

Данилова Елена Ивановна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры педиатрии; тел.: 89619122766; e-mail: danilowa@list.ru

Стадников Александр Абрамович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, цитологии, эмбриологии; тел.: 8912867914; e-mail: k_histology@orgma.ru

Иванова Елена Валерьевна, доктор медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории биомониторинга и молекулярно-генетических исследований; тел.: 89619291872; e-mail: walerewna13@gmail.com

Перунова Наталья Борисовна; доктор медицинских наук, профессор РАН, заведующая лабораторией; тел.: 89225553080; e-mail: perunovanb@gmail.com

© Коллектив авторов, 2022

УДК 615:547.466.3:616.379-008.64-056.52

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2022.17097>

ISSN – 2073-8137

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ С ГАМК-ЕРГИЧЕСКИМ ДЕЙСТВИЕМ НА МАССУ ТЕЛА, ГЛЮКОЗОТОЛЕРАНТНОСТЬ И ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ У МЫШЕЙ С ОЖИРЕНИЕМ

И. Н. Тюренков^{1, 2}, Д. В. Куркин², Д. А. Бакулин², М. А. Дубровина¹,
Е. Е. Абросимова¹, Н. С. Ковалев¹, В. И. Петров²

¹ Волгоградский государственный медицинский университет,
Российская Федерация

² Научный центр инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным
производством, Волгоград, Российская Федерация

THE EFFECT OF THE DRUGS WITH GABA-ERGIC EFFECT ON BODY WEIGHT, GLUCOSE TOLERANCE AND INSULIN RESISTANCE IN OBESE MICE

Tyurenkov I. N.^{1, 2}, Kurkin D. V.², Bakulin D. A.², Dubrovina M. A.¹,
Abrosimova E. E.¹, Kovalev N. S.¹, Petrov V. I.²

¹ Volgograd State Medical University, Russian Federation

² Scientific Center for Innovative Medicines with Pilot Production, Volgograd,
Russian Federation

Приведены результаты оценки влияния ГАМК и её производных на метаболическое состояние мышей, которых содержали в условиях высококалорийной диеты в течение 6 месяцев. Было установлено, что пероральное введение аминалона в течение 4 недель снижало массу тела и улучшало скорость утилизации глюкозы. Полученные результаты дают основание для поиска и разработки лекарственных средств для коррекции нарушений углеводного обмена на основе агонистов ГАМК-А и ГАМК-Б рецепторов.

Ключевые слова: ожирение, диабет, высококалорийная диета, ГАМК

The article presents the results of assessing the effect of GABA and its derivatives on the metabolic state of mice kept on a high-calorie diet for 6 months. It was found that oral administration of aminoron for 4 weeks reduced body weight and improved the glucose utilization rate. The results obtained provide a basis for the search and development of drugs for the correction of carbohydrate metabolism disorders based on agonists of GABA-A and GABA-B receptors.

Keywords: obesity, diabetes, high-calorie diet, GABA

Для цитирования: Тюренков И. Н., Куркин Д. В., Бакулин Д. А., Дубровина М. А., Абросимова Е. Е., Ковалев Н. С., Петров В. И. ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ С ГАМК-ЕРГИЧЕСКИМ ДЕЙСТВИЕМ НА МАССУ ТЕЛА, ГЛЮКОЗОТОЛЕРАНТНОСТЬ И ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ У МЫШЕЙ С ОЖИРЕНИЕМ. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2022;17(4):407-410. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2022.17097>

For citation: Tyurenkov I. N., Kurkin D. V., Bakulin D. A., Dubrovina M. A., Abrosimova E. E., Kovalev N. S., Petrov V. I. THE EFFECT OF THE DRUGS WITH GABA-ERGIC EFFECT ON BODY WEIGHT, GLUCOSE TOLERANCE AND INSULIN RESISTANCE IN OBESE MICE. *Medical News of North Caucasus*. 2022;17(4):407-410. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2022.17097> (In Russ.)

ГАМК – гамма-аминомасляная кислота
ГПП-1 – глюкагоноподобный пептид-1
ИТТ – инсулиновый тест толерантности

ПТТГ – пероральный тест на толерантность к глюкозе
СД – сахарный диабет
G20 – «Большая двадцатка»

В России и большинстве европейских стран ожирением страдает около 20 % населения, а избыточным весом почти 60 %. Ожирение снижает общий уровень здоровья населения, способствует заболеваемости и смертности в результате сердечно-сосудистых, онкологических, метаболических нарушений, сахарного диабета. Прогноз экономических потерь, связанных с ожирением, для стран, входящих в состав G20, в ближайшие 30 лет составит больше 5 триллионов долларов США [1, 2]. С 1975 по 2016 год количество людей с ожирением выросло втрое. В основе этого заболевания лежит избыточный приём высококалорийной и жирной пищи. Ожирение является одним из факторов развития СД 2 типа, но длительное время может протекать без нарушения метаболизма глюкозы. Повышение калорийности пищи вызывает гиперинсулинемию, вследствие чего в течение времени развивается инсулинорезистентность, возникает гипергликемия и глюкозотолерантность, приводящие к снижению числа инсулинпродуцирующих клеток вследствие апоптоза. Основные стратегии терапии ожирения заключаются в индивидуализированном подходе к коррекции пищевого рациона, физической активности и фармакотерапии, в состав которой часто включены препараты с анорексигенным эффектом (сибутрамин, лираглутид, лоркасерин, фентермин, топирамат), ускоряющие жировой обмен, препятствующие всасыванию углеводов или жиров (ингибиторы α -глюкозидазы, ингибиторы натрий-глюкозного котранспортера 2 типа, ингибиторы кишечных пептидаз), слабительные, мочегонные, балластные вещества (содержащие клетчатку или микрокристаллическую целлюлозу). Особое место в терапии ожирения занимают препараты на основе агонистов рецептора ГПП-1. Лираглутид зарегистрирован как препарат для лечения ожирения в 2016 году, а в настоящее время другой агонист ГПП-1 – семаглутид проходит клинические исследования при этом заболевании [3].

Однако имеющиеся препараты, снижающие аппетит, не в полной мере удовлетворяют врачей и пациентов либо по причине их недостаточной эффективности, либо из-за большого числа осложнений, или из-за высокой стоимости. Поэтому проблема поиска высокоэффективных препаратов с хорошей переносимостью и низкой стоимостью остается актуальной. В последние годы опубликован ряд работ, доказывающих перспективность поиска веществ с ГАМК-ергическим действием для профилактики и лечения ожирения, СД 1 и 2 типов [4, 5].

У экспериментальных животных с гиперлипидемией, вызванной ожирением и СД, было показано, что длительное пероральное введение ГАМК способствует улучшению функции бета-клеток [6].

Рядом авторов установлено, что ГАМК усиливает анорексигенный эффект ГПП-1 и, в частности, его синтетического аналога лираглутида. Эти эффекты обусловлены влиянием на структуры головного мозга, в которых широко и плотно представлены рецепторы ГПП-1, участвующие в регуляции потребления пищи (гипоталамус, ядро солитарного тракта и др.) и контролирующее энергетический баланс [7, 8].

Эти данные позволяют предположить, что кроме ГАМК и другие её производные будут вызывать у животных с ожирением уменьшение массы тела, снижение глюкозотолерантности и инсулинорезистент-

ности, что и послужило основанием к выполнению данного исследования.

Целью данной работы стало сравнительное изучение влияния ГАМК, фенибута и пикамилона на инсулинорезистентность и уровень гликемии у животных с ожирением.

Материал и методы. Исследование выполнено на беспородных мышах-самцах возраста 4–5 месяцев с изначальной массой тела 25–30 г. Животных содержали в условиях стандартного вивария, до начала эксперимента они имели свободный доступ к комбинированному корму (ГОСТ Р51849–2001, ООО «Лаборадоркорм», Москва) и питьевой воде.

Далее интактная группа (n=8) продолжала получать стандартный корм, а всех остальных животных переводили на высококалорийную и высококалорийную диету (свободный доступ к следующим продуктам: сливочное масло (на 100 г: 748 ккал; Б 0,5 г; Ж 82,5 г; У 0,8 г), подсолнечная халва (на 100 г: 523 ккал; Б 11,6 г; Ж 29,7 г; У 54 г) и козинак подсолнечный (на 100 г: 576 ккал, Б 14,8 г; Ж 42,6 г; У 34,5 г)). На высококалорийной и калорийной диете мышей содержали 6 месяцев по 5 особей в одной клетке, изменение массы тела регистрировали 1 раз в месяц. Нарушения толерантности к глюкозе определяли по результатам измерения уровня гликемии после перорального введения раствора глюкозы в дозе 3 мг/кг. Инсулинорезистентность определяли при интраперитонеальном введении инсулина в дозе 0,3 МЕ/кг. Концентрацию глюкозы измеряли портативным глюкометром (Contour TS, «Bayer», Германия), а образцы крови получали путем пункции хвостовой вены.

Из общей массы содержащихся на высококалорийной и высококалорийной диете животных (n=50) было отобрано 40 мышей, исходная масса которых находилась в пределах 39–52 г и которые имели выраженные метаболические нарушения по результатам инсулинового теста толерантности (ИТТ) и перорального теста на толерантность к глюкозе (ПТТГ). Далее животных с метаболическими нарушениями распределяли на 5 групп (n=8) и в течение 30 дней перорально вводили очищенную воду (группа «Диета»), метформин 300 мг/кг («Диета+Метформин») или ГАМК-миметики: аминалон 100 мг/кг («Диета+Аминалон»), фенибут 50 мг/кг («Диета+Фенибут»), пикамилон 50 мг/кг («Диета+Пикамилон»). Дозы ГАМК-миметиков подбирали согласно данным литературы [9]. После проведения терапии у всех животных повторно определяли массу, толерантность к глюкозной нагрузке и показатель инсулинорезистентности. Площадь под линейным графиком зависимости уровня гликемии от времени (AUC) от начального момента до последней измеренной концентрации (AUC(0→t)) рассчитывали с помощью метода трапеций.

Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

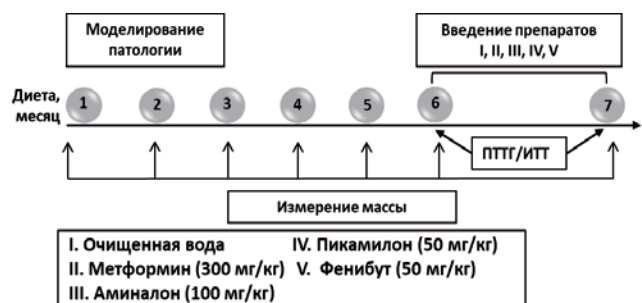


Рис. 1. Дизайн исследования:
 ИТТ – инсулиновый тест толерантности, ПТТГ – пероральный тест на толерантность к глюкозе

Статистическую обработку данных проводили с использованием ПО MS Excel 2016 и GP Prism 6 (США). Для проверки характера распределения данных использовали критерий Шапиро – Уилка, далее соответственно для параметрического и непараметрического распределения использовали однофакторный дисперсионный анализ (One-Way ANOVA) либо ранговый однофакторный дисперсионный анализ Краскела – Уоллиса с последующим применением апостериорных (post hoc) критериев (соответственно t-критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони либо критерия Данна). В случае параметрического распределения данные представляли в виде графика с указанием среднего значения и стандартной ошибки среднего ($M \pm m$), в случае непараметрического распределения данные представляли в виде диаграмм размахов с указанием медианы, нижнего и верхнего квартилей ($Me(Q1;Q3)$). Различия считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. У животных, которых содержали на стандартной диете (группа Интакт), было отмечено незначительное увеличение массы тела, в то время как у тех, которым стандартную диету заменили на высококалорийный и богатый жирами корм, уже с 4 месяца отмечали достоверное увеличение массы тела. Через 6 месяцев содержания мышей на указанной диете до начала терапии масса тела была в пределах 39–52 г, что значительно превышало таковой у интактных животных (рис. 2А). У мышей, которым курсом вводили аминалон, масса тела после 4-недельного лечения была статистически значимо меньше, чем у контрольных животных без лечения. Курсовое введение фенибута, пикамилона или метформина значимо не влияло на динамику увеличения массы тела животных (рис. 2Б).

Проведение ПТТГ у мышей с ожирением выявило повышение постпрандиальной гликемии (через 60 и 120 минут после введения глюкозы) по сравнению с животными без ожирения, что является признаком нарушения толерантности к глюкозе (рис. 3А). После курсового введения аминалона (ГАМК) и метформина скорость утилизации глюкозы (снижение площади под кривой «уровень гликемии – время») была значительно выше, чем у животных контрольной группы. Курсовое введение фенибута и пикамилона повышало скорость утилизации глюкозы, площадь под кривой «уровень гликемии – время» у этих животных была ниже, чем в контрольной группе, но различия не достигали уровня статистической значимости (рис. 3Б).

Интраперитонеальное введение инсулина 0,3 МЕ/кг интактным животным вызывало значительное снижение концентрации глюкозы к 60-й минуте наблюдения, которая возвращалась к исходному уровню к 180-й минуте, что свидетельствует о высокой чувствительности тканей этих животных к инсулину. Напротив, у животных с ожирением аналогичное введение инсулина приводило лишь к незначительному снижению концентрации

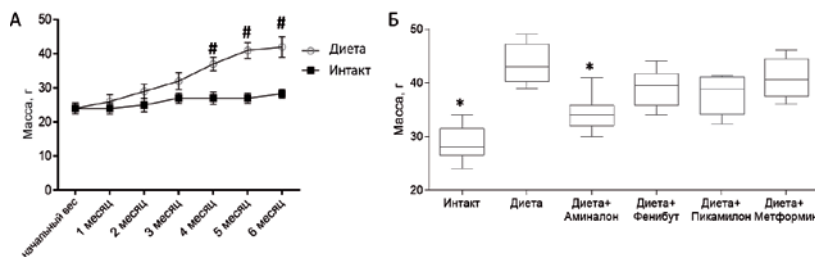


Рис. 2. Динамика изменения массы тела мышей в условиях высококалорийной диеты до терапии (А) и масса животных после терапии (Б).

Примечание: # – различия статистически значимы по сравнению с данными группы «Интакт», $p < 0,05$, t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони; * – различия достоверны по сравнению с данными группы «Диета», $p < 0,05$, критерий Данна

глюкозы в крови, которая практически не менялась на протяжении всего времени наблюдения, что можно объяснить низкой чувствительностью тканей этих мышей к инсулину, то есть выраженной инсулинорезистентностью (рис. 3В). У животных, получавших аминалон и метформин, площадь под кривой «уровень гликемии – время» при проведении ИТТ была значимо ниже, чем в контрольной группе, что указывает на снижение инсулинорезистентности. Курсовое введение фенибута и пикамилона по сравнению с контролем значимо не влияло на изменение концентрации глюкозы в крови в ответ на введение инсулина (рис. 3Г). Следовательно, изучаемые соединения в меньшей степени влияли на резистентность тканей к инсулину.

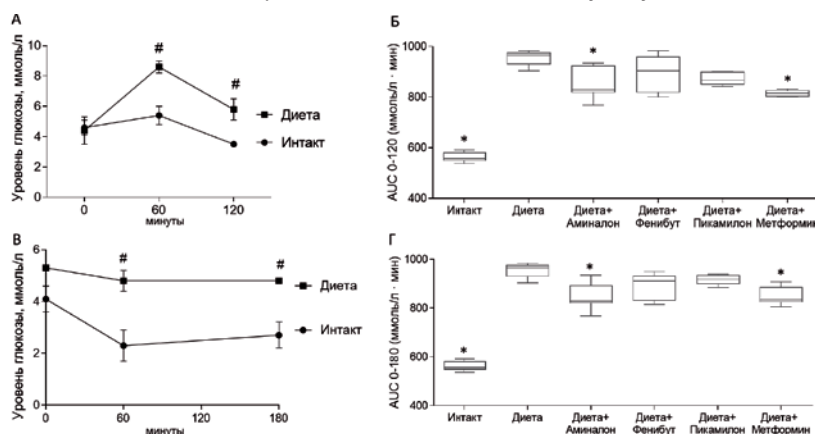


Рис. 3. Изменение уровня глюкозы при проведении ПТТГ после 6 месяцев высококалорийной диеты до лечения (А), площадь под кривой «уровень гликемии – время» при проведении ПТТГ после лечения (Б). Изменение концентрации глюкозы в ответ на введение инсулина мышам (тест ИТТ) с ожирением до лечения (В) и площадь под кривой «уровень гликемии – время» при проведении ИТТ после лечения (Г).

Примечание: # – различия статистически значимы по сравнению с данными группы «Интакт», $p < 0,05$, t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони; * – различия достоверны по сравнению с данными группы «Диета», $p < 0,05$, критерий Данна

В представленном исследовании воспроизведена модель алиментарного ожирения с нарушенной толерантностью к глюкозе и инсулинорезистентностью, которые являются начальной стадией метаболических нарушений и предшествуют развитию сахарного диабета.

В результате изучения влияния на углеводный обмен аминалона и производных ГАМК – пикамилона и фенибута у мышей с экспериментальным ожирением (СД2) было выявлено, что курсовое введение аминалона и препарата сравнения метформина приводит к улучшению утилизации глюкозы, уменьшению массы

тела и снижению инсулинорезистентности. В сравнении с ГАМК при введении фенибута или пикамилона отмечались менее выраженное изменение массы тела и уменьшение глюкозотолерантности. Можно предположить, что длительное (в течение месяца) введение ГАМК и её производных могло в разной степени повышать выработку ГПП-1, который подавляет аппетит и при курсовом применении вызывает снижение массы тела. Этот эффект, установленный для ГАМК [5], очевидно менее выражен для фенибута и пикамилона.

Ранее было установлено, что действие ГАМК на апоптоз β -клеток, на их регенерацию и повышение продукции инсулина связано с усилением выработки многофункционального белка Клото. Внутрицеребровентрикулярное введение белка Клото подавляет потребление пищи, понижает массу тела у мышей с СД 1 и 2 типа. Белок Клото в ЦНС модулирует нейроны, расположенные внутри дугообразного ядра гипоталамуса нейропептида Y, который участвует в регуляции энергетического баланса и имеет решающее значение в регуляции метаболизма [10].

Литература/References

1. Разина А. О., Ачкасов Е. Е., Руненко С. Д. Ожирение: современный взгляд на проблему. *Ожирение и метаболизм*. 2016;13(1):3-8. [Razina A. O., Achkasov E. E., Runenko S. D. Obesity: the modern approach to the problem. *Ozhireniye i metabolizm*. – *Obesity and metabolism*. 2016;13(1):3-8. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.14341/omet201613-8>
2. Тюренков И. Н., Куркин Д. В., Бакулин Д. А., Волотова Е. В., Шафеев М. А. Влияние агониста рецептора GPR119 на уровень глюкозы, массу тела и потребление пищи у животных с ожирением, обусловленным высокожировой и углеводной диетой. *Проблемы эндокринологии*. 2016;62(1):44-49. [Tiurenkov I. N., Kurkin D. V., Bakulin D. A., Volotova E. V., Chafeev M. A. The influence of novel GPR119 agonist on body weight, food intake and glucose metabolism in obesity rats provoked high-fat and -carbohydrate diet. *Problemy endokrinologii*. – *Problems of Endocrinology*. 2016;62(1):44-49. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.14341/probl20162144-49>
3. Iepsen E. W., Lundgren J., Dirksen C., Jensen J.-E. B., Pedersen O. [et al.]. Treatment with a GLP-1 receptor agonist diminishes the decrease in free plasma leptin during maintenance of weight loss. *Int. J. Obesity*. 2015;39(5):834-841. <https://doi.org/10.1038/ijo.2014.177>
4. Wang K. L., Tao M., Wei T. J., Wei R. Pancreatic β cell regeneration induced by clinical and preclinical agents. *World J. Stem. Cells*. 2021;13(1):64-77. <https://doi.org/10.4252/wjsc.v13.i1.64>
5. Fortin S. M., Lipsky R. K., Lhamo R., Chen J., Kim E. [et al.]. GABA neurons in the nucleus tractus solitarius express GLP-1 receptors and mediate anorectic effects of liraglutide in rats. *Sci. Transl. Med.* 2020;12(533):eaay8071. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aay8071>
6. Tian J., Dang H., Chen Z., Guan A., Jin Y. [et al.]. γ -Aminobutyric acid regulates both the survival and replication of human β -cells. *Diabetes*. 2013;62(11):3760-3765. <https://doi.org/10.2337/db13-0931>
7. Grill H. J., Hayes M. R. Hindbrain neurons as an essential hub in the neuroanatomically distributed control of energy balance. *Cell. Metab.* 2012;16(3):296-309. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.06.015>
8. Cork S. C., Richards J. E., Holt M. K., Gribble F. M., Reimann F. [et al.]. Distribution and characterisation of Glucagon-like peptide-1 receptor expressing cells in the mouse brain. *Mol. Metab.* 2015;4(10):718-731. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2015.07.008>
9. Волотова Е. В., Куркин Д. В., Тюренков И. Н., Литвинов А. А. Церебропротективное действие производных гамма-аминомасляной кислоты при острой ишемии головного мозга крыс. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2011;2(38):72-75. [Volotova E. V., Kurkin D. V., Tyurenkov I. N., Litvinov A. A. Cerebroprotective effects of derivatives of gaba in acute ischemia of rats brain. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. – *Journal of Volgograd State Medical University*. 2011;2(38):72-75. (In Russ.)].
10. Landry T., Li P., Shookster D., Jiang Z., Li H. [et al.]. Centrally circulating α -klotho inversely correlates with human obesity and modulates arcuate cell populations in mice. *Molec. Metab.* 2021;44:101136. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2020.101136>

Поступила 26.08.2021

Сведения об авторах:

Тюренков Иван Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией фармакологии сердечно-сосудистых средств, заведующий кафедрой фармакологии и фармации; тел.: (8442)403004 (доб. 441); e-mail: int1943@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-7574-3923>

Куркин Денис Владимирович, доктор фармацевтических наук, доцент, заместитель директора по науке, старший научный сотрудник; тел.: (8442)403004 (доб. 112); e-mail: strannik986@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1116-3425>

Бакулин Дмитрий Александрович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник; тел.: (8442)403004 (доб. 112); e-mail: mbfdoc@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-4694-3066>

Дубровина Марина Александровна, аспирант кафедры фармакологии и фармации; тел.: (8442)403004 (доб. 112); e-mail: dubrovina.volgmed@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-1903-8589>

Абросимова Елизавета Евгеньевна, аспирант; тел.: (8442)403004 (доб. 112); e-mail: abrosimova.volgmed@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-6472-6906>

Ковалев Николай Сергеевич, аспирант; тел.: (8442)403004 (доб. 112); e-mail: kovalev.volgmed@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-1116-3425>

Петров Владимир Иванович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой клинической фармакологии и интенсивной терапии; тел.: (8442)382454; e-mail: clinpharmvolg21@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-0258-4092>