Оригинальное исследование
УДК 616.831-001:577.112.6
http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2025-2-11

ИЗМЕНЕНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТАТУСА ТКАНЕЙ МОЗГА КРЫС ВИСТАР ПРИ ПЯТИДНЕВНОМ ВВЕДЕНИИ РАЗЛИЧНЫХ ГЛИПРОЛИНОВ В ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

Анна Александровна Колесникова[1]✉, Марина Юрьевна Флейшман[2], Юлия Борисовна Малофей[3], Наталья Юрьевна Якушева[4], Иван Владимирович Толстенок[5]

[1-5]Дальневосточный государственный медицинский университет, Хабаровск, Россия
[1]✉anna-kostina-88@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-0783-9293
[2]marfl@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-3273-6640
[3]malofey2009@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-5698-3665
[4]whiteout@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-1561-5465
[5]toiv@bk.ru, https://orcid.org/0000-0002-0822-3431

Аннотация. В эксперименте исследован окислительный статус тканей мозга половозрелых самцов Вистар (n=60) после внутрибрюшинного введения пептидов глипролинового ряда в дозе 0,1 мг/кг в течение пяти дней. По результатам исследования наиболее благоприятное действие оказывает гептапептид Thy-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro в дозе 0,1 мг/кг. Глипролин с N-концевым аргинином оказался более эффективным в сравнении с глипролином с С-концевым лейцином.

Ключевые слова: глипролины, хемилюминесценция, окислительный статус, Thy-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro, Arg-Pro-Gly-Pro, Pro-Gly-Pro-Leu

Для цитирования: Изменение окислительного статуса тканей мозга крыс Вистар при пятидневном введении различных глипролинов в физиологических условиях / А.А. Колесникова, М.Ю. Флейшман, Ю.Б. Малофей и др. // Дальневосточный медицинский журнал. – 2025. – № 2. – С. 65-69. http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2025-2-11.

CHANGES IN THE OXIDATIVE STATUS OF BRAIN TISSUE IN WISTAR RATS DURING FIVE-DAY GLYPROLINES ADMINISTRATION UNDER PHYSIOLOGICAL CONDITIONS

Anna A. Kolesnikova[1]✉, Marina Yu. Fleishman[2], Yulia B. Malofey[3], Natalya Yu. Yakusheva[4], Ivan V. Tolstenok[5]

[1-5]Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russia
[1]✉anna-kostina-88@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-0783-9293
[2]marfl@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-3273-6640
[3]malofey2009@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-5698-3665
[4]whiteout@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-1561-5465
[5]toiv@bk.ru, https://orcid.org/0000-0002-0822-3431

Abstract. Oxidative status of brain tissue in mature Wistar males (n=60) after intraperitoneal administration of glyproline peptides at a dose of 0,1 mg/kg for five days was studied. According to the results of the study, the heptapeptide Thy-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro at a dose of 0,1 mg/kg has the most beneficial effect. Glyproline with an N-terminal arginine was more effective than glyproline with a C-terminal leucine.

Keywords: glyprolines, chemiluminescence, oxidative status, Thy-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro, Arg-Pro-Gly-Pro, Pro-Gly-Pro-Leu

For citation: Changes in the oxidative status of brain tissue in Wistar rats during five-day glyprolines administration under physiological conditions / A.A. Kolesnikova, M.Yu. Fleishman, Yu.B. Malofey, et al. // Far Eastern medical journal. – 2025. – № 2. – P. 65-69. http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2025-2-11.

Пептиды глипролинового ряда, содержащие аминокислотную последовательность Pro-Gly-Pro, обладают широким спектром биологической активности [1], способны проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), а также, являясь нативными структурами, обладают высокой эффективностью, безопасностью и отсутствием токсичности при введении в организм [2]. Благодаря наличию последовательности Pro-Gly-Pro, пептиды семейства глипролинов защищены от гидролиза эндопептидазами и оказывают продолжительное действие [3]. В настоящее время синтезированы и изучены с точки зрения биологической активности десятки пептидных последовательностей. Обращает на себя внимание короткоцепочечный пептид Thr-Lys-Pro-Arg – фрагмент тяжелой цепи иммуноглобулина G, обладающий по данным В.Г. Скребицкого и др. в нейромодулирующей активностью за счет сходства с некоторыми высокоактивными нейропептидами [4]. Олигопептид Arg-Pro-Gly-Pro восстанавливает психоэмоциональный статус грызунов, проявляя нейротропное действие [5]. Одновременно с этим, RPGP и PGP-Leu проявляют защитный антидиабетогенный эффект [6].

Нервная ткань высокочувствительна к процессам перекисного окисления липидов из-за того, что больше половины вещества головного мозга представлено липидами, входящими в состав мембран клеток и миелиновых нервных волокон [7]. Нужно учесть, что и доля потребляемого кислорода составляет около 25 % от общей потребности организма [8]. Некоторые авторы указывают, что нейрональное повреждение, вызванное окислительным стрессом, может иметь долговременные негативные последствия [9]. При этом теменная область мозга более подвержена негативному влиянию [10]. Указывается, что основными механизмами разрушения клеток мозга при окислительном стрессе может быть повреждение митохондрий [11] и изменение функционирования мембранных фосфолипидов, приводящее к повышению проницаемости мембран, изменению проводимости отростков и разрушению клеток [4, 12].

Однако, известно, что процессы свободнорадикального окисления тесно связаны с нормальным функциональным состоянием отдельных клеток и тканей головного мозга. Они регистрируются при транспорте электронов в дыхательной цели, синтезе ряда важных метаболитов и при активной фазе деления и дифференциации клеток [13].

Пептиды глипролинового ряда имеют широкий спектр противострессорной активности. Несмотря на это, на территории Российской Федерации зарегистрировано лишь несколько препаратов этой группы в различных лекарственных формах [14], поэтому остается актуальным вопрос изучения свойств вновь синтезированных пептидов с целью разработки новых лекарственных средств.

Цель исследования – сравнить уровень окислительного стресса при введении изотонического раствора хлорида натрия и пептидов глипролинового ряда Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro, Arg-Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro-Leu.

Материалы и методы

Использованные в исследовании субстанции пептидов синтезированы в НИИ «Курчатовский институт» (под руководством академика РАН д.х.н. Н.В. Мясоедова). Исследовали головной мозг половозрелых самцов Вистар (60 особей). Дизайн планировали в соответствии с требованиями приказа № 199 МЗ РФ от 01.04.2016 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и Директивы Европейского союза по защите животных, используемых в научных целях (2010/63/EU). При содержании крыс и выведении их из эксперимента руководствовались законом «О защите животных от жестокого обращения» (гл. V, ст. 104679-ГД от 01.12.1999 г.). Протокол исследования утвержден на заседании этического комитета при ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 2 от 05.02.2019).

В работе использовали пептиды Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro, Arg-Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro-Leu. Глипролины вводились внутрибрюшинно в течение 5 дней в дозе 0,1 мг/кг.

Для проведения эксперимента были сформированы следующие группы:

1. «Интактные» (n=10) – интактные животные;

2. «NaCl» (n=20) – крысы, получавшие эквиобъемные инъекции 0,9 % раствора хлорида натрия;

3. «TKPRPGP» (n=10) – животные, получавшие инъекции пептида Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro в дозе 0,1 мг/кг;

4. «RPGP» (n=10) – животные, получавшие инъекции пептида Arg-Pro-Gly-Pro в дозе 0,1 мг/кг;

5. «PGPL» (n=10) – животные, получавшие инъекции пептида Pro-Gly-Pro-Leu в дозе 0,1 мг/кг.

Животных выводили из эксперимента на 6-е сутки путем быстрой декапитации под ингаляционным наркозом пара́ми хлороформа.

Для исследования процессов свободнорадикального окисления в тканях левого полушария головного мозга экспериментальных животных применяли метод хемилюминесценции. Исследования проводили с использованием люминесцентного спектрометра LS 50B («PERKIN ELMER», США). Регистрировали светосумму за 1 мин спонтанной ХЛ (S_{sp}), ее величина соотносится со степенью генерации активных форм кислорода; максимум «быстрой» вспышки (H1) индуцированного Fe^{2+} свечения, указывает на содержание гидроперекисей липидов; светосумма (S_{ind1}) за 2 минуты после «быстрой» вспышки, имеет прямую зависимости от скорости генерации перекисных радикалов липидной природы. Кинетику ХЛ, индуцированную пероксидом водорода в присутствии люминола, оценивали по следующим показателям:

S_{lum} – светосумма за 1 мин. люминол-зависимой ХЛ, которая показывает напрямую указывает на продукцию гидроксил-радикала; светосумма за 2 минуты ХЛ (S_{ind2}), величина которой обратнопропорциональна уровню антиоксидантной антирадикальной защиты [15].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием ПО Microsoft Office Excel 2015 и Statistica 10.0. После оценки нормальности распределения согласно критерию Шапиро-Уилка, рассчитывали медианы (Me) и межквартильный интервал [МКИ] [16]. Достоверность отличий между группами оценивали по критерию Вальда-Вольфовица. Межгрупповые различия считали статистически значимыми при $p<0,05$ [17].

Результаты и обсуждение

При введении 0,9 % раствора натрия хлорида отмечается уменьшение интенсивности генерации активных метаболитов кислорода (S_{sp}) и содержания гидроперекисей липидов (H1) (рис. 1).

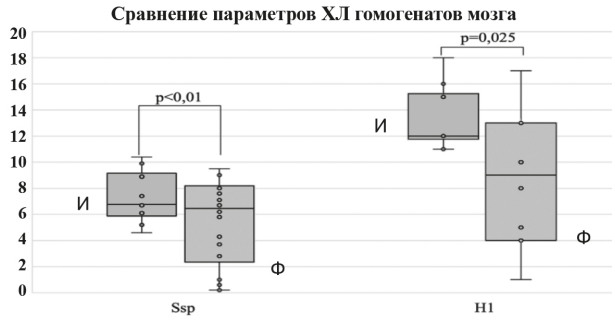


Рис. 1. Параметры хемилюминесценции в исследуемых группах

Примечание. И – группа «интактные», Ф – группа «NaCl».

В гомогенатах тканей мозга крыс группы «TKPRPGP» отмечается снижение показателей окислительного стресса (S_{sp}, H1, S_{ind1}, S_{lum}) в сравнении с группами «NaCl», «RPGP» и «PGPL» (рис. 2).

В группах «RPGP» и «PGPL» выявлены различия в сравнении с группой «NaCl» только по показателю уровня антиоксидантной и антирадикальной защиты. В группе «RPGP» по сравнению с группой «PGPL» показатель, указывающий на окисление тканей снижен.

Результаты работы соотносятся с ранее полученными данными – глипролиновые последовательности снижали показатели окислительного стресса в сравнении с группой, получавшей эквиобъемное количество изотонического раствора хлорида натрия. Однако наличие N-концевого аргинина в структуре глипролина, в данном исследовании, в отличие от ранее проведенных, увеличивало показатели окислительного стресса [18, 19].

Практическая значимость работы заключается в расширении списка возможных биологических эффектов пептидов глипролинового ряда в эксперименте. В ходе дальнейших исследований планируется выяснить каскад метаболических реакций, в развитии которых участвуют пролинсодержащие олигопептиды. Это позволит пополнить базы данных об активности пептидных последовательностей, в том числе активность конкретных N- и C-концевых аминокислот, и в дальнейшем предсказывать пептидные структуры препаратов с необходимыми свойствами [20].

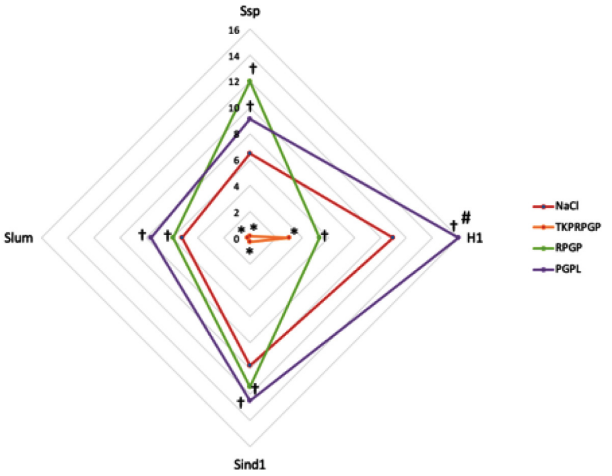


Рис. 2. Параметры хемилюминесценции (ХЛ) в исследуемых группах

Примечание. * – статистически значимые различия с группой «NaCl»; ┼ – статистически значимые различия с группой «TKPRPGP 0,1»; # – статистически значимые различия с группой «RPGP». Достоверными принимались значения в случае $p<0,05$.

По результатам проведенного эксперимента можно заключить, что пептид TKPRPGP, в отличие от пептидов RPGP и PGPL при введении в дозе 0,1 мг/кг в течение 5 дней, снижает показатели окислительного стресса в ткани. Глипролин с N-концевым аргинином достоверно снижает уровень окислительного стресса в сравнении с глипролином с C-концевым лейцином.

Список источников

1. Колесникова А.А., Толстенок И.В., Флейшман М.Ю. и др. Биологические эффекты пролинсодержащих олигопептидов // Дальневосточный медицинский журнал. – 2021. – № 4. – С. 92-99. DOI 10.35177/1994-5191-2021-4-19.
   Kolesnikova A.A., Tolstenok I.V., Fleishman M.Yu., et al. Biological effects of proline-containing oligopeptides // Far Eastern Medical Journal. – 2021. – № 4. – P. 92-99. DOI 10.35177/1994-5191-2021-4-19.
2. Ясенявская А.Л., Самотруева М.А., Цибизова А.А. и др. Влияние глипролинов на перекисное окисление липидов в гипоталамической и префронтальной областях головного мозга в условиях «социального» стресса // Астраханский медицинский журнал. – 2020. – Т. 15, № 3. – С. 79-85. DOI 10.17021/2020.15.3.79.85.

Yasenyavskaya A.L., Samotrueva M.A., Tsibizova A.A. et al. The effect of glyprolines on lipid peroxidation in the hypothalamic and prefrontal regions of the brain under conditions of "social" stress // Astrakhan Medical Journal. – 2020. – Vol. 15, № 3. – P. 79-85. DOI 10.17021/2020.15.3.79.85.

3. Жуйкова С.Е. Глипролины – регуляторные пептиды с интегративным действием // Интегративная физиология. – 2020. – Т. 4, № 1. – С. 303-316. DOI 10.33910/2687-1270-2020-1-4-303-316.
   Zhuikova S.E. Glyprolines are regulatory peptides with integrative action // Integrative Physiology. – 2020. – Vol. 4, № 1. – P. 303-316. DOI 10.33910/2687-1270-2020-1-4-303-316.
4. Скребицкий В.Г., Касян А.П., Поваров И.С. и др. Нейропептидный препарат Селанк: биологическая активность и фундаментальные механизмы действия // Нервные болезни. – 2016. – № 4. – С. 52-57. EDN XXPKWV.
   Skrebitsky V.G., Kasyan A.P., Povarov I.S. et al. Neuropeptide drug Selank: biological activity and fundamental mechanisms of action // Nervous Diseases. – 2016. – № 4. – P. 52-57. EDN XXPKWV.
5. Сергалиева М.У., Мурталиева В.Х., Самотруева М.А. Оценка нейротропного действия тетрапептида Arg-Pro-Gly-Pro // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств: Сборник трудов 9-ой Международной научно-методической конференции. Посвящается 25-летию создания фармацевтического факультета в Воронежском государственном университете, Воронеж, 28–29 сентября 2023 года / Под общей редакцией А.С. Беленовой, А.А. Гудковой, Н.А. Дьяковой. – Воронеж: ВГУ, 2023. – С. 632-635. DOI 10.17308/978-5-9273-3827-6-2023-632-635.
   Sergalieva M.U., Murtalieva V.Kh., Samotrueva M.A. Assessment of the neurotropic action of tetrapeptide Arg-Pro-Gly-Pro // Ways and forms of improving pharmaceutical education. Topical issues of the development and research of new medicines: Proceedings of the 9th International Scientific and Methodological Conference. Dedicated to the 25th anniversary of the establishment of the Faculty of Pharmacy at Voronezh State University, Voronezh, September 28-29, 2023 / Ed. by Belenova A.S., Gudkova A.A., Dyakova N.A. Voronezh: VSU, 2023. – P. 632-635. DOI 10.17308/978-5-9273-3827-6-2023-632-635.
6. Obergan T.Yu., Myasoedov N.F., Grigorjeva M.E., et al. Pharmacology complex compound of Pro-Gly-Pro-Leu with heparin: hypoglycemic, fibrinolitic and anticoagulant effects in rats with hyperglycemia // Pharmacy & Pharmacology. – 2019. – Vol. 7, № 5. – P. 300-307. DOI 10.19163/2307-9266-2019-7-5-300-307.
7. Галкина О.В., Ветровой О.В., Ещенко Н.Д. Участие липидов в реализации специфических функций центральной нервной системы // Биоорганическая химия. – 2021. – Т. 47, № 5. – С. 555-565. DOI 10.31857/S0132342321050250.
   Galkina O.V., Vetrovoy O.V., Eshchenko N.D. Participation of lipids in the realization of specific functions of the central nervous system // Bioorganic Chemistry. – 2021. – Vol. 47, № 5. – P. 555-565. DOI: 10.31857/S0132342321050250.
8. Özugur S., Kunz L., Straka H. Relationship between oxygen consumption and neuronal activity in a defined neural circuit // BMC Biology. – 2020. – Vol. 18, № 1. – P. 1-16. DOI 10.1186/s12915-020-00811-6.
9. Popa-Wagner A., Buga A.M., Mitran S., et al. ROS and brain diseases: The good, the bad, and the ugly // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2013. – Vol. 2013. – P. 963520. DOI 10.1155/2013/963520.
10. Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Зиматкин С.М., Валько Н.А. Морфологические нарушения нейронов теменной коры и гиппокампа крыс в динамике субтотальной церебральной ишемии // Оренбургский медицинский вестник. – 2019. – Т. 7, № 2 (26). – С. 36-41. EDN CURJII.
    Bon E.I., Maksimovich N.E., Zimatkin S.M., Valko N.A. Morphological disorders of neurons of the parietal cortex and hippocampus of rats in the dynamics of subtotal cerebral ischemia // Orenburg Medical Bulletin. – 2019. – Vol. 7, № 2 (26). – P. 36-41. EDN CURJII.
11. Khan S., Zafar A., Naseem Khan, S. I. Copper-redox cycling by coumarin-di(2-picolyl)amine hybrid molecule leads to ROS-mediated DNA damage and apoptosis: A mechanism for cancer chemoprevention // Chem. Biol. Interact. – 2018 – Vol. 290. – P. 64-76. DOI: 10.1016/j.cbi.2018.05.010. Epub 2018 May 24. PMID: 29803612.
12. Farooqui A.A., Horrocks L.A., Farooqui T. Glycerophospholipids in brain: their metabolism, incorporation into membranes, functions, and involvement in neuro-logical disorders // Chem. Phys. Lipids. – 2000. – Vol. 106, № 1. – P. 1-29. DOI: 10.1016/s0009-3084(00)00128-6.
13. Белиничев И.Ф., Черний В.И., Нагорная Е.А. и др. Нейропротекция и нейропластичность: монография. – К.: ООО «Полиграф Плюс», 2014. – 512 с.
    Belinichev I.F., Cherniy V.I., Nagornaya E.A., et al. Neuroprotection and neuroplasticity: monograph. – K.: OOO «Polygraph Plus», 2014. – 512 p.
14. Справочник Видаль – 2022: Лекарственные препараты в России // Ред. Е.А. Толмачева. – М.: Видаль Рус, 2023. – 1120 с.
    Vidal Handbook – 2022: Medicines in Russia / Ed. by E.A. Tolmacheva. – M.: «Vidal» Rus. – 2023. – 1120 p.

15. Мокрецова Е.В., Томилка Г.С., Лебедько О.А. Состояние оксидативного статуса у больных клещевым риккетсиозом, обусловленным R. Heilongjiangensis, выявленных на юге Хабаровского края // Дальневосточный медицинский журнал. – 2021. – № 4. – С. 20-23. DOI 10.35177/1994-5191-2021-4-3.
Mokretsova E.V., Tomilka G.S., Lebedko O.A., et al. The state of the oxidative status in patients with tick-borne rickettsiosis caused by R. Heilongjiangensis, identified in the south of the Khabarovsk Territory // Far Eastern Medical Journal. – 2021. – № 4. – P. 20-23. DOI: 10.35177/1994-5191-2021-4-3.
16. Баврина А.П. Современные правила применения параметрических и непараметрических критериев в статистическом анализе медико-биологических данных // Медицинский альманах. – 2021. – № 1 (66). – С. 64-73. – EDN IZXMBZ.
Bavrina A.P. Modern rules for the application of parametric and nonparametric criteria in the statistical analysis of biomedical data // Medical Almanac. – 2021. – № 1 (66). – P. 64-73. EDN IZXMBZ.
17. Медик В.А., Толмачев М.С., Фишман Б.Б.. Статистика в медицине и биологии: Руководство. Ред. Ю.М. Комаров. Т. 1. – М.: Медицина, 2001. – 412 с.
Medik V.A., Tolmachev M.S., Fishman B.B.. Statistics in medicine and biology: Guide / Ed. by Yu.M. Komarov. – Vol. 1. – M.: Medicine, 2001. – 412 p.
18. Толстенок И.В. Изучение влияния глипролинов и их аргининсодержащих аналогов на состояние тканевого гомеостаза покровного эпителия: дисс. канд. биол. наук. – Владивосток, 2017. – 130 с.
Tolstenok I.V. Study of the effect of glyprolines and their arginine-containing analogues on the state of tissue homeostasis of the integumentary epithelium: Thesis of … a Candidate of Biol. Science. – Vladivostok, 2017. – 130 p.
19. Флейшман М.Ю. Морфогенетическая активность деморфина и его аналогов в различных клеточных популяциях: дисс. докт. мед. наук. – Владивосток, 2010. – 190 с.
Fleishman M.Yu. Morphogenetic activity of dermorphin and its analogues in various cell populations: Thesis of … a Doctor of Medical Sciences. – Vladivostok, 2010. – 190 p.
20. Dergunova L.V., Filippenkov I.B., Limborska S.A., Myasoedov N.F. Neuroprotective Peptides and New Strategies for Ischemic Stroke Drug Discoveries. A Review // *Genes (Basel)*. – 2023. Apr 22; 14 (5). – P. 953. doi: 10.3390/genes14050953

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.
The authors declare no conflicts of interests.

Статья принята к публикации 12.04.2025.
The article was accepted for publication 12.04.2025.