

ПЕПТИД HLDF-6-Н ПРОЯВЛЯЕТ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРИ РАЗВИТИИ ДЕПРЕССИИ НА МФТП МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

С.А. Зозуля^{1,*}, О.Ю. Соколов¹, Н.В. Кост¹, Н.В. Баймеева¹, А.К. Дадаян²,
Ю.А. Золотарев²

¹ ФГБНУ «Научный центр психического здоровья»
115522, Российская Федерация, Москва, Каширское ш., 34

² ФГБНУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»
123182, Российская Федерация, Москва, пл. Академика Курчатова, 2

Цель работы — выяснение противовоспалительного действия пептида HLDF-6-Н (Thr-Gly-Glu-Hse-His-Arg), являющегося биоактивным фрагментом фактора дифференцировки лейкоцитов HLDF, на модели досимптомной стадии болезни Паркинсона (БП).

В исследовании использована модель досимптомной стадии БП, основанная на введении мышам C57Bl/6 умеренных доз токсина МФТП. HLDF-6-Н вводили интраназально в дозе 300 мкг/кг ежедневно в течение 3 недель. Выраженность депрессии определяли по времени иммобилизации в тесте Порсолта. В сыворотке крови с помощью MS-анализа определяли уровень 10 стероидов. Активность маркеров воспаления лейкоцитарной эластазы (ЛЭ) и $\alpha 1$ -протеиназного ингибитора ($\alpha 1$ -ПИ) определяли с помощью кинетических методов.

О развитии воспалительного процесса под действием МФТП свидетельствует повышение активности $\alpha 1$ -ПИ, противовоспалительное действие пептида выражается в снижении активности ЛЭ и $\alpha 1$ -ПИ. При этом время иммобилизации мышей в тесте Порсолта положительно коррелировало с $\alpha 1$ -ПИ и ЛЭ, что может свидетельствовать о роли воспаления в процессе развития депрессии. На общей выборке мышей обнаружена положительная корреляция между эстрадиолом и ЛЭ. В группе мышей, получавших пептид, $\alpha 1$ -ПИ положительно коррелировал с кортикостероном и отрицательно с эстрадиолом и андростендионом. Можно предположить, что противовоспалительное действие пептида связано с регуляцией кортикостероидов и половых гормонов.

Таким образом, в использованной экспериментальной модели досимптомной стадии БП наблюдается развитие патологии в виде депрессивно-подобного синдрома и нейроэндокринных нарушений. Хроническое применение HLDF-6-Н оказывает антидепрессивное и противовоспалительное действие.

Ключевые слова: модели болезни Паркинсона, пептид HLDF-6, тест Порсолта, нейровоспаление, лейкоцитарная эластаза, стероиды

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа частично поддержана Программой фундаментальных исследований Президиума Российской академии наук, проект № 01201353020.

Для цитирования: Зозуля С.А., Соколов О.Ю., Кост Н.В., Баймеева Н.В., Дадаян А.К., Золотарев Ю.А. Пептид HLDF-6-Н проявляет противовоспалительное действие при развитии депрессии на МФТП модели болезни Паркинсона. *Биомедицина*. 2023;19(3E):90–94. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-19-3E-90-94>

Поступила 24.04.2023

Принята после доработки 23.05.2023

Опубликована 06.11.2023

HLDF-6-H PEPTIDE EXHIBITS AN ANTI-INFLAMMATORY EFFECT IN THE DEVELOPMENT OF DEPRESSION IN AN MPTP MODEL OF PARKINSON'S DISEASE

Svetlana A. Zozulya^{1,*}, Oleg Yu. Sokolov¹, Natalia V. Kost¹, Natalia V. Baimeeva¹,
Alexandr K. Dadayan², Yuriy A. Zolotarev²

¹ Mental Health Research Center
115522, Russian Federation, Moscow, Kashirskoe Highway, 34

² National Research Center "Kurchatov Institute"
123182, Russian Federation, Moscow, Akademika Kurchatova Square, 2

In this work, we investigate the anti-inflammatory effect of the HLDF-6-H peptide (Thr-Gly-Glu-Hse-His-Arg) in a model of the presymptomatic stage of Parkinson's disease (PD). This peptide is a bioactive fragment of the HLDF leukocyte differentiation factor. The presymptomatic stage of PD was modelled by introducing moderate doses of MPTP toxin to C57Bl/6 mice. HLDF-6-H was administered intranasally at a dose of 300 µg/kg daily for three weeks. The severity of depression was determined by the time of immobilization in a Porsolt test. The serum levels of 10 steroids were determined using MS analysis. The activity of inflammatory markers leukocyte elastase (LE) and α 1-proteinase inhibitor (α 1-PI) was determined using kinetic methods. The development of an inflammatory process under the influence of MPTP is evidenced by an increase in the activity of α 1-PI; the anti-inflammatory effect of the peptide is manifested in a decreased activity of LE and α 1-PI. At the same time, the immobilization time of mice in a Porsolt test positively correlated with α 1-PI and LE, which may indicate the role of inflammation in the development of depression. A positive correlation between estradiol and LE was found in the general sample of mice. In the group of mice treated with the peptide, α 1-PI correlated positively with corticosterone and negatively with estradiol and androstenedione. It can be assumed that the anti-inflammatory effect of the peptide is associated with the regulation of corticosteroids and sex hormones. Hence, the applied experimental model confirmed the development of a depressive-like syndrome and neuroendocrine disorders in the presymptomatic stage of PD. The long-term use of HLDF-6-H has antidepressant and anti-inflammatory effects.

Keywords: Parkinson's disease models, HLDF-6 peptide, Porsolt test, neuroinflammation, leukocyte elastase, steroids

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Funding: the study was partially supported by the Program for Basic Research of the Presidium of the Russian Academy of Sciences, project No. 01201353020.

For citation: Zozulya S.A., Sokolov O.Yu., Kost N.V., Baimeeva N.V., Dadayan A.K., Zolotarev Yu.A. HLDF-6-H Peptide Exhibits an Anti-inflammatory Effect in the Development of Depression in an MPTP Model of Parkinson's Disease. *Journal Biomed.* 2023;19(3E):90–94. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-19-3E-90-94>

Submitted 24.04.2023

Revised 23.05.2023

Published 06.11.2023

Введение

Известно, что в этиологии и течении болезни Паркинсона (БП) существенную роль играет окислительный стресс, возникающий в результате дисбаланса между уровнями активных оксидантов и антиоксидантов и приводящий к нейровоспа-

лению. Характерной чертой развития БП является активация микроглии и усиление продукции хемокинов, цитокинов, белков острой фазы и других медиаторов воспаления. На МФТП (1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин) модели БП установлено, что развитие патологического процесса

сопровождается изменением уровней цитокинов воспаления в тканях мозга и стероидных гормонов в сыворотке крови [4].

Установлено, что воспалительные реакции при органических непсихотических расстройствах непосредственно связаны с лейкоцитарной эластазой (ЛЭ), α 1-протеиназным ингибитором (α 1-ПИ), являющимися факторами врожденного и адаптивного иммунитета [1]. Излишняя активность ЛЭ может приводить к повреждению эндотелия сосудов мозга и вторичным метаболическим повреждениям. Основным регулятором активности ЛЭ является α 1-ПИ, который относится к белкам острой фазы, синтезирующимся в печени. Соотношение протеаз и их ингибиторов, т.н. «протеазно-ингибиторный индекс» (ПИИ), характеризует активность воспалительных реакций и в большой мере определяет их направленность на ослабление или усиление деструктивного процесса.

Современная терапия БП направлена на лечение последствий дегенерации дофаминовых нейронов, а не на неотъемлемую причину заболевания. Потенциальным кандидатом на роль нетоксичного и высокоэффективного препарата является пептид HLDF-6-H (Thr-Gly-Glu-Hse-His-Arg), гомосериновое производное фрагмента 41–46 фактора дифференцировки лейкоцитов человека HLDF [3]. Также было показано, что HLDF-6-H снижает вызванные старением воспалительные реакции у старых крыс.

Целью исследования явилось выяснение противовоспалительного действия пептида HLDF-6-H на МФТП модели досимптомной стадии БП.

Материалы и методы

Пептид HLDF-6-H был синтезирован классическим твердофазным методом с использованием Boc/Bzl-процедуры в ООО «Synton-Lab».

В исследовании использована модель досимптомной стадии БП, основанная на введении мышам умеренных доз токсина МФТП. Исследовали 38 мышей-самцов линии C57Bl/6 в возрасте 7–8 недель массой 22–23 г, полученных из Филиала «Столбовая» ФГБУН НЦМБТ ФМБА России (Московская обл.). Мышей содержали по 6–7 животных в клетке со свободным доступом к воде и пище при 21°C с использованием 12/12-часового цикла свет/темнота. Животные были случайным образом разделены на 3 группы. Мыши группы «Токсин» (13 мышей) и «Пептид» (12 мышей) получали двукратно внутрибрюшинно МФТП в дозе 18 мг/кг с интервалом 2 ч в объеме 200 мкл, а мышам группы «Контроль» вводили физ. р-р (ФР) в том же объеме. Лечение HDLF-6-H начинали через 1 ч после введения токсина. Пептид вводили интраназально в дозе 300 мкг/кг в объеме 6 мкл ежедневно в течение 3 недель. Животным из групп «Контроль» и «Токсин» интраназально вводили ФР.

Еженедельно тестировали время иммобилизации мышей при принудительном плавании (ПП, тест Порсолта) в воде комнатной температуры в течение 5 мин. По окончании эксперимента животных декапитировали под эфирным наркозом. Кровь собирали у животных сразу после их декапитации. Сыворотку отделяли центрифугированием и хранили при –80°C до анализа.

В сыворотке крови с помощью MS-анализа определяли уровень 10 стероидов, включая тестостерон, эстрадиол, прогестерон и кортикостерон. Активность ЛЭ и α 1-ПИ определяли по скорости гидролиза субстрата BOC (BOC-Ala-ONp) и по степени торможения BAEE-эстеразной активности трипсина [2].

Результаты и их обсуждение

Тест ПП показал, что через 3 недели после введения токсина у мышей развивается

депрессивноподобный синдром, который блокируется пептидом HLDF-6-Н. Время иммобилизации мышей в 1,5 раза повышается под действием токсина и снижается практически до уровня контроля после хронического введения пептида (141 ± 17 , 204 ± 20 и 172 ± 11 сек в группах «Контроль», «Токсин» и «Пептид» соответственно, $p < 0,05$). При тестировании на первой и второй неделях после введения токсина подобных отличий не наблюдалось. Активность ЛЭ в сыворотке крови отражает функциональную активность нейтрофилов. Токсин не повлиял на этот параметр ($6,8 \pm 0,1$ нмоль/мин·л в группах «Контроль» и «Токсин»), а введение пептида снизило активность ЛЭ до $6,4 \pm 0,1$ нмоль/мин·л ($p < 0,05$). Содержание белка острой фазы воспаления $\alpha 1$ -ПИ повысилось после введения токсина с $71 \pm 4,5$ до $91 \pm 4,5$ ИЕ/мл ($p < 0,05$), а в группе мышей, получавших пептид, этот параметр достоверно не отличался от контроля (85 ± 5 ИЕ/мл). Соотношение этих параметров, отражающее активность протеолитической системы воспаления (ПИИ), снизилось под действием токсина (101 ± 8 ; 77 ± 4 и 79 ± 6 в группах «Контроль», «Токсин» и «Пептид» соответственно, $p < 0,05$). Полученные данные свидетельствуют о развитии воспалительного процесса под действием МФТП и противовоспалительном действии пептида. Корреляционный анализ показал, что время иммобилизации мышей в тесте ПП на 3-й, но не на 1-й неделе положительно коррелировало с $\alpha 1$ -ПИ ($r = +0,48$; $p = 0,002$). Положительная корреляция на-

блюдалась и между пассивным плаванием мышей на 2-й неделе и ЛЭ ($r = +0,7$; $p = 0,02$), что может свидетельствовать о роли воспаления в процессе развития депрессии.

В использованной модели наблюдалось обратимое пептидом снижение уровня эстрадиола (26 ± 4 ; 19 ± 1 и 24 ± 3 пг/мл в группах «Контроль», «Токсин» и «Пептид» соответственно, $p < 0,05$) и кортизола ($1,52 \pm 0,26$; $0,88 \pm 0,09$ и $1,24 \pm 0,19$ нмоль/л в группах «Контроль», «Токсин» и «Пептид» соответственно, $p < 0,05$). Уровень андростендиона снижался под действием пептида ($0,51 \pm 0,06$; $0,54 \pm 0,10$ и $0,33 \pm 0,05$ нмоль/л в группах «Контроль», «Токсин» и «Пептид» соответственно, $p < 0,05$). При этом на общей выборке мышей обнаружена положительная корреляция между эстрадиолом и ЛЭ ($r = 0,58$; $p = 0,04$). В группе мышей, получавших пептид, $\alpha 1$ -ПИ положительно коррелировал с кортикостероном ($r = +0,62$; $p = 0,033$) и отрицательно — с эстрадиолом ($r = -0,70$; $p = 0,01$) и андростендионом ($r = -0,71$; $p = 0,009$). Предполагается, что противовоспалительное действие пептида связано с регуляцией кортикостероидов и половых гормонов.

Выводы

В использованной экспериментальной модели наблюдается развитие патологии в виде депрессивно-подобного синдрома, нейроэндокринных нарушений и активации воспалительных реакций. Курсовое применение HLDF-6-Н оказывает антидепрессивное и противовоспалительное действие.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Андросова Л.В., Ветлугина Т.П., Никитина В.Б., Зозуля С.А., Отман И.Н., Белокрылова М.Ф., Ключник Т.П. Воспалительные маркеры при органических непсихотических расстройствах. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2023;123(3):88–93. [Androsova L.V., Vetlugina T.P., Nikitina V.B., Zozulya S.A., Otman I.N., Belokrylova M.F., Klyushnik T.P. Vospalitel'nye markery pri organicheskikh nepsihoticheskikh rasstrojstvakh [Inflammatory markers in organic nonpsychotic disorders]. S.S. Korsakov J. of Neurology and Psychiatry. 2023;123(3):88–93. (In Russian)]. DOI: 10.17116/jnevro202312303188.
2. Зозуля С.А., Тихонов Д.В., Каледа В.Г., Ключник Т.П. Иммуновоспалительные маркеры становления ремиссии после первого психотического приступа

- в юношеском возрасте. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2021;121(6): 59–66. [Zozulya S.A., Tikhonov D.V., Kaleda V.G., Klyushnik T.P. Immunovospalitel'nye markery stanovleniya remissii posle pervogo psihoticheskogo pristupa v yunosheskom vozraste. [Immunoinflammatory markers of remission formation after the first psychotic attack in adolescence]. *S.S. Korsakov J. of Neurology and Psychiatry*. 2021;121(6):59–66. (In Russian)]. DOI: 10.17116/jnevro202112106159.
3. Sokolov O.Yu., Prokhorova T.A., Tereshkina E.B., Zozulya S.A., Simonov A.N., Kost N.V., Dadayan A.K., Bogachouk A.P., Zolotarev Yu.A. Neurotropic peptide HLDF-6-amide reduces age-related decline in sexual activity in old male rats. *Experimental Gerontology*. 149,2021;111329. DOI: 10.1016/j.exger.2021.111329.
4. Zolotarev Yu.A., Shram S.I., Dadayan A.K., Dolotov O.V., Markov D.D., Nagaev I.Yu., Kudrin V.S., Narkevich V.B., Sokolov O.Yu., Kost N.V. HLDF-6 peptides exhibit neuroprotective effects in the experimental model of preclinical Parkinson's disease. *Neuropeptides*. 2022;96:10228715. DOI: 10.1016/j.npep.2022.102287.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Зозуля Светлана Александровна*, к.б.н.,
ФГБНУ «Научный центр психического здоровья»;
e-mail: s.ermakova@mail.ru

Svetlana A. Zozulya*, Cand. Sci. (Biol.), Mental
Health Research Center;
e-mail: s.ermakova@mail.ru

Соколов Олег Юрьевич, д.б.н., ФГБНУ «Науч-
ный центр психического здоровья»;
e-mail: oleg-sokolov@yandex.ru

Oleg Yu. Sokolov, Dr. Sci. (Biol.), Mental Health
Research Center;
e-mail: oleg-sokolov@yandex.ru

Кост Наталия Викторовна, д.б.н., проф.,
ФГБНУ «Научный центр психического здоро-
вья»;
e-mail: nat-kost@yandex.ru

Natalia V. Kost, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Mental
Health Research Center;
e-mail: nat-kost@yandex.ru

Баймеева Наталия Викторовна, к.б.н., ФГБНУ
«Научный центр психического здоровья»;
e-mail: baymeeva_n@mail.ru

Natalia V. Baimeeva, Cand. Sci. (Biol.), Mental
Health Research Center;
e-mail: baymeeva_n@mail.ru

Дадаян Александр Карэнович, к.х.н., ФГБНУ
«Национальный исследовательский центр
“Курчатовский институт”»;
e-mail: dak.img.ras@gmail.com

Alexandr K. Dadayan, Cand. Sci. (Chem.),
National Research Center “Kurchatov Institute”;
e-mail: dak.img.ras@gmail.com

Золотарев Юрий Александрович, д.х.н.,
проф., ФГБНУ «Национальный исследователь-
ский центр “Курчатовский институт”»;
e-mail: zolya@img.ras.ru

Yuriy A. Zolotarev, Dr. Sci. (Chem.), Prof.,
National Research Center “Kurchatov Institute”;
e-mail: zolya@img.ras.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author