

УДК: 547.853.3:615.015

DOI: <https://doi.org/10.17816/brmma88670>

ВЛИЯНИЕ ГЛИПРОЛИНОВ НА ПОКАЗАТЕЛИ БЕЛОЙ КРОВИ И ФАГОЦИТАРНУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГИПЕРТИРЕОЗА

М.У. Сергалиева¹, А.А. Цибизова¹, Л.А. Андреева², Н.Ф. Мясоедов², О.А. Башкина¹, М.А. Самокруева¹

¹ Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, Россия

² Курчатовский институт — Институт молекулярной генетики, Москва, Россия

Резюме. В условиях экспериментального гипертиреоза исследовано влияние глипролиновых нейропептидных соединений (селанк и Pro-Gly-Pro) на количество лейкоцитов и фагоцитарную активность нейтрофилов у 40 нелинейных белых крыс-самцов 6–8-месячного возраста. Экспериментальный гипертиреоз моделировали с помощью внутрижелудочного введения пентагидрата натриевой соли L-тироксина в дозе 150 мкг/кг/сут в течение 21 дня. Все животные были разделены на 4 равные группы: контрольную — интактные животные (контроль); животные, получавшие пентагидрат натриевой соли L-тироксина (гипертиреоз); крысы, получавшие селанк, и крысы, получавшие Pro-Gly-Pro, в дозах 200 мкг/кг/сут внутрибрюшинно ежедневно в течение 21 дня, начиная через сутки после последнего введения пентагидрата натриевой соли L-тироксина. После выведения животных из эксперимента подсчитывали количество лейкоцитов и процентное содержание лимфоцитов, палочко- и сегментоядерных нейтрофилов, а также оценивали фагоцитарную активность нейтрофилов. Установлено, что в условиях экспериментального гипертиреоза наблюдалось развитие лейкоцитоза с нейтрофилезом со сдвигом вправо и лимфопении, а также снижение фагоцитарной активности нейтрофилов. Введение глипролиновых нейропептидов способствовало коррекции наблюдаемых изменений со стороны показателей белой крови и фагоцитарных процессов, что свидетельствует об иммунокорректирующем действии исследуемых соединений. Таким образом, глипролиновые нейропептиды обладают выраженной иммунотропной активностью, проявляющейся в коррекции изменений, возникших со стороны лейкоцитарной формулы и процессов фагоцитоза, что актуализирует дальнейшее детальное изучение фармакологических эффектов нейропептидных средств в условиях экспериментального гипертиреоза.

Ключевые слова: глипролины; нейропептиды; селанк; экспериментальный гипертиреоз; иммунотропная активность; лейкоциты; фагоцитарное число; фагоцитарный индекс.

Как цитировать:

Сергалиева М.У., Цибизова А.А., Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф., Башкина О.А., Самокруева М.А. Влияние глипролинов на показатели белой крови и фагоцитарную активность нейтрофилов в условиях экспериментального гипертиреоза // Вестник Российской военно-медицинской академии. 2022. Т. 24, № 1. С. 55–60. DOI: <https://doi.org/10.17816/brmma88670>

DOI: <https://doi.org/10.17816/brmma88670>

EFFECT OF GLYPROLINS ON WHITE BLOOD CELL PARAMETERS AND PHAGOCYtic ACTIVITY OF NEUTROPHILS IN CONDITIONS OF EXPERIMENTAL HYPERTHYROIDISM

M.U. Sergalieva¹, A.A. Tsibizova¹, L.A. Andreeva², N.F. Myasoedov², O.A. Bashkina¹, M.A. Samotrueva¹

¹ Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia

² Kurchatov Institute — Institute of Molecular Genetics, Moscow, Russia

ABSTRACT: This study investigated the effects of glyproline neuropeptide compounds (selank and Pro-Gly-Pro) on the white blood cell count and phagocytic activity of neutrophils in 40 nonlinear white male rats aged 6–8 months with experimental hyperthyroidism. Experimental hyperthyroidism was simulated by intragastric administration of L-thyroxine sodium salt pentahydrate at a dose of 150 µg/kg/day for 21 days. All animals were equally divided into four groups: healthy rats (control), rats treated with L-thyroxine sodium pentahydrate (hyperthyroidism), rats treated with selank, and rats treated with Pro-Gly-Pro at doses of 200 µg/kg/day intraperitoneally for 21 days, starting one day after the last administration of L-thyroxine sodium pentahydrate. After the animals were removed from the experiment, the white blood cell count and the percentage of lymphocytes, stick, and segmentonuclear neutrophils were calculated, and the phagocytic activity of neutrophils was evaluated. In the case of experimental hyperthyroidism, neutrophilic leukocytosis with a shift to the right, lymphopenia, and decreased phagocytic activity of neutrophils were observed. Glyproline neuropeptides contributed to the correction of observed changes in white blood cell indices and phagocytic processes, which indicates the immunocorrecting effect of the test compounds. Thus, glyproline neuropeptides demonstrated pronounced immunotropic activity, which manifested in the correction of changes arising from the leukocyte count and phagocytosis processes. However, further detailed study of the pharmacological effects of neuropeptide agents on experimental hyperthyroidism is necessary.

Keywords: glyprolins; neuropeptides; selank; experimental hyperthyroidism; immunotropic activity; leukocytes; phagocytic number; phagocytic index.

To cite this article:

Sergalieva MU, Tsibizova AA, Andreeva LA, Myasoedov NF, Bashkina OA, Samotrueva MA. Effect of glyprolins on white blood cell parameters and phagocytic activity of neutrophils in conditions of experimental hyperthyroidism. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2022;24(1):55–60. DOI: <https://doi.org/10.17816/brmma88670>

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день сформирована концепция, подтверждающая причинно-следственную связь заболеваний

Received: 18.11.2021

Accepted: 04.01.2022

Published: 20.03.2022

щитовидной железы с патологическими изменениями нейроиммуноэндокринной системы в целом [1–3]. Доказано, что изменения функций щитовидной железы сопровождаются не только гормональным дисбалансом и психоневрологическими нарушениями, но также патологическими изменениями со стороны иммунной системы. Показано, что тиреоидные гормоны оказывают модулирующее влияние на клетки иммунной системы, что сопровождается различными изменениями показателей реактивности. Так, легкая степень гипертиреоза сопровождается стимуляцией иммунного ответа, а также увеличением общего количества лейкоцитов и снижением фагоцитарной активности нейтрофилов. В свою очередь, выраженный гипертиреоз характеризуется супрессивными изменениями иммунных процессов и усилением фагоцитоза [4–6]. Установлено, что гормоны щитовидной железы реализуют иммунные эффекты посредством двух основных механизмов: взаимодействие с ядерными рецепторами, проявляя так называемый геномный эффект, и с транспортерами глюкозы, белками митохондрий, кальциевой аденозинтрифосфатазой, аденилатциклазой и др. [6–8].

Возникающий гормональный дисбаланс в результате развития заболеваний щитовидной железы является ведущим патогенетическим фактором в процессе развития иммунной патологии. Принимая во внимание вышеописанное, вопрос коррекции вторичных иммунных нарушений, возникающих на фоне дисфункции щитовидной железы, является актуальным. Особый интерес в качестве средств коррекции многих дизрегуляторных патологических состояний представляют нейропептидные соединения глипролиновой природы [9], характеризующиеся наличием разносторонних фармакологических эффектов и высокой безопасностью.

Одним из известных зарегистрированных глипролиновых препаратов является селанк (Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro) — аналог регуляторного пептида тафтцина (Thr-Lys-Pro-Arg), основная функция которого заключается в иммуномодуляции. Установлено, что тафтцин стимулирует функцию нейтрофилов и макрофагов, вызывая активацию процессов фагоцитоза. Наряду с иммуностропным действием доказана и нейромодулирующая активность данного пептида, проявляющаяся в виде анксиолитического и ноотропного эффектов [10–12]. Выявлена функция трипептида Pro-Gly-Pro ингибировать процессы тромбообразования и дегрануляции тучных клеток, а также проявлять противоязвенные свойства и др.

Несмотря на изученность биологического действия глипролиновых нейропептидов, исследований, подтверждающих иммуностропную активность селанка и его новых производных в условиях экспериментального гипертиреоза, не выявлено [13, 14].

Цель исследования — изучение влияния глипролиновых нейропептидных соединений (селанка (Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro) и Pro-Gly-Pro) на количество лейкоцитов и фагоцитарную активность нейтрофилов

в условиях экспериментального гипертиреоза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

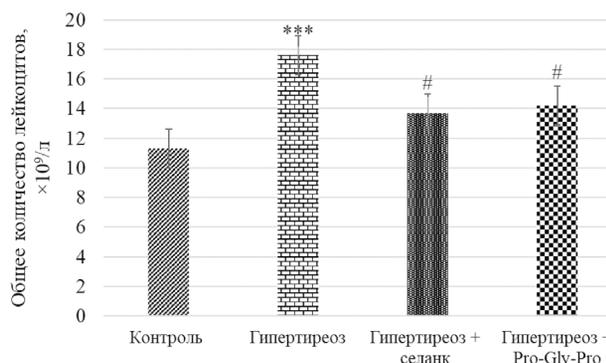
Изучение влияния глипролиновых соединений на количество лейкоцитов и фагоцитарную активность нейтрофилов проводилось на 40 белых крысах-самцах 6–8-месячного возраста в соответствии с Приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации № 199н от 01.04.2016. «Об утверждении Правил лабораторной практики», ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными». Экспериментальный гипертиреоз моделировали с помощью внутрижелудочного введения пентагидрата натриевой соли L-тироксина фирмы «Sigma» (Соединенные Штаты Америки) в дозе 150 мкг/кг в течение 21 дня. Все животные были разделены на 4 равные группы: контрольная группа — интактные животные (контроль); животные, получавшие пентагидрат натриевой соли L-тироксина (гипертиреоз); крысы, получавшие селанк, и крысы, получавшие Pro-Gly-Pro, в дозах 200 мкг/кг/сут внутрибрюшинно ежедневно в течение 21 дня, начиная через сутки после последнего введения пентагидрата натриевой соли L-тироксина.

Подсчет количества лейкоцитов и процентного содержания лимфоцитов, палочко- и сегментоядерных нейтрофилов, эозинофилов проводили в камере Горяева с последующей оценкой гемограммы в мазках, окрашенных по Романовскому — Гимзе. Фагоцитарную активность нейтрофилов в сыворотке крови оценивали путем латексного теста с определением фагоцитарного числа (ФЧ) и фагоцитарного индекса (ФИ).

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (M), ошибку среднего арифметического значения (m), и представляли в виде $M \pm m$. Различия между группами оценивали с помощью t -критерия Стьюдента с последующими множественными сравнениями по методу Бонферрони. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Связь между различными признаками в исследуемой выборке определялась с помощью корреляционного анализа величиной коэффициента корреляции Спирмена (r).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

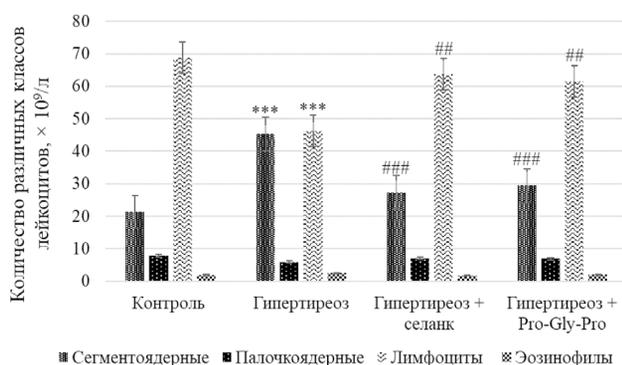
Для подтверждения развития гипертиреоза оценивали следующие показатели: поведение животных, массу тела, частоту сердечных сокращений, ректальную температуру. В группе животных с патологией щитовидной железы наблюдались следующие изменения: поведение животных становилось агрессивным, что проявлялось в формировании межсамцовых конфронтаций; происходило снижение массы тела на 30% ($p < 0,05$); отмечалось увеличение частоты сердечных сокращений на 42% ($p <$



*** — $p < 0,001$ относительно контроля; # — $p < 0,05$ относительно гипертиреоза

Рис. 1. Влияние нейропептидных соединений на общее количество лейкоцитов в условиях экспериментального гипертиреоза

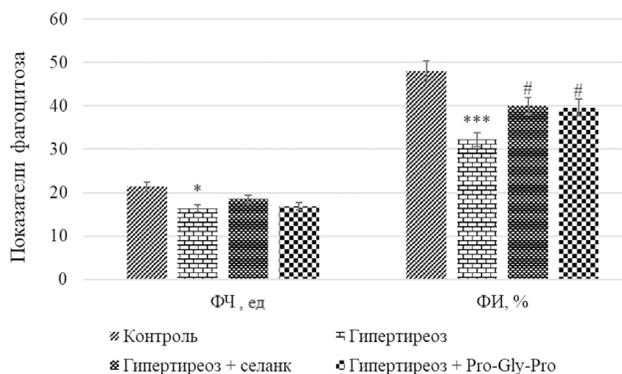
Fig. 1. Effect of neuropeptide compounds on the total leukocyte count in experimental hyperthyroidism



*** — $p < 0,001$ относительно контроля; # — $p < 0,01$; ### — $p < 0,001$ относительно гипертиреоза

Рис. 2. Влияние нейропептидных соединений на процентное содержание различных классов лейкоцитов в условиях экспериментального гипертиреоза

Fig. 2. Effect of neuropeptide compounds on the percentage of leukocyte classes in experimental hyperthyroidism



* — $p < 0,05$; *** — $p < 0,001$ относительно контроля; # — $p < 0,05$ относительно гипертиреоза

Рис. 3. Влияние нейропептидных соединений на фагоцитарную активность нейтрофилов в условиях экспериментального гипертиреоза

Fig. 3. Effect of neuropeptide compounds on the phagocytic activity of neutrophils in experimental hyperthyroidism

0,01) и повышение ректальной температуры (достигала $39,3 \pm 0,2$ °C) по отношению к intactным крысам.

Установлено, что у крыс на фоне экспериментального гипертиреоза достоверно ($p < 0,001$) увеличилось количество лейкоцитов на 56% в сравнении с контрольной группой. Введение селанка и соединения Pro-Gly-Pro сопровождалось достоверным ($p < 0,05$) уменьшением количества лейкоцитов на 22 и 20% соответственно по отношению к группе животных с гипертиреозом (рис. 1).

Кроме того, в группе животных с экспериментальным гипертиреозом количество сегментоядерных нейтрофилов увеличилось в 2,1 раза ($p < 0,001$), палочкоядерных — на 24% ($p < 0,05$), а количество лимфоцитов снизилось на 33% ($p < 0,01$) в сравнении с контрольной группой животных. Селанк способствовал восстановлению количественных показателей сегменто- и палочкоядерных нейтрофилов, снизив их на 40 ($p < 0,001$) и 18% ($p < 0,05$) соответственно, а также увеличению уровня лимфоцитов на 38% ($p < 0,01$) в сравнении с группой «гипертиреоз». Соединение Pro-Gly-Pro повлекло уменьшение сегментоядерных на 35% ($p < 0,001$), палочкоядерных — на 15% ($p < 0,05$) и увеличение лимфоцитов на 33% ($p < 0,01$) по отношению к крысам с гипертиреозом (рис. 2).

Также выявлено, что в группе животных с экспериментальным гипертиреозом произошло уменьшение фагоцитарного числа на 23% ($p < 0,05$) и снижение фагоцитарного индекса на 33% ($p < 0,001$) в сравнении с контрольной группой. При введении селанка и Pro-Gly-Pro отмечалось повышение фагоцитарного числа, однако данные изменения не имели статистической значимости. Селанк и Pro-Gly-Pro вызвали повышение фагоцитарного индекса практически на 25% ($p < 0,05$) в сравнении контрольной группой (рис. 3).

Полученные нами результаты сопоставимы с результатами ранее проведенных исследований А.Л. Зенковым [8], В.В. Щербой, М.М. Кордой [14]. Так, упомянутые авторы указывают, что формирование гипертиреоза сопровождается развитием нейтрофильного лейкоцитоза со сдвигом вправо и лимфопенией, что характерно для патологии щитовидной железы, протекающей с синдромом тиреотоксикоза. При этом В.А. Ченчак [7], А.Л. Зенков [8] говорят и том, что введение глипролиновых нейропептидных соединений способствует коррекции наблюдаемых изменений со стороны показателей белой крови и фагоцитарных процессов, что может быть связано со способностью нейропептидов активировать циклооксигиназу, ингибирующую функциональную активность лейкоцитов посредством увеличения в клетке циклического аденозинмонофосфата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволило установить наличие у глипролиновых нейропептидов выраженной иммуностропной активности, проявляющейся в коррекции

изменений, возникающих со стороны лейкоцитарной формулы и процессов фагоцитоза, что актуализирует дальнейшее детальное изучение фармакологических эффектов нейропептидных средств в условиях экспериментального гипертиреоза.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Taylor P.N., Albrecht D., Scholz A., et al. Global epidemiology of hyperthyroidism and hypothyroidism // *Nat Rev Endocrinol.* 2018. Vol. 14. No. 5. P. 301–316. DOI: 10.1038/nrendo.2018.18
2. Doubleday A.R., Sippel R.S. Hyperthyroidism // *Gland Surg.* 2020. Vol. 9. No. 1. P. 124–135. DOI: 10.21037/g.2019.11.01
3. Lane L.C., Cheetham T.D., Perros P., Pearce S.H.S. New Therapeutic Horizons for Graves' Hyperthyroidism // *Endocr Rev.* 2020. Vol. 41. No. 6. P. 873–884. DOI: 10.1210/edrv/bnaa022
4. Rivas A.M., Pena C., Kopel J., et al. Hypertension and Hyperthyroidism: Association and Pathogenesis // *Am J Med Sci.* 2021. Vol. 361. No. 1. P. 3–7. DOI: 10.1016/j.amjms.2020.08.012
5. Tsai K., Leung A.M. Subclinical Hyperthyroidism: A Review of the Clinical Literature // *Endocr Pract.* 2021. Vol. 27. No. 3. P. 254–260. DOI: 10.1016/j.eprac.2021.02.002
6. Noda M. Thyroid Hormone in the CNS: Contribution of Neuron-Glia Interaction // *Vitam Horm.* 2018. Vol. 106. P. 313–331. DOI: 10.1016/bs.vh.2017.05.005
7. Ченчак В.А. Особенности действия тироксина на иммунную систему // *Международный студенческий научный вестник.* 2017. № 3. С. 38–38.
8. Зенков А.Л. О влиянии тироксина на иммунокомпетентные клетки // *International Conference on Chemical, Biological and Health Sciences.* Pisa, 2017. С. 117–128.
9. Carr R., Frings S. Neuropeptides in sensory signal processing // *Cell and Tissue Res.* 2019. Vol. 375. No. 1. P. 217–225. DOI: 10.1007/s00441-018-2946-3
10. Ясенявская А.Л., Самотруева М.А., Мясоедов Н.Ф., Андреева Л.А. Влияние семакса на уровень интерлейкина-1 β в условиях «социального» стресса // *Медицинский академический журнал.* 2019. Т. 9, № 1S. С. 192–194. DOI: 10.17816/MAJ191S1192-194
11. Vyunova T.V., Andreeva L.A., Shevchenko K.V., Myasoedov N.F. An integrated approach to study the molecular aspects of regulatory peptides biological mechanism // *J Label Compd Radiopharm.* 2019. Vol. 62. No. 12. P. 812–822. DOI: 10.1002/jlcr.3785
12. Thiele T.E. Neuropeptides and Addiction: An Introduction International // *Rev Neurobiol.* 2017. Vol. 136. P. 1–3. DOI: 10.1016/bs.irm.2017.07.001
13. Сергалиева М.У., Цибизова А.А., Абдулкадырова Э.И., и др. Влияние селанка и Pro-Gly-Pro на поведенческие реакции белых крыс в тесте «Порсолт» в условиях экспериментального гипертиреоза // *Астраханский медицинский журнал.* 2021. Т. 16, № 2. С. 53–61. DOI: 10.17021/2021.16.2.53.61
14. Щерба В.В., Корда М.М. Фагоцитарна і метаболічна активність нейтрофілів крові у щурів з пародонтитом на фоні гіпер-та гіпотиреозу // *Вісник проблем біології і медицини.* 2018. Т. 2, № 1. С. 143. DOI: 10.11603/mcch.2410-681X.2018.v0.i1.8844

REFERENCES

1. Taylor PN, Albrecht D, Scholz A, et al. Global epidemiology of hyperthyroidism and hypothyroidism. *Nat Rev Endocrinol.* 2018;14(5):301–316. DOI: 10.1038/nrendo.2018.18
2. Doubleday AR, Sippel RS. Hyperthyroidism. *Gland Surg.* 2020;9(1):124–135. DOI: 10.21037/g.2019.11.01
3. Lane LC, Cheetham TD, Perros P, Pearce SHS. New Therapeutic Horizons for Graves' Hyperthyroidism. *Endocr Rev.* 2020;41(6):873–884. DOI: 10.1210/edrv/bnaa022
4. Rivas AM, Pena C, Kopel J, et al. Hypertension and Hyperthyroidism: Association and Pathogenesis. *Am J Med Sci.* 2021;361(1):3–7. DOI: 10.1016/j.amjms.2020.08.012
5. Tsai K, Leung AM. Subclinical Hyperthyroidism: A Review of the Clinical Literature. *Endocr Pract.* 2021;27(3):254–260. DOI: 10.1016/j.eprac.2021.02.002
6. Noda M. Thyroid Hormone in the CNS: Contribution of Neuron-Glia Interaction. *Vitam Horm.* 2018;106:313–331. DOI: 10.1016/bs.vh.2017.05.005
7. Chenchak VA. Features of the action of thyroxine on the immune system. 2017;(3):38–38. (In Russ.).
8. Zenkov AL. O vliyaniy tiroksina na immunokompetentnyye kletki. *International Conference on Chemical, Biological and Health Sciences.* Pisa, 2017. P. 117–128. (In Russ.).
9. Carr R, Frings S. Neuropeptides in sensory signal processing. *Cell and Tissue Res.* 2019;375(1):217–225. DOI: 10.1007/s00441-018-2946-3
10. Yasenavskaya AL, Samotrueva MA, Myasoedov NF, Andreeva LA. Influence of semax on the level of interleukin-1 β in the conditions of "social" stress. *Medical academic journal.* 2019;9(1S):192–194. (In Russ.). DOI: 10.17816/MAJ191S1192-194
11. Vyunova TV, Andreeva LA, Shevchenko KV, Myasoedov NF. An integrated approach to study the molecular aspects of regulatory peptides biological mechanism. *J Label Compd Radiopharm.* 2019;62(12):812–822. DOI: 10.1002/jlcr.3785
12. Thiele TE. Neuropeptides and Addiction: An Introduction International. *Rev Neurobiol.* 2017;136:1–3. DOI: 10.1016/bs.irm.2017.07.001
13. Sergaliev MU, Tsibizova AA, Abdulkadyrova EI. The effect of selank and pro-gly-proon behavioral responses white rats in the Porsolt test in the conditions of experimental hyperthyroidism. *Astrakhan medical journal.* 2021;16(2):53–61. (In Russ.). DOI: 10.17021/2021.16.2.53.61
14. Shcherba VV, Korda MM. The state of the nitrogen (II) oxide-system in rats with periodontitis on the background of hyper- and hypothyroidism. *Medical and Clinical Chemistry.* 2018;2(1):143. (In Ukraine). DOI: 10.11603/mcch.2410-681X.2018.v0.i1.8844

ОБ АВТОРАХ

***Мариям Утежановна Сергалиева**, кандидат биологических наук; e-mail: charlina_ast@mail.ru; ORCID: 0000-0002-9630-2913; eLibrary SPIN: 7976-9321

Александра Александровна Цибизова, кандидат фармацевтических наук; e-mail: sasha3633@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-9994-4751; eLibrary SPIN: 2206-3898

Людмила Александровна Андреева, руководитель сектора; e-mail: landr@img.ras.ru; ORCID: 0000-0002-3927-8590; eLibrary SPIN: 4785-5621

Николай Федорович Мясоедов, доктор химических наук, профессор; e-mail: nfm@img.ras.ru; ORCID: 0000-0003-1294-102X; eLibrary SPIN: 1262-2698

Ольга Александровна Башкина, доктор медицинских наук, профессор; e-mail: bashkina1@mail.ru; ORCID: 0000-0003-4168-4851; eLibrary SPIN: 3620-0724

Марина Александровна Самотруева, доктор медицинских наук, профессор; e-mail: ms1506@mail.ru; ORCID: 0000-0001-5336-4455; eLibrary SPIN: 5918-1341

AUTHORS INFO

***Mariyam U. Sergalieva**, candidate of biological sciences; e-mail: charlina_ast@mail.ru; ORCID: 0000-0002-9630-2913; eLibrary SPIN: 7976-9321

Alexandra A. Tsybizova, candidate of pharmaceutical sciences; e-mail: sasha3633@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-9994-4751; eLibrary SPIN: 2206-3898

Lyudmila A. Andreeva, head of the sector; e-mail: landr@img.ras.ru; ORCID: 0000-0002-3927-8590; eLibrary SPIN: 4785-5621

Nikolay F. Myasoedov, doctor of chemical sciences, professor; e-mail: nfm@img.ras.ru; ORCID: 0000-0003-1294-102X; eLibrary SPIN: 1262-2698

Olga A. Bashkina, doctor of medical sciences, professor; e-mail: bashkina1@mail.ru; ORCID: 0000-0003-4168-4851; eLibrary SPIN: 3620-0724

Marina A. Samotrueva, doctor of medical sciences, professor; e-mail: ms1506@mail.ru; ORCID: 0000-0001-5336-4455; eLibrary SPIN: 5918-1341

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author