

УДК 615.011:547.857.4

И.В. ТРУТАЕВ

*Национальный фармацевтический университет*

## ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ ОЛИГОПЕПТИДОВ НА АДАПТАЦИОННЫЕ СПОСОБНОСТИ И ВЫНОСЛИВОСТЬ ОРГАНИЗМА НА МОДЕЛИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА У КРЫС

*Проведено изучение стресс-корректирующего действия седатина, тимогена и неогена на модели иммобилизационного стресса у крыс. Учтен уровень интенсивности гипертрофии надпочечников и ulcerогенез. Установлено, что все изучаемые олигопептиды, особенно седатин, независимо от доз в пределах 1,0–100,0 мкг/кг в большей или меньшей степени по отдельным характеристикам проявляют выраженное стресс-корректирующее действие.*

**Ключевые слова:** иммобилизационный стресс; адаптационные способности; олигопептиды; седатин; тимоген; неоген

### ВСТУПЛЕНИЕ

В современном животноводстве созрела и всё больше развивается проблема хронической дезадаптации организма. Ни совершенствование технологий, ни использование самых современных лекарственных средств не решают даже части проблемы [7, 8, 10].

В результате ряда исследований и широкой практики показано, что современные технологии получения, выращивания и использования высокопродуктивных животных несут стрессогенный характер [11, 12]. Это усугубляется постоянно нарастающим противоречием между высокой продуктивностью и низкой сопротивляемостью организма, особенно высококлассных, элитных особей, пород, линий, кроссов [8, 12]. В итоге возникают, приобретая массовое распространение, стрессовые дезадаптации при разрешающем воздействии патогенной и условно-патогенной микрофлоры, гиподинамии, недостаточности кислорода, субклинических интоксикаций и других факторов, перерастающие в нозологически дифференцируемую патологию [10, 11, 15]. Отсюда с охватом более 50% поголовья возникают болезни системы органов размножения (метриты, маститы, субинволюция матки и др.) коров, свиноматок, желудочно-кишечные (диареи, колибактериоз, сальмонеллёз, дизентерия и др.) и респираторные (в основном инфекционные) болезни телят, поросят, цыплят [1, 3, 9, 13].

Приведённое выше и определяет актуальность расширения арсенала ветеринарных фармакологических средств, снижающих стрессовые дезадаптации и повышающих выносливость, сопротивляемость при изменяющихся условиях и неблагоприятных воздействиях внешней среды [12, 16].

В экспериментальную и клиническую фармакологию всё активнее внедряются природные олигопептиды животного происхождения, их синтетические аналоги и модификаты [3, 5, 14].

Литературные данные свидетельствуют, что олигопептиды малотоксичны, практически безвредны для леченого организма. Их используют в микродозах, соизмеримых с гомеопатическими [1, 3, 8, 10, 16].

Наиболее важной из неспецифических звеньев возникновения и течения нозологически дифференцируемой патологии является стрессовая дезадаптация [2, 7, 11, 15]. Ранее было установлено, что и пластика, и энергетика не оказывают на этот процесс большого влияния, а основным является нарушение регуляторных механизмов [1, 10, 12, 13]. Именно на этом уровне олигопептиды практически управляют всем организмом. С учётом этих предпосылок и других данных о биологической активности природных и синтетических олигопептидов было проведено изучение стресс-корректирующего действия седатина, тимогена и неогена (седатин — аналог конечного пентапептида гормона роста, тимоген — дипептид тимуса, а неоген — трипептид, модифицированный аналог тимо-

© И.В. Трутаев, 2011

гена) на модели иммобилизационного стресса белых крыс.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве модели использовали иммобилизационный стресс у крыс [2, 5, 11, 15]. Опыты проведены на крысах линии Wistar со средней массой тела  $180,0 \pm 20,0$  г. Иммобилизацию проводили классическим методом [7, 13, 14, 16].

Животных до начала экстремального воздействия за 14 часов подвергали депривации без лишения доступа к воде. Испытуемые препараты вводили за 1–24 часа (инъекционно) или в течение пяти дней внутрь индивидуально. В этом случае введение препарата прекращали за 24 часа до иммобилизации. Последнюю осуществляли в положении животных лёжа на спине на специальных дощечках путём шдающей фиксации животных за четыре конечности. Продолжительность иммобилизации — 18 часов. Контрольным и интактным животным инъекционно или внутрь вводили стерильный физиологический раствор. Интактных животных содержали рядом в клетках в свободном состоянии.

Классически при иммобилизационном стрессе учитывали степень гипертрофии надпочечников и ulcerogenesis [2, 5, 13, 14, 16]. По этим показателям в бальной системе оценивали глу-

бину течения фазы шока аларм-реакции острого стресса и, соответственно, эффективность изучавшихся фармакологических препаратов.

Для оценки стрессогенного ulcerogenesis желудка промывали, растягивали, просматривали и подсчитывали в нём количество язв, измеряли их диаметр. Также подсчитывали количество точечных и петехиальных кровоизлияний [2, 5, 7, 11].

Результаты экспериментов подвергали методам математической параметрической и непараметрической статистики. Статистически значимыми считали данные при уровне достоверности  $P \leq 0,05$  [4, 6].

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении действия синтетических олигопептидов у крыс учитывали их влияние на массу надпочечников у крыс при иммобилизационном стрессе [2, 5, 7, 11].

В табл. 1 приведены данные по влиянию седатина в широком диапазоне доз (от 1,0 до 1000,0 мкг/кг) на изменения массы надпочечников у самцов и самок белых крыс при иммобилизации. На интактных и контрольных животных показано, что все они практически одинаково реагировали на стресс-воздействие, вызываемое путём иммобилизации. Масса надпочечников возрастала на 47,0 %.

Таблица 1

#### ВЛИЯНИЕ СЕДАТИНА НА МАССУ НАДПОЧЕЧНИКОВ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ

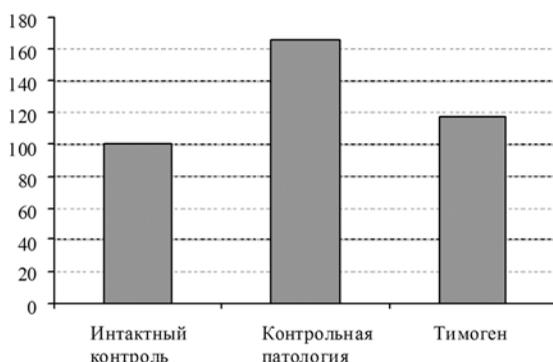
Характеристики массы, г/100 г массы тела	Пол животных		
	самцы	самки	в среднем
Интактный контроль	0,17±0,01	0,32±0,01	0,25±0,01*
Контрольная патология	0,25±0,02*	0,47±0,02*	0,36±0,01*
% к интактному контролю	147,1	146,9	146,9
Седатин, 1,0 мкг/кг			
Масса	0,23±0,01	0,40±0,02	31,5±0,01
% к интактному контролю	135,3	125,0	128,6
% к контрольной патологии	92,0	85,1	87,5
Седатин, 10,0 мкг/кг			
Масса	0,22±0,01	0,38±0,02*	0,30±0,01
% к интактному контролю	129,4	118,7	122,4
% к контрольной патологии	88,0	80,8	83,3
Седатин, 100,0 мкг/кг			
Масса	0,17±0,02*	0,38±0,01*	0,27±0,01*
% к интактному контролю	0,0	118,7	110,2
% к контрольной патологии	68,0	80,8	75,0
Седатин, 1000,0 мкг/кг			
Масса	0,21±0,01	0,38±0,02*	0,29±0,01*
% к интактному контролю	123,5	118,7	118,4
% к контрольной патологии	84,0	890,8	80,5

Примечание: \* — отклонение достоверно по отношению к интактному контролю,  $P \leq 0,05$ .

В дозе 100,0 мкг/кг седатин действовал на изменение массы надпочечников по-разному. Если у самцов по отношению к интакту препарат полностью предупреждал гипертрофию, то у самок такого влияния не наблюдалось. При действии седатина в дозе 10,0 мкг/кг, надпочечники увеличивались в массе в процессе иммобилизации на 18,7 %. По отношению же к контрольным крысам самцы более чувствительны к препарату, чем самки на 12,8 %.

Анализ средних данных показывает, что оптимальной стресс-протекторной дозой седатина при остром иммобилизационном стрессе является 100,0 мкг/кг массы тела однократно парентерально.

Влияние тимогена на изменения массы надпочечников при иммобилизационном стрессе отражено на рис. 1.



**Рис. 1.** Влияние тимогена в дозе 10,0 мкг/кг на массу надпочечников при иммобилизационном стрессе, в % к интактному контролю.

Экспериментальные данные показали, что тимоген проявляет стресс-протекторное действие. Применение тимогена способствовало уменьшению гипертрофии надпочечников на 42,8 % по сравнению с контролем.

Результаты влияния неогена на реакцию надпочечников при иммобилизационном стрессе приведены в табл. 2.

Опыты показали, что неоген способствовал снижению гипертрофии надпочечников. Оптимальный эффект наблюдали при применении препарата в дозе 10,0 мкг/кг. Увеличение массы надпочечников по сравнению с интактом составляло всего 10,0 %, а с контролем — уменьшение на 26,7%.

Таким образом, экспериментально доказано, что изучаемые синтетические ди-, три- и пентапептид проявляют выраженное стресс-протекторное действие и в зависимости от препарата и дозы на 13,0–43,0% способствуют предупреждению гипертрофии надпочечников на фоне иммобилизационного стресса при 47,0 % их гипертрофии у контрольных животных. Наибольшее защитное действие в предупреждении гипертрофии надпочечников при иммобилизационном стрессе проявляет тимоген в дозе 10,0 мкг/кг.

Оценка стресс-корректорной активности изучаемых синтетических олигопептидов по уровню их влияния на язвообразование в желудках у белых крыс показала, что язвы желудка и кровоизлияния были случайными и единичными.

Таблица 2

#### МАССА НАДПОЧЕЧНИКОВ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ НЕОГЕНА

Масса надпочечников, г/100 г массы тела	Показатели у самцов
Интактный контроль	0,20±0,01
Контрольная патология	0,30±0,02
% к интактному контролю	153,7**
Неоген, 1,0 мкг/кг	
Масса	0,27±0,01*
% к интактному контролю	135,0
% к контрольной патологии	90,0
Неоген, 10,0 мкг/кг	
Масса	0,22±0,01
% к интактному контролю	110,0
% к контрольной патологии	73,3
Неоген, 100,0 мкг/кг	
Масса	0,25±0,01*
% к интактному контролю	125,0
% к контрольной патологии	83,3**

Примечание: \* — отклонение достоверно по отношению к интактному контролю,  $P \leq 0,05$ ;

\*\* — отклонение достоверно по отношению к контрольной патологии,  $P \leq 0,05$

Иммобилизация вызывала у них интенсивное язвообразование, достигающее 80,0 % (рис. 2). Среднее количество язв в желудке колебалось в больших пределах и составляло от 10 до 20. Как правило, поверхностных язв было больше, чем глубоких. Их длина достигала в отдельных случаях 15 мм, а диаметр — 5 мм. Как правило, язвообразование сопровождалось кровоизлияниями. В основном они были поверхностными. Соотношение поверхностных и глубоких язв у контрольных крыс практически не изменялось и составляло 1,59, а у опытных — 1,57.

Седатин в дозе 1,0 мкг/кг способствовал существенному снижению ulcerогенеза (рис. 2). Например, количество поражённых животных по сравнению с контролем уменьшалось в 1,8 раза. Уменьшились длина и диаметр язв; в 1,5 раза — глубоких поражений. Под его влиянием уменьшались размеры язв. Средняя длина язв уменьшалась на 38,3 %, а их диаметр — также на 38,3 %. Параллельно с уменьшением ulcerогенеза под влиянием седатина уменьшалось количество кровоизлияний и смягчалось их качество. Так, среднее количество кровоизлияний на одно животное уменьшилось в 2,1 раза. Если соотношение точечных кровоизлияний к петехиальным в контроле составило 1,7, то в опыте — 2,8.

Применение седатина в дозе 10,0 мкг/кг способствовало резкому снижению язвообразования у стрессированных животных. Две язвы были обнаружены только у одной крысы. Они были небольшого размера и поверхностными. У этой же и ещё одной крысы было обнаружено по одному точечному кровоизлиянию. Седатин в дозах 100,0 и 1000,0 мкг/кг способствовал полному предотвращению ulcerогенеза, вызываемого иммобилизационным стрессом.

Опыты показали, что ди- и трипептид в дозах 10,0 и 100,0 мкг/кг проявляют антиulcerогенное действие при иммобилизационном стрессе (рис. 2). Так, неоген в дозе 10,0 мкг/кг в 2 раза уменьшал поражаемость крыс язвами, а тимоген в дозе 100,0 мкг/кг — в 1,8 раза. Препараты существенно, в 2,4–2,8 раза способствовали уменьшению количества язв, в 3,6–4,9 раза — глубины поражения, в 1,5–2,0 раза — обширности. Практически не возникали кровоизлияния.

Таким образом, оценка по тесту стрессогенного ulcerогенеза показала, что изучаемые пептиды проявляют протективный эффект. Однако его степень зависит от препарата, его дозы, различных сторон поражения (рис. 2). Наиболее высокую антиulcerогенную активность проявляет седатин. Уже в дозе 1,0 мкг/кг его эффективность сравнима с таковой неогена и тимогена в дозах 10,0 и 100,0 мкг/кг.

По основным показателям ulcerогенеза как сами препараты, так и их разные дозы проявляли различающуюся активность. Например, седатин в дозе 10,0 мкг/кг способствовал уменьшению степени поражения на 87,5 %, а обширности язв (длина окружности) — на 46,8 % (рис. 2). При этом все язвы были только поверхностными. Неоген в той же дозе проявлял значительно более низкую активность. Степень поражения уменьшалась лишь на 50,0 %, глубина язв — на 79,4 %. Применение тимогена в дозе 100,0 мкг/кг было менее эффективно, чем седатина и неогена. Хотя иммобилизация крыс на его фоне не сопровождалась кровоизлияниями.

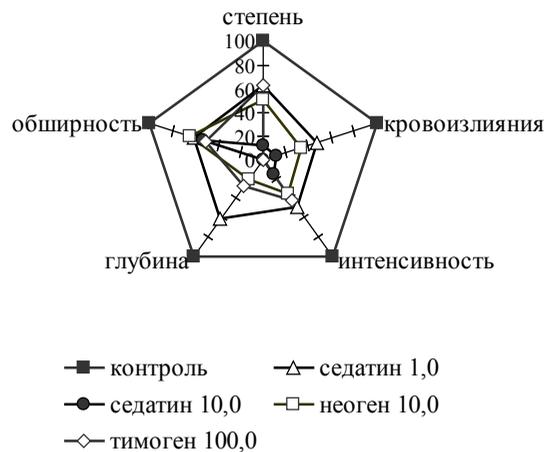


Рис. 2. Стрессогенный ulcerогенез на фоне применения синтетических олигопептидов.

Можно отметить, что обширность язв при применении всех трёх пептидов независимо от доз была на уровне 50,0 % по сравнению с контролем и колебалась в пределах 10,0 %.

Таким образом, экспериментально доказано, что при иммобилизационном стрессе изучаемые олигопептиды в 2 раза и более снижали ulcerогенез в желудке, а седатин в дозе 100,0 мкг/кг полностью предотвращал стрессогенный ulcerогенез.

## ВЫВОДЫ

1. На модели иммобилизационного стресса белых крыс установлено, что тимоген, неоген и седатин обладают стресс-корректорным действием, которое выражается в тенденции проявления защитной активности у тимогена и неогена и выраженным стресс-корректорным действием у седатина.
2. Установлено, что олигопептиды в зависимости от препарата и дозы на 13,0–43,0 % способствуют предупреждению гипертрофии надпочечников на фоне иммобилизационного стресса при 47,0 % их гипертрофии

- у контрольных животных. Наибольшее защитное действие проявляет тимоген в дозе 10,0 мкг/кг.
3. Результаты исследований показали, что при иммобилизационном стрессе ульцерогенез в желудке у группы животных контрольной патологии достигал 90,0 % степени поражения, интенсивность поражения — 15 язв на животное, существенно обширность и их глубина. Изучаемые олигопептиды в 2 раза и более снижали это явление, а седатин в дозе 100,0 мкг/кг полностью предотвращал стрессогенный ульцерогенез.
  4. Олигопептиды (тимоген, неоген и седатин) являются перспективными стресс-корректорными средствами, увеличивающими адаптационные способности и выносливость организма при состояниях стрессовой дезадаптации.
  7. Малинин В.В. Механизмы действия синтетических пептидных тимомиметиков: автореф. дис. ... докт. мед. наук. — С.Пб., 2001. — 35 с.
  8. Мещеряков Н.П. Сравнительная экспериментальная фармакология и клиническое применение адаптогенов в ветеринарии: дис. ... докт. ветеринар. наук. — Воронеж, 2004. — 458 с.
  9. Одинак М.М. Факторы роста нервной ткани в центральной нервной системе / М.М. Одинак, Н.В. Цыган. — С.Пб.: Наука, 2005. — 312 с.
  10. Трутаев И.В. Липидный обмен у животных и влияние на него синтетического олигопептида седатина / И.В. Трутаев, В.С. Бузлама // Сб. тр.: Современные проблемы ветеринарной терапии и диагностики болезней животных [матер. юбилейной Междунар. научно-практ. конф. ветеринарных терапевтов и диагностов, посвящ. 90-летию со дня рожд. Кабыша А.А.]. — Троицк, 17–19 мая 2007. — С. 110-111.

#### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ ИНФОРМАЦИИ

1. Аюшиев О.Д. Участие пептидов кровяных пластинок в реакциях иммуногенеза и тромбоцитопоза / О.Д. Аюшиев, Б.И. Кузник, Т.Р.Юхно // Intern. J. on Immunorehabilitation: [abstr. of the VI Intern. Congr. of Immunorehabilitation] Эйлат. — May, 2000. — Vol. 2, №2. — P. 48.
2. Бузлама В.С. Экспресс-биотест. Биологический мониторинг экологических систем: [метод. рекоменд.] / В.С. Бузлама, Ю.Т. Титов, Г.А. Востроилова и др. — Воронеж, 1997. — 11 с.
3. Громова О.А. Структурный анализ и ферментативная антиокислительная активность нейрометаболических препаратов природного происхождения: церебролизина, церебролизата, билобила и актовегина / О.А. Громова, О.М. Панасенко // Микроэлементы в медицине. — 2001. — Т.2, №1. — С. 23-27.
4. Иванов Ю.И. Статистическая обработка результатов медико-биологических исследований на микрокалькуляторах по программам / Ю.И. Иванов, Р.Н. Погорелюк. — М.: Медицина, 1990. — 224 с.
5. Коркушко О.В. Пептидные препараты тимуса и эпифиза в профилактике ускоренного старения / О.В. Коркушко, В.Х. Хавинсон, Г.М. Бутенко и др. // С.Пб.: Наука, 2002. — 202 с.
6. Лапач С.М. Статистичні методи в медико-біологічних дослідженнях із застосуванням Excel / С.М. Лапач, А.В. Чубенко, П.М. Бабич. — К.: Моріон, 2001. — 408 с.
11. Фатеева Л.В. Механизмы стресс-протекторного действия коротких пептидов у крыс разного возраста: дис. ... канд. мед. наук. — С.Пб., 2002. — 144 с.
12. Шахов А.Г. Концепция эколого-адаптационной теории возникновения, развития массовой патологии и защиты здоровья животных в сельскохозяйственном производстве / [А.Г. Шахов, В.С. Бузлама, В.Т. Самохин и др.]. — М.: Росинформагротех, 2000. — 41 с.
13. Birkmayer W. Increased life expectancy resulting from L. Deprenyl addition to Madopar treatment in Parkinson's disease: a long-term study / W. Birkmayer, J. Knoll, P. Rieder // J. Neurol. Transmiss. — 1985. — Vol. 64. — P. 113-127.
14. Combs C.K. Identification of Microglial Signal Transduction Pathways Mediating a Neurotoxic Response to Amyloidogenic Fragments of beta-amiloid and Prior Proteins / [C.K. Combs, D.E. Jhonson, S.B. Cannady et al.] // J. of Neurosci. — 1999. — Vol. 19, №3. — P. 928-939.
15. Lee R. Prostaglandin E2 Stimulates Amyloid Precursor Protein Gene Expression: [Inhibition by Immunosuppressants] / R. Lee, S. Knapp, R. Wurtman // J. Neurosci. — 1999. — Vol. 19, №3. — P. 940-947.
16. Ooka H. Effects of chronic hyperthyroidism on lifespan of the rat / H. Ooka, T. Shinkai // Mech. Aging Dev. — 1986. — Vol. 33. — P. 275-282.

**УДК 615.451.16::581.45:54.02:54-116**

**I.B. Трутаєв**

**ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ СИНТЕТИЧНИХ ОЛІГОПЕПТИДІВ НА АДАПТАЦІЙНУ ЗДАТНІСТЬ ТА ВИТРИВАЛІСТЬ ОРГАНІЗМУ НА МОДЕЛІ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ У ЩУРІВ**

Проведено вивчення стрес-коректорної дії седативну, тимогену та неогену на моделі іммобілізаційного стресу у щурів. Враховано рівень інтенсивності гіпертрофії наднирників і ульцерогенез. Встановлено, що всі досліджувані олігопептиди, особливо седатин, незалежно від дози у межах 1,0–100,0 мкг/кг у більшому або меншому ступені за окремими характеристиками виявляють виразну стрес-коректорну дію.

**Ключові слова:** іммобілізаційний стрес; адаптаційна здатність; олігопептиди; седатин; тимоген; неоген

**UDC 615.451.16::581.45:54.02:54-116**

**I.V. Trutaev**

**THE EXPERIMENTAL INVESTIGATION OF THE INFLUENCE OF SYNTETIC OLYGOPEPTIDE ON ADAPTATION AND TOLERANCE OF ORGANISM ON THE MODEL OF IMOBILIZATION STRESS OF RATS**

One of the most non-specific parts of the flow and nosological differentiated pathology is stressful maladjustment. Using these assumptions and other data of the biological activity of natural and synthetic oligopeptides the stress-correction action of sedatin, thymogen and neogene was studied on the model of immobilization stress of white rats.

The adrenal gland hypertrophy and ulcerogenesis were studied under the influence of immobilization stress. By these indicators during the phase of shock depth alarm-reaction of acute stress was evaluated and, therefore, the effectiveness of pharmacological agents was studied.

**Key words:** immobilizative stress; adaptive property; oligopeptides; sedatin; thymogen; neogene

*Адреса для листування:*

61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.

Кафедра фізіології

Тел. (057) 715-86-69

Надійшла до редакції:

28.04.2011