УДК 617.51-001:616.831-001: 577.112.6/.121

DOI: 10.34215/1609-1175-2020-3-65-67

Уровень окислительного стресса в ткани мозга крыс после черепно-мозговой травмы при введении синтетических регуляторных пептидов

А.А. Колесникова, М.Ю. Флейшман, Н.Ю. Якушева, Е.В. Слободенюк, И.В. Толстенюк

Дальневосточный государственный медицинский университет, Хабаровск, Россия

Цель – сравнительная оценка влияния регуляторных пептидов на перекисное окисление липидов в ткани мозга после черепно-мозговой травмы (ЧМТ). **Материал и методы.** Половозрелые крысы-самцы Вистар были разделены на три группы: первая в течение пяти дней после экспериментальной ЧМТ получала по 0,1 мг/кг раствора пептида «Селанк» (Thy-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro), вторая – по 0,1 мг/кг пептида AGAPGP (Arg-Gly-Arg-Pro-Gly-Pro), третья (контроль) – 0,9% раствор натрия хлорида. Препараты вводились абдоминально. **Результаты.** По данным хемилюминесценции в биоматериале, взятом от крыс первой группы, показатели окислительного стресса были менее выражены. **Заключение.** Препарат «Селанк» оказывает более убедительное антиоксидантное действие на ткани мозга после ЧМТ по сравнению с пептидом AGAPGP.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, окислительный стресс, хемилюминесценция, селанк, AGAPGP

Поступила в редакцию 16.06.2020 г. Принята к печати 29.06.2020 г.

Для цитирования: Колесникова А.А., Флейшман М.Ю., Якушева Н.Ю., Слободенюк Е.В., Толстенюк И.В. Уровень окислительного стресса в ткани мозга крыс после черепно-мозговой травмы при введении синтетических регуляторных пептидов. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2020;3:65–7. doi: 10.34215/1609-1175-2020-3-65-67

Для корреспонденции: Колесникова Анна Александровна – старший преподаватель кафедры фармации и фармакологии ДВГМУ (680000, г. Хабаровск, ул. Муравьева-Амурского, 35), ORCID: 0000-0002-0783-9293; e-mail: anna-kostina-88@mail.ru

The level of oxidative stress in rat brain tissue after a brain trauma injury with introduction of synthetic regulatory peptides

A.A. Kolesnikova, M.Yu. Fleishman, N.Yu. Yakusheva, E.V. Slobodenyuk, I.V. Tolstenok

Far-Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russia

Objective: Comparative evaluation of the effect of regulatory peptides on lipid peroxidation in brain tissue after traumatic brain injury (TBI). **Methods:** Reproductive Wistar male rats were divided into 3 groups: the first group received 0.1 mg/kg of "Selang" peptide solution (Thy-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro) within 5 days after the experimental traumatic brain injury, the second group received 0.1 mg/kg AGAPGP peptide (Arg-Gly-Arg-Pro-Gly-Pro), the third (control) – 0.9% sodium chloride solution. Drugs were administered retroperitoneally. **Results:** According to chemiluminescence in the biomaterial taken from rats of the first group, indicators of oxidative stress were less pronounced. **Conclusions:** The Selang has a more pronounced antioxidant effect on brain tissue after traumatic brain injury compared with the AGAPGP peptide.

Keywords: traumatic brain injury, oxidative stress, chemoluminescence, Selang, AGAPGP

Received: 16 June 2020; Accepted: 29 June 2020

For citation: Kolesnikova AA, Fleishman MYu, Yakusheva NYu, Slobodenyuk EV, Tolstenok IV. The level of oxidative stress in rat brain tissue after a brain trauma injury with introduction of synthetic regulatory peptides. *Pacific Medical Journal*. 2020;3:65–7. doi: 10.34215/1609-1175-2020-3-65-67

Corresponding author: Anna A. Kolesnikova, MD, senior lecturer, Department of Pharmacy and Pharmacology, Far-Eastern State Medical University (35 Muravyov-Amursky St., Khabarovsk, 680000, Russian Federation); ORCID: 0000-0002-0783-9293; e-mail: anna-kostina-88@mail.ru

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) – частая причина отдаленных негативных изменений в центральной нервной системе, иногда приводящих к инвалидности [1]. Поиск препаратов, позволяющих снизить риск нежелательных последствий ЧМТ остается актуальной задачей [2]. Известно, что ткани мозга сильно подвержены окислительному стрессу [3]. Регуляторные пептиды – соединения с многоплановой биологической активностью, в том числе хорошо зарекомендовавшие себя при борьбе со стрессом различного происхождения. В связи с тем, что постоянно синтезируются новые соединения из этой группы, актуально их сравнение с уже имеющимися и зарегистрированными в качестве

лекарственных средств аналогами. Цель работы – сравнительная оценка влияния на окислительный статус ткани мозга после ЧМТ официального препарата «Селанк» (Thy-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro) и вновь синтезированного пептида AGAPGP (Arg-Gly-Arg-Pro-Gly-Pro).

Материал и методы

Эксперимент выполнен на половозрелых крысах-самцах линии Вистар. Все животные были подвергнуты моделированной ЧМТ легкой степени тяжести. Использована модель «ЧМТ в результате падения груза».

Травма наносилась путем свободного падения груза на голову, высота падения рассчитывалась в зависимости от веса животного. При данной модели травмы выявляются различные повреждения мозга – от сотрясения до очаговых ушибов, сопровождающиеся вторичной гибелью нервных клеток на отдалении. В данной ситуации регистрируются нарушения когнитивной и двигательной функций.

Были сформированы три группы животных:

1-я группа (6 крыс) – введение пептида «Селанк» в забрюшинное пространство (0,1 мг/кг) в течение пяти дней после ЧМТ.

2-я группа (6 крыс) – введение пептида AGAPGP в забрюшинное пространство (0,1 мг/кг) в течение пяти дней после ЧМТ.

3-я группа (6 крыс) – введение эквивалентного количества 0,9 % раствора натрия хлорида по аналогичной схеме (контроль).

Пептиды были синтезированы в Институте молекулярной генетики РАН и предоставлены академиком Н.Ф. Мясоедовым. Дизайн исследования спланирован в соответствии с требованиями «Правил лабораторной практики в Российской Федерации» (приказ МЗ РФ № 708н от 23.08.2010 г.) и Директивы Европейского союза по защите животных, используемых в научных целях (2010/63/EU). При содержании крыс и выведении их из эксперимента руководствовались ст. 11 федерального закона от 27.12.2018 г. № 498-ФЗ «Защита животных от жестокого обращения». Протокол исследования утвержден на заседании комиссии по биоэтике Дальневосточного государственного медицинского университета (протокол № 3 от 16.06.2020 г.). Все животные содержались в условиях вивария ДВГМУ, корм и воду получали *ad libitum*. Эвтаназию крыс проводили в возрасте более 90 суток путем декапитации.

Активность свободно-радикального окисления исследовали в свежеприготовленных срезах коры больших полушарий методом хемилюминесценции на спектрометре LS 50B (PerkinElmer, США) по апробированным методикам [4, 5]. Регистрировали параметры спонтанного и активированного свечения: светосумму за минуту спонтанной люминесценции, максимум амплитуды быстрой вспышки Fe^{2+} -индуцированного свечения, светосумму за две минуты Fe^{2+} -индуцированного свечения, светосумму за минуту люцигенин-зависимого свечения, максимум амплитуды H_2O_2 -индуцированного люминол-зависимого свечения и светосумму за две минуты H_2O_2 -индуцированного люминол-зависимого свечения. Интенсивность хемилюминесценции, измеренную в милливольтгах, рассчитывали на один грамм ткани и выражали в относительных единицах. Нормальность выборок определяли согласно критерию Манна–Уитни, так как $5 \leq n \leq 50$. Результаты представлены в виде среднего арифметического и его стандартной ошибки ($M \pm m$). Статистическую значимость различий между группами оценивали с помощью t-критерия Стьюдента в программе Statistica 6. Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Таблица

Показатели хемилюминесценции тканей мозга крыс на фоне введения регуляторных пептидов после ЧМТ ($M \pm m$)

Показатель ^a	1-я группа	2-я группа	3-я группа
S_{sp}	0,02±0,005	0,15±0,03 ^b	0,08±0,04
h	0,07±0,010	0,20±0,03 ^b	0,10±0,06
S_{ind1}	0,05±0,020	0,30±0,08 ^b	0,20±0,08
S_{luc}	0,03±0,010	0,20±0,03 ^b	0,10±0,05
H	0,40±0,100	0,30±0,007	0,30±0,05
S_{ind2}	0,10±0,040	0,30±0,06 ^b	0,20±0,10

^a S_{sp} – светосумма за минуту спонтанной люминесценции, h – максимум амплитуды быстрой вспышки Fe^{2+} -индуцированного свечения, S_{ind1} – светосумма за две минуты Fe^{2+} -индуцированного свечения, S_{luc} – светосумма за минуту люцигенин-зависимого свечения, H – максимум амплитуды H_2O_2 -индуцированного люминол-зависимого свечения, S_{ind2} – светосумма за две минуты H_2O_2 -индуцированного люминол-зависимого свечения.

^b Разница с 1-й группой статистически значима.

Результаты исследования

Оценка параметров хемилюминесценции свидетельствовала в пользу более выраженного окислительного стресса во второй группе по сравнению с первой: в 6,2 раза была повышена продукция свободных радикалов (оценка по светосумме за минуту спонтанной люминесценции), в 3,1 раза оказалось выше содержание в ткани мозга гидроперекисей липидов (оценка максимума амплитуды быстрой вспышки Fe^{2+} -индуцированного свечения), в 7 раз увеличилась скорость образования перекисных радикалов (оценка по светосумме за две минуты Fe^{2+} -индуцированного свечения), в 5,7 раза – интенсивность продукции гидроксил-радикалов (оценка по светосумме за минуту люцигенин-зависимого свечения). В то же время интенсивность антиоксидантной и антирадикальной защиты существенно снизилась: светосумма за две минуты H_2O_2 -индуцированного люминол-зависимого свечения была в 2,9 раза больше, чем у животных, получавших «Селанк». Достоверных различий с группой контроля зафиксировано не было (таб.).

Обсуждение полученных данных

Различий в показателях хемилюминесценции тканей животных, получавших пролинсодержащие пептиды по сравнению с значениями хемилюминесценции ткани мозга крыс, получавших 0,9 % раствор натрия хлорида выявлено не было.

В ранее проведенных в Центральной научно-исследовательской лаборатории исследованиях показано положительное влияние на ткани мозга введения «Селанка» в дозе 0,1 мг/кг после ЧМТ [2]. В то же время при сравнении параметров хемилюминесценции тканей мозга крыс первой и второй экспериментальных групп по ряду показателей отмечены достоверные различия. Возможно, это связано с повышенной продукцией оксида азота у крыс из первой

группы. Рост генерации оксида азота может вызывать нейротоксичность. Известно, что этот оксид может образовываться из аргинина, и можно предположить, что более короткий пептид во внутренней среде организма, будучи менее стабильным, становится источником аргинина – токсичного соединения [2]. Подобный эффект был зафиксирован в других работах, где исследовались пептиды с аргинином в качестве концевой аминокислоты [6].

Заключение

По результатам эксперимента можно сделать вывод, что после ЧМТ препарат «Селанк» оказывает более выраженное корректирующее влияние на перекисное окисление липидов в ткани больших полушарий мозга крыс линии Вистар, чем пептид AGAPGR. У животных, получавших «Селанк» в дозе 0,1 мг/кг в течение пяти дней после травмы, показатели выраженности окислительного стресса были достоверно ниже, а уровень антиоксидантной и антирадикальной защиты – выше. Согласно полученным данным «Селанк» лучше корректирует негативные последствия травмы ткани головного мозга.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: научное исследование выполнено при финансовой поддержке государственного задания по теме «Участие регуляторных пептидов гликолиинового ряда в поддержании тканевого гомеостаза в физиологических условиях и при развитии патологии».

Информация об участии авторов:

Концепция и дизайн исследования – МЮФ, ААК

Сбор и обработка материала – ААК, НЮЯ

Статистическая обработка – ИВТ, ЕВС

Написание текста – ААК, МЮФ

Редактирование – ААК, МЮФ

Литература / References

1. Khalili H, Niakan A, Ghaffarpasand F. Effects of celebreolisin on functional recovery in patients with severe disability after traumatic brain injury: A historical cohort study. *Clin Neurol Neurosurg.* 2017;152:34–8.
2. Флейшман М.Ю., Толстянок И.В., Иннокентьев А.А. Влияние пептида «Селанк» на уровень окислительного стресса в головном мозге и тонкой кишке белых крыс на модели черепно-мозговой травмы. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2019;(39)2:46–51. [Fleyshman MYu, Tolstenok IV, Innokent'ev AA. Effects of peptide Selank on oxidative stress in the brain and thin intestine of white rats on experimental model of traumatic brain injury. *Siberian Scientific Medical Journal.* 2019;(32)2:46–51 (In Russ).]
3. Lvovskaya EI, Derginskyi NV, Sadova VA, Symnaya DB. Prognostic value of the parameters of free radical oxidation in traumatic brain injury. *Biomed Khim.* 2016;62(1):107–11.
4. Лебедько О.А., Рыжавский Б.Я., Задворная О.В. Свободно-радикальный статус неокортекса белых крыс и его модификация экзогенными производными тестостерона. *Дальневосточный медицинский журнал.* 2011;4:95–9. [Lebed'ko OA, Ryzhavskii BYa, Zadvornaya OV. Free radical status of albino rats and its modification by exogenous testosterone's derivatives. *Far Eastern Medical Journal.* 2011;4:95–9 (In Russ).]
5. Lebed'ko OA, Ryzhavskii BYa, Demidova OV. Effect of antioxidant echinochrome A on Bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Bull Exp Biol Med.* 2015;159(3):351–4.
6. Fleishman MYu, Tolstenok IV, Lebed'ko OA, Andreeva LA, Myasoedov NF, Timoshin SS. Effects of glyprolines on DNA synthesis and free radical oxidation in mouse gastric mucosa under physiological conditions and during therapy with oral non-steroid anti-inflammatory drugs. *Bull Exp Biol Med.* 2015;159(4):502–4.