

УДК 615;616-05

## ХИМЕРНЫЙ АГОНИСТ РЕЦЕПТОРА ГАЛАНИНА GALR2 УМЕНЬШАЕТ ПОВРЕЖДЕНИЕ СЕРДЦА КРЫС ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИН-ИНДУЦИРОВАННОМ ДИАБЕТЕ

© 2022 И.М. Студнева, О.М. Веселова, И.В. Доброхотов, Л.И. Серебрякова,  
М.Е. Палькеева, А.С. Молокоедов, А.А. Азьмуко, М.В. Овчинников,  
М.В. Сидорова, О.И. Писаренко\*

ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава РФ, 121552 Москва, Россия; электронная почта: [olpi@live.ru](mailto:olpi@live.ru)

Поступила в редакцию 15.02.2022

После доработки 28.02.22

Принята к публикации 28.02.2022

Нейропептид галанин и его *N*-концевые фрагменты снижают образование активных форм кислорода и нормализуют метаболическое и антиоксидантное состояния миокарда при экспериментальной кардиомиопатии и ишемическом/реперфузионном повреждении. Целью настоящего исследования было выяснение влияния фармакологического агониста WTLNSAGYLLGРβАН-ОН (G) рецептора галанина GalR2 на повреждение сердца, вызванные введением стрептозотоцина (STZ) крысам. Пептид G получали твердофазным пептидным синтезом с использованием Fmoc-стратегии и очищали препаративной ВЭЖХ. Его структура была определена с помощью <sup>1</sup>H-ЯМР-спектроскопии и MALDI-TOF-масс-спектрометрии. Животные были рандомизированы в пять групп: К – контроль; S, SG10 и SG50, которым вводили STZ, STZ + G (10 нмоль/кг/сут.) и STZ + G (50 нмоль/кг/сут.); и G – здоровые животные, получавшие G (50 нмоль/кг/сут.) Введение G предотвращало гипергликемию у крыс группы SG50. К окончанию эксперимента содержание АТФ, общего фонда адениннуклеотидов, фосфокреатина и отношение PCr/АТФ в миокарде животных группы SG50 было достоверно выше этих показателей в группе S. Одновременно в группах SG50 и SG10 содержание лактата и отношение лактат/пируват в миокарде крыс было снижено, а глюкозы – увеличено по сравнению с этими показателями в группе S. Обе дозы G снижали повышенную активность креатинкиназы-МВ и лактатдегидрогеназы и уменьшали концентрацию тиобарбитуратных кислотно-активных продуктов в плазме крови крыс, получавших STZ, до значений не отличающихся от контроля. Полученные результаты свидетельствуют о том, что G обладает кардиопротекторными свойствами при сахарном диабете 1-го типа. Обсуждены возможные механизмы действия пептида G при STZ-индуцированном диабете.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** галанин, сердце, стрептозотоцин, метаболизм миокарда, перекисное окисление липидов, мембраны кардиомиоцитов.

**DOI:** 10.31857/S0320972522030095

### ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет (СД) 1-го типа – хроническое аутоиммунное заболевание, связанное с избирательной деструкцией инсулин-продуцирующих β-клеток поджелудочной железы. Дисфунк-

ция и потеря β-клеток приводят к дефициту инсулина и гипергликемии. Несмотря на применение препаратов, снижающих сахар, СД и сопутствующие осложнения остаются серьезной проблемой здравоохранения во всем мире [1]. СД, вызванный стрептозотоцином (STZ), является общепризнанной экспериментальной моделью, которая используется для изучения новых терапевтических методов [2]. Одной из особенностей STZ является то, что это соединение может быть токсичным для других органов, включая сердце. Результаты исследования диабета у пациентов и на лабораторных животных свидетельствуют о том, что нарушения энергетического обмена в кардиомиоцитах способствуют развитию дисфункции сердца [3, 4]. Окислительный стресс также участвует в патогенезе СД. Увеличение образования активных форм кислорода (АФК) при СД обусловлено ау-

Принятые сокращения: АФК – активные формы кислорода; ПОЛ – перекисное окисление липидов; СД – сахарный диабет; βАН-ОН – карнозин; СК-МВ – креатинкиназа-МВ; Cr – креатин; GLUT4 – переносчик глюкозы 4; LDH – лактатдегидрогеназа; STZ – стрептозотоцин; PCr – фосфокреатин; TBARS – тиобарбитуратные кислотно-активные продукты (2-tiobarbituric acid reacting substances); WTLNSAGYLL-NH<sub>2</sub> – *N*-концевой фрагмент галанина (2–11); WTLNSAGYLLGРНА-ОН – *N*-концевой фрагмент галанина (2–15); WTLNSAGYLLGРβАН-ОН (G) – модифицированный аналог галанина (2–15); ΣАН – общий фонд адениннуклеотидов (АТФ + АДФ + АМР); ΣCr – общий креатин (PCr + Cr).

\* Адресат для корреспонденции.

тоокислением глюкозы, ферментативным гликированием белков и последующей окислительной деградацией гликозилированных белков [5]. Избыточное образование АФК, перекисное окисление липидов мембран и недостаточная антиоксидантная защита хорошо документированы у пациентов с диабетом и в эксперименте [6]. В связи с этим стратегии, улучшающие образование энергии в митохондриях сердца и снижающие окислительный стресс, могут быть перспективными для защиты миокарда от повреждающего действия СД.

Нейропептид галанин, состоящий из 29 а.о. (30 а.о. – у человека), широко распространён в центральной и периферической нервных системах и экспрессируется в различных тканях и органах [7]. Галанин проявляет свою биоактивность через три различных рецептора, связанных с G-белками, GalR1, GalR2 и GalR3, все они находятся в сердце. Ранее мы показали, что экзогенный галанин и его N-концевые фрагменты ослабляют повреждение сердца при доксорубин-индуцированной кардиомиопатии и ишемическом/реперфузионном стрессе. В частности, N-концевые фрагменты галанина (2–11) и (2–15), WTLNSAGYLL-NH<sub>2</sub> и WTLNSAGYLLGPRNA-OH соответственно, обладающие высоким сродством к подтипу рецептора GalR2, повышают жизнеспособность клеток, ингибируют апоптоз и образование супероксида и пероксида водорода в митохондриях кардиомиоцитов крыс линии H9c2 при гипоксии/реоксигенации [8, 9]. Внутривенное введение этих пептидов крысам после регионарной ишемии миокарда уменьшает размер инфаркта и активность маркеров некроза в плазме крови при реперфузии [10]. Эти эффекты сопровождаются снижением образования аддуктов гидроксильных радикалов в интерстиции зоны риска при реперфузии и меньшим образованием продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в реперфузированном миокарде [11]. Химически модифицированный аналог N-концевого фрагмента галанина (2–15) – химерный агонист рецептора GalR2 WTLNSAGYLLGPRβАН-OH (G) – также уменьшает дисфункцию левого желудочка и улучшает энергетическое состояние и функции митохондрий в сердце крыс с доксорубиновой кардиомиопатией [12]. Кроме того, введение G предотвращает ПОЛ в повреждённом сердце за счёт повышения активности Cu,Zn-супероксиддисмутазы (Cu,Zn-SOD) и глутатионпероксидазы (GSH-Px) [13].

Известно, что галанин играет важную роль в поддержании чувствительности к инсулину и ингибировании секреции инсулина для уменьшения гиперинсулинемии при СД 2-го ти-

па [14]. Предполагается, что этот эндогенный пептид может регулировать чувствительность к инсулину, увеличивая экспрессию переносчика глюкозы 4 (GLUT4) и способствуя транслокации GLUT4 к плазматической мембране кардиомиоцитов для увеличения поглощения глюкозы [15]. Животные с нарушением метаболизма галанина особенно склонны к развитию СД 2-го типа, сопровождающегося инсулинорезистентностью [16]. Хотя эти экспериментальные факты указывают на терапевтический потенциал галанина при СД, влияние его экзогенных N-концевых фрагментов при этой патологии остаётся неизученным. Целью данной работы было изучение эффективности пептида G, представляющего последовательность галанина (2–13), дополненную дипептидом карнозин (βАН-OH), для снижения метаболических нарушений миокарда на модели STZ-диабета у крыс. Мы сосредоточились на влиянии этого пептида на уровень глюкозы в крови и ткани сердца, показателях энергетического состояния миокарда и повреждениях мембран кардиомиоцитов. Наши результаты показывают, что введение G может значительно уменьшать развитие метаболических нарушений и повреждений мембран кардиомиоцитов, вызванных STZ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Модифицированный фрагмент галанина G.** Пептид G WTLNSAGYLLGPRβАН-OH был получен путём ступенчатого твердофазного синтеза с использованием Fmoc-методологии [17]. Он был очищен методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на обращённой фазе, его структура охарактеризована с помощью <sup>1</sup>H-ЯМР-спектроскопии и времяпролётной масс-спектрометрии с матрично-ассоциированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOFF). Характеристика G представлена в табл. 1.

**Животные.** В работе использовали крыс-самцов линии Вистар массой 290–310 г. Крыс содержали в индивидуальных клетках при температуре 20–25 °С с естественным циклом свет-темнота; они имели свободный доступ к стандартному гранулированному корму («Aller Petfood», Санкт-Петербург, Россия) и воде.

**Дизайн исследования.** Перед исследованием всех крыс взвешивали и после 24-часового голодания у пяти животных брали кровь из хвостовой вены для определения исходной концентрации глюкозы, активности креатинкиназы-MB (СК-MB), лактатдегидрогеназы (LDH) и тиобарбитуратных кислотно-активных продук-

Таблица 1. Характеристика пептида G

Последовательность	Мол. масса, г/моль	Выход*, %	MALDI-TOF, m/z	Растворимость в воде, мг/мл	ВЭЖХ **	
					R <sub>t</sub> , мин	Чистота, %
WTLNSAGYLLGP-βАН-ОН	1499,67	46,3	1499,76 [M + H] <sup>+</sup> , 1521,73 [M + Na] <sup>+</sup> 1537,72 [M + K] <sup>+</sup>	> 20	14,66	98,2

Примечание. Замена аминокислот показана жирным шрифтом. R<sub>t</sub> – время удерживания.

\* Выход пептида приведён в расчёте на стартовую аминокислоту, присоединённую к полимерному носителю.

\*\* Аналитическую ВЭЖХ проводили на хроматографе Knauer («Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH», Германия) на колонке (4,6 × 250 мм) Kromasil 100-5 C18 («AkzoNobel», Швеция), размер частиц сорбента – 5 мкм, размер пор – 100 Å. В качестве элюентов использовали: буфер А – 0,1%-ная трифторуксусная кислота, буфер Б – 80% ацетонитрила в буфере А, элюцию проводили со скоростью 1 мл/мин в градиенте концентрации буфера Б в буфере А от 20 до 80% за 30 мин, детекцию осуществляли при 220 нм.

тов (TBARS) в плазме. У пяти крыс, анестезированных 2,2,2-трибромэтанолом (авертин, 1 мг/кг внутривенно (в/в); «Acros Organic», Бельгия), извлекали сердце и замораживали в жидком азоте с помощью зажима Волленбергера для оценки содержания метаболитов в миокарде (исходное состояние). Остальные крысы были рандомизированы в пять групп по 10 крыс в каждой: контрольная (К), STZ (S), STZ + G10 (SG10), STZ + G50 (SG50) и галаниновая (G). Крысы получали одну в/в инъекцию STZ («Sigma-Aldrich», США) в дозе 35 мг/кг. STZ растворяли в 0,1 М цитратном буфере (pH 4,5) перед использованием. Умеренная доза STZ была выбрана для того, чтобы исключить гибель животных и ежедневные инъекции инсулина [18]. Животным контрольной группы (К) в первый день вводили в/в такой же объём 0,1 М цитратного буфера (pH 4,5), а в последующие дни в течение 4 недель в/в вводили физиологический раствор. Животные группы SG10 получали одну в/в инъекцию STZ (35 мг/кг) и в/в инъекции G в дозе 10 нмоль/кг/сут. в течение 4 недель. Животные группы SG50 получали одну в/в инъекцию STZ (35 мг/кг) и в/в инъекции G в дозе 50 нмоль/кг/сут. в течение 4 недель. Первую инъекцию G делали через 2 ч после введения STZ. Животным группы галанина (G) ежедневно вводили в/в G в дозе 50 нмоль/кг/сут. в течение 4 недель. Пептид G растворяли в физиологическом растворе непосредственно перед использованием. Дозы G были выбраны на основании доступных в литературе данных [15] и собственных пилотных исследований. У крыс всех групп еженедельно определяли массу тела и концентрацию глюкозы в крови после 24-часового голодания. После 4-недельного исследования у всех животных забирали кровь из хвостовой

вены для определения активности СК-МВ, LDH и содержания TBARS в плазме. У пяти крыс каждой группы, наркотизированных 2,2,2-трибромэтанолом (1 мг/кг в/в, «Acros Organic»), извлекали сердце и замораживали в жидком азоте с помощью зажима Волленбергера для анализа метаболитов.

**Обработка ткани миокарда и анализ метаболитов.** Замороженные сердца гомогенизировали в охлаждённой 6%-ной HClO<sub>4</sub> (1/10, w/v) с использованием гомогенизатора Ultra-Turrax T-25 («Janke & Kunkel IKA-labortechnik», Германия). Гомогенаты центрифугировали при 2000 g в течение 20 мин при 4 °C на центрифуге Sorvall RT1 («Thermo Scientific», США). Супернатанты нейтрализовали раствором 5 М K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> до pH 7,4; после охлаждения экстракты центрифугировали для удаления осадка KClO<sub>4</sub>. Массу сухой ткани определяли путём взвешивания тканевого осадка после экстракции 6%-ной HClO<sub>4</sub> и сушки в течение ночи при 110 °C. Концентрации АТФ, АДФ, АМФ, фосфокреатина (PCr), креатина (Cr), лактата, пирувата и глюкозы в нейтрализованных безбелковых тканевых экстрактах определяли модифицированными ферментативными методами на спектрофотометре UV-1800 («Shimadzu», Япония) [19]. Концентрацию глюкозы в крови натощак измеряли глюкометром Accu-Check Instant («Boehringer Mannheim», Германия). Набор «TBARS Assay Kit» («Cayman Chemicals», США) использовали для спектрофотометрического измерения продуктов ПОЛ TBARS в плазме крови.

**Оценка повреждения клеточных мембран.** Плазму образцов крови, собранных в исходном состоянии и в конце эксперимента, получали центрифугированием при 4 °C и 1500 g в течение 10 мин в гепаринизированных пробирках и да-

лее хранили при  $-80^{\circ}\text{C}$ . Активность LDH в плазме определяли ферментативно с пируватом в качестве субстрата на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 при  $\lambda = 340$  нм [20]. Активность СК-МВ в плазме оценивали методом иммуноингибирования с использованием стандартных наборов «Creatine kinase-MB» («BioSystems S.A.», Испания).

**Статистическая обработка данных.** Использован пакет программ SigmaPlot 11.2 («SysStat», США). Данные представлены в виде среднего значения  $\pm$  стандартная ошибка среднего ( $M \pm SEM$ ). При сравнении нескольких групп с контролем использовали *t*-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони. Статистически значимыми отличия считали при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

**Масса тела крыс и уровень глюкозы в крови.** Достоверных различий в исходной массе тела животных между группами не было (табл. 2). В контроле наблюдалось прогрессирующее увеличение массы тела в течение периода наблюдения. Напротив, у животных группы S отмечено выраженное нарушение прироста массы на протяжении всего исследования. В конце эксперимента средняя масса тела в этой группе была на 20% ниже, чем у животных контрольной группы ( $p < 0,001$ ). Совместное введение STZ

и G в дозе 10 или 50 нмоль/кг/сут. в течение 4 недель достоверно увеличивало прирост массы тела по сравнению с диабетической группой S к концу эксперимента. При этом достоверных различий между группой SG50 и контролем после 4-недельного эксперимента не наблюдалось. На протяжении всего периода наблюдения прирост массы тела здоровых крыс, получавших G в дозе 50 нмоль/кг/сут. в течение 4 недель, был таким же, как и у контрольных животных.

Введение STZ значительно повышало уровень глюкозы в крови, отобранной натощак, по сравнению с этим показателем в контрольной группе в течение всего эксперимента (табл. 2). После 4-недельного исследования концентрация глюкозы в крови у животных группы S составила  $12,9 \pm 2,6$  мМ по сравнению с исходным уровнем  $5,3 \pm 0,2$  мМ ( $p < 0,001$ ). Совместное введение STZ и обеих доз пептида G заметно снижало уровень глюкозы в крови по сравнению с группой S. Разница в концентрации глюкозы в крови между группами S и SG50 была статистически значимой с первой недели исследования. К концу 4 недели концентрация глюкозы в крови в группе SG50 была в 1,8 раза ниже, чем в группе S ( $p < 0,05$ ), и достоверно не отличалась от значения в контроле. Достоверных различий в уровне глюкозы в группе G по сравнению с контролем в ходе всего эксперимента не наблюдалось.

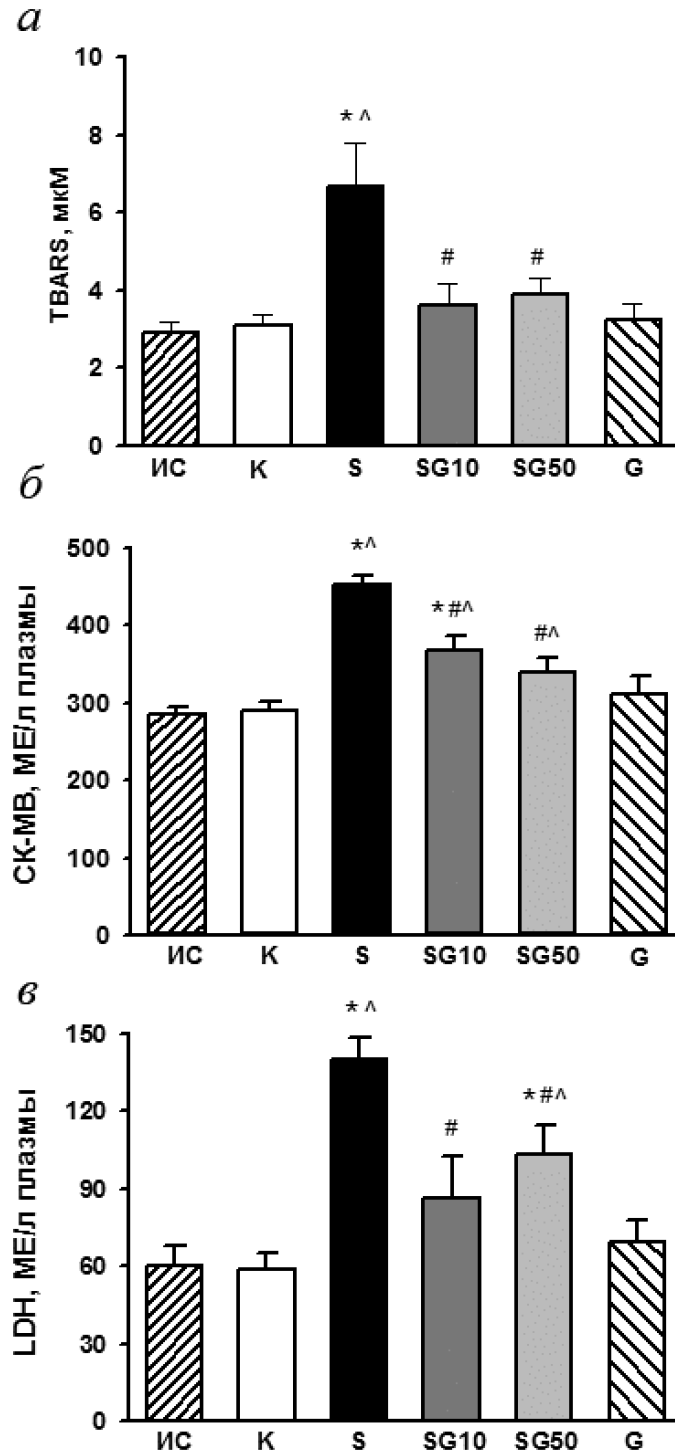
**Таблица 2.** Изменения массы тела крыс и концентрации глюкозы в крови в исследуемых группах в течение 4-недельного эксперимента

Группа	Исходное состояние	Первая неделя	Четвёртая неделя
Масса тела, г			
K	$299,0 \pm 4,9$	$318,6 \pm 6,0^{\#}$	$397,6 \pm 5,1^{\#}$
S	$294,8 \pm 6,5$	$295,6 \pm 6,4^*$	$323,1 \pm 11,2^{*,\#}$
SG10	$298,4 \pm 4,3$	$293,2 \pm 5,2^*$	$355,6 \pm 8,0^{\#, +}$
SG50	$299,0 \pm 4,0$	$305,6 \pm 8,3$	$370,6 \pm 12,3^{\#, +}$
G	$302,2 \pm 3,8$	$325,3 \pm 5,6^{\#, +}$	$411,5 \pm 7,4^{\#, +}$
Концентрация глюкозы, мМ			
K	$5,6 \pm 0,3$	$6,8 \pm 0,7$	$6,7 \pm 0,5$
S	$5,3 \pm 0,2$	$11,6 \pm 1,8^{*,\#}$	$12,9 \pm 2,6^{*,\#}$
SG10	$4,9 \pm 0,9$	$8,4 \pm 0,9^{\#}$	$8,0 \pm 0,6^{\#}$
SG50	$4,9 \pm 0,6$	$7,6 \pm 0,2^{\#, +}$	$7,3 \pm 0,5^{\#, +}$
G	$5,7 \pm 0,6$	$6,4 \pm 0,4$	$6,9 \pm 0,6$

Примечание. Данные представлены как  $M \pm SEM$  для групп из 10 животных. Достоверное отличие  $p < 0,05$  от: \* (контроль), # (исходного состояния), + (группы S).

**Маркёры окислительного стресса и повреждения мембран.** Измерение в плазме TBARS (низкомолекулярных конечных продуктов окислительного повреждения) является удобной оцен-

кой интенсивности ПОЛ при STZ-индуцированном диабете [21]. Через 4 недели исследования концентрация TBARS в плазме крови крыс контрольной группы не изменялась по сравне-



**Рис. 1.** Влияние пептида G на содержание тиобарбитуратных кислотно-активных продуктов (TBARS) (а) и активности СК-МВ (б) и LDH (в) в плазме крови крыс после 4-недельного эксперимента. ИС – исходное состояние, К – контроль, S – STZ, SG10 – STZ + G (10 нмоль/кг/сут.), SG50 – STZ + G (50 нмоль/кг/сут.), G – пептид G в дозе 50 нмоль/кг/сут. Данные представлены как  $M \pm SEM$  для групп из 5 животных. Достоверное отличие ( $p < 0,05$ ) от: \* К, # S, ^ ИС

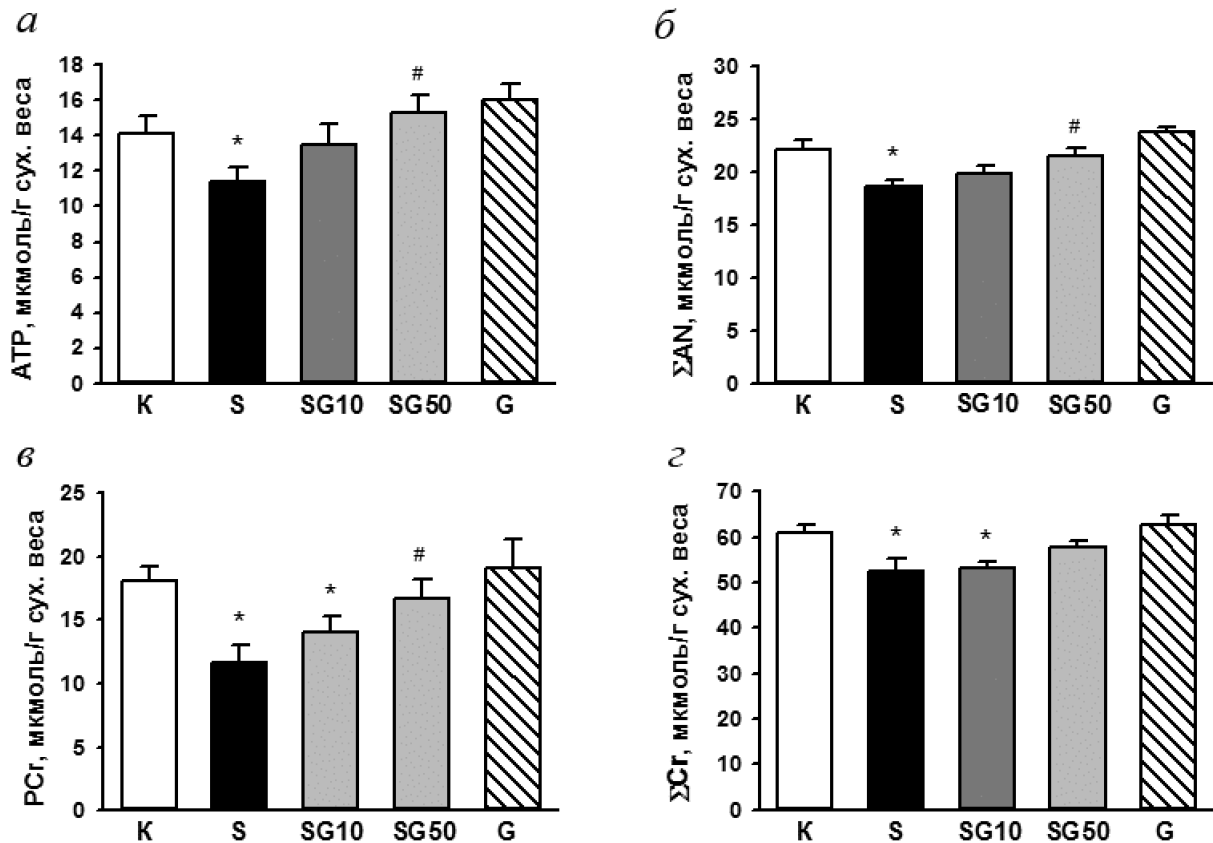


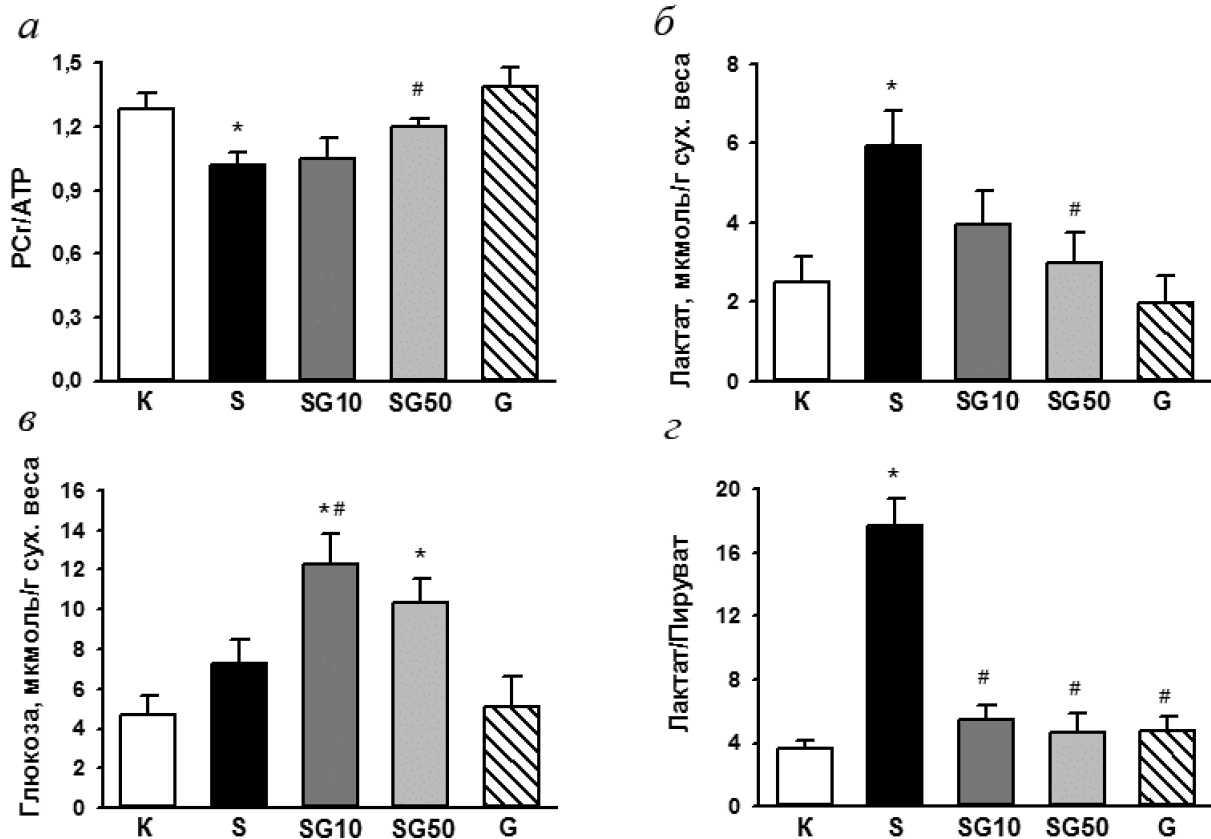
Рис. 2. Влияние пептида G на содержание АТФ (а),  $\Sigma$ АН (б), РСг (в) и  $\Sigma$ Сг (г) в миокарде крыс в конце 4-недельного эксперимента. К – контроль, S – STZ, SG10 – STZ + G (10 нмоль/кг/сут.), SG50 – STZ + G (50 нмоль/кг/сут.), G – пептид G (50 нмоль/кг/сут.). Данные представлены как  $M \pm SEM$  для групп из 5 животных. Достоверное отличие ( $p < 0,05$ ) от: \* К, # S

нию с исходным значением (рис. 1, а). Напротив, у крыс группы S этот показатель увеличился более чем в 2 раза, что свидетельствовало об активации ПОЛ. STZ-индуцированное увеличение образования TBARS снижалось под воздействием пептида G. К концу 4-недельного исследования уровень TBARS в группах SG10 и SG50 не отличался от исходного, а разница между обеими пептидными группами (SG10 и SG50) и диабетической группой S была статистически значимой. Введение животным G в дозе 50 нмоль/кг/сут. в течение 4 недель не влияло на уровень TBARS в плазме по сравнению с исходным значением.

Активность LDH и СК-МВ в плазме крыс, получавших STZ, была значительно увеличена после 4-недельного исследования по сравнению с исходными и контрольными значениями (рис. 1, б и в). Совместное введение обеих доз G и STZ уменьшало повреждение клеточных мембран, о чём свидетельствовало достоверное снижение активности обоих ферментов в плазме по сравнению с этими показателями в груп-

пе S. Ежедневное введение G (50 нмоль/кг/сут. в течение 4 недель) не влияло на активность LDH и СК-МВ в плазме по сравнению с контролем и исходными значениями.

**Метаболическое состояние миокарда.** Для оценки влияния G на метаболизм миокарда, повреждённого STZ, мы сравнили содержание метаболитов энергетического обмена и гликолитических интермедиатов (глюкозы, лактата и пирувата) в исследуемых группах (рис. 2 и 3). После 4-недельного эксперимента содержание этих метаболитов в миокарде контрольной группы достоверно не отличалось от исходных значений. Под действием STZ наблюдали снижение содержания АТФ и общего фонда адениннуклеотидов ( $\Sigma$ АН) (в среднем до 20% от исходного) при практически неизменном суммарном содержании АДФ и АМФ и потерю общего креатина ( $\Sigma$ Сг = РСг + Сг), вызванную главным образом значительным снижением содержания РСг. Отношение РСг/АТФ, характеризующее энергообеспечение сердца, было достоверно ниже в группе S по сравнению с этим показателем в контро-



**Рис. 3.** Влияние пептида G на отношение PCr/ATP (а), содержание лактата (б), глюкозы (в) и отношение лактат/пируват (г) в миокарде крыс в конце 4-недельного эксперимента. К – контроль, S – STZ, SG10 – STZ + G (10 нмоль/кг/сут.), SG50 – STZ + G (50 нмоль/кг/сут.), G – пептид G (50 нмоль/кг/сут.). Данные представлены как  $M \pm SEM$  для групп из 5 животных. Достоверное отличие ( $p < 0,05$ ) от: \* K, # S

ле (рис. 3, а). Содержание лактата в миокарде крыс, получавших STZ, было в 2,5 раза выше, чем в контроле ( $p = 0,015$ ), глюкозы – повышено в 1,5 раза ( $p = 0,143$ ), а отношение лактат/пируват было почти в 5 раз выше, чем в контроле. Эти сдвиги соответствовали снижению аэробного образования энергии, ингибированию гликолитического потока и пируватдегидрогеназы [22].

Введение крысам G в дозе 50 нмоль/кг/сут. в течение 4 недель после введения STZ достоверно повышало содержание АТР,  $\Sigma AN$  и PCr, предотвращало потерю  $\Sigma Cr$  и восстанавливало отношение PCr/ATP до значения, не отличающегося от контрольного. Сходный, но недостоверный эффект на эти показатели оказывало введение G в дозе 10 нмоль/кг/сут. Одновременно в группе SG50 отмечено достоверное снижение накопление лактата до значений в контроле. В группе SG10 уровень глюкозы в миокарде был достоверно выше, чем у животных, получавших только STZ. Отметим, что измеренное в наших опытах содержание глюкозы в ткани сердца отражает её суммарное содержание в кардиомио-

цитах и в крови. Однако, несмотря на существенное снижение уровня глюкозы в крови крыс групп SG10 и SG50 по сравнению с группой S (табл. 2), содержание глюкозы в сердце крыс групп SG10 и SG50 было выше, чем у диабетических животных. Этот факт предполагает её повышенное поглощение кардиомиоцитами под действием пептида G. В группах SG10 и SG50 отношение лактат/пируват в сердце было достоверно ниже, чем в диабетической группе S (рис. 3, г), указывая на снижение отношения  $NADH/NAD^+$  в цитозоле. Ежедневное введение G (50 нмоль/кг/сут. в течение 4 недель) не оказывало достоверного влияния на содержание указанных метаболитов в сердце по сравнению с этими показателями в контрольной возрастной группе.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

**Действие G при STZ-индуцированном СД у крыс.** В настоящей работе впервые показано за-

щитное действие модифицированного *N*-концевого фрагмента галанина WTLNSAGYLLGPβАН на модели СД 1-го типа, вызванного введением STZ крысам. Поскольку STZ вызывает разрушение β-клеток в островках поджелудочной железы, приводящее к дефициту биосинтеза и секреции инсулина, глюкоза крови становится недоступной в качестве метаболического топлива для тканей, чувствительных к инсулину [23]. В этих условиях гипергликемия и низкая прибавка массы тела являются типичными признаками животных, получавших STZ. Соответственно, в наших опытах у крыс группы S наблюдалось снижение увеличения массы тела и стойкая гипергликемия в течение 4-недельного исследования. Совместное введение G и STZ увеличивало прибавку массы тела крыс в обеих пептидных группах SG10 и SG50 и снижало уровень глюкозы в крови в группе SG50 к концу эксперимента практически до значений в контроле. Улучшение гликемического контроля под действием G свидетельствует о большей утилизации глюкозы клетками инсулин-чувствительных тканей (преимущественно жировой и мышечной ткани), которые играют важную роль в поддержании гомеостаза глюкозы.

Гипергликемия, приводящая к избыточной продукции АФК и окислительному стрессу, является ведущей причиной осложнений, связанных с работой сердца, при СД [24, 25]. В частности, показано, что снижение эффективности окислительного фосфорилирования, происходящее в ответ на гликирование и окислительный стресс, может предшествовать развитию диабетической кардиомиопатии [26, 27]. Несмотря на то что нарушения энергетики в диабетическом сердце изучаются давно [26, 28], при СД 1-го типа они полностью не охарактеризованы и различаются в зависимости от модели [29], а действие пептидов галанина практически не изучено. Недавнее исследование метаболизма в сердце крыс с диабетом, вызванным STZ, проведённое с помощью <sup>1</sup>H-ЯМР, показало, что, наряду с ингибированием гликолиза, цикла трикарбоновых кислот и усилением липидного обмена, происходит снижение пулов АТФ и Cr [30]. Результаты настоящей работы указывают, что STZ-индуцированный диабет у крыс вызывает также значительное снижение ΣAN, PCr и ΣCr и уменьшение отношения PCr/АТФ в сердце. Согласно данным Нью-Йоркской кардиологической ассоциации (NYHA) по взаимосвязи между показателями биоэнергетики сердца и классами хронической сердечной недостаточности, низкое отношение PCr/АТФ в миокарде человека может быть предиктором смертности от сердечно-сосудистых заболеваний [31]. Ранее мы оценили дыха-

тельные параметры митохондрий в пермеабелизованных сапонином волокнах миокарда крыс, получавших STZ, используя в качестве субстратов глутамат и малат [32]. Оказалось, что у диабетических крыс максимальное ADP-стимулированное дыхание и дыхательный контроль вдвое снижены. Эти изменения митохондриального дыхания соответствовали снижению продукции АТФ и ухудшению энергетического состояния кардиомиоцитов. Напротив, крысы, получавшие STZ и галанин, обнаруживали отсутствие снижения дыхательного контроля за счёт увеличения дыхания в состоянии 3, увеличение содержания АТФ и PCr в миокарде и предотвращение потери внутриклеточного ΣCr. Принципиально сходные метаболические эффекты, связанные со снижением нарушений энергетического обмена в сердце, показаны в настоящей работе для химерного агониста рецепторов галанина G. Они проявлялись в достоверно более высоком содержании АТФ, ΣAN, PCr и отношении PCr/АТФ в сердце диабетических животных, защищённых ежедневным введением высокой дозы G (50 нмоль/кг/сут.) в течение 4 недель. В дополнение, в группе SG50 наблюдалось снижение потерь ΣCr, отражающее меньшие повреждения сарколеммы [33]: к окончанию эксперимента этот показатель достоверно не отличался от такового в контроле. Эти данные указывают на способность фармакологического агониста рецептора GalR2 воспроизводить влияние полноразмерного галанина, связывающегося со всеми тремя подтипами рецепторов GalR1–3, на энергетику миокарда, повреждённого STZ.

Известно, что карбонильный стресс, вызванный гипергликемией, приводит к усилению ПОЛ и окислительного повреждения из-за увеличения образования перокси- и гидроксильных радикалов [27, 34]. Участие ПОЛ в патогенезе природного и индуцированного диабета хорошо подтверждено в многочисленных работах, а образование TBARS используется как наиболее распространённый индикатор ПОЛ при моделировании СД [21, 35]. В настоящем исследовании у крыс группы S наблюдалось значительное повышение уровня TBARS в плазме. Однако введение G снижало этот показатель в группах SG10 и SG50 до значений, не отличающихся от исходного. Эти данные предполагают, что G может оказывать защитный эффект, ослабляя окислительный стресс, вызванный гипергликемией. В настоящей работе о повреждении мембран кардиомиоцитов при STZ-индуцированном диабете свидетельствовали не только потери ΣCr, но и повышение активности СК-МВ – специфического сердечного биомаркера – в плазме крови. Ежедневное введение G



в дозе 10 и 50 нмоль/кг/сут. поддерживало целостность мембран кардиомиоцитов у диабетических животных, вероятно, за счёт улучшения энергетического состояния миокарда и снижения ПОЛ, что подтверждает кардиопротекторную эффективность этого пептида в использованной модели. В целом ряде работ показано, что активности циркулирующих в крови СК-МВ и LDH повышены в моделях STZ-индуцированной диабетической кардиомиопатии [36] и у пациентов с диабетом и могут служить маркерами сердечно-сосудистого риска и повреждения сердечной мышцы [37]. В конце 4-недельного эксперимента мы обнаружили значительное повышение активности LDH в плазме крови крыс, получавших STZ, по сравнению с нормальными животными. Это свидетельствовало о цитотоксическом действии STZ не только на сердце, но и на другие органы и ткани крыс. Важно, что под действием пептида G активность обоих маркеров в плазме крови снижалась, что соответствовало уменьшению уровня TBARS и, следовательно, интенсивности окислительного стресса.

**Возможные механизмы действия G при СД.** Имеются данные о том, что галанин участвует в регуляции чувствительности к инсулину и усвоении глюкозы при СД 2-го типа [14–16]. Мыши с нокаутом гена галанина характеризуются нарушением утилизации глюкозы из-за сниженного ответа на инсулин и независимой от инсулина элиминации глюкозы [38]. У здоровых добровольцев и пациентов с диабетом наблюдается положительная корреляция секреции галанина с уровнем глюкозы в крови, что тесно связано с чувствительностью к инсулину [39]. Более того, галанин способен повышать чувствительность к инсулину за счёт увеличения экспрессии переносчика GLUT4 в кардиомиоцитах и адипоцитах животных с диабетом 2-го типа [15, 38]. Это способствует смещению GLUT4 в сарколемму, стимулируя поглощение глюкозы клетками. Увеличение содержания глюкозы в миокарде диабетических крыс, вызванное введением пептида G в наших опытах, косвенно подтверждает эту возможность. Запуск этого механизма критически важен, поскольку экспрессия GLUT4 в сердце животных с диабетом и диабетических пациентов снижена [40]. Следовательно, поддержание концентрации белка GLUT4 должно способствовать нормализации метаболизма и функций сердца [41]. Хорошо известно, что коактиватор  $\gamma$ -рецептора, активируемого пролифератором пероксисом  $1\alpha$  (PGC- $1\alpha$ ), является важным регулятором метаболизма глюкозы и экспрессии GLUT4 [42]. Недавние исследования показали, что активация рецепторов галанина GalR2

агонистом M1145 снижает резистентность к инсулину и способствует поглощению и метаболизму глюкозы в скелетных мышцах, сердце и адипоцитах посредством активации сигнального пути PGC- $1\alpha$ /GLUT4 [38, 43]. Учитывая принципиально сходный характер действия галанина на модели диабета, вызванного STZ, у крыс [32], можно предположить, что перечисленные механизмы могут быть приложимы к эффектам пептида G – фармакологического агониста рецептора галанина GalR2, наблюдавшимся в настоящей работе.

Важным свойством пептидов галанина является их влияние на окислительный стресс. В последние годы антиоксидантные свойства галанина и его N-концевых фрагментов наблюдались в различных экспериментальных моделях *in vitro* и *in vivo*. Фрагменты галанина (2–11) WTLNSAGYLL-NH<sub>2</sub> и (2–15) WTLNSAGYLL-GPNA-OH ингибировали апоптоз и избыточное образование АФК в митохондриях в ответ на окислительный стресс в кардиомиоцитах крыс H9c2 [8, 9]. Внутривенное введение галанина, фрагмента галанина WTLNSAGYLL-GPNA-OH или фармакологического агониста WTLNSAGYLLGP $\beta$ AN-OH (G) крысам после окклюзии коронарной артерии снижало образование спинового аддукта гидроксильных радикалов и TBARS в зоне риска левого желудочка сердца при реперфузии [44]. Этот эффект сочетался с ограничением размера инфаркта и меньшим повреждением мембран кардиомиоцитов [10]. Кроме того, галанин, его природный N-концевой фрагмент WTLNSAGYLLGPNA-OH и синтетический агонист G ингибировали Cu<sup>2+</sup>-индуцированное свободнорадикальное окисление липопротеинов низкой плотности человека *in vitro* [11]. Введение пептида G крысам с доксорубицин-индуцированной кардиомиопатией ослабляло ПОЛ в повреждённом миокарде за счёт повышения активности Cu,Zn-супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы, уменьшало дисфункцию митохондрий сердца и улучшало энергетическое состояние кардиомиоцитов [12, 13]. Вполне вероятно, что антиоксидантная активность G могла быть причиной снижения окислительного повреждения у крыс, получавших STZ, в наших экспериментах.

Наконец, активация путей передачи сигнала при связывании пептида G с рецепторами GalR1–3 также могла способствовать уменьшению повреждения клеток при СД [45]. Активация рецепторов GalR1 и GalR2 стимулирует сигнальные пути, инициируемые митоген-активируемыми протеинкиназами (MEK1/2 и ERK1/2), что приводит к ингибированию открытия митохондриальной поры временной

проницаемости (mPTP) и, таким образом, способствует выживанию клеток [46]. В дополнение, фосфорилирование ERK способствует повышенной экспрессии рецепторов, активируемых пероксисомными пролифераторами (PPAR), контролирующими энергетический метаболизм, включая и экспрессию PPAR $\gamma$ , стимулирующего поглощение и окисление глюкозы кардиомиоцитами [47]. Связывание рецептора GalR2 с белком Gq/11 активирует фосфолипазу C и посредством гидролиза фосфатидилинозитолдифосфата регулирует гомеостаз Ca<sup>2+</sup>, что улучшает инотропное состояние сердца. Нижние звенья этого сигнального пути вызывают фосфорилирование протеинкиназы B (Akt) и ингибирование проапоптотических белков BAX/BCL2, каспазы-3 и каспазы-9 [45]. Хотя сигналинг, инициируемый G в клетках сердца, остаётся неизученным, эти гипотетические механизмы способны усиливать адаптационную защиту диабетического миокарда.

Это исследование предоставляет доказательства того, что химерный агонист рецепторов гала

ланина GalR2 WTLNSAGYLLGPR $\beta$ AN (G) обладает рядом противодиабетических свойств у крыс, получавших STZ. Введение G снижает гипергликемию и окислительный стресс, уменьшает метаболические нарушения миокарда и повреждение мембран кардиомиоцитов. Мы считаем, что использование протеолитически устойчивых модифицированных агонистов рецепторов галанина может быть многообещающей фармакологической стратегией защиты сердца при диабете.

**Финансирование.** Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты №№ 18-015-0008-а и 18-015-0009-а) и Министерства здравоохранения РФ (рег. № НИОКТР 121031700143-1).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Соблюдение этических норм.** Исследование выполнено в соответствии с международными и/или институциональными принципами ухода и использования животных.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Varma, U., Koutsifeli, P., Benson, V. L., Mellor, K. M., and Delbridge, L. M. D. (2018) Molecular mechanisms of cardiac pathology in diabetes – experimental insights, *Biochim. Biophys. Acta*, **1864**, 1949-1959, doi: 10.1016/j.bbadis.2017.10.035.
- Boudina, S., and Dale Abel, E. (2007) Diabetic cardiomyopathy revisited, *Circulation*, **115**, 3213-3223, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.679597.
- Verma, S. K., Garikipati, V. N. S., and Kishore, R. (2017) Mitochondrial dysfunction and its impact on diabetic heart, *Biochim. Biophys. Acta*, **1863**, 1098-1105, doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.08.021.
- Maritim, A. C., Sanders, R. A., and Watkins, J. B. (2003) Diabetes, oxidative stress and antioxidants. A Review, *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, **17**, 24-38, doi: 10.1002/jbt.10058.
- Ullah, A., Khan, A., and Khan, I. (2016) Diabetes mellitus and oxidative stress – a concise review, *Saudi Pharmaceut. J.*, **24**, 547-553, doi: 10.1016/j.jsps.2015.03.013.
- Raza, H., Prabu, S. K., John, A., and Avadhani, N. G. (2011) Impaired mitochondrial respiratory functions and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats, *Internat. J. Mol. Sci.*, **12**, 3133-3147, doi: 10.3390/ijms12053133.
- Webling, K. E. B., Runesson, J., Bartfai, T., and Langel, Ü. (2012) Galanin receptors and ligands, *Front. Endocrinol.*, **3**, 146, doi: 10.3389/fendo.2012.00146.
- Timotin, A., Pisarenko, O., Sidorova, M., Studneva, I., Shulzhenko, V., et al. (2017) Myocardial protection from ischemia/reperfusion injury by exogenous galanin fragment, *Oncotarget*, **8**, 21241-21252, doi: 10.18632/oncotarget.15071.
- Pisarenko, O., Timotin, A., Sidorova, M., Studneva, I., Shulzhenko, V., et al. (2017) Cardioprotective properties of N-terminal galanin fragment (2-15) in experimental ischemia/reperfusion injury, *Oncotarget*, **8**, 101659-101671, doi: 10.18632/oncotarget.21503.
- Serebryakova, L., Pal'keeva, M., Studneva, I., Molokoedov, A., Veselova, O., et al. (2019) Galanin and its N-terminal fragments reduce acute myocardial infarction in rats, *Peptides*, **111**, 127-131, doi: 10.1016/j.peptides.2018.05.001.
- Pisarenko, O. I., Studneva, I. M., Serebryakova, L. I., Timoshin, A. A., Konovalova, G. G., et al. (2021) Antioxidant properties of galanin and its N-terminal fragments in *in vitro* and *in vivo* oxidative stress modeling, *Biochemistry (Moscow)*, **86**, 496-505, doi: 10.1134/S0006297921040106.
- Studneva, I., Palkeeva, M., Veselova, O., Molokoedov, A., Ovchinnikov, M., et al. (2019) Protective effects of a novel agonist of galanin receptors against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats, *Cardiovasc. Toxicol.*, **19**, 136-146, doi: 10.1007/s12012-018-9483-x.
- Studneva, I. M., Veselova, O. M., Bahtin, A. A., Konovalova, G. G., Lankin, V. Z., et al. (2020) The mechanisms of cardiac protection using a synthetic agonist of galanin receptors during chronic administration of doxorubicin, *Acta Naturae*, **12**, 20-29, doi: 10.32607/20758251-2020-12-1-89-98.
- Fang, P., Sun, J., Wang, X., Zhang, Z., Bo, P., et al. (2013) Galanin participates in the functional regulation of the diabetic heart, *Life Sci.*, **92**, 628-632, doi: 10.1016/j.lfs.2013.01.024.
- He, B., Shi, M., Zhang, L., Li, G., Fang, P., et al. (2011) Beneficial effect of galanin on insulin sensitivity in muscle

- of type 2 diabetic rats, *Physiol. Behav.*, **103**, 284-289, doi: 10.1016/j.physbeh.2011.02.023.
16. Legakis, I. N. (2005) The role of galanin in metabolic disorders leading to type 2 diabetes mellitus, *Drug News Pers.*, **18**, 173-177, doi: 10.1358/dnp.2005.18.3.892762.
  17. Азьмуко А. А., Веселова О. М., Молокоедов А. С., Овчинников М. В., Палькеева М. Е. и др. (2018) Тетрадекапептиды, улучшающие восстановительную функцию сердечно-сосудистой системы при ишемии, Патент № 2648846.
  18. Reaven, G. M., and Ho, H. (1991) Low-dose streptozotocin-induced diabetes in the spontaneously hypertensive rat, *Metabolism*, **40**, 335-337, doi: 10.1016/0026-0495(91)90141-i.
  19. Bergmeyer, H. U. (1974) *Methods of Enzymatic Analysis*. New York, Academic Press, pp. 1196-1200, 1475-1478, 1772-1776, 1777-1781, 2101-2110.
  20. Vanderlinde, R. E. (1985) Measurement of total lactate dehydrogenase activity, *Ann. Clin. Lab. Sci.*, **15**, 13-31.
  21. Gulen, S., and Dincer, S. (2007) Effects of leptin on oxidative stress in healthy and streptozotocin-induced diabetic rats, *Mol. Cell. Biochem.*, **302**, 59-65, doi: 10.1007/s11010-007-9426-5.
  22. Stanley, W. C., Lopaschuk, G. D., James, G., and McCormack, J. G. (1997) Regulation of energy substrate metabolism in the diabetic heart, *Cardiovasc. Res.*, **34**, 25-33.
  23. Saltiel, A. R., and Kahan, C. R. (2001) Insulin signaling and the regulation of glucose and lipid metabolism, *Nature*, **414**, 799-806, doi: 10.1038/414799a.
  24. Dos Santos J. M., Tewari S., and Mendes R. H. (2019) The role of oxidative stress in the development of diabetes mellitus and its complications, *J. Diabetes Res.*, **2019**, 4189813, doi: 10.1155/2019/4189813.
  25. Varma, U., Koutsifeli, P., Benson, V. L., Mellor, K. M., and Delbridge, L. M. D. (2018) Molecular mechanisms of cardiac pathology in diabetes – experimental insights, *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.*, **1864**, 1949-1959, doi: 10.1016/j.bbadis.2017.10.035.
  26. Verma, S. K., Garikipati, V. N. S., and Kishore, R. (2017) Mitochondrial dysfunction and its impact on diabetic heart, *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.*, **1863**, 1098-1105, doi: 10.1016/j.bbadis.2016.08.021.
  27. Raza, H., Prabu, S.K., John, A., and Avadhani, N. G. (2011) Impaired mitochondrial respiratory functions and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats, *Int. J. Mol. Sci.*, **12**, 3133-3147, doi: 10.3390/ijms12053133.
  28. Ferreira, F.M., Palmeira, C. M., Seica, R., Moreno, A. J., and Santos, M. S. (2003) Diabetes and mitochondrial bioenergetics: alterations with age, *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, **17**, 214-222, doi: 10.1002/jbt.10081.
  29. Marciniak, C., Marechal, X., Montaigne, D., Nevriere, M., and Lancel, S. (2014) Cardiac contractile function and mitochondrial respiration in diabetes-related mouse models, *Cardiovasc. Diabetol.*, **13**, 118, doi: 10.1186/s12933-014-0118-7.
  30. Zhao, L., Dong, M., Xu, C., Zheng, H., Wei, T., et al. (2018) Identification of energy metabolism changes in diabetic cardiomyopathy rats using a metabolomic approach, *Cell. Physiol. Biochem.*, **48**, 934-946, doi: 10.1159/000491960.
  31. Lygate, C. A., and Neubauer, S. (2014) Metabolic flux as a predictor of heart failure prognosis, *Circ. Res.*, **114**, 1228-1230, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.114.303551.
  32. Gataulin, R., Veselova, O., Studneva, I., Dobrokhotov, I., et al. (2021) Cardioprotective effects of galanin in a streptozotocin-induced diabetes mellitus rat model. 36th Annual Meeting of the International Society for Heart Research – European Section. Turin, Italy, Frontiers Event Abstracts, pp. 129-130, doi: 10.3389/978-2-88971-002-7.
  33. Zervou, S., Whittington, H. J., Russell, A. J., and Lygate, C. A. (2016) Augmentation of creatine in the heart, *Mini Rev. Med. Chem.*, **16**, 19-28, doi: 10.2174/1389557515666150722102151.
  34. Maritim, A. C., Sanders, R. A., and Watkins, J. B. (2003) Diabetes, oxidative stress and antioxidants. A Review, *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, **17**, 24-38, doi: 10.1002/jbt.10058.
  35. Bayanes, J. W., and Thrope, S. R. (1999) Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm, *Diabetes*, **48**, 1-9, doi: 10.2337/diabetes.48.1.1.
  36. Hall, R. L. (1991) Clinical pathology of laboratory animals, in *Animal Models in Toxicology* (Gad, S. C., and Chengelis, C. P., eds.) New York, Marcel Dekker Inc., pp. 765-811.
  37. Huang, E., Kuo, W., Chen, Y., Chen, T., Chang, M., et al. (2006) Homocysteine and other biochemical parameters in type 2 diabetes mellitus with different diabetic duration or diabetic retinopathy, *Clin. Chim. Acta*, **366**, 293-298, doi: 10.1016/j.cca.2005.10.025.
  38. Fang, P., He, B., Yu, M., Shi, M., Zhu, Y., et al. (2018) Central galanin receptor 2 mediates galanin action to promote systemic glucose metabolism of type 2 diabetic rats, *Biochem. Pharmacol.*, **156**, 241-247, doi: 10.1016/j.bcp.2018.08.036.
  39. Legalkis, I. N., Mantzouridis, T., and Mountokalakis, T. (2007) Positive correlation of galanin with glucose in healthy volunteers during an oral glucose tolerance test, *Horm. Metab. Res.*, **39**, 53-55, doi: 10.1055/s-2006-957346.
  40. Gray, S., and Kim, J. K. (2011) New insights into insulin resistance in the diabetic heart, *Trends Endocrinol. Metabol.*, **22**, 394-403, doi: 10.1016/j.tem.2011.05.001.
  41. Tian, R., and Abel, E. D. (2001) Responses of GLUT4-deficient hearts to ischemia underscore the importance of glycolysis, *Circulation*, **103**, 2961-2966, doi: 10.1161/01.CIR.103.24.2961.
  42. Wu, H., Deng, X., Shi, Y., Su, Y., Wie, J., et al. (2016) PGC-1 $\alpha$  glucose metabolism and type 2 diabetes mellitus, *J. Endocrinol.*, **229**, R99-R115, doi: 10.1530/JOE-16-0021.
  43. Fang, P., Shib, M., Guo, L., He, B., Wang, Q., et al. (2014) Effect of endogenous galanin on glucose transporter 4 expression in cardiac muscle of type 2 diabetic rats, *Peptides*, **62**, 159-163, doi: 10.1016/j.peptides.2014.10.001.
  44. Serebryakova, L., Studneva, I., Timoshin, A., Veselova, O., Pal'keeva, M., et al. (2021) Galanin peptides alleviate myocardial ischemia/reperfusion injury by reducing reactive oxygen species form, *Inter. J. Peptide Res. Ther.*, **27**, 2039-2048, doi: 10.1007/s10989-021-10231-x.
  45. Lang, R., Gundlach, A. L., Holmes, F. E., Hobson, S. A., Wynick, D., et al. (2015) Physiology, signaling, and pharmacology of galanin peptides and receptors: three decades of emerging diversity, *Pharmacol. Rev.*, **67**, 118-175, doi: 10.1124/pr.112.006536.
  46. Hausenloy, D. J., and Yellon, D. M. (2013) Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target, *J. Clin. Invest.*, **123**, 92-100, doi: 10.1172/JCI62874.
  47. Jay, M. A., and Ren, J. (2007) Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) in metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus, *Curr. Diab. Rev.*, **3**, 33-39, doi: 10.2174/157339907779802067.

**CHIMERIC AGONIST OF GALANIN RECEPTOR GALR2 REDUCES HEART DAMAGE IN RATS WITH STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES****I. M. Studneva, O. M. Veselova, I. V. Dobrokhotov, L. I. Serebryakova, M. E. Palkeeva, A. S. Molokoedov, A. A. Azmuko, M. V. Ovchinnikov, M. V. Sidorova, and O. I. Pisarenko\****National Medical Research Center for Cardiology, 121552 Moscow, Russia; e-mail: olpi@live.ru*

The neuropeptide galanin and its N-terminal fragments reduce the formation of reactive oxygen species and normalize the metabolic and antioxidant state of the myocardium in experimental cardiomyopathy and ischemia/reperfusion injury. This study aims to elucidate effect of WTLNSAGYLLGРВАН-OH (G), a pharmacological agonist of galanin receptor GalR2, on cardiac injury induced by administration of streptozotocin (STZ) to rats. Peptide G was prepared by solid phase peptide synthesis using the Fmoc strategy and purified by preparative HPLC. Its structure was determined using <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy and MALDI-TOF mass spectrometry. Animals were randomized into five groups: C, control; S, SG10 and SG50 treated with STZ, STZ + G (10 nmol/kg/day) and STZ + G (50 nmol/kg/day) and G healthy animals treated with G (50 nmol/kg/day). Administration of G prevented hyperglycemia in SG50 rats. By the end of the experiment, the content of ATP, the total adenine nucleotide pool, phosphocreatine (PCr) and the ratio of PCr/ATP in the myocardium of animals of the SG50 group were significantly higher than these values in the S group. Simultaneously, in the SG50 and SG10 groups, the content of lactate and lactate/pyruvate ratio in rat myocardium were reduced, while glucose content increased compared with those in group S. Both doses of G reduced increased activity of creatine kinase-MB and lactate dehydrogenase and reduced the concentration of thiobarbiturate acid-active products in the blood plasma of rats treated with STZ up to values not different from control. Taken together, these results suggest that G has cardioprotective properties in type 1 diabetes mellitus. Possible mechanisms of action of peptide G in STZ-induced diabetes are discussed.

**Keywords:** galanin, heart, streptozotocin, myocardial metabolism, lipid peroxidation, cardiomyocyte membranes