

УДК 57.021

АНАЛЬГЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОГО МИМЕТИКА НЕЙРОТРОФИНА-3 ДИПЕПТИДА ГТС-301

© 2025 г. Л. Г. Колик*, М. А. Константинопольский, Н. М. Сазонова,
член-корреспондент РАН А. Д. Дурнев, член-корреспондент РАН Т. А. Гудашева

Поступило 19.10.2024 г.

После доработки 27.10.2024 г.

Принято к публикации 28.10.2024 г.

Ранее было показано, что оригинальный дипептидный миметик 4-й петли нейротрофина-3 (NT-3) гексаметилендиамид бис-(N-моносукцинил-L-аспарагинил-L-аспарагина) (ГТС-301), как и полноразмерный нейротрофин, преимущественно активирует тирозинкиназный рецептор TrkC и обладает нейропротективным эффектом *in vitro* в концентрациях 10^{-5} – 10^{-12} М, а также при системном введении на грызунах – антидиабетическим (0.1 и 0.5 мг/кг) и антидепрессивным (5 и 10 мг/кг) эффектами. В настоящей работе выявлены анальгетические свойства ГТС-301, которые проявлялись в диапазоне доз 0.01–10.0 мг/кг при однократном внутривнутрибрюшинном введении в тесте “отдергивание хвоста” у крыс. Дипептид ГТС-301 повышал порог болевой реакции на 20–30%, и данный эффект сохранялся в течение 24 ч после введения.

Ключевые слова: NT-3, низкомолекулярный миметик, дипептид, ГТС-301, анальгезия, крысы

DOI: 10.31857/S2686738925010166, **EDN:** tcgina

Представитель семейства нейротрофинов нейротрофин-3 (NT-3) впервые обнаружен группой ученых из Института Макса Планка в 1990 году [1]. В том же году другая группа исследователей выделила и обнаружила NT-3 в почках, легких, мозжечке, продолговатом мозге и гиппокампе, предположив, что широкое распространение этого нейротрофина свидетельствует о его важной роли как трофического фактора для роста симпатических и сенсорных нейронов [2].

В настоящее время накоплены экспериментальные данные об антиноцицептивных эффектах NT-3. При внутримозговом введении в область среднего мозга NT-3 повышал болевой порог у взрослых крыс в тесте “отдергивание хвоста” [3]. NT-3 при остром внутривнутрибрюшинном (в/б) введении вызывал механическую гипоальгезию, ассоциированную со снижением высвобождения субстанции P в спинном мозге [4], а при однократной подкожной инъекции – устранял воспалительную гиперальгезию у крыс [5]. На модели периферической

нейропатии NT-3 при введении непосредственно в спинномозговой канал предотвращал развитие термической гиперчувствительности [6].

Используя авторскую стратегию создания фармакологически пригодных низкомолекулярных миметиков нейротрофинов [7], на основе структуры экспонированного участка 4-й петли NT-3 был создан его димерный дипептидный миметик, гексаметилендиамид бис-(N-моносукцинил-L-аспарагинил-L-аспарагина) (ГТС-301) [8] (рис. 1).



Соединение ГТС-301, подобно полноразмерному нейротрофину-3, вызывало активацию тирозинкиназных рецепторов TrkC и TrkB, демонстрировало нейропротекторное действие в опытах *in vitro* в концентрациях 10^{-12} – 10^{-5} М и антидепрессивноподобные свойства в опытах *in vivo* при субхроническом системном введении [8]. Кроме того, недавно на стрептозотоциновой модели диабета у мышей линии C57Bl/6 установлено, что ГТС-301 при 32-дневном введении в дозах 0.1 и 0.5 мг/кг, в/б, обладает антидиабетической активностью по показателям снижения гипергликемии, полидипсии и увеличения выживаемости животных [9].

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение “Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий”, Москва, Россия
*e-mail: kolik_lg@academpharm.ru

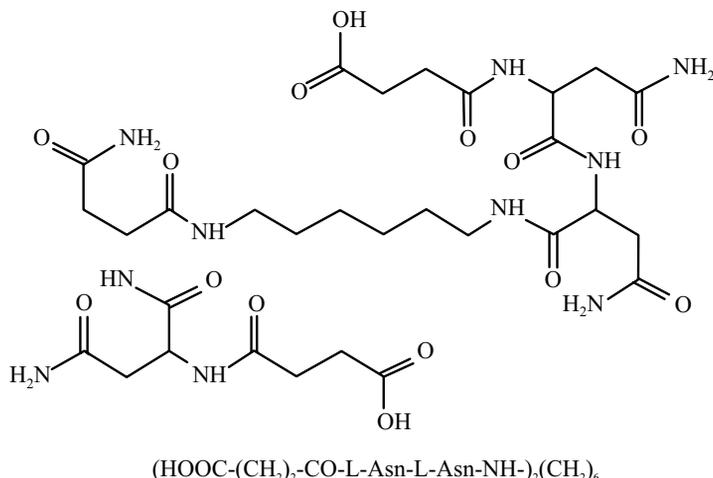


Рис. 1. Структура димерного дипептидного миметика NT-3 (соединение ГТС-301)

В настоящей работе мы изучали влияние низкомолекулярного миметика NT-3 на пороги болевой реакции у крыс при термической стимуляции ноцицепторов.

Опыты выполнены на беспородных белых крысах-самцах с массой тела 230-250 г, которых содержали по 8 особей в клетке в стандартных условиях вивария при естественной освещенности и свободном доступе к воде и брикетированному корму в течение 10 суток до начала эксперимента.

Тест “отдергивание хвоста” с использованием лучистого тепла считается упрощенной версией метода, использованного Харди и др. (1940) на людях [10]. Лучистое тепло является относительно избирательным стимулом для ноцицепторов и имеет преимущество перед другими способами тепловой стимуляции в том, что оно не вызывает тактильного раздражения. Воздействие теплового излучения на хвост животного провоцирует отдергивание хвоста коротким энергичным движением. В данной работе использовали анальгезиметр “Ugo Basile” (Италия) для оценки латентного периода реакции крыс на болевое воздействие согласно ранее описанной методике [11]. Значение мощности излучателя, нагревающего рабочий элемент анальгезиметра, устанавливали на величину, соответствующую латентному периоду реакции в диапазоне 3–5 с (значения излучателя 35–37 усл. ед.). Максимальное значение времени реакции ограничивали 20 с для избежания повреждающего действия. Исходные средние показатели болевых порогов определяли на основании 4-х измерений с интервалом в 10 мин, среднее значение болевого порога для каждой крысы (с) принимали за 100 %. Регистрировали болевые пороги через 0.5, 1, 1.5 и 24 ч после введения ГТС-301, снимая показания однократно в каждой точке временной шкалы.

Субстанцию ГТС-301 в виде суспензии с Твин 80 вводили в дозах 0.01, 0.1, 1.0 и 10.0 мг/кг, в/б,

однократно из расчета 0.1 мл/100 г веса крысы. Животные контрольной группы получали воду для инъекций с Твин 80.

Оценку статистической значимости полученных результатов проводили с помощью критерия Стьюдента. Данные представлены в виде средних значений и стандартной ошибки средних значений. Критический уровень значимости $\alpha=0.05$.

На рис. 2 представлены экспериментальные данные, свидетельствующие о способности ГТС-301 повышать порог болевой реакции после однократного системного введения. В наименьшей изученной дозе 0.01 мг/кг ГТС-301 статистически значимо увеличивал порог реакции на 21% по сравнению с контрольной группой только через 1 ч после введения ($p<0.01$). Наиболее эффективной оказалась доза 0.1 мг/кг, в которой ГТС-301 статистически значимо повышал порог болевой реакции через 1 и 1.5 ч (увеличение на 31% и 22%) после введения по сравнению с контрольной группой ($p<0.01$, $p<0.05$ соответственно). В дозе 1.0 мг/кг антиноцицептивный эффект не наблюдался, однако при увеличении дозы пептидного миметика NT-3 до 10 мг/кг отмечали статистически значимое увеличение латентного периода реакции на 27% ($p<0.01$), на 24% ($p<0.05$) и 17% ($p<0.05$) через 0.5, 1 и 1.5 ч после введения по сравнению с контрольной группой (рис. 2).

При определении продолжительности антиноцицептивного действия миметиков NT-3 было установлено, что фармакологическая активность в отношении ослабления болевой реакции у ГТС-301 через 24 ч после однократного введения проявляется во всех изученных дозах (рис. 2).

Рефлекторное “отдергивание хвоста” у грызунов является широко распространенным методом определения болевой реакции, так как взмах хвостом относится к спинномозговым рефлексам, который

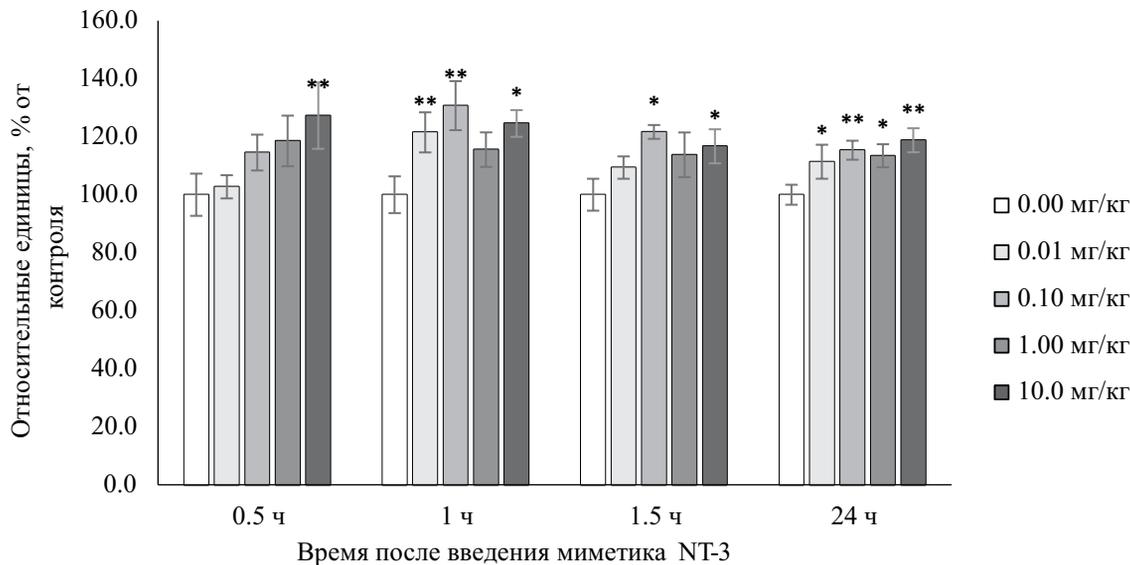


Рис. 2. Влияние ГТС-301 на латентный период реакции у крыс в тесте “отдергивание хвоста”

Примечание: *, ** – $p < 0.05$, $p < 0.01$ по сравнению с контрольной группой в соответствующий временной период; число животных в каждой группе по 8; данные представлены в виде $Mean \pm S.E.M.$

обычно включает резкое движение в ответ на вредную (механическую или термическую) стимуляцию хвоста. Аfferентная ветвь рефлекторной дуги состоит из ноцицепторов, иннервирующих хвост, аfferентные волокна которых проходят через сегменты позвоночника S4–Co3. Эfferентная конечность состоит из мотонейронов, расположенных в сегментах L4–Co3, иннервирующих три группы мышц спины, которые контролируют движения хвоста. Считается, что межнейронный путь, связывающий ноцицепторы с хвостовыми двигательными мотонейронами, является полисинаптическим [12]. Известно, что у взрослой интактной крысы нейроны спинного мозга обычно не продуцируют нейротрофины (NGF, BDNF и NT-3) [13]. Тем не менее отмечается достаточно высокая экспрессия определенных Trk-рецепторов, поскольку мРНК-зонды показывают транскрипты TrkB и TrkC в большинстве нейронов серого вещества спинного мозга на различных уровнях [13, 14]. Нельзя исключить, что наличие зрелой формы Trk-рецепторов на уровне спинного мозга может обеспечить связывание и ретроградный транспорт нейротрофинов, включая NT-3 и его миметиков. В качестве доказательства данной гипотезы можно привести недавно полученные экспериментальные данные об анальгетической активности дипептидного миметика BDNF, активирующего TrkB рецепторы [15].

Результаты настоящей работы согласуются с ранее опубликованными данными о фармакологическом профиле полноразмерного NT-3, полученными в опытах *in vitro*, *in vivo* и при локальном

введении непосредственно в структуры головного мозга [3, 4].

Одним из преимуществ NT-3 является то, что он не связан с проявлениями боли, характерными для других нейротрофинов (NGF, BDNF). Проведенные клинические исследования NT-3 в качестве средства для лечения периферических нейропатий, которые часто ассоциируются с хронической болью и аллодинией, показали, что NT-3 предотвращал дегенерацию периферических сенсорных аксонов и улучшал функциональный ответ в этих нейронах [16, 17]. Положительное влияние нейротрофинов на рост и выживаемость поврежденных нейронов спинного мозга делает их многообещающими кандидатами для включения в современные стратегии лечения. Расширение представлений об их действии на конкретные популяции нейронов позволит наиболее эффективно воздействовать на них и избежать побочных эффектов. В сочетании с методами лечения, такими как трансплантация стволовых клеток, нейротрофины и/или их миметики потенциально могут способствовать восстановлению и реабилитации после травмы спинного мозга [18].

Таким образом, впервые показано, что низкомолекулярный миметик NT-3 обладает анальгетической активностью, подобно полноразмерному нейротрофину.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность Надоровой А.В. за оформление иллюстраций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Федерального государственного бюджетного научного учреждения “Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий”. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ И СТАНДАРТОВ

Эксперименты на животных выполнены в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях, и одобрены Комиссией по биомедицинской этике НИИ фармакологии имени В.В. Закусова ФГБНУ “ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий” (протокол № 01 от 28.01.2022).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Hohn A., Leibrock J., Bailey K., et al. // *Nature*. 1990. V. 344. P. 339–341.
- Rosenthal A., Goeddel D.V., Nguyen T., et al. // *Neuron*. 1990. V. 4. P. 767–773.
- Siuciak J. A., Altar A., Wiegand S. J., et al. // *Brain Res*. 1994. V. 633, № 1–2. P. 326–330.
- Malcangio M., Garrett N. E., Cruwys S., et al. // *J. Neurosci*. 1997. V. 17. № 21. P. 8459.
- Watanabe M., Endo Y., Kimoto K., et al. // *Neurosci. Lett*. 2000. V. 1–2. № 282. P. 61–64.
- Wilson-Gerwing T.D., Dmyterko M.V., Zochodne D.W., et al. // *J. Neurosci*. 2005. V. 25. № 3. P. 758–767.
- Gudasheva T.A., Povarnina P.Y., Tarasiuk A.V., et al. // *Med Res Rev*. 2021. V. 41. № 5. P. 2746–2774. doi: 10.1002/med.21721.
- Гудашева Т.А., Сазонова Н.М., Тарасюк А.В., и др. // *ДАН*. 2022. Т. 505. № 1. С. 303–309.
- Ягубова С.С., Чернышевская М.А., Островская Р.У., и др. // *ДАН*. 2023. Т. 512.
- Hardy J.D., Wolff H.G. and Goodell H. // *J Clin Invest*. 1940. V. 19. P.649–657.
- Bannon A.W., Malmberg A.B. // *Curr Protoc Neurosci*. 2007. Chapter 8:Unit 8.9.
- Douglas D.K. and Carstens E. // *J Neurophysiol*. 1997. V. 77. P. 611–620.
- Maisonpierre P.C., Belluscio L., Friedman B., et al. // *Neuron*. 1990. V. 5. P. 501–509.
- Ernfors P., Rosario C.M., Merlio J.P., et al. // *Brain Res. Mol. Brain Res*. 1993. V.17. P. 217–226.
- Гудашева Т.А., Константинопольский М.А., Тарасюк А.В., и др. // *ДАН*. 2019. Т. 485. № 3. С. 366–369.
- Helgren M.E, Cliffer K.D., Torrento K., et al. // *J. Neurosci*. 1997. V. 17. P. 372–382.
- Sahenk Z., Nagaraja H.N., McCracken B.S., et al. // *Neurology*. 2005. V. 65. P. 681–689.
- Степанова О.В., Воронова А.Д., Чадин А.В., и др. // *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2022. Т. 1. С. 3–8.

ANALGESIC ACTIVITY OF THE LOW MOLECULAR WEIGHT NEUROTROPHIN-3 DIPEPTIDE MIMETIC GTS-301

L. G. Kolik*, M. A. Konstantinopolsky, N. M. Sazonova,
Corresponding Member of the RAS A. D. Durnev,
Corresponding Member of the RAS T. A. Gudasheva

FSBSI “Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies”,
Moscow, Russian Federation

*e-mail: kolik_lg@academpharm.ru

It was previously shown that the original dipeptide mimetic of the 4th loop neurotrophin-3 (NT-3) hexamethylenediamide bis-(N-monosuccinyl-L-asparaginyl-L-asparagine) (GTS-301), like full-size neurotrophin, predominantly activates the tyrosine kinase receptor TrkC and has a neuroprotective effect *in vitro* at concentrations of 10^{-5} - 10^{-12} M, as well as after systemic administration on rodents – antidiabetic (0.1 and 0.5 mg/kg) and antidepressant (5 and 10 mg/kg) effects. In this work, the analgesic properties of GTS-301 were identified, which were manifested in the dose range of 0.01-10 mg/kg after acute intraperitoneal injection to rats in the “tail flick” test. Dipeptide GTS-301 increased the threshold of pain response by 20-30% and the effect persisted for at least 24 hours after administration.

Keywords: NT-3, low molecular weight mimetic, dipeptide, GTS-301, analgesia, rats