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел. (495) 939-46-04; e-mail: g_samonina@gmail.com