

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2026-55-04>

УДК 615.24:577.112:612

## РЕГУЛЯТОРНА ДІЯ СИНТЕТИЧНОГО НЕЙРОПЕПТИДА ОПОЇДНОЇ ДІЇ НА БІЛКОВИЙ ГОМЕОСТАЗ В УМОВАХ ХОЛОДОВОГО СТРЕСУ

Н. М. Моїсєєва , В. Г. Мирний , Ю. С. Ахатова , О. Л. Горіна 

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, вул. Переяславська, 23,  
м. Харків, 61016, Україна

e-mail: [ukrainanataliy@gmail.com](mailto:ukrainanataliy@gmail.com)

Надійшла до редакції 28 серпня 2025 р. Переглянута 21 квітня 2026 р.

Прийнята до друку 29 квітня 2026 р. Опублікована 25 червня 2026 р.

**Актуальність.** Нейропептиди опіоїдної природи здатні регулювати метаболічні процеси через активацію специфічних опіоїдних рецепторів, особливо в умовах стресу. Однак механізми їх впливу на білковий обмін за умов хронічного холодового стресу (ХХС) залишаються малодослідженими. З огляду на важливість підтримання білкового гомеостазу в екстремальних умовах, дослідження ролі нейропептидів у корекції білкового профілю набуває практичного значення для створення нових підходів до фармакологічної адаптації.

**Мета роботи:** дослідити зміни показників білкового обміну в сироватці крові морських свинок під впливом ХХС, оцінити протекторну дію даларгіну та встановити роль опіоїдної системи в регуляції цих процесів.

**Матеріали і методи.** У дослідженні використовували морських свинок, яких утримували в умовах ХХС. Зміни білкового обміну оцінювали за вмістом загального білка, альбуміну та глобулінів у сироватці крові, застосовуючи стандартні біохімічні методики. У якості коригуючого засобу використовували синтетичний аналог лей-енкефаліну (даларгін), який вводили у дозі 100 мкг/кг підшкірно за 30 хв до моделювання ХХС.

**Результати.** У тварин, які зазнавали ХХС, спостерігалось статистично значуще зниження вмісту альбуміну і збільшення глобулінів відносно інтактних значень, що призводило до порушення альбумін-глобулінового коефіцієнта та свідчило про дисбаланс білкового метаболізму. Введення даларгіну сприяло нормалізації альбумін-глобулінового коефіцієнта шляхом відновлення вмісту глобулінів та альбуміну в крові піддослідних тварин, що свідчить про стабілізацію білкового гомеостазу і протекторну дію даларгіну в умовах ХХС. Крім того, введення даларгіну зменшувало накопичення малоного діальдегіду (МДА) в умовах холодового стресу, демонструючи антиоксидантний та цитопротекторний ефект і забезпечуючи підтримку структурної та функціональної цілісності тканин.

**Висновки.** Результати дослідження свідчать, що даларгін є перспективним засобом для фармакологічної корекції метаболічних порушень, зумовлених ХХС, оскільки він зменшує накопичення МДА, демонструючи антиоксидантний та цитопротекторний ефект, та підкреслюють важливу роль опіоїдної нейропептидної системи в регуляції білкового обміну й підтримці структурної цілісності тканин за дії екстремальних факторів.

---

**Як цитувати:** Моїсєєва НМ, Мирний ВГ, Ахатова ЮС, Горіна ОЛ. Регуляторна дія синтетичного нейропептида опіоїдної дії на білковий гомеостаз в умовах холодового стресу. Біофізичний вісник. 2026;55:44–52. <https://doi.org/10.26565/2075-3810-2026-55-04>

**Citation:** Moisieieva NM, Myrnyi VH, Akhatova YS, Horina OL. Regulatory effect of a synthetic opioid neuropeptid on protein homeostasis under cold stress conditions. Biophysical Bulletin. 2026;55:44–52. <https://doi.org/10.26565/2075-3810-2026-55-04> (in Ukrainian)

**Open Access.** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** кріобіологія; низькі температури; гіпотермія; холодова адаптація; даларгін; опіоїдні рецептори; білковий обмін; гомойтермні тварини, альбуміни; глобуліни; стрес.

Низькі температури навколишнього середовища є одним із найбільш потужних природних стресорів, здатних істотно модифікувати функціональний стан організму. Хронічний вплив холоду, як форма тривалого та мультифакторного стресу, ініціює каскад адаптаційно-компенсаторних реакцій, спрямованих на підтримання термогомеостазу, проте за умов пролонгованої дії може призводити до системних порушень гомеостазу. Зокрема, хронічний холодострес (ХХС) асоціюється з дисрегуляцією енергетичного метаболізму, ослабленням антиоксидантної системи та зниженням функціональної активності клітин [1–5]. Одним із найбільш чутливих до дії стресорів компонентів гомеостатичної регуляції є білковий обмін, що інтегрує функціональний стан печінки, імунної системи та нейроендокринної регуляції [6–8]. Дані попередніх досліджень [9–15] свідчать, що холодострес (ХС) суттєво порушує метаболізм білків, біохімічні показники крові, спричиняючи зниження функціональної активності гепатоцитів, розвиток білково-енергетичного дефіциту та активацію компенсаторних адаптаційних механізмів.

У зв'язку з цим постає потреба в пошуку ефективних засобів фармакологічної корекції зазначених порушень. Перспективними вважаються нейропептиди, здатні опосередковано регулювати метаболізм через вплив опіоїдної системи. Опіоїдна система є важливою ланкою ендогенних механізмів адаптації до стресу, зокрема бере участь у регуляції нейроендокринних і метаболічних процесів за дії низьких температур. Відомо, що опіоїдні пептиди залучені до формування адаптаційних реакцій у гібернуючих тварин, де вони модулюють обмін речовин і сприяють зниженню енергетичних витрат, що детальніше розглядається у наших попередніх роботах [4, 5]. Це дозволяє розглядати їх як універсальні регулятори відповіді на холодострес.

З огляду на це, як модельні сполуки доцільно використовувати синтетичні аналоги ендогенних опіоїдних пептидів. Одним із таких є даларгін — синтетичний аналог лей-енкефаліну, який проявляє антиоксидантні, протизапальні та антиапоптотичні ефекти, підтверджені в експериментальних моделях стресу [4, 5, 16]. Проте механізми його впливу на білковий обмін за умов ХХС залишаються недостатньо вивченими. Таким чином, дослідження впливу ХХС на показники білкового обміну, а також оцінка коригуючого потенціалу даларгіну, є актуальними як з точки зору фундаментальної фізіології адаптації, так і для розробки ефективних засобів фармакологічної корекції стрес-індукованих порушень обміну речовин.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проведено на статевозрілих самцях морських свинок лінії Dunkin-Hartley віком 5–6 місяців із середньою вагою 600–800 г. Тварини утримувались у стандартних умовах віварію Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України. Всі маніпуляції з тваринами проводились відповідно до правил і рекомендацій European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes/Council of Europe (Strasbourg, 1986) та Комітету з біоетики Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (протокол № 5 від 22.11.2022 р.).

Моделювання ХХС здійснювали за методикою [15], адаптованою до умов лабораторії шляхом модифікації температурного режиму, що забезпечило відтворюваність стресової відповіді при збереженні етичних стандартів утримання тварин, яких по черзі утримували при температурі 18 та 4°C спочатку упродовж однієї години, а потім упродовж 5 діб — 12 годин при температурі 4°C і 12 годин при 18°C. Стресове навантаження припиняли на 6-й день і проводили забір крові шляхом пункції

яремної вени. Температура тіла морських свинок після індукції гіпотермії вимірювалась ректально за допомогою електронного термометра, при цьому температура знижувалась на 1–3°C від початкових 38°C.

Тварини були поділені на три групи: 1) інтактна група (тварини, яких не піддавали дії ХХС і утримували при температурі 18°C); 2) контрольна група (тварини, яким вводили 0,5 мл фізіологічного розчину під шкіру за 30 хв до моделювання ХХС); 3) група тварин, яким вводили синтетичний аналог лей-енкефаліну тирозин-2-аланіл-гліцин-фенілаланіл-лейцил-аргініну діацетат («Даларгін», ООО «ФАРМСИНТЕЗ», Україна) у дозі 100 мкг/кг під шкіру за 30 хв до моделювання ХХС. Кількісний склад кожної експериментальної групи становив 12 тварин.

Для оцінки впливу ХХС і даларгіну на білковий обмін у сироватці крові морських свинок визначали концентрацію загального білка, альбуміну та глобулінів. Концентрацію загального білка в сироватці крові визначали біуретовим методом при довжині хвилі 540 нм, а альбуміну — бромкрезолзеленим методом при 630 нм [17]. Концентрацію глобулінів розраховували як різницю між загальним білком і альбуміном; співвідношення альбумін/глобулін (А/Г-коефіцієнт) визначали шляхом ділення концентрації альбуміну на концентрацію глобулінів. Аналіз проводили з використанням стандартних наборів «ТР-Арсенал» і «Alb-Арсенал» (ТОВ НВКП «Філісіт-Діагностика», Україна) згідно з інструкціями виробника. Результати виражали в г/л.

Вміст малонового діальдегіду (МДА) у сироватці крові морських свинок визначали спектрофотометрично методом ТВА-реактивних продуктів з вимірюванням оптичної густини при 532 нм після реакції МДА з 2-тіобарбітуровою кислотою, що є стандартною методикою для оцінки продуктів ліпідної пероксидації в біологічних зразках [16].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою програми «Statgraphics plus for Windows 2.1» («Manugistics Inc.», США) за непараметричним критерієм Краскела–Уолліса з наступним post-hoc аналізом із використанням критерію Манна–Уїтні з поправкою Бонфероні [18]. Експериментальні дані наведені як медіана, перший та третій квартиль [Me (Q1; Q3)]. Відмінності вважали значущими при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ

З результатів представлених в табл. 1 видно, що під впливом ХХС рівень загального білка не змінювався відносно показників інтактною групи. Водночас спостерігалось зниження концентрації альбуміну на 37,5% порівняно з інтактною групою, що може вказувати на пригнічення його синтезу або підвищене використання в умовах стресу. При цьому вміст глобулінів збільшився на 78,6% відносно інтактних значень. Зменшення альбумінової і збільшення глобулінової фракцій призвело до дисбалансу білкового співвідношення в крові, що підтверджується статистично значущим зниженням А/Г-коефіцієнта та свідчить про зміщення білкового обміну в бік глобулінової фракції (табл. 1).

Основні зміни, що відбувались після введення даларгіну за умов ХХС, були пов'язані з відновленням вмісту альбуміну до інтактних значень (табл. 1) і статистично значущим зменшенням концентрації глобулінів на 54,7% порівняно з групою ХХС та на 19,0% порівняно з інтактними тваринами. Крім того спостерігалось зростання А/Г-коефіцієнта вище рівня, характерного для інтактних тварин (табл. 1). Тобто, після введення даларгіну спостерігалась нормалізація вмісту альбуміну і глобулінів, що свідчить про стабілізацію білоксинтезуючої функції печінки та підтримку загального метаболічного статусу організму.

Таблиця 1. Показники білкового обміну в крові гомойотермних тварин, підданих хронічному холодовому стресу (ХХС) на фоні введення даларгіна, n=12

Table 1. Indicators of protein metabolism in the blood of homeothermic animals subjected to chronic cold stress (CCS) and dalargin administration, n=12

Група	Загальний білок, г/л	Альбумін, г/л	Глобулін, г/л	А/Г- коефіцієнт	МДА нмоль/мл
Інтакт	57,0 (56,3; 57,8)	36,0 (34,5; 36,0)	21 (20,3; 23,0)	1,7 (1,6; 1,82)	4,4 (4,2; 4,5)
ХХС	60,0 (59,3; 60,8)	22,5 (17,6; 27,2) <sup>#</sup>	37,5 (32,4; 37,8)	0,6 (0,60; 0,82) <sup>#</sup>	7,3 (7,0; 7,5)
ХХС +даларгін	47,0 (45,3; 48,4) <sup>#,**</sup>	30,0 (29,3; 30,8) <sup>**</sup>	17 (16,6; 25,8) <sup>#,**</sup>	1,8 (1,19; 1,25) <sup>**</sup>	4,8 (4,72; 4,81)

# — відмінності статистично значимі (p<0,05) порівняно з інтактною групою; \*\* — відмінності статистично значимі (p<0,05) порівняно з ХХС.

# — statistically significant differences (p<0.05) compared with the intact group; \*\* — statistically significant differences (p<0.05) compared with CCS.

За умов ХХС зниження температури середовища призводить до активації перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), що проявляється підвищенням концентрації МДА — одного з ключових біохімічних маркерів оксидативного стресу, який відображає надлишкову продукцію реактивних форм кисню та ліпідні ушкодження мембранних структур [19]. Продукти ПОЛ, включно з МДА, можуть взаємодіяти із білками плазми та індукувати їх окиснювальну модифікацію, що призводить до зміни їх структури та порушення функціональної активності [19, 20]. Посилення оксидативно-антиоксидантного дисбалансу та підвищення рівня продуктів ПОЛ корелюють із порушенням антиоксидантних механізмів і біохімічною модифікацією білків, що беруть участь у підтриманні гомеостазу, і узгоджується із сучасними даними щодо механізмів ушкодження білків і ліпідів за умов оксидативного навантаження [21].

У наших дослідженнях в умовах ХХС вміст МДА в крові морських свинок значуще збільшувався на 66% відносно інтактних значень, що відображає активацію ПОЛ та розвиток оксидативного стресу. Як вже було сказано вище, зниження температури навколишнього середовища супроводжується зростанням енергетичних потреб організму, активацією мітохондріального дихання та посиленням утворенням реактивних форм кисню. Унаслідок цього інтенсифікуються вільнорадикальні процеси, що призводить до накопичення в крові вторинних продуктів ліпідної пероксидації, зокрема МДА. Введення даларгіну піддослідним тваринам до моделювання ХХС запобігало таким змінам і сприяло нормалізації вмісту МДА (табл. 1).

Узагальнюючи результати дослідження можна стверджувати, що ХХС зумовлює порушення білкового гомеостазу, які проявляються не стільки зміною загального вмісту білка, скільки розвитком дисбалансу між його основними фракціями. В умовах ХХС спостерігалось статистично значуще зниження концентрації альбуміну та А/Г-коефіцієнта, що є характерним для типових реакцій організму на переохолодження, таких як метаболічний стрес та латентне запалення. Оскільки альбумін продукується виключно гепатоцитами, такі зміни розглядаються як маркери функціонального напруження та зниження білоксинтезуючої функції печінки [22]. При цьому підвищення вмісту глобулінів відображає активацію гуморальної ланки імунної відповіді, зростання фракції імуноглобулінів та інших білків гострої фази [22]. Таким чином, знижений А/Г-коефіцієнт (<1,0) свідчить про розвиток субклінічного запального процесу та порушення

білоксинтетичної здатності печінки, що в комплексі є раннім індикатором її функціональної недостатності навіть за відсутності виражених клінічних симптомів [23].

Застосування даларгіну в умовах ХХС продемонструвало його виражену протекторну дію. Після введення препарату спостерігалась нормалізація вмісту альбуміну і глобулінів у сироватці крові тварин, що сприяло зміщенню А/Г-коефіцієнта в бік фізіологічної норми. Такий результат свідчить про те, що введення даларгіну перед моделюванням ХХС сприяє стабілізації білкового гомеостазу.

Отримані результати узгоджуються з літературними даними щодо участі опіоїдів у гепатопротекторних механізмах, а також із уявленнями про їх мультифункціональну дію, включаючи антиоксидантну, протизапальну та антиапоптотичну активність [4, 5, 24, 25]. У нашій попередній роботі [26] було показано, що ХХС у морських свинок призводить до порушення азотистого обміну, що проявлялось підвищенням рівня сечовини та зниженням вмісту креатиніну в сироватці крові. Такі зміни можуть відображати активацію катаболізму білкових структур. Введення даларгіну призводить до статистично значущого зниження рівня сечовини, що свідчить про його метаболічно-протекторну дію, спрямовану на обмеження білкового катаболізму. Водночас вміст креатиніну залишається незмінним, що вказує на селективний характер корекції азотистого метаболізму в умовах ХС. У дослідженнях [27–30] показано, що енкефаліни та інші опіоїди здатні знижувати продукцію прозапальних цитокінів, стабілізувати функцію мітохондрій і зменшувати рівень пероксидного ушкодження клітин в умовах запальних процесів різного генезу. Зазначені ефекти реалізуються за участю опіоїдних рецепторів [31], що узгоджується з даними щодо даларгіну, який проявляє свої фармакологічні ефекти переважно через ці рецепторні механізми. Це підтверджено в попередніх дослідженнях із використанням інгібітора опіоїдних рецепторів налоксону [4, 5]. Однак зазначені дослідження проводилися в умовах гострого холодового стресу та були спрямовані на оцінку інших показників, зокрема функціональної активності клітин. У зв'язку з цим постає питання щодо механізмів протекторної дії даларгіну саме за умов ХХС та формування його антистресових і гепатотропних ефектів, які можуть реалізуватись як на рівні гепатоцитів, так і бути опосередкованими взаємодією опіоїдної системи з гіпоталамо-гіпофізарно-адреналовою віссю. Відомо, що за умов тривалого ХС активність ендогенної опіоїдної системи змінюється як у центральній нервовій системі, так і в периферичних тканинах, що суттєво впливає на адаптаційні реакції організму до дії стресового чинника. Експериментальні дані в роботі [33] свідчать про те, що охолодження модулює рівні різних опіоїдних пептидів, зокрема  $\beta$ -ендорфіну, енкефалінів та динофорфінів, у структурах мозку та периферичних тканинах, що має важливе значення для координації нейроендокринної та метаболічної відповіді за умов хронічного впливу холоду. Разом з тим опіоїдні пептиди реалізують свої ефекти через взаємодію з опіоїдними рецепторами, модулюючи внутрішньоклітинні сигнальні каскади, пов'язані з енергетичним метаболізмом та стрес-реакцією, у тому числі шляхом регуляції гормональних механізмів та окисно-відновного статусу [32]. Реалізація цих механізмів забезпечує вплив опіоїдної системи на синтез і стабілізацію білків, сприяючи підтриманню білкового гомеостазу в умовах тривалого ХС [33]. У попередній нашій роботі [34] було показано, що застосування даларгіну перед моделюванням ХХС сприяло зниженню концентрації лептину до рівня, характерного для інтактних тварин, тоді як вміст кортизолу залишався незмінним як за умов ХХС, так і після введення даларгіну. Враховуючи вищесказане, можна припустити, що даларгін впливає на гіпоталамічні механізми або периферичні сигнальні шляхи, регульовані гіпоталамусом (зокрема ті, що забезпечують енергетичний метаболізм), однак не чинить суттєвого впливу на класичну гіпоталамо-гіпофізарно-адреналову вісь, ефекти якої реалізуються через дію кортизолу.

Це узгоджується з даними про те, що нейропептиди здійснюють свої ефекти як через центральні нейроендокринні механізми регуляції, так і шляхом безпосереднього впливу на периферичні тканини. При цьому зміни центральних регуляторних процесів не обов'язково супроводжуються активацією класичної гіпоталамо-гіпофізарно-адреналової осі: рівень кортизолу може залишатися відносно стабільним, тоді як вміст інших гормонів, зокрема лептину, істотно змінюється. Це свідчить про формування локальної нейроендокринної адаптації та селективну модифікацію механізмів реалізації стрес-відповіді [35, 36]. Водночас в окремих дослідженнях показано, що опіоїдні пептиди можуть стабілізувати стрес-ушкоджені білки, зменшуючи ризик їх агрегації та катаболічних втрат [37]. Поєднання прямої клітинної дії та опосередкованих ендокринних ефектів забезпечує антистресовий і гепатопротекторний потенціал нейропептидів, що обґрунтовує перспективність їх застосування в умовах холодного стресу.

### ВИСНОВКИ

1. Хронічний холодний стрес призводить до істотних порушень білкового обміну, що проявляються зниженням концентрації альбуміну на 35%, співвідношення А/Г-коефіцієнта на 66,7% та зростанням вмісту глобулінів на 76,8% відносно інтактної групи, що свідчить про зміщення білкового обміну в бік глобулінової фракції.

2. Введення даларгіну в умовах ХХС сприяє стабілізації білкового гомеостазу: зменшенню концентрації глобулінів на 54,7 % порівняно з групою ХХС, на 19,0% порівняно з інтактними тваринами та нормалізації вмісту альбуміну і А/Г-коефіцієнта.

3. Встановлено, що в умовах ХХС вміст МДА в крові морських свинок достовірно збільшувався на 66% відносно інтактних значень та на 52,1% порівняно з групою введення препарату. Введення даларгіну піддослідним тваринам в умовах ХХС сприяло нормалізації рівня МДА.

### КОНФЛІКТ ІНТЕРЕСІВ

Автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів.

#### Authors' ORCID ID

Наталія Моїсеєва: <https://orcid.org/0000-0002-9845-2317>

Владислав Мирний: <https://orcid.org/0009-0001-2393-2295>

Юлія Ахатова: <https://orcid.org/0000-0002-1536-6924>

Ольга Горіна: <https://orcid.org/0000-0003-4075-650X>

### REFERENCES

1. Gao R, Shi L, Guo W, Xu Y, Jin X, Yan S, et al. Effects of housing and management systems on the growth, immunity, antioxidation, and related physiological and biochemical indicators of donkeys in cold weather. *Animals*. 2022;12(18):2405. <https://doi.org/10.3390/ani12182405>
2. Gao Y, Liu Y, He J, Zhang Y, Wang T, Wu L, et al. Effects of heat waves and cold spells on blood parameters: a cohort study of blood donors in Tianjin, China. *Environ Health Prev Med*. 2024;29:25. <https://doi.org/10.1265/ehpm.24-00023>
3. Saeki K, Obayashi K, Kurumatani N. Platelet count and indoor cold exposure among elderly people: A cross-sectional analysis of the HEIJO-KYO study. *J Epidemiol*. 2017;27(12):562–7. <https://doi.org/10.1016/j.je.2016.12.018>
4. Moisieieva N, Gulevskyy O, Gorina O. Effect of leu-enkephalin (dalargin) on apoptosis and necrosis of leukocytes after cold stress. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2022;32(1):14–23. <https://doi.org/10.15407/cryo32.01.014>
5. Gulevskyy OK, Moisieieva NM, Gorina OL, Sidorenko OS. Preincubation of L929 line fibroblasts with synthetic leu-enkephalin TYR-D-ALA-GLY-PHE-LEU-ARG preserves their proliferative potential under cold stress. *Cytol Genet*. 2022;56:343–50. <https://doi.org/10.3103/S0095452722040053>

6. Tomé D, Benoit S, Azzout-Marniche D. Protein metabolism and related body function: mechanistic approaches and health consequences. *Proc Nutr Soc.* 2021;80(2):243–51. <https://doi.org/10.1017/S0029665120007880>
7. Liu Y, Liu P, Hu Y, Cao Y, Lu J, Yang Y, et al. Cold-induced RNA-binding protein promotes glucose metabolism and reduces apoptosis by increasing AKT phosphorylation in mouse skeletal muscle under acute cold exposure. *Front Mol Biosci.* 2021;8:685993. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.685993>
8. Kovaničová Z, Karhánek M, Kurdiová T, Baláž M, Wolfrum C, Ukropcová B, et al. Metabolomic analysis reveals changes in plasma metabolites in response to acute cold stress and their relationships to metabolic health in cold-acclimatized humans. *Metabolites.* 2021;11(9):619. <https://doi.org/10.3390/metabo11090619>
9. Manfredi LH, Zanon NM, Garófalo MA, Navegantes LC, Kettelhut IC. Effect of short-term cold exposure on skeletal muscle protein breakdown in rats. *J Appl Physiol.* 2013;115(10):1496–505. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00474.2013>
10. Zhang X, Xiao J, Jiang M, Phillips CJC, Shi B. Thermogenesis and energy metabolism in brown adipose tissue in animals experiencing cold stress. *Int J Mol Sci.* 2025;26(7):3233. <https://doi.org/10.3390/ijms26073233>
11. Shi H, Yao R, Lian S, Liu P, Liu Y, Yang YY, et al. Regulating glycolysis, the TLR4 signal pathway and expression of RBM3 in mouse liver in response to acute cold exposure. *Stress.* 2019;22(3):366–76. <https://doi.org/10.1080/10253890.2019.1568987>
12. Teleglow A, Romanovski V, Skowron B, Mucha D, Tota Ł, Rosińczuk J, et al. The effect of extreme cold on complete blood count and biochemical indicators: a case study. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;19(1):424. <https://doi.org/10.3390/ijerph19010424>
13. Liu Y, Xue N, Zhang B, Lv H, Li S. Cold stress induced liver injury of mice through activated NLRP3/Caspase-1/GSDMD pyroptosis signaling pathway. *Biomolecules.* 2022;12(7):927. <https://doi.org/10.3390/biom12070927>
14. Indo HP, Yen HC, Nakanishi I, Matsumoto K, Tamura M, Nagano Y, et al. A mitochondrial superoxide theory for oxidative stress diseases and aging. *J Clin Biochem Nutr.* 2015;56:1–7. <https://doi.org/10.3164/jcbrn.14-42>
15. Kempermann G, Song H, Gage FH. Neurogenesis in the adult hippocampus. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2015;7:a018812. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018812>
16. Aguilar Diaz De Leon J, Borges CR. Evaluation of oxidative stress in biological samples using the thiobarbituric acid reactive substances assay. *J Vis Exp.* 2020;159:e61122. <https://doi.org/10.3791/61122>
17. Owolabi MA, Abass MM, Emeka PM, Jaja SI, Nnoli M, Dosa BO. Biochemical and histologic changes in rats after prolonged administration of the crude aqueous extract of the leaves of *Vitex grandifolia*. *Pharmacognosy Res.* 2010;2(5):273–8. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.72322>
18. Kim N, Fischer AH, Dyring-Andersen B, Rosner B, Okoye GA. Research techniques made simple: choosing appropriate statistical methods for clinical research. *J Invest Dermatol.* 2017;137(10):e173–e178. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2017.08.007>
19. Zhao FQ, Zhang ZW, Qu JP, Yao HD, Li M, Li S, et al. Cold stress induces antioxidants and Hsps in chicken immune organs. *Cell Stress Chaperones.* 2014;19(5):635–48. <https://doi.org/10.1007/s12192-013-0489-9>
20. Rittié L, Monboisse JC, Gorisse MC, Gillery P. Malondialdehyde binding to proteins dramatically alters fibroblast functions. *J Cell Physiol.* 2002;191(2):227–36. <https://doi.org/10.1002/jcp.10093>
21. Korewo-Labelle D, Karnia MJ, Myślińska D, Kaczor JJ. Impact of chronic cold water immersion and vitamin D3 supplementation on the hippocampal metabolism and oxidative stress in rats. *Cells.* 2025;14(9):641. <https://doi.org/10.3390/cells14090641>
22. Shcheniavskiy IJ. Cardioprotective effect of enkephalins under immobilization stress. *Biotechnol Acta.* 2022;15(1):52–60. <https://doi.org/10.15407/biotech15.01.052>
23. Zhang J, Wang T, Fang Y, Wang M, Liu W, Zhao J, et al. Clinical significance of serum albumin/globulin ratio in patients with pyogenic liver abscess. *Front Surg.* 2021;8:677799. <https://doi.org/10.3389/fsurg.2021.677799>
24. Martinić R, Sošić H, Turčić P, Konjevoda P, Fučić A, Stojković R, et al. Hepatoprotective effects of Met-enkephalin on acetaminophen-induced liver lesions in male CBA mice. *Molecules.* 2014;19(8):11833–45. <https://doi.org/10.3390/molecules190811833>
25. Duque-Díaz E, Alvarez-Ojeda O, Coveñas R. Enkephalins and ACTH in the mammalian nervous system. *Vitam Horm.* 2019;111:147–93. <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2019.05.001>
26. Myrnyi VH, Moisieieva NM. Modulation of nitrogen metabolism under chronic cold stress in guinea pigs: the role of dalargin and naloxone in mediating a protective effect. *Bulletin of Problems Biology and Medicine.* 2025;3(178):122–8. <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2025-3-178-122-128>
27. Stein C, Machelska H, Binder W, Schäfer M. Peripheral opioid analgesia. *Curr Opin Pharmacol.* 2001;1(1):62–5. [https://doi.org/10.1016/s1471-4892\(01\)00005-4](https://doi.org/10.1016/s1471-4892(01)00005-4)
28. Owczarek D, Cibor D, Mach T, Cieśla A, Pierzchała-Koziec K, Sałapa K, et al. Met-enkephalins in patients with inflammatory bowel diseases. *Adv Med Sci.* 2011;56(2):158–64. <https://doi.org/10.2478/v10039-011-0051-x>

29. Wilenska B, Tymecka D, Włodarczyk M, Sobolewska-Włodarczyk A, Wiśniewska-Jarosińska M, Dyniewicz J, et al. Enkephalin degradation in serum of patients with inflammatory bowel diseases. *Pharmacol Rep.* 2019;71(1):42–7. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2018.08.001>
30. Luo P, Li X, Gao Y, Chen Z, Zhang Q, Wang Z, et al. Central administration of human opiorphin alleviates dextran sodium sulfate-induced colitis in mice through activation of the endogenous opioid system. *Front Pharmacol.* 2022;13:904926. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.904926>
31. Moisieieva N, Gorina O, Akhatova Yu. Effect of dalargin on apoptosis of L929 fibroblasts during cold stress. *CryoLetters.* 2023;44(6):352–9. <https://doi.org/10.54680/fr23610110212>
32. Mann A, Liebetrau S, Klima M, Dasgupta P, Massotte D, Schulz S. Agonist-induced phosphorylation bar code and differential post-activation signaling of the delta opioid receptor revealed by phosphosite-specific antibodies. *Sci Rep.* 2020;10(1):8585. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65589-7>
33. Palkovits M, Baffi JS, Pacak K. Changes in central and peripheral opioid peptide systems during cold stress. *Neuroendocrinology.* 1988;48(5):514–21.
34. Myrnyi V, Akhatova Y, Gorina O, Moisieieva N. Correction of hormonal disorders induced by chronic cold stress using synthetic neuropeptide. In: Collection of Scientific Papers «ΛΟΓΟΣ» [Internet]; 2024 May 24; Zurich, Switzerland; p. 121–3. Available from: <https://doi.org/10.36074/logos-24.05.2024.027>
35. Friedman JM. Leptin and the endocrine control of energy balance. *Nat Metab.* 2019;1(8):754–64. <https://doi.org/10.1038/s42255-019-0095-y>
36. Holmes D. Leptin attenuates HPA-axis activation and stress responses. *Nat Rev Endocrinol.* 2015;11:255. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2015.34>
37. Yoshikawa M. Bioactive peptides derived from natural proteins with respect to diversity of their receptors and physiological effects. *Peptides.* 2015;72:208–25. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2015.07.013>

## REGULATORY EFFECT OF A SYNTHETIC OPIOID NEUROPEPTID ON PROTEIN HOMEOSTASIS UNDER COLD STRESS CONDITIONS

N. M. Moisieieva , V. H. Myrnyi , Y. S. Akhatova , O. L. Horina 

*Institute of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, 23 Pereyaslavska st, 61016, Kharkiv, Ukraine*

e-mail: [ukrainanataliy@gmail.com](mailto:ukrainanataliy@gmail.com)

Submitted August 28, 2025; Revised April 21, 2026;

Accepted April 29, 2026; Published June 25, 2026

**Background:** Opioid neuropeptides are capable of regulating metabolic processes through the activation of specific opioid receptors, particularly under stress conditions. However, the mechanisms of their impact on protein metabolism under chronic cold stress (CCS) remain insufficiently studied. Given the importance of maintaining protein homeostasis under extreme conditions, investigating the role of neuropeptides in correcting protein profiles is of practical significance for developing new approaches to pharmacological adaptation.

**Objective:** To investigate changes in protein metabolism in the serum of guinea pigs under chronic cold stress, assess the protective effects of dalargin, and determine the role of the opioid system in regulating these processes.

**Materials and Methods:** The study involved guinea pigs exposed to CCS conditions. Changes in protein metabolism were assessed by measuring total protein, albumin, and globulins in the serum using standard biochemical methods. A synthetic leu-enkephalin analog (dalargin) was used as a corrective agent and administered subcutaneously at a dose of 100 µg/kg 30 min before CCS induction.

**Results.** In animals exposed to CCS, a statistically significant decrease in albumin levels and an increase in globulin levels were observed compared with intact values, which led to a disruption of the albumin–globulin ratio and indicated an imbalance in protein metabolism. Administration of dalargin contributed to normalization of the albumin–globulin ratio by restoring globulin and albumin levels in the blood of experimental animals, indicating stabilization of protein homeostasis and a protective effect of dalargin under conditions of CCS.

In addition, administration of dalargin reduced the accumulation of malondialdehyde (MDA) under conditions of cold stress, demonstrating antioxidant and cytoprotective effects and ensuring the maintenance of structural and functional integrity of tissues.

**Conclusions.** The study results suggest that dalargin is a promising agent for the pharmacological correction of metabolic disturbances induced by chronic cold stress, as it reduces MDA accumulation, exhibiting antioxidant and cytoprotective effects, and highlight the important role of the opioid

neuropeptide system in the regulation of protein metabolism and maintenance of tissue structural integrity under extreme environmental conditions.

**KEY WORDS:** cryobiology; low temperatures; hypothermia; cold adaptation; dalargin; opioid receptors; protein metabolism; homeothermic animals, albumins; globulins; stress.