

УДК 595.3.574

**ВПЛИВ НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИХ ФРАГМЕНТІВ КОЛАГЕНУ, ОДЕРЖАНИХ З ЛУСКИ РИБ АНТАРКТИЧНОГО РЕГІОНУ, НА РОЗВИТОК ОЖИРІННЯ****О. Ю. Нагірняк, Н. Г. Ракша, О. М. Савчук, Л. І. Остапченко**

*Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 64/13, Київ 01601, Україна,  
e-mail: nkudina@ukr.net*

**Реферат.** В результаті проведених досліджень було оптимізовано метод екстракції колагену з луски риб Антарктичного регіону. Це дозволило скоротити час його одержання до трьох днів, що не вплинуло на кінцевий вихід продукту. Результати диск електрофорезу в поліакриламідному гелі за присутності додецилсульфату натрію свідчать про чистоту екстрагованого колагену та його належність до колагенів першого типу. В ході подальших досліджень було підібрано умови для ферментативного гідролізу колагену та одержано фракцію низькомолекулярних фрагментів з молекулярною масою від 2 до 26 кДа. Було досліджено вплив даних фрагментів на розвиток ожиріння на моделі висококалорійної дієти у щурів. Відповідно до одержаних результатів, фрагменти колагену, одержані з луски риб Антарктичного регіону, за їх перорального введення обумовлювали менш виражене збільшення маси тіла експериментальних тварин у порівнянні з щурами, що перебували на висококалорійній дієті. Так, приріст маси тіла щурів на 10-й тиждень експерименту становив 132% від початкового показника, що є на 22% більшим за значення контролю та на 28% меншим, ніж аналогічний показник для тварин, що споживали висококалорійну їжу. Група щурів, яка отримувала розчин фрагментів колагену, одержаних з луски риб Антарктичного регіону, з'їдала за добу менше корму як у порівнянні з групою тварин, що перебували на висококалорійній дієті, так і в порівнянні з контрольними щурами, що опосередковано свідчить про здатність фрагментів колагену впливати на відчуття насичення.

**Влияние низкомолекулярных фрагментов коллагена, полученных из чешуи рыб антарктического региона, на развитие ожирения****О. Ю. Нагирняк, Н. Г. Ракша, О. М. Савчук, Л. И. Остапченко**

**Реферат.** В результате проведенных исследований был оптимизирован метод экстракции коллагена из чешуи рыб Антарктического региона, что позволило сократить время его получения до трех дней без потери при этом количества конечного продукта. Результаты диск электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия свидетельствуют о чистоте полученного коллагена и его принадлежности к коллагену первого типа. В ходе дальнейших исследований было подобрано условия для ферментативного гидролиза коллагена и получено фракцию низкомолекулярных фрагментов с молекулярной массой от 2 до 26 кДа. Было исследовано влияние данных фрагментов на развитие ожирения у крыс на модели высококалорийной диеты. Фрагменты коллагена из чешуи рыб Антарктического региона при их пероральном введении обуславливали менее выраженное увеличение массы тела животных по сравнению с животными, которые находились на высококалорийной диете. Так, прирост массы тела на 10-й неделе эксперимента составлял 132 % от первоначального показателя, что было на 22 % выше значения контроля и на 28 % ниже, чем аналогичный показатель для живот-

ных, употреблявших высококалорийную пищу. Группа крыс, которая получала раствор фрагментов коллагена, полученных из чешуи рыб Антарктического региона, съедала за сутки меньше корма как по сравнению с группой животных на высококалорийной диете, так и по сравнению с контрольными крысами, что косвенно свидетельствует о способности фрагментов коллагена влиять на чувство насыщения.

**The influence of collagen fragments extracted from the Antarctic region fish scales on obesity development**  
O. Yu. Nagirniak, N. G. Raksha, O. M. Savchuk, L. I. Ostapchenko

**Abstract.** Collagen is the most abundant protein in vertebrates, which constitutes about 30% of the total proteins and has been widely used in food, cosmetic, biomedical, and pharmaceutical industries. The conventional source of collagen is from bovine and pig. However, the outbreak of prion diseases, such as bovine spongiform encephalopathy, has resulted in anxiety among users of collagen derived from these land animals. Thus, there is need to find an alternative source of collagen. Fish is one of the candidate alternative sources because fish is unlikely to be associated with prion diseases. In addition, their skin, bones, scales, are rich in collagen type I. A simple method has been used for the isolation of collagen from the Antarctic region fish scales. At first, the scales were solubilized using acetic acid containing EDTA. Then the solubilized collagen was precipitated by using NaCl. The results of sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis confirmed the purity of extracted collagen and showed that obtained collagen was composed of two different  $\alpha$ -chains ( $\alpha 1$  and  $\alpha 2$ ), which were in accordance with the type I collagen.  $\beta$  component was also found in lesser amounts in this collagen samples. Next, collagen samples were hydrolyzed with pepsin at 37°C for 24 h. According to obtained results collagen was cleaved into low-molecular weight fragments and peptides with molecular weight ranging from 26 to 2 kDa. The effect of collagen fragments on obesity development was investigated using animal model of obesity. For this purpose, the rats were fed with a high-calorie diet, which consisted of a standard meal (60%), pork fat (10%), eggs (10%), sugar (9%), peanuts (5%), dry milk (5%) and sunflower oil (1%) for four weeks. After that the animals were orally administrated with marine collagen fragments each second day for five consecutive weeks. It was shown that treatment with collagen fragments led to decrease of body weight and body mass index of the animals, which were on high-calorie diet (HCD). Found changes could be result of decrease of food intake and increase of water intake in compare with the rats in HCD group.

**Key words:** Antarctic fishes, scales, collagen fragments, obesity

## 1. Вступ

Біоресурси Світового океану, зокрема морські гідробіонти, є не лише цінним відновлюваним харчовим ресурсом, а й можуть слугувати унікальним джерелом для одержання різноманітних за хімічною будовою і біологічною активністю сполук (Grienke et al., 2014). Серед продуктів життєдіяльності морських організмів виділяють ряд біологічно активних сполук, що становлять певний інтерес для клініцистів та представників фарміндустрії. Одним з перспективних напрямків у даній області є розробка препаратів на основі пептидів (Ngo et al., 2012, Takahashi, 2004). Сьогодні у медичному арсеналі вже є низка фармакологічних препаратів, діючою складовою яких є біологічно активні пептиди. Однією з головних переваг пептидних препаратів є те, що, будучи аналогами ендогенних сполук, вони значно рідше викликають розвиток побічних реакцій і у більшості випадків виявляють виражений терапевтичний ефект за порівняно невеликих доз.

Ключовими факторами, що обумовлюють доцільність використання морських гідробіонтів як джерела для одержання пептидів є економічна рентабельність, розповсюдженість та висока відтворюваність даних організмів, що на фоні невпинно зростаючого дефіциту сировини і, відповідно, постійно зростаючої ціни на нові фармакологічні препарати, основу яких складають досить коштовні біологічно активні сполуки з рослинної сировини та теплокровних тварин, набуває особливого значення. Переоцінка традиційних підходів щодо експлуатації біоресурсів Світового океану, а також тенденції сучасного світового макроекономічного розвитку потребують залучення технологій комплексної переробки біологічної сировини з максимальним використанням цінних компонентів, вилучених на всіх етапах переробки. Натепер при переробці промислових видів гідробіонтів до 70% від їх маси становлять відходи, які можуть бути цінною сировиною для одержання біологічно активних сполук різної хімічної природи.

Тому розробку науково-обґрунтованих методичних підходів щодо одержання нових сполук із морських гідробіонтів можна розглядати як один з ключових напрямків розвитку науково-технічного прогресу у сфері медицини та біології. Ще одним важливим аргументом на користь використання морських гідробіонтів як джерела сировини білкового походження є відсутність так званих «спожити»

вчих ризиків» – «коров'ячого сказу», «ящуру», «пташиного грипу» та їх генетичних модифікацій, на відміну від сировини тваринного походження. На додачу, сировина тваринного походження може бути контамінована пріонами, інфекційними агентами, проонкогенами, нуклеїновими кислотами та іншими потенційно небезпечними для здоров'я речовинами, що потребує додаткових етапів очистки та контролю чистоти кінцевої продукції.

Ожиріння – системне гетерогенне захворювання, яке нині набуває масштабу глобальної епідемії. За даними ВОЗ, на надмірну вагу страждають близько 1,9 мільярда людей у віці 18 років та старших, з них понад 600 мільйонів хворі на ожиріння (World Health Organization, 2015). Згідно з офіційною статистикою, в Україні на ожиріння страждає близько 15% населення і з кожним роком кількість новодіагностованих випадків цієї хвороби невідмінно зростає. Ожиріння є мультифакторним захворюванням, етіологія і патогенез якого пов'язані із сумарним впливом багатьох чинників і супроводжуються порушенням у функціонуванні більшості систем організму (Reaven, 2008). Окрім того, ожиріння і надлишкова маса тіла є основними факторами ризику для розвитку низки супутніх захворювань та ускладнень. Так, до ускладнень, обумовлених ожирінням, належать серцево-судинні захворювання, гіпертонія, цукровий діабет 2 типу, онкологічні захворювання, дисліпідемія, жирова дистрофія та цироз печінки, остеоартрит і різні психічні розлади. Окрім, власне, проблем зі здоров'ям, ожиріння призводить до значних соціальних, економічних та психологічних проблем, що в кінцевому підсумку нерідко обумовлює передчасну смерть та слугує однією з причин ранньої інвалідизації працездатного населення. Враховуючи багатофакторність даного захворювання, лікування ожиріння є комплексним та базується на ступінчастій стратегії, яка включає поєднання немедикаментозних підходів (дієто-терапія, фізичні навантаження, корекція поведінки та режиму харчування) із застосуванням певних лікарських засобів та у крайньому випадку хірургічного втручання (Brown et al., 2014). Відсутність в арсеналі сучасних лікарських засобів достатньо ефективних та безпечних препаратів актуалізує проблему розробки препаратів, що характеризуються ефективною профілактичною та терапевтичною дією і можуть бути використані для профілактики ожиріння та викликаних ним супутніх порушень.

У цьому плані значний інтерес викликають колаген та препарати на основі колагену, які сьогодні широко використовуються в різних сферах людської діяльності, зокрема, у медицині, біотехнології, косметичній та харчовій промисловостях. Висока гомологічність молекули колагену у різних видів тварин, а отже, низька імуногенність значно полегшують його застосування (Kaewdang et al., 2014, Shoulders et al., 2009). Завдяки ендогенному походженню, низькій видоспецифічності, малому розміру та наявності високоспецифічних рецепторів, пептиди та низькомолекулярні фрагменти колагену є потенційно перспективними сполуками для терапевтичного використання. На додачу, проблема дослідження ефектів пептидів колагену чи його фрагментів, окрім прикладного аспекту, має і важливе теоретичне значення, оскільки дослідження біологічних ефектів цього класу речовин є актуальним для більш глибокого та всебічного розуміння механізмів розвитку різноманітних фізіологічних та патологічних процесів, що протікають як в організмі в цілому, так і на рівні окремих його систем. Відповідно до наведених у літературі уривчастих даних препарати на основі низькомолекулярних фрагментів колагену здатні впливати на функціонування різних ланок метаболізму та характеризуються широким спектром біологічної дії. Так, виявлено їх антигіпертонічний, антитромботичний, гепатопротекторний, антиоксидантний, протизапальний, протипухлинний, ранозаживляючий вплив (Gómez-Guillén et al., 2011). Аналіз літературних джерел дозволяє стверджувати, що дані фрагменти впливають на вміст глюкози в крові, рівень глікозильованого гемоглобіну, індекс чутливості до інсуліну та індекс секреції інсуліну (Wang et al., 2014).

Це дозволяє розглядати препарати на основі низькомолекулярних фрагментів колагену як потенційно ефективні сполуки для профілактики захворювань, пов'язаних із порушенням ліпідного та вуглеводного обміну, зокрема, ожиріння. Отже, розробка нових ефективних препаратів з потенційною профілактично-лікувальною дією на розвиток ожиріння залишається актуальною проблемою сьогодення, оскільки кількість людей, що страждають на дане захворювання та супутні розлади, продовжує невідмінно зростати.

Вище зазначене обумовило мету даного дослідження, яка полягала у вивченні впливу низькомолекулярних фрагментів колагену, одержаних з луски риб Антарктичного регіону, на розвиток ожиріння.

Для досягнення цієї мети необхідно було оптимізувати методику екстракції колагену з луски риб Антарктичного регіону, одержати фракцію низькомолекулярних фрагментів колагену та оцінити їх вплив на розвиток ожиріння у щурів.

## 2. Матеріали та методи дослідження

Об'єкти для дослідження було люб'язно надано Національним антарктичним науковим центром. Зразки були зібрані біля острова Галіндез (географічні координати - 65° 15' південної широти, 64° 15' західної довготи) архіпелагу Аргентинських островів. Солоність води біля острова становила 28.4-32.2 ‰, температура 1.1-0.8°C. Матеріал було зібрано в рамках XVII, XVIII Українських антарктичних експедицій у березні 2012 – квітні 2013 року та березні 2013 – квітні 2014 відповідно. Зразки були доставлені у лабораторію у замороженому вигляді.

Екстракцію колагену з луски риб проводили в два етапи (Zhang et al., 2011). Спочатку луску промивали холодною проточною водою. Далі проводили висолювання неколагенових білків за допомогою 10 % NaCl із розрахунку 1:10 маси сировини до об'єму розчину. Етап висолювання тривав 24 години, після чого розчин зливали, а луску на 90 хв поміщали у 0.4 М HClO<sub>4</sub> з розрахунку 1:15. Даний етап необхідний для видалення апатитів кальцію, які присутні у колагенових фібрилах з луски. Після цього луску промивали холодною дистильованою водою до нейтральних значень рН. Власне екстракцію колагену із сухої луски проводили з використанням 0.5 М оцтової кислоти із додаванням 5 мМ EDTA з розрахунку 1:10 (маса:об'єм) упродовж 24 годин. Після чого луску переводили у такий же розчин оцтової кислоти із EDTA та залишали ще на один день для подальшої екстракції. Висолювання колагену здійснювали шляхом додавання до одержаних розчинів колагену NaCl до кінцевої концентрації 0.9 М. Отриманий після центрифугування при 10 000 g (30 хв) осад розчиняли у 0.5 М оцтової кислоти для подальшого осадження NaCl. Після чого проби знову центрифугували за вище зазначених умов. Одержаний на кінцевому етапі осад ліофілізували. На кожному етапі від зразків відбирали аликвоту для перевірки ефективності процедури екстракції.

Низькомолекулярні фрагменти колагену отримували шляхом ферментативного гідролізу пепсином. Сухий колаген, отриманий після ліофілізації, розчиняли в 0.1 М оцтової кислоти з розрахунку 2 мг/мл. Колаген з пепсином (3000 U/gprotein) інкубували впродовж 24 год при 37°C. Отриманий зразок аналізували за допомогою методу диск-електрофорезу у поліакриламідному гелі за присутності додецилсульфату натрію відповідно до(Laemmli, 1970).

Дослідження впливу колагенових фрагментів на розвиток ожиріння проводили на білих нелінійних щурах-самках з початковою масою 135–140 г. Робота була виконана з дотриманням міжнародних рекомендацій щодо проведення медико-біологічних досліджень з використанням тварин згідно з Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей. Експериментальні роботи з щурами були проведені у віварії ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Стан ожиріння моделювали з використанням висококалорійної дієти, яка складалась зі стандартної їжі (60%), свинячого жиру (10%), курячих яєць (10%), сахарози (9%), арахісу (5%), сухого молока (5%) та рослинної олії (1%) (Shen et al., 2010). Упродовж першого тижня всі щури отримували стандартну їжу «Purina rodent chow» та воду ad libitum. Наступні 4 тижні від початку експерименту тварини утримувались на висококалорійній дієті, після чого рандомізовано були поділені на 2 групи. Щури першої групи (ВКД) знаходились на висококалорійній дієті. Щури другої групи (ВКД+ФК) перебували на висококалорійній дієті, але кожен другий день їм перорально вводили розчин фрагментів колагену з луски риб Антарктичного регіону у концентрації 2 мг/мл упродовж наступних 5 тижнів. Щури контрольної групи впродовж усього експерименту отримували стандартну їжу. Тварини всіх груп мали вільний доступ до води.

У всіх досліджуваних групах масу тіла реєстрували 1 раз на тиждень, споживання корму та води визначали щоденно. Індекс маси тіла (ІМТ) (відношення маси тіла (г) до квадрату довжини тіла (см,<sup>2</sup>)) було розраховано в кінці експерименту.

## 3. Результати дослідження та їх обговорення

Сьогодні при переробці промислових видів риб від 30 до 70 % від загальної маси становлять відходи, які зазвичай викидаються, зважаючи на нерентабельність їх транспортування (Senevirathne et al., 2012). Це призводить не лише до втрати значної кількості потенційно цінної сировини, а й до забруднення навколишнього середовища. Зростання попиту на використання продукції на основі колагену актуалізує пошук нових джерел сировини. З огляду на те, що луска риб містить до 30% колагену, належить до відходів рибної промисловості, а отже, є доволі необмежним ресурсом низької вартості та містить менше домішок порівняно з традиційними джерелами колагену, саме луску риб Антарктичного регіону було використано як сировину для екстракції колагену.

Чистоту екстрагованого колагену перевіряли методом диск електрофорезу у 6 % поліакриламідному гелі. Відповідно до результатів, наведених на рис.1, одержаний нами колаген не містив ніяких сторонніх домішок та неколагенових білків.

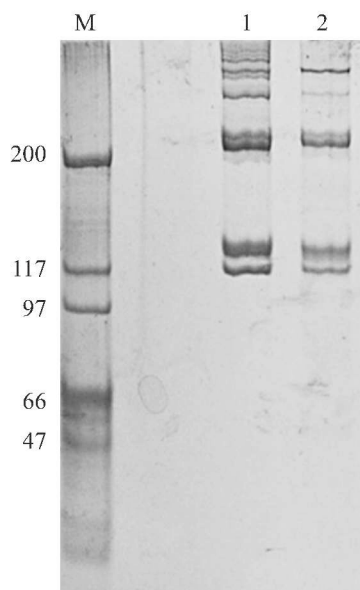


Рис.1. Електрофореграма зразків колагену, одержаних з луски риб Антарктичного регіону:  
М - маркери молекулярних мас (кДа); 1–2 –зразки колагену

Присутність в аналізованих зразках фрагментів з молекулярною масою 117 та 107 кДа, що відповідають молекулярним масам  $\alpha 1$ - та  $\alpha 2$ -ланцюгів колагену I типу дозволяє говорити про належність екстрагованого колагену саме до даного типу (Kimura et al., 1987). Додатковим підтвердженням цього слугує присутність ідентифікованих  $\alpha$ -ланцюгів у співвідношенні 2:1 ( $\alpha 1:\alpha 2$ ), що цілком узгоджується з даними літератури. Незначна кількість білка з молекулярною масою близько 200 кДа може бути результатом димеризації  $\alpha$ -ланцюгів.

Ожиріння – це захворювання, яке набуває глобального характеру. За даними ВОЗ, понад 30% населення планети страждає від зайвої ваги і частота новодіагностованих випадків даної патології продовжує невпинно зростати. Ожиріння як мультифакторне захворювання супроводжується підвищеним ризиком розвитку ряду клінічно тяжких супутніх захворювань. Це все у поєднанні з відсутністю серед арсеналу сучасних лікарських засобів відносно недорогих та ефективних препаратів профілактичної дії обумовлює актуальність пошуку нових методів лікування даного захворювання. Одним з перспективних напрямків сучасної фарміндустрії є створення препаратів на основі біологічно активних сполук, зокрема, пептидів чи низькомолекулярних фрагментів колагену. Сукупність експериментальних даних щодо широкого спектру їх біологічної активності, безпечності при довготривалому застосуванні та певних терапевтичних ефектів навіть за незначних доз обумовлює перспективи використання пептидів колагену як основи для створення засобів профілактично-лікувальної дії на розвиток системних захворювань, обумовлених метаболічними порушеннями, зокрема, ожиріння.

Тому наступним нашим завданням було одержати фракцію низькомолекулярних фрагментів колагену та перевірити їх можливий терапевтичний вплив на розвиток ожиріння. Існує декілька підходів для одержання з вихідної білкової сировини пептидів та низькомолекулярних фрагментів – то кислотний, лужний гідроліз та гідроліз за дії протеолітичних ферментів. Зважаючи на необхідність одержання фрагментів зі збереженням їх біологічної активності, оптимальним видається метод ферментативного гідролізу. Гідролітичне розщеплення колагену було проведено з використанням пепсину. Ступінь гідролізу оцінювали методом диск електрофорезу у 18 % поліакриламідному гелі відбираючи аліквоти для аналізу через різні часові проміжки та порівнюючи їх склад з вихідним зразком колагену. В результаті було встановлено, що через 24 год інкубації молекула колагену розщеплювалася на ряд низькомолекулярних фрагментів з молекулярною масою від 2 до 26 кДа (рис. 2.), які і було використано для оцінки їх впливу на розвиток експериментального ожиріння

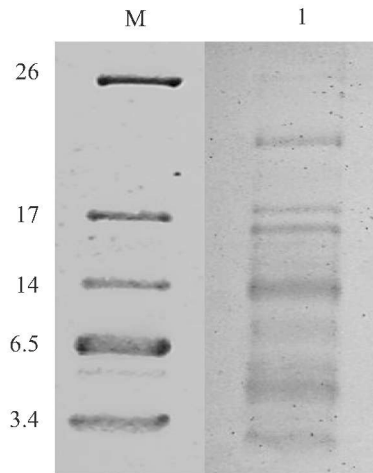


Рис.2. Електрофореграма фрагментів колагену, одержаних з луски риб Антарктичного регіону:  
 М - маркери молекулярних мас (кДа); 1 – зразок фрагментів колагену

Оскільки розвиток ожиріння супроводжується збільшенням загальної маси жирової тканини, що призводить до надмірної ваги у хворих на ожиріння, першочерговим нашим завданням було дослідити вплив фрагментів колагену, одержаних з луски риб Антарктичного регіону, на масу тіла тварин за умов розвитку даного захворювання. На рис. 3 наведено динаміку збільшення маси тіла щурів, що знаходились на висококалорійній дієті і отримували перорально розчин фрагментів колагену (ВКД+ФК), та щурів, які перебували лише на висококалорійній дієті (ВКД) впродовж 10 тижнів експерименту. На початку дослідження середня маса тварин контрольної групи, які перебували на стандартному раціоні, становила  $183,8 \pm 4,1$  г і за час експерименту зросла на 202 г.

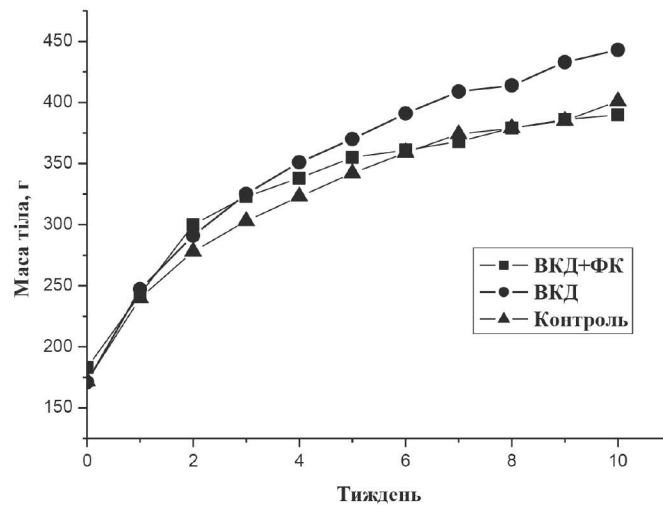


Рис. 3. Маса тіла щурів, що знаходились на висококалорійній дієті «ВКД», та щурів, яким перорально вводили розчин низькомолекулярних фрагментів колагену, одержаних з луски риб Антарктичного регіону «ВКД+ФК» ( $M \pm n$ ,  $n=10$ )

У групі щурів, що перебували на висококалорійній дієті мало місце більш виражене зростання значень даного показника і на останньому тижні дослідження середня маса тварин була більшою за початкову вагу на 272 г. Застосування розчину фрагментів колагену з луски риб Антарктичного регіону обумовлювало менш виражене збільшення маси тіла у порівнянні з тваринами, що перебу-

вали лише на висококалорійній дієті. У відсотковому співвідношенні приріст маси тіла щурів на 10-й тиждень експерименту складав 110.2 %, 161.3 % та 132.7 % від початкового значення відповідно для тварин контрольної групи, тварин, що перебували на висококалорійній дієті та тварин, що отримували розчин фрагментів колагену (рис. 4). Таким чином, отримані нами результати вказують на певний терапевтичний ефект фрагментів колагену, одержаних з луски риб Антарктичного регіону, на розвиток ожиріння за їх перорального введення.

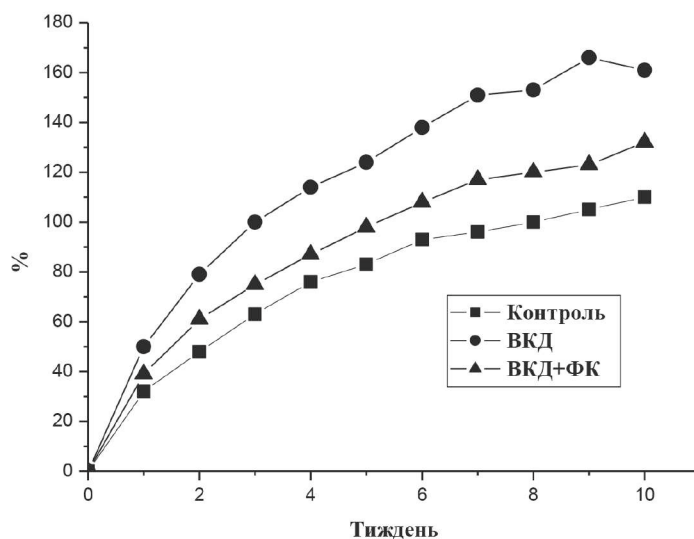


Рис. 4. Приріст маси (% від початкової маси) тіла щурів, що знаходились на висококалорійній дієті «ВКД» та щурів, яким перорально вводили розчин низькомолекулярних фрагментів колагену, одержаних з луски риб Антарктичного регіону «ВКД+ФК» ( $M \pm n$ ,  $n=10$ )

Оскільки збільшення маси тіла саме по собі не є достатнім критерієм для діагностування стану ожиріння, було визначено індекс маси тіла (ІМТ) – показник, який дозволяє оцінити ступінь відповідності маси тіла до зросту, й тим самим оцінити, чи є маса недостатньою, нормальною, або надмірною. Окрім того, ІМТ використовується як інтегральний показник, що дозволяє охарактеризувати композицію тіла та ступінь відкладання жирової маси. Відповідно до наших даних (таблиця) на 10-й тиждень експерименту індекс маси тіла контрольних тварин становив  $0.7 \text{ г/см}^2$ , що знаходиться в межах норми для щурів даної вікової категорії (Novelli et al., 2007).

Таблиця

Споживання корму та рідини у групі тварин, що перебували на висококалорійній дієті (ВКД) та тварин, яким перорально вводили розчин низькомолекулярних фрагментів колагену, одержаних з луски риб Антарктичного регіону (ВКД+ФК) ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

	Контроль	ВКД+ФК	ВКД
ІМТ ( $\text{г/см}^2$ )	0.7	0.74	0,78
Споживання корму ( $\text{г/день}$ )	$28 \pm 1.2$	$25 \pm 1.3$	$31 \pm 1.5^*$
Споживання води ( $\text{мл/день}$ )	$38 \pm 2.1$	$34 \pm 1.9$	$32 \pm 2.3^*$

Примітка: \* -  $p < 0.05$  різниця достовірна у порівнянні з контрольною групою

ІМТ тварин, які перебували на висококалорійній дієті, зростав у 1.12 рази у порівнянні зі значенням для групи контрольних тварин і складав  $0.78 \text{ г/см}^2$ . Варто зазначити, що у щурів, які одержували розчин фрагментів колагену з луски риб Антарктичного регіону, індекс маси тіла зростав дещо повільніше і на кінець експерименту становив  $0.74 \text{ г/см}^2$ , що у 1.05 рази більше за значення контролю, але менше за аналогічний показник для щурів, які перебували на висококалорійній дієті.

Для того щоб встановити першочергові механізми виявленого нами ефекту зниження маси тіла за вживання фрагментів колагену, одержаних з луски риб Антарктичного регіону, на наступному етапі роботи було досліджено їх вплив на споживання корму та рідини щурами всіх експериментальних груп, адже відомо, що розвиток ожиріння внаслідок порушення узгодженої координації між роботою ряду нейромедіаторних та гормональних систем супроводжується розвитком явища гіперфагії – стану, за якого спостерігається надмірне споживання поживних речовин, енергетичний еквівалент яких більший за енергетичні потреби організму.

Як видно з представленої таблиці, група щурів, яка отримувала розчин фрагментів колагену з луски риб Антарктичного регіону, з'їдала в середньому  $25 \pm 1.3 \text{ г}$  корму за добу, що було нижче показника ( $28 \pm 1.2 \text{ г}$ ), визначеного для тварин контрольної групи. Щури, які перебували на висококалорійній дієті, з'їдали у середньому  $31 \pm 1.5 \text{ г}$  висококалорійного корму, що у 1.2 рази більше, ніж група, яка отримувала фрагменти колагену.

Отже, розвиток ожиріння у щурів, що перебували на висококалорійній дієті, супроводжувався гіперфагією, яка є не лише наслідком прогресуючого дисбалансу у нейромедіаторно-гормональній ланці, а й слугує важливим чинником, що значно ускладнює патогенез даного захворювання. З огляду на одержані нами дані, можна говорити про здатність фрагментів колагену, одержаних з луски риб Антарктичного регіону, впливати на відчуття насичення. Подібний ефект фрагментів колагену частково можна пояснити описаною в літературі здатністю даних фрагментів здійснювати стимулюючий вплив на вивільнення холецистокініну – пептидного гормону гастроінтестинального тракту, що залучений у регуляцію відчуття насичення (Moran, 2000). З іншого боку, добре відомо, що помірні дієти на основі білків та пептидів має виражений ефект, особливо на початкових стадіях розвитку ожиріння, за рахунок, зокрема, посилення відчуття ситості та посилення постліментарного термогенезу (Seale, 2009).

Відповідно до результатів, наведених у таблиці, тварини, які знаходилися на висококалорійній дієті, споживали в середньому 32 мл води за добу. В той же час група тварин, яка знаходилась на висококалорійній дієті з суміжним споживанням фрагментів колагену, одержаних з луски риб Антарктичного регіону, споживала 34 мл води, що також не є достовірним значенням.

Отже, одержані нами результати свідчать про здатність фрагментів колагену, одержаних з луски риб Антарктичного регіону, впливати на розвиток ожиріння, спричиненого вживанням висококалорійної їжі, зокрема, знижувати кількість спожитої за добу їжі, що супроводжується зниженням маси тіла та індексу маси тіла у порівнянні з аналогічними показниками для тварин, які перебували лише на висококалорійній дієті.

*Подяка.* Автори висловлюють подяку Державній установі Національний антарктичний науковий центр МОН України за надання зразків для досліджень і за підтримку.

### Список літератури

1. **Brown W.**, Bays H., Bray G. JCL Roundtable: Clinical management of individuals with obesity // *Journal of Clinical Lipidology*. – 2014. – № 8. – P. 237–248.
2. **Gómez-Guillén M. C.**, Giménez B., López-Caballero M. E. et al. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocolloids*. – 2011. – № 25. – P. 1813–1827.
3. **Grienke U.**, Silke J., Tasdemir D. Bioactive compounds from marine mussels and their effects on human-health // *Food Chemistry*. – 2014. – № 142. – P. 48–60.
4. **Kaewdang O.**, Benjakul S., Kaewmanee T. et al. Characteristics of collagens from the swim bladders of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) // *Food Chemistry*. – 2014. – 15(155). – P. 264–270.
5. **Kimura S.**, Ohno Y., Miyauchi Y. et al. Fish Skin Type I Collagen: Wide Distribution of an  $\alpha 3$  Subunit in Teleosts // *Comparative Biochemistry and Physiology*. – 1987. – Vol. 88B, № 1. – P. 27 – 34.
6. **Laemmli K.** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 / Laemmli K. // *Nature*. – 1970. – Vol. 227, № 1. – P. 680 – 685.
7. **Moran T. H.** Cholecystokinin and satiety: current perspectives // *Nutrition*. – 2000. - 16(10). – P. 858 – 865.



8. **Ngo D-H.**, Vo T-S., Ngo D-N. et al. Biological activities and potential health benefits of bioactive peptides derived from marine organisms // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2012. – № 51. – P. 378–383.
9. **Novelli E.**, Diniz Y., Galhardi C. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats // *Laboratory Animals*. – 2007. – № 41. – P. 111–119.
10. **Reaven G.M.** Insulin resistance: the link between obesity and cardiovascular disease // *Endocrinol Metab Clin North Am*. – 2008. – 37. – P. 581–601.
11. **Seale P.**, Lazar M. Brown Fat in Humans: Turning up the Heat on Obesity // *Diabetes*. – 2009. – Vol. 58, №7. – P. 1482 – 1484.
12. **Senevirathne M.**, Kim S. K. Utilization of seafood processing by-products: Medicinal applications // *Advances in Food and Nutrition Research*. – 2012. – № 65. – P. 495–512.
13. **Shen X.**, Tang Q., Huang J. et al. Vitamin E regulates adipocytokine expression in a rat model of dietary-induced obesity // *Experimental Biology and Medicine*. – 2010. – № 235. – P. 47– 51
14. **Shoulders M. D.**, Raines R.T. Collagen structure and stability // *Annual Review of Biochemistry*. – 2009. – №78. – P.929–958.
15. **Takahashi K.** Translational medicine in fish-derived peptides: from fish endocrinology to human physiology and diseases // *Endocr J*. – 2004. – №51. – P. 1–17.
16. **Wang H.**, Fu Z., Han C. The Potential Applications of Marine Bioactives Against Diabetes and Obesity // *American Journal of Marine Science*. – 2014. – Vol. 2, № 1. – P. 1 – 8.
17. **World Health Organization.** Obesity and overweight [Електронний ресурс] /. World Health Organization // WHO Fact sheet. – 2015. – Режим доступу: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.
18. **Zhang F.**, Wang A., Li Z. et al. Preparation and Characterisation of Collagen from Freshwater Fish Scales // *Food and Nutrition Sciences*. – 2011. – № 2. – P. 818 – 823