

ИЗУЧЕНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ - АНАЛОГОВ ЕСТЕСТВЕННОГО ПЕПТИДНОГО КОМПЛЕКСА ПОЧЕК НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГОМЕОСТАЗА У ХОМЯКОВ ПРИ АУТОИММУННОМ НЕФРИТЕ

Гейко О.А., Кайдашев И.П.

Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава

Сегодня все большее внимание фармакологов и фармацевтов всего мира привлекает группа естественных биорегуляторов, среди которых особое место занимают пептидные и полипептидные вещества, выделенные из различных органов и тканей. Пептиды имеют отношение к регуляции любой физиологической функции организма, они заставляют пересмотреть многие ключевые принципы реакции функций на всех уровнях интеграции организма, и самое главное, весьма значительна перспектива практического использования безвредных биологически активных веществ.

В нашей стране в последнее десятилетие наибольшую распространенность получила концепция межклеточной кооперации на основе пептидных молекул, так называемых цитомединов [7]. Нами был разработан метод получения биологически активных пептидных веществ из тканей почек, участвующих в функционировании молекул главного комплекса гистосовместимости [8].

Эффективность естественного пептидного комплекса почек была показана нами при аутоиммунной патологии [4], токсических поражениях почек [3]. Этот комплекс влияет на процессы регенерации тканей почек, активность лимфоцитов, их интерлейкин зависимые реакции [5]. Однако на сегодняшний день предпочтение отдается не многокомпонентным смесям, которые, тем не менее имеют и определенные преимущества, а синтетическим пептидам - аналогам, которые обладают всеми свойствами таких смесей.

Исходя из общего плана строения естественного пептидного комплекса и ряда структурного сходства аминокислот были синтезированы 3 пептида аналога:

Про-Глу-Лиз-Асп-Лей-Арг-Лиз - PEKDLRK

Про-Глу-Лиз-Асп-Сер-Арг-Лиз - PEKDSRK

Про-Глу-Лиз-Асп-Асп-Арг-Лей - PEKDDRL

Целью настоящей работы явилось изучение терапевтической активности трех синтетических пептидов и сравнение их с естественным пептидным комплексом почек при аутоиммунном экспериментальном нефрите.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на 24 золотистых хомячках массой 107-156 г. обоего пола, которые были разделены поровну на 6 групп.

В первую группу входили интактные животные, у животных второй группы вызывали аутоиммунный нефрит по методике [10] для чего животных иммунизировали суспензией аутологической почки в полном адьюванте Фрейнда (1:1) [10], которую вводили в мышцу задней конечности в дозе 0,2 мл троекратно с интервалом в 7 дней. И начиная с 15 дня таким животным вводили физиологический раствор, животные третьей группы получали инъекции пептида - PEKDSRK, четвертая группа - PEKDLRK, пятая группа - PEKDDRL, и шестая группа естественный пептидный комплекс в течении 6 дней. Все пептиды вводились в дозе 0,1 мг/кг в 0,2 мл стерильного физиологического раствора.

По окончании введения препаратов у животных под тиопенталовым наркозом отбирали кровь из правого предсердия и органы для исследования. Исследовалось в периферической крови число эритроцитов, гемоглобин, в тканях почки супероксиддисмутазу, малоновый диальдегид, в сыворотке крови - концентрацию мочевины [9]. Для гистологического исследования ткани почки фиксировались в 10 % нейтральном формалине, заключались в парафин и окрашивались по Маллори и гематоксилин-эозином. Данные исследований обработаны статистически с использованием коэффициента Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали наши исследования для золотистых хомячков характерно высокое содержание гемоглобина в крови при относительно низком числе эритроцитов (табл. 1). Обращает на себя внимание высокая исходная активность процессов свободнорадикального окисления в ткани почек хомячков, характеризующаяся значительным приростом МДА в тканях почки.

Таблица 1 Некоторые показатели изменения гомеостаза при развитии аутоиммунного нефрита у хомячков и экспериментальной терапии пептидными препаратами

Исследуемые показатели	Статистические показатели	группы животных					
		1	2	3	4	5	6
Гемоглобин, г/л	M±m p p1 p2 p3 p4	163,5±4,78	135,5±12,40 >0,05	151,0±10,50 >0,05 >0,05	139,0±12,30 <0,05 >0,05 >0,05	160,0±10,60 >0,05 >0,05 >0,05 >0,05	150,0±6,80 >0,05 <0,05 >0,05 >0,05 >0,05
Эритроциты, 10 ⁹ /л	M±m p p1 p2 p3 p4	3,80±0,39	3,90±0,75 >0,05	4,90±0,50 >0,05 >0,05	5,10±0,20 <0,05 >0,05 >0,05	5,10±0,41 >0,05 <0,05 >0,05 >0,05	4,90±0,30 >0,05 >0,05 >0,05 >0,05 >0,05
СОД, ЕД	M±m p p1 p2 p3 p4	2,87±0,90	1,87±0,60 >0,05	2,75±0,65 >0,05 >0,05	2,90±0,14 >0,05 <0,05 >0,05	2,26±0,35 >0,05 >0,05 >0,05 >0,05	2,64±0,18 >0,05 >0,05 >0,05 >0,05 >0,05
МДА, % прироста в течении 90 мин. Инкубации	M±m p p1 p2 p3 p4	208,25±3,09	157,75±19,30 <0,05	213,75±9,26 >0,05 >0,05	194,25±18,90 >0,05 <0,05 >0,05	232,00±19,20 >0,05 <0,05 >0,05 >0,05	191,25±8,30 >0,05 >0,05 >0,05 >0,05 >0,05
Мочевина, мкмоль/л	M±m p p1 p2 p3 p4	5,54±0,29 >0,05	5,73±0,14 >0,05	5,74±0,60 >0,05 >0,05	5,56±0,28 >0,05 >0,05 >0,05	6,34±0,87 >0,05 >0,05 >0,05 >0,05	6,09±0,38 >0,5
Масса тела, г	M±m p p1 p2 p3 p4	141,70±17,6	107,20±3,10 >0,05	155,50±12,5 0 >0,05 <0,05	152,2±9,10 >0,05 <0,05 >0,05	139,00±18,10 >0,05 >0,05 >0,05 >0,05	156,50±22,00 >0,05 >0,05 >0,05 >0,05 >0,05

При развитии аутоиммунного нефрита значительно уменьшался вес тела животных, одновременно снижалось накопление МДА в почках на фоне активности СОД, что свидетельствовало о снижении активности транспортных процессов в почке. Эти данные согласуются с описанным снижением уровня ПЮЛ в почках при развитии аутоиммунных процессов [3]. Примечательно, что развитие аутоиммунного нефрита у хомячков протекает без выраженной азотемии.

При введении таким животным пептида - PEKDSRK были обнаружены следующие изменения. Концентрация СОД и процент прироста МДА в ткани почки возрастали по сравнению с контрольной группой и достигали нормального уровня. Нормализовалось количество эритроцитов и концентрация гемоглобина в периферической крови, масса тела животных возвращалась к исходным значениям.

У животных четвертой группы, получавших пептидный комплекс - PEKDLRK, возрастала концентрация СОД и становилась достоверно выше показателей всех групп. Процент прироста МДА восстанавливался, но оставался несколько ниже значений интактной группы. Количество эритроцитов после введения пептида превышало показатели здоровых животных, при сниженном содержании гемоглобина. Достоверно увеличивалась масса тела животных. Это может свидетельствовать, о способности этого пептида усиливать продукцию эритроцитов, без стимуляции синтеза гемоглобина.

У животных пятой группы, получавших пептид PEKDDRL концентрация СОД в ткани почки увеличивалась, но оставалась ниже показателей интактной группы. Процент прироста МДА был самым высоким среди всех групп. Концентрация гемоглобина достигала значений здоровых животных. Количество эритроцитов периферической крови было выше показателей контрольной и интактных групп. Масса тела животных этой группы незначительно повышалась.

У животных шестой группы, получавших естественный пептидный комплекс восстанавливалась активность СОД и процент прироста МДА в тканях почки. Возрастало количество эритроцитов и концентрация

гемоглобина в периферической крови. Эти результаты демонстрируют способность этого пептида нормализовать гемопоэз, нарушенный при аутоиммунном нефрите. Масса тела возвращалась к нормальным показателям.

Для объективизации и подтверждения лабораторных исследований терапевтической активности исследуемых пептидов было проведено морфологическое исследование. Как показали исследования для золотистых хомячков характерно умеренное набухание клубочков, полнокровие сосудов мелкого калибра, утолщение стенок отдельных артерий.

При развитии аутоиммунного нефрита клубочки становились резко отечны, петли клубочков сдавлены инфильтратной жидкостью. Наблюдалась глубокая дистрофия клеток дистальных канальцев, обширные зоны некроза, разрушение клеток проксимальных и дистальных канальцев, расширение межканальцевых капилляров и венул. Характерной особенностью модели аутоиммунного нефрита на золотистых хомячках являются выраженные микроциркуляторные нарушения.

При введении таким животным пептида PEKDSRK - клубочки оставались несколько отечны, в полости капсул оставалось незначительное количество экссудата. В отдельных проксимальных канальцах наблюдались некротические изменения. Большинство клубочков полностью занимали объем капсулы. В отдельных венозных сосудах стаз, отчетливо видны "монетные столбики". Просвет канальцев расширен. Расширены межканальцевые капилляры, вены и артерии.

У животных, получавших пептид PEKDLRK - клубочки нормального объема. Вены расширены, наблюдались дистрофические изменения дистальных и проксимальных канальцев.

У животных, получавших пептид PEKDDRL - обнаружены клубочки относительно без изменений, дистальные канальцы расширены в них наблюдались участки некроза эпителия. В некоторых мелких сосудах тромбы, капилляры полнокровны.

У животных получавших естественный пептидный комплекс нефролат - картина нарушений менее выра-

жена. Клубочки несколько коллабириваны. Редко встречаются разрушенные клубочки, вены и артериолы полнокровны.

Таким образом, все изученные нами пептиды оказывали терапевтическое действие, однако, степень действия была различной. Наиболее активным оказался пептид PEKDDRL, его эффекты существенно не отличались от естественного пептидного комплекса почек. Обращает на себя внимание способность изучаемых пептидов влиять на гемопоэз, нарушенный в условиях почечной патологии. Такое действие, по-видимому, опосредовано продукцией эритропоэтинов. Можно сделать вывод о перспективности изучения этих пептидных аналогов естественного пептидного комплекса почек, как потенциальных лекарственных препаратов. Причем в зависимости от степени различных клинических проявлений патологии почек можно индивидуализировать лечение, используя характерные особенности фармакодинамики синтетических пептидов аналогов естественного пептидного комплекса почек.

Приносим благодарность доктору S.Stefanovich и профессору H.G. Rammensee (Немецкий центр исследований рака, г. Гейдельберг) за синтез пептидов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Брусев О.С., Герасимов А.М., Панченко Л.Ф. Влияние природных ингибиторов радикальных реакций на автоокисление адреналина. / Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.- 1976.- N 1.- с.33-35
2. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И., Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. // М.: Наука.- 1972.200 с.

3. Кайдашев И.П., Катрушов А.В., Мищенко В.П. Влияние регуляторных нирковых полипептидов на гемокоагуляцию і перекисне окислення ліпідів при фтористій інтоксикації // Физиологический журнал.- 1993.- N 2-3.- С.58-63.
4. Кайдашев И.П. Влияние почечных пептидов на активность лимфоцитов при экспериментальном нефрите риментальном нефрите / Физиологический журнал.- 1993.- N 5-6.- с. 52-55.
5. Кайдашев И.П. Влияние отдельных пептидных фракций, выделенных из коркового вещества почек, на пролиферативную активность лейкоцитов // Иммунология.- 1996.- N 3 С.30-33.
6. Кайдашев И.П. Установление согласованной последовательности пула пептидных фракций, выделенных из коркового вещества почек / Иммунология.- 1996.- N 2.- с. 24-28.
7. Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Новый класс биологических регуляторов многоклеточных систем - цитомедины // Усп. совр. биол.- 1983.- 96.- N 6.- С.339-352.
8. Патент Украины N 5743. Препарат тканевых биологически активных веществ, который имеет регенераторное действие и способ его получения.
9. Посібник з експериментально-клінічних досліджень в біології та медицині / Під ред. Кайдашева І.П. та інш. Полтава, Укр. мед. стомат. академія.- 1996.- 271 с.
10. Kment A., Hofecker G., Nidermuller H., Dreier H. Spezifische Eihlagtrung markierter Gewebshomogenate in die homologen Organe der Ratt / Erzeimittelforsch.- 1980.- P. 2043-2046.

The study of the syntetic peptides effect - the analogs of the natural peptide complex of the kidneys on some homeostasis indexes in hamsters with autoimmune nephritis in experiment.

O.A. Geiko

The purpose of the present scientific research was the study curative activity of three synthetic peptides and comparison of them with the natural peptide complex in hamsters with autoimmune experimental nephritis.

So, all peptides studied had the curative effect, but it's degree was quite different. The most active peptide was PEKDDRL, its effects didn't differ significantly from the natural peptide complex of the kidneys.

His possible to conclude that the stadi of these peptide analogs of the natural kidneys complex as the potential medical drugs is sufficientli prospective.

Ministry Public Health of Ukraine
Ukrainian Medical Stomatological Academy
314024, Shevchenko str. 23, Poltava, Ukraine

Матеріал надійшов до редакції 27/Х/1997