

ВЛИЯНИЕ ОЛИГОПЕПТИДОВ — ГОМОЛОГОВ ФРАГМЕНТА АКТГ₁₅₋₁₈ НА СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ И НАДПОЧЕЧНИКОВ КРЫС НА МОДЕЛИ ОСТРОГО ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА

УДК 615.214:159.944.4:577.112.6

DOI: 10.17816/RCF15430-37

© О.В. Кудина¹, С.Ю. Штрыголь¹, А.А. Колобов², Ю.Б. Ларьяновская¹¹Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина;²ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

Для цитирования: Кудина О.В., Штрыголь С.Ю., Колобов А.А., Ларьяновская Ю.Б. Влияние олигопептидов — гомологов фрагмента АКТГ₁₅₋₁₈ на состояние печени и надпочечников крыс на модели острого иммобилизационного стресса // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т. 15. – № 4. – С. 30–37. doi: 10.17816/RCF15430-37.

Поступила в редакцию 11.10.2017

Принята к печати 30.11.2017

Ключевые слова:

острый иммобилизационный стресс; олигопептиды; стресс-протекторы.

Резюме

На модели острого иммобилизационного стресса проведен углубленный анализ возможных звеньев стресс-протекторного действия олигопептидов — гомологов фрагмента АКТГ₁₅₋₁₈. Установлено выраженное антиоксидантное действие в сыворотке крови и печени крыс, не уступающее референс-препарату «Семакс». Результаты морфологических исследований ткани печени также свидетельствуют о норма-

лизации вызванных острым иммобилизационным стрессом альтеративных изменений органа под влиянием олигопептидов (КК-1, КК-5). Оба пептида превосходили референс-препарат, однако наибольшее восстановительное действие на гистоструктуру печени оказал пептид КК-1. Стресс-протекторное действие исследуемых олигопептидов КК-1 и КК-5 подтверждается и их способностью уменьшать повышенную активность стероидогенеза и снижать выброс катехоламинов, а также нормализовывать нарушенную структуру коры надпочечников. По показателям восстановления гистоструктуры надпочечников пептид КК-5 превосходил как препарат сравнения, так и пептид КК-1.

THE INFLUENCE OF OLIGOPEPTIDES – THE HOMOLOGUES OF ACTH₁₅₋₁₈ ON THE LIVER AND ADRENAL GLANDS IN THE RATS ON THE MODEL OF ACUTE IMMOBILIZATION STRESS

© O.V. Kudina¹, S.Yu. Shtrygol'¹, A.A. Kolobov², Yu.B. Larjanovskaja¹¹National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine;²State Research Institute of Highly Pure Biopreparations of Russian Federal Medico-Biological Agency, Saint Petersburg, Russia

For citation: Kudina OV, Shtrygol' SYu, Kolobov AA, Larjanovskaja YuB, et al. The influence of oligopeptides – the homologues of ACTH₁₅₋₁₈ on the liver and adrenal glands in the rats on the model of acute immobilization stress. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2017;15(4):30-37. doi: 10.17816/RCF15430-37.

Received: 11.10.2017

Accepted: 30.11.2017

◆ **Keywords:** acute immobilization stress; stress-protective activity; oligopeptides.

◆ **Abstract.** An in-depth study the possible links of the stress-protective action of oligopeptides - homologues of the of adrenocorticotrophic hormone fragment (15-18) on the model of acute immobilization stress has been carried out. A marked antioxidant effect, not inferior to the reference medicine "Semax", has been detected

in the blood serum and liver of the rats. The results of the morphological study of liver tissue also indicate the normalization of the stress-induced damage in the organ under the influence of oligopeptides (KK-1, KK-5). Both peptides have been exceeded the reference drug, however, the peptide KK-1 had the marked positive effect on the reduction of histological structure of the liver. The stress-protective action of the investigated oligopeptides KK-1 and KK-5 is confirmed by their ability to

reduce the increased activity of steroidogenesis and reduce the release of catecholamines, as well as normalize the damaged structure of the adrenal cortex. According

to the indices of the adrenal structure recovering, the peptide KK-1 exceeded the reference drug and the peptide KK-1.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы возрастает внимание специалистов многих отраслей медицины к проблеме стресса [1]. Стрессовые воздействия, изменяющие нейромедиаторную, гормональную активность организма, приводят к напряжению функциональных систем и, как следствие, к различным заболеваниям [2]. Несмотря на многочисленные исследования в данной области, фармакотерапия стресса остается нерешенной задачей, что актуализирует поиск и изучение новых стресс-протекторов. Особого внимания в решении данного вопроса заслуживают нейропептиды, поскольку нарушение пептидергической системы представляет собой одно из ведущих звеньев патогенеза в реакции организма на стресс. Ассортимент пептидергических препаратов, проявляющих стресс-протекторную активность, достаточно узок. В ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых препаратов» ФМБА России были получены пептидные гомологи фрагмента адренокортикотропного гормона (АКТГ)₁₅₋₁₈ (Lys-Lys-Arg-Arg).

Цель настоящей работы — углубленный анализ влияния пептидов-лидеров по итогам ранее проведенного скрининга стресс-протекторных свойств данных веществ [16] на состояние печени и надпочечников крыс на модели острого иммобилизационного стресса (ОИС).

МЕТОДИКА

Экспериментальные исследования выполнены в соответствии с «Общими этическими принципами экспериментов на животных» (Украина, 2001) и положениями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 1986).

Пептидные гомологи фрагмента АКТГ₁₅₋₁₈ (Lys-Lys-Arg-Arg) под шифрами КК-1 и КК-5 (табл. 1) синтезированы в ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых препаратов» ФМБА России (Санкт-Петербург) под руководством д-ра биол. наук А.А. Колобова. Пептиды получены методами твердофазного синтеза с использованием Вос-технологии и очищены с помощью препаративной обращенно-фазовой хроматографии, их чистота составляет не менее 98 %. В этих соединениях одна (КК-1) или две (КК-5) природных аминокислоты заменены на соответствующий D-стереомер. Пептиды практически не токсичны и имеют повышенную устойчивость к протеазам сыворотки крови человека [3].

Исследования проводили на самцах белых беспородных крыс массой 180–200 г, выращенных в виварии Национального фармацевтического университета (Харьков, Украина). Модель острого иммобилизационного стресса воспроизводили путем иммобилизации в течение 5 часов на спине, атравматично фиксируя за конечности [4, 15]. Перед моделированием ОИС животных подвергали 8-часовой пищевой депривации, не ограничивая в доступе к воде. Олигопептиды вводили интраназально в дозе 20 мкг/кг за 30 мин до и после иммобилизации. Препарат сравнения «Семакс» (ЗАО «Инновационный НПЦ «Пептоген», РФ) вводили в дозе 20 мкг/кг в аналогичном режиме.

После декапитации животных под наркозом (тиопентал натрия) проводили забор крови, ткани печени и надпочечников. Определяли содержание ТБК-реактивных продуктов [5], диеновых конъюгатов (ДК) [6], восстановленного глутатиона (ВГ) [7], активность каталазы [8] в сыворотке крови и печени. Также устанавливали уровень продуктов окислительной модификации белка (ОМБ) [9] в сыворотке крови и супероксиддисмутазы в гомогенате печени [10]. Морфологическое исследование печени и надпочечников выполняли методом световой микроскопии (окраска гематоксилином и эозином), для выявления гликогена использовали ШИК-реакцию.

Статистическую обработку проводили с помощью программы Statistica 5.0 с расчетом среднего и его стандартной ошибки, достоверности различий по критерию Стьюдента (*t*) при нормальном распределении и непараметрических критериев (Kruskal-Wallis, Mann-Whitney) при его отсутствии, однофакторного дисперсионного анализа и критерия Ньюмена–Кейлса. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

■ Таблица 1. Структура пептидов — аналогов фрагмента АКТГ₁₅₋₁₈

Лабораторный шифр	Структура
КК-1	Acetyl-(D-Lys)-Lys-Arg-Arg-amide
КК-5	Acetyl-(D-Lys)-Lys-(D-Arg)-Arg-amide

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Под влиянием ОИС (табл. 2) уровень продуктов ОМБ повысился в 2,4 раза, что свидетельствует об интенсификации процессов перекисного окисления белка. Исследуемые пептиды КК-1, КК-5 и препарат «Семакс» приводили к нормализации данного показателя, снижая ОМБ в 1,8; 1,7 и 1,6 раза соответственно. По влиянию на активность каталазы статистически значимых различий влияния ОИС, пепти-

■ Таблица 2. Содержание продуктов окислительной модификации белка, каталазы, ТБК-активных продуктов, восстановленного глутатиона, диеновых конъюгатов и активность каталазы в сыворотке крови крыс на модели острого иммобилизационного стресса, $n = 6$

Показатель	Интактные животные	Острый иммобилизационный стресс			
		Контрольная патология	Пептид КК-1	Пептид КК-5	«Семакс»
Продукты окислительной модификации белка, ед. экст.	0,057 ± 0,002	0,136 ± 0,002*	0,077 ± 0,006**	0,078 ± 0,004**	0,083 ± 0,003**
Каталаза, мкат/л	60,54 ± 6,94	68,20 ± 10,57	58,29 ± 4,60	85,59 ± 3,33*	60,90 ± 6,21
ТБК-активные продукты, мкмоль/л	1,18 ± 0,05	0,74 ± 0,06*	1,00 ± 0,09**	1,04 ± 0,06**	1,00 ± 0,08**
Восстановленный глутатион, мкмоль/л	1,15 ± 0,11	0,48 ± 0,11*	1,35 ± 0,11**	1,31 ± 0,24**	1,53 ± 0,25**
Диеновые конъюгаты, мкмоль/л	27,54 ± 4,83	36,21 ± 4,00	35,53 ± 7,70	39,54 ± 2,24	41,89 ± 2,80*

Примечание: * различие статистически значимо по отношению к животным интактной группы ($p < 0,5$); ** различие статистически значимо по отношению к группе животных контрольной патологии ($p < 0,5$); n — количество животных в группе

■ Таблица 3. Активность супероксиддисмутазы, каталазы и содержание ТБК-активных продуктов, восстановленного глутатиона, диеновых конъюгатов в печени крыс на модели острого иммобилизационного стресса, $n = 6$

Показатель	Интактные животные	Острый иммобилизационный стресс			
		Контрольная патология	Пептид КК-1	Пептид КК-5	«Семакс»
Супероксиддисмутаза, усл. ед.	0,120 ± 0,019	0,180 ± 0,016*	0,120 ± 0,007**	0,085 ± 0,004 **/#	0,078 ± 0,003 **/#
Каталаза, мкат/л	47,96 ± 0,49	39,28 ± 2,56*	47,93 ± 1,48**	46,02 ± 2,52	47,46 ± 0,84 **
ТБК-активные продукты, мкмоль/г	79,48 ± 14,97	34,19 ± 2,95*	54,27 ± 5,28 **/с	71,36 ± 6,20 **	81,41 ± 10,14 **
Восстановленный глутатион, мкмоль/г	2,47 ± 0,23	1,65 ± 0,15*	2,49 ± 0,40	4,00 ± 0,33 */**	3,38 ± 0,32 */**
Диеновые конъюгаты, мкмоль/л	28,71 ± 2,75	22,69 ± 2,40	22,23 ± 3,10	27,88 ± 0,34	31,59 ± 2,65

Примечание: * различие статистически значимо по отношению к животным интактной группы ($p < 0,5$); ** различие статистически значимо по отношению к группе животных контрольной патологии ($p < 0,5$); # различие статистически значимо по отношению к группе животных, получавших КК-1 ($p < 0,5$); с различие статистически значимо по отношению к группе животных, получавших препарат «Семакс» ($p < 0,5$); n — количество животных в группе

да КК-1 и препарата сравнения обнаружено не было. Однако в группе животных, получавших пептид КК-5, активность фермента повысилась в 1,3 раза.

Уровень ДК в сыворотке крови крыс не имел достоверных различий с интактным контролем как в группе контрольной патологии, так и под влиянием пептидов. В 1,5 раза возрос данный показатель в группе животных, получавших «Семакс». Уровень ТБК-активных продуктов в группе животных контрольной патологии уменьшился в 1,6 раза. В группах животных, получавших пептиды и препарат сравнения, произошла нормализация данного показателя (повышение в 1,4 раза). ОИС вызвал достоверное снижение ВГ в 2,4 раза по сравнению с интактными животными. Пептиды КК-1, КК-5 и препарат сравнения восстанавливали нарушенный уровень ВГ, повышая его в сыворотке крови крыс в 2,8; 2,7; 3,2 раза соответственно.

В печени крыс (табл. 3) под влиянием ОИС, как и в сыворотке крови, не обнаружено статистически значимых различий содержания ДК во всех исследуемых группах.

Характер изменения ТБК-активных продуктов в печени крыс аналогичен происходящим в сыворотке крови. Их уровень снизился в 2,3 раза в сравнении со значением интактного контроля. Пептиды и препарат сравнения восстанавливали содержание ТБК-активных продуктов (повышение в 1,6; 2,0 и 2,4 раза соответственно). В 1,5 раза снизилось содержание ВГ в печени крыс под воздействием ОИС. Пептид КК-1 проявил тенденцию к нормализации показателя, статистически достоверно повышали сниженный уровень ВГ пептид КК-5 (в 2,4 раза) и препарат «Семакс» (в 2 раза). ОИС сопровождался повышением активности СОД в 1,5 раза и снижением активности каталазы в 1,2 раза в печени животных. Пептид КК-1 достоверно восстанавливал содержание фермента СОД, уменьшая его в 1,5 раза в сравнении с контрольной патологией. Пептид КК-5 и «Семакс» также снижали повышенную активность СОД на фоне стресса, однако ее уровень был ниже значений интактного контроля. Пептид КК-1 повышал активность каталазы в 1,2 раза в сравнении с группой животных

контрольной патологии, не уступая препарату сравнения. Под влиянием пептида КК-5 наблюдалась тенденция к восстановлению уровня каталазы.

Стресс вызвал существенные изменения гистоструктуры надпочечников (рис. 1). Зональное распределение не всегда четкое, у большинства крыс адренкортикоциты клубочковой зоны теряли характерную структурную ориентацию (рис. 1, г). В пучковой зоне видно мозаичное смешивание участков со спонгиоцитами разного функционального состояния. При преобладании клеток с темной ацидофильной цитоплазмой, отсутствием вакуолизации в ней (функционально активных — гормон сразу выводится из клетки) клеточные границы становились нечеткими, терялась линейность в ориентации тяжелой клеткой, наблюдались полная дисконфлексация и цитолиз спонгиоцитов, некроз (рис. 1, д). В мозговом слое нейроэндокриноциты находились в значительно более функционально активном состоянии, что служит свидетельством усиленного выброса в кровь катехоламинов (рис. 1, е). В сетчатой зоне надпочечников всех исследуемых групп животных изменений не обнаружено.

Пептид КК-1 приводил к ослаблению признаков соответствующей реакции надпочечников. Секреторные клетки клубочковой зоны сохраняли характерный рисунок расположения. В пучковой зоне коры было увеличено количество клеток, находящихся в состоянии покоя (с жировыми включениями в цитоплазме), соответственно уменьшалась доля активных клеток. На большинстве участков пучковой зоны была сохранена упорядоченная структурная организация спонгиоцитов, отсутствовали фокусы микронекрозов (рис. 1, ж). У всех крыс в мозговом слое наблюдали нейроэндокриноциты, которые находились как в состоянии активации, так и в более спокойном состоянии (рис. 1, з).

Пептид КК-5 достаточно выраженно влиял на морфологическое состояние надпочечников крыс на модели ОИС. Структурная организация клубочковой и пучковой зон коры у большинства животных отвечала норме, функциональное состояние секреторных клеток приближено к состоянию интактного контроля (рис. 1, и). Нейроэндокриноциты в большей степени, нежели в контрольной патологии, накапливали секрет при снижении интенсивности его выведения (рис. 1, к).

Препарат сравнения «Семакс» также проявил заметную тенденцию до восстановления структуры коры надпочечников (рис. 1, л). Реже в сравнении с контролем встречались участки с дисконфлексацией и делипоидизацией адренкортикоцитов, отсутствовали микрофокусы некроза, была уменьшена в целом функциональная активность спонгиоцитов. Местами были видны мелкие клеточные скопления среди дистрофически измененных клеток. Функциональное состояние нейроэндокриноцитов достаточно выраженно колебалось у разных животных в пределах группы (рис. 1, м).

Гистоструктура печени интактных животных соответствовала норме (рис. 2, а). ОИС вызвал изменения альтеративного характера, что проявилось, во-первых, в нарушении микроциркуляции преимущественно в системе внутريدольковых капилляров (расширение синусоидальных капилляров, застойные явления в них). Часто наблюдали также расширение собирательных вен, стаз эритроцитов в них, тромбоз, местами небольшие кровоизлияния. Звездчатые ретикулоэндотелиоциты были активированы, свободно лежали в просвете капилляров, местами пролиферировали (рис. 2, б). Во-вторых, среди гепатоцитов прослеживались клетки с повышенной эозинофилией цитоплазмы (ацидофильная дегенерация — стадия, которая предшествует некрозу), разными стадиями моноцеллюлярного некроза — лизиса клеток. Была заметно увеличена лимфоцитарная инфильтрация вокруг триад и периваскулярно. В зоне триад и диффузно были видны мелкие фокусы сформированного некроза с замещением погибших гепатоцитов круглоклеточным инфильтратом (рис. 2, в, г). В цитоплазме гепатоцитов при постановке ШИК-реакции обнаружено выраженное снижение содержания гликогена (рис. 2, и). Изменения произошли и в состоянии ядерного аппарата гепатоцитов. Статистически значимо увеличилась доля гепатоцитов, в ядрах которых содержалось одно ядрышко (91,4 %). Такие ядра становились мономорфными по размеру, что свидетельствует о напряженности их функционирования. Особенно заметно это было на участках с выраженным расширением синусоидальных капилляров. Уменьшилась доля клеток с большим ядром (4,2 %), в котором содержалось два и более ядрышка. Сократилась и численность двухъядерных гепатоцитов (5,0 %). Что касается клеток с микроядрами в ядре, то количество их снизилось (4,4 %), что, возможно, объясняется гибелью части гепатоцитов.

Под влиянием пептида КК-1 в 83,3 % наблюдений процессы альтерации в печеночной паренхиме минимизировались. Синусоидальные капилляры расширены в значительно меньшей степени, звездчатые ретикулоэндотелиоциты расположены в большей степени пристеночно, не пролиферируют. В то же время многие собирательные вены остались расширенными, иногда тромбированными. Уменьшилась лимфоидная инфильтрация триад, почти не видно фокусов некроза клеток (рис. 2, д). Намного увеличилась способность клеток накапливать гликоген (рис. 2, к). Более спокойное состояние печеночной паренхимы под воздействием пептида КК-1 подтверждают и показатели морфометрии. Численность клеток с одним ядрышком в ядре, хотя и не достигла уровня интактного контроля, достоверно уменьшилась в сравнении с контрольной патологией (84,9 %), при этом отсутствовала характерная для стрессированных животных мономорфность в размерах клеток. Пул двухъядерных клеток достигал уровня интактного контроля. Увеличено в сравнении с контрольной па-

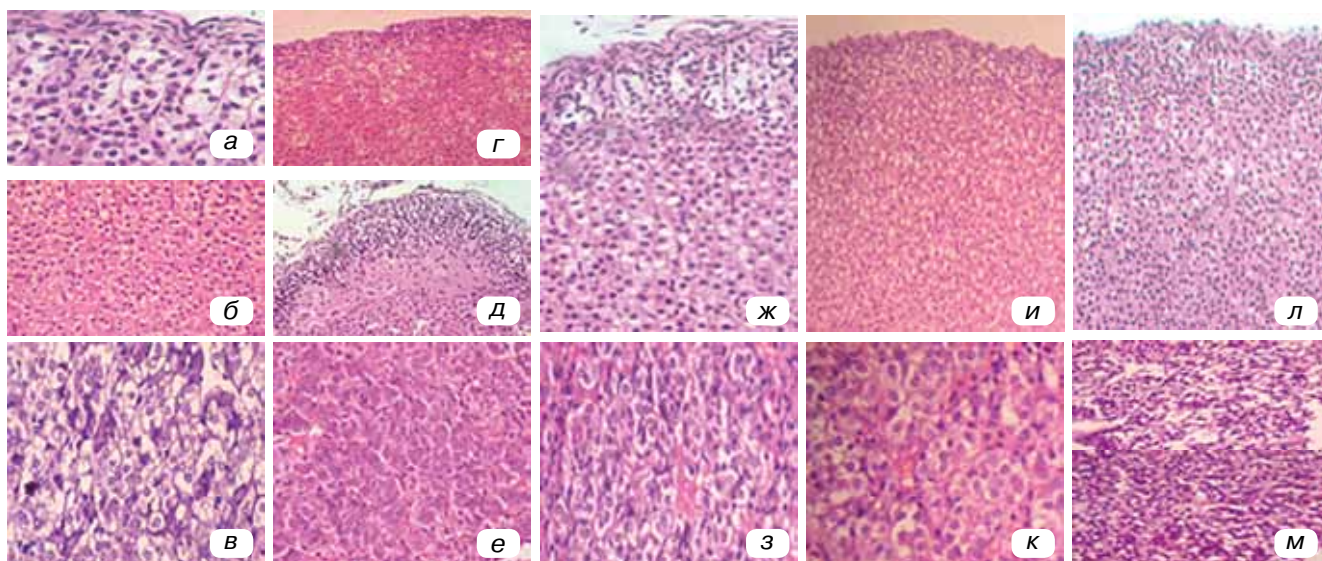


Рис. 1. Состояние надпочечников крыс на модели острого иммобилизационного стресса: а, б, в — надпочечники интактных крыс; з, д, е — надпочечники крыс группы контрольной патологии; ж, з — надпочечники крыс группы, получавшей пептид КК-1; и, к — надпочечники крыс группы, получавшей пептид КК-5; л, м — надпочечники крыс группы, получавшей препарат сравнения «Семакс». Окраска гематоксилином и эозином. $\times 200$ (з, д, и, л, м); $\times 250$ (е-з, к), $\times 400$ (а-в)

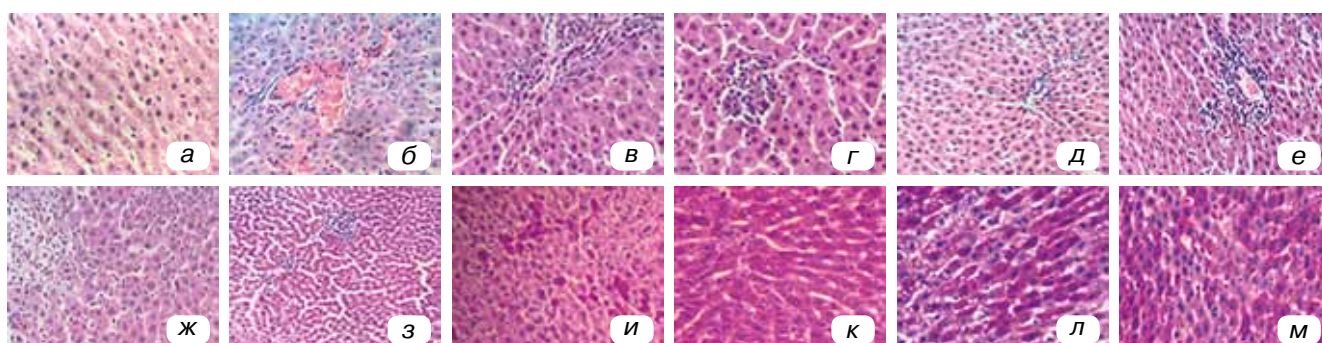


Рис. 2. Состояние печени крыс на фоне острого иммобилизационного стресса: а — интактные крысы; б, в, з, и — крысы группы контрольной патологии; д, к — крысы группы, получавшей пептид КК-1; е, ж, л — крысы группы, получавшей пептид КК-5; з, м — крысы группы, получавшей препарат «Семакс». Окраска гематоксилином и эозином (а-з), ШИК-реакция по МакМанусу (и-м). $\times 200$ (б, д-з); $\times 250$ (а, в, з, и-м)

■ Таблица 4. Морфометрические показатели ядра гепатоцитов крыс в условиях острого иммобилизационного стресса

Группа	Показатели (на 100 гепатоцитов)			
	двухъядерные клетки	клетки с одним ядрышком в ядре	клетки с двумя и более ядрышками в ядре	клетки с микроядрышками в ядре
Интактный контроль	7,1 ± 0,5	81,9 ± 0,5	11,9 ± 0,8	6,2 ± 0,7
Контрольная патология	5,0 ± 0,3*	91,4 ± 0,5*	4,2 ± 0,3*	4,4 ± 0,2*
Пептид КК-1	7,8 ± 0,3**	84,9 ± 0,6*/**	8,4 ± 0,4*/**	6,7 ± 0,4**
Пептид КК-5	7,9 ± 0,1**	88,7 ± 0,9*/**/**	6,0 ± 0,4*/0,058**/**	5,3 ± 0,6
«Семакс»	7,7 ± 0,3**	90,7 ± 0,5*/**/**	5,2 ± 0,4*/**	4,1 ± 0,2*/**

Примечания: *различие статистически значимо по отношению к группе интактного контроля ($p < 0,5$); **различие статистически значимо по отношению к группе контрольной патологии ($p < 0,5$); *** различие статистически значимо по отношению к группе животных, получавших пептид КК-1 ($p < 0,5$); **** различие статистически значимо по отношению к группе животных, получавших пептид КК-5 ($p < 0,5$)

тологией и количество гепатоцитов с двумя и более ядрышками в ядре (8,43 %), а наличие клеток с микроядрами в ядре практически не превышало таковое в интактном контроле (табл. 4).

После применения пептида КК-5 выраженное уменьшение изменений альтеративного характера прослеживалось у 50 % крыс. У остальных животных имели место изменения в системе синусои-

дальних капилляров, клеточная инфильтрация зон триад, фокусы некроза гепатоцитов, хотя распространенность и выраженность их несколько меньше в сравнении с контрольной патологией (рис. 2, е, ж). Содержание гликогена колебалось у разных крыс в пределах группы: от нормального равномерного до мозаичного сниженного (рис. 2, л).

Влияние препарата сравнения «Семакс» (рис. 2, з) на состояние паренхимы было более неоднозначным, нежели влияние пептида КК-5. Отсутствие или выраженное снижение признаков альтерации наблюдали в 33 % случаев, в то время как мелкие фокусы некроза гепатоцитов, повышение клеточной насыщенности периваскулярно и в зоне триад обнаружены у 67 % животных, и у половины этих крыс имели место зональное расширение синусоидальных капилляров и застойные явления в них. Варибельной была и способность к накоплению гликогена гепатоцитами (рис. 2, м). Состояние ядерного и ядрышкового аппарата у этих крыс мало чем отличалось от такового на фоне пептида КК-5 (табл. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Как показывают результаты наших исследований, ОИС усилил перекисное окисление белка (ПОБ), которое играет ведущую роль в деструкции клеточной мембраны и служит в свою очередь стимулятором перекисного окисления липидов [12]. Именно изменению ОМБ принадлежит ключевая роль в свободнорадикальном окислении, сопряженном со стрессорным воздействием на организм [13]. Оба исследуемых пептида на уровне препарата сравнения препятствовали усилению процессов ПОБ в сыворотке крови, что свидетельствует об их способности снижать процессы свободнорадикального окисления на раннем этапе ОИС. Уровень ТБК-активных продуктов в сыворотке крови и печени крыс достоверно снизился. Наблюдаемый нами необычный характер изменений этого показателя совпадает с данными методических рекомендаций по доклиническому изучению стресс-протекторных средств. Острый стресс характеризуется периодами ослабления и усиления процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Так, спустя 1,5–2 часа после завершения иммобилизации характерно ингибирование процессов ПОЛ в крови [4], что и было подтверждено результатами нашей работы. Подобная закономерность снижения уровня ТБК-активных продуктов в мозге крыс на фоне ОИС была отмечена и рядом других авторов [11, 14]. Во-первых, это, возможно, связано с эффективной работой ферментов антиоксидантной защиты при пониженной метаболической активности [11]. Во-вторых, ингибирование свободнорадикального окисления в мозге и повышение антиокислительной активности является неспецифическим звеном адаптации

к действию стрессорного фактора [14]. Вероятно, включение адаптивных механизмов привело к снижению ТБК-активных продуктов в сыворотке крови и печени, а также обусловило повышение активности СОД в печени. Следует отметить, что иммобилизационный стресс приводит организм в состояние, отличное от состояния в обычной обстановке, и обнаруженные изменения должны быть подтверждены сравнительной оценкой результатов с данными интактного контроля [1]. Пептиды КК-1 и КК-5, не уступая референс-препарату, нормализовали уровень ТБК-активных продуктов и ВГ в сыворотке крови и печени. Не обнаружено достоверных изменений уровня ДК в сыворотке крови и в печени животных как под влиянием ОИС, так и под влиянием пептидов. Активность каталазы в сыворотке крови в исследуемых группах животных не изменялась. Лишь в группе пептида КК-5 наблюдалась увеличенная активность каталазы в сыворотке крови. В тканях печени под влиянием ОИС произошло изменение активности ферментов антиоксидантной защиты: снижение активности каталазы на фоне увеличения активности СОД. Это может быть связано с преобладанием глутатионпероксидазного пути утилизации перекиси водорода, что также подтверждается соответствующим изменением уровня ВГ. Пептиды КК-1 и КК-5 восстанавливали нарушенные стрессом изменения активности данных ферментов на уровне препарата «Семакс».

В надпочечниках крыс, как наиболее чувствительном к стрессу органе, ОИС стал причиной возникновения морфологических признаков выраженного функционального напряжения с элементами истощения: делипоидизация адренкортикоцитов коры, возникновение в зонах гиперактивности клеток очагов дистрофии и некроза. Эти изменения происходили на фоне повышения секреции катехоламинов нейроэндокринными клетками мозгового слоя. В надпочечниках крыс применение исследуемых пептидов снижало повышенную активность стероидогенеза на фоне снижения синтеза катехоламинов, прослеживалась четкая тенденция к восстановлению структуры коры, выраженная больше, чем под влиянием препарата сравнения. По позитивному стресс-протекторному влиянию на надпочечники пептид КК-5 превосходил КК-1.

В печени стрессорное состояние инициировало изменения альтеративного характера, которые выразились в расширении синусоидальных капилляров и застойных явлениях в них, в возникновении очагов некроза вследствие распада части дистрофически измененных гепатоцитов. Эти изменения сопровождалось истощением депо гликогена, очевидно, связанным с мобилизацией энергетических ресурсов организма крыс под действием глюкокортикоидов и катехоламинов. Возможно, гепатоциты оказались не в состоянии справиться с высоким уровнем напряжения, вследствие чего возникли элементы первичной декомпенсации (снижение

численности двухъядерных клеток, клеток с крупными ядрами, которые содержат два и более ядрышка). Пептиды КК-1 и КК-5 способствовали нормализации цитоархитектоники, уменьшению вызванных стрессом нарушений микроциркуляции, проявлений дистрофии, морфологического субстрата иммунопатологических реакций (лимфоцитарной периваскулярной инфильтрации). Восстановительные процессы коррелировали с нормализацией уровня гликогена в клетках, состояния ядерного и ядрышкового аппарата. Оба исследуемых пептида превосходили препарат «Семакс» по степени восстановления гистоструктуры печени. Если по благоприятному влиянию на состояние надпочечников лидировал пептид КК-5, то способность к нормализации нарушенной гистоструктуры печени более выражена у пептида КК-1.

Стоит также отметить тот факт, что если антиоксидантное действие пептидов в сыворотке крови и печени было на уровне референс-препарата, то по степени восстановительного влияния на гистоструктуру печени и надпочечников они превосходили «Семакс».

Подводя итог исследования, можно сделать следующие выводы. На модели острого иммобилизационного стресса в крови и печени крыс пептиды КК-1 и КК-5 проявили антиоксидантное действие, не уступая препарату сравнения «Семакс», что может служить одним из звеньев их стресспротекторного эффекта. Морфологические исследования ткани печени также свидетельствуют о нормализации вызванных острым иммобилизационным стрессом альтеративных изменений органа под влиянием обоих олигопептидов. При этом как пептид КК-1, так и пептид КК-5 превосходили референс-препарат, однако наибольшее восстановительное действие на гистоструктуру печени оказал пептид КК-1. Наличие стресс-протекторного действия исследуемых олигопептидов КК-1 и КК-5 также подтверждается их влиянием на гистоструктуру надпочечников. Ее изменения указывают на способность уменьшать повышенную активность стероидогенеза на фоне снижения выброса катехоламинов, а также нормализовывать нарушенную острым иммобилизационным стрессом структуру коры надпочечников. По показателям восстановления гистоструктуры надпочечников пептид КК-5 превосходил как препарат сравнения, так и пептид КК-1.

Углубленное изучение различных аспектов стресс-протекторного действия олигопептидов станет предметом дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Киричек Л.Т., Перепилица А.В., Кальчук Р.О. Лекарственный антистресс в эксперименте (иммобилизация, травма, воспаление). – Харьков: Контраст, 2016. [Kirichek LT, Perepilitsa AV, Kal'chuk RO. *Drug anti-stress in the experiment (immobilisation, trauma, inflammation)*. Khar'kov: Kontrast; 2016. (In Russ.)]
2. Киричек Л.Т. Стресспротекторы в эксперименте и в клинике. – Харьков: Контраст, 2008. [Kirichek LT. *Stressprotectors in the experiment and in the clinic*. Khar'kov: Kontrast; 2008. (In Russ.)]
3. Ковалицкая Ю.А., Садовников В.Б., Золотарев Ю.А., Наволоцкая Е.В. Стресспротекторная активность синтетического пептида CH₃CO-Lys-Lys-Arg-Arg-NH₂ (протектина) // Биоорганическая химия. – 2009. – № 4. – С. 493–500. [Kovalitskaya YuA, Sadovnikov VB, Zolotarev YuA, Navolotskaya EV. *Stressprotective activity of the synthetic peptide CH₃CO-Lys-Lys-Arg-Arg-NH₂ (Protektin)*. *Bioorganicheskaya khimiya*. 2009;(4):493-500. (In Russ.)]
4. Стефанов О.В., ред. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації. – Київ: Авіцена, 2001. [Stefanov OV, ed. *Preclinical investigation of the drugs: guidelines*. Kiev: Avitsena; 2001. (In Ukr.)]
5. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Орехович В.Н., ред. Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66–68. [Stal'naya ID, Garishvili TG. *The method of the malonic dialdehyde identification using thiobarbituric acid*. In: Orekhovich V.N., ed. *Sovremennye metody v biokhimii*. Moscow: Meditsina; 1977. P. 66-8. (In Russ.)]
6. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот // Орехович В.Н., ред. Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 63–64. [Stal'naya ID. *The method of the diene conjugation identification of the unsaturated fatty acids*. In: Orekhovich V.N., ed. *Sovremennye metody v biokhimii*. Moscow: Meditsina; 1977. P. 63-4. (In Russ.)]
7. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. [Vladimirov YuA, Archakov AI. *Lipid peroxidation in biological membranes*. Moscow: Nauka; 1972. (In Russ.)]
8. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19. [Korolyuk MA, Ivanova LI, Mayorova IG, Tokarev VE. *The method for the catalase activity identification*. *Laboratornoe delo*. 1988;(1):16-9. (In Russ.)]
9. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Поротов И.С. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека. Методы ее определения // Вопросы медицинской химии. – 1995. – № 1. – С. 24–26. [Dubinina EE, Burmistrov SO, Khodov DA, Porotov IS. *Oxidative modification of human serum proteins. The methods of the identification*. *Voprosy meditsinskoy khimii*. 1995;(1):24-6. (In Russ.)]
10. Брусов О.С., Герасимов А.М., Панченко Л.Ф. Влияние природных ингибиторов радикальных материй на аутоокисление адреналина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1976. – № 1. – С. 33. [Brusov OS, Gerasimov AM, Panchenko LF. *The influence of the natural inhibitors of radical matters at autooxidation of adrenaline*. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 1976;(1):33. (In Russ.)]

11. Глинник С.В. Состояние перекисного окисления липидов и систем антиоксидантной защиты тканей при гипокинетическом стрессе у крыс с экспериментальным гипотиреозом // Медицинский журнал. – 2006. – № 4. – С. 40–41. [Glinnik SV. The condition of lipid peroxidation and antioxidant protective systems of tissues in hypokinetic stress in rats with experimental hypothyroidism. *Meditsinskiy zhurnal*. 2006;(4):40-1. (In Russ.)]
12. Губский Ю.И., Беленичев И.Ф., Левицкий Е.Л., и др. Токсикологические последствия окислительной модификации белков при различных патологических состояниях (Обзор литературы) // Современные проблемы токсикологии. – 2005. – № 3. – С. 20–26. [Gubskiy Yul, Belenichev IF, Levitskiy EL, et al. The toxicological effects of proteins oxidative modification in the various pathological conditions (literature review)]. *Sovremennyye problemy toksikologii*. 2005;(3):20-6. (In Russ.)]
13. Барабой В.А., Брехман И.И., Голотин В.Г., Кудряшов Ю.Б. Перекисное окисление и стресс. – СПб.: Наука, 1992. [Baraboy VA, Brekhan I, Golotin VG, et al. *Peroxidation and stress*. Saint Petersburg: Nauka; 1992. (In Russ.)]
14. Абрамченко В.В. Антиоксиданты и антигипоксанты в акушерстве. – СПб.: ДЕАН, 2001. [Abramchenko VV. *Antioxidants and antihypoxants in obstetrics*. Saint Petersburg: DEAN; 2001. (In Russ.)]
15. Bhatia N, Maiti PP, Choudhary A, et al. Animal models of stress: a review. *NSHM J Pharm Healthcare Manage*. 2011;2:42-0.
16. Kudina OV, Shtrygol' SYu, Tsyvunin VV, et al. The screening study of stressprotective effect of new oligopeptides. International Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Students "Topical issues of new drugs development": abstracts. Kharkiv; 2015. P. 323.

◆ Информация об авторах

Олеся Викторовна Кудина — канд. фарм. наук, доцент, кафедра фармакологии. Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина. E-mail: olesiakudina@gmail.com.

Сергей Юрьевич Штрыголь — д-р мед. наук, профессор, заведующий, кафедра фармакологии. Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина. E-mail: shtrygol@ukr.net.

Александр Александрович Колобов — д-р биол. наук, заведующий, лаборатория химии пептидов. ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» ФМБА России, Санкт-Петербург. E-mail: kolobov@hpb-spb.com.

Юлия Борисовна Ларьяновская — канд. биол. наук, старший научный сотрудник, гистолог. Центральная научно-исследовательская лаборатория, Харьков, Украина. E-mail: cndl@nuph.edu.ua.

◆ Information about the authors

Olesya V. Kudina — Ph.D. in Pharmaceutical Sciences, Associate professor, Pharmacology department. National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine. E-mail: olesiakudina@gmail.com.

Sergey Yu. Shtrygol' — Doctor of Medicine, professor, Head, Pharmacology department. National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine. E-mail: shtrygol@ukr.net.

Aleksandr A. Kolobov — Doctor of Biological Sciences, Head, Peptide chemistry laboratory. State Research Institute of Highly Pure Biopreparations of Russian Federal Medical and Biological Agency, Saint Petersburg. E-mail: kolobov@hpb-spb.com.

Yulia B. Lar'yanovska — PhD (Cell Biol), Senior researcher, Histologist. Central Scientific-Research Laboratory, Kharkiv, Ukraine. E-mail: cndl@nuph.edu.ua.