

ИЗУЧЕНИЕ ВОВЛЕЧЕННОСТИ TrkB-РЕЦЕПТОРОВ В АНТИГИПОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ НЕЙРОПЕПТИДА ЦИКЛО-ПРОЛИЛГЛИЦИНА

К.Н. Колясникова

к.б.н.,
ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» (Москва, Россия)

О.С. Григоркевич

науч. сотрудник,
ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» (Москва, Россия)

А.Г. Аляева

мл. науч. сотрудник, ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» (Москва, Россия)

Т.А. Гудашева

д.б.н., профессор, член-корр. РАН,
ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» (Москва, Россия)
E-mail: tata-sosnovka@mail.ru

Актуальность. Цикло-пролилглицин (ЦПГ) был идентифицирован как нейропептид в 1996 г. У этого вещества были выявлены ноотропная, антигипоксическая, анксиолитическая, нейропротекторная и анальгетическая активности. Такой комплекс эффектов является полезным для развития на основе ЦПГ соответствующих лекарственных препаратов. В связи с этим изучение механизма действия ЦПГ является актуальным. Ранее авторами было выявлено, что в анксиолитическое действие ЦПГ вовлечены AMPA и TrkB- рецепторы.

Цель работы – выявить вовлеченность TrkB-рецепторов в антигипоксическое действие ЦПГ.

Материал и методы. Использован метод ингибиторного фармакологического анализа с применением блокатора Trk-рецепторов K252A. Антигипоксическую активность определяли в тесте «баночной» гипоксии на мышах.

Результаты. Антигипоксический эффект ЦПГ полностью снимался специфическим блокатором Trk-рецепторов соединением K252A.

Выводы. Впервые показано, что TrkB-рецепторы вовлечены в антигипоксический эффект нейропептида цикло-пролилглицина.

Ключевые слова: цикло-пролилглицин, антигипоксическая активность, BDNF, AMPA, TrkB, K252A.

Для цитирования: Колясникова К.Н., Григоркевич О.С., Аляева А.Г., Гудашева Т.А. Изучение вовлеченности TrkB-рецепторов в антигипоксическое действие нейропептида цикло-пролилглицина. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2022;25(1):39–42. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-01-06>

Структура цикло-пролилглицина (ЦПГ) была предложена в НИИ фармакологии имени В.В. Закусова в качестве возможного эндогенного прототипа ноотропа пирацетама (N-карбамидометилпирролидона-2) на основании гипотезы о пептидергическом механизме действия последнего. Это соединение показало высокую ноотропную активность [1]. Его эндогенная природа была подтверждена семью годами позже: ЦПГ был определен в головном мозге у грызунов [2]. Спектр фармакологических эффектов ЦПГ совпадает с таковым для пирацетама и включает в себя ноотропный, анксиолитический [3] нейропротекторный [4], антигипоксический [5] и др.

Открытие ЦПГ было подтверждено новозеландскими исследователями, показавшими образо-

вание этого дикетопиперазина *in vivo* из N-концевого трипептидного фрагмента инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF-1) [4]. Помимо головного мозга, ЦПГ также определяется в плазме крови, цереброспинальной жидкости и молоке млекопитающих [6]. Гуан и сотр. [4] выявили взаимосвязь между соотношением концентраций ЦПГ/IGF-1 и биологической активностью последнего.

Недавно авторами на основе электрофизиологических данных, полученных на изолированных нейронах, высказана гипотеза, что ЦПГ является положительным модулятором AMPA-рецепторов [7] и аналогично другим ампаминам увеличивает уровень мозгового нейротрофического фактора (BDNF) в норме и на различных моделях повреждения нейронов [8]. С другой стороны, испански-

ми исследователями было показано, что ЦПГ на модели β -амилоидной токсичности увеличивает уровень мРНК BDNF у крыс и активирует ERK [9]. Эти данные позволили предположить, что фармакологические эффекты ЦПГ обусловлены стимуляцией BDNF/TrkB сигналинга, инициированной активацией AMPA-рецепторов. И действительно, было установлено, что введение конкурентного антагониста AMPA-рецепторов, соединения DNQX, приводит к полному исчезновению анксиолитического [10] и антигипоксического [11] эффектов ЦПГ. Блокатор TrkB-рецепторов K252A препятствовал проявлению анксиолитического действия ЦПГ в тесте приподнятого крестообразного лабиринта [10].

Ц е л ь р а б о т ы – изучение вовлеченности TrkB-рецепторов в механизм антигипоксического действия ЦПГ. Для этого был использован метод ингибиторного фармакологического анализа с применением блокатора TrkB-рецепторов K252A.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Вещества. Цикло-*L*-пролилглицин синтезирован как описано ранее [1] (т. пл. 204–207 °С, $[\alpha]_D^{20}$ -202° (с 1, вода). Соединение K252A приобретено в «Sigma-Aldrich» (США). ДМСО «х.ч.» получен из ТД «Химмед» (Россия).

Животные. Эксперименты проводили на мышках-самцах линии BALB/c массой 20–24 г. Содержание животных соответствовало ГОСТ 33216-2014. Эксперименты проводили в соответствии с решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 81. Все манипуляции с животными были одобрены Комиссией по биомедицинской этике НИИ фармакологии имени В.В. Закусова (протокол № 3 от 18 февраля 2021 г.).

Антигипоксическая активность изучалась в тесте «баночной» гипоксии согласно [12]. Соединение K252A растворяли в 0,1% ДМСО на физиологическом растворе и вводили внутривентриально (в/б) в дозе 25 мг/кг [13]. Введение водного раствора ЦПГ (1 мг/кг в/б) [5] осуществляли через 15 мин после ингибитора. Далее через 1 ч мышью помещали по одиночке в герметически закрытые сосуды вместимостью 250 мл и фиксировали гибель животных как описано ранее [11]. Дизайн эксперимента представлен на схеме (рис. 1).

Статистический анализ. Для оценки межгрупповых различий использовали двухфакторный или однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с последующими попарными межгрупповыми сравнениями с помощью критерия Шидака (Sidak). Данные представлены в виде $M \pm SEM$.

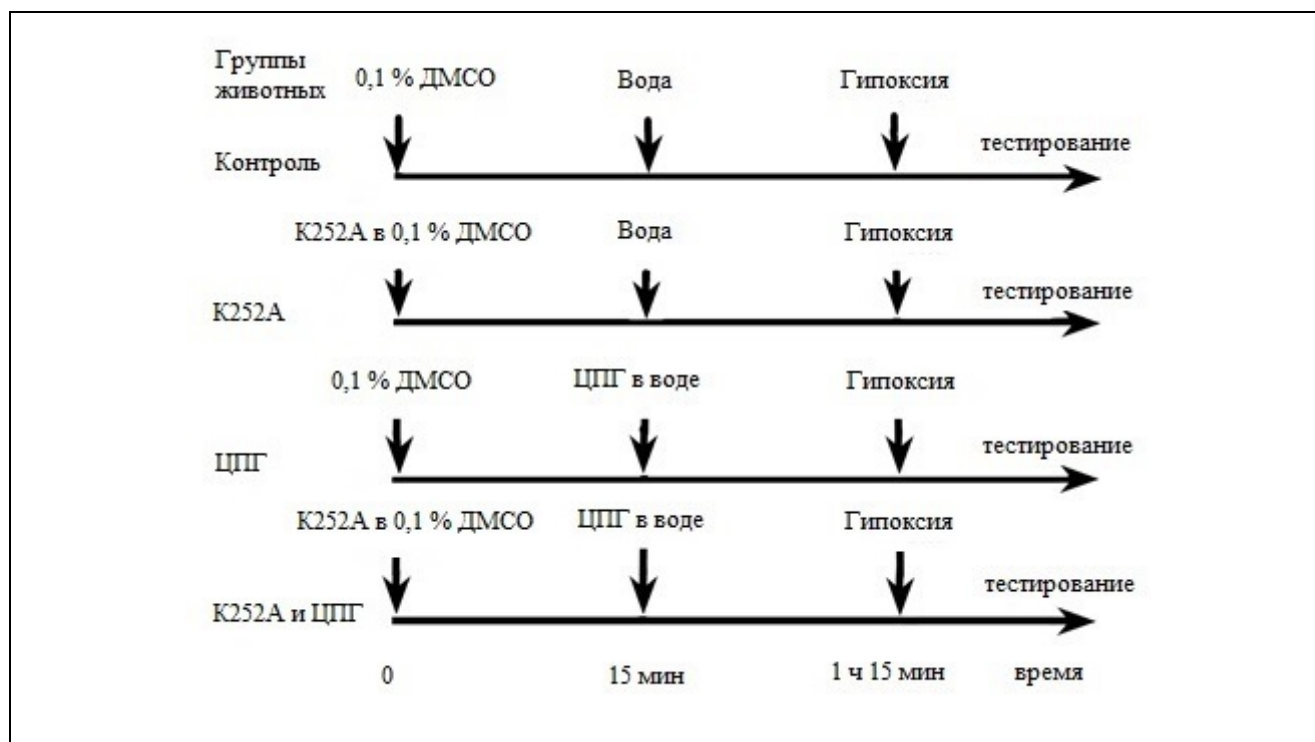


Рис. 1. Дизайн эксперимента

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее авторами с помощью ингибиторного анализа была выявлена последовательная вовлеченность AMPA- и TrkB-рецепторов в механизмы анксиолитического действия ЦПГ [10]. Кроме того, было показано, что конкурентный антагонист AMPA-рецепторов DNQX устранял антигипоксический эффект ЦПГ [11]. В продолжение этих исследований в данной работе с использованием блокатора TrkB-рецепторов K252A была выявлена вовлеченность TrkB-рецепторов в проявление антигипоксической активности ЦПГ.

Циклодипептид (1 мг/кг в/б) достоверно ($p=0,03$) увеличивал продолжительность жизни мышей с $33,4 \pm 0,8$ до $36,2 \pm 0,7$ мин. Блокатор TrkB-рецепторов, соединение K252A, в дозе 25 мг/кг в тесте нормобарической гипоксии с гиперкапнией не влиял на продолжительность жизни животных по сравнению с контролем ($33,1 \pm 0,9$ мин). Контроль: ДМСО+вода, ЦПГ: ДМСО+ЦПГ, K252A: K252A+вода, ЦПГ и K252A: K252A + ЦПГ. При предварительном введении K252A антигипоксическое действие ЦПГ зарегистрировано не было, что свидетельствует об участии TrkB-рецепторов в формировании этого эффекта ЦПГ (рис. 2).

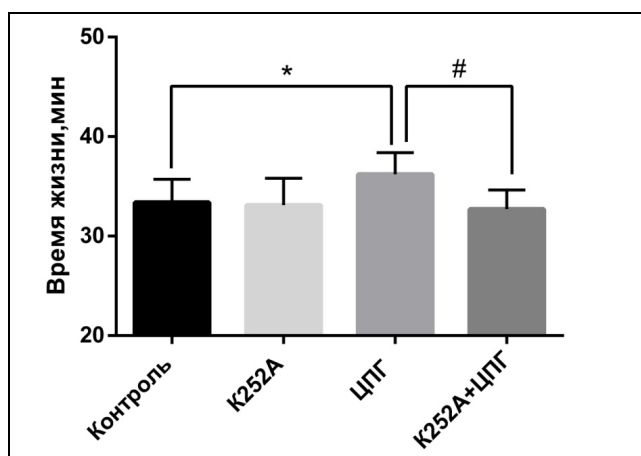


Рис. 2. Влияние блокатора TrkB-рецепторов K252A (25 мг/кг в/б) на антигипоксический эффект ЦПГ (1 мг/кг в/б) в тесте «баночной» гипоксии на мышах линии BALB/c; * - $p=0,03$ по сравнению с Контролем, # - $p=0,01$ по сравнению с ЦПГ; данные представлены в виде $M \pm SEM$

ВЫВОДЫ

Результаты настоящего исследования вместе с полученными ранее данными показывают, что как анксиолитический, так и антигипоксический эффекты ЦПГ опосредуются активацией TrkB-рецепторов.

Благодарности

Авторы выражают благодарность кандидату биологических наук П.Ю. Поварниной за помощь в статистической обработке результатов.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант 20-015-00102 «Выявление роли глутаматергического и BDNF-ергического механизмов в фармакологических эффектах нейропептида цикло-пролилглицина».

ЛИТЕРАТУРА

1. Гудашева Т.А., Островская Р.У., Максимова Ф.В., Чупин А.В., Трофимов С.С., Лезина В.П., Воронина Т.А., Сколдинов А.П. Топологические аналоги пиретама на основе пролина и их ноотропная активность. Химико-фармацевтический журнал. 1989; 23(3): 276–281.
2. Gudasheva T.A., Boyko S.S., Akparov V.Kh., Ostrovskaya R.U., Skoldinov A.P., Rozantsev G.G., Voronina T.A., Zherdev V.P., Seredenin S.B. Identification of a novel endogenous memory facilitating cyclic dipeptide cyclo-prolylglycine in rat brain. FEBS Letters. 1996; 391: 149–152.
3. Гудашева Т.А., Константинопольский М.А., Островская Р.У., Серединин С.Б. Анксиолитическая активность эндогенного ноотропа цикло-пролилглицина в тесте приподнятого крестообразного лабиринта стереоселективна. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2001; 131(5): 547–550.
4. Guan J., Gluckman P., Yang P., et al. Cyclic glycine-proline regulates IGF-1 homeostasis by altering the binding of IGFBP-3 to IGF-1. Scientific reports. 2014. 4: 4388.
5. Колясникова К.Н., Гудашева Т.А., Назарова Г.А., и др. Сходство цикло-пролилглицина с пиретамамом по антигипоксическому и нейропротекторному эффектам. Экспериментальная клиническая фармакология. 2012; 75(9): 3–6.
6. Guan J., Singh-Mallah G., Liu K., et al. The role for cyclic Glycine-Proline, a biological regulator of insulin-like growth factor-1 in pregnancy-related obesity and weight changes. J. Biol. Regul. Homeost. Agents. 2018; 32(3): 465–478.
7. Гудашева Т.А., Григорьев В.В., Колясникова К.Н., Замойский В.Л., Серединин С.Б. Нейропептид цикло-пролилглицин является эндогенным положительным модулятором AMPA-рецепторов. Доклады Академии наук. 2016; 471(1): 106–108.
8. Гудашева Т.А., Колясникова К.Н., Антипова Т.А., Серединин С.Б. Нейропептид циклопролилглицин увеличивает содержание мозгового нейротрофического фактора в нейрональных клетках. Доклады Академии наук. 2016; 469(4): 492–495.
9. Aguado-Llera D., Canelles S., Fernandez-Mendivil C., et al. Improvement in inflammation is associated with the protective effect of Gly-Pro-Glu and cycloprolylglycine against Aβ-induced depletion of the hippocampal somatostatinergic system. Neuropharmacology. 2019. 151. 112–126.
10. Гудашева Т.А., Поварнина П.Ю., Колясникова К.Н. и др. Анксиолитический эффект нейропептида циклопролилглицина опосредован AMPA- И TrkB-рецепторами; Доклады Российской академии наук. Науки о жизни. 2020; 493(1): 364–366.

11. Колясникова К.Н., Аляева А.Г., Воронцова О.Н., Гудашева Т.А. Изучение вовлеченности AMPA-рецепторов в антигипоксическое действие нейропептида цикло-пролилглицина. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2020; 23(9): 3–8.
12. Воронина Т.А., Островская Р.У., Гарибова Т.Л. Методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств с ноотропным типом действия. В кн. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Под общ. ред. А.Н. Миронова. Часть 1. М.: Гриф и К, 2012: 276–296.
13. Mao Q.Q., Huang Z., Zhong X.M., Xian Y.F., Ip S.P. Brain-derived neurotrophic factor signalling mediates the antidepressant-like effect of piperine in chronically stressed mice. Behav Brain Res. 2014; 261:140–145. doi: 10.1016/j.bbr.2013.12.020.

Поступила 12 ноября 2021 г.

STUDY OF THE INVOLVEMENT OF TrkB RECEPTORS IN THE ANTIHYPOXIC EFFECT OF THE NEUROPEPTIDE CYCLO-PROLYL-GLYCINE

© Authors, 2022

K.N. Koliassnikova

Ph.D. (Biol.), FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology» (Moscow, Russia)

O.S. Grigorkevich

Junior Research Scientist, FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology» (Moscow, Russia)

A.G. Alyaeva

Research Scientist, FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology» (Moscow, Russia)

T.A. Gudasheva

Dr.Sc. (Biol.), Professor, Corr. Memder RAS, FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology» (Moscow, Russia)

E-mail: tata-sosnovka@mail.ru

Relevance. Cycloprolylglycine (CPG) was identified as a neuropeptide in 1996. It was found to have nootropic, antihypoxic, anxiolytic, neuroprotective and analgesic activity. This complex of effects is beneficial for the development of CPG-based drugs. In this regard, the study of the mechanism of action of CPG is relevant. We have previously revealed that AMPA and TrkB receptors are involved in the anxiolytic action of CPG.

Objective. Purpose of the study is to reveal the involvement of TrkB receptors in the antihypoxic effect of the neuropeptide CPG.

Material and methods. The method of inhibitory pharmacological analysis using the Trk receptor blocker K252A was used. Antihypoxic activity was determined in the test of "canned" hypoxia in mice.

Results. The antihypoxic effect of CPG was completely removed by a specific blocker of Trk receptors K252A.

Conclusions. For the first time it was shown that TrkB receptors are involved in the antihypoxic effect of the neuropeptide cycloprolyl-glycine.

Key words: cyclo-prolyl-glycine, antihypoxic activity, BDNF, AMPA, TrkB, K252A.

For citation: Koliassnikova K.N., Grigorkevich O.S., Alyaeva A.G., Gudasheva T.A. Study of the involvement of TrkB receptors in the antihypoxic effect of the neuropeptide cycloprolyl-glycine. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2022;25(1):39–42. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-01-06>

REFERENCES

1. Gudasheva T.A., Ostrovskaja R.U., Maksimova F.V., Chuppin A.V., Trofimov S.S., Lezina V.P., Voronina T.A., Skoldinov A.P. Topologicheskie analogi piracetama na osnove prolina i ih nootropnaja aktivnost'. Himiko-farmaceuticheskij zhurnal. 1989; 23(3): 276–281.
2. Gudasheva T.A., Boyko S.S., Akparov V.Kh., Ostrovskaya R.U., Skoldinov A.P., Rozantsev G.G., Voronina T.A., Zherdev V.P., Seredenin S.B. Identification of a novel endogenous memory facilitating cyclic dipeptide cyclo-prolylglycine in rat brain. FEBS Letters. 1996; 391: 149–152.
3. Gudasheva T.A., Konstantinopol'skij M.A., Ostrovskaja R.U., Seredenin S.B. Anksioliticheskaja aktivnost' jendogennoho nootropa ciklo-prolilglicina v teste pripodnjatogo krestobraznogo labirinta stereoselektivna. Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny. 2001; 131(5): 547–550.
4. Guan J., Gluckman P., Yang P., et al. Cyclic glycine-proline regulates IGF-1 homeostasis by altering the binding of IGFBP-3 to IGF-1. Scientific reports. 2014. 4: 4388.
5. Koljasnikova K.N., Gudasheva T.A., Nazarova G.A., i dr. Shodstvo cikloprolilglicina s piracetamom po antigipoksicheskomu i nejroprotektornomu jefektam. Jeksperimental'naja klinicheskaja farmakologija. 2012; 75(9): 3–6.
6. Guan J., Singh-Mallah G., Liu K., et al. The role for cyclic Glycine-Proline, a biological regulator of insulin-like growth factor-1 in pregnancy-related obesity and weight changes. J. Biol. Regul. Homeost. Agents. 2018; 32(3): 465–478.
7. Gudasheva T.A., Grigor'ev V.V., Koljasnikova K.N., Zamojskij V.L., Seredenin S.B. Nejropeptid cikloprolilglicin javljaetsja jendogennym polozhitel'nyim moduljatorom AMRA-receptorov. Doklady Akademii nauk. 2016; 471(1): 106–108.
8. Gudasheva T.A., Koljasnikova K.N., Antipova T.A., Seredenin S.B. Nejropeptid cikloprolilglicin uvelichivaet sodержание mozgovogo nejrotroficheskogo faktora v nejronal'nyh kletkah. Doklady Akademii nauk. 2016; 469(4): 492–495.
9. Aguado-Llera D., Canelles S., Fernandez-Mendivil C., et al. Improvement in inflammation is associated with the protective effect of Gly-Pro-Glu and cycloprolylglycine against A β -induced depletion of the hippocampal somatostatinergic system. Neuropharmacology. 2019. 151. 112–126.
10. Gudasheva T.A., Povarnina P.Ju., Koljasnikova K.N. i dr. Anksioliticheskij jeffekt nejropeptida cikloprolil-glicina oposredovan AMRA- I TrkB-receptorami; Doklady Rossijskoj akademii nauk. Nauki o zhizni. 2020; 493(1): 364–366.
11. Koljasnikova K.N., Aljaeva A.G., Voronova O.N., Gudasheva T.A. Izuchenie вовлеченности AMPA-рецепторов v antigipoksicheskoe dejstvie nejropeptida cikloprolilglicina. Voprosy biologicheskoy, medicinskoj i farmaceuticheskoy himii. 2020; 23(9): 3–8.
12. Voronina T.A., Ostrovskaja R.U., Garibova T.L. Metodicheskie rekomendacii po doklinicheskomu izucheniju lekarstvennyh sredstv s nootropnym tipom dejstvija. V kn. Rukovodstvo po provedeniju doklinicheskijh issledovanij lekarstvennyh sredstv. Pod obshh. red. A.N. Mironova. Chast' 1. M.: Grif i K, 2012: 276–296.
13. Mao Q.Q., Huang Z., Zhong X.M., Xian Y.F., Ip S.P. Brain-derived neurotrophic factor signalling mediates the antidepressant-like effect of piperine in chronically stressed mice. Behav Brain Res. 2014; 261:140–145. doi: 10.1016/j.bbr.2013.12.020.