

Результаты экспериментального исследования свойств пептида IPH — AVN как средства для нормализации функций сосудистой системы

ДАТА ПУБЛИКАЦИИ: 29.11.2019

В настоящее время большой интерес представляет изучение свойств пептидов [Dudgeon W. D. и др., 2016]. Пептиды имеют ту же структуру, что и белки, но размер этих молекул меньше. Также важно отметить, что короткие пептиды, являясь естественным продуктом обмена веществ, присутствующим в организме, не могут быть идентифицированы в крови или моче. В этом случае изучение свойств отдельных структур может быть обеспечено только на культурах клеток.

Пептид IPH — AVN содержит низкомолекулярный пептид, обладает ангиопротекторными и вазопротекторными свойствами и оказывает нормализующее действие на сосудистую систему.

Экспериментальные исследования показали, что пептид IPH — AVN регулирует обменные процессы в сосудах, снижает проницаемость сосудистой стенки, увеличивает резервные возможности организма, что позволяет прогнозировать эффективность пептида IPH — AVN для нормализации функций сосудистой системы человека при нарушениях различного происхождения.

Таким образом, целью настоящего исследования было изучение ангиопротекторных и других свойств пептидов.

Характеристики эксперимента

Наиболее часто используемым типом лабораторных животных для изучения свойств пептидов, рекомендованных Министерством здравоохранения Российской Федерации в Руководстве по доклиническим исследованиям медицины [Мионов А. Н., Бунатян Н. Д. и др., 2012], являются крысы, поскольку процессы фармакокинетики аналогичны процессам у человека.

Для изучения свойств пептида IPH — AVN мы создали модель травмы шейки матки с поражением сосудов. Чтобы вызвать мышечную травму, мы ввели лекарство Нотексин в четырехглавую мышцу левой стороны крыс, а также

применили солевые растворы (хлорид железа) для создания дополнительной области тромбоза. Нотексин представляет собой пептид из 119 аминокислот змеиного яда *Notechis scutatus* с молекулярной массой 13574 Да. Растворим в воде и солевых растворах. Обладает сильной миотоксической активностью.

(Первичная структура:

H2NNLVQFSYLIQCANHGKRPTWHYMDYGICYCGAGGSGTPVDELDRCCKI
HDDCYDEAGKKGCFPKMSAYDYCYGGENGPYCRNIKKKCLRFVCDVCDVEA
AFCFAKAPYNNANWNIDTKKRCQ-COOH).

Мы исследовали 50 крыс в возрасте $14,3 \pm 1,1$ месяца и массой $409,3 \pm 8,3$ г, которым были созданы условия для мышечной травмы с поражением сосудистого канала.

Дневной свет был 12 часов. В качестве корма для животных использовались полноценные корма для грызунов с дополнительным питанием в виде фруктов и овощей. Вода использовалась животными независимо от поилок. Пища и жидкость употреблялись животными *ad libitum*. Текущая очистка ячеек проводилась ежедневно. Еженедельно проводилась генеральная уборка с дезинфекцией камер. Все процедуры содержания животных, манипуляции и тестирование полученных данных проводились в соответствии со стандартами ISO 10993-1-2003 и государственным стандартом RISO 10993.2-2006.

Крысы были разделены на 2 группы – контрольную ($n=20$) и основную ($n=20$). Крысы в основной группе перорально принимали через дозатор пипеток, позволяющий контролировать объем и факт потребления жидкости, лекарственное средство, состоящее из воды для инъекций в дозировке 1 мл, в котором содержится лиофилизированный порошок пептидов IPH - AVN в концентрации 0,58 мкг (мкг) на массу тела крысы в сутки (минимальная дозировка, в которой имеются признаки улучшения показателей долгосрочного опыта применения пептидов), в течение 14 дней. Лекарство вводили *per os* непосредственно в полость рта под наблюдением и отслеживанием его приема.

Через 14 дней крыс убивали, затем удаляли четырехглавую мышцу левой конечности, фиксированную погружением в 4% парафор мальдегида в фосфатный буфер (PBS pH = 7,3) в течение 24 часов при температуре 4°C . Изготавливали срезы толщиной 20 мкм с использованием криотома модели Leica CM 1510S (Германия). Затем срезы устанавливали на предметное стекло и окрашивали гематоксилином и эозином.

Для исследования мы использовали микроскоп Olympus IX81. Микроскоп был оснащен цифровой камерой Olympus DP72 (Япония), подключенной к персональному компьютеру. Фото- и видеозапись технологических процессов (экспериментальных процессов) с животными не проводилась в соответствии с принципами биомедицинской этики и из-за отсутствия разрешения этического комитета.

Обработка статистических данных

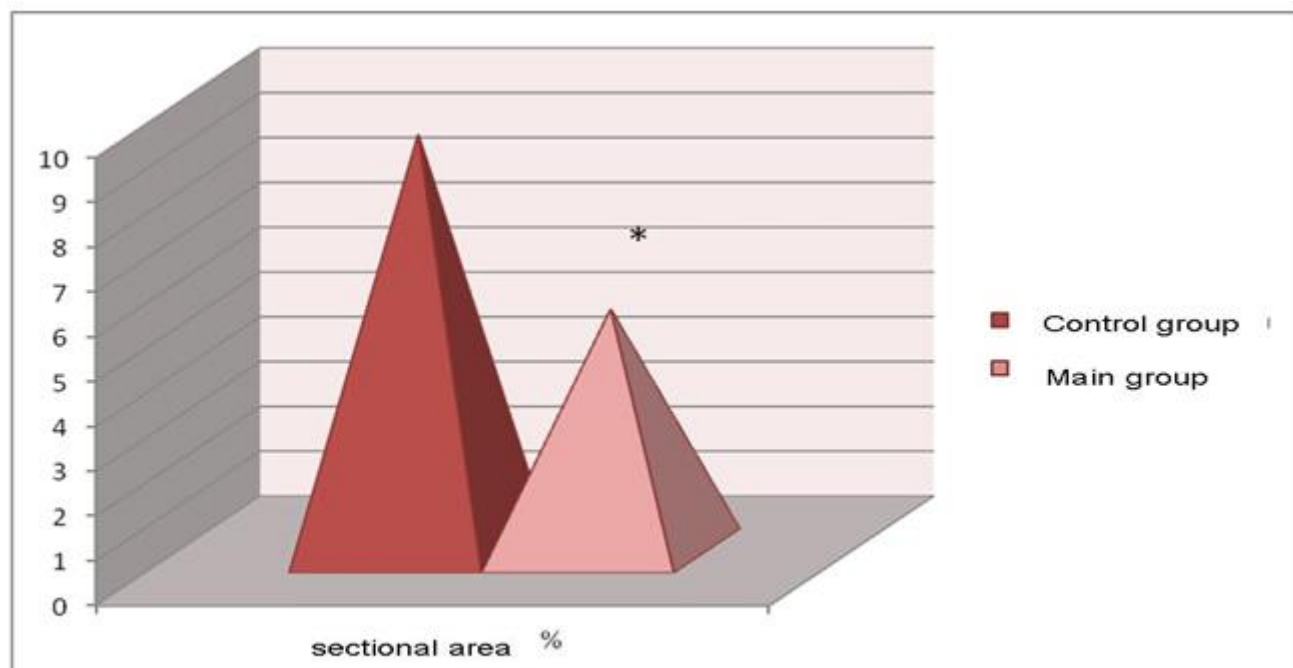
Для оценки достоверности различий в результатах, полученных в группах до применения препарата, по сравнению с группами после применения, был применен критерий Даннета. Если данные распределялись нормально, различия в средних значениях определялись с помощью теста Стьюдента (t).

Результат исследования

В срезах четырехглавой мышцы крыс контрольной группы были обнаружены участки ишемии в размере $75,3 \pm 1,2$ процента распределения всех квадратов и участки тромбоза в размере $66,7 \pm 1,2$ процента распределения всех квадратов. В то время как у крыс основной группы площадь ишемии была выявлена в 2,3 раза меньше, чем у крыс контрольной группы, что составило $33,2 \pm 0,9\%$ от общей площади и значительно меньше, чем в 1,8 раза, площади тромбоза в объеме $36,2 \pm 1,2\%$ от общей площади, р Этот факт доказывает, что использование пептида IPH — AVN способствует восстановлению сосудистого русла после травмы, уменьшая тромбоз на основе экспериментальных модельных данных.

При исследовании капиллярного канала мы обнаружили, что в контрольной группе у крыс были участки некротических эндотелиальных клеток, скопление амилоидных бляшек. Все эти морфологические параметры указывают на резкое снижение репаративных возможностей клеток. Очаги некроза эндотелиоцитов и накопления амилоидных бляшек у крыс основной группы были обнаружены в 1,6 раза реже. Эти данные подтверждают, что применение пептида IPH — AVN способствует ангиогенезу в случае повреждения сосудистого канала.

Для оценки нормализующего эффекта пептида IPH — AVN мы изучили площадь поперечного сечения артериального русла (рис. 1) Для оценки нормализующего эффекта пептида IPH-AVN мы изучили площадь поперечного сечения артериального русла (рис.1).



* $p < 0.05$ compared to the control group

Таким образом, мы обнаружили, что у крыс, получавших пептид IPH — AVN, площадь поперечного сечения артериального канала в 1,8 раза меньше, чем у крыс контрольной группы. Учитывая резкое снижение репаративных возможностей эпителиальных клеток, можно сделать вывод, что такое уменьшение площади артериального русла свидетельствует о меньшей потребности в компенсаторных реакциях, которые проявляются увеличением площади поперечного сечения кровеносных сосудов в случае повреждения и подтверждают высокую репаративную активность пептида IPH-AVN в отношении способности восстанавливать повреждения сосудистой стенки.

Соответственно, пептид IPH — AVN оказывает ангиопротекторное действие и, согласно экспериментальным данным, повышает адаптационные возможности эндотелиальных клеток у крыс с повреждением сосудистых каналов.

Заключение

Таким образом, применение пептида IPH — AVN способствует восстановлению сосудистого русла после травмы, уменьшая тромбоз на основе экспериментальных модельных данных.

Использование пептида IPH — AVN способствует ангиогенезу в случае повреждения сосудистого русла. Пептид IPH — AVN обладает высокой репаративной активностью по отношению к способности восстанавливать повреждения сосудистой стенки. Пептид IPH — AVN оказывает

ангиопротекторное действие и, согласно экспериментальным данным, повышает адаптационные возможности эндотелиальных клеток у крыс с повреждением сосудистого русла.

Литература

1. Васильев И. А., Ступак В. В., Черных В. А., Зайдман М. А., Половников Е. В., Черных Е. Р., Шевела Е. Я., Дергилев А. П. Экспериментальные модели сосудистого поражения головного мозга (обзор литературы) // Достижения современной науки. – 2015. – № 1-3. – С. 366-369
2. Линькова Н. С., Дробанцева А. О., Орлова О. А., Кузнецова Е. П., Полякова О. В., Кветной И. М., Хвинсон Х. Х. Пептидная регуляция функций фибробластов кожи при старении *in vitro* // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2016. — №1. С. 40-44.
3. Хавинсон В. Х. Пептидная регуляция старения. : Наука, 2009. — 50 с.
4. Орехов А. Н., Андреева Е. Р., Бобрышев Ю. В. Клеточные механизмы атеросклероза человека: роль межклеточных связей в функциях субэндотелиальных клеток // Клетка ткани. — 2016. — V. 48. — N 1. — С. 25-34.