



Check for updates

Экспериментальные статьи

УДК 57.085.23

EDN CYENFN

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-4-365-374>

Стимулирующее влияние сочетаний дипептидов и трипептидов на развитие культуры тканей различного генеза

Н. И. Чалисова ^{✉1, 2}, Г. А. Рыжак ², Е. А. Никитина ^{1, 3}

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

² Санкт-Петербургский Институт биорегуляции и геронтологии, 197110, Россия, г. Санкт-Петербург, пр-т Динамо, д. 3

³ Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена, 191186, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. реки Мойки, д. 48

Сведения об авторах

Наталья Иосифовна Чалисова, SPIN-код: 2139-7608, ORCID: 0000-0002-2371-0043, e-mail: ni_chalisova@mail.ru

Галина Анатольевна Рыжак, SPIN-код: 5543-5974, Scopus AuthorID: 7801436718, ORCID: 0000-0003-2536-1438, e-mail: galina@gerontology.ru

Екатерина Александровна Никитина, SPIN-код: 7844-8621, Scopus AuthorID: 56603106300, ResearcherID: L-5761-2014, ORCID: 0000-0003-1897-8392, e-mail: 21074@mail.ru

Для цитирования: Чалисова, Н. И., Рыжак, Г. А., Никитина, Е. А. (2024) Стимулирующее влияние сочетаний дипептидов и трипептидов на развитие культуры тканей различного генеза. *Интегративная физиология*, т. 5, № 4, с. 365–374. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-4-365-374> EDN CYENFN

Получена 13 ноября 2024; прошла рецензирование 16 декабря 2024; принята 17 декабря 2024.

Финансирование: Работа поддержана средствами федерального бюджета в рамках государственного задания ФГБУН Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН (№ 1021062411629-7-3.1.4).

Права: © Н. И. Чалисова, Г. А. Рыжак, Е. А. Никитина (2024). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях [лицензии CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Аннотация. Одной из актуальных проблем современной физиологии и медицины является создание биорегуляторных препаратов, способствующих сохранению основных физиологических функций многоклеточных организмов. В Санкт-Петербургском институте биорегуляции и геронтологии была разработана технология выделения из различных органов и тканей телят полипептидных комплексов, оказывающих влияние на органотипическую культуру тканей экспериментальных животных. Методом хромато-масс-спектрографии в составе каждого из полипептидных комплексов выявлены наиболее часто встречающиеся кодируемые аминокислоты, из них были синтезированы дипептиды и трипептиды. На основе этих коротких пептидов созданы лекарственные препараты, каждый из которых способствовал усилению клеточной пролиферации при заболеваниях органов, состоящих из тканей различного генеза. Однако для решения задачи еще более эффективного воздействия на стимуляцию клеток необходимо выявление пролиферотропного влияния сочетаний коротких пептидов. В связи с этим целью работы было исследование действия сочетаний ди- и трипептидов на развитие тканей сосудов и легких половозрелых крыс в условиях их органотипического культивирования. Особое значение подобные исследования приобретают в настоящее время, когда метаболомный анализ рассматривается как одно из самых перспективных направлений развития системной биологии и молекулярной медицины.

Ключевые слова: дипептиды, трипептиды, органотипическая культура ткани, сосуды, легкие

The impact of dipeptide and tripeptide combinations on the development of tissue cultures from different origins

N. I. Chalisova^{✉1,2}, G. A. Ryzhak², E. A. Nikitina^{1,3}

¹ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, 6 Makarova Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

² Saint-Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, 3 Dynamo Ave., Saint Petersburg 197110, Russia

³ Herzen State Pedagogical University of Russia, 48 Moika River Emb., Saint Petersburg 191186, Russia

Authors

Natalia I. Chalisova, SPIN: 2139-7608, ORCID: 0000-0002-2371-0043, e-mail: ni_chalisova@mail.ru

Galina A. Ryzhak, SPIN: 5543-5974, Scopus AuthorID: 7801436718, ORCID: 0000-0003-2536-1438, e-mail: galina@gerontology.ru

Ekaterina A. Nikitina, SPIN: 7844-8621, Scopus AuthorID: 56603106300, ResearcherID: L-5761-2014, ORCID: 0000-0003-1897-8392, e-mail: 21074@mail.ru

For citation: Chalisova, N. I., Ryzhak, G. A., Nikitina, E. A. (2024) The impact of dipeptide and tripeptide combinations on the development of tissue cultures from different origins. *Integrative Physiology*, vol. 5, no. 4, pp. 365–374. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-4-365-374> EDN CYENFN

Received 13 November 2024; reviewed 16 December 2024; accepted 17 December 2024.

Funding: The study was supported by the State funding allocated to the Pavlov Institute of Physiology Russian Academy of Sciences (No. 1021062411629-7-3.1.4).

Copyright: © N. I. Chalisova, G. A. Ryzhak, E. A. Nikitina (2024). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under [CC BY-NC License 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Abstract. The development of bioregulatory agents that preserve essential physiological functions in multicellular organisms remains a key priority in modern physiology and medicine. At the Saint-Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, a novel technology was established for isolating polypeptide complexes from various bovine organs and tissues, which demonstrated significant effects on the organotypic culture of tissues from experimental animals. Chromatographic and mass spectrometry analyses identified the most common amino acid sequences in these polypeptides, leading to the synthesis of dipeptides and tripeptides. Drugs derived from these peptides have been shown to enhance cell proliferation in organ systems composed of tissues from different origins. However, to further optimize the proliferative effects, it is essential to explore the synergistic impacts of peptide combinations. Therefore, the objective of this study was to examine the effects of dipeptide and tripeptide combinations on the development of vascular and pulmonary tissues in sexually mature rats, using organotypic cultures to simulate these tissue environments. This research is particularly relevant in the context of the increasing significance of metabolomic analysis in advancing systems biology and molecular medicine.

Keywords: dipeptides, tripeptides, organotypic tissue culture, vessels, lungs

Введение

Для решения актуальных проблем современной физиологии и медицины необходимы исследования биорегуляторных веществ, способствующих стимуляции процессов клеточной пролиферации. К таким биорегуляторам относятся полипептидные комплексы, выделенные из различных тканей теллят. Методом хромато-масс-спектрографии в составе каждого из полипептидных комплексов выявлены наиболее часто встречающиеся кодируемые аминокислоты, из которых были синтезированы ди- и трипептиды (Журкович и др. 2020; Asharkin et al. 2020). Исследовано стимулирующее влияние ди- и трипептидов на развитие тканей различного генеза. Для скрининга биологической активности исследуемых веществ используется

метод органотипического культивирования различных тканей организма, который позволяет быстро и эффективно установить пролиферотропные свойства исследуемых веществ и их сочетаний. Целью настоящего исследования было выявление действия сочетаний ди- и трипептидов на клеточную пролиферацию в органотипической культуре тканей легких и сосудов половозрелых крыс.

Материалы и методы

Проведено органотипическое культивирование тканей половозрелых (5-месячных) крыс линии Вистар из ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем» в присутствии сочетаний ди- и трипептидов.

Исследовали влияние трипептида везугена Lys-Glu-Asp (регуляция функции сосудов) и дипептидов Ala-Glu и Asp-Ala на ткань сосудов (мезодермального генеза), а также трипептида хонлутена Glu-Asp-Gly (регуляция функции бронхов) и дипептидов Asp-Gly и Asp-Leu на ткань легких (энтодермального генеза).

В экспериментах использовано 400 эксплантатов легких, 450 эксплантатов сосудов крыс. Для выделения и препарирования ткани использовали бинокулярный стереоскопический микроскоп МБС. Для забора материала исследуемых тканей пользовались набором инструментов для глазной хирургии. Отпрепарированные в стерильных условиях фрагменты тканей крыс разделяли на части величиной около 1 мм³, которые помещали в чашки Петри с полилизинным покрытием дна. На дно одной чашки помещали 14–18 эксплантатов. Закрытые чашки Петри с эксплантатами помещали в термостат при температуре 36,8 °С и заливали 3 мл питательной среды. Культуральная среда (рН = 7,2) содержала 35% раствора Хенкса, 35% среды Игла, 25% фетальной сыворотки теленка, гентамицин (100 ед/мл). В чашки Петри с экспериментальными эксплантатами добавляли 3 мл питательной среды с полипептидами в концентрации 20 нг/мл и дипептидами в концентрации 0,05 нг/мл. В чашки Петри с контрольными эксплантатами заливали 3 мл питательной среды. Культивирование эксплантатов тканей происходило в термостате при температуре 37 ± 0,1 °С, 5% СО₂ в течение трех суток (Чалисова и др. 2023). Рост эксплантатов ткани в органотипической культуре исследовали с помощью фазово-контрастного микроскопа.

Для количественной оценки влияния исследуемых препаратов использовали морфометрический метод и пакет программ «PhotoM 1.2».

Рассчитывали индекс площади (ИП) как отношение площади всего эксплантата, включая периферическую зону роста, к площади центральной зоны. За условную единицу площади принимали квадрат окуляр-сетки микроскопа. Значения ИП выражали в процентах по сравнению со значениями ИП контрольных эксплантатов, которые принимали за 100%.

Достоверность различий ИП контрольных и экспериментальных образцов оценивали с помощью t-критерия Стьюдента (p < 0,05). Статистическую обработку производили с помощью пакета программ Microsoft Excel. Для проверки нормальности распределения применяли критерий Шапиро — Уилка.

Результаты и обсуждение

При исследовании влияния дипептидов Asp-Ala и Ala-Glu на клеточную пролиферацию сосудов крысы установлено, что эти дипептиды статистически достоверно (p < 0,05 по сравнению с контролем) стимулируют пролиферацию (табл. 1). Трипептид Lys-Glu-Asp приводил к сопоставимому с действием дипептидов увеличению ИП. Сочетание же дипептидов с трипептидом увеличивало ИП на 38% и 35% соответственно, что превышало эффект действия трипептида в отдельности (на 15% при действии Ala-Glu и на 12% при действии Asp-Ala).

Аналогичную картину наблюдали при исследовании влияния ди- и трипептидов на клеточную пролиферацию ткани легких крыс. Добавление в культуральную среду дипептида Asp-Gly приводило к увеличению ИП на 25%, дипептида Asp-Leu — на 23% (табл. 2). Трипептид Glu-Asp-Gly оказывал сопоставимое действие, вызывая возрастание ИП на 24%. Однако сочетанное действие дипептидов с Glu-Asp-Gly

Табл. 1. Влияние дипептидов Ala-Glu и Asp-Ala и трипептида Lys-Glu-Asp на индекс площади (ИП, %) эксплантатов сосудов

Дипептиды	ИП	Трипептид	ИП	Дипептиды+трипептид	ИП
Ala-Glu	25 ± 3*	Везуген Lys-Glu-Asp	23 ± 5*	Ala-Glu + везуген	38 ± 3*
Asp-Ala	21 ± 2*			Asp-Ala + везуген	35 ± 7*

Примечание: * — отличия по сравнению с индексом площади в контроле (p < 0,05).

Table 1. Effect of dipeptides Ala-Glu and Asp-Ala, and tripeptide Lys-Glu-Asp on vessel explant area index (AI, %)

Dipeptides	AI	Tripeptide	AI	Dipeptides + tripeptide	AI
Ala-Glu	25 ± 3*	Vesugen Lys-Glu-Asp	23 ± 5*	Ala-Glu + vesugen	38 ± 3*
Asp-Ala	21 ± 2*			Asp-Ala + vesugen	35 ± 7*

Note: * — indicates differences compared to the area index in the control (p < 0.05).

Табл. 2. Влияние дипептидов Asp-Gly и Asp-Leu и трипептида Glu-Asp-Gly на индекс площади (ИП, %) эксплантатов легких

Дипептиды	ИП	Трипептид	ИП	Дипептиды+трипептид	ИП
Asp-Gly	25 ± 5*	Хонлутен Glu-Asp-Gly	24 ± 2*	Asp-Gly + хонлутен	40 ± 7*
Asp-Leu	23 ± 3*			Asp-Leu + хонлутен	44 ± 6*

Примечание: * — отличия по сравнению с индексом площади в контроле (p < 0,05).

Table 2. Effect of dipeptides Asp-Gly and Asp-Leu, and tripeptide Glu-Asp-Gly on lung explant area index (AI, %)

Dipeptides	AI	Tripeptide	AI	Dipeptides + tripeptide	AI
Asp-Gly	25 ± 5*	Honluten Glu-Asp-Gly	24 ± 2*	Asp-Gly + honluten	40 ± 7*
Asp-Leu	23 ± 3*			Asp-Leu + honluten	44 ± 6*

Note: * — indicates differences compared to the area index in the control (p < 0.05).

влекло за собой большее усиление клеточной пролиферации, достоверно увеличивая ИП на 16% при действии Asp-Gly и на 20% при действии Asp-Leu.

Таким образом, при действии сочетаний стимулирующих клеточную пролиферацию дипептидов и трипептидов, по сравнению с изолированным действием одного короткого пептида, ИП эксплантатов тканей сосудов были выше на 12–15%, тканей легких — на 16–20%.

В предыдущих работах показано стимулирующее влияние отдельных аминокислот, ди- и трипептидов на клеточную пролиферацию различных тканей крысы (Иванова и др. 2022; Хавинсон и др. 2015; Чалисова и др. 2021; 2023). В данной работе был сделан акцент на исследование сочетанного эффекта коротких пептидов, содержащих две или три аминокислоты.

Везуген (Glu-Asp-Gly) стимулирует рост эксплантатов стенки периферической артерии крыс *in vitro* и способствует восстановлению микроциркуляции, укреплению стенок капилляров, повышая их резистентность и проницаемость (Хавинсон 2020). На чем же может быть основано усиление стимуляции клеточной пролиферации при его сочетании с дипептидами?

Одно из наиболее вероятных объяснений связано с аминокислотным составом коротких пептидов. Известно, что именно состав аминокислот определяет свойства белковых молекул (Aftabuddin, Kundu 2007). Оба исследуемых дипептида Ala-Glu и Asp-Ala содержат аминокислоту аланин (alanine, Ala). Показано снижение клеточной пролиферации при действии Ala на ткани коры головного мозга и селезенки (Чалисова и др. 2021), хряща и печени и усиление при действии на ткани семенников и поджелудочной железы (Чалисова и др. 2011). Однако все эти эффекты не были статистически досто-

верны, что может характеризовать Ala как «игрока второго плана» в процессах пролиферации. Разрозненные данные о его влиянии на пролиферацию все же имеются. Согласно данным Хегглунда и Сандберга L-аланин (но не D-аланин) стимулирует пролиферацию тимоцитов у морских свинок (Hägglund, Sandberg 1993). Совершенно по-новому звучат эти данные сейчас, когда анализ метаболома, включающий аминокислотный профиль, рассматривается как одно из самых перспективных направлений развития молекулярной медицины.

Кроме аланина, в дипептидах присутствует аспарагиновая кислота (aspartic acid, Asp). Ранее показано ее достоверное стимулирующее влияние на клеточную пролиферацию коры головного мозга крыс (Чалисова и др. 2011; 2021), подкорковых структур и мозжечка (Чалисова и др. 2011). Однако Asp угнетает пролиферацию печени (Чалисова и др. 2011) и селезенки (Чалисова и др. 2011; 2021). В то же время дипептид Asp-Ala усиливает пролиферацию тканей селезенки (Чалисова и др. 2023). Вероятно, действие отдельных аминокислот и содержащих их коротких пептидов может носить разнонаправленный характер. Клеточный аспартат стимулирует пролиферацию раковых клеток. Добавление Asp в культуральную среду достаточно для ослабления HIF1α-зависимой репрессии пролиферации опухолевых клеток (Meléndez-Rodríguez et al. 2019). Аспартат может быть ограничивающим метаболитом для роста опухоли (Garcia-Bermudez et al. 2018). В последнее время звучит мнение, что Asp может быть целевым метаболитом для терапии рака (Soon et al. 2024). Показанное нами усиление клеточной пролиферации ткани сосудов при добавлении к везугену дипептида Asp-Ala находится в русле этих современных

представлений, подтверждая положение о том, что доступность Asp можно использовать в том числе и для лечения рака.

Также крайне важно учитывать тканеспецифичный характер действия. В этом контексте интересны недавние исследования китайских ученых, согласно которым Asp способствует пролиферации и дифференцировке эпителиальных клеток толстой кишки путем регуляции метаболизма и динамики митохондрий (Wang et al. 2022). Это крайне важно для тканей сосудов, где работа митохондрий имеет ключевое значение. В настоящее время признано, что биосинтез Asp в значительной степени регулируется митохондриальным метаболизмом. Примечательно, что доступность Asp связана с чувствительностью к различным терапевтическим препаратам (Helenius et al. 2021).

В состав исследуемых дипептидов также входит глутаминовая кислота (glutamic acid, Glu). Глутамат — основной биоэнергетический субстрат для пролиферации нормальных и неопластических клеток (Stepulak et al. 2014). Ранее выявлен достоверный стимулирующий пролиферативный эффект Glu на ткани селезенки (Чалисова и др. 2011; 2021), подкорковых структур, мозжечка, миокарда, печени (Чалисова и др. 2011), и в то же время подавление пролиферации поджелудочной железы (Чалисова и др. 2011). Glu стимулирует пролиферацию клеток пигментного эпителия сетчатки, фосфорилирование ERK и CREB (García et al. 2008), а также способствует пролиферации эмбриональных стволовых клеток (Teng et al. 2023). В свете обсуждаемых вопросов особо следует упомянуть данные о значительном ускорении пролиферации, миграции и инвазии клеток меланомы при добавлении в среду Glu в сочетании с Ala (Wasinger et al. 2018). Повышение клеточной пролиферации ткани сосудов при добавлении к везугену дипептида Ala-Glu согласуется с этими данными, свидетельствуя о потенциальной роли доступности Ala-Glu в терапии рака.

В то же время комбинация Asp и Glu проявляет повышенную антипролиферативную активность в отношении клеток гепатомы человека (Yamaguchi et al. 2016). Согласно данным испанских ученых, дипептиды глутамилсерин, глутамилпролин и глутамилтриптофан подавляют деление раковых клеток WiDr (Silveira-Dorta et al. 2015). Очевидно, именно сочетание аминокислот определяет характер действия коротких пептидов.

Хонлутен (Lys-Glu-Asp) способствует восстановлению функциональной активности,

регенерации и повышению резистентности эпителия бронхов при различных патологиях и старении (Хавинсон 2020). Оба дипептида, усиливающих его действие, содержат Asp, о которой мы уже писали выше. Также в их состав входят лейцин (leucine, Leu) и глицин (glycine, Gly).

Сигнальный путь PI3K/Akt/mTOR относится к основным путям, задействованным в регуляции пролиферации, роста, дифференцировки, выживаемости, апоптоза клеток. Лейцин вовлечен в активацию протеинкиназы комплекса mTOR1 (mTORC1), главного регулятора роста (Ananieva et al. 2016). Данные о том, что лейцин стимулирует клеточную пролиферацию, весьма многочисленны (Dai et al. 2015; Ke et al. 2023). Регуляция пролиферации под влиянием Leu может вовлекать и микроРНК (Chen et al. 2013). Однако Leu может снижать пролиферацию клеток, вызывая повреждение ДНК (da Luz Dias et al. 2018).

С сигнальной системой PI3K/Akt/mTOR тесно связан и глицин, участвующий в фосфорилировании Akt (Liu et al. 2016; Tsuji-Tamura et al. 2020). Вполне закономерно обилие сведений о вовлеченности Gly в контроль пролиферации, особенно раковых клеток (Guo et al. 2020; Jain et al. 2012; Pan et al. 2021). В то же время Gly, усиливая пролиферацию сателлитных клеток и регенерацию мышц, приводит к усилению поглощения антисмысловых нуклеотидов, одного из основных терапевтических подходов для лечения мышечной дистрофии (Han et al. 2023). Усиление клеточной пролиферации ткани легких при добавлении к хонлутену дипептидов Asp-Gly и Asp-Leu созвучно многим литературным данным о стимуляции клеточных делений аспарагином, лейцином и глицином и важности их доступности для терапии различных заболеваний, в том числе рака. Однако не следует забывать о возможном разнонаправленном эффекте коротких пептидов и отдельных аминокислот и необходимости тщательных исследований механизмов их действия.

Анализ имеющихся данных подводит к закономерному выводу — регуляция клеточной пролиферации может осуществляться за счет изменения короткими пептидами экспрессии генов. Один короткий пептид может регулировать экспрессию нескольких десятков генов, однако молекулярный механизм этого процесса остается непонятым. Методами молекулярного моделирования показано, что везуген и хонлутен характеризуются слабым взаимодействием с ДНК (Хавинсон и др. 2016). В этой

связи логично предположить, что добавление дипептида будет усиливать пролиферативный эффект, либо за счет усиления взаимодействия ДНК-пептид, либо за счет изменения экспрессии других генов, вовлеченных в контроль пролиферации. Стимулирующее клеточную пролиферацию влияние сочетаний дипептидов с трипептидами может быть обусловлено тем, что каждый из коротких пептидов способен связываться с ДНК (Fedoreyeva et al. 2011; Kolchina et al. 2019; Sinjari et al. 2020). Таким образом, сочетанное действие коротких пептидов оказывает более сильное воздействие на клеточную пролиферацию. Полученные данные об усилении клеточной пролиферации под влиянием сочетаний дипептидов с трипептидами свидетельствуют о развитии потенцирующих эффектов в результате совместного пролиферотропного действия коротких пептидов.

Заключение

Прогресс клинической медицины во многом зависит от исследований, проводимых на уровне биологически активных молекул. Полученные в настоящей работе данные об усилении пролиферотропного действия на ткани сосудов и легких при сочетании коротких пептидов создают базу для целенаправленной разработки новых лекарственных препаратов, в том числе геропротекторных (Хавинсон 2020; Khavinson et al. 2021; Vanyushin, Khavinson 2016). На основе этих данных может быть осуществлена разработка лекарственных препаратов, предназначенных для лечения и профилактики заболеваний различных органов с учетом принципа тканеспецифичности, в том числе для усиления регенеративных процессов при патологии тканей сосудов и легких.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Соответствие принципам этики

Работа была проведена в соответствии с международными принципами биомедицинских исследований с использованием животных. Экспериментальный протокол утвержден Комиссией по гуманному обращению с животными Института физиологии им. И. П. Павлова РАН (№ 12/12 от 12 декабря 2022).

Ethics Approval

The study was conducted in compliance with international principles of biomedical research involving animals. The experimental protocol was approved by the Commission on Humane Treatment of Animals of the Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences (No. 12/12, dated 12 December 2022).

Вклад авторов

- а. Чалисова Наталья Иосифовна — планирование и постановка эксперимента, написание статьи;
- б. Рыжак Галина Анатольевна — дизайн эксперимента, обработка данных, обсуждение результатов;
- в. Никитина Екатерина Александровна — планирование эксперимента, обсуждение результатов, написание статьи.

Author Contributions

- a. Natalia I. Chalisova — experimental planning, manuscript writing;
- b. Galina A. Ryzhak — experimental design, data processing, discussion of results;
- c. Ekaterina A. Nikitina — experimental planning, discussion of results, manuscript writing.

Литература

- Журкович, И. К., Ковров, Н. Г., Рыжак, Г. А. и др. (2020) Идентификация коротких пептидов в составе полипептидных комплексов, выделенных из органов животных. *Успехи современной биологии*, т. 140, № 2, с. 140–148. <https://www.doi.org/10.31857/S004213242002012X>
- Иванова, П. Н., Заломаева, Е. С., Чалисова, Н. И. и др. (2022) Воздействие магнитных полей различной интенсивности и синтетических олигопептидов на клеточную регенерацию тканей. *Интегративная физиология*, т. 3, № 2, с. 254–264. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-2-254-264>
- Хавинсон, В. Х. (2020) Лекарственные пептидные препараты: прошлое, настоящее, будущее. *Клиническая медицина*, т. 98, № 3, с. 165–177. <https://doi.org/10.30629/0023-2149-2020-98-3-165-177>

- Хавинсон, В. Х., Линькова, Н. С., Тарновская, С. И. (2016) Короткие пептиды регулируют экспрессию генов. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, т. 162, № 8, с. 259–264.
- Хавинсон, В. Х., Чалисова, Н. И., Линькова, Н. С. и др. (2015) Зависимость тканеспецифического действия пептидов от количества аминокислот, входящих в их состав. *Фундаментальные исследования*, № 2-3, с. 497–503.
- Чалисова, Н. И., Иванова, П. Н., Егорова, Е. С., Никитина, Е. А. (2023) Стимулирующее влияние коротких пептидов на клеточную пролиферацию в органотипической культуре тканей. *Интегративная физиология*, т. 4, № 2, с. 225–234. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-2-225-234>
- Чалисова, Н. И., Концевая, Е. А., Войцеховская, М. А., Комашня, А. В. (2011) Регуляторное влияние кодируемых аминокислот на основные клеточные процессы у молодых и старых животных. *Успехи геронтологии*, т. 24, № 2, с. 189–197.
- Чалисова, Н. И., Никитина, Е. А., Александрова, М. Л., Золотоверхая, Е. А. (2021) Влияние кодируемых L-аминокислот на органотипическую культуру тканей различного генеза. *Интегративная физиология*, т. 2, № 2, с. 196–204. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-2-196-204>
- Aftabuddin, M., Kundu, S. (2007) Hydrophobic, hydrophilic, and charged amino acid networks within protein. *Biophysical Journal*, vol. 93, no. 1, pp. 225–231. <https://doi.org/10.1529/biophysj.106.098004>
- Ananieva, E. A., Powell, J. D., Hutson, S. M. (2016) Leucine metabolism in T cell activation: mTOR signaling and beyond. *Advances in Nutrition*, vol. 7, no. 4, pp. 798S–805S. <https://doi.org/10.3945/an.115.011221>
- Ashapkin, V., Khavinson, V., Shilovsky, G. et al. (2020) Gene expression in human mesenchymal stem cell aging cultures: Modulation by short peptides. *Molecular Biology Reports*, vol. 47, no. 6, pp. 4323–4329. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05506-3>
- Chen, X., Huang, Z., Chen, D. et al. (2013) MicroRNA-27a is induced by leucine and contributes to leucine-induced proliferation promotion in C2C12 cells. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 14, no. 7, pp. 14076–14084. <https://doi.org/10.3390/ijms140714076>
- Da Luz Dias, R., Basso, B., Donadio, M. V. F. et al. (2018) Leucine reduces the proliferation of MC3T3-E1 cells through DNA damage and cell senescence. *Toxicology in Vitro*, vol. 48, pp. 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2017.12.015>
- Dai, J.-M., Yu, M.-X., Shen, Z.-Y. et al. (2015) Leucine promotes proliferation and differentiation of primary preterm rat satellite cells in part through mTORC1 signaling pathway. *Nutrients*, vol. 7, no. 5, pp. 3387–3400. <https://doi.org/10.3390/nu7053387>
- Fedoreyeva, L. I., Kireev, I. I., Khavinson, V. Kh., Vanyushin, B. F. (2011) Penetration of short fluorescence-labeled peptides into the nucleus in HeLa cells and *in vitro* specific interaction of the peptides with deoxyribooligonucleotides and DNA. *Biochemistry (Moscow)*, vol. 76, no. 11, pp. 1210–1219. <https://doi.org/10.1134/S0006297911110022>
- García, S., López, E., López-Colomé, A. M. (2008) Glutamate accelerates RPE cell proliferation through ERK1/2 activation via distinct receptor-specific mechanisms. *Journal of Cellular Biochemistry*, vol. 104, no. 2, pp. 377–390. <https://doi.org/10.1002/jcb.21633>
- Garcia-Bermudez, J., Baudrier, L., La, K. et al. (2018) Aspartate is a limiting metabolite for cancer cell proliferation under hypoxia and in tumours. *Nature Cell Biology*, vol. 20, no. 7, pp. 775–781. <https://doi.org/10.1038/s41556-018-0118-z>
- Guo, K., Cao, Y., Li, Z. et al. (2020) Glycine metabolomic changes induced by anticancer agents in A549 cells. *Amino Acids*, vol. 52, no. 5, pp. 793–809. <https://doi.org/10.1007/s00726-020-02853-0>
- Hägglund, B., Sandberg, G. (1993) Effect of L-alanine and some other amino acids on thymocyte proliferation *in vivo*. *Immunobiology*, vol. 188, no. 1–2, pp. 62–69. [https://doi.org/10.1016/S0171-2985\(11\)80487-0](https://doi.org/10.1016/S0171-2985(11)80487-0)
- Han, G., Lin, C., Yin, H. (2023) Use of glycine to augment exon skipping and cell therapies for Duchenne muscular dystrophy. In: R. Maruyama, T. Yokota (eds.). *Muscular dystrophy therapeutics. Methods in molecular biology*. Vol. 2587. New York: Humana Press, pp. 165–182. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2772-3_10
- Helenius, I. T., Madala, H. R., Yeh, J.-R. J. (2021) An Asp to strike out cancer? Therapeutic possibilities arising from aspartate's emerging roles in cell proliferation and survival. *Biomolecules*, vol. 11, no. 11, article 1666. <https://doi.org/10.3390/biom11111666>
- Jain, M., Nilsson, R., Sharma, S. et al. (2012) Metabolite profiling identifies a key role for glycine in rapid cancer cell proliferation. *Science*, vol. 336, no. 6084, pp. 1040–1044. <https://doi.org/10.1126/science.1218595>
- Ke, C., Zhao, S., Wang, L. et al. (2023) Chromatin remodeler BRM is a key mediator of leucine-stimulated mTOR gene transcription in mouse mammary epithelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 643, pp. 88–95. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2022.12.064>
- Khavinson, V., Ilina, A., Kraskovskaya, N. et al. (2021) Neuroprotective effects of tripeptides — epigenetic regulators in mouse model of Alzheimer's disease. *Pharmaceuticals*, vol. 14, no. 6, article 515. <https://doi.org/10.3390/ph14060515>
- Kolchina, N., Khavinson, V., Linkova, N. et al. (2019) Systematic search for structural motifs of peptide binding to double-stranded DNA. *Nucleic Acids Research*, vol. 47, no. 20, pp. 10553–10563. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz850>

- Liu, Y., Wang, X., Wu, H. et al. (2016) Glycine enhances muscle protein mass associated with maintaining Akt-mTOR-FOXO1 signaling and suppressing TLR4 and NOD2 signaling in piglets challenged with LPS. *American Journal of Physiology — Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, vol. 311, no. 2, pp. R365–R373. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00043.2016>
- Meléndez-Rodríguez, F., Urrutia, A. A., Lorendeau, D. et al. (2019) HIF1 α suppresses tumor cell proliferation through inhibition of aspartate biosynthesis. *Cell Reports*, vol. 26, no. 9, pp. 2257–2265. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.01.106>
- Pan, S., Fan, M., Liu, Z. et al. (2021) Serine, glycine and one-carbon metabolism in cancer (Review). *International Journal of Oncology*, vol. 58, no. 2, pp. 158–170. <https://doi.org/10.3892/ijo.2020.5158>
- Silveira-Dorta, G., Martín, V. S., Padrón, J. M. (2015) Synthesis and antiproliferative activity of glutamic acid-based dipeptides. *Amino Acids*, vol. 47, no. 8, pp. 1527–1532. <https://doi.org/10.1007/s00726-015-1987-0>
- Sinjari, B., Diomedea, F., Khavinson, V. et al. (2020) Short peptides protect oral stem cells from ageing. *Stem Cell Reviews and Reports*, vol. 16, no. 1, pp. 159–166. <https://doi.org/10.1007/s12015-019-09921-3>
- Soon, J. W., Manca, M. A., Laskowska, A. et al. (2024) Aspartate in tumor microenvironment and beyond: Metabolic interactions and therapeutic perspectives. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Molecular Basis of Disease*, vol. 1870, no. 8, article 167451. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2024.167451>
- Stepulak, A., Rola, R., Polberg, K., Ikonomidou, C. (2014) Glutamate and its receptors in cancer. *Journal of Neural Transmission*, vol. 121, no. 8, pp. 933–944. <https://doi.org/10.1007/s00702-014-1182-6>
- Teng, L., Qin, Q., Zhou, Z. et al. (2023) Glutamate secretion by embryonic stem cells as an autocrine signal to promote proliferation. *Scientific Reports*, vol. 13, no. 1, article 19069. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-46477-2>
- Tsuji-Tamura, K., Sato, M., Fujita, M., Tamura, M. (2020) The role of PI3K/Akt/mTOR signaling in dose-dependent biphasic effects of glycine on vascular development. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 529, no. 3, pp. 596–602. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.06.085>
- Vanyushin, B. F., Khavinson, V. Kh. (2016) Short biologically active peptides as epigenetic modulators of gene activity. In: W. Doerfler, P. Böhm (eds.). *Epigenetics — a different way of looking at genetics. Epigenetics and human health*. Cham: Springer Publ., pp. 69–90. https://doi.org/10.1007/978-3-319-27186-6_5
- Wang, D., Kuang, Y., Wan, Z. et al. (2022) Aspartate alleviates colonic epithelial damage by regulating intestinal stem cell proliferation and differentiation via mitochondrial dynamics. *Molecular Nutrition & Food Research*, vol. 66, no. 24, article e2200168. <https://doi.org/10.1002/mnfr.202200168>
- Wasinger, C., Hofer, A., Spadiut, O., Hohenegger, M. (2018) Amino acid signature in human melanoma cell lines from different disease stages. *Scientific Reports*, vol. 8, no. 1, article 6245. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24709-0>
- Yamaguchi, Y., Yamamoto, K., Sato, Y. et al. (2016) Combination of aspartic acid and glutamic acid inhibits tumor cell proliferation. *Biomedical Research*, vol. 37, no. 2, pp. 153–159. <https://doi.org/10.2220/biomedres.37.153>

References

- Aftabuddin, M., Kundu, S. (2007) Hydrophobic, hydrophilic, and charged amino acid networks within protein. *Biophysical Journal*, vol. 93, no. 1, pp. 225–231. <https://doi.org/10.1529/biophysj.106.098004> (In English)
- Ananieva, E. A., Powell, J. D., Hutson, S. M. (2016) Leucine metabolism in T cell activation: MTOR signaling and beyond. *Advances in Nutrition*, vol. 7, no. 4, pp. 798S–805S. <https://doi.org/10.3945/an.115.011221> (In English)
- Ashapkin, V., Khavinson, V., Shilovsky, G. et al. (2020) Gene expression in human mesenchymal stem cell aging cultures: Modulation by short peptides. *Molecular Biology Reports*, vol. 47, no. 6, pp. 4323–4329. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05506-3> (In English)
- Chalisova, N. I., Ivanova, P. N., Egozova, E. S., Nikitina, E. A. (2023) Stimuliruyushchee vliyanie korotkikh peptidov na kletochnyuyu proliferatsiyu v organotipicheskoy kul'ture tkanej [The stimulating effect of short peptides on cellular proliferation in organotypic tissue culture]. *Integrativnaya fiziologiya — Integrative Physiology*, vol. 4, no. 2, pp. 225–234. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-2-225-234> (In Russian)
- Chalisova, N. I., Kontsevaya, E. A., Voytsekhovskaya, M. A., Komashnya, A. V. (2011) Regulyatornoe vliyanie kodiruemykh aminokislot na osnovnye kletochnye protsessy u molodykh i starykh zhivotnykh [The regulated effect of the coded amino acids on the basic cellular processes in young and old animals]. *Uspekhi gerontologii — Advances in Gerontology*, vol. 24, no. 2, pp. 189–197. (In Russian)
- Chalisova, N. I., Nikitina, E. A., Alexandrova, M. L., Zolotoverkhaja, E. A. (2021) Vliyanie kodiruemykh L-aminokislot na organotipicheskuyu kul'turu tkanej razlichnogo geneza [The effect of coded L-amino acids on the organotypic culture of tissues of different genesis]. *Integrativnaya fiziologiya — Integrative Physiology*, vol. 2, no. 2, pp. 196–204. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-2-196-204> (In Russian)
- Chen, X., Huang, Z., Chen, D. et al. (2013) MicroRNA-27a is induced by leucine and contributes to leucine-induced proliferation promotion in C2C12 cells. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 14, no. 7, pp. 14076–14084. <https://doi.org/10.3390/ijms140714076> (In English)

- Da Luz Dias, R., Basso, B., Donadio, M. V. F. et al. (2018) Leucine reduces the proliferation of MC3T3-E1 cells through DNA damage and cell senescence. *Toxicology in Vitro*, vol. 48, pp. 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2017.12.015> (In English)
- Dai, J.-M., Yu, M.-X., Shen, Z.-Y. et al. (2015) Leucine promotes proliferation and differentiation of primary preterm rat satellite cells in part through mTORC1 signaling pathway. *Nutrients*, vol. 7, no. 5, pp. 3387–3400. <https://doi.org/10.3390/nu7053387> (In English)
- Fedoreyeva, L. I., Kireev, I. I., Khavinson, V. Kh., Vanyushin, B. F. (2011) Penetration of short fluorescence-labeled peptides into the nucleus in HeLa cells and *in vitro* specific interaction of the peptides with deoxyribonucleotides and DNA. *Biochemistry (Moscow)*, vol. 76, no. 11, pp. 1210–1219. <https://doi.org/10.1134/S0006297911110022> (In English)
- García, S., López, E., López-Colomé, A. M. (2008) Glutamate accelerates RPE cell proliferation through ERK1/2 activation via distinct receptor-specific mechanisms. *Journal of Cellular Biochemistry*, vol. 104, no. 2, pp. 377–390. <https://doi.org/10.1002/jcb.21633> (In English)
- Garcia-Bermudez, J., Baudrier, L., La, K. et al. (2018) Aspartate is a limiting metabolite for cancer cell proliferation under hypoxia and in tumours. *Nature Cell Biology*, vol. 20, no. 7, pp. 775–781. <https://doi.org/10.1038/s41556-018-0118-z> (In English)
- Guo, K., Cao, Y., Li, Z. et al. (2020) Glycine metabolomic changes induced by anticancer agents in A549 cells. *Amino Acids*, vol. 52, no. 5, pp. 793–809. <https://doi.org/10.1007/s00726-020-02853-0> (In English)
- Hägglund, B., Sandberg, G. (1993) Effect of L-alanine and some other amino acids on thymocyte proliferation *in vivo*. *Immunobiology*, vol. 188, no. 1–2, pp. 62–69. [https://doi.org/10.1016/S0171-2985\(11\)80487-0](https://doi.org/10.1016/S0171-2985(11)80487-0) (In English)
- Han, G., Lin, C., Yin, H. (2023) Use of glycine to augment exon skipping and cell therapies for Duchenne muscular dystrophy. In: R. Maruyama, T. Yokota (eds.). *Muscular dystrophy therapeutics. Methods in molecular biology*. Vol. 2587. New York: Humana Press, pp. 165–182. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2772-3_10 (In English)
- Helenius, I. T., Madala, H. R., Yeh, J.-R. J. (2021) An Asp to strike out cancer? Therapeutic possibilities arising from aspartate's emerging roles in cell proliferation and survival. *Biomolecules*, vol. 11, no. 11, article 1666. <https://doi.org/10.3390/biom11111666> (In English)
- Ivanova, P. N., Zalomaeva, E. S., Chalisova, N. I. et al. (2022) Vozdejstvie magnitnykh polej razlichnoj intensivnosti i sinteticheskikh oligopeptidov na kletochnyuyu regeneratsiyu tkanej [Cellular tissue regeneration: Effects of magnetic fields of different intensity and synthetic oligopeptides]. *Integrativnaya fiziologiya — Integrative Physiology*, vol. 3, no. 2, pp. 254–264. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-2-254-264> (In Russian)
- Jain, M., Nilsson, R., Sharma, S. et al. (2012) Metabolite profiling identifies a key role for glycine in rapid cancer cell proliferation. *Science*, vol. 336, no. 6084, pp. 1040–1044. <https://doi.org/10.1126/science.1218595> (In English)
- Ke, C., Zhao, S., Wang, L. et al. (2023) Chromatin remodeler BRM is a key mediator of leucine-stimulated mTOR gene transcription in mouse mammary epithelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 643, pp. 88–95. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2022.12.064> (In English)
- Khavinson, V. Kh. (2020) Lekarstvennye peptidnye preparaty: proshloe, nastoyashchee, budushchee [Peptide medicines: Past, present, future]. *Klinicheskaya meditsina — Clinical Medicine (Russian Journal)*, vol. 98, no. 3, pp. 165–177. <https://doi.org/10.30629/0023-2149-2020-98-3-165-177> (In Russian)
- Khavinson, V. Kh., Chalisova, N. I., Linkova, N. S. et al. (2015) Zavisimost' tkanepetsifichnogo dejstviya peptidov ot kolichestva aminokislot, vkhodyashchikh v ikh sostav [The dependence of tissue-specific peptides activity on the number of amino acids in the peptides]. *Fundamental'nye issledovaniya*, no. 2-3, pp. 497–503. (In Russian)
- Khavinson, V., Ilina, A., Kraskovskaya, N. et al. (2021) Neuroprotective effects of tripeptides — epigenetic regulators in mouse model of Alzheimer's disease. *Pharmaceuticals*, vol. 14, no. 6, article 515. <https://doi.org/10.3390/ph14060515> (In English)
- Khavinson, V. Kh., Lin'kova, N. S., Tarnovskaya, S. I. (2016) Korotkie peptidy reguliruyut ekspressiyu genov [Short peptides regulate gene expression]. *Byulleten' eksperimental'noj biologii i meditsiny — Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 162, no. 8, pp. 288–292. <https://doi.org/10.1007/s10517-016-3596-7> (In Russian)
- Kolchina, N., Khavinson, V., Linkova, N. et al. (2019) Systematic search for structural motifs of peptide binding to double-stranded DNA. *Nucleic Acids Research*, vol. 47, no. 20, pp. 10553–10563. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz850> (In English)
- Liu, Y., Wang, X., Wu, H. et al. (2016) Glycine enhances muscle protein mass associated with maintaining Akt-mTOR-FOXO1 signaling and suppressing TLR4 and NOD2 signaling in piglets challenged with LPS. *American Journal of Physiology — Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, vol. 311, no. 2, pp. R365–R373. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00043.2016> (In English)
- Meléndez-Rodríguez, F., Urrutia, A. A., Lorendeau, D. et al. (2019) HIF1 α suppresses tumor cell proliferation through inhibition of aspartate biosynthesis. *Cell Reports*, vol. 26, no. 9, pp. 2257–2265. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.01.106> (In English)
- Pan, S., Fan, M., Liu, Z. et al. (2021) Serine, glycine and one-carbon metabolism in cancer (Review). *International Journal of Oncology*, vol. 58, no. 2, pp. 158–170. <https://doi.org/10.3892/ijo.2020.5158> (In English)
- Silveira-Dorta, G., Martín, V. S., Padrón, J. M. (2015) Synthesis and antiproliferative activity of glutamic acid-based dipeptides. *Amino Acids*, vol. 47, no. 8, pp. 1527–1532. <https://doi.org/10.1007/s00726-015-1987-0> (In English)

- Sinjari, B., Diomedea, F., Khavinson, V. et al. (2020) Short peptides protect oral stem cells from ageing. *Stem Cell Reviews and Reports*, vol. 16, no. 1, pp. 159–166. <https://doi.org/10.1007/s12015-019-09921-3> (In English)
- Soon, J. W., Manca, M. A., Laskowska, A. et al. (2024) Aspartate in tumor microenvironment and beyond: Metabolic interactions and therapeutic perspectives. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Molecular Basis of Disease*, vol. 1870, no. 8, article 167451. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2024.167451> (In English)
- Stepulak, A., Rola, R., Polberg, K., Ikonomidou, C. (2014) Glutamate and its receptors in cancer. *Journal of Neural Transmission*, vol. 121, no. 8, pp. 933–944. <https://doi.org/10.1007/s00702-014-1182-6> (In English)
- Teng, L., Qin, Q., Zhou, Z. et al. (2023) Glutamate secretion by embryonic stem cells as an autocrine signal to promote proliferation. *Scientific Reports*, vol. 13, no. 1, article 19069. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-46477-2> (In English)
- Tsuji-Tamura, K., Sato, M., Fujita, M., Tamura, M. (2020) The role of PI3K/Akt/mTOR signaling in dose-dependent biphasic effects of glycine on vascular development. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 529, no. 3, pp. 596–602. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.06.085> (In English)
- Vanyushin, B. F., Khavinson, V. Kh. (2016) Short biologically active peptides as epigenetic modulators of gene activity. In: W. Doerfler, P. Böhm (eds.). *Epigenetics — a different way of looking at genetics. Epigenetics and human health*. Cham: Springer Publ., pp. 69–90. https://doi.org/10.1007/978-3-319-27186-6_5 (In English)
- Zhurkovich, I. K., Kovrov, N. G., Ryzhak, G. A. et al. (2020) Identifikatsiya korotkikh peptidov v sostave polipeptidnykh kompleksov, vydelenykh iz organov zhivotnykh [Identification of short peptides as part of polypeptide complexes isolated from animal organs]. *Uspeki sovremennoj biologii — Biology Bulletin Reviews*, vol. 140, no. 2, pp. 140–148. <https://www.doi.org/10.31857/S004213242002012X> (In Russian)
- Wang, D., Kuang, Y., Wan, Z. et al. (2022) Aspartate alleviates colonic epithelial damage by regulating intestinal stem cell proliferation and differentiation via mitochondrial dynamics. *Molecular Nutrition & Food Research*, vol. 66, no. 24, article e2200168. <https://doi.org/10.1002/mnfr.202200168> (In English)
- Wasinger, C., Hofer, A., Spadiut, O., Hohenegger, M. (2018) Amino acid signature in human melanoma cell lines from different disease stages. *Scientific Reports*, vol. 8, no. 1, article 6245. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24709-0> (In English)
- Yamaguchi, Y., Yamamoto, K., Sato, Y. et al. (2016) Combination of aspartic acid and glutamic acid inhibits tumor cell proliferation. *Biomedical Research*, vol. 37, no. 2, pp. 153–159. <https://doi.org/10.2220/biomedres.37.153> (In English)