

## КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

*Посвящается памяти проф. М.И. Титова и Ж.Д. Беспаловой*

© Коллектив авторов, 2022

УДК 616.127-005.8+612.42:543.645.6

**Засеева А.М., Хугаева В.К., Ардасенов А.В.**

# Влияние лимфостимулирующего пептида на динамику летальности при экспериментальном инфаркте миокарда

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»  
125315, Москва, Россия, Балтийская, д. 8

Актуальность проблемы определяется сохранением высокой смертности и инвалидизации населения страны и за рубежом от сердечно-сосудистых заболеваний, среди которых инфаркт миокарда (ИМ) занимает первое место.

**Цель** – оценка влияния лимфостимулирующего пептида на динамику летальности при экспериментальном инфаркте миокарда.

**Методика.** Экспериментально изучали роль в патогенезе ИМ активации лимфотока в микрососудах с помощью лимфостимуляторов прямого действия пептидной природы. Эксперименты выполнены на 44 белых беспородных крысах самцах, наркотизированных внутримышечным введением 8% раствора хлоралгидрата (0,6 г/кг массы). Моделировали ИМ методом Селье в модификации Когана. Опиоидный пептид (структурная формула Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Glu) вводили животным внутрибрюшинно за 15 мин до и через 15 мин после моделирования ИМ. Лимфостимулирующую активность пептида изучали на кровеносных и лимфатических микрососудах брыжейки тонкой кишки крысы. В работе использовали фотосъемку, осуществляли морфологическое исследование макро- и микропрепаратов сердца.

**Результаты.** Использование лимфостимулирующего пептида с лечебной целью снижало летальность животных на 18% по сравнению с контролем.

**Заключение.** Положительный лечебный эффект пептида Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Glu на выживаемость животных при ИМ позволяет рассматривать лимфатическую систему как резерв нашего организма, направленный на восстановление кровообращения.

**Ключевые слова:** инфаркт миокарда; лимфостимуляция; опиоидный пептид; летальность; крысы

**Для цитирования:** Засеева А.М., Хугаева В.К., Ардасенов А.В. Влияние лимфостимулирующего пептида на динамику летальности при экспериментальном инфаркте миокарда. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2022; 66(4): 132-137.

DOI: 10.25557/0031-2991.2022.04.132-137

**Участие авторов:** Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи — все со-авторы.

**Для корреспонденции:** Засеева Алана Моисеевна, e-mail: alzasmoy@mail.ru

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Поступила 29.07.2022

Принята к печати 27.10.2022

Опубликована 15.12.2022

**Zaseeva A.M., Khugaeva V.K., Ardasenov A.V.**

## The effect of lymphostimulating peptide on the dynamics of mortality in experimental myocardial infarction

Institute of General Pathology and Pathophysiology,  
Baltiyskaya St. 8, Moscow, 125315, Russian Federation

The relevance of this issue is determined by steadily high mortality and disability of the population in Russia and worldwide due to cardiovascular diseases, among which myocardial infarction (MI) is on the first place among the causes of death. **Aim.** To evaluate the effect of direct-action peptide-type lymph-stimulators on the mortality from MI.

**Methods.** The study was performed on 44 mongrel white male rats anesthetized with 8% chloral hydrate, i.v. MI was modeled by the Selye method in the Kogan modification. The opioid peptide was administered to animals intraperitoneally 15 minutes before and 15 minutes after the simulation. The lymph-stimulating activity of the peptide was studied on mesenterial blood and lymphatic microvessels of the rat small intestine. Morphological examination of macro- and micro-preparations of the heart was performed. **Results.** The therapeutic use of the lymph-stimulating peptide reduced the mortality of animals by 18% compared with the control. **Conclusion.** The beneficial effect of the peptide Tyr-D-Ala-eeeGly-Phe-Leu-Glu on the MI mortality suggests that the lymph system can be considered as a reserve designed for the recovery of circulation.

**Keywords:** myocardial infarction; lymph-stimulation; opioid peptide; lethality; rats

**For citation:** Zaseeva A.M., Khugaeva V.K., Ardasenov A.V. The effect of lymphostimulating peptide on the dynamics of mortality in experimental myocardial infarction. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2022; 66 (4): 132-137. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2022.04.132-137

**Author's contribution:** Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

**For correspondence:** Alana M. Zaseeva, Junior Researcher, «Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of General Pathology and Pathophysiology»; 8 Baltiyskaya str., 125315, Moscow, Russian Federation, e-mail: alzasmoy@mail.ru

**Financing.** The study had no sponsorship.

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

Received 29.07.2022

Accepted 27.10.2022

Published 15.12.2022

## Введение

Актуальность проблемы определяется сохранением высокой смертности и инвалидизации населения страны и за рубежом от сердечно-сосудистых заболеваний (1-е место в ряду других причин смертности), среди которых инфаркт миокарда занимает первое место. Несмотря на многочисленные лекарственные препараты, применяемые при ИМ, самой высокой эффективностью остается хирургическое лечение (аортокоронарное шунтирование, транслюминальная баллонная ангиопластика и др. методы).

После открытия в 1975 г первых опиоидных пептидов (энкефалины) в мозге млекопитающих [1, 2] и человека было обнаружено лимфостимулирующее действие лейэнкефалина на лимфатические микрососуды (ЛМ) брыжейки тонкой кишки крысы [3]. В дальнейшем было доказано наличие опиоидергической регуляции лимфатической микроциркуляции [4] и появилась возможность использования регуляции активности ЛМ в эксперименте. Лейэнкефалин и его тирозинсодержащие аналоги, агонисты дельта-опиатных рецепторов (ОР) активировали сократительную активность стенки и клапанов ЛМ, увеличивали скорость лимфотока на 300%, а универсальный блокатор ОР – налоксон блокировал последующий лимфостимулирующий эффект лейэнкефалина. В дальнейшем

была показана высокая эффективность стимуляции лимфотока при различных видах патологии, сопровождающихся ишемией, воспалением<sup>1</sup>, при ультрафиолетовом воспалении кожи [5]), острым отеке легких [6], а также при операциях на кишечнике [7]. Во всех случаях активация лимфотока и сократительной активности (СА) стенки и клапанов ЛМ сопровождалась восстановлением микрогемодикуляции, морфо-функционального состояния тканей, увеличением или 100% выживаемостью животных.

Поскольку сердце имеет 3 густые сети лимфатических сосудов: снаружи – под эпикардом, изнутри – под эндокардом и в миокарде представляло интерес использование активации лимфотока с лечебной целью при ИМ. Богатая лимфатическая система сердца с хорошо развитой системой анастомозов подсказывает важность этой структуры в жизнедеятельности миокарда. Однако, после открытия первых опиоидных пептидов в лаборатории синтеза пептидов ВКНЦ АМН СССР, руководимой профессором М.И. Титовым и позже канд. химич. наук Ж.Д. Беспаловой стало возможным исследование этих пептидов в экспериментальной медицине.

Цель работы – экспериментальное изучение роли активации лимфотока с помощью лимфостимулирующих пептидов прямого действия при инфаркте миокарда

<sup>1</sup>Хугаева В.К. «Опиоидергическая регуляция микролимфоциркуляции в норме и при ишемии». Автореферат диссертации докт. мед. наук. 1993; М., 48 с.

**Методика**

Эксперименты выполнены на 44 беспородных крысах—самцах различного возраста, массой 200 – 300 г. Все работы проводились в соответствии с регламентом декларации ЕС от 22 сентября 2010 г. об использовании лабораторных животных в научных целях. Исследование одобрено Этической комиссией института. Животных наркотизировали внутримышечным введением 8% раствора хлоралгидрата (из расчета 0,6 г/кг),



**Рис. 1.** Ветви левой коронарной артерии после инъекции раствора красителя.

**Fig. 1.** Branches of the left coronary artery after injection of a dye solution.

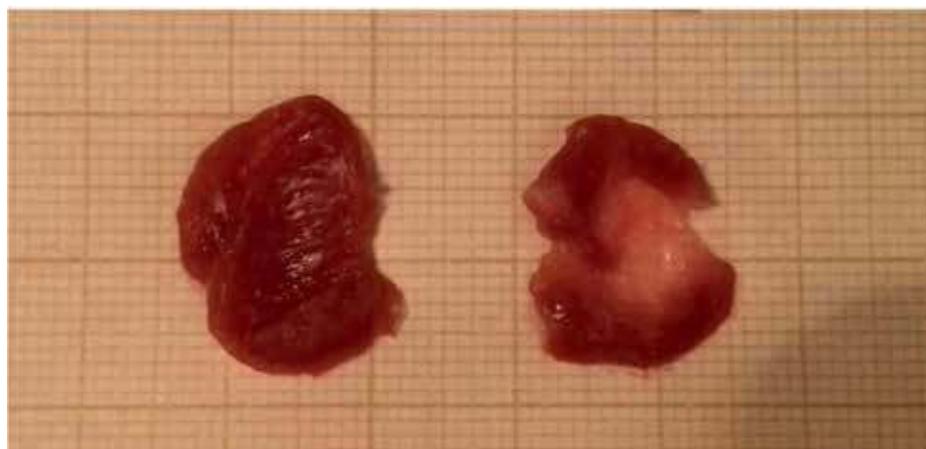
разведенного в 0,9 % растворе NaCl. Моделирование ИМ осуществляли методом Селье в модификации Когана [8]. ИМ у животных воспроизводили путем перевязки ветви левой коронарной артерии (**рис. 1**).

В качестве антисептиков перед и после операции обрабатывали кожу 96% спиртом и 5% раствором йода. У наркотизированного животного в грудной клетке (передняя стенка левая сторона в 4-5 межреберье) после освобождения межреберья от мышц и фасций делали разрез, через который выводили наружу сердце. Под левым ушком предсердия перевязывали ветвь левой коронарной артерии и быстро возвращали сердце в грудную полость. Вся манипуляция продолжалась 20 с. Разрез кожи зашивали, перед последним швом в рану вводили антибиотик цефазолин. Тестирование опиоидных пептидов на способность активировать лимфоток и СА ЛМ проводили на брыжейке тонкой кишки крысы по общепринятой методике [9]. Наиболее активный из исследованных пептидов использовали при ИМ. Опиоидный пептид агонист дельта опиатных рецепторов вводился животным в дозе 40.0 мкг/кг внутрибрюшинно в 1.0 мл 0.9% раствора хлорида натрия за 15 мин до моделирования ИМ (режим профилактики) или через 15 мин после моделирования ИМ (режим лечения).

В работе использовали фотосъемку макро- и микропрепаратов и гистологические методы изучения сердца. (**рис. 2**)

**Результаты и обсуждение**

В условиях биомикроскопии исследовали целую группу пептидов аналогов лейэнкефалина и даларгина агонистов дельта ОР, содержащих тирозин, поскольку, аминокислота тирозин обладает слабым, но длитель-



**Рис. 2.** Левый желудочек сердца крысы. Слева – контроль, справа – светлая зона инфаркта миокарда.

**Fig. 2.** Left ventricle of the rat heart. Left – control, right – light myocardial infarction zone.

ным лимфостимулирующим действием (30-60 мин). Наиболее активным лимфостимулятором был пептид со структурной формулой Туг-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Glu. В **таблице 1** представлены данные по влиянию пептида на моторику стенки и клапанов лимфатических микрососудов, ткани брыжейки тонкой кишки крысы. Скорость лимфотока увеличивалась до максимального значения, которое характеризовалось непрерывностью с кратковременными паузами, не превышающими 1 с. Используемый пептид выделялся среди изученных наиболее интенсивным влиянием на лимфоток, хотя частота сокращения его могла быть меньше по сравнению с другими пептидами.

В **таблице 2** представлены данные по летальности и выживаемости животных в динамике ИМ (во время операции, после операции в течение 1 ч, 1 сут, 30 сут). В качестве контроля использовали животных с ИМ, который моделировали без стимуляции лимфотока.

При ИМ во время операции и в течение 1-го ч после операции наблюдалась одинаковая летальность животных. Животные, прожившие 1 сут и 30 сут, как правило, выживали, дальнейшее наблюдение за ними в течение 2-3 мес не сопровождалось их гибелью.

Использование пептида перед операцией (профилактический эффект) способствовало увеличению летальности животных как во время операции, так и в течение 1-го часа после операции. Дальнейшее течение было аналогично контрольному. В этой группе отмечалась минимальная выживаемость животных.

В третьей группе животных пептид использовали после операции (лечебный эффект), при этом отмечалась минимальная летальность во время операции и в течение 1 ч после операции. Общая летальность во все периоды наблюдения также была минимальной, соответственно имела место максимальная выживаемость.

Необходимо отметить, что летальность во время операции и в течение 1-го ч наблюдалась во всех груп-

пах. В последующем ни одно животное не погибло, т.е. все 44 животных подчинялись этой динамике летальности. Анализ подобной реакции позволяет сделать вывод о критическом времени, которым является 1-й ч после операции.

Возникает вопрос о причине отрицательного влияния на выживаемость при профилактическом введении пептида. Необходимо учитывать следующие факторы:

1) Опиоидные пептиды эффективны только при экстремальных состояниях и при однократном применении. Использование опиоидных пептидов в контроле или при средней степени тяжести патологии бывает мало эффективно или, напротив, вызывает повреждение более значительное, по сравнению с контролем. Примером может служить работа, в которой введение пептида при ишемии мозга разной степени тяжести (легкая, средней тяжести или тяжелая по величине снижения артериального давления) давало положительный эффект у животных только при тяжелой степени ишемии мозга. При ишемии легкой формы, из которой животное выходило самостоятельно без лечения, наблюдались случаи летального исхода под влиянием пептида. У животных с патологией средней тяжести животные хотя и погибали, но в меньшей степени [10].

2) В нашем эксперименте пептид вводился после погружения животного в состояние наркоза, который продолжался до 1 ч, а вводился пептид за 15 мин до операции. Эффективность пептидов зависит от сочетания с другими веществами, в данном случае с применяемым снотворным препаратом. Оба средства действуют на одни и те же ОР, что изменяет активность этих препаратов. Проиходится нагрузка на одни и те же ОР: вначале снотворного препарата, потом пептида. В другой нашей работе было показано значительное увеличение (в 10 раз!) продолжительности сна после приема нембутала при предварительном за 1 сут вве-

Таблица 1/ Table 1

**Влияние пептида на моторику стенки и клапанов лимфатических микрососудов, расположенных около жировой ткани брыжейки тонкой кишки крысы**

**The effect of the peptide on the motility of the wall and valves of lymphatic microvessels located near the adipose tissue of the mesentery of the rat small intestine**

Объект исследования	Кол-во животных, (ед)	Латентный период, (мин)	Макс. частота сокращения за 1 мин	Длительность периода сокращения, (мин)
Стенка ЛМ	10	0,1±0,01 *	10 ±1,24*	29,0±6,68*
Клапан ЛМ	10	0,13±0,01	9,0±1,12	23,0±0,55

Примечание. \* –  $p < 0,05$ .

Note. \* –  $p < 0,05$ .

Таблица 2/ Table 2

**Влияние пептида на динамику летальности крыс при инфаркте миокарда**  
**Effect of the peptide on the lethality dynamics of rats in myocardial infarction**

Модель патологии Pathology model	Общее кол-во животных/ Total number of animals		Летальность / Lethality										Выживаемость Survival rate	
	ед units	%	1		2		3		4		5		ед units	%
			ед units	%	ед units	%	ед units	%	ед units	%	ед units	%		
Инфаркт миокарда (ИМ) myocardial infarction	22	100	6	27	6	27	-	-	-	-	12	54	10	46
Пептид+ИМ Peptide +myocardial infarction	11	100	5	46	4	36	-	-	-	-	9	82	2	18
ИМ+Пептид Myocardial infarction +peptide	11	100	1	9	3	27	-	-	-	-	4	36	7	64

**Примечание.** Летальность во время операции (1); после операции: в течение 1 часа (2); 1 суток (3); 30 суток (4); общее количество погибших животных (5), « - » отсутствие погибших животных.

**Note.** Lethality during surgery (1); after surgery: within 1 hour (2); 1 day (3); 30 days (4); total number of dead animals (5), « - » no dead animals.

дении опиоидного пептида [11]. Одновременное введение пептида с нембуталом пролонгировало длительность сна с каждым повторным применением пептида.

Успешное использование пептида после экстремальных состояниях, одной из причин которых была операция, свидетельствует о его высокой эффективности, поскольку выживаемость животных по сравнению с контролем увеличивалась на 18%. Такой результат позволяет надеяться на дальнейшее использование лимфостимулирующих пептидов в клинической практике.

**Заключение**

Положительный лечебный эффект пептида на выживаемость при ИМ позволяет рассматривать лимфатическую систему как резерв нашего организма, направленный на восстановление кровообращения. Лимфатическая система обладает 10 важнейшими функциями, среди которых в данном случае проявила себя дезинтоксикационная функция, связанная со стимуляцией лимфообращения. Стимуляция лимфотока активирует иммунную функцию организма за счет увеличенного выброса лимфоцитов и лимфопептидов из лимфатических узлов, что также оказывает существенное влияние на регенераторные процессы организма, что доказано в работах, посвященных изучению размеров зоны некроза при ИМ при воздействии энкефалинов [12, 13].

Развитие осложнений и летальность больных после первоначального улучшения гемодинамики при ИМ

позволяет предположить нарушение лимфоциркуляции в миокарде, препятствующее нормальному оттоку продуктов распада из зоны некроза, что приводит к увеличению площади инфаркта в миокарде. Таким образом, стимуляция лимфотока могла бы предотвратить развитие осложнений, прогрессирование нарушений микроциркуляции и летальный исход.

**Литература**

**(п.п. 1; 2; 8 см. References)**

- Хугаева В.К., Сучков В.В. Влияние энкефалина на микроциркуляторное русло. *Бюлл. ВКНЦ АМН СССР*. 1980; 1: 92-6.
- Хугаева В.К. Влияние даларгина на микрогемо- и микролимфоциркуляцию. *Бюлл. ВКНЦ АМН СССР*. 1988; 3: 300-2.
- Ардасенов А.В., Хугаева В.К., Беспалова Ж.Д. Роль лимфостимулирующих пептидов в восстановлении микрогемоциркуляции кожи и подкожной жировой клетчатки при воспалении. *Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. I съезд лимфологов России. 22-23 мая 2003.*
- Хугаева В.К., Султанов Д.В. Лимфостимулирующая активность препаратов, применяемых при патологии легких. *Бюлл. exper. биол. и мед.* 2012; 153(4): 427-9.
- Коваленко А.А., Хугаева В.К. Экспериментальное обоснование применения синтетического пептида в комплексном хирургическом лечении острой кишечной непроходимости. *Патогенез*. 2018; 16(4): 138-40.
- Чернух А.М., Александров П.Н., Алексеев О.В. *Микроциркуляция*. М.; Медицина, 1984.
- Хугаева В.К., Беспалова Ж.Д. Различное влияние аналога лей-энкефалина на динамику мозгового кровотока при ишемии мозга различной степени тяжести. *Бюлл. exper. биол. и мед.* 1988; 106(11): 516-9.

11. Хугаева В.К., Беспалова Ж.Д., Александров П.Н., Ардасенов А.В. Потенцирующее и отсроченное действие аналогов даларгина на продолжительность нембуталового сна в эксперименте. *Бюлл. экпер. биол. и мед.* 1996; 122(12): 618-22.
12. Афонская Н.И., Ильинский О.Б., Кондаленко В.Ф., Спевак С.Е., Черпаченко Н.М. Влияние опиоидного пептида на заживление экспериментального инфаркта миокарда. *Бюлл. экпер. биол. и мед.* 1986; 12: 754-7.
13. Маслов Л.Н., Барзах Е.И., Лишманов А.Ю., Горбунов А.С., Цибульников С.Ю., Семенов А.С. Агонисты опиоидных рецепторов могут усугублять ишемические и реперфузионные повреждения сердца. *Патол. физиол. и экпер. тер.* 2014; 1: 79-84.
6. Khugaeva V.K., Sultanov D.V. Lymphostimulating activity of drugs used in lung pathology. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny.* 2012; 153(4): 427-9. (in Russian)
7. Kovalenko A.A., Khugaeva V.K. Experimental substantiation of the use of synthetic peptide in the complex surgical treatment of acute intestinal obstruction. *Patogenez.* 2018; 16(4): 138-40. (in Russian)
8. Selye H, Bajusz E, Grasso S, Mendell P. Simple techniques for the surgical occlusion of coronary vessels in the rat. *Angiologiya.* 1960; (11): 398-407.
9. Chernukh A.M., Alexandrov P.N., Alekseev O.V. *Microcirculation [Mikrotsirkulyatsiya]*. Moscow; Meditsina; 1984. (in Russian)
10. Khugaeva V.K., Bespalova Zh.D. Various effects of ley-enkephalin analog on the dynamics of cerebral blood flow in cerebral ischemia of varying severity. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny.* 1988; 106(11): 516-19. (in Russian)
11. Khugaeva V.K., Bespalova Zh.D., Alexandrov P.N., Ardasenov A.V. The potentiating and delayed effect of dalargin analogues on the duration of nembutal sleep in the experiment. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny.* 1996; 122(12): 618-22. (in Russian)
12. Afonskaya N.I., Ilyinsky O.B., Kondalenko V.F., Spevak S.E., Cherpachenko N.M. The effect of opioid peptide on the healing of experimental myocardial infarction. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny.* 1986; 102(12): 754-7. (in Russian)
13. Maslov L.N., Barzakh E.I., Lishmanov A.Yu., Gorbunov A.S., Tsybulnikov S.Yu., Semenov A.S. Opioid receptor agonists can aggravate ischemic and reperfusion injuries of the heart. *Patol. fiziol. i ekper. ter.* 2014; 58(1): 79-84. (in Russian)

### References

1. Hughes J., Smith T.W., Kosterlits H.W., et al. Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. *Nature.* 1975; 258: 577-80.
2. Hughes J. *Opioid peptides*. Proc. Eur. Soc. Neurochem: 2<sup>nd</sup> Meet. ESN. Gottingen. N.Y.: Weinheim, 1978: 452-3.
3. Khugaeva V.K., Suchkov V.V. The effect of enkephalin on the microcirculatory bed. *Byulleten Vsesoyuznogo kardiologicheskogo nauchnogo tsentra AMN SSSR.* 1980; (1): 92-6. (in Russian)
4. Khugaeva V.K. The influence of dalargin on microhemo- and microlymphocirculation. *Byulleten Vsesoyuznogo kardiologicheskogo nauchnogo tsentra AMN SSSR.* 1988; (3): 300-2. (in Russian)
5. Ardasenov A.V., Khugaeva V.K., Bespalova Zh.D. The role of lymphostimulating peptides in restoring microhemocirculation of the skin and subcutaneous fat in inflammation. *Byulleten NCSSKH im. A.N. Bakuleva RAMN. I s"ezd limfologov Rossii. 22-23 maya 2003,* 2003. (in Russian)

### Сведения об авторах:

**Засеева Алана Моисеевна**, мл. науч. сотр. лаб. хронического воспаления и микроциркуляции ФГБНУ НИИОПП;

**Хугаева Валентина Каргоевна**, доктор мед. наук, гл. науч. сотр. лаб. хронического воспаления и микроциркуляции, e-mail: vhugaeva@mail.ru;

**Ардасенов Алан Валерьевич**, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. хронического воспаления и микроциркуляции ФГБНУ НИИОПП.