



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 3. С. 345–355
Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2023, vol. 23, iss. 3, pp. 345–355
<https://ichbe.sgu.ru> <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-3-345-355>, EDN: CATNTG

Научная статья
УДК 57.017.35-611.83:615.2

Исследование роли нейротрофических факторов в регуляции регенерационных процессов в поврежденных соматических нервах при действии пептидного препарата «Семакс»



М. В. Парчайкина , Т. П. Кузьменко, Е. В. Чудайкина, М. Ю. Гладышева, Э. С. Ревина, В. В. Ревин

Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н. П. Огарёва, Россия, 430005, Республика Мордовия, г. Саранск, ул. Большевикская, д. 68

Парчайкина Марина Владимировна, кандидат биологических наук, доцент кафедры биотехнологии, биохимии и биоинженерии, mary.isakina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6627-6582>

Кузьменко Татьяна Павловна, аспирант 4-го года обучения, zyuzina-tatjana@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3497-2751>

Чудайкина Елена Викторовна, преподаватель, lena-averkina@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6141-2568>

Гладышева Мария Юрьевна, магистр, maryayuryevnaglad@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0009-7150-0247>

Ревина Эльвира Сергеевна, кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры биотехнологии, биохимии и биоинженерии, rewina.elvira.s@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2418-7012>

Ревин Виктор Васильевич, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры биотехнологии, биохимии и биоинженерии, revinvv2010@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6542-2667>

Аннотация. Исследовано содержание нейротрофических факторов в поврежденных соматических нервах при действии препарата «Семакс» и установлена их роль в регуляции регенерационных процессов в травмированных нервных проводниках. Показано, что внутримышечное введение препарата сопровождается существенным увеличением уровня фактора роста нервов (NGF) и нейротрофина-3 (NT-3) как в проксимальном, так и в дистальном участках нерва. При этом достоверных изменений количественного содержания нейрорегулина-1 на фоне его использования не наблюдается. Полученные данные позволяют предположить, что одним из механизмов действия препарата «Семакс» является его способность взаимодействовать со шванновскими клетками и стимулировать выброс NGF и NT-3, стимулирующих регенерацию поврежденных аксонов и не оказывать влияния на синтез нейрорегулина-1. Кроме этого, исследование количественного содержания отдельных белковых фракций показало, что препарат «Семакс» оказывает наиболее выраженное действие на уровень нейрофиламентов-H в обоих отрезках нервного проводника, что свидетельствует о важной роли и активации сигнального пути митогенактивируемой протеинкиназы (MAPK/ERK), осуществляющего регуляцию процессов синтеза белков цитоскелета и рост аксонов. Тем не менее, было показано, что в варианте опыта с использованием «Семакса» наблюдается снижение уровня ключевого маркера аксонального роста GAP-43 (Growth-associated protein - 43), как в проксимальном, так и в дистальном отрезке нерва. Полученные данные, вероятнее всего, указывают на то, что внутримышечное введение препарата не затрагивает процессы роста аксонов, а направлено на поддержание выживаемости нейронов и ускоренное восстановление функционального состояния нервных волокон, что также подтверждается появлением потенциала действия и способности нерва к его проведению на фоне использования препарата «Семакс».

Ключевые слова: соматический нерв, повреждение, регенерация, нейрорегулины, нейротрофические факторы, Семакс

Для цитирования: Парчайкина М. В., Кузьменко Т. П., Чудайкина Е. В., Гладышева М. Ю., Ревина Э. С., Ревин В. В. Исследование роли нейротрофических факторов в регуляции регенерационных процессов в поврежденных соматических нервах при действии пептидного препарата «Семакс» // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 3. С. 345–355. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-3-345-355>, EDN: CATNTG

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Study of the role of neurotrophic factors in the regulation of regeneration processes in damaged somatic nerves under the action of semax peptide preparation

M. V. Parchaykina , T. P. Kuzmenko, E. V. Chudaikina, M. Yu. Gladysheva, E. S. Revina, V. V. Revin

Ogarev Mordovia State University, 68 Bol'shevistskaya St., 430005 Saransk, Russia

Marina V. Parchaykina, mary.isakina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6627-6582>

© Парчайкина М. В., Кузьменко Т. П., Чудайкина Е. В.,
Гладышева М. Ю., Ревина Э. С., Ревин В. В., 2023



Tatyana P. Kuzmenko, zyuzina-tatjana@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3497-2751>

Elena V. Chudaikina, lena-averkina@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6141-2568>

Maria Yu. Gladysheva, mariyayuryevnaglad@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0009-7150-0247>

Elvira S. Revina, rewina.elvira.s@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2418-7012>

Viktor V. Revin, revinvv2010@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6542-2667>

Abstract. The content of neurotrophic factors in damaged somatic nerves under the action of the drug «Semax» was studied and their role in the regulation of regenerative processes in injured nerve conductors was established. It has been shown that intramuscular administration of the drug is accompanied by a significant increase in the level of NGF and NT-3 both in the proximal and distal parts of the nerve. At the same time, there are no significant changes in the quantitative content of neuroregulin-1 against the background of its use. The data obtained suggest that one of the mechanisms of action of Semax is its ability to interact with Schwann cells and stimulate the release of NGF and NT-3, which facilitate the regeneration of damaged axons and do not affect the synthesis of neuroregulin-1. In addition, the study of the quantitative content of individual protein fractions showed that the drug «Semax» has the most pronounced effect on the level of neurofilament-H in both segments of the nerve conductor, which indicates the important role and activation of the mitogen-activated protein kinase (MAPK / ERK) signalling pathway, which regulates processes of cytoskeletal protein synthesis and axon growth. Nevertheless, it was shown that in the variant of the experiment using Semax, there was a decrease in the level of GAP-43, which is a key marker of axonal growth, both in the proximal and distal segments of the nerve. The data obtained most likely indicate that the intramuscular administration of the drug does not affect the processes of axon growth, but is aimed at maintaining the survival of neurons and accelerated restoration of the functional state of nerve fibres, which is also confirmed by the appearance of an action potential and the ability of the nerve to conduct it against the background of the use of the Semax drug.

Keywords: somatic nerve, damage, regeneration, neuroregulins, neurotrophic factors, Semax

For citation: Parchaykina M. V., Kuzmenko T. P., Chudaikina E. V., Gladysheva M. Yu., Revina E. S., Revin V. V. Study of the role of neurotrophic factors in the regulation of regeneration processes in damaged somatic nerves under the action of semax peptide preparation. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 3, pp. 345–355 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-3-345-355>, EDN: CATNTG

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

В настоящее время все большее внимание исследователей уделяется роли нейротрофических факторов, в частности, фактора роста нервов (NGF), нейротрофинов и нейрорегулинов (NRGs) в регуляции нормального функционирования центральной и периферической нервной системы. Нейротрофин-3 (NT-3) обладает способностью усиливать синаптическую активность в развивающемся нервно-мышечном синапсе, что реализуется за счет активации тирозинкиназы пресинаптической мембраны [1]. Также известно, что нейрорегулин-1 (NRG-1) является ключевым фактором, необходимым для миграции, выживания, пролиферации и дифференцировки шванновских клеток, а также представляет собой важный модулятор нервной возбудимости и синаптической пластичности в мозге взрослого человека [2]. Согласно литературным данным, нейротрофические факторы обеспечивают нейрональную дифференцировку и выживаемость нейронов за счет взаимодействия со своими рецепторами, которые относятся к семейству тирозинкиназных рецепторов (Trk), и распространяют сигнал с участием фосфатидилинозитол-3-киназного (PIK3/Akt) и митогенактивируемого протеинкиназного (MAPK/ERK) сигнальных каскадов. При этом для каждого из нейротрофинов существует свой

специфический высокоафинный рецептор: NGF связывается с TrkA, NT-3 – преимущественно с TrkC, а нейрорегулин-1 – с ErbB, после чего запускается каскад внутриклеточных реакций [3, 4].

Проблема регенерации нервной ткани остается одной из самых актуальных и малоизученных в биологии и медицине, что обусловлено наличием большого количества нейродегенеративных заболеваний и отсутствием эффективных способов их лечения. Существующие в настоящее время подходы к терапии поврежденных нервов не способны поддерживать в течение необходимого времени выживание нервных клеток и рост нейритов – ключевых факторов регенерации нервов. Принимая во внимание значимость данной проблемы, в последние годы наметился определенный прогресс в изучении нейропротекторного действия различных биологически активных веществ и их роли в регуляции сигнальных путей, участвующих в активации процессов восстановления функционирования травмированных нервных проводников [5, 6].

По данным ряда авторов, среди различных классов физиологически активных веществ особый интерес представляют пептиды, оказывающие регулирующее и нейромодулирующее действие на многие физиологические процессы в организме [7]. В связи с этим создание лекарственных средств на основе регуляторных



пептидов, участвующих в поддержании многих физиологических функций и практически полностью лишенных побочных эффектов, в настоящее время наиболее актуально. Одними из обширных групп регуляторных пептидов являются препараты с нейротропной активностью, в частности «Семакс», представляющий собой синтетический аналог фрагмента аденокортикотропного гормона (АКТГ₄₋₇), не имеющий побочных гормональных эффектов и обладающий высокой устойчивостью к действию инактивирующих ферментов за счет присоединения аминокислотной последовательности Pro-Gly-Pro [8]. Препарат «Семакс» относится к классу регуляторных пептидов, представляет собой гептапептид Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro и распадается на короткие фрагменты, что определяет его биологическую активность. Известно, что к основным проявлениям его нейропротекторного действия относится иммуномодуляция, торможение воспалительных реакций и синтез оксида азота [9].

Тем не менее, несмотря на имеющиеся данные о способности препарата «Семакс» стимулировать регенерационные процессы в поврежденной нервной ткани, молекулярные и клеточные механизмы активации процессов регенерации травмированных соматических нервов, а также роль рецепторных сигнальных путей, отвечающих за выживание и восстановление физиологических функций нервного проводника на фоне его использования остаются неизученными.

Исходя из вышесказанного, целью данной работы было изучение роли нейротрофических факторов в регуляции регенерационных процессов в поврежденных соматических нервах при действии пептидного препарата «Семакс». Для достижения цели работы были поставлены следующие задачи:

- исследовать изменение содержания NGF, NT-3 и NRG-1 при дегенеративных и регенеративных процессах в соматических нервах на фоне внутримышечного введения препарата «Семакс»;
- изучить влияние препарата на изменение количественного содержания общего белка и отдельных белковых фракций поврежденных соматических нервов, а также выяснить роль исследуемых нейротрофических факторов в восстановлении функционирования травмированных нервных проводников на фоне использования синтетического аналога АКТГ₄₋₇.

Материалы и методы

Объектом исследования служили седалищные нервы крыс линии *Wistar* со средней

массой 250±50 г. У животных одной опытной группы осуществляли перерезку седалищного нерва на уровне середины бедра. Животным второй группы после перерезки ежедневно внутримышечно вводили препарат «Семакс» в концентрации 37,5 мг/кг. Проксимальный и дистальный концы нервов извлекали через 7, 14 и 30 суток и помещали в раствор Рингера. Контролем служили интактные животные. Биоэлектрическую активность регистрировали для изолированного нерва при его внеклеточном отведении со следующими параметрами стимуляции: амплитуда 1,5 В, длительность 0,3 мс, частота раздражения 100 имп/с [10]. Количественное определение факторов роста NGF, NT-3 и NRG-1 проводили методом иммуноферментного анализа с использованием специальных коммерческих наборов (Cloud-Clone Corp, Китай; Puda Scientific, Китай). Состав белков соматических нервов изучали методом электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) в присутствии додецилсульфата натрия (ДСН) по методу Laemmli [11]. Визуализацию, документацию и количественный анализ полученных белковых гелей осуществляли с помощью геледокументирующей системы Gel Doc XR+ (Bio-Rad, США). Обработку результатов проводили в программе ImageLab. Статистическую обработку проводили с помощью *t*-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

В литературе имеются сведения о способности пептидного препарата «Семакс» стимулировать регенерацию нейронов и нервных отростков после их механических или химических повреждений [9]. Тем не менее, механизм действия этого препарата на регенерацию периферических нервов до сих пор остается неизученным. В связи с этим на первом этапе эксперимента было изучено изменение содержания NGF в проксимальном и дистальном участках нерва после перерезки, а также внутримышечного введения препарата «Семакс» в концентрации 37,5 мг/кг. В ходе проведенных исследований было показано, что при повреждении нерва наиболее выраженное изменение уровня NGF наблюдается на 7-е сутки, как в проксимальном, так и в дистальном отрезках нервного проводника, что сопровождается его снижением на 31,7 и 24,4% соответственно по сравнению с контролем. К 30-м суткам наблюдения содержание NGF становится равным контрольному значению в проксимальном отрезке нерва и превышает его уровень на 11,8% в дистальном участке нервного проводника (рис. 1).

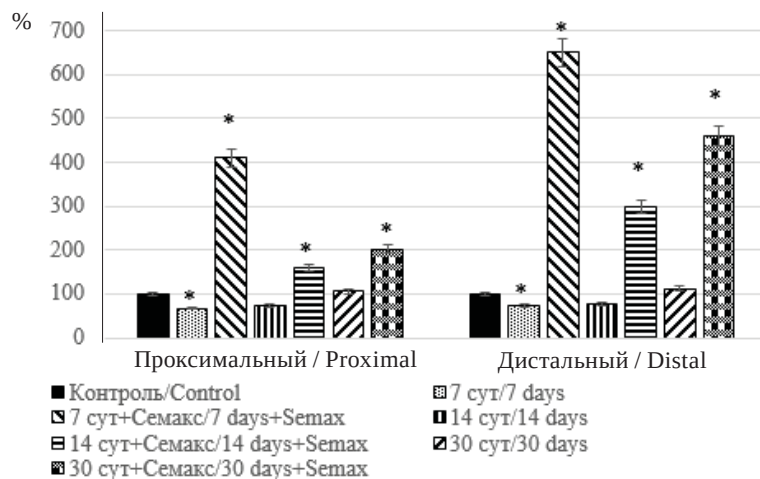


Рис. 1. Изменение общего уровня NGF в поврежденных соматических нервах при действии препарата «Семакс» (* – достоверность отличия по отношению к интактной группе, $p < 0.05$)

Fig. 1. Change in the total level of NGF in damaged somatic nerves under the action of the drug «Semax» (* – the significance of the difference in relation to the intact group, $p < 0.05$)

В серии опытов с использованием препарата к 7-м суткам эксперимента содержание NGF возрастает в проксимальном и дистальном участках нерва в 4,0 и 6,5 раз соответственно по отношению к контролю. С увеличением послеоперационных сроков до 30 суток уровень фактора роста нервов все еще превышает контроль в 2,0 и 4,6 раза в проксимальном и дистальном участках нерва соответственно.

Помимо изменения уровня NGF, в проксимальном и дистальном отделах нерва после его перерезки происходит увеличение концентрации NT-3 на 30,7 и 50,0% соответственно к 7-м суткам наблюдения. Увеличение продолжительности воздействия травмы до 30 суток приводит к снижению уровня NT-3, тем не менее его содержание все еще превышает контрольное значение в обеих частях исследуемого нервного проводника.

Использование препарата «Семакс» сопровождается уменьшением уровня NT-3 на 18,4% по отношению к контролю спустя 7 суток наблюдения и его увеличением на 54,6% к 30-м суткам эксперимента в варианте опыта в проксимальном отрезке нерва. При внутримышечном использовании «Семакса» в дистальном отделе нервного проводника происходят следующие изменения: спустя 7, 14 и 30 суток после повреждения уровень нейротрофина-3 повышается в среднем в 3,0; 2,6 и 1,6 раза соответственно по отношению к контролю (рис. 2).

Нейрорегулины представляют собой семейство нейротрофических факторов, воз-

действующих на тирозинкиназы ErbB (ErbB2, ErbB3 и ErbB4) и опосредующих нейронную дифференцировку, миелинизацию и формирование синапсов, благодаря чему сигнальный путь, связанный с их активацией, контролирует ключевые физиологические нейронные функции, необходимые для успешного протекания регенерационных процессов [12].

В связи с вышеизложенным следующим этапом эксперимента было определение содержания нейрорегулина-1 в интактных и поврежденных нервах при воздействии препарата «Семакс». В варианте опыта с повреждением в проксимальном участке нерва на 7-, 14- и 30-е сутки отмечается значительное увеличение концентрации NRG-1 на 85,6, 75,6 и 38,3% соответственно по сравнению с контрольными значениями. Следует отметить, что данная тенденция прослеживается и в дистальном отделе нервного проводника (рис. 3).

В серии опытов с использованием препарата в проксимальном участке нерва на 7-е и 14-е сутки наблюдения достоверных изменений количественного содержания нейрорегулина-1 по сравнению с перерезкой не наблюдается. На 30-е сутки после травмы содержание NRG-1 незначительно превышает контрольные значения. В дистальном отделе при введении препарата «Семакс» на 7-е, 14-е и 30-е сутки после повреждения количество NRG-1 по-прежнему превышает уровень контрольных значений на 41,6, 40,9 и 51% соответственно.

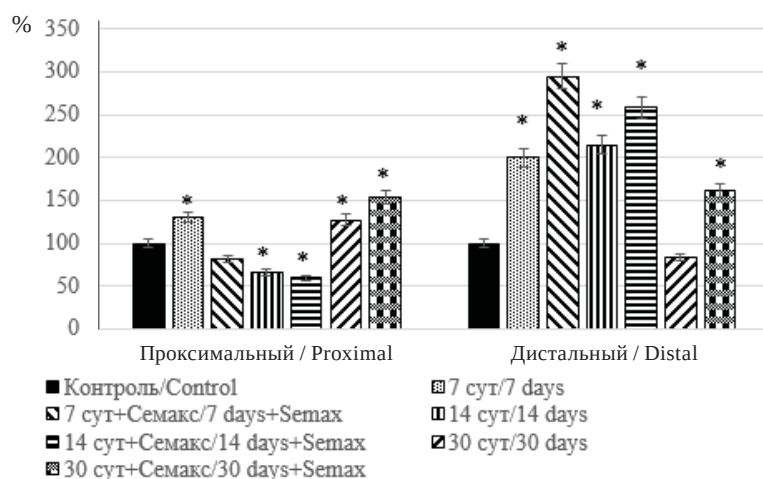


Рис. 2. Влияние препарата «Семакс» на изменение концентрации NT-3 в поврежденных соматических нервах (* – достоверность отличия по отношению к интактной группе, $p < 0.05$)

Fig. 2. The effect of Semax on the change in the concentration of NT-3 in damaged somatic nerves (* – the significance of the difference in relation to the intact group, $p < 0.05$)

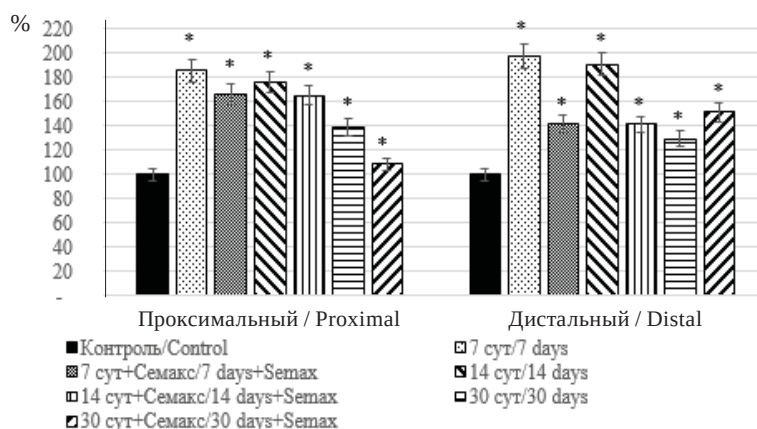


Рис. 3. Влияние препарата «Семакс» на изменение концентрации нейрорегулина-1 в поврежденных соматических нервах (* – достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0.05$)

Fig. 3. The effect of Semax on the change in the concentration of neuroregulin-1 in damaged somatic nerves (* – the significance of the difference in relation to the control, $p < 0.05$)

Принимая во внимание литературные данные, активация Akt в результате запуска фосфатидилинозитол-3-киназного сигнального пути под действием нейротрофических факторов сопровождается антиапоптотическим эффектом за счет экспрессии генов, участвующих в дифференцировке и выживаемости клеток. В частности, активация Akt по Thr308 приводит к повышению экспрессии транскрипционных факторов и рапамицинового комплекса млекопитающих (mTORC1) и p70S6K, которые усиливают синтез белка. Фосфорилирование

Akt по Ser473 mTORC2 способствует запуску антиапоптотических путей выживания клеток [13, 14]. С другой стороны, показано, что ERK1/2, один из участников MAP-киназного сигнального пути, также связан с активацией ветвления и аксонального роста нервных волокон за счет экспрессии антиапоптотических факторов транскрипции [15].

В соответствии с вышесказанным активация фосфатидилинозитол-3-киназного сигнального пути под действием нейротрофических факторов сопровождается интенсификацией



фикацией белкового синтеза. Исходя из этого, на следующем этапе эксперимента нами было исследовано изменение содержания отдельных белковых фракций, а также ключевого маркера аксонального роста белка GAP-43 при повреждении и внутримышечном введении препарата «Семакс».

С помощью метода электрофореза на ПААГ был изучен качественный состав белковой фракции исследуемых интактных и поврежденных нервов. В интактном нерве были выявлены белки нейрофиламентов-Н (NF-Н, 190-200 кДа), нейрофиламентов-М (NF-М, 140 - 160 кДа), тубулина (110 кДа), GAP-43 (27 кДа) (рис. 4).

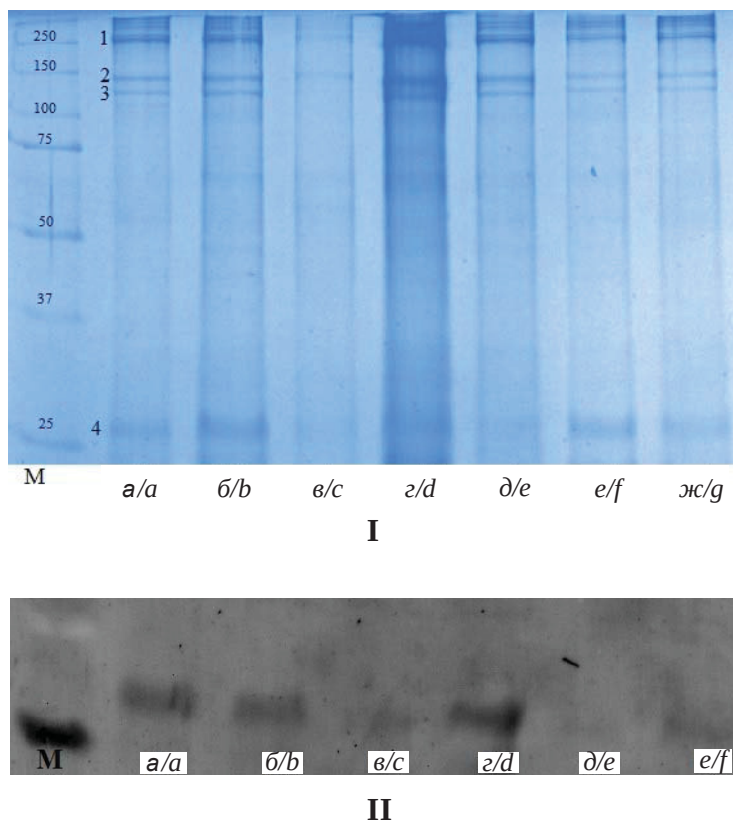


Рис. 4. Электрофореграмма белков (I) и вестерн-блотт анализ уровня GAP-43 (II) поврежденных соматических нервов, выделенных через 7, 14 и 30 суток после перерезки: М – маркер; а – контроль; б – проксимальный участок, 7-е сутки; в – дистальный участок, 7-е сутки; г – проксимальный участок, 14 суток; д – дистальный участок, 14 суток; е – проксимальный участок, 30 суток; ж – дистальный участок, 30 суток. 1 – нейрофиламенты-Н, 2 – нейрофиламенты-М; 3 – тубулин; 4 – GAP-43

Fig. 4. Electropherogram of proteins (I) and Western blot analysis of the level of GAP-43 (II) of damaged somatic nerves isolated 7, 14 and 30 days after transection: M – marker; a – control; b – proximal area, day 7; c – distal site, 7 days; d – proximal area, 14 days; e – distal site, 14 days; f – proximal area, 30 days; g – distal site, 30 days. 1 – neurofilaments-N, 2 – neurofilaments-M, 3 – tubulin; 4 – GAP-43

Было показано, что в проксимальном отрезке нерва содержание нейрофиламентов-Н, нейрофиламентов-М и тубулина после травмы снижается в среднем на 22% к 7-м суткам наблюдения. С увеличением послеоперационных сроков до 30 суток концентрация исследуемых белковых фракций превышает контрольные

значения, при этом максимальное увеличение наблюдается во фракции тубулина и превышает контроль на 34,8%.

В дистальном его отрезке спустя 7 суток после повреждения количественное содержание фракций NF-Н, NF-М и тубулина уменьшается более чем в 2 раза относительно



контроля. Было показано, что содержание нейрофиламента-Н, нейрофиламента-М и тубулина на 30-е сутки возрастает относительно контроля на 39,7, 26 и 14,5% соответственно (рис. 5).

Также было проведено качественное исследование белкового состава поврежденного нерва с ежедневным введением препарата «Семакс» в концентрации 37,5 мг/кг на протяжении 7, 14 и 30 суток (рис. 6).

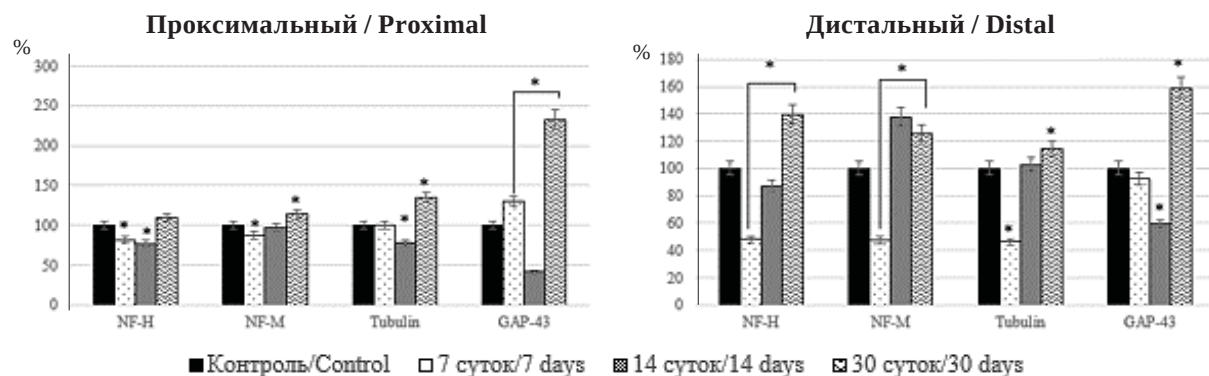


Рис. 5. Изменение содержания отдельных белковых фракций в поврежденных соматических нервах (* – $p < 0,05$ по сравнению с контролем)

Fig. 5. Changes in the content of individual protein fractions in damaged somatic nerves (* – $p < 0.05$ compared to control)

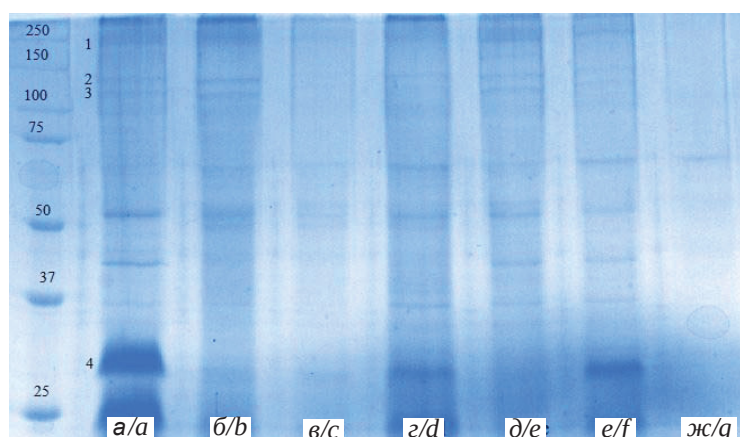


Рис. 6. Электрофореграмма белкового состава поврежденного нерва с введением препарата «Семакс» в концентрации 37,5 мг/кг: а – контроль; б – проксимальный участок, 7 суток; в – дистальный участок, 7 суток; г – проксимальный участок, 14 суток; д – дистальный участок, 14 суток; е – проксимальный участок, 30 суток; ж – дистальный участок, 30 суток. 1 – нейрофиламенты-Н, 2 – нейрофиламенты-М, 3 – тубулин; 4 – GAP-43

Fig. 6. The electrophoregram of the protein composition of the damaged nerve with the introduction of the drug «Semax» at a concentration of 37.5 mg/kg: a – control; b – proximal area, 7 days; c – distal site, 7 days; d – proximal area, 14 days; e – distal site, 14 days; f – proximal area, 30 days; g – distal site, 30 days. 1 – neurofilaments-N, 2 – neurofilaments-M, 3 – tubulin; 4 – GAP-43

Так, на 7-е сутки эксперимента в проксимальном отделе нерва содержание NF-M и тубулина снижается на 30,1 и 54,9% относительно контрольных значений. С увеличением послеоперационных сроков до 30 суток количество NF-M и тубулина уменьшается и становится ниже уровня контроля на 66,7 и 85% соответственно.

Количественное содержание белковой фракции с NF-H в варианте опыта с использованием препарата на 7-е, 14-е и 30-е сутки эксперимента увеличивается на 39,3, 40,1 и 21,1% соответственно.

В дистальном отделе поврежденного нерва содержание белков NF-H, NF-M и тубулина на



7-е сутки после травмы и внутримышечного введения препарата снижается на 22,2, 27,4 и 19,6% соответственно по сравнению с контролем. На 30-е сутки эксперимента содержание

NF-H уменьшается на 42,2% по отношению к контролю, а концентрация нейрофиламента-M и тубулина обнаруживается в следовых количествах (рис. 7).

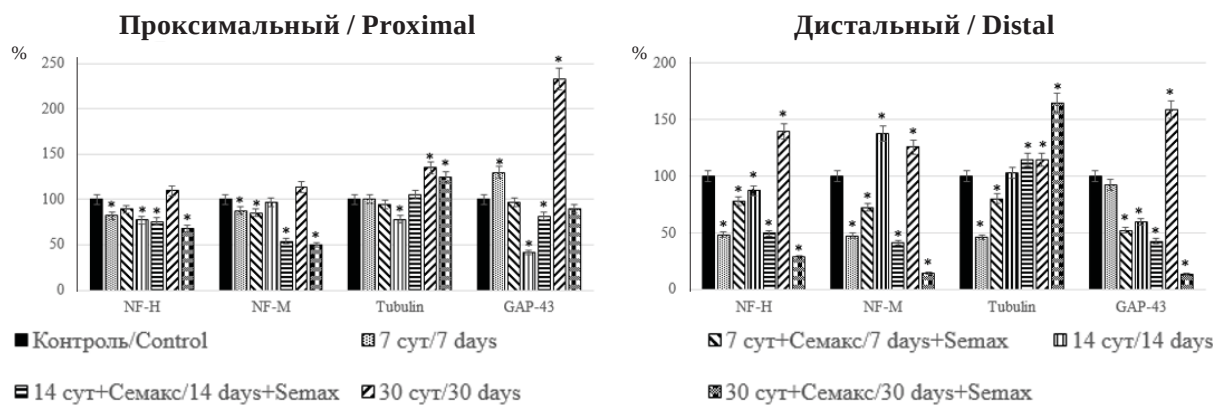


Рис. 7. Содержание белковых фракций в поврежденных нервах при действии препарата «Семакс» в концентрации 37,5 мг/кг (* – $p < 0,05$ по отношению к контролю)

Fig. 7. The content of protein fractions in damaged nerves under the action of the drug «Semax» at a concentration of 37.5 mg/kg (* – $p < 0.05$ in relation to control)

В последние годы появились данные о том, что фрагменты АКТГ₁₋₂₇ и АКТГ₁₋₁₄ способны взаимодействовать с клеточной мембраной и активировать сигнальный белок конуса роста – GAP-43. Считается, что GAP-43 связывает кальмодулин в неактивной форме и тем самым влияет на многие Ca²⁺-зависимые процессы в нервной терминали [16].

Согласно результатам проведенных исследований, уровень GAP-43 возрастает как на 7-е, так и на 30-е сутки эксперимента в 1,3 раза и в 2,3 раза соответственно по сравнению с неповрежденным нервом. В дистальном отрезке нерва содержание GAP-43 снижается к 14-м суткам наблюдения на 40,4% относительно контроля, однако с увеличением времени повреждающего воздействия до 30 суток отмечается увеличение данного показателя в 1,6 раза по сравнению с контрольным значением. В варианте опыта с использованием препарата «Семакс» в проксимальном участке нерва уровень GAP-43 на 7-е и 30-е сутки эксперимента снижается по сравнению с контрольными значениями на 34 и 49,2% соответственно. В дистальной его части на 7-е сутки внутримышечного введения препарата значительно уменьшается количественное содержание GAP-43 – на 47,5%, а к 30-м суткам – на 71,7% относительно контроля.

Известно, что способность нервных волокон проводить потенциал действия является

важнейшей характеристикой, отражающей эффективность протекания регенерационных процессов при травме соматических нервов. Исходя из этого, в следующей серии экспериментов нами была проведена регистрация электрической активности соматических нервов при повреждении и действии препарата «Семакс».

Из литературы известно, что скорость проведения возбуждения по нервным волокнам зависит, в первую очередь, от степени миелинизации и диаметра аксонов, а также определяется межперехватными расстояниями и характером распределения ионных каналов на поверхности аксона [17]. Эксперимент показал, что в результате полученной травмы проводимость нерва заметно снижается в проксимальном его участке и полностью утрачивается в дистальном отрезке нервного проводника (рис. 8).

С увеличением времени эксперимента восстановление способности проведения потенциала действия с небольшой амплитудой отмечается только в проксимальном отрезке нерва, что по-видимому объясняется сохранением центральной иннервации и частичным восстановлением нервно-мышечной передачи. В варианте опыта с повреждением амплитуда потенциала действия снижается в среднем на 50% по сравнению с контролем на протяжении всего периода наблюдения, в то время как внутримышечное введение препарата «Семакс» со-

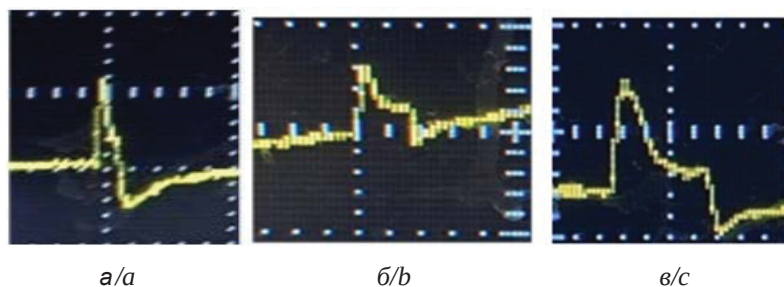


Рис. 8. Потенциал действия соматического нерва крысы. Масштаб по шкале потенциала: 100 мВ на клетку; масштаб по времени: а – 0,5 мс, б – 0,25 мс, в – 0,1 мс на клетку: интактный нерв (а); 24-е сутки после повреждения (б) и при в/м введении семакса в концентрации 37,5 мг/кг (в)

Fig. 8. Action potential of the rat somatic nerve. Potential scale: 100 mV per cell; time scale: a – 0.5 ms, b – 0.25 ms, c – 0.1 ms per cell: intact nerve (a); 24 days after injury (b) and with intramuscular injection of Semax at a concentration of 37.5 mg/kg (c)

проводится восстановлением проводимости в проксимальном отрезке нерва практически до контрольных значений к концу эксперимента.

Таким образом, полученные нами данные по исследованию влияния «Семакса» на содержание нейротрофических факторов и отдельных белковых фракций в проксимальном и дистальном отрезках травмированного нервного проводника коррелируют с восстановлением функциональной активности поврежденных соматических нервов.

Заключение

В настоящее время ведется интенсивный поиск биологически активных соединений, способных стимулировать регенерацию аксонов и нейронов после аксотомии. Одним из перспективных нейротрофических агентов является препарат «Семакс», представляющий собой синтетический аналог фрагмента АКТГ₄₋₁₀. Однако характер его действия на регенерацию периферических аксонов до сих пор не исследован.

Исходя из полученных данных, увеличение содержания нейротрофических факторов в поврежденном нервном проводнике до 14 суток наблюдения свидетельствует об активации регенерационных процессов на фоне травмы. Использование препарата «Семакс» сопровождается еще более выраженным возрастанием уровня NGF и NT-3 в обоих участках нерва на всем протяжении эксперимента. Следует отметить, что на фоне использования препарата достоверных изменений количественного содержания нейрорегулина-1 как в проксимальном, так и в дистальном отрезках нерва не наблю-

дается. Полученные данные позволяют предположить, что одним из механизмов действия препарата «Семакс» является его способность взаимодействовать со шванновскими клетками и стимулировать выброс таких нейротрофических факторов, как NGF и NT-3, облегчающих регенерацию поврежденных аксонов и не оказывающих влияния на синтез нейрорегулина-1. В пользу этого предположения свидетельствуют литературные данные о наличии рецепторов к фрагменту АКТГ₄₋₁₀ в центральной и периферической нервной системе [9]. В частности, в одной из работ было показано, что синтетический аналог АКТГ₄₋₁₀ приводит к стимуляции выработки молекул-рецепторов к NGF, стимулирующих регенерацию травмированных аксонов [18]. Таким образом, увеличение содержания NGF и NT-3 на фоне использования препарата «Семакс» приводит к запуску фосфатидилинозитол-3-киназного сигнального пути, что подтверждается полученными нами данными об активации белкового синтеза в поврежденных соматических нервах. Проведенный анализ количественного содержания отдельных белковых фракций показал, что препарат «Семакс» оказывает наиболее выраженное действие на содержание NF-H в обоих отрезках нервного проводника. Следует отметить, что в дистальном его участке наблюдается еще более существенная интенсификация синтеза NF-H при действии препарата. Полученные данные согласуются с данными литературы, свидетельствующими о важной роли и активации сигнального пути митогенактивируемой протеинкиназы (MAPK/ERK), осуществляющего регуляцию процессов



синтеза белков цитоскелета и рост аксонов [14, 15]. Тем не менее, было показано, что в варианте опыта с использованием «Семакса» наблюдается снижение уровня GAP-43, являющегося ключевым маркером аксонального роста, как в проксимальном, так и в дистальном отрезке нерва. Полученные данные, вероятнее всего, указывают на то, что «Семакс», в первую очередь, способствует не ускоренному росту, а выживанию поврежденных нейронов и восстановлению функционального состояния нервных волокон.

Таким образом, на основании совокупности полученных нами данных можно предположить наличие у пептидного препарата «Семакс» стимулирующего действия на посттравматическую регенерацию нервных проводников за счет взаимодействия с рецепторами шванновских клеток и повышением содержания таких нейротрофических факторов, как NGF и NT-3, запускающих внутриклеточные сигнальные каскады, связанные с усилением белкового синтеза и восстановлением функциональной проводимости поврежденных нервных волокон. Тем не менее, отсутствие положительного действия препарата на увеличение содержания GAP-43 в травмированных соматических нервах позволяет предположить, что внутримышечное введение «Семакса», вероятнее всего, не затрагивает процессы роста аксонов, а направлено на поддержание выживаемости нейронов и ускоренное восстановление их структурно-функционального состояния.

Список литературы

1. *Hernández-Echeagaray E.* Chapter Four – Neurotrophin-3 modulates synaptic transmission // *Vitamins and Hormones*. 2020. Vol. 114. P. 71–89. <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2020.04.008>
2. *Cespedes J.C., Liu M., Harbuzariu A., Nti A., Onyekaba J., Cespedes H. W., Bharti P. K., Solomon W., Anyaoha P., Krishna S., Adjei A., Botchway F., Ford B., Stiles J. K.* Neuregulin in health and disease // *Inter. J. Brain Disord. Treat.* 2018. Vol. 4, iss. 1. P. 024. <https://doi.org/10.23937/2469-5866/1410024>
3. *Sánchez-Alegría K., Flores-León M., Avila-Muñoz E., Rodríguez-Corona N., Arias C.* PI3K Signaling in neurons: A central node for the control of multiple functions // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. Vol. 19. P. 3725.
4. *Zhang X., He X., Li Q., Kong X., Ou Z., Zhang L., Gong Z., Long D., Li J., Zhang M., Ji W., Zhang W., Xu L., Xuan A.* PI3K/AKT/mTOR signaling mediates valproic acid-induced neuronal differentiation of neural stem cells through epigenetic modifications // *Stem Cell Reports*. 2017. Vol. 8, Iss. 5. P. 1256–1269. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2017.04.006>
5. *Pinyaev S. I., Kuzmenko T. P., Revina N. V., Parchaykina M. V., Pronin A. S., Syusin I. V., Novozhilova O. S., Revin V. V., Chudaikina E. V., Revina E. S.* Influence of resveratrol on oxidation processes and lipid phase characteristics in damaged somatic nerves // *Biomed. Res. Int.* 2019. Vol. 2019. P. 2381907. <https://doi.org/10.1155/2019/2381907>
6. *Bota O., Fodor L.* The influence of drugs on peripheral nerve regeneration // *Drug Metabolism Reviews*. 2019. Vol. 51, iss. 3. P. 266–292. <https://doi.org/10.1080/03602532.2019.1632885>
7. *Королева С. В., Мясоедов Н. Ф.* Семакс – универсальный препарат для терапии и исследований // *Известия Российской академии наук. Серия биологическая*. 2018. № 6. С. 669–682.
8. *Akimov M. G., Fomina-Ageeva E. V., Dudina P. V., Andreeva L. A., Myasoedov N. F., Bezuglov V. V.* ACTH(6-9)PGP peptide protects SH-SY5Y cells from H₂O₂, tert-Butyl hydroperoxide, and cyanide cytotoxicity via stimulation of proliferation and induction of prosurvival-related genes // *Molecules*. 2021. Vol. 26, iss. 7. P. 1878. <https://doi.org/10.3390/molecules26071878>
9. *Bakaeva Z. V., Surin A. M., Lizunova N. V., Zgodova A. E., Krasilnikova I. A., Fisenko A. P., Frolov D. A., Andreeva L. A., Myasoedov N. F., Pinelis V. G.* Neuroprotective potential of peptides HFRWPGP (ACTH6-9PGP), KRRRPGP, and PyrRP in cultured cortical neurons at glutamate excitotoxicity // *Dokl. Biochem. Biophys.* 2020. Vol. 491, iss. 1. P. 62–66. <https://doi.org/10.1134/S1607672920020040>
10. *Кузьменко Т. П., Парчайкина М. В., Ревина Э. С., Гладышева М. Ю., Ревин В. В.* Влияние нейротрофических факторов на состав белков при повреждении и регенерации соматических нервов // *Биофизика*. 2023. Т. 68, № 2. С. 334–348. <https://doi.org/10.31857/S0006302923020138>
11. *Laemmli U.K.* Cleavage of Structural Proteins During the Assembly of the Head of Bacteriophage T4 // *Nature*. 1970. Vol. 227. P. 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
12. *Newbern J., Birchmeier C.* Nrg1/ErbB signaling networks in Schwann cell development and myelination // *Semin. Cell Dev. Biol.* 2010. Vol. 21. P. 922–928. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2010.08.008>
13. *Querfurth H., Lee H. K.* Mammalian/mechanistic target of rapamycin (mTOR) complexes in neurodegeneration // *Mol. Neurodegener.* 2021. Vol. 16, iss. 1. P. 44. <https://doi.org/10.1186/s13024-021-00428-5>
14. *Huang H., Liu H., Yan R., Hu M.* PI3K/Akt and ERK/MAPK signaling promote different aspects of neuron survival and axonal regrowth following rat facial nerve axotomy // *Neurochem. Res.* 2017. Vol. 42, iss. 12. P. 3515–3524. <https://doi.org/10.1007/s11064-017-2399-1>
15. *Hutton S. R., Otis J. M., Kim E. M., Lamsal Y., Stuber G. D., Snider W. D.* ERK/MAPK signaling is required for pathway-specific striatal motor functions // *J. Neurosci.* 2017. Vol. 37, iss. 34. P. 8102–8115. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0473-17.2017>
16. *Wang C. Y., Lin H. C., Song Y. P., Hsu Y.T., Lin S. Y., Hsu P. C., Lin C. H., Hung C. C., Hsu M. C., Kuo Y. M., Lee Y. J., Hsu C. Y., Lee Y. H.* Protein kinase C-dependent



- growth-associated protein 43 phosphorylation regulates gephyrin aggregation at developing GABAergic synapses // *Mol. Cell Biol.* 2015. Vol. 35, iss. 10. P. 1712–1726. <https://doi.org/10.1128/MCB.01332-14>
17. Fyffe-Maricich S. L., Schott A., Karl M., Krasno J., Miller R. H. Signaling through ERK1/2 controls myelin thickness during myelin repair in the adult central nervous system // *J. Neurosci.* 2013. Vol. 33, iss. 47. P. 18402–18408. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2381-13.2013>
 18. Пожилова Е. В., Новиков В. Е. Фармакодинамика и клиническое применение нейропептида АКТГ₄₋₁₀ // *Вестник Смоленской государственной медицинской академии.* 2020. Т. 19, № 3. С. 76–86. <https://doi.org/10.37903/vsgma.2020.3.10>
- ### References
1. Hernández-Echeagaray E. Chapter Four – Neurotrophin-3 modulates synaptic transmission. *Vitamins and Hormones*, 2020, vol. 114, pp. 71–89. <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2020.04.008>
 2. Cespedes J. C., Liu M., Harbuzariu A., Nti A., Onyekaba J., Cespedes H. W., Bharti P. K., Solomon W., Anyaoha P., Krishna S., Adjei A., Botchway F., Ford B., Stiles J. K. Neuregulin in health and disease. *Inter. J. Brain Disord. Treat.*, 2018, vol. 4, iss. 1, pp. 024. <https://doi.org/10.23937/2469-5866/1410024>
 3. Sánchez-Alegría K., Flores-León M., Avila-Muñoz E., Rodríguez-Corona N., Arias C. PI3K signaling in neurons: A central node for the control of multiple functions. *Int. J. Mol. Sci.*, 2018, vol. 19, pp. 3725.
 4. Zhang X., He X., Li Q., Kong X., Ou Z., Zhang L., Gong Z., Long D., Li J., Zhang M., Ji W., Zhang W., Xu L., Xuan A. PI3K/AKT/mTOR signaling mediates valproic acid-induced neuronal differentiation of neural stem cells through epigenetic modifications. *Stem Cell Reports*, 2017, vol. 8, iss. 5, pp. 1256–1269. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2017.04.006>
 5. Pinyaev S. I., Kuzmenko T. P., Revina N. V., Parchaykina M. V., Pronin A. S., Syusin I. V., Novozhilova O. S., Revin V. V., Chudaikina E. V., Revina E. S. Influence of resveratrol on oxidation processes and lipid phase characteristics in damaged somatic nerves. *Biomed Res Int.*, 2019, vol. 2019, pp. 2381907. <https://doi.org/10.1155/2019/2381907>
 6. Bota O., Fodor L. The influence of drugs on peripheral nerve regeneration. *Drug Metabolism Reviews*, 2019, vol. 51, iss. 3, pp. 266–292. <https://doi.org/10.1080/03602532.2019.1632885>
 7. Koroleva S. V., Miasoedov N. F. Semax is a universal drug for therapy and research. *Izvestiya Rossiiskoi Akademii Nauk. Biological series*, 2018, no. 6, pp. 669–682 (in Russian).
 8. Akimov M. G., Fomina-Ageeva E. V., Dudina P. V., Andreeva L. A., Myasoyedov N. F., Bezuglov V. V. ACTH(6-9)PGP Peptide Protects SH-SY5Y Cells from H₂O₂, tert-Butyl hydroperoxide, and cyanide cytotoxicity via stimulation of proliferation and induction of pro-survival-related genes. *Molecules*, 2021, vol. 26, iss. 7, pp. 1878. <https://doi.org/10.3390/molecules26071878>
 9. Bakaeva Z. V., Surin A. M., Lizunova N. V., Zgodova A. E., Krasilnikova I. A., Fisenko A. P., Frolov D. A., Andreeva L. A., Myasoyedov N. F., Pinelis V. G. Neuroprotective potential of peptides HFRWP GP (ACTH6-9PGP), KKRRP GP, and PyrRP in cultured cortical neurons at glutamate excitotoxicity. *Dokl. Biochem. Biophys.*, 2020, vol. 491, iss. 1, pp. 62–66. <https://doi.org/10.1134/S1607672920020040>
 10. Kuz'menko T. P., Parchajkina M. V., Revina Je. S., Gladysheva M. Ju., Revin V. V. Influence of neurotrophic factors on the composition of proteins during damage and regeneration of somatic nerves. *Biophysics*, 2023, vol. 68, no. 2, pp. 334–348 (in Russian). <https://doi.org/10.31857/S0006302923020138>
 11. Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 1970, vol. 227, pp. 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
 12. Newbern J., Birchmeier C. Nrg1/ErbB signaling networks in Schwann cell development and myelination. *Semin. Cell Dev. Biol.*, 2010, vol. 21, pp. 922–928. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2010.08.008>
 13. Querfurth H., Lee H. K. Mammalian/mechanistic target of rapamycin (mTOR) complexes in neurodegeneration. *Mol. Neurodegener*, 2021, vol. 16, iss. 1, pp. 44. <https://doi.org/10.1186/s13024-021-00428-5>
 14. Huang H., Liu H., Yan R., Hu M. PI3K/Akt and ERK/MAPK signaling promote different aspects of neuron survival and axonal regrowth following rat facial nerve axotomy. *Neurochem. Res.*, 2017, vol. 42, iss. 12, pp. 3515–3524. <https://doi.org/10.1007/s11064-017-2399-1>
 15. Hutton S. R., Otis J. M., Kim E. M., Lamsal Y., Stuber G. D., Snider W. D. ERK/MAPK signaling is required for pathway-specific striatal motor functions. *J. Neurosci.*, 2017, vol. 37, iss. 34, pp. 8102–8115. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0473-17.2017>
 16. Wang C. Y., Lin H. C., Song Y. P., Hsu Y. T., Lin S. Y., Hsu P. C., Lin C. H., Hung C. C., Hsu M. C., Kuo Y. M., Lee Y. J., Hsu C. Y., Lee Y. H. Protein kinase C-dependent growth-associated protein 43 phosphorylation regulates gephyrin aggregation at developing GABAergic synapses. *Mol. Cell Biol.*, 2015, vol. 35, iss. 10, pp. 1712–1726. <https://doi.org/10.1128/MCB.01332-14>
 17. Fyffe-Maricich S. L., Schott A., Karl M., Krasno J., Miller R. H. Signaling through ERK1/2 controls myelin thickness during myelin repair in the adult central nervous system. *J. Neurosci.*, 2013, vol. 33, iss. 47, pp. 18402–18408. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2381-13.2013>
 18. Pozhilova E. V., Novikov V. E. Pharmacodynamics and clinical use of the neuropeptide ACTH4-10. *Bulletin of the Smolensk State Medical Academy*, 2020, vol. 19, no. 3, pp. 76–86 (in Russian). <https://doi.org/10.37903/vsgma.2020.3.10>

Поступила в редакцию 30.06.2023; одобрена после рецензирования 01.07.2023; принята к публикации 03.07.2023
The article was submitted 30.06.2023; approved after reviewing 01.07.2023; accepted for publication 03.07.2023