

УДК 615;616-05

МОДИФИЦИРОВАННЫЕ N-КОНЦЕВЫЕ ФРАГМЕНТЫ ГАЛАНИНА: КАРДИОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА И МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ

Обзор

© 2021 О.И. Писаренко*, И.М. Студнева, О.М. Веселова

ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России, 121552 Москва, Россия; электронная почта: olpi@live.ru

Поступила в редакцию 28.07.2021

После доработки 15.08.2021

Принята к публикации 16.08.2021

Дизайн новых препаратов для лечения сердечно-сосудистых заболеваний на основе эндогенных пептидных гормонов вызывает несомненный интерес и стимулирует интенсивные экспериментальные исследования. Одним из путей развития этой области является синтез коротких биоактивных пептидов, имитирующих эффекты более крупных пептидных молекул и обладающих улучшенными физико-химическими характеристиками. В последние годы обнаружено, что N-концевые фрагменты нейропептида галанина снижают метаболические и функциональные нарушения при экспериментальном повреждении сердца. В обзоре представлены данные литературы и обобщенные результаты собственных экспериментов о влиянии полноразмерного галанина и его химически модифицированных N-концевых фрагментов (2–11) и (2–15) на сердце в норме и при моделировании патофизиологических состояний *in vitro* и *in vivo*. Показано, что спектр действия пептидов на поврежденный миокард охватывает уменьшение гибели кардиомиоцитов от некроза, снижение повреждения сарколеммы, улучшение метаболического состояния миокарда, снижение образования активных форм кислорода и продуктов перекисного окисления липидов. Обсуждаются механизмы защитного действия модифицированных фрагментов галанина, связанные с активацией подтипа рецептора GalR2 и проявлением антиоксидантных свойств. Суммированные в обзоре данные указывают на перспективность молекулярного конструирования фармакологических агонистов рецептора GalR2, которые могут служить основой для разработки кардиопротекторов, оказывающих влияние на процессы свободнорадикального окисления и метаболической адаптации.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: галанин, сердце, экспериментальная патология, активные формы кислорода, метаболизм, мембраны кардиомиоцитов, перекисное окисление липидов, антиоксидантные ферменты.

DOI: 10.31857/S0320972521100079

ВВЕДЕНИЕ

Высокая распространённость сердечно-сосудистых заболеваний обуславливает необходимость разработки новых подходов к снижению

повреждений сердца при различных патофизиологических состояниях. В последнее время важную роль в механизмах регуляции физиологических функций отводят эндогенным биоактивным пептидам [1]. Открытый в 1983 году нейропептид галанин регулирует целый ряд жизненно важных процессов – память, сон, потребление пищи, алкогольная зависимость, невропатические боли, выработка других гормонов, метаболизм, ионный гомеостаз и осмос [2]. Галанин представляет собой низкомолекулярный пептид, состоящий из 29 аминокислотных остатков (а.о.) у большинства видов животных и 30 а.о. у человека. Он широко распространён в центральной и периферической нервной системе, а также в других тканях [3] и находится в тесной функциональной взаимосвязи с несколькими нейротрансммиттерами – ацетилхолином, серотонином, дофамином, кальцитонин-ген-связанным пептидом и вазоинтестинальным полипептидом [4]. В периферических органах, включая сердце, галанин действует не только через

Принятые сокращения: АФК – активные формы кислорода; ДМПО – 5,5-диметил-пирролин-N-оксид; ЗР – зона риска; Докс – доксорубин; ИМ – инфаркт миокарда; И/Р – ишемия/реперфузия; КК-МВ – креатинкиназа-МВ; Кр – креатин; ЛДГ – лактатдегидрогеназа; ЛЖ – левый желудочек; ЛНП – липопротеиды низкой плотности; ПОЛ – перекисное окисление липидов; ПНА – передняя нисходящая коронарная артерия; ФКр – фосфокреатин; АС – аденилатциклаза; Cu,Zn-SOD – Cu,Zn-супероксиддисмутаза; G1 – N-концевой фрагмент галанина (2–11)-амид; G2 – N-концевой фрагмент галанина (2–15); G3 – модифицированный аналог галанина (2–15); G4 – модифицированный аналог галанина (2–15)-амид; G5 – модифицированный аналог галанина (2–15); G6 – модифицированный аналог галанина (2–11)-амид; G7 – галанин крысы (1–29); GSH-Px – глутатионпероксидаза; РТХ – коклюшный токсин; TBARS – продукты, реагирующие с 2-тиобарбитуровой кислотой.

* Адресат для корреспонденции.

нейрональные механизмы, но и активируя семейство трансмембранных рецепторов GalR1–3 [3, 5]. Рецепторы галанина состоят из 349 а.о. и представляют собой гликопротеины с молекулярной массой 54–60 кДа, сопряжённые с G-белками [6]. За связывание с рецепторами отвечает *N*-концевой фрагмент галанина, первые 15 аминокислотных остатков которого консервативны у большинства видов, *C*-терминальный фрагмент (17–29) варьирует у человека и животных и имеет слабую аффинность по отношению к рецепторам [2]. Широкий спектр биологической активности галанина, в том числе вызываемые им гормональные и нейромедиаторные сдвиги [7], предполагают участие галанинергической системы в активации защитных реакций организма.

ВЛИЯНИЕ ГАЛАНИНА НА СЕРДЦЕ

Роль рецепторов галанина в регуляции сердечно-сосудистой системы мало изучена. Известно, что введение экзогенного галанина в ростральный вентролатеральный отдел ствола мозга способно оказывать гипотензивный эффект, снижая симпатический вазомоторный тонус, и вызывать тахикардию у крыс [8]. Изучение экспрессии галанина в симпатических нейронах сердца при ишемии миокарда показало, что количество мРНК галанина в сердце после перевязки передней нисходящей артерии (ПНА) значительно увеличивается [9]. Обнаружено, что концентрация галанина в левом желудочке (ЛЖ) ниже места перевязки ПНА значительно выше, чем в предсердиях и основании сердца, где повышение уровня галанина незначительно. Кардиальные симпатические нейроны после окончания ишемии/реперфузии (И/Р) в сердце находятся в активном состоянии достаточно долго, стимулируя экспрессию галанина, которая может иметь важные физиологические последствия [10]. Это, в частности, облегчает доставку галанина к нервным окончаниям, способствуя регенерации сенсорных нейронов, подвергшихся аксотомии, поэтому галанин может играть важную роль в восстановлении симпатических нервов. При гипоксии отмечено положительное инотропное действие галанина — улучшение сократимости папиллярной мышцы сердца морской свинки. Полагают, что оно обусловлено регуляцией внутриклеточного гомеостаза Ca^{2+} и вызвано активацией АТФ-зависимых K^+ -каналов [11].

Установлено, что повышенная экспрессия рецепторов галанина характерна для тканей с физиологически значимой утилизацией глюко-

зы и чувствительностью к инсулину — скелетные мышцы, сердце, жировая ткань и клетки панкреатических островков [12]. Более того, секреция галанина положительно коррелирует с уровнем глюкозы в крови, который, в свою очередь, тесно связан с чувствительностью к инсулину у здоровых волонтеров и пациентов с диабетом [13]. Введение антагониста галанина M35 здоровым и диабетическим крысам снижает чувствительность к инсулину, уменьшает концентрацию переносчика глюкозы GLUT4 и снижает экспрессию мРНК GLUT4 в мембране миоцитов и адипоцитов [14, 15]. Как известно, изоформа GLUT4 является важным представителем семейства белков-переносчиков глюкозы в сердце. Снижение содержания GLUT4 в сердце происходит одновременно с развитием сердечной недостаточности, ишемической кардиомиопатии у больных сахарным диабетом и при И/Р-повреждении [16, 17]. Напротив, увеличение экспрессии переносчика GLUT4 и его транслокация к сарколемме усиливает трансмембранный перенос глюкозы и может компенсировать нарушения энергетического обмена в клетках. Этот механизм предполагает участие галанина в механизмах адаптации сердца к нарушениям внутриклеточного обмена, связанным с недостаточным обеспечением энергией [18].

ДИЗАЙН И СИНТЕЗ МОДИФИЦИРОВАННЫХ *N*-КОНЦЕВЫХ ФРАГМЕНТОВ ГАЛАНИНА

Период полураспада галанина крысы (G7) в кровотоке, также, как и у большинства природных биоактивных пептидов, довольно короткий, и по данным Harling и Holst [19] составляет около 4 мин. Удаление *N*-концевого а.о. Gly1 у природных фрагментов G1 и G2 увеличивает время их полураспада в биологических средах до 10 мин [20]. Для изучения действия галанина при экспериментальной патологии сердца был синтезирован *N*-концевой фрагмент пептида (2–11)-амид (G1, таблица). Этот пептид является одним из немногочисленных лигандов, обладающих высокой специфичностью к рецептору GalR2, практически не связывается с рецептором GalR1 и проявляет слабую аффинность по отношению к GalR3 [21]. Экзогенный пептид G1 ингибировал апоптоз и снижал образование супероксидного анион-радикала и пероксида водорода в митохондриях изолированных кардиомиоцитов крысы и кардиомиоцитах H9c2 при гипоксии/реоксигенации, а также улучшал метаболическое и функциональное восстановление сердца крысы после И/Р-повреждения

Характеристики синтезированных пептидов галанина

Шифр	Последовательность	M _{расч.} , г/моль	MALDI-TOF, m/z	Растворимость в воде, мг/мл	ВЭЖХ*	
					R _t , мин	Чистота, %
G1	WTLNSAGYLL-NH ₂	1136,3	1136,77	0,25	16,53	98,1
G2	WTLNSAGYLLGPHA-OH	1499,7	1498,64	≈10	15,34	97,1
G3	WTLNSAGYLLGP-βАН-OH	1499,67	1499,76, 1521,73[M + Na] ⁺ , 1537,72[M + K] ⁺	>20	14,66	98,2
G4	WTLNSAGYLLGPHA-NH ₂	1498,68	1499,72	≈4	14,85	96,2
G5	WTLNSAGYL-Nle-GPHR-OH	1584,88	1584,66	>20	14,25	95,8
G6	WTLNAAGYLL-NH ₂	1120,3	1120,61, 1142,60[M + Na] ⁺ , 1158,58[M + K] ⁺	≈0,20	17,70	96,7
G7	GWTLNSAGYLLGPHAIDN-HRSFSDKHGLT-NH ₂	3164,45	3163,47	>40	15,80	98,1

Примечание. Модификации выделены жирным шрифтом.

* Аналитическую ВЭЖХ проводили на колонке Kromasil 100-5 C18 (4,0 × 250 мм), размер частиц сорбента 5 мкм; в качестве элюентов использовали: буфер А – 0,1% TFA, буфер Б – 80% ацетонитрил в буфере А; элюция со скоростью 1 мл/мин градиентом концентрации буфера Б в буфере А от 20 до 80% за 30 мин, детекция при λ = 220 нм.

ex vivo и *in vivo* [22]. Плохая растворимость в воде затрудняла исследование G1. Для преодоления этой проблемы был синтезирован N-концевой фрагмент галанина (2–15) (G2, таблица), обладающий высоким сродством к рецептору GalR2 и лучшей растворимостью в воде. Экзогенный пептид G2 улучшал восстановление функции изолированного сердца крысы после тотальной ишемии и ограничивал размеры инфаркта миокарда (ИМ) у крыс *in vivo* [23]. Эти эффекты сопровождалось снижением образования активных форм кислорода (АФК) и улучшением энергетического состояния сердца.

Природные пептиды галанина G1 и G2 были использованы в качестве основы для получения оригинальных N-концевых фрагментов. Как правило, направленное химическое модифицирование агонистов рецепторов галанина GalR2 улучшает их физико-химические свойства [24]. С этой целью были применены приёмы структурной модификации, обеспечивающие повышенную устойчивость пептидов к действию протеолитических ферментов: амидирование C-концевой аминокислоты (пептид G4), введение в пептидную цепь остатков не природных аминокислот (β-аланина или норлейцина – пептиды G3 и G5 соответственно). Для повышения растворимости в водных средах в молекулу пептида G5 в качестве C-концевой аминокислоты был введён Arg. Наиболее растворимый в воде химерный лиганд G3 был получен присоединением природного дипептида карнозина к последовательности галанина (2–13). Карнозин является эффективным средством для предотвращения патологических состояний, связанных с оксидативным стрессом, болезнью Альцгеймера,

атеросклерозом и И/Р-повреждением сердца [25]. Модифицированные аналоги пептидов G1 и G2 были синтезированы с сохранением фармакофорных а.о., ответственных за связывание с рецептором GalR2 – Trp2, Asn6, Tyr9 и Gly12 [26]. Мы также учли, что удаление Gly1 уменьшает сродство N-концевых фрагментов к рецептору GalR1 [27]. В пептиде G6 Ser6 был заменён на Ala, поскольку в опытах с фрагментами галанина, мечеными ¹²⁵I, было показано, что такая замена увеличивает связывание лиганда с рецептором GalR2, уменьшая сродство к подтипам рецепторов GalR1 и GalR3 [5]. Полноразмерный галанин крысы (1–29) G7, который использовали в качестве положительного контроля, был получен конвергентным твердофазным синтезом с использованием Fmoc-методологии [28]. Синтезированные пептиды были очищены методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на обращённой фазе, их структура охарактеризована методами ¹H-ЯМР-спектроскопии и MALDI-TOF масс-спектрометрии [29].

ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДОВ ГАЛАНИНА НА ПОВРЕЖДЕНИЕ СЕРДЦА ПРИ ИШЕМИИ И РЕПЕРФУЗИИ

Действие пептидов G1–7 было изучено на модели региональной ишемии миокарда и реперфузии у наркотизированных крыс *in vivo*. Защиту миокарда оценивали: 1) некротической гибелью кардиомиоцитов в зоне риска (ЗР) – размерами ИМ, нормализованными на величину ЗР (ИМ/ЗР, %), 2) повреждением клеточных

мембран – активностью маркёров некроза (креатинкиназы МВ (КК-МВ) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в плазме крови), 3) энергетическим состоянием ЗР – содержанием АТФ, АДФ и АМФ, фосфокреатина (ФКр), креатина (Кр) и лактата, 4) образованием АФК – концентрацией спинового аддукта гидроксильных радикалов 5,5-диметил-пирролин-N-оксида-ОН (ДМПО-ОН) в интерстиции ЗР. Влияние пептидов на гемодинамическое состояние животных характеризовали изменениями систолического артериального давления (САД) и частоты сокращений сердца (ЧСС). Внутривенное введение пептидов G1–7 в диапазоне доз 0,25–3,0 мг/кг после 40-мин региональной ишемии одновременно с началом реперфузии, которая длилась 1 ч, снижало размеры ИМ и активность маркёров некроза в плазме [30, 31]. К окончанию реперфузии при использовании оптимальных доз G3 и G7 (1,0 и 0,5 мг/кг соответственно) ИМ снижался в среднем на 40%, а активность ЛДГ и КК-МВ – на 30% по сравнению с контролем (рис. 1).

Общий кардиопротекторный эффект каждого из пептидов был оценён путём ранжирования по пяти показателям [32]. Три из них характеризовали повреждение кардиомиоцитов и мембран (размеры ИМ, активность МВ-КК и ЛДГ в плазме) и два – реакцию сердца и всего организма на введение лиганда (изменения САД и ЧСС). Эффективность пептидов при такой суммарной оценке их действия снижалась в следующем ряду: G3 > G1 > G7 > G6 > G4 > G2 > G5. Таким образом, модифицированный N-концевой фрагмент галанина G3 обнаруживал наибольшую способность к снижению И/Р-повреждения сердца.

Уменьшение некроза кардиомиоцитов под действием G2, G3 и G7 сопровождалось улуч-

шением метаболического состояния ЗР в конце реперфузии – увеличением содержания АТФ, общего фонда адениннуклеотидов ($\Sigma АН = АТФ + АДФ + АМФ$) и ФКр [33, 34]. Под действием пептида G3 отмечено увеличение содержания общего креатина ($\Sigma Кр = ФКр + Кр$) и отношения ФКр/Кр в ЗР, что может отражать меньшие повреждения сарколеммы [35] и лучшее функциональное сопряжение изоформ креатинкиназы в фосфокреатиновом челноке [36]. Введение пептидов G2, G3 и G7 крысам после региональной ишемии существенно снижало образование аддукта гидроксильных радикалов ДМПО-ОН в интерстиции зоны риска ЛЖ при возобновлении кровотока [31]. Это свидетельствовало об уменьшении генерирования АФК в ткани реперфузированного миокарда под действием пептидов. Дополнительно после окончания реперфузии в ЗР миокарда животных, защищённых введением G3 или G7, было обнаружено более низкое содержание тиобарбитуратных кислотно-активных продуктов (ТВАРС) – продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), которое не отличалось от предшемических значений [31, 33]. Эти данные однозначно указывают на способность пептидов галанина уменьшать окислительный стресс при реперфузии.

ДЕЙСТВИЕ ПЕПТИДА G3 ПРИ ДОКСОРУБИЦИН-ИНДУЦИРУЕМОЙ КАРДИОМИОПАТИИ

Наиболее эффективный модифицированный N-концевой фрагмент галанина G3 был изучен при кардиомиопатии у крыс, которая развивалась в течение 8 недель после введения

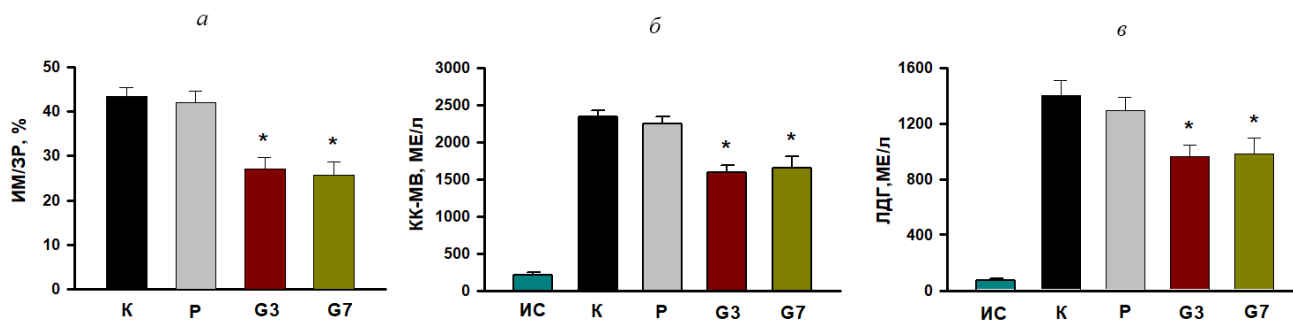


Рис. 1. Влияние внутривенного введения пептидов галанина на показатели И/Р повреждения сердца у крыс *in vivo*. а – Действие пептидов G3 и G7 на размеры инфаркта миокарда (ИМ/ЗР, %). К – контроль (введение физиологического раствора), ИМ – инфаркт миокарда, ЗР – зона риска, Р – растворитель, 0,2%-ный диметилсульфоксид (ДМСО). Данные представлены как $M \pm m$ для групп из 8 животных. Влияние пептидов на активность креатинкиназы-МВ (КК-МВ, (б)) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ, (в)) в плазме крови крыс в конце реперфузии. ИС – исходное состояние (до окклюзии ПНА), К – контроль (введение физиологического раствора), Р – растворитель, 0,2%-ный ДМСО, G3 (1 мг/кг), G7 (0,5 мг/кг). Данные представлены как $M \pm m$ для групп из 8 животных. * Достоверно отличается ($p < 0,01$) от К и Р

доксорибуцина (Докс). Снижение повреждения функции сердца, уменьшение ремоделирования левого желудочка сердца и морфологических изменений в миокарде в конце опытов при совместном введении Докс и пептида G3 сопровождалось значительным улучшением метаболизма миокарда. На это указывало более высокое содержание АТФ, Σ АН, ФКр и Σ Кр в сердце, которое сочеталось со снижением накопления глюкозы и лактата [37]. Эти эффекты были связаны с увеличением окислительного фосфорилирования под действием G3. Так, дыхательный контроль митохондрий на 5 мМ глутамате и 5 мМ малате в группе G3 + Докс был достоверно выше, чем в группе Докс и достоверно не отличался от значения в контроле [38]. Улучшение аэробного обмена под действием пептида G3 в сердце, поврежденном Докс, восстанавливало нормальное содержание Ala, Glu и Asp и снижало образование цитотоксичного аммиака. Такие сдвиги во внутриклеточном обмене миокарда отражают снижение отношения NADH/NAD^+ в цитозоле, нормализацию функции малат-аспартатного челнока и цикла трикарбоновых кислот [39].

Окислительный стресс является одним из ведущих факторов кардиотоксичности, инициируемой Докс [40]. В нашей работе это подтверждалось высокими уровнями продуктов ПОЛ TBARS на системном и на органном уровне, а также повышенной активностью специфичного маркера некроза сердца – КК-МВ в плазме у животных, получавших Докс [37, 38]. Введение пептида G3 при повреждении сердца Докс снижало содержание продуктов ПОЛ в сердце и плазме животных и одновременно улучшало интегрированность мембран кардиомиоцитов, снижая активность КК-МВ в плазме (рис. 2). Эти эффекты сопровождалось увеличением активности Cu,Zn-супероксиддисмутазы (Cu,Zn-SOD) и глутатионпероксидазы (GSH-Px) в мио-

карде, указывая на усиление антиоксидантной защиты сердца [41]. Повышение активности Cu,Zn-SOD и GSH-Px могло быть связано с увеличением экспрессии генов этих ферментов под влиянием G3. На такую возможность указывают результаты недавней работы Timotin et al. [42], в которой уменьшение размера инфаркта миокарда у мышей, получавших пептид G7, сочеталось с увеличением мРНК Cu,Zn-SOD в кардиомиоцитах. Введение одного пептида G3 здоровым животным в течение 8 недель не вызывало изменений активности КК-МВ и антиоксидантных ферментов. Результаты указывают на возможность использования модифицированных фрагментов галанина для коррекции метаболического и антиоксидантного состояния сердца при химиотерапии антрациклинами.

ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДОВ ГАЛАНИНА НА ОКИСЛЕНИЕ ЛИПОПРОТЕИДОВ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ В ПЛАЗМЕ ЧЕЛОВЕКА

Мы изучили действие пептидов галанина на параметры свободнорадикального окисления природных липопротеидов низкой плотности (ЛНП) в плазме крови здоровых доноров. Для этого на модели Cu^{2+} -инициированного окисления изолированных ЛНП использовали природный фрагмент галанина (2–15) G2, его модифицированный аналог G3 и полноразмерный галанин G7. Длительность инкубации пептидов с ЛНП составляла 3 ч. Продолжительность периода индукции окисления ЛНП характеризовали лаг-фазой (τ), которую определяли из кинетических кривых [43]. На этой модели окисления ЛНП синтетический фенольный антиоксидант, бутилированный гидрокситолуол (ВНТ) в концентрации 0,01 мМ, обладал наиболее выраженным ингибирующим действием [31]. Из приведённых на рис. 3 значений τ следует, что

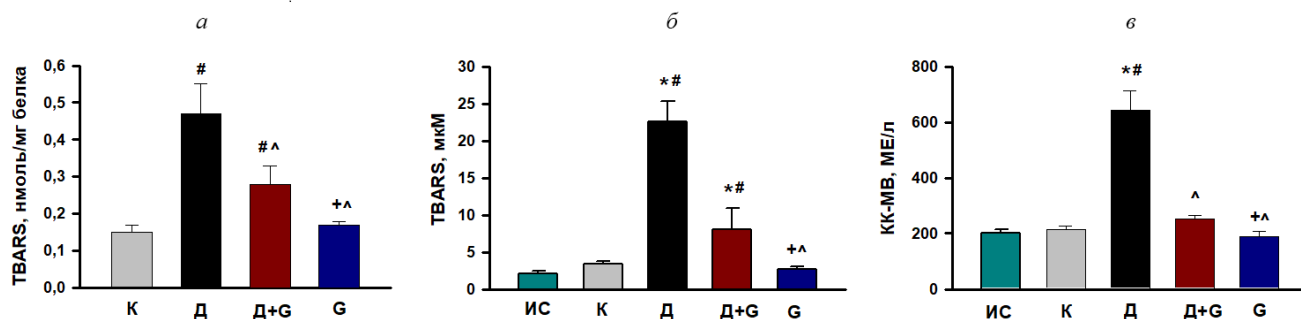


Рис. 2. Показатели окислительного стресса и повреждения мембран кардиомиоцитов в исследуемых группах. а – Содержание продуктов ПОЛ (TBARS) в сердце. б – Концентрация TBARS в плазме крови. в – Активность креатинкиназы-МВ (КК-МВ) в плазме крови. ИС – исходное состояние, К – контроль, Д – Докс, Д + G – Докс + пептид G3, G – пептид G3. Данные представлены как $M + m$ ($n = 12$). $p < 0,05$ от: * ИС, # К, ^ Д, + Д + G

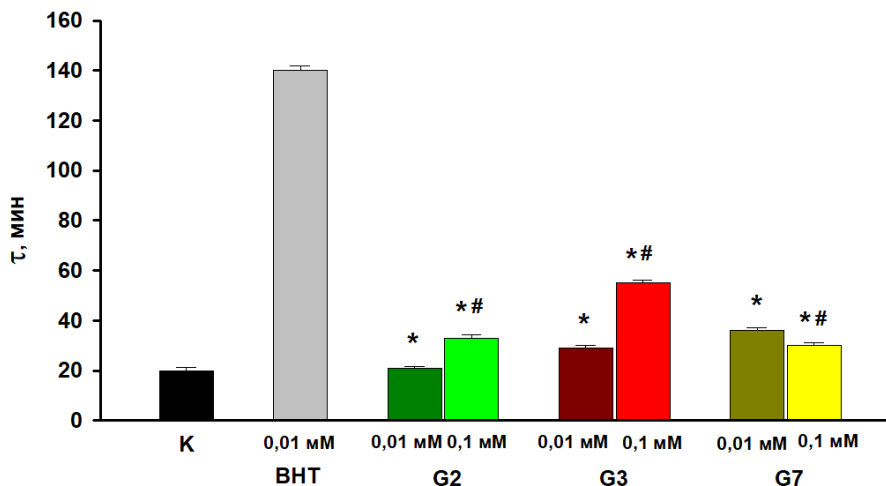


Рис. 3. Продолжительность периодов индукции (τ) свободнорадикального окисления ЛНП в присутствии различных концентраций пептидов галанина. К – контроль; ВНТ – 0,01 мМ бутилированный гидрокситолуол; * $p < 0,05$ по сравнению с контролем; # $p < 0,05$ по сравнению с 0,01 мМ пептидом; $n = 5$

исследованные пептиды галанина также ингибировали окисление липидов. При концентрации 0,01 мМ продолжительность периодов индукции окисления для G2, G3 и G7 была достоверно выше этого показателя в контроле. Увеличение концентрации пептидов в среде инкубации до 0,1 мМ приводило к возрастанию антиоксидантной активности G2 и G3 и незначительному снижению ингибирующего действия G7. Из этих результатов следует, что способность ингибировать свободнорадикальное окисление ЛНП у этих соединений снижалась в следующем ряду: G2 > G7 > G3.

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СУБСТАНЦИИ ПЕПТИДА G3

Оценку параметров токсичности G3 проводили по методу Deichman и Le Blanc [44] для определения средней смертельной дозы (ЛД₅₀). Однократные внутривенные введения субстанции пептида G3 мышам линии BALB/c в диапазоне доз 37–520 мг/кг не вызывали каких-либо признаков интоксикации и гибели животных в течение 14 дней наблюдения [45]. Высшая из испытанных доз вещества (520 мг/кг) оказалась максимально возможной из-за ограничения по растворимости. Она в 520 раз превышала разовую терапевтическую дозу вещества, рекомендованную для человека (1 мг/кг). Отсутствие признаков интоксикации веществом и гибели животных при однократном введении пептида в максимально возможной дозе из-за ограничений по растворимости не позволили установить величину ЛД₅₀. В то же время полученные ре-

зультаты свидетельствуют о хорошей переносимости пептида G3 при введении мышам.

ПУТИ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ, АКТИВИРУЮЩИЕСЯ РЕЦЕПТОРАМИ ГАЛАНИНА

Биологические эффекты галанина могут реализовываться через сопряжённые с G-белками трансмембранные рецепторы (7-TM GPCR) GalR1, GalR2 и GalR3 [3, 5]. Эти рецепторы демонстрируют различия в распределении в зависимости от типа ткани. GalR1 и GalR2 преимущественно находятся в головном мозге, мышцах, жировой ткани и желудке [46], тогда как GalR3, но не GalR1, экспрессируется в лёгких и почках [47]. Все три подтипа рецепторов присутствуют в сердце [2, 5], но распределение мРНК GalR1–3 практически не изучено и не картировано по отделам сердца [48]. Поэтому изучение экспрессии и распределения этих рецепторов в миокарде методами иммуногистохимии, гибридизации *in situ* и связывания флуоресцентных лигандов необходимо для развития подходов к защите сердца с помощью модифицированных фрагментов галанина.

Активация GalR включает различные пути передачи сигналов в зависимости от подтипов рецепторов (рис. 4). Большинство фармакологических исследований показывает, что сигнализация через GalR1 приводит к ингибированию активности аденилатциклазы (АС) и снижает уровень циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) в цитозоле, вызывает открытие K^+ -канала внутреннего выпрямления (IRK) и

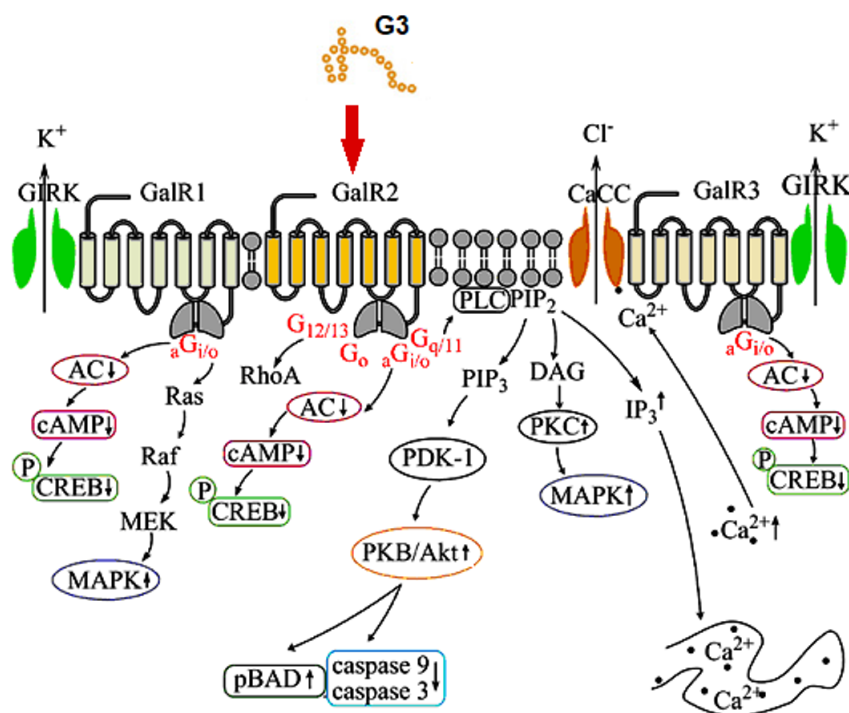


Рис. 4. Внутриклеточный сигналинг, активируемый фармакологическим агонистом рецептора GalR2, пептидом G3. AC – аденилатциклаза; CaCC – Ca²⁺-зависимый хлоридный канал; cAMP – циклический АМФ; (p)CREB – фосфорилированный цАМФ-зависимый элемент; DAG – диацилглицерин; IP₃ – инозитол трифосфат; MAPK – митогенактивируемая протеинкиназа; PDK-1 – фосфоинозитол-зависимая протеинкиназа-1; PIP₂ – фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат; PIP₃ – фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфат; PKB – протеинкиназа В (Akt); PLC – фосфолипаза С; RhoA – трансформирующий белок RhoA

активацию митоген-активированной протеинкиназы (МАРК) [49]. Это влияние опосредовано Gi/o-белками, чувствительными к коклюшному токсину (РТХ). В нейронах крысы обнаружено ингибирование галанином вольт-зависимых Ca²⁺-каналов, вызванное активацией рецептора GalR1 [50]. В отличие от GalR1, GalR2 сигнализирует через несколько классов G-белков, запуская различные внутриклеточные пути. Основная передача сигнала рецептором GalR2 осуществляется при соединении с Gq/11-белком, приводящим к активации фосфолипазы С (PLC), которая стимулирует высвобождение Ca²⁺ из эндоплазматического ретикулума за счёт расщепления фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата (PIP₂) и открывает Ca²⁺-зависимые ионные каналы в устойчивом к РТХ режиме [3, 5]. Этот путь не стимулируется рецепторами GalR1 или GalR3. Так же, как и GalR1, активация GalR2 может подавлять активность АС через связывание с Gi/o-белками. Для GalR2 обнаружена функциональная связь с белком G12/13 и последующая активация малого белка GTPase RhoA [51]. Активация GalR2 стимулирует МАРК/ЕРК путь РТХ-чувствительным способом, как зависимым [49], так и независимым от

протеинкиназы С (ПКС) [51], указывая на связывание с Go-белком. GalR3 действует главным образом через РТХ-чувствительный белок Gi/o, что приводит к открытию ИРК, а также к снижению активности АС и уровня цАМФ в цитозоле [52]. Полагают, что активация GalR3, аналогично активации GalR1 и GalR2, влияет на фосфорилирование транскрипционного фактора CREB – белка, связывающего цАМФ-зависимый элемент. Не исключена потенциальная гетеромеризация GalR3 с другими рецепторами галанина или рецепторами нейропептидов [2]. Следует отметить, что указанные сигнальные пути были преимущественно охарактеризованы в нейрональных клетках. Сигналинг, опосредованный галанином и его модифицированными N-концевыми фрагментами в клетках сердца, остаётся не изученным.

МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ПЕПТИДОВ ГАЛАНИНА

Представленные в настоящем обзоре данные свидетельствуют о широком спектре защитных эффектов галанина и его N-концевых фрагмен-

тов при экспериментальной патологии сердца. Они заключались в уменьшении некротической гибели кардиомиоцитов, снижении повреждения клеточных мембран, уменьшении дисфункции митохондрий, улучшении метаболического и антиоксидантного состояния миокарда, снижении образования АФК и продуктов ПОЛ. Существенно, что действие полноразмерного галанина G7, связывающегося со всеми подтипами рецепторов GalR1–3, воспроизводилось фрагментами пептида, обладающими наибольшей аффинностью к рецептору GalR2. Это относится как к природным фрагментам G1 и G2, так и к их модифицированным аналогам G3–6. Среди исследованных пептидов высокую активность на всех использованных моделях обнаруживал синтетический химерный агонист G3. Эти данные указывают на принципиальную роль рецепторов GalR2 в кардиопротекторном действии изученных агонистов. Механизмы действия биологически активных фрагментов галанина при экспериментальной патологии сердца условно можно разделить на рецептор-зависимые и антиоксидантные.

Активация пептидами галанина различных путей трансдукции при связывании с рецептором GalR2 может способствовать меньшему повреждению кардиомиоцитов (рис. 4). Ингибирование активности аденилатциклазы при сопряжении с белком Gi/o приводит к ингибированию транскрипционного фактора CREB. Это повышает экспрессию транспортера глюкозы GLUT4 и его перемещение в сарколемму, стимулируя захват и окисление глюкозы кардиомиоцитами [53]. Запуск этого механизма имеет решающее значения для обеспечения функции сердца в условиях снижения продукции АТФ [17]. Сопряжения рецептора GalR2 с белком Gq/11 посредством активации PLC регулирует Ca²⁺-гомеостаз, что улучшает инотропные свойства сердца. Сигналинг GalR2 через белок Gq/11 вызывает фосфорилирование протеинкиназы В (Akt), ингибирование проапоптозных белков BAD/BAX и снижение активности каспазы-3 и каспазы-9 [2, 54]. Активация GalR2 стимулирует сигнальные пути, активируемые митоген-активируемыми протеинкиназами (MEK1/2 и ERK1/2), приводящие к блокированию открытия митохондриальных пор временной проницаемости (mPTP) и, таким образом, способствует выживанию и подвижности клеток [55]. Кроме того, фосфорилирование ERK способствует повышенной экспрессии рецепторов, активируемых пероксисомными пролифераторами (PPAR), контролирующими энергетический метаболизм, включая и экспрессию PPAR γ , стимулирующего поглощение и

окисление глюкозы кардиомиоцитами [56]. Из этого следует, что пептидные агонисты рецептора GalR2 способны усиливать механизмы метаболической защиты при повреждении сердца.

Антиоксидантные эффекты пептидов галанина, связанные со снижением продукции АФК и уменьшением образования продуктов ПОЛ, наблюдались при окислительном стрессе *in vivo* (И/Р-повреждении сердца и Докс-индуцируемой кардиомиопатии у крыс) и свободно-радикальном окислении ЛНП плазмы крови человека *in vitro*. Как известно, гиперпродукция АФК и ПОЛ вызывают нарушение структуры и функций клеточных мембран, изменение ионного гомеостаза и гибель клеток от некроза и апоптоза [57]. Полученные нами результаты показывают, что в защите пептидами галанина от повреждающего действия АФК могут участвовать ферменты системы антиоксидантной защиты сердца – SOD, каталаза (CAT) и GSH-Px, активность которых на использованных экспериментальных моделях увеличивалась [31, 33, 41]. Это указывает на возможность усиления экспрессии генов, кодирующих эти ферменты [42]. С другой стороны, при повреждении миокарда, сопровождающемся нарушениями структуры мембран кардиомиоцитов, возможен перенос экзогенных пептидов галанина из кровотока во внутриклеточное пространство. Последнее не исключает непосредственного взаимодействия пептидов с антиоксидантными ферментами сердца. Такая ситуация была смоделирована нами инкубацией пептидов G2, G3 и G7 с коммерческими ферментами Cu,Zn-SOD, GSH-Px и CAT в модельных системах *in vitro* [31]. Однако несмотря на длительную инкубацию (в течение 24 ч), пептиды галанина не оказывали существенного однонаправленного влияния на активность этих ферментов. Наконец, нельзя исключить прямого антиоксидантного действия исследованных пептидов – их способность перехватывать АФК и ингибировать ПОЛ [1, 58]. Такие свойства G2, G3 и G7 могли проявляться при подавлении свободно-радикального окисления липидов плазмы крови человека и снижении образования спинового аддукта гидроксильных радикалов ДМПО-ОН при реперфузии ЗР сердца после региональной ишемии [31, 34]. Дальнейшее изучение механизмов снижения окислительного стресса с помощью фармакологических лигандов рецептора GalR2 представляется важной задачей будущих исследований. Одним из подходов к её решению может быть изучение кинетики взаимодействия пептидов галанина с АФК с помощью спектроскопии ЭПР – прямого метода регистрации свободных радикалов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последние годы создание лекарственных средств на основе биоактивных пептидов ускорило благодаря исследованиям генома, расширившим выбор клеточных мишеней, и успехам комбинационной химии и твердофазного синтеза пептидов с помощью Fmoc-методологии. Использование природных пептидных биорегуляторов привлекает внимание высокой эффективностью, возможностью использования в малых дозах, отсутствием побочных и токсикологических реакций. В частности, большое внимание уделяется «галанинергической терапии» с помощью галанина и лигандов его рецепторов. В этом направлении основные усилия сфокусированы на изучении синтетических агонистов/антагонистов рецепторов GalR1–3 различной химической природы на клеточных линиях для создания препаратов, корректирующих нарушения метаболизма при ожирении, диабете и нейродегенеративных заболеваниях мозга [2, 3, 7]. Приведённые выше данные показывают, что галанинергическая система является перспективной мишенью для фармакологического воздействия при функциональных и метаболических нарушениях сердца. Они указывают на целесообразность молекулярного конструирования

пептидных агонистов рецептора галанина GalR2 с улучшенными физико-химическими характеристиками (растворимость, протеолитическая стабильность, устойчивость к окислению при хранении) и необходимость изучения молекулярных механизмов их действия. Подобные соединения могут служить основой для разработки нового класса кардиопротекторов, способствуя уменьшению стресс-индуцированных изменений в организме за счёт влияния на процессы свободнорадикального окисления и метаболической адаптации.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты №№ 18-015-0008-а и 18-015-0009-а).

Благодарности. Авторы признательны М.В. Сидоровой, А.А. Тимошину и В.З. Ланкину за ценные советы при обсуждении этого обзора.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Jakubczyk, A., Karas, M., Rybczynska-Tkaczyk, K., Zielińska, E., and Zieliński, D. (2020) Current trends of bioactive peptides – new sources and therapeutic effect, *Foods*, **9**, 846, doi: 10.3390/foods9070846.
- Lang, R., Gundlach, A. L., Holmes, F. E., Hobson, S. A., Wynick, D., Hökfelt, T., and Kofler, B., (2015) Physiology, signaling, and pharmacology of galanin peptides and receptors: three decades of emerging diversity, *Pharmacol. Rev.*, **67**, 118-175, doi: 10.1124/pr.112.006536.
- Branchek, T. A., Smith, K. E., Gerald, C., and Walker, M. W. (2000) Galanin receptor subtypes, *Trends Pharmacol. Sci.*, **21**, 109-117, doi: 10.1016/S0165-6147(00)01446.
- Melander, T., Hökfelt, T., Rokaeus, Å., Oertel, W. H., Verhofstad, A., and Goldstein, M. (1986) Coexistence of galanin-like immunoreactivity with catecholamines, 5-hydroxytryptamine, GABA and neuropeptides in the rat CNS, *J. Neurosci.*, **6**, 3640-3654, doi: 10.1523/JNEUROSCI.06-12-03640.1986.
- Webling, K. E. B., Runesson, J., Bartfai, T., and Langel, Ü. (2012) Galanin receptors and ligands, *Front. Endocrinol.*, **3**, 146, doi: 10.3389/fendo.2012.00146.
- Wada, N. (2016) Galanin Peptide Family, in *Handbook of Hormones. Comparative Endocrinology for Basic and Clinical Research*, Academic Press, pp. 203-204, e24-2, doi: 10.1016/B978-0-12-801028-0.00024-6.
- Mitsukawa, K., Lu, X., and Bartfai, T. (2008) Galanin, galanin receptors and drug targets, *Cell. Mol. Life Sci.*, **65**, 1796-1805, doi: 10.1007/s00018-008-8153-8.
- Abbott, S., and Pilowsky, P. (2009) Galanin microinjection into rostral ventrolateral medulla of the rat is hypotensive and attenuates sympathetic chemoreflex, *Am. J. Physiol.*, *Regul. Integr. Comp. Physiol.*, **296**, R1019-R1026, doi: 10.1152/ajpregu.90885.2008.
- Ewert, T. J., Gritman, K. R., Bader, M., and Habecker, B. A. (2008) Post-infarct cardiac sympathetic hyperactivity regulates galanin expression, *Neurosci. Lett.*, **436**, 163-166.
- Habecker, B. A., Gritman, K. R., Willison, B. D., and Van Winkle, D. M. (2005) Myocardial infarction stimulates galanin expression in cardiac sympathetic neurons, *Neuropeptides*, **39**, 89-95, doi: 10.1016/j.npep.2004.11.003.
- Kocic, I. (1998) The influence of the neuropeptide galanin on the contractility and the effective refractory period of guinea-pig heart papillary muscle under normoxic and hypoxic conditions, *J. Pharm. Pharmacol.*, **50**, 1361-1364, doi: 10.1111/j.2042-7158.1998.tb03360.x.
- Fang, P., Sun, J., Wang, X., Zhang, Z., Bo, P., and Shi, M. (2013) Galanin participates in the functional regulation of the diabetic heart, *Life Sci.*, **92**, 628-632, doi: 10.1016/j.lfs.2013.01.024.
- Legalkis, I. N., Mantzouridis, T., and Mountokalakis, T. (2007) Positive correlation of galanin with glucose in healthy volunteers during an oral glucose tolerance test, *Horm. Metab. Res.*, **39**, 53-55, doi: 10.1055/s-2006-957346.
- Leto, D., and Saltiel, A. R. (2012) Regulation of glucose transport by insulin: traffic control of GLUT4, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **13**, 383-396, doi: 10.1038/nrm3351.
- Guo, L., Shi, M., Zhang, L., Li, G., Zhang, L., et al. (2011) Galanin antagonist increases insulin resistance by reducing glucose transporter 4 effect in adipocytes of rats, *Gen. Comp. Endocrinol.*, **173**, 159-163, doi: 10.1016/j.ygcen.2011.05.011.

16. Adachi, H., Ohno, T., Oguri, M., Oshima, S., and Taniguchi, K. (2007) Effect of insulin sensitivity on severity of heart failure, *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **77** (Suppl. 1), S258-S262, doi: 10.1016/j.diabres.2007.01.068.
17. Doehner, W., Gathercole, D., Ciccoira, M., Krack, A., Coats, A. J. S., et al. (2010) Reduced glucose transporter GLUT4 in skeletal muscle predicts insulin resistance in non-diabetic chronic heart failure patients independently of body composition, *Int. J. Cardiol.*, **138**, 19-24, doi: 10.1016/j.ijcard.2008.07.004.
18. Tian, R., and Abel, E. D. (2001) Responses of GLUT4-deficient hearts to ischemia underscore the importance of glycolysis, *Circulation*, **103**, 2961-2966, doi: 10.1161/01.CIR.103.24.2961.
19. Harling, H., and Holst, J. J. (1992) Circulating galanin: origin, metabolism, and pharmacokinetics in anesthetized pigs, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **262**, E52-E57, doi: 10.1152/ajpendo.1992.262.1.
20. Holst, J. J., Bersani, M., Hvidberg, A., Knigge, U., Christiansen, E., et al. (1993) On the effects of human galanin in man, *Diabetologia*, **36**, 653-657, doi: 10.1007/BF00404076.
21. Webling, K., Runesson, J., Lang, A., Saar, I., Kofler, B., and Langel, U. (2016) Ala5-galanin (2-11) is a GAL2R specific galanin analogue, *Neuropeptides*, **60**, 75-82, doi: 10.1016/j.npep.2016.08.008.
22. Timotin, A., Pisarenko, O., Sidorova, M., Studneva, I., Shulzhenko, V., et al. (2017) Myocardial protection from ischemia/reperfusion injury by exogenous galanin fragment, *Oncotarget*, **8**, 21241-21252, doi: 10.18632/oncotarget.15071.
23. Pisarenko, O., Timotin, A., Sidorova, M., Studneva, I., Shulzhenko, V., et al. (2017) Cardioprotective properties of N-terminal galanin fragment (2-15) in experimental ischemia/reperfusion injury, *Oncotarget*, **8**, 60, 101659-101671, doi: 10.18632/oncotarget.21503.
24. Saar, I., Lahe, J., Langel, K., Runesson, J., Webling, K., et al. (2013) Novel systemically active galanin receptor 2 ligands in depression-like behavior, *J. Neurochem.*, **127**, 114-123, doi: 10.1111/jnc.12274.
25. Aldini, G., Facino, R. M., Beretta, G., and Carini, M. (2005) Carnosine and related dipeptides as quenchers of reactive carbonyl species: from structural studies to therapeutic perspectives, *Biofactors*, **24**, 77-87, doi: 10.1002/biof.5520240109.
26. Wang, S., He, C., Hashemi, T., and Bayne, M. (1997) Cloning and expressional characterization of a novel galanin receptor. Identification of different pharmacophores within galanin for the three galanin receptor subtypes, *J. Biol. Chem.*, **272**, 31949-31952, doi: 10.1074/jbc.272.51.31949.
27. Liu, H. X., Brumovsky, P., Schmidt, R., Brown, W., Payza, K., et al. (2001) Receptor subtype-specific pronociceptive and analgesic actions of galanin in the spinal cord: selective actions via GalR1 and GalR2 receptors, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 9960-9964, doi: 10.1073/pnas.161293598.
28. Сидорова М. В., Палькеева М. Е., Авдеев Д. В., Молокоедов А. С., Овчинников М. В., и др. (2020) Конвергентный синтез галанина крысы и изучение его биологической активности, *Биоорг. химия*, **46**, 36-46, doi: 10.31857/S0132342320010121.
29. Palkeeva, M., Studneva, I., Molokoedov, A., Serebryakova, L., Veselova, O., et al. (2019) Galanin/GalR1-3 system: a promising therapeutic target for myocardial ischemia/reperfusion injury, *Biomed. Pharmacother.*, **109**, 1556-1562, doi: 10.1016/j.biopha.2018.09.182.
30. Serebryakova, L., Pal'keeva, M., Studneva, I., Molokoedov, A., Veselova, O., et al. (2019) Galanin and its N-terminal fragments reduce acute myocardial infarction in rats, *Peptides*, **111**, 127-131, doi: 10.1016/j.peptides.2018.05.001.
31. Pisarenko, O. I., Studneva, I. M., Serebryakova, L. I., Timoshin, A. A., Konovalova, G. G., et al. (2021) Antioxidant properties of galanin and its N-terminal fragments in *in vitro* and *in vivo* oxidative stress modeling, *Biochemistry (Moscow)*, **86**, 496-505, doi: 10.1134/S0006297921040106.
32. Glanz, S. A. (2021) *Primer of Biostatistics*, 7th Edn, The McGraw-Hill Companies Inc, New York.
33. Studneva, I., Serebryakova, L., Veselova, O., Pal'keeva, M., Molokoedov, A., et al. (2019) Galanin receptors activation modulates myocardial metabolic and antioxidant responses to ischaemia/reperfusion stress, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **46**, 1174-1182, doi: 10.1111/1440-1681.13164.
34. Serebryakova, L., Studneva, I., Timoshin, A., Veselova, O., Pal'keeva, M., et al. (2021) Galanin peptides alleviate myocardial ischemia/reperfusion injury by reducing reactive oxygen species form, *Inter. J. Peptide Res. Ther.*, **27**, 2039-2048, doi: 10.1007/s10989-021-10231-x.
35. Zervou, S., Whittington, H. J., Russell, A. J., and Lygate, C. A. (2016) Augmentation of creatine in the heart, *Med. Chem.*, **16**, 19-28.
36. Guimarães-Ferreira, L. (2014) Role of the phosphocreatine system in energetic homeostasis in skeletal and cardiac muscles, *Einstein (Sao Paulo)*, **12**, 126-131.
37. Studneva, I., Palkeeva, M., Veselova, O., Molokoedov, A., Ovchinnikov, M., et al. (2019) Protective effects of a novel agonist of galanin receptors against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats, *Cardiovasc. Toxicol.*, **19**, 136-146, doi 10.1007/s12012-018-9483-x.
38. Студнева И. М., Палькеева М. Е., Веселова О. М., Молокоедов А. С., Любимов Р. О., и др. (2019) Защитное действие модифицированного фрагмента галанина при сердечной недостаточности у крыс, вызванной доксорубицином, *Биомед. хим.*, **65**, 51-56, doi: 10.18097/PBMC20196501051.
39. LaNoüe, K. F., Walajtys, E. I., and Williamson, J. R. (1973) Regulation of glutamate metabolism and interactions with citric acid cycle in rat heart mitochondria, *J. Biol. Chem.*, **248**, 7171-7183.
40. Minotti, G., Menna, P., Salvatorelli, E., Cairo, G., and Gianni, L. (2004) Anthracyclines: and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity, *Pharmacol. Rev.*, **56**, 185-229, doi: 10.1124/pr.56.2.6.
41. Студнева И. М., Веселова О. М., Бахтин А. А., Коновалова Г. Г., Ланкин В. З., Писаренко О. И. (2020) Механизмы защиты сердца синтетическим агонистом рецепторов галанина при повреждении хроническим введением доксорубицина, *Acta Naturae*, **12**, 28-37, doi: 10.32607/actanaturae.10945.
42. Timotin, A., Cinato, M., Kramar, S., Loy, H., Merabishvil, G., et al. (2019) Galanin is a checkpoint regulator of mitochondrial biogenesis coordinating a pro-survival phenotype in post-infarct myocardial remodeling, preprint, doi: 10.2139/ssrn.3424189.
43. Lankin, V., Konovalova, G., Tikhaze, A., Shumaev, K., Kumskova, E., and Viigimaa, M. (2014) The initiation of free radical peroxidation of low-density lipoproteins by glucose and its metabolite methylglyoxal: a common molecular mechanism of vascular wall injury in atherosclerosis and diabetes, *Mol. Cell. Biochem.*, **395**, 241-252, doi: 10.1007/s11010-014-2131-2.
44. Deichman, W. B., and Le Blanc, T. J. (1943) Immediately dangerous to life or health (IDLH) values, *J. Indust. Hyg. Toxicol.*, **25**, 415-417.
45. Сербрякова Л. И., Палькеева М. Е., Студнева И. М., Овчинников М. В., Веселова О. М., и др. (2019) Кар-

- диометаболическая эффективность и токсикологическая характеристика фармакологического агониста рецепторов галанина, *Биомед. химия.*, **65**, 231-238, doi: 10.18097/PBMC20196503231.
46. Li, R. Y., Song, H. D., Shi, W. J., Hu, S. M. S., Yang, Y. S., et al. (2004) Galanin inhibits leptin expression and secretion in rat adipose tissue and 3T3-L1 adipocytes, *J. Mol. Endocrinol.*, **33**, 11-19, doi: 10.1677/jme.0.0330011.
 47. Waters, S. M., and Krause, J. E. (2000) Distribution of galanin-1, -2 and -3 receptor messenger RNAs in central and peripheral rat tissues, *Neuroscience*, **95**, 265-271.
 48. Šipkova, J., Kramarikova, I., Hynie, S., and Klennerova, V. (2017) The Galanin and galanin receptor subtypes, its regulatory role in the biological and pathological functions, *Physiol. Res.*, **66**, 729-740, doi: 10.33549/physiolres.933576.
 49. Wang, S., Hashemi, T., Fried, S., Clemmons, A. L., and Hawes, B. E. (1998) Differential intracellular signaling of the GalR1 and GalR2 galanin receptor subtypes, *Biochemistry*, **37**, 6711-6717.
 50. Anselmi, L., Stella, S. L., Brecha, N. C., and Sternini, C. (2009) Galanin inhibition of voltage-dependent Ca²⁺ influx in rat cultured myenteric neurons is mediated by galanin receptor 1, *J. Neurosci. Res.*, **87**, 1107-1114.
 51. Wittau, N., Grosse, R., Kalkbrenner, F., Gohla, A., Schultz, G., and Gudermann, T. (2000) The galanin receptor type 2 initiates multiple signaling pathways in small cell lung cancer cells by coupling to G(q), G(i) and G(12) proteins, *Oncogene*, **19**, 4199-4209.
 52. Kolakowski, L. F., O'Neill, G. P., Howard, A. D., Broussard, S. R., Sullivan, K. A., et al. (1998) Molecular characterization and expression of cloned human galanin receptors GALR2 and GALR3, *J. Neurochem.*, **71**, 2239-2251, doi: 10.1046/j.1471-4159.1998.71062239.x.
 53. Fang, P., Shib, M., Guo, L., He, B., Wang, Q., et al. (2014) Effect of endogenous galanin on glucose transporter 4 expression in cardiac muscle of type 2 diabetic rats, *Peptides*, **62**, 159-163, doi: 10.1016/j.peptides.2014.10.001.
 54. Krijnen, P. A., Nijmeijer, R., Meijer, C. J., Visser, C. A., Hack, C. E., and Niessen, H. W. (2002) Apoptosis in myocardial ischaemia and infarction, *J. Clin. Pathol.*, **55**, 801-811, doi: 10.1136/jcp.55.11.801.
 55. Hausenloy, D. J., and Yellon, D. M. (2013) Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target, *J. Clin. Invest.*, **123**, 92-100, doi: 10.1172/JCI62874.
 56. Jay, M. A., and Ren, J. (2007) Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) in metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus, *Curr. Diab. Rev.*, **3**, 33-39, doi: 10.2174/157339907779802067.
 57. Münzel, T., Camici, G. G., Maack, C., Bonetti, N. R., Fuster, V., and Kovacic, J. C. (2017) Oxidative stress on the heart and vasculature: Part 2 of a 3-Part series, *J. Am. Coll. Cardiol.*, **70**, 212-229, doi: 10.1016/j.jacc.2017.05.035.
 58. Power, O., Jakeman, P., and FitzGerald, R. J. (2013) Antioxidative peptides: enzymatic production, *in vitro* and *in vivo* antioxidant activity and potential applications of milk-derived antioxidative peptides, *Amino Acids*, **44**, 797-820, doi: 10.1007/s00726-012-1393-9.

MODIFIED N-TERMINAL FRAGMENTS OF GALANIN: CARDIOPROTECTIVE PROPERTIES AND MECHANISMS OF ACTION

Review

O. I. Pisarenko*, I. M. Studneva, and O. M. Veselova

National Medical Research Center for Cardiology, 121552 Moscow, Russia; E-mail: olpi@live.ru

The design of new drugs for the treatment of cardiovascular diseases based on endogenous peptide hormones is of undoubted interest and stimulates intensive experimental research. One of the ways for the development of this area is the synthesis of short bioactive peptides that mimic the effects of larger peptide molecules and have improved physicochemical characteristics. In recent years, it has been found that the N-terminal fragments of the neuropeptide galanin reduce metabolic and functional disorders in experimental heart damage. The review presents literature data and generalized results of our own experiments on the effect of full-length galanin and its chemically modified N-terminal fragments (2-11) and (2-15) on the heart in normal conditions and in modeling pathophysiological conditions *in vitro* and *in vivo*. It was shown that the spectrum of action of peptides on the damaged myocardium encompasses a decrease in the death of cardiomyocytes from necrosis, a decrease in sarcolemma damage, an improvement in the metabolic state of the myocardium, a decrease in the formation of reactive oxygen species and lipid peroxidation products. The mechanisms of the protective action of modified galanin fragments associated with the activation of the GalR2 receptor subtype and the manifestation of antioxidant properties are discussed. The data summarized in the review indicate that the molecular design of pharmacological agonists of the GalR2 receptor is promising, which can serve as a basis for the development of cardioprotectors that affect the processes of free radical oxidation and metabolic adaptation.

Keywords: galanin, heart, experimental pathology, reactive oxygen species, metabolism, cardiomyocyte membranes, lipid peroxidation, antioxidant enzymes