

## ОЦЕНКА ИММУНОТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙРОПЕПТИДНОГО СОЕДИНЕНИЯ LYS-LYS-ARG-ARG-PRO-GLY-PRO В УСЛОВИЯХ «СОЦИАЛЬНОГО» СТРЕССА

© Ясенявская А.Л.<sup>1</sup>, Цибизова А.А.<sup>1</sup>, Андреева Л.А.<sup>2</sup>, Мясоедов Н.Ф.<sup>2</sup>, Самотруева М.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Астраханский государственный медицинский университет (Астраханский ГМУ)

Россия, 414000, Астраханская обл., г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121

<sup>2</sup> Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»  
(НИЦ «Курчатовский институт»)

Россия, 123182, г. Москва, пл. академика Курчатова, д. 2

**Цель исследования:** изучение иммуностропной активности нейропептидного соединения Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro в условиях «социального» стресса.

**Материалы и методы.** Исследование проведено на беспородных крысах-самцах 6-месячного возраста с использованием модели «социального» стресса, основанной на обеспечении постоянного проживания животных в условиях сенсорного контакта, в результате чего формировался субмиссивный и агрессивный типы поведения. Все животные были разделены на группы: контроль I – крысы, находившиеся по одной в клетке и получавшие воду для инъекций в эквивалентном объеме; контроль II – группы стрессированных животных с агрессивным и субмиссивным типами поведения; три группы стрессированных крыс, которым внутривентриально вводили Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro в дозе 100 мкг/кг/сут., и препарат сравнения «Имунофан» (Arginyl-alpha-aspartyl-lysyl-valyl-thyrosyl-argininum) в средней терапевтической дозе 0,7 мкг/кг/сут. Оценивали следующие показатели: индекс реакции гиперчувствительности замедленного типа, титр антител реакции прямой гемагглютинации, фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови, показатели лейкоцитарной формулы.

**Результаты.** Полученные в ходе настоящего исследования результаты свидетельствуют о том, что введение нейропептидного соединения Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro корригирует иммунные изменения, возникающие на фоне воздействия хронического «социального» стресса: увеличение индекса реакции гиперчувствительности замедленного типа, уровня антиэритроцитарных антител, общего количества лейкоцитов и снижение фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови (фагоцитарное число и фагоцитарный индекс), а также восстановление процентного соотношения элементов лейкоцитарной формулы. Полученные результаты соотносятся с данными, характеризующими иммуномодулирующее действие препарата сравнения «Имунофана» в условиях «социального» стресса.

**Заключение.** Таким образом, изучение иммуностропной активности нейропептидного соединения Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro показало наличие иммунокорригирующего действия в отношении клеточного и гуморально-го звеньев иммунитета, фагоцитарной активности нейтрофилов и форменных элементов лейкоцитарного ростка.

**Ключевые слова:** нейропептиды; «социальный» стресс; иммуностропность; иммунофармакология; гуморальный иммунитет; клеточный иммунитет; фагоцитарная активность.

**Ясенявская Анна Леонидовна** – канд. мед. наук, доцент, руководитель Научно-исследовательского центра, доцент кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии, Астраханский ГМУ, г. Астрахань. ORCID ID: 0000-0003-2998-2864. E-mail: [yasen\\_9@mail.ru](mailto:yasen_9@mail.ru) (автор ответственный за переписку).

**Цибизова Александра Александровна** – канд. фарм. наук, доцент кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии, Астраханский ГМУ, г. Астрахань. ORCID ID: 0000-0002-9994-4751. E-mail: [sasha3633@yandex.ru](mailto:sasha3633@yandex.ru)

**Андреева Людмила Александровна** – руководитель сектора регуляторных пептидов, НИЦ «Курчатовский институт», г. Москва. ORCID ID: 0000-0002-3927-8590. E-mail: [landr@img.ras.ru](mailto:landr@img.ras.ru)

**Мясоедов Николай Федорович** – д-р хим. наук, профессор, академик РАН, руководитель отдела химии физиологически активных веществ, НИЦ «Курчатовский институт», г. Москва. ORCID ID: 0000-0003-1294-102X. E-mail: [nfm@img.ras.ru](mailto:nfm@img.ras.ru)

**Самотруева Марина Александровна** – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии, Астраханский ГМУ, г. Астрахань. ORCID ID: 0000-0001-5336-4455. E-mail: [ms1506@mail.ru](mailto:ms1506@mail.ru)

Исследования, касающиеся стресса и его связи с иммунной системой, представляют большой интерес для ученых в связи с постоянным формированием современным социумом хронического состояния стресса, при котором повышенный уровень гормонов надпочечников способствует угнетению функции иммунной системы [1, 2] и, как следствие, развитию хронических инфекционно-воспалительных, аутоиммунных, онкологических и других иммуноопосредованных заболеваний [3-7]. Угнетение функции иммунной системы в условиях стрес-

согенного воздействия связывают с подавлением активности Т-системы, изменением количества рециркулирующих Т-клеток по отношению к В-клеткам и макрофагам, а также со снижением продукции противовоспалительных цитокинов, приводящих к структурным и функциональным повреждениям тканей и органов с последующим развитием различных патологических состояний [3, 5, 6].

В настоящее время актуальным является фармакологическое направление по изучению регуляции стрессогенного воздействия с целью

поиска средств коррекции развивающихся нарушений, в частности, стресс-индуцируемых иммунопатологических состояний. Особое внимание в качестве перспективных иммунокорректоров уделяется нейропептидным соединениям, которые обладают тропностью к различным системам, в том числе и иммунной [8-10]. Одним из перспективных соединений нейропептидной структуры является представитель глипролинового ряда, содержащий аргинин и лизин, Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro, синтезированный ФГБУ Национального исследовательского центра «Курчатовский институт». Следует отметить, что аргинин, являясь субстратом синтеза оксида азота, участвует во многих физиологических процессах, в частности регулируя гормональный уровень организма, клеточный и гуморальный иммунитет и др. Лизин входит в состав центров активации многих белков и гормонов, а также нейронах центральной нервной системы. Данные аминокислоты, обладая широким спектром терапевтического действия, в структуре нейропептидов способствуют проявлению различных эффектов: иммуностропного, противомикробного, психотропного и др. [11, 12].

В связи с чем целью данного исследования явилось изучение иммуностропной активности нейропептидного соединения Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro в условиях «социального» стресса.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено на беспородных крысах-самцах 6-месячного возраста. Исследования проводились с использованием модели «социального» стресса, основанной на обеспечении постоянного проживания животных в условиях сенсорного контакта, в результате чего формировался субмиссивный и агрессивный типы поведения [13]. Крыс помещали в клетки по две особи, которые были отделены друг от друга перегородкой с отверстиями. В таких условиях самцы могли видеть, слышать и воспринимать запахи друг друга, но имели возможности физически взаимодействовать. Ежедневно перегородку снимали и в течение 10 минут животные могли взаимодействовать друг с другом, в результате чего наблюдались конфронтации между крысами. Моделирование «социального» стресса продолжалось в течение 20 дней. После чего были сформированы группы с субмиссивным типом (жертвы) и агрессивным типом (агрессор) поведения.

Все животные были разделены на группы: контроль I – крысы, получавшие воду для инъекций в эквивалентном объеме (10 особей); кон-

троль II – группы стрессированных животных с агрессивным (10 особей) и субмиссивным (10 особей) типами поведения; две группы стрессированных крыс, которым внутрибрюшинно вводили Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro в дозе 100 мкг/кг/сут. (по 10 особей каждого типа поведения) и препарат сравнения «Имунофан» (Arginyl-alpha-aspartyl-lysyl-valyl-thiroyl-argininum) в средней терапевтической дозе 0,7 мкг/кг/сут. (по 10 особей каждого типа поведения).

Исследование иммуностропных свойств аргинин- и лизинсодержащего нейропептидного соединения глипролинового ряда проводили согласно руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств с использованием стандартных иммунофармакологических методов с учетом следующих показателей: индекс реакции гиперчувствительности замедленного типа (РГЗТ), титр антител реакции прямой гемагглютинации (РПГА), фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови (латексный тест), показатели лейкоцитарной формулы. При постановке РГЗТ и РПГА в качестве антигена применяли эритроциты барана. Для определения фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови применяли латексный тест с использованием гепаринизированной крови животных. В качестве тест-объекта использовали мелановоформальдегидные латексы. Активность нейтрофилов определяли по следующим показателям: число частиц латекса, поглощенного фагоцитом (кол-во частиц латекса/100), количество нейтрофилов, участвующих в фагоцитозе % (количество нейтрофилов с латексом из 100). Для определения содержания количества лейкоцитов крови исследуемых животных осуществляли забор крови при выведении животных из эксперимента из крупных сосудов шейной области. Подсчет осуществляли в камере Горяева. Процентное соотношение отдельных форм лейкоцитов оценивали в мазках крови, окрашенных по Романовскому-Гимзе.

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью программ Statistica 7.0 (StatSoft Inc, USA), вычисляя среднее арифметическое значение ( $M$ ), ошибку среднего арифметического значения ( $m$ ) и представляли в виде  $M \pm m$ . Различия между группами оценивали используя критерий Манна–Уитни–Уилкоксона для парного сравнения двух независимых выборок и постоянно выбранный уровень значимости  $p < 0,05$ .

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ  
И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования установлено, что в условиях стресса социальной направленности формируется синдром дезадаптации, подтверждающийся развитием «стрессорной триады», проявляющейся гипертрофией надпочечников, развитием язвенного поражения слизистой оболочки желудка, а также снижением числа эозинофилов в периферической крови. При проведении осмотра слизистой оболочки желудка выявлено наличие эрозий, язв и кровоизлияний, что является подтверждением формирования стресс-реакции. Наряду с этим, у особей, подвергавшихся стрессогенному воздействию, определялась гипертрофия надпочечников, что предположительно обусловлено течением стадии резистентности, характеризующейся увеличением массы органа на фоне восстановления липидных гранул и вакуолизацией хромофинных клеток мозгового слоя [14]. Следует отметить наличие третьего компонента триады, подтверждающего развитие синдрома дезадаптации, а именно снижение числа эозинофилов в периферической крови стрессированных животных (табл. 1).

Результаты оценки влияния пептидов на индекс РГЗТ и титр антител в РПГА показаны на рисунке 1.

Моделирование «социального» стресса в течение 20 дней у животных с агрессивным типом

поведения способствовало снижению индекса РГЗТ на 46% ( $p < 0,01$ ) в сравнении с контролем; данный показатель уменьшился на 64% ( $p < 0,01$ ;  $p < 0,05$ ) при введении изучаемого соединения Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro – на 67% ( $p < 0,05$ ), препарата сравнения Имунофана – на 77% ( $p < 0,01$ ) по отношению к группе стрессированных животных. У животных с субмиссивным типом поведения в группе «социальный» стресс наблюдалось снижение титра антител на 33% ( $p < 0,05$ ) по отношению к контролю; введение Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro и Имунофана привело к повышению данного показателя в сравнении с группой «социальный» стресс на 36% ( $p < 0,05$ ) и 44% ( $p < 0,05$ ) соответственно.

В группе «социальный» стресс у животных с агрессивным типом поведения отмечалось значительное снижение титра антител в РПГА по отношению к контролю на 82% ( $p < 0,001$ ); повышение данного показателя в сравнении со стрессированными животными наблюдалось при введении соединения Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro в 4,6 раза ( $p < 0,001$ ) и в 5,5 раза ( $p < 0,001$ ) при введении Имунофана. У животных с субмиссивным типом поведения стрессирование привело к снижению титра антител по отношению к контролю в 2 раза ( $p < 0,01$ ); введение изучаемого соединения и Имунофана привело к повышению данного показателя по отношению к группе «социальный» стресс на 88% ( $p < 0,01$ ) и в 2 раза ( $p < 0,01$ ) соответственно.

Таблица 1

Table 1

Выраженность «стрессорной триады» у животных в условиях «социального» стресса

The severity of the "stress triad" in animals under conditions of "social" stress

Группы животных Groups of animals	Относительный коэффициент массы надпочечников, мг/100 г веса животного Relative mass ratio of the adrenal glands, mg/100 g weight animal M±m	Степень язвенного поражения слизистой оболочки желудка The degree of ulcerative lesions of the gastric mucosa, M±m	Относительное число эозинофилов в периферической крови, % Relative number eosinophils in peripheral blood, % M±m
Контроль Control (n = 10)	17.24±2.1	0.41±0.27	2.8±0.33
«Социальный» стресс "Social" stress (n = 10)	Животные с агрессивным типом поведения Animals with aggressive behavior		
	33.32±2.2*	2.92±0.31**	2.0±0.21*
	Животные с субмиссивным типом поведения Animals with a submissive type of behavior		
	38.71±2.7*	3.21±0.38**	1.6±0.11**

Примечание: сравнение с группой «контроль»: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ .

Note: comparison with the control group: \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$ .

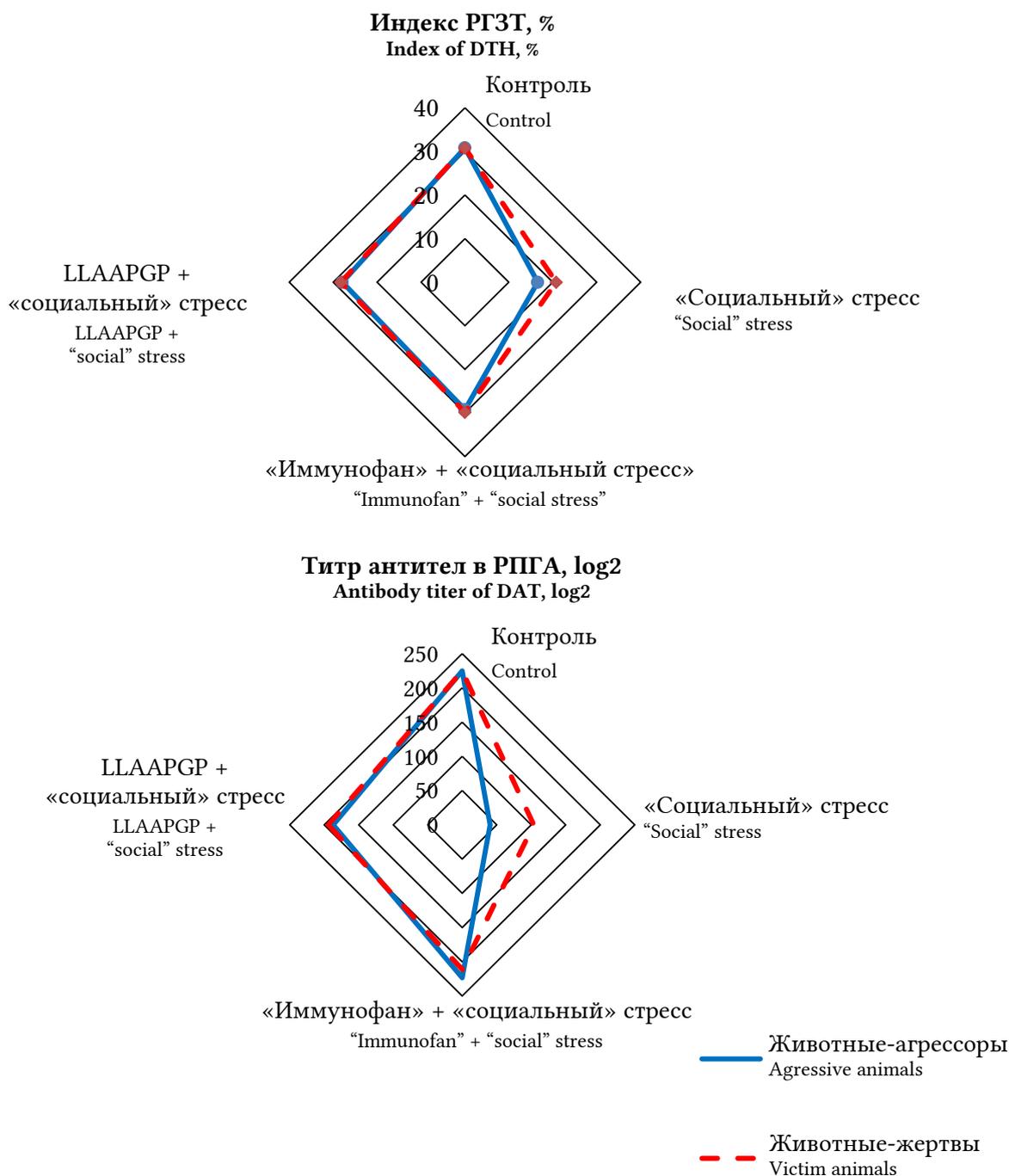


Рис. 1. Влияния Имунофана и Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro (LLAAPGP) на индекс РГЗТ и титр антител в РПГА в условиях «социального» стресса.

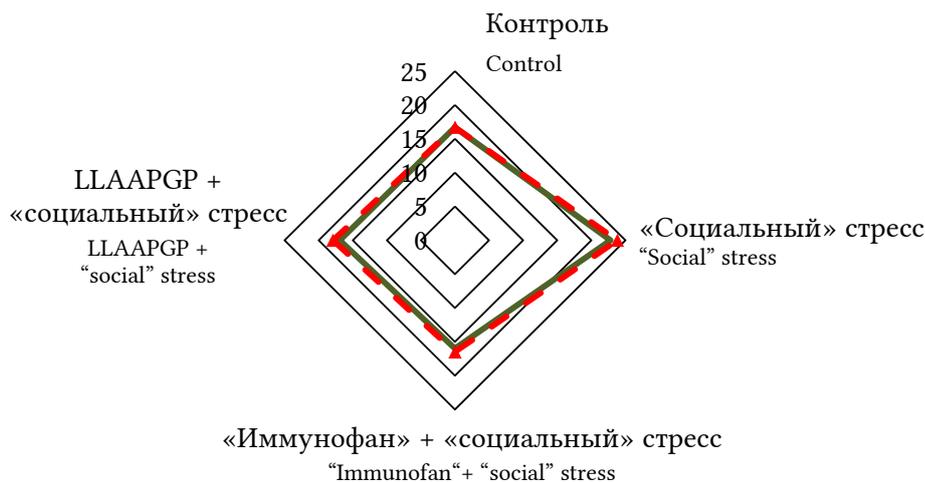
Fig. 1. Effects of "Imunofan" and Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro (LLAAPGP) on the delayed hypersensitivity index and antibody titer of direct hemagglutination reaction under conditions of "social" stress.

Влияние пептидов Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro и «Имунофана» на фагоцитарную активность нейтрофилов в условиях «социального» стресса показано на рисунке 2.

Моделирование «социального» стресса привело к повышению количества числа частиц латекса у животных-агрессоров в сравнении с контролем на 36% ( $p < 0,05$ ); введение соединения Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro способствовало снижению данного показателя до уровня кон-

трольных значений на 37% ( $p < 0,05$ ), введение «Имунофана» – на 30% ( $p < 0,05$ ) в сравнении со стрессированными животными. В группе животных-жертв «социальный» стресс привел к повышению данного показателя на 43% ( $p < 0,05$ ) по отношению к контролю; на фоне соединения Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro, а также «Имунофана» изучаемый показатель снизился на 25% ( $p > 0,05$ ) и 31% ( $p < 0,05$ ) соответственно по отношению к группе «социальный» стресс.

**Число частиц латекса, поглощенных нейтрофилами**  
**Number of latex particles engulfed by neutrophils**



**Количество нейтрофилов, участвующих в фагоцитозе**  
**Number neutrophils participating in phagocytosis**

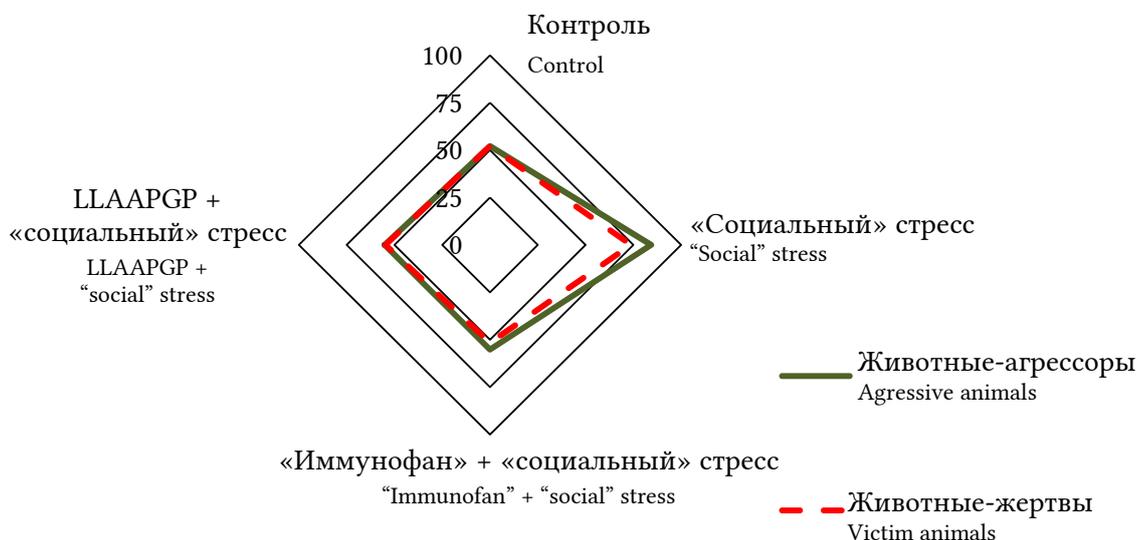


Рис. 2. Влияние «Имунофана» и Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro (LLAAPGP) на число частиц, поглощенных фагоцитом, и количество нейтрофилов, участвующих в фагоцитозе, в условиях «социального» стресса.

Fig. 2. Effects of "Imunofan" and Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro (LLAAPGP) on the number of particles absorbed by the phagocyte and the number of neutrophils involved in phagocytosis under conditions of "social" stress.

В условиях стресса количество нейтрофилов, участвующих в фагоцитозе, повысилось у животных с агрессивным типом поведения на 62% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с контрольной группой; введение пептидного соединения и препарата сравнения способствовало уменьшению данного показателя в среднем на 35% ( $p < 0,05$ ) соответственно по отношению к группе «социальный» стресс. У животных с субмиссивным типом поведения моделирование «социального» стресса привело к увеличению изучаемого показателя

на 42% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с контролем; соединение Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro способствовало снижению фагоцитарного индекса на 26% ( $p > 0,05$ ), а «Имунофан» уменьшил данный показатель на 30% ( $p < 0,05$ ) по отношению к стрессированным животным.

Влияние изучаемого пептидного соединения и препарата сравнения на общее количество лейкоцитов в условиях «социального» стресса показаны на рисунке 3 и в таблице 2.



Рис. 3. Влияние «Имунофана» и Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro (LLAAPGP) на общее количество лейкоцитов в условиях «социального» стресса.

Fig. 3. Effects of "Imunofan" and Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro (LLAAPGP) on the total number of leukocytes under conditions of "social" stress.

Развитие «социального» стресса у животных-агрессоров способствовало снижению общего количества лейкоцитов на 44% ( $p < 0,001$ ) по отношению к контрольной группе; на фоне введения изучаемого соединения и «Имунофана» было отмечено увеличение данного показателя по сравнению со стрессированными животными на 82% ( $p < 0,01$ ) и 76% ( $p < 0,01$ ) соответственно. У животных с субмиссивным типом поведения «социальный» стресс спровоцировал снижение общего количества лейкоцитов на 51% ( $p < 0,001$ ) по отношению к контролю; Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro и «Имунофан» способствовали повышению изучаемого показателя в среднем более чем на 90% ( $p < 0,01$ ) в сравнении с «социальным» стрессом.

На фоне развившегося «социального» стресса у животных-агрессоров снижение количества эозинофилов, лимфоцитов и моноцитов на 29% ( $p < 0,05$ ), 18% ( $p > 0,05$ ) и 15% ( $p > 0,05$ ) соответственно в сравнении с контролем, при этом увеличилось количество палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов на 55% ( $p < 0,01$ ) и в 2,1 раза ( $p < 0,001$ ). Такая же тенденция отмечалась у животных-жертв: количество эозинофилов, лимфоцитов и моноцитов уменьшилось на 43% ( $p < 0,01$ ), 19% ( $p > 0,05$ ) и 17% ( $p > 0,05$ ), а количество палочко- и сегментоядерных нейтрофилов увеличилось на 86% ( $p < 0,01$ ) и в 2,1 раза ( $p < 0,001$ ) в сравнении с контрольными

животными. Ведение Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro привело к увеличению эозинофилов, лимфоцитов и моноцитов на 30% ( $p < 0,05$ ), 25% ( $p > 0,05$ ) и 15% ( $p > 0,05$ ); также было отмечено увеличение палочко- и сегментоядерных нейтрофилов при введении Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro на 30% ( $p < 0,05$ ) и 40% ( $p < 0,01$ ) по отношению к животным с «социальным» стрессом; введение «Имунофана» привело к повышению уровня эозинофилов, лимфоцитов, моноцитов на 35% ( $p < 0,01$ ), 23% ( $p > 0,05$ ), 16% ( $p > 0,05$ ) и снижению палочко- и сегментоядерных нейтрофилов на 32% ( $p < 0,05$ ) и 49% ( $p < 0,001$ ) по отношению к «социальному» стрессу.

У животных с субмиссивным типом поведения отмечались те же изменения в сравнении со стрессированными животными: соединение Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro увеличило количество эозинофилов, лимфоцитов и моноцитов на 63% ( $p < 0,01$ ), 28% ( $p > 0,05$ ) и 17% ( $p > 0,05$ ); а также снизило количество палочко- и сегментоядерных нейтрофилов на 37% ( $p < 0,05$ ) и 40% ( $p < 0,01$ ) соответственно; введение «Имунофана» привело к повышению уровня эозинофилов, лимфоцитов, моноцитов на 63% ( $p < 0,01$ ), 24% ( $p > 0,05$ ), 19% ( $p > 0,05$ ) и снижению палочко- и сегментоядерных нейтрофилов на 42% ( $p < 0,01$ ) и 48% ( $p < 0,001$ ) по отношению к «социальному» стрессу.

Влияния Имунофана и Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro (LLAAPGP) на показатели лейкоцитарной формулы в условиях «социального» стресса

Effects of Imunofan and Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro (LLAAPGP) on leukocyte count under conditions of "social" stress

Показатель Indicator (M±m)	Экспериментальные группы (n = 10) Experimental groups (n = 10)			
	Контроль Control	«Социальный» стресс «Social» stress	Имунофан + «социальный» стресс Imunofane + «social» stress	LLAAPGP + «социальный» стресс LLAAPGP+ «social» stress
<b>Животные с агрессивным типом поведения</b> Animals with aggressive behavior				
Эозинофилы, % Eosinophils, %	2.8±0.33	2.0±0.21*	2.7± 0.24 <sup>##</sup>	2.6±0.21 <sup>#</sup>
Палочкоядерные нейтрофилы, % Band neutrophils,%	2.2±0.23	3.4±0.25**	2.3±0.30 <sup>#</sup>	2.4±0.43 <sup>#</sup>
Сегментоядерные нейтрофилы, % Segmental neutrophils,%	12.7±1.59	26.7±1.81***	13.7±1.61 <sup>###</sup>	16.1±1.51 <sup>##</sup>
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	81.5±5.94	67.1±4.27	80.8±4.9	84.0±3.07
Моноциты, % Monocytes, %	0.83±0.15	0.71±0.10	0.82±0.10	0.82±0.11
<b>Животные с субмиссивным типом поведения</b> Animals with a submissive type of behavior				
Эозинофилы, % Eosinophils, %	2.8±0.33	1.6±0.11**	2.6±0.23 <sup>##</sup>	2.6±0.20 <sup>##</sup>
Палочкоядерные нейтрофилы, % Band neutrophils,%	2.2±0.23	4.1±0.40**	2.4±0.30 <sup>##</sup>	2.6±0.30 <sup>#</sup>
Сегментоядерные нейтрофилы, % Segmental neutrophils,%	12.7±1.59	27.1±2.11***	14.1±1.52 <sup>###</sup>	16.1±1.42 <sup>##</sup>
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	81.5±5.95	66.4±4.77	82.1±5.74	85.1±6.24
Моноциты, % Monocytes, %	0.83±0.15	0.69±0.12	0.82±0.14	0.81±0.10

Примечание: сравнение с группой «контроль»: \* – p<0,05, \*\* – p<0,01, \*\*\* – p<0,001; сравнение с группой «социальный» стресс: # – p<0,05, ## – p<0,01, ### – p<0,001.

Note: comparison with the control group: \* – p<0.05, \*\* – p<0.01, \*\*\* – p<0.001; comparison with the "social" stress group: # – p<0.05, ## – p<0.01, ### – p<0.001.

Полученные в ходе настоящего исследования результаты свидетельствуют о том, что нейропептидное соединение Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro способствует коррекции иммунных изменений, возникающих на фоне воздействия хронического «социального» стресса, а именно увеличению индекса реакции гиперчувствительности замедленного типа, уровня антиэритроцитарных антител, общего количества лейкоцитов и снижению фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови (фагоцитарное число и фагоцитарный индекс), а также восстановлению процентного соотношения элементов лейкоцитарной формулы. Выражен-

ность иммунокорректирующей активности соединения Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro сопоставима с результатами изучения иммуотропного действия препарата сравнения «Имунофана» в условиях «социального» стресса. Результаты наших ранее проведенных исследований нейропептидных препаратов подтверждают наличие иммунокорректирующего действия в условиях экспериментальной депрессии на клеточные и гуморальные показатели иммунитета у таких соединений, как АКТИ(4-7)-Pro-Gly-Pro и АКТИ(6-9)-Pro-Gly-Pro [15]. Анализ химической структуры соединения Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro позволил предположить, что его

иммуотропная активность опосредована наличием аминокислот аргинина и лизина. Ацетилирование лизина регулирует активность, стабильность и локализацию метаболических ферментов, а также воспалительные реакции в макрофагах [16]. Относительно аминокислоты аргинина доказаны многосторонние взаимосвязи с иммунологической реактивностью, в реализации которых играют эффекты образующегося из аминокислоты оксида азота, способного оказывать специфическое иммуномодулирующее влияние, а также выступать в качестве одного из основных эффекторов системы клеточного иммунитета. Установлено, что введение аргинина усиливает Т-клеточный иммунный ответ за счет увеличения производства  $\gamma$ -интерферона и повышения уровня противовоспалительных цитокинов [12, 17]. Предположительно определяющая роль в реализации иммуотропного действия отводится аргинину за счет NO-зависимости и способности к модуляции белкового и углеводного метаболизма, повышению продукции Т-лимфоцитов и числа гемопоэтических клеток-предшественников в костном мозге, приводя к усилению ответа Т-клеток на цитокины путем увеличения антиген-презентирующей способности дендритных клеток. Доказано, что введение аргинина способствует снижению уровней IL-6 и моноцитарного хемоаттрактанта. Установлено, что регуляция доступности аргинина является потенциальным механизмом, контролирующим продукцию NO, активацию iNOS и аргиназы, отражающим тип воспалительного ответа в условиях патологического состояния [18]. Наряду с этим, аргинин служит предшественником многочисленных биологически активных соединений таких как, оксида азота, орнитина, пролина и полиаминов, креатина и, следовательно, фосфокреатина и агматина, которые так или иначе участвуют в реализации иммунных механизмов. Следует отметить, что проявление иммунокорректирующего действия у данного соединения также возможно определено наличием последовательности Pro-Gly-Pro. Установлено, что аминокислоты в трипептиде Pro-Gly-Pro играют роль хемоаттрактантов для нейтрофилов, что объясняет корректирующее влияние на фагоцитарную активность нейтрофилов. Иммуотропную активность нейропептидных соединений, содержащих в структуре трипептид Pro-Gly-Pro, некоторые авторы связывают с его взаимодействием со специфическими рецепторами на поверхности макрофагов и лимфоцитов, которые функционально связываются с аденилатциклазой и активируют цАМФ-зависимый сигнальный путь, в результате чего активируются циклические нуклеотидные ионные каналы, играющие важ-

ную роль в процессах хемотаксиса. На сегодняшний день семейство нейропептидов глипролинового ряда активно рассматривается с позиции их влияния на иммунные реакции, что позволяет считать их перспективными фармакологическими агентами при коррекции патологических процессов в иммунной системе и продолжать поиск оптимальных аминокислотных последовательностей [11].

Таким образом, в ходе изучения иммуотропной активности нейропептидного соединения Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro доказано наличие иммунокорректирующего действия в отношении клеточного и гуморального звеньев иммунитета, фагоцитарной активности нейтрофилов и форменных элементов лейкоцитарного ростка, что актуализирует необходимость дальнейшего детального изучения с целью выявления механизма установленного эффекта данного соединения.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

#### ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

#### СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Все исследования одобрены локальным этическим комитетом Астраханского государственного медицинского университета (протокол заключения № 8 от 24 ноября 2015 года) и выполнены в соответствии с Приказом Минздрава России № 199н от 01.04.2016 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики», требованиями Директивы Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях (2010/63/EU).

#### ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Ясенявская А.Л. – анализ и интерпретация данных, подготовка чернового варианта статьи; написание статьи; Цибизова А.А. – анализ и интерпретация данных; подготовка чернового варианта статьи; написание статьи; Андреева Л.А. – анализ и интерпретация данных; написание статьи; Мясоедов Н.Ф. – разработка концепции и дизайна, окончательное утверждение для публикации рукописи; Самотруева М.А. – разработка концепции и дизайна, окончательное утверждение для публикации рукописи.

#### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Cain D.W., Cidlowski J.A. Immune regulation by glucocorticoids. *Nat Rev Immunol.* 2017;17(4): 233–247. DOI: 10.1038/nri.2017.1.
2. Straub R.H., Cutolo M. Psychoneuroimmunology-developments in stress research. *Wien Med Wochenschr.* 2018;168(3-4):76–84. DOI: 10.1007/s10354-017-0574-2.

3. Glaser R., Kiecolt-Glaser J.K. Stress-induced immune dysfunction: implications for health. *Nat Rev Immunol.* 2005;5(3):243–251. DOI: 10.1038/nri1571.
4. Pondeljak N., Lugović-Mihić L. Stress-induced interaction of skin immune cells, hormones, and neurotransmitters. *Clin Thers.* 2020;42(5):757–770. DOI: 10.1016/j.clinthera.2020.03.008.
5. Russell G., Lightman S. The human stress response. *Nat Rev Endocrinol.* 2019;15(9):525–534. DOI: 10.1038/s41574-019-0228-0.
6. Dantzer R., Cohen S., Russo S.J., Dinan T.G. Resilience and immunity. *Brain Behav Immun.* 2018;74: 28–42. DOI: 10.1016/j.bbi.2018.08.010.
7. Baxter M., Ray D.W. Circadian rhythms in innate immunity and stress responses. *Immunology.* 2020;161(4):261–267. DOI: 10.1111/imm.13166.
8. Wei P., Keller C., Li L. Neuropeptides in gut-brain axis and their influence on host immunity and stress. *Comput Struct Biotechnol J.* 2020;18:843–851. DOI: 10.1016/j.csbj.2020.02.018.
9. Lotti T., D'Erme A.M., Hercogová J. The role of neuropeptides in the control of regional immunity. *Clin Dermatol.* 2014;32(5):633–645. DOI: 10.1016/j.clindermatol.2014.04.011.
10. Berczi I., Rotondo F., Kovacs K. *Neuropeptides in Immunoregulation.* In: *Insights to Neuroimmune Biology.* 2016:133–181. DOI: 10.1016/B978-0-12-801770-8.00007-0
11. Колесникова А.А., Толстенюк И.В., Флейшман М.Ю. Биологические эффекты пролинсодержащих олигопептидов. *Дальневосточный медицинский журнал.* 2021;(4):92–99 [Kolesnikova A.A., Tolstenok I.V., Fleishman M.Yu. Biological effects of proline-containing oligopeptides. *Dal'nevostochnyj medicinskij zhurnal.* 2021;(4):92–99 (in Russ)]. DOI: 10.35177/1994-5191-2021-4-19. EDN: UE00FO.
12. Северьянова Л.А., Бобынцев И.И. Механизмы действия аминокислоты L-аргинина на нервную и иммунную регуляторные системы. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье».* 2006;(3):60–75 [Severyanova L.A., Bobyn-tsev I.I. Mechanisms of action of the amino acid L-arginine on the nervous and immune regulatory systems. *Kursk scientific-practical bulletin «Man and his health».* 2006;(3):60–75 (in Russ)]. EDN: KU00IZ.
13. Avgustinovich D.F., Kovalenko I.L., Kudryavtseva N.N. A model of anxious depression: persistence of behavioral pathology. *Neurosci Behav Physiol.* 2005;35(9):917–924. DOI: 10.1007/s11055-005-0146-6.
14. Berger I., Werdermann M., Bornstein S.R., Steenblock C. The adrenal gland in stress - Adaptation on a cellular level. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2019;190:198–206. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2019.04.006.
15. Ясенявская А.Л., Мурталиева В.Х., Андреева Л.А., Самогруева М.А., Мясоедов Н.Ф. Влияние нейропептидов АКТИ(4-7)-Pro-Gly-Pro и АКТИ(6-9)-Pro-Gly-Pro на состояние иммунной системы крыс при экспериментальной депрессии. *Астраханский медицинский журнал.* 2019;14(3):94–103 [Yasenyavskaya A.L., Murtaliev V.H., Andreeva L.A., Samotrueva M.A., Myasoedov N.F. The effect of neuropeptides ACTH(4-7)-Pro-Gly-Pro and ACTH(6-9)-Pro-Gly-Pro on the state of the rat immune system in experimental depression. *Astrakhan medical journal.* 2019;14(3):94–103 (in Russ)]. DOI: 10.17021/2019.14.3.94.103. EDN: TYUAEM.
16. Shakespear M.R., Iyer A., Cheng C.Y., Das Gupta K., Singhal A., Fairlie D.P., Sweet M.J. Lysine Deacetylases and Regulated Glycolysis in Macrophages. *Trends Immunol.* 2018; 39(6): 473-488. DOI: 10.1016/j.it.2018.02.009.
17. Lee Y.C., Su Y.T., Liu T.Y., Tsai C.M., Chang C.H., Yu H.R. L-Arginine and L-Citrulline Supplementation Have Different Programming Effect on Regulatory T-Cells Function of Infantile Rats. *Front Immunol.* 2018;9:2911. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02911.
18. Ognik K., Mikulski D., Konieczka P., Tykałowski B., Krauze M., Stepniowska A., Nynca A., Jankowski J. The immune status, oxidative and epigenetic changes in tissues of turkeys fed diets with different ratios of arginine and lysine. *Sci Rep.* 2021;11(1):15975. DOI: 10.1038/s41598-021-95529-y.

Поступила в редакцию 08.12.2022

Подписана в печать 26.06.2023

---

**Для цитирования:** Ясенявская А.Л., Цибизова А.А., Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф., Самогруева М.А. Оценка иммунотропной активности нейропептидного соединения Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro в условиях «социального» стресса. *Человек и его здоровье.* 2023;26(2):40–49. DOI: 10.21626/vestnik/2023-2/05. EDN: TJSDDW.

---

## EVALUATION OF THE IMMUNOTROPIC ACTIVITY OF NEUROPEPTIDE COMPOUND LYS-LYS-ARG-ARG-PRO-GLY-PRO IN CONDITIONS OF "SOCIAL" STRESS

© Yasenyavskaya A.L.<sup>1</sup>, Tsibizova A.A.<sup>1</sup>, Andreeva L.A.<sup>2</sup>, Myasoedov N.F.<sup>2</sup>, Samotrueva M.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Astrakhan State Medical University (Astrakhan SMU)

121, Bakinskaya Str., Astrakhan, Astrakhan region, 414000, Russian Federation

<sup>2</sup> National Research Center "Kurchatov Institute" (NRC "Kurchatov Institute")

2, Academician Kurchatov Sq., 123182, Moscow, Russian Federation

**Objective:** to investigate immunotropic activity of the arginine-containing neuropeptide compound Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro in conditions of "social" stress.

**Material and methods.** The study was conducted on mongrel male rats of 6 months of age using a model of "social" stress based on the provision of permanent residence of animals in conditions of sensory contact, as a result of which submissive and aggressive types of behavior were formed. All animals were divided into groups: control I – rats who were in a cage one at a time and received water for injection in an equivalent volume; control II – groups of stressed animals with aggressive and submissive types of behavior; three groups of stressed rats were intraperitoneally injected with Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro at a dose of 100 mcg/kg/day and the comparison drug Imunofan (Arginyl-alpha-aspartyl-lysyl-valyl-thyrosyl-arginine) at an average therapeutic dose of 0.7 mcg/kg/day. The following indicators were evaluated: delayed hypersensitivity reaction index, antibody titer of direct hemagglutination reaction, phagocytic activity of peripheral blood neutrophils, leukocyte formula indicators.

**Results.** The results obtained in the course of this study indicate that the arginine-containing neuropeptide compound Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro contributes to the correction of immune changes that occur against the background of exposure to chronic "social" stress, namely, an increase in the delayed hypersensitivity reaction index, the level of anti-erythrocyte antibodies, the total number of leukocytes and a decrease in phagocytic activity of peripheral blood neutrophils (phagocytic number and phagocytic index), as well as restoration of the percentage ratio of elements of the leukocyte formula. Conclusion. Thus, the study of the immunotropic activity of the arginine-containing neuropeptide compound Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro showed the presence of an immunocorrecting effect on the cellular and humoral links of immunity, which actualizes the need for a detailed study of the immune mechanisms of this compound.

**Keywords:** neuropeptides; "social" stress; immunotropy; immunopharmacology; humoral immunity; cellular immunity; phagocytic activity.

**Yasenyavskaya Anna L.** – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Research Center, Associate Professor of the Department of Pharmacognosy, Pharmaceutical Technology and Biotechnology, Astrakhan SMU, Astrakhan, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-2998-2864. E-mail: [yasen\\_9@mail.ru](mailto:yasen_9@mail.ru) (corresponding author)

**Tsybizova Alexandra A.** – Cand. Sci. (Pharm.), Associate Professor at the Department of Pharmacognosy, Pharmaceutical Technology and Biotechnology, Astrakhan SMU, Astrakhan, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-9994-4751. E-mail: [sasha3633@yandex.ru](mailto:sasha3633@yandex.ru)

**Andreeva Lyudmila A.** – Head of the Regulatory Peptides Sector, NRC "Kurchatov Institute", Moscow, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-3927-8590. E-mail: [landr@img.ras.ru](mailto:landr@img.ras.ru)

**Myasoedov Nikolay F.** – Dr. Sci. (Chem.), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Chemistry of physiologically active substances, NRC "Kurchatov Institute", Moscow, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-1294-102X. E-mail: [nfm@img.ras.ru](mailto:nfm@img.ras.ru)

**Samotrueva Marina A.** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Pharmacognosy, Pharmaceutical Technology and Biotechnology, Astrakhan SMU, Astrakhan, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-5336-4455, e-mail: [ms1506@mail.ru](mailto:ms1506@mail.ru)

### CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

### SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

### CONFORMITY WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

All studies were approved by the local ethical committee of Astrakhan State Medical University (report of opinion No. 8 of 24 November 2015) and implemented in accordance with Order of the Ministry of Health of Russia no. 199n of 01.04.2016 «On approval of rules of good laboratory practice» and the requirements of the Directive of the European Parliament and the Council of the European Union on the protection of animals used for scientific purposes (2010/63/EU).

### AUTHORS CONTRIBUTION

Yasenyavskaya A.L. – analysis and interpretation of data, preparation of a draft version of the article; writing of the article; Tsibizova A.A. – data analysis and interpretation; preparation of a draft version of the article, writing of the article; Andreeva L.A. – data analysis and interpretation; writing an article; Myasoedov N.F. – development of the concept and design, final approval for the publication of the manuscript; Samotrueva M.A. – development of the concept and design, final approval for the publication of the manuscript.

Received 08.12.2022

Accepted 26.06.2023

**For citation:** Yasenyavskaya A.L., Tsibizova A.A., Andreeva L.A., Myasoedov N.F., Samotrueva M.A. Evaluation of the immunotropic activity of neuropeptide compound Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro in conditions of "social" stress. *Humans and their health*. 2023;26(2):40–49. DOI: 10.21626/vestnik/2023-2/05. END: TJSDDW