ПРОБЛЕМИ БІОРЕГУЛЯЦІЇ

© О.А.Гейко, О.А.Баштовенко, И.Н.Звягольская, Э.И.Кайдашева, О.В.Квак, Л.В.Беркало

УДК 616.61-002:615,2˝2/.9

КОРРИГИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ - АНАЛОГОВ ЕСТЕСТВЕННОГО ПЕПТИДНОГО КОМПЛЕКСА ПОЧЕК НА СОСТОЯНИЕ ОРГАНИЗМА КРЫС ПРИ АУТОИММУННОМ НЕФРИТЕ

О.А.Гейко, О.А.Баштовенко, И.Н.Звягольская, Э.И.Кайдашева, О.В.Квак, Л.В.Беркало

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 практически к 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 [1]. В нашей стране в последнее десятилетие наибольшую распространенность получила концепция межклеточной кооперации на основе пептидных молекул, так называемых цитомединов [6]. Природные биологически активные вещества относятся к медиаторному звену системы биорегуляции и участвуют в механизме межгенных взаимодействий на уровне популяций специализированных клеток. Регуляция осуществляется либо автономно, либо под центральным (тимус, эпифиз и т.д.) контролем [6]. Нами был разработан метод получения биологически активных пептидных веществ из тканей почек, участвующих в функционировании молекул главного комплекса гистосовместимости [7]. И проведена сравнительная характеристика хроматоргафических спектров полипептидов, выделенных из коркового вещества почек при аутоиммунном нефрите и лечении его пептидными препаратами почки [4,5]. Введение экзогенных полипептидных веществ почки, приводило в разной мере к восстановлению большинства фракций [3]. Эффективность этого пептидного комплекса почек была показана нами при аутоиммунной патологии [4], токсических поражениях почек [2]. Комплекс влияет на процессы регенерации тканей почек, активность лимфоцитов, их интерлейкин-зависимые реакции [3,4].

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 крысах линии Wistar обоего пола массой 135 - 283 г. Первую группу составили интактные животные, у животных второй группы вызывали аутоиммуное поражение почек с помощью введения суспензии аутологической почки в полном адьюванте Фрейнда, начиная с 15 дня этим животным вводили физиологический раствор.

Животные третьей группы получали инъекции пептида PEKDSRK, четвертая группа иньекции пептида PEKDLRK, пятая группа PEKDDRL и шестая группа - естественный пептидный комплекс - нефролат в течении шести дней. Все пептиды вводились в дозе 0,1 мг/кг в 0,2 мл стерильного физиологического раствора. По окончании введения у животных под тиопенталовым наркозом забирали кровь из правого предсердия и органы для исследования.

Исследовались коэффициенты масс почек, тимуса, селезенки. В крови исследовалось число лейкоцитов, эритроцитов, лейкоцитарная формула, гемоглобин [8], лизосомальные катионные белки (ЛКБ) [8].

В сыворотке крови: хлориды, креатинин, мочевина, иммунные комплексы, в ткани почки определяли СОД, МДА [8].

Проводили гистологическое исследование почек. Ткани почки фиксировались в 10 % нейтральном формалине, ткани тимуса фиксировались в жидкость Карнуа, 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 крыс линии Wistar характерно низкое число лейкоцитов при относительно высоком числе лимфоцитов и

низкой фагоцитарной активностью нейтрофильных лейкоцитов в периферической крови (табл.1). Низкий процент прироста МДА при высоком содержаии СОД в тканях почки (табл. 2).

Таблица 1.

Некоторые гематологические показатели изменения гомеостаза при развитии аутоиммунного нефрита у крыс и экспериментальной терапии пептидными препаратами

Исследуемые показатели	Статистические показатели	Группы животных					
		1	2	3	4	5	6
Лейкоциты, 10^9/л	M	5,77	10,60	6,26	7,06	3,82	9,15
	m	0,99	4,66	1,27	1,27	0,52	1,04
	p		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p1			>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p2				>0,05	>0,05	>0,05
	p3					>0,05	>0,05
	p4						<0,05
Эритроциты, 10^9/л	M	6,00	4,33	6,80	6,40	6,20	8,07
	±m	1,01	1,46	1,55	0,95	0,55	0,63
	p		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p1			>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p2				>0,05	>0,05	>0,05
	p3					>0,05	>0,05
	p4						>0,05
Лимфоциты, %	M	65,00	60,60	47,30	56,30	71,00	62,20
	m	4,35	0,66	4,37	9,89	5,06	7,26
	p		>0,05	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05
	p1			<0,05	<0,05	>0,05	>0,05
	p2				>0,05	<0,05	>0,05
	p3					>0,05	>0,05
	p4						>0,05
Сегментоядерные нейтрофилы, %	M	31,70	36,30	49,60	36,60	22,00	32,70
	±m	4,66	1,85	4,48	8,95	4,76	6,82
	p		>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p1			>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p2				<0,05	>0,05	>0,05
	p3					>0,05	>0,05
	p4						>0,05
ЛКБ,СЦК	M	1,50	0,77	0,60	0,86	1,13	1,05
	±m	0,20	0,23	0,12	0,22	0,35	0,09
	p		>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p1			>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p2				>0,05	>0,05	<0,05
	p3					>0,05	>0,05
	p4						>0,05
Гемоглобин,г/л	M	139,00	136,60	150,60	136,60	131,00	137,50
	±m	13,50	12,80	20,70	5,90	4,60	13,10
	p		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p1			>0,05		>0,05	>0,05
	p2				>0,05	>0,05	
	p3					>0,05	>0,05
	p4						>0,05
Фагоцитарная активность, %	M	62,80	44,70	61,00	46,70	62,80	31,00
	±m	11,60	12,20	16,50	7,42	8,15	7,76
	p		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p1			>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p2				>0,05	>0,05	>0,05
	p3					>0,05	>0,05
	p4						<0,05
Фагоцитарное число,ед.	M	5,70	3,10	4,60	3,40	4,70	2,40
	±m	0,75	0,55	1,55	0,63	0,98	0,41
	p		<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05
	p1			>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p2				>0,05	>0,05	>0,05
	p3					>0,05	>0,05
	p4						>0,05
Бласттрансформация,ИН	M		5,80	4,50	7,80	7,00	5,60
	±m	1,93	1,50	0,90	0,79	0,55	1,48
	p		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p1			>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p2				>0,05	>0,05	>0,05
	p3					>0,05	>0,05
	p4						>0,05

При развитии аутоиммунного нефрита вес тела животных незначительно уменьшался (табл.3). Снижалось накопление МДА при высокой активности СОД, что свидетельствовало о снижении активности транспортных процессов в почке. Возрастало количество лейкоцитов, уменьшалось количество лимфоцитов, возрастало число сегментоядерных нейтрофилов, фагоцитарная активность, активность катионных белков в нейтрофильных лейкоцитах снижалась. Уменьшалось количество эритроцитов и содержание гемоглобина в периферической крови (табл.1). Возрастало количество креатинина в сыворотке крови. Снижалась масса тела животых и возрастали коэффициенты масс почек, тимуса и селезенки.

Таблица 2.

Некоторые показатели изменения гомеостаза и перекисного окисления липидов при развитии аутоиммунного нефрита у крыс и экспериментальной терапии пептидными препаратами

Исследуемые показатели	Статистические показатели	Группы животных					
		1	2	3	4	5	6
Креатинин, мкмоль/л	M	71,50	73,70	66,40	69,30	77,80	82,90
	±m	4,20	1,70	4,20	3,00	4,00	4,70
	p		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p1			>0,05	>0,05	>0,05	<0,05
	p2				>0,05	>0,05	>0,05
	p3					>0,05	>0,05
	p4						>0,05
Мочевина, ммоль/л	M	5,65	5,99	8,46	8,36	5,29	5,70
	±m	1,88	2,77	2,29	2,42	1,77	2,03
	p	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	
	p1	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05		
	p2				>0,05	>0,05	>0,05
	p3					>0,05	>0,05
	p4						>0,05
МДА в ткани почки, % прироста	M	77,25	67,00	179,00	160,00	129,50	141,50
	±m	24,60	14,80	33,80	17,00	2,60	23,90
	p		>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05
	p1			<0,05	<0,05	<0,05	>0,05
	p2				>0,05	>0,05	>0,05
	p3					>0,05	>0,05
	p4						>0,05
СОД в ткани почки, (ЕД)	M		1,80	2,10	1,90	2,29	2,60
	±m	0,04	0,55	0,006	0,13	0,38	0,16
	p		>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05
	p1			>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p2				<0,05	>0,05	
	p3					>0,05	>0,05
	p4						>0,05

При введении таким животным пептида PEKDSRK были обаружены следующие изменения. Снижалось количество лейкоцитов относительно контрольной группы. Увеличивалось количество эритроцитов и содержание гемоглобина в периферической крови. Фагоцитарная активность была выше показателей контрольных животных, но не достигала значений здоровых животных. Индекс бласттрансформации был самым высоким среди всех групп. Увеличивалось количество мочевины в сыворотке крови. Значительно увеличивался процент прироста МДА в ткани почки. Возрастал коэффициет массы почек, тимуса, и селезенки относительно контрольных животных. Масса тела возрастала.

Таблица 3.

Изменение массы тела крыс и коэффициентов масс органов при аутоиммунном нефрите

Исследуемые показатели	Статистические показатели	Группы животных					
		1	2	3	4	5	6
Коэффициент массы почек	M	0,0067	0,0069	0,0072	0,0080	0,0069	0,0078
	±m	0,0003	0,0008	0,0007	0,0004	0,0002	0,001
	p		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p1			>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p2				>0,05	>0,05	>0,05
	p3					>0,05	>0,05
	p4						>0,05
Коэффициент массы тимуса	M	0,00082	0,0011	0,0014	0,0015	0,0011	0,0011
	±m	0,00005	0,00001	0,00006	0,00008	0,00001	0,00003
	p		>0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05
	p1			>0,05	<0,05		
	p2				>0,05	<0,05	>0,05
	p3					<0,05	>0,05
	p4						
Коэффициент массы селезенки	M	0,0037	0,0045	0,0047	0,0085	0,0052	0,0046
	±m	0,0005	0,001	0,0005	0,0008	0,0007	0,0006
	p		>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05
	p1			>0,05	<0,05	>0,05	>0,05
	p2				<0,05	>0,05	>0,05
	p3					<0,05	<0,05
	p4						>0,05
Масса тела животных, г	M	224,90	219,65	282,95	135,80	204,52	229,55
	±m	13,35	16,35	24,35	10,20	9,20	9,25
	p		>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05
	p1			>0,05	<0,05	>0,05	>0,05
	p2				<0,05	>0,05	>0,05
	p3					<0,05	<0,05
	p4						>0,05

Примечание: p - сравнение статистических показателей проведено с интактными животными;
p1 - сравнение статистических показателей проведено между контрольной группой и опытными животными;
p2-p4 - сравнение статистических показателей между опытными животными.

У животных четвертой группы, получавших пептид PEKDLRK, были выявлены следующие изменения. Снижалось число лейкоцитов относительно котрольной группы, но было выше показателей здоровых животных. В лейкоформуле происходил сдвиг в сторону увеличения числа сементоядерных нейтрофилов при низком числе лимфоцитов. Цитохимический коэффициент ЛКБ в нейтрофильных лейкоцитах был ниже показателей здоровых животных на фоне повышенной фагоцитарной активности. Индекс бласттрансформации превышал показатели интактных животых. Процент прироста МДА был выше показателей контрольной и интактных групп, а концентрация креатинина в ткани почки приближалась к показателям здоровых животных. Повышался коэффициент масс почек, тимуса и селезенки относительно здоровых животных. Уменьшалась масса тела животных относительно контрольной группы.

У животных пятой группы, получавших пептид PEKDDRL резко уменьшалось количество лейкоцитов в периферической крови, при высоком числе лимфоцитов. Количество эритроцитов оставалось в пределах нормы, но уменьшалось содержание гемоглобина в них. Несколько возрастала концентрация креатинина в сыворотке крови отосительно контрольных животных. Процент прироста МДА был выше показателей интактной и котрольных групп. Индекс бласттрансформации и фагоцитарная активность нормализовались. Возрастал коэффициент массы селезенки относительно контрольной и интактных групп, коэффициенты масс почек и тимуса оставались на уровне контрольных животных. Масса тела животых незначительно уменьшалась относительно контрольной группы.

У животных шестой группы, получавших естественный пептидный комплекс, количество лейкоцитов было выше показателей здоровых животных. Количество сегментоядерных нейтрофилов оставалось в пределах нормы. Возрастало число эритроцитов, без адекватного увеличения гемоглобина в них. Фагоцитарная активность и фагоцитарное число было ниже показателей всех групп. Индекс бласттрансформации оставался в пределах нормы. Уровень прироста МДА в ткани почки был выше показателей контрольных животных. Концентрация креатинина в сыворотке крови была самой высокой. Коэффициент массы почек был

выше показателей контрольной и интактных групп. Масса тела приближалась к значениям здоровых животных.

Таким образом, все изучаемые пептиды оказывали терапевтическое действие, но в разной степени. Пептид PEKDLRK стимулировал бласттрансформацию и фагоцитарную активность нейтрофилов. Пептид PEKDSRK усиливал не только продукцию эритроцитов, но и процентное содержание гемоглобина в них, а так же стимулировал бласттрансформацию лимфоцитов и фагоцитарную активность нейтрофильных лейкоцитов. Пептид PEKDDRL усиливал продукцию лимфоцитов. Можно сделать вывод о принципиальной возможности создания синтетических пептидов, которые являются аналогами по действию комплексных смесей природных пептидов, которые участвуют в регуляции физиолоических функций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бахарев В.Д. Клиническая нейрофизиология реуляторных пептидов. Свердловск: Из-во ун-та, 1989.- 136с.

2. Кайдашев И.П.,Катрушов А.В., Міщенко В.П. Вплив регуляторних ниркових поліпептидів на гемокоагуляцію і перекисне окислення ліпідів при фтористій інтоксикації // Физиологический журнал.- 1993.-N 2-3.- С.58-63.

3. Кайдашев И.П. Влияние почечных пептидов на активность лимфоцитов при экспериментальном нефрите / Физиологический журнал.- 1993.- N 5-6.- с. 52 55.

4. Кайдашев И.П. Влияние отдельных пептидных фракций, выделеных из коркового вещества почек, на пролиферативную активность лейкоцитов// Иммунология.- 1996.- N 3 С.30-33.

5. Кайдашев И.П. Установление согласованной последовательности пула пептидных фракций, выделенных из коркового вещества почек // Иммунолоия.- 1996.- N 2.- с. 24-28.

6. Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. // Успехи соврем. биол.- 1983. т.96, N3.- с. 339-352.

7. Патент України N 10180 А., Спосіб одержання біологічно-активної речовини, що має регуляторну та моделюючу дію. / Кайдашев І.П., Катрушов О.В.// Офіційний бюлетень "Промислова власність" N3, 1996 р. с. 3.1.76 - 3.1.77

8. Посібник з эксперимательно-клінічних досліджень в біології та медицині / Під ред. Кайдашева И.П. та інш.- Полтава, Українська мед. стомат. академія.- 1996.- 271 с.

SUMMARY

THE CORRECTING INFLUENCE OF THE SYNTHETIC PEPTIDE-ANALOGOUS TO THE NATURAL KIDNEYS PEPTIDE COMPLEX ON THE HOMEOSTASIS OF THE RATS BY EXPERIMENTAL AUTOIMMUNE NEPHRITIS

O.A.Geyko, O.A.Bashtovenco, I.N.Zvagolskaya, E.I.Kaydasheva, O.V.Kvak, L.V.Berkalo

The purpose of the present study was the three synthetic peptides and the comparison of the above mentioned with the natural kidneys peptide complex by experimental autoimmune nephritis.

All the peptides studied had the therapeutic effect, but its degree was guite different. PEKDLRK peptide stimulated the lympfocytes blasttranstormation and the neutrophiles phagocytosis activity.

PEKDSRK intensified not only the erythrocyte production but also the hemoglobin contents of the above mentioned, and also the peptide stimulated the lymphocyte blasttransformations and phagocytosis activity of the neutrophiles.

PEKDDRL implified the lymphocyte production. We can conclude that principally there is a possibility of creating a synthetic peptide, action of which is analogous to the action of the natural kidneys peptide complexes, participating in the physiologic functions regulation.

Ukrainian Ministry of the Health Public Service
Ukrainian Medical Stomatological Academy
Shevchenko Str., 23, 314021, Poltava

Матеріал надійшов до редакції 18.12.98.