



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

С.А. Зозуля<sup>1\*</sup>, О.Ю. Соколов<sup>1</sup>, Н.В. Кост<sup>1</sup>, Н.В. Баймеева<sup>1</sup>, А.К. Дадаян<sup>2</sup>,  
Ю.А. Золотарев<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> 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<sup>1,\*</sup>, Oleg Yu. Sokolov<sup>1</sup>, Natalia V. Kost<sup>1</sup>, Natalia V. Baimeeva<sup>1</sup>,  
Alexandr K. Dadayan<sup>2</sup>, Yuriy A. Zolotarev<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Mental Health Research Center  
115522, Russian Federation, Moscow, Kashirskoe Highway, 34

<sup>2</sup> 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  $\alpha$ 1-proteinase inhibitor ( $\alpha$ 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  $\alpha$ 1-PI; the anti-inflammatory effect of the peptide is manifested in a decreased activity of LE and  $\alpha$ 1-PI. At the same time, the immobilization time of mice in a Porsolt test positively correlated with  $\alpha$ 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,  $\alpha$ 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),  $\alpha$ 1-протеиназным ингибитором ( $\alpha$ 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  $\alpha$ 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 ИЦМБТ 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  $\alpha$ 1-ПИ определяли по скорости гидролиза субстрата ВОС (ВОС-Ala-ONp) и по степени торможения БАЕЕ-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 ( $141 \pm 17$ ,  $204 \pm 20$  и  $172 \pm 11$  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 ( $85 \pm 5$  ИЕ/мл). Соотношение этих параметров, отражающее активность протеолитической системы воспаления (ПВИ), снизилось под действием токсина ( $101 \pm 8$ ;  $77 \pm 4$  и  $79 \pm 6$  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 ( $26 \pm 4$ ;  $19 \pm 1$  и  $24 \pm 3$  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 rasstrojstvah [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](mailto:s.ermakova@mail.ru)

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

**Соколов Олег Юрьевич**, д.б.н., ФГБНУ «Научный центр психического здоровья»;  
e-mail: [oleg-sokolov@yandex.ru](mailto:oleg-sokolov@yandex.ru)

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

**Кост Наталия Викторовна**, д.б.н., проф., ФГБНУ «Научный центр психического здоровья»;  
e-mail: [nat-kost@yandex.ru](mailto:nat-kost@yandex.ru)

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

**Баймеева Наталия Викторовна**, к.б.н., ФГБНУ «Научный центр психического здоровья»;  
e-mail: [baymeeva\\_n@mail.ru](mailto:baymeeva_n@mail.ru)

**Natalia V. Baimeeva**, Cand. Sci. (Biol.), Mental Health Research Center;  
e-mail: [baymeeva\\_n@mail.ru](mailto:baymeeva_n@mail.ru)

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

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

**Золотарев Юрий Александрович**, д.х.н., проф., ФГБНУ «Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”»;  
e-mail: [zolya@img.ras.ru](mailto:zolya@img.ras.ru)

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

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author