

Состояние нуклео-нуклеолярного аппарата кардиомиоцитов половозрелых самцов белых крыс, подвергнутых внутриутробной гипоксии и неонатальному введению неопиатных аналогов лей-энкефалина

И.А. Гусев¹, А.В. Фоменко¹, О.И. Сорочинская¹, Е.Н. Сазонова^{1,2}

¹ Дальневосточный государственный медицинский университет Минздрава России
680000, г. Хабаровск, ул. Муравьева-Амурского, 35

² Хабаровский филиал Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания –
НИИ охраны материнства и детства
680022, г. Хабаровск, ул. Воронежская, 49, корп. 1

Резюме

Внутриутробная гипоксия (ВУГ) изменяет постнатальное развитие сердца и вносит вклад в индивидуальную предрасположенность к сердечно-сосудистым заболеваниям, в том числе путем нарушения белок-синтетической функции кардиомиоцитов (КМЦ). Неопиатные аналоги лей-энкефалина, пептиды НАЛЭ (Phe-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Arg) и G (Phe-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Gly), являются цитопротекторами с широким спектром биологической активности, которые улучшают состояние нуклео-нуклеолярного аппарата КМЦ в неонатальном возрасте после ВУГ. Цель исследования – проанализировать состояние нуклео-нуклеолярного аппарата КМЦ у половозрелых белых крыс, подвергнутых ВУГ и неонатальному введению неопиатных аналогов лей-энкефалина. **Материал и методы.** Потомство самок белых крыс Вистар, подвергнутых гипобарическому воздействию (15–19 день гестации, $pO_2 = 65$ мм рт. ст., экспозиция 4 ч), получало со вторых по шестые сутки жизни внутрибрюшинно пептиды НАЛЭ и G в дозе 100 мкг/кг, а также НАЛЭ в сочетании с блокатором NO-синтазы L-NAME (50 мг/кг), после чего выводилось из эксперимента в половозрелом возрасте (60 суток). Животные контрольной группы и группы сравнения получали эквивалентное количество физиологического раствора натрия хлорида. Проанализированы кардио- и нуклеолометрические параметры КМЦ, а также количество ядрышек при окраске срезов сердца методом AgNOR. **Результаты и их обсуждение.** ВУГ индуцировала достоверное снижение количества ядрышек в КМЦ обоих желудочков, а также привела к нарушению кардио- и нуклеолометрических показателей КМЦ половозрелых животных. Введение пептида НАЛЭ в дозе 100 мкг/кг в неонатальном периоде корректировало постгипоксические изменения нуклео-нуклеолярного аппарата. Неонатальное введение неселективного блокатора NO-синтазы (L-NAME, 50 мг/кг) устраняло выявленные эффекты НАЛЭ. Коррекция отсроченных постгипоксических изменений, сходная с действием пептида НАЛЭ, наблюдалась при неонатальном введении его без-аргининового аналога, пептида G. **Заключение.** Кардиопротективное действие НАЛЭ частично опосредовано через L-аргинин – потенциальный донор оксида азота. Неопиатные аналоги лей-энкефалина – пептиды НАЛЭ и G – могут рассматриваться в качестве перспективных кардиопротективных средств с отсроченной активностью, предотвращающих отдаленные кардиальные последствия ВУГ.

Ключевые слова: кардиомиоциты, внутриутробная гипоксия, оксид азота, ядрышки, неопиатные аналоги лей-энкефалина.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания № 124022900081-9 по теме «Регуляторные олигопептиды как потенциальные корректоры изменений при типовых патологических процессах».

Автор для переписки: Гусев И.А., e-mail: gusilia99@mail.ru

Для цитирования: Гусев И.А., Фоменко А.В., Сорочинская О.И., Сазонова Е.Н. Состояние нуклео-нуклеолярного аппарата кардиомиоцитов половозрелых самцов белых крыс, подвергнутых внутриутробной гипоксии и неонатальному введению неопиатных аналогов лей-энкефалина. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):97–104. doi: 10.18699/SSMJ20240609

The state of the nucleo-nucleolar apparatus of the mature albino rat males cardiomyocytes exposed to intrauterine hypoxia and neonatal administration of non-opiate analogues of leu-enkephalin

I.A. Gusev¹, A.V. Fomenko¹, O.I. Sorochinskaya¹, E.N. Sazonova^{1,2}

¹ Far Eastern State Medical University of Minzdrav of Russia
680000, Khabarovsk, Muravyova-Amurskogo st., 35

² Khabarovsk branch of the Far Eastern Scientific Center for Physiology and Pathology of Respiration –
Research Institute for the Protection of Motherhood and Childhood
680022, Khabarovsk, Voronezhskaya st., 49, bld. 1

Abstract

Intrauterine hypoxia (IUH) changes the postnatal heart development and contributes to the individual susceptibility to cardiovascular diseases, also by impairment of protein-synthetic function of cardiomyocytes (CMC). Non-opiate analogues of leu-enkephalin, peptides NALE (Phe–D-Ala–Gly–Phe–Leu–Arg) and G (Phe–D-Ala–Gly–Phe–Leu–Gly), cytoprotectors with the wide spectrum of biological activity, improve the state of the CMC nucleo-nucleolar apparatus in neonatal age after IUH. The aim of the study was to analyze the parameters of CMC nucleo-nucleolar apparatus in mature albino rats, exposed to IUH and to the neonatal administration of peptides-analogues of leu-enkephalin. **Material and methods.** The offspring of Wistar rat females, subjected to hypobaric exposure (15–19 days of gestation, $pO_2 = 65$ mm. Hg, duration – 4 hours), received from day 2 to day 6 of life daily intraperitoneal injections of NALE and G peptides (100 µg/kg), as well as NALE in combination with non-selective NO synthase blocker L-NAME (50 mg/kg), after that they were withdrawn from the experiment in mature age (60 days). The animals of control group and the comparison group received an equal volume of isotonic sodium chloride solution. The karyo- and nucleolometric parameters of CMC, and also the CMC nucleoli number were analyzed in heart sections, stained by using AgNOR method. **Results and their discussion.** IUH induced the significant decrease in nucleoli number of the CMC of both heart ventricles, and also led to the impairment of karyo- and nucleolometric parameters of the CMC in the mature offspring. Administration of NALE peptide in dose of 100 µg/kg in neonatal period corrected the posthypoxic changes of the CMC nucleo-nucleolar apparatus. Neonatal administration of non-selective NO-synthase blocker (L-NAME, 50 mg/kg) obviated the registered effects of NALE. The correction of delayed posthypoxic changes, similar to the effects of NALE, was observed after administration of its arginineless analogue – the G peptide. **Conclusions.** The cardioprotective effect of NALE is partially mediated by L-arginine – a potential donator of nitric oxide. Non-opiate analogues of leu-enkephalin – the NALE and G peptides, might be considered as perspective cardioprotective substances with the delayed activity, preventing the long-term consequences of the IUH.

Key words: cardiomyocytes, intrauterine hypoxia, nitric oxide, nucleoli, non-opiate analogues of leu-enkephalin.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Financing. The study was carried out within the framework of the state assignment № 124022900081-9 by the subject «The regulatory oligopeptides as correctors of changes during typical pathological processes».

Correspondence author: Gusev I.A., e-mail: gusilia99@mail.ru

Citation: Gusev I.A., Fomenko A.V., Sorochinskaya O.I., Sazonova E.N. The state of the nucleo-nucleolar apparatus of the mature albino rat males cardiomyocytes exposed to intrauterine hypoxia and neonatal administration of non-opiate analogues of leu-enkephalin. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2024;44(6):97–104. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240609

Введение

Внутриутробная гипоксия (ВУГ) может определять предрасположенность к развитию сердечно-сосудистой патологии в отдаленных возрастных периодах, являясь фактором фетального программирования кардиомиоцитов (КМЦ) [1]. «Перепрограммирование» состояния миокарда при ВУГ включает дисрегуляцию синтеза структурных и сократительных белков [2]. Белок-син-

тетическая активность КМЦ определяется состоянием их ядрышек, которые координируют синтез рРНК [3]. Помимо этого, ядрышки участвуют в синтезе микроРНК КМЦ [4], а также регулируют активность циклин-зависимых киназ, что может определять пролиферативную способность neonатальных КМЦ и формирование структурного резерва сердца [5]. Морфологические и молекулярные изменения нуклеолярного аппарата КМЦ

являются неспецифическим маркером клеточно-го стресса и могут возникать на фоне генотоксических воздействий, а также при окислительном стрессе и гипоксии [6].

В наших предыдущих исследованиях продемонстрированы нарушения нуклеолярного аппарата КМЦ у новорожденных белых крыс, перенесших ВУГ [7]. Данные нарушения частично корректировались введением неопиатных аналогов лей-энкефалина – пептидов НАЛЭ (Phe-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Arg) и G (Phe-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Gly) [8]. Цель настоящего исследования – проанализировать состояние нуклео-нуклеолярного аппарата КМЦ у половозрелых белых крыс, подвергнутых ВУГ и неонатальному введению пептидов – неопиатных аналогов лей-энкефалина.

Материал и методы

Работа выполнена на 3-месячных беременных самках белых крыс Вистар и их потомстве в возрасте 60 суток. Животных содержали в виварии ФГБОУ ВО Дальневосточный государственный медицинский университет Минздрава России, уход за животными и постановку опытов проводили в соответствии с ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами». На исследование получено разрешение этического комитета ФГБОУ ВО Дальневосточный государственный медицинский университет Минздрава России (протокол № 1 от 15.11.2023).

В исследовании использовали два структурных аналога лей-энкефалина: неопиатный аналог лей-энкефалина НАЛЭ (Phe-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Arg) и пептид G (Phe-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Gly). Данные пептиды не обладают аффинностью к опиатным рецепторам, так как остаток тирозина в N-концевом положении пептидной цепи заменен на фенилаланин [9]. Для моделирования внутриутробной гипоксии (ВУГ) беременных крыс ($n = 6$) ежедневно подвергали 4-часовому гипоксическому воздействию в экспериментальной гипобарической камере КГЭ-750/170 (ООО «Барогипоксия») с 15-х по 19-е сутки гестации (давление воздуха – 310 мм рт. ст., парциальное давление кислорода – 65 мм рт. ст.). Контролем служило потомство шести интактных самок.

После рождения потомства формировали пять экспериментальных групп: животные, получавшие со 2-х по 6-е сутки жизни ежесуточно внутрибрюшинно 0,1 мл изотонического раствора хлорида натрия ($n = 12$, группа «Контроль»); подвергнутые воздействию ВУГ с 15-го по 19-й

день внутриутробного развития и получавшие со 2-х по 6-е сутки жизни ежесуточно внутрибрюшинно 0,1 мл изотонического раствора хлорида натрия ($n = 12$, группа «ВУГ»); подвергнутые воздействию ВУГ с 15-го по 19-й день внутриутробного развития и получавшие со 2-х по 6-е сутки жизни ежесуточно внутрибрюшинно 100 мкг/кг пептида НАЛЭ либо пептида G (ООО «Алмабион», РФ) в 0,1 мл изотонического раствора хлорида натрия (соответственно группы «ВУГ+НАЛЭ» и «ВУГ + G», по 12 крыс в каждой); подвергнутые воздействию ВУГ с 15 по 19 день внутриутробного развития и получавшие со 2 по 6 сутки жизни ежесуточно внутрибрюшинно 100 мкг/кг НАЛЭ и 50 мг/кг неселективного ингибитора активности NO-синтазы метилового эфира N^G-нитро-L-аргинина (L-NAME; Sigma-Aldrich, США) в 0,1 мл изотонического раствора хлорида натрия ($n = 12$, группа «ВУГ + НАЛЭ + L-NAME»). Все группы формировали методом расщепления выводков, в каждую входили животные из шести выводков (по 2–3 животных из выводка). Всего в эксперименте использовано 72 крысы.

Животных выводили из эксперимента на 61-е сутки жизни путем быстрой декапитации под рауш-наркозом парами хлороформа. Ткань сердца фиксировали в 10%-м забуференном нейтральном формалине, после стандартной гистологической обработки получали гистотопографические парафиновые срезы и окрашивали нитратом серебра по методике AgNOR в модификации Д.Э. Коржевского [10]. Подсчитывали количество ядрышек в ядрах КМЦ субэндокардиальных зон миокарда левого и правого желудочков сердца на основании оценки не менее 200 клеток каждой зоны, определяли среднее количество ядрышек на ядро КМЦ, а также долю субпопуляций КМЦ с различным количеством ядрышек. Морфометрию нуклео-нуклеолярного аппарата КМЦ проводили с использованием программно-аппаратного комплекса «МЕКОС-Ц», оценивали площадь ядер и среднюю площадь ядрышек при анализе не менее 50 КМЦ субэндокардиальных зон миокарда левого и правого желудочков.

Статистическую обработку полученных данных выполняли в программе «Statistica 6.0». Проверку на нормальность распределения проводили с помощью тестов Шапиро – Уилка и Колмогорова – Смирнова. Достоверность отличий между группами определяли при помощи непараметрического критерия Краскела – Уоллиса. Межгрупповые различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Данные представлены в виде $M \pm SEM$, где M – среднее арифметическое, SEM – ошибка среднего.

Результаты и их обсуждение

У 60-суточных самцов белых крыс, перенесших ВУГ, выявлено достоверное снижение количества ядрышек в ядрах КМЦ по сравнению с контролем: на 15 % в левом желудочке и на 28 % – в правом (рис. 1, а, рис. 2). Данные изменения подтверждались статистически значимым

повышением доли КМЦ с одним ядрышком (в 2,15 раза) и уменьшением доли четырехядрышковых КМЦ (в 2,34 раза) в миокарде левого желудочка по сравнению с контролем (таблица). В правом желудочке сердца самцов, перенесших ВУГ, доля одноядрышковых КМЦ статистически значимо превышала контрольный уровень в 1,91

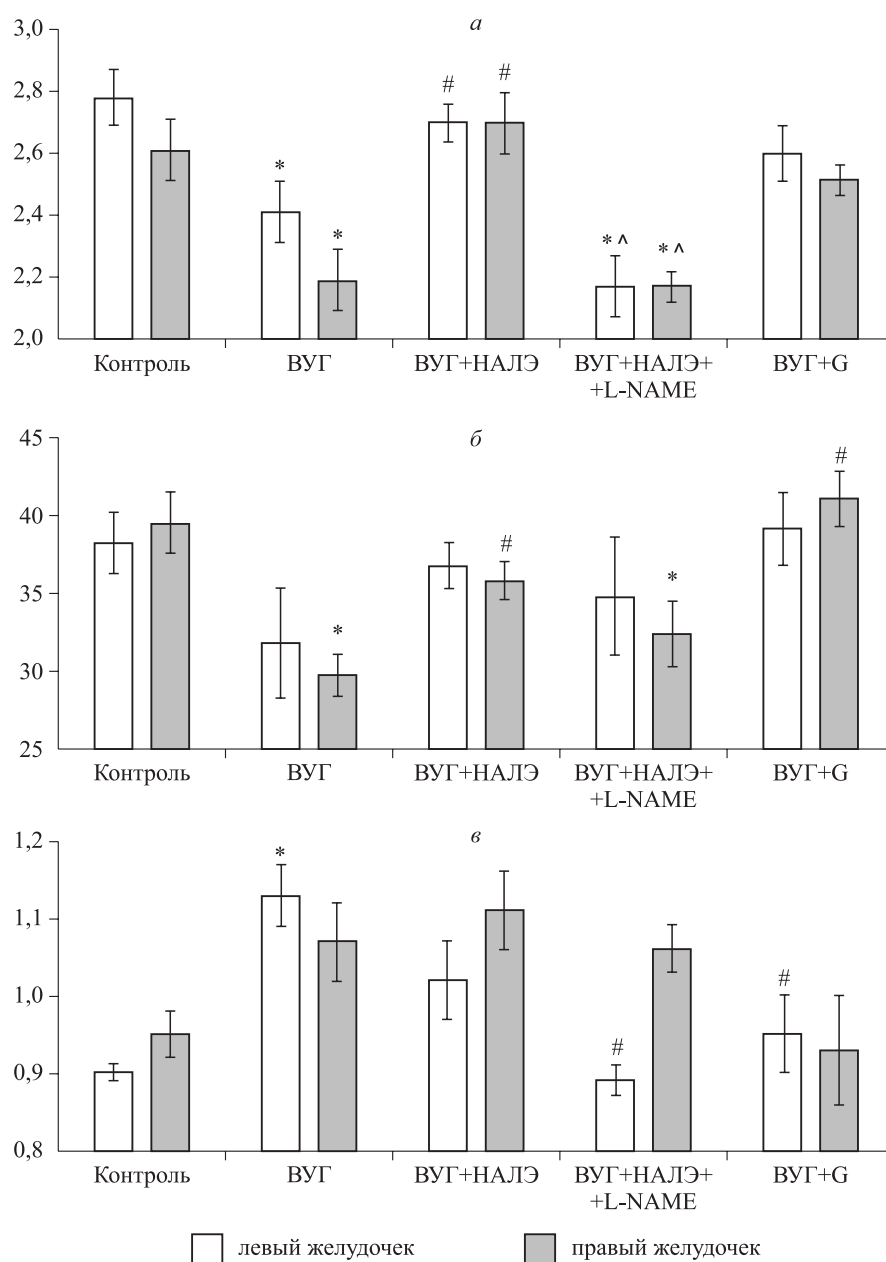


Рис. 1. Количество ядрышек (а), площадь ядер (б) и ядрышек КМЦ (мкм²) (в) в субэндокардиальной зоне миокарда желудочков крыс исследуемых групп; обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от величин соответствующих показателей: * – группы «Контроль», # – группы «ВУГ», ^ – группы «ВУГ + НАЛЭ»

Fig. 1. Nucleoli number (а), nuclei (б) and nucleoli square (μm^2) of cardiomyocytes in subendocardial zone of the ventricle myocardium of albino rats of the examined groups; $p < 0,05$: * – compared to group «Control», # – compared to group «IUH», ^ – groups compared to group «IUH + NALÉ»

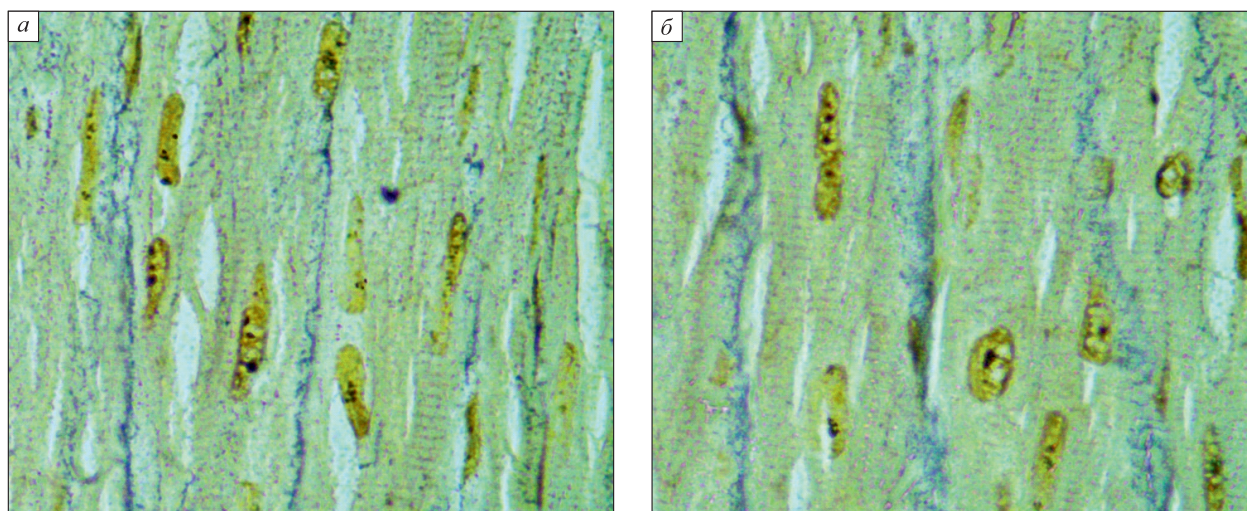


Рис. 2. Нуклео-нуклеолярный аппарат кардиомиоцитов правого желудочка крыс групп «Контроль» (а) и «ВУГ» (б)

Fig. 2. Nucleo-nucleolar apparatus of the right ventricle cardiomyocytes of rats in groups «Control» (a) and «IUH» (б)

раза, двухъядрышковых – на 32 %, при этом количество КМЦ с 4 ядрышками снижалось в 3,63 раза (см. таблицу). Дестабилизация ядрышек на фоне клеточного стресса способна привести к активации проапоптотического белка p53 [11], а также к повышению уровня аутофагии [12]. Повреждения нуклеолярного аппарата КМЦ на фоне увеличенной экспрессии маркера макроаутофагии

беклина-1 и выраженного окислительного стресса выявлены в наших предыдущих исследованиях у новорожденных белых крыс, перенесших ВУГ [8].

Анализ кариометрических параметров КМЦ животных группы «ВУГ» выявил статистически значимое снижение площади ядер по сравнению с группой «Контроль» в миокарде правого желудочка (на 33 %) (см. рис. 1, б) и рост площади

Доля КМЦ с разным количеством ядрышек в субэндокардиальной зоне миокарда крыс исследуемых групп, %

The proportion of cardiomyocytes with different number of nucleoli in myocardial subendocardial zone of rats in the examined group, %

Группа	КМЦ с 1 ядрышком, % ($p = 0,01$)	КМЦ с 2 ядрышками, % ($p = 0,24$)	КМЦ с 3 ядрышками, % ($p = 0,01$)	КМЦ с 4 и более ядрышками, % ($p = 0,004$)
Левый желудочек				
Контроль	$8,0 \pm 2,05$	$28,85 \pm 3,02$	$40,0 \pm 2,09$	$23,15 \pm 2,95$
ВУГ	$17,27 \pm 4,14^*$	$33,93 \pm 3,85$	$38,93 \pm 4,40$	$9,87 \pm 1,62^*$
ВУГ + НАЛЭ	$6,53 \pm 1,59^\#$	$31,53 \pm 2,28$	$47,47 \pm 3,35$	$14,47 \pm 2,02$
ВУГ + НАЛЭ + L-NAME	$24,69 \pm 6,21^{*,\wedge}$	$40,89 \pm 3,88$	$27,11 \pm 3,17^{*,\wedge}$	$7,33 \pm 1,65^\wedge$
ВУГ + G	$11,15 \pm 1,80$	$34,73 \pm 3,04$	$36,91 \pm 2,05$	$17,21 \pm 3,05$
Правый желудочек				
Контроль	$10,36 \pm 0,97$	$33,87 \pm 2,65$	$40,49 \pm 3,34$	$15,27 \pm 2,9$
ВУГ	$19,87 \pm 3,94^*$	$44,73 \pm 2,82^*$	$33,0 \pm 4,54$	$4,20 \pm 1,43^*$
ВУГ + НАЛЭ	$7,00 \pm 1,69^{*,\#}$	$31,33 \pm 3,91^\#$	$46,40 \pm 3,70^\#$	$15,27 \pm 2,89^\#$
ВУГ + НАЛЭ + L-NAME	$20,3 \pm 2,4^{*,\wedge}$	$47,89 \pm 1,76^{*,\wedge}$	$26,78 \pm 2,14^{*,\wedge}$	$5,0 \pm 1,33^{*,\wedge}$
ВУГ + G	$12,55 \pm 1,53$	$37,58 \pm 2,10$	$35,58 \pm 2,41$	$14,30 \pm 1,70^\#$

Примечание. Обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от величин соответствующих показателей: * – группы «Контроль», # – группы «ВУГ», ^ – группы «ВУГ + НАЛЭ»

ядрышек на 20 % в миокарде левого желудочка (см. рис. 1, в). Тенденция к увеличению средней площади ядрышек также имела место в правом желудочке, однако данные изменения не были статистически значимы (см. рис. 1, в). Нарушения нуклеолярного аппарата при клеточном стрессе могут включать увеличение ядрышек в объеме [6], которое сопровождается изменением соотношения фибриллярного и гранулярного компонентов, повышением экспрессии нуклеолина [6] и наблюдается на фоне ишемии миокарда [13], а также при диабетической кардиомиопатии [14]. Таким образом, в сердце 60-суточных животных выявлены отдаленные последствия ВУГ в отношении нуклео-нуклеолярного аппарата КМЦ, которые способны изменить реакцию миокарда на кардиальную патологию.

Неонатальное введение пептида НАЛЭ изменяло состояние нуклео-нуклеолярного аппарата КМЦ половозрелых животных, перенесших ВУГ. В группе «ВУГ + НАЛЭ» доля КМЦ левого желудочка с одним ядрышком достоверно снижалась по сравнению с группой «ВУГ» (в 2,6 раза), соотношение субпопуляций КМЦ не имело значимых отличий от контроля (см. таблицу). Достоверных изменений карио- и нуклеометрических показателей по сравнению с контролем также не выявлено (см. рис. 1, б, в). В миокарде правого желудочка группы «ВУГ + НАЛЭ» все показатели субпопуляций КМЦ с разным количеством ядрышек имели достоверные отличия от соответствующих параметров группы «ВУГ»: доля КМЦ с одним и с двумя ядрышками уменьшалась в 2,83 раза и на 43 % соответственно, при этом количество КМЦ с тремя и с четырьмя ядрышками увеличивалось на 71 % и в 3,63 раза соответственно (см. таблицу). Доля КМЦ с 2, 3, 4 ядрышками была такой же, как в группе «Контроль», а доля КМЦ с одним ядрышком – достоверно меньше (на 32 %). Наблюдалось статистически значимое повышение площади ядер КМЦ правого желудочка (на 20 %) по сравнению с группой «ВУГ» (рис. 1, в). При этом все исследованные морфометрические показатели КМЦ не имели статистически значимых отличий от группы «Контроль». Следовательно, неонатальное введение пептида НАЛЭ корректирует постгипоксические изменения ядер и ядрышек КМЦ крыс в отдаленных возрастных периодах.

Аминокислота L-аргинин в С-концевом положении пептида НАЛЭ может служить потенциальным донором оксида азота. Для проверки вовлеченности системы NO в реализацию эффектов НАЛЭ в неонатальном возрасте пептид вводили в комбинации с неселективным блока-

тором синтазы оксида азота L-NAME (группа «ВУГ + НАЛЭ + L-NAME»). Ингибирование системы оксида азота устраняло ряд эффектов НАЛЭ на карио- и нуклеолометрические параметры миокарда животных, подвергнутых ВУГ. Доля ядер КМЦ левого желудочка с одним ядрышком в группе «ВУГ+НАЛЭ+L-NAME» статистически значимо превышала показатель в группах «Контроль» (в 3,08 раза) и «ВУГ+НАЛЭ» (в 3,78 раза) (см. таблицу). Количество трехядрышковых КМЦ, число ядрышек на фоне введения L-NAME достоверно уменьшались по сравнению с контролем (на 47 и 28 % соответственно) и группой «ВУГ + НАЛЭ» (на 42 и 24 % соответственно) (см. таблицу, рис. 1, а), также снижалась доля КМЦ с 4 ядрышками по сравнению с группой «ВУГ+НАЛЭ» (в 1,97 раза) (см. таблицу). Постгипоксические нарушения нуклеолометрических параметров КМЦ левого желудочка модифицировались на фоне блокады NO-синтазы в неонатальном периоде – площадь ядрышек уменьшалась по сравнению с группой «ВУГ» на 27 % (см. рис. 1, в). Аналогичные, более выраженные изменения количества ядрышек наблюдались в правом желудочке сердца: доля всех популяций КМЦ с разным количеством ядрышек, а также количество ядрышек имели достоверные отличия от величин соответствующих показателей групп «Контроль» и «ВУГ + НАЛЭ» (см. рис. 1, а, таблицу). Площадь ядер КМЦ правого желудочка в группе «ВУГ + НАЛЭ + L-NAME» значимо снижалась по сравнению с контролем (на 22 %) (см. рис. 1, б). Таким образом, неселективная блокада системы оксида азота на фоне введения пептида НАЛЭ в неонатальном периоде онтогенеза не только нивелирует часть эффектов НАЛЭ, но и приводит к усугублению постгипоксических нарушений нуклеолярного аппарата КМЦ.

Для дальнейшей оценки вовлеченности L-аргинина в кардиопротективные эффекты НАЛЭ применяли его модифицированный аналог, не содержащий данной аминокислоты – оригинальный пептид G. Введение пептида G, которое проводили животным отдельной экспериментальной группы в неонатальном периоде аналогично пептиду НАЛЭ, оказывало сходное кардиопротективное действие. Все исследованные показатели нуклео-нуклеолярного аппарата КМЦ как левого, так и правого желудочков сердца животных группы «ВУГ + G» не имели достоверных отличий от контрольных параметров. При этом по сравнению с группой «ВУГ» площадь ядрышек КМЦ левого желудочка снижалась на 19 % (см. рис. 1, в); в правом желудочке отмечено

увеличение доли КМЦ с 4 ядрышками в 3,4 раза (см. таблицу), количества ядрышек – на 14 % (см. рис. 1, а), площади ядер КМЦ – на 38 % (см. рис. 1, б). Таким образом, пептид G, как и его структурный аналог пептид НАЛЭ, улучшал состояние нуклео-нуклеолярного аппарата КМЦ половозрелых животных, перенесших ВУГ в позднефетальном периоде онтогенеза.

Сохранение кардиопротективной активности пептида НАЛЭ при удалении из его структуры остатка L-аргинина предполагает наличие иных механизмов действия у данного пептида. Поскольку оба исследуемых аналога лей-энкефалина обладают структурным сходством с N-концевым фрагментом пептида ноцицептина, вероятно предположить вовлеченность NOR-рецепторов в их эффекты [15]. Кроме того, важным свойством многих пептидных молекул является способность к функциональному белок-белковому взаимодействию, при котором изменение трехмерной пространственной структуры белков под действием пептидов оказывает прямое влияние на их функциональную активность, включая внутриклеточную сигнализацию и регуляцию метаболизма [16]. Пептиды могут имитировать естественные места белок-белкового взаимодействия и связываться с обширными участками белковых молекул благодаря небольшим размерам и гибкости своей структуры. [17] Белок-белковое взаимодействие тесно вовлечено в регуляцию внутриклеточной сигнальной активности опиоидных пептидов и их аналогов и может обеспечивать их неспецифическое цитопротективное действие [18].

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что перенесенная ВУГ индуцирует отсроченные нарушения со стороны нуклео-нуклеолярного аппарата КМЦ половозрелых белых крыс. Данные эффекты можно рассматривать в качестве проявления клеточного стресса КМЦ в отдаленных возрастных периодах. Неонатальное введение белым крысам, перенесшим ВУГ, пептида НАЛЭ и оригинального пептида G частично корректирует постгипоксические изменения кардио- и нуклеолометрических параметров КМЦ животных в половозрелом возрасте. Это свидетельствует о долгосрочной кардиопротективной активности неопиатных аналогов лей-энкефалина. Кардиопротективные эффекты пептида НАЛЭ в отношении отдаленных кардиальных последствий ВУГ частично опосредованы наличием в его структуре L-аргинина – потенциального донора NO и активатора системы оксида азота.

Список литературы / References

1. Patterson A.J., Zhang L. Hypoxia and fetal heart development. *Curr. Mol. Med.* 2010;10(7):653–666. doi: 10.2174/156652410792630643
2. Gao Y., Dasgupta C., Huang L., Song R., Zhang Z., Zhang L. Multi-omics integration reveals short and long-term effects of gestational hypoxia on the heart development. *Cells.* 2019;8(12):1608. doi: 10.3390/cells8121608
3. Kressler D., Hurt E., Bassler J. Driving ribosome assembly. *Biochim. Biophys. Acta.* 2010;1803(6):673–683. doi: 10.1016/j.bbamcr.2009.10.009
4. Boisvert F.M., van Koningsbruggen S., Navascués J., Lamond A.I. The multifunctional nucleolus. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2007;8(7):574–585. doi: 10.1038/nrm2184
5. Hayashi Y., Fujimura A., Kato K., Udagawa R., Hirota T., Kimura K. Nucleolar integrity during interphase supports faithful Cdk1 activation and mitotic entry. *Sci. Adv.* 2018;4(6):eaap7777. doi: 10.1126/sciadv.aap7777
6. Hariharan N., Sussman M.A. Stressing on the nucleolus in cardiovascular disease. *Biochim. Biophys. Acta.* 2014;1842(6):798–801. doi: 10.1016/j.bba-dis.2013.09.016
7. Sazonova E.N., Tsimbalist N.A., Kaplieva O.V., Lebed'ko O.A. The influence of non-opiate analogue of leu-enkephalin to the cardiac consequences of intrauterine hypoxia of albino rats. *Russ. Open Med. J.* 2019;8(4):e0401 doi: 10.15275/rusomj.2019.0401
8. Sazonova E.N., Lebedko O.A., Tsimbalist N.A., Gusev I.A., Samarina E.Yu., Malofey Yu.B. The role of amino acid arginine and nitric oxide system in implementing cardioprotective effect of non-opioid analogue of leu-enkephalin in newborn albino rats after intrauterine hypoxia. *Russ. Open Med. J.* 2020;9(4):404. doi: 10.15275/rusomj.2020.0404
9. Dolle R.E., Michaut M., Martinez-Teipel B., Belanger S., Graczyk T.M., DeHaven R.N. Further studies of tyrosine surrogates in opioid receptor peptide ligands. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2007;17(9):2656–2660. doi: 10.1016/j.bmcl.2007.01.092
10. Коржевский Д.Э., Гилерович Е.Г., Кирик О.В., Сухорукова Е.Г., Григорьев И.П. Морфологическая диагностика. Подготовка материала для гистологического исследования и электронной микроскопии: руководство. СПб.: СпецЛит, 2013. 127 с.
11. Korzhevskii D.E., Gilerovich E.G., Kirik O.V., Sukhorukova E.G., Grigor'ev I.P. Morphological diagnostics. Preparation of the material for histological study and electron microscopy: a guideline. Saint-Petersburg: SpetsLit, 2013. 127 p. [In Russian].
11. James A., Wang Y., Raje H., Rosby R., DiMaggio P. Nucleolar stress with and without p53. *Nucleus.* 2014;5(5):402–426. doi: 10.4161/nucl.32235

12. Katagiri N., Kuroda T., Kishimoto H., Hayashi Y., Kumazawa T., Kimura K. The nucleolar protein nucleophosmin is essential for autophagy induced by inhibiting Pol I transcription. *Sci. Rep.* 2015;5:8903. doi: 10.1038/srep08903
13. Roselló-Lletí E., Rivera M., Cortés R., Azorín I., Sirera R., Martínez-Dolz L., Hove L., Cinca J., Lago F., González-Juanatey J.R., Salvador A., Portolés M. Influence of heart failure on nucleolar organization and protein expression in human hearts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2012;418(2):222–228. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.12.151
14. Sun L., He X., Wang J., Jiang B., Tong Z., Liu Y., Li Y., Xiao X. Nucleolus expression in diabetic cardiomyopathy. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2014;39(10):1056–1060. Chinese. doi: 10.11817/j.issn.1672-7347.2014.10.012
15. Denys I.B., Gao J., Sutphen J.C., Zaveri N.T., Kapusta D.R. Cardiovascular and renal effects of novel nonpeptide nociceptin opioid peptide receptor agonists. *Br. J. Pharmacol.* 2022;179(2):287–300. doi: 10.1111/bph.15717
16. Monti A., Vitagliano L., Caporale A., Ruvo M., Doti N. Targeting protein-protein interfaces with peptides: the contribution of chemical combinatorial peptide library approaches. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(9):7842. doi: 10.3390/ijms24097842
17. Wright P., Dyson H. Intrinsically disordered proteins in cellular signalling and regulation. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2015;16(1):18–29. doi: 10.1038/nrm3920
18. Georgoussi Z., Georganta E.M., Milligan G. The other side of opioid receptor signalling: regulation by protein-protein interaction. *Curr. Drug. Targets.* 2012;13(1):80–102. doi: 10.2174/138945012798868470

Сведения об авторах:

Гусев Илья Алексеевич, ORCID: 0000-0002-6199-4278, e-mail: gusilia99@mail.ru
Фоменко Артем Витальевич, ORCID: 0009-0007-9751-804X, e-mail: artem_fomenko98@mail.ru
Сорочинская Ольга Игоревна, ORCID: 0009-0008-4351-7188, e-mail: lelya200147@yandex.ru
Сазонова Елена Николаевна, д.м.н., проф., ORCID: 000-0002-8668-492X, e-mail: sazen@mail.ru

Information about the authors:

Ilia A. Gusev, ORCID: 0000-0002-6199-4278, e-mail: gusilia99@mail.ru
Artem V. Fomenko, ORCID: 0009-0007-9751-804X, e-mail: artem_fomenko98@mail.ru
Ol'ga I. Sorochinskaya, ORCID: 0009-0008-4351-7188, e-mail: lelya200147@yandex.ru
Elena N. Sazonova, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 000-0002-8668-492X, e-mail: sazen@mail.ru

Поступила в редакцию 21.05.2024
После доработки 20.06.2024
Принята к публикации 27.09.2024

Received 21.05.2024
Revision received 20.06.2024
Accepted 27.09.2024