

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ АНАЛОГОВ ТИМОГЕНА ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ

© Чуланова А.А.¹, Смахтина А.М.¹, Маль Г.С.¹, Бобынцев И.И.¹, Смахтин М.Ю.¹, Мишина Е.С.¹,
Копейкин П.М.², Богомолова Е.Г.²

¹ Курский государственный медицинский университет (КГМУ)

Россия, 305041, Курская область, г. Курск, ул. К. Маркса, д. 3

² ООО «АйКьюКемикал»

Россия, 196158, г. Санкт-Петербург, Московское шоссе, д. 50, литер А, помещение 2-Н, офис 5

Цель – изучить эффекты тимогена и его структурных аналогов на функциональную активность нейтрофилов крови при токсическом поражении печени тетрахлорметаном и солянокислым гидразином.

Материалы и методы. Тетрахлорметановую гепатопатию, сопровождающуюся увеличением иммунной реактивности, моделировали 5-кратным внутрижелудочным введением четыреххлористого углерода. Поражение печени гидразином, ассоциированное с иммуносупрессией, вызывали однократным внутрибрюшинным введением гепатотропного яда. Крысам внутрибрюшинно на протяжении 5 дней вводили тимоген (1 мкг/кг) и его структурные аналоги (1,2 мкг/кг). При тетрахлорметановой гепатопатии пептиды вводили одновременно с гепатотропным ядом, при гидразиновой – через 24 часа после интоксикации. Оценивали фагоцитарную и кислородзависимую активности нейтрофилов.

Результаты. Установлено, что при поражении печени тетрахлорметаном тимоген не оказывает корректирующего действия на функциональную активность нейтрофилов. Структурные аналоги снижали активность нейтрофилов в условиях гиперактивации иммунной системы. При гидразиновой гепатопатии все пептиды проявляли иммуностимулирующую активность, при большей ее выраженности у структурных аналогов тимогена.

Заключение. Модифицированные D-аланином аналоги тимогена оказывают иммуномодулирующее действие при токсических гепатопатиях с разным уровнем иммунной реактивности.

Ключевые слова: тимоген; D-аланин; токсическая гепатопатия; тетрахлорметан; гидразин; функция нейтрофилов.

Чуланова Анна Александровна – ст. преподаватель кафедры биологической химии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0003-0990-0390. E-mail: chulanofs@mail.ru

Смахтина Ангелина Михайловна – очный аспирант кафедры фармакологии, мл. науч. с. НИИ общей патологии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0001-8458-3925. E-mail: smaxtina2012@yandex.ru (автор, ответственный за переписку).

Маль Галина Сергеевна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой фармакологии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0003-1712-5005. E-mail: mgalina.2013@mail.ru

Бобынцев Игорь Иванович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой патофизиологии, директор НИИ общей патологии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0001-7745-2599. E-mail: bobig@mail.ru

Смахтин Михаил Юрьевич – д-р биол. наук, профессор, профессор кафедры биологической химии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0001-7372-1819. E-mail: m.yu.smakhtin@mail.ru

Мишина Екатерина Сергеевна – канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0003-3835-0594. E-mail: mishinaes@kursksmu.net

Копейкин Павел Максимович – канд. биол. наук, ген. директор, ООО «АйКьюКемикал», г. Санкт-Петербург. ORCID iD: 0000-0002-6076-8842. E-mail: pmkopeikin@gmail.com

Богомолова Елена Григорьевна – канд. биол. наук, рук. лаборатории, ООО «АйКьюКемикал», г. Санкт-Петербург. ORCID iD: 0000-0003-4047-4086. E-mail: elenabogomolova000@gmail.com

Заболелания печени представляют важную медико-социальную проблему [1], поэтому разработка новых гепатопротекторных лекарственных средств остается актуальной. Пептидные лекарственные средства используются в клинической практике, однако их эффекты могут быть снижены ввиду короткого периода полужизни, опосредованного высокой активностью протеолитических ферментов. Интерес к олигопептидам, содержащим D-аминокислоты, в последнее время значительно вырос, так как их введение в структуру молекулы пептида может не только увеличивать его биологическую устойчивость [2-4], но и менять направленность действия [2].

Препарат «Тимоген» (ЗАО МБНПК «Цито-мед», Россия) является дипептидом, проявляющим иммуномодулирующие свойства [5]. Ранее нами было установлено, что присоединение аминокислоты D-аланин (D-Ala) к N- или C-концу пептида приводило к увеличению его репаративной и антиоксидантной активности при токсических поражениях печени, вызванных тетрахлорметаном (CCl₄) и солянокислым гидразином (N₂H₄·2HCl) [6, 7]. Известно, что данные экспериментальные модели поражения печени сопровождаются разным уровнем иммунной реактивности: пятикратное введение тетрахлорметана приводит к увеличению им-

мунной функции, однократное введение гидразина – к ее снижению [8]. Представляется важным оценить иммуотропное действие аналогов тимогена, модифицированных D-Ala с N- или C-конца пептидной молекулы, при токсических гепатопатиях с разным иммунным статусом.

Целью данной работы являлось изучение эффектов тимогена и его структурных аналогов на функциональную активность нейтрофилов крови при токсическом поражении печени тетрахлорметаном и гидразином.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на 80 крысах-самцах Вистар массой 180–220 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария. Выполнены 2 серии экспериментов. Токсическую гепатопатию в 1-й серии моделировали 5-кратным внутрижелудочным введением 50% раствора четыреххлористого углерода, разведенного в растительном масле, в объеме 3 мл/кг. Поражение печени во 2-й серии вызывали однократным внутрибрюшинным введением солянокислого гидразина, растворенного в физиологическом растворе, в дозе 50 мг/кг в объеме 0,1 мл. Данные токсические агенты рекомендованы для использования в эксперименте при исследовании потенциальных гепатопротекторов [9].

Использовали тимоген в форме раствора для парентерального введения и его структурные аналоги: $\text{NH}_2\text{-D-Ala-L-Glu-L-Trp-COOH}$ (D-Ala-тимоген) и $\text{NH}_2\text{-L-Glu-L-Trp-D-Ala-COOH}$ (тимоген-D-Ala). Модифицированные аналоги были синтезированы в лаборатории синтеза пептидов ООО «АйКьюКемикал» (Санкт-Петербург, Россия). Пептиды использовали в эквимоллярных концентрациях: доза тимогена составила 1 мкг/кг массы тела, доза структурных аналогов – 1,2 мкг/кг. Все пептиды разводили до нужной концентрации физиологическим раствором и вводили внутрибрюшинно (0,1 мл) на протяжении 5 дней при двух моделях токсической гепатопатии. При тетрахлорметановой гепатопатии пептиды вводили одновременно с поступлением гепатотропного яда, при поражении печени гидразином – через 24 часа после интоксикации. Животным из интактной и контрольной групп внутрибрюшинно вводили физиологический раствор в объеме 0,1 мл.

Для выведения животных из эксперимента использовали хлоралгидратный наркоз (300 мг/кг). Забой крыс осуществляли путем обескровливания через 12 часов после последнего введения пептидов. Кровь забирали из правого желудочка.

Состояние иммунной реактивности оценивали по фагоцитарной и бактерицидной активности нейтрофилов. Для выделения нейтрофилов использовали фиколл-верографикс-градиент. Активность фагоцитоза исследовали после инкубации нейтрофилов с латексом в термостате (37°C). Мазки окрашивали по Романовскому, определяли фагоцитарный индекс (ФИ) на световом микроскопе исследовательского класса Nikon ECLIPSE NI (Япония). В каждой мазке считывали 100 нейтрофилов [10].

Активность кислородзависимых механизмов защиты определяли микроскопически на том же микроскопе по спонтанному (НСТ-сп.) и индуцированному зимозаном (НСТ-инд.) тесту восстановления нитросинего тетразолия. Оценивали количество диформаза-положительных фагоцитов (в %) на 100 клеток [11]. Функциональный резерв нейтрофилов (ФРН) рассчитывали как разность между показателями индуцированного и спонтанного НСТ-теста.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программного обеспечения STATISTICA 13.3 (TIBCO Software Inc., США). Данные представлены в виде медианы (Me) и межквартильного размаха (Q1; Q3). Для сравнения интактной и контрольной групп использовали непараметрический критерий Манна-Уитни, для сравнения контрольной с опытными группами – критерий Крускала-Уоллиса. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что пятикратное введение тетрахлорметана приводило к увеличению фагоцитарной (ФИ) и кислородзависимой (НСТ-сп., НСТ-инд.) активностей нейтрофилов (табл. 1). В условиях гиперактивации иммунной функции введение тимогена не приводило к коррекции изучаемых показателей. При этом использование модифицированных аналогов снижало бактерицидную активность нейтрофилов. Введение D-Ala-тимоген уменьшало НСТ-сп. и НСТ-инд. в 1,5 раза ($p < 0,05$), тимоген-D-Ala – в 1,5 и 1,6 раза соответственно ($p < 0,05$). Достоверных изменений по ФИ и ФРН при использовании тимогена и его структурных аналогов не было установлено.

Отравление солянокислым гидразином вызывало иммуносупрессию, которая проявлялась в достоверном снижении всех изучаемых показателей (табл. 2). Введение пептидов увеличивало функциональную активность нейтрофилов. Структурные аналоги обладали более выраженным по сравнению с тимогеном иммуностиму-

лирующим действием. Эффекты трипептидов были сопоставимы между собой.

Известно, что тимоген обладает широким спектром иммуностропных эффектов. Так, дипептид стимулирует дифференцировку и пролиферацию Т-лимфоцитов, регулирует количество и соотношение Т-хелперов и Т-супрессоров [12, 13] из-за усиления экспрессии рецепторов Thy-1 на лимфоцитах [13]. Также тимоген повышает активность нейтрофилов, моноцитов и NK-клеток, оказывая регулирующее действие

на клеточный и гуморальный иммунитет [12]. Кроме того, препарат стимулирует активность цАМФ-зависимых протеинкиназ в лимфоцитах тимуса и селезенки [13], что может модулировать их клеточный метаболизм и выработку цитокинов. В частности, дипептид способен снижать количество провоспалительных цитокинов [15]. Также тимоген активирует группу генов TLR/RLR-сигнальных путей врожденного и адаптивного иммунитета, которые влияют на клеточную дифференцировку [14].

Таблица 1

Table 1

Иммуностропное действие тимогена и его аналогов при поражении печени тетрахлорметаном (Me [1Q; 3Q])

Immunotropic action of thymogen and its analogues in liver damage caused by carbon tetrachloride (Me [1Q; 3Q])

Опытные группы Groups	ФИ, % PI, %	НСТ-сп., % NBT-sp., %	НСТ-инд., % NBT-ind., %	ФРН NFR
Интактная (n = 8) Intact	50,9 (45,68; 54,65)	11,13 (8,755; 12,475)	26,505 (22,215; 32,065)	15,72 (12,06; 20,03)
CCl ₄ -контроль (n = 8) CCl ₄ -control	66,82 (55,31; 76,53) *	18,555 (13,46; 21,59) **	42,86 (35,955; 47,455) **	20,44 (17,4; 31,11)
CCl ₄ +Тимоген (n = 8) CCl ₄ +Thymogen	82,82 (63,215; 89,87)	17,23 (15,77; 23,515)	44,14 (37,16; 55,045)	22,755 (20,33; 29,455)
CCl ₄ +D-Ala-тимоген (n = 8) CCl ₄ +D-Ala-Thymogen	61,185 (43,235; 67,41)	12,785 (9,38; 14,24) +	28,925 (25,435; 32,575) +	13,1 (11,925; 23,65)
CCl ₄ +Тимоген-D-Ala (n = 8) CCl ₄ +Thymogen-D-Ala	56,61 (48,875; 65,83)	12,675 (8,555; 13,625) +	26,13 (23,325; 31,54) +	15,86 (9,915; 20,63)

Примечание: *p<0,05, **p<0,01 по сравнению с интактной группой, +p<0,05 по сравнению с контрольной группой.

Note: *p<0.05, **p<0.01 compared to the intact group, +p<0.05 compared to the control group. Here and further: PI – phagocytic index, NBT-sp. – spontaneous nitroblue tetrazolium test, NBT-ind. – zymosan-induced nitroblue tetrazolium test, NFR – neutrophils functional reserve.

Таблица 2

Table 2

Влияние тимогена и его аналогов на функциональную активность нейтрофилов при поражении печени солянокислым гидразином (Me [1Q; 3Q])

The effect of thymogen and its analogues on the functional activity of neutrophils in liver damage caused by hydrazine hydrochloride (Me [1Q; 3Q])

Опытные группы Groups	ФИ, % PI, %	НСТ-сп., % NBT-sp., %	НСТ-инд., % NBT-ind., %	ФРН NFR
Интактная (n = 8) Intact	50,325 (37,43; 57,495)	11,46 (10,59; 14,88)	28,335 (23,605; 33,27)	16,875 (13,635; 20,205)
N ₂ H ₄ ·2HCl-контроль (n = 8) N ₂ H ₄ ·2HCl-control	26,145 (22,055; 30,0) *	6,93 (6,125; 7,9) **	13,72 (11,075; 17,435) **	5,85 (3,69; 10,475) *
N ₂ H ₄ ·2HCl+Тимоген (n = 8) N ₂ H ₄ ·2HCl+Thymogen	34,455 (32,21; 39,225) +	8,7 (8,025; 11,155) +	20,16 (16,28; 22,275) +	10,155 (7,745; 13,34)
N ₂ H ₄ ·2HCl+D-Ala-тимоген (n = 8) N ₂ H ₄ ·2HCl+D-Ala-thymogen	53,835 (39,17; 60,045) ++	11,09 (9,77; 12,41) ++	26,73 (21,435; 29,17) ++	14,49 (9,64; 20,14) +
N ₂ H ₄ ·2HCl+Тимоген-D-Ala (n = 8) N ₂ H ₄ ·2HCl+Thymogen-D-Ala	52,93 (43,79; 66,74) ++	10,38 (8,855; 12,475) ++	28,6 (24,25; 30,075) ++	16,96 (15,18; 18,315) ++

Примечание: *p<0,05, **p<0,01 по сравнению с интактной группой +p<0,05, ++p<0,01 по сравнению с контрольной группой.

Note: *p<0.05, **p<0.01 compared to the intact group +p<0.05, ++p<0.01 compared to the control group.

Вид связи (α или γ) в молекуле L-Glu-L-Trp не влияет на выраженность иммуностимулирующей активности. Однако замена одной из аминокислот пептида на ее D-конфигурацию (L-Glu→D-Glu или L-Trp→D-Trp) приводила к значительному снижению иммунной активации при использовании данных аналогов. Энантиомеры тимогена, состоящие только из D-аминокислот, независимо от типа связи проявляли иммуносупрессивные эффекты [13]: изменение конфигурации аминокислот в первоначальной молекуле пептида существенно влияет на выраженность и направленность эффектов молекулы. Предположительно D-пептиды и пептиды, содержащие D-аминокислоты, могут индуцировать уникальный иммунный ответ, механизмы которого полностью не изучены [16].

При изучении распределения в организме крысы тимогена было установлено, что наибольшее поглощение имели печень, надпочечники, почки, лимфатические узлы и плазма [17]. Так как в настоящее время печень рассматривается в качестве иммунного органа, регулирующего реакции врожденного и адаптивного иммунитета [18, 19], высокое накопление препарата в печени может объяснять его эффекты. Возможно, отсутствие корректирующего эффекта тимогена в условиях гиперактивации иммунной системы связано с непродолжительным периодом полужизни, в связи с чем его действие на системном уровне нивелируется значительным синтезом печенью белков острой фазы из-за отравления тетрахлорметаном.

Вероятно, распределение исследованных нами трипептидов в организме аналогично тимогену. Известно, что L-пептиды с концевым введением D-аминокислот длительно сохраняются *in vivo* [16], с чем может быть связано иммуномодулирующее действие модифицированных аналогов: коррекция иммунных нарушений на органном уровне приводит к снижению продукции белков острой фазы и интерлейкина-6, усиливающих воспалительные реакции на системном уровне [18]. Кроме того, D-Ala может уменьшать воспалительную реакцию за счет снижения уровней провоспалительных цитокинов [20], что может являться дополнительным аспектом снижения иммунного ответа при использовании структурных аналогов в условиях поражения печени тетрахлорметаном. Увеличение фагоцитарной и кислородзависимой активностей нейтрофилов при иммуносупрессии может быть связано с пролонгированием действия молекулы пептида из-за повышения ее устойчивости к протеолизу.

На основании результатов наших предыдущих исследований [6, 7] можно заключить, что тимоген-D-Ala наиболее перспективен

для дальнейших исследований из-за более высокой стабильности антиоксидантных, репаративных и иммуностропных эффектов при токсических гепатопатиях с разным иммунным статусом.

Таким образом, присоединение D-аланина к молекуле тимогена с N- и C-конца усиливает иммуностропную активность пептидов при поражении печени тетрахлорметаном и солянокислым гидразином. Модифицированные аналоги оказывают иммуномодулирующее действие при токсических гепатопатиях с разным уровнем иммунной реактивности.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование проведено в рамках внутривузовского гранта КГМУ (договор возмездного оказания услуг № 37 от 25.01.2024 г.).

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Эксперимент одобрен Этическим комитетом Курского государственного медицинского университета (Протокол № 6 от 6 ноября 2018 г.) и проведен в соответствии с принципами ARRIVE и Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета ЕС по охране животных, используемых в научных целях.

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Чуланова А.А. – участие в разработке концепции и дизайна исследования, проведение экспериментов, статистическая обработка, анализ и интерпретация результатов, написание рукописи; Смахина А.М. – участие в разработке концепции и дизайна исследования, проведение экспериментов, статистическая обработка, анализ и интерпретация результатов, написание рукописи; Маль Г.С. – участие в разработке концепции и дизайна исследования, анализ и интерпретация результатов, проверка критически важного интеллектуального содержания; Бобынцев И.И. – участие в разработке концепции и дизайна исследования, анализ и интерпретация результатов, написание рукописи; Смахин М.Ю. – участие в разработке концепции и дизайна исследования, анализ и интерпретация результатов, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение рукописи для публикации; Мишина Е.С. – анализ и интерпретация результатов, проверка критически важного интеллектуального содержания; Копейкин П.М. – синтез структурных аналогов тимогена, написание рукописи; Богомолова Е.Г. – синтез структурных аналогов тимогена, написание рукописи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Gines P., Krag A., Abraldes J.G., Sola E., Fabrellas N., Kamath P.S. Liver cirrhosis. *Lancet*. 2021;398: 1359–1376. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)01374-X.

2. Nikitina I.B., Goretova I.V., Fedoseev I.V. Through the Looking Glass of Biotechnology: D-Proteins as Objects of Patent Protection. *Russian journal of bioorganic chemistry*. 2021;47(5):1014–1019. DOI: 10.1134/S1068162021050320. EDN: ARPLSQ.
3. Deigin V.I., Poluektova E.A., Beniashvili A.G., Kozin S.A., Poluektov Y.M. Development of peptide Biopharmaceuticals in Russia. *Pharmaceutics*. 2022;14(4):16. DOI: 10.3390/pharmaceutics14040716
4. Shi Y., Hussain Z., Zhao Y. Promising application of D-amino acids toward clinical therapy. *Int J Mol Sci*. 2022;23(18):10794. DOI: 10.3390/ijms231810794.
5. Регистр лекарственных средств России (РЛС). Энциклопедия лекарств. Выпуск 30. Москва, 2022. 1358 с. [The Register of Medicines of Russia (RLS). *Encyclopedia of Drugs*. Issue 30. Moscow, 2022. 1358 pp. (in Russ.)]
6. Chulanova A.A., Smakhtina A.M., Mal G.S., Bobyntsev I.I., Mishina E.S., Smakhtin M.Yu., Kopeykin P.M., Bogomolova E.G. Protective effects of thymogen analogues, modified by D-alanine, in hydrazine liver damage. *Research Results in Pharmacology*. 2024;10(2):11–16. DOI: 10.18413/rpharmacology.10.458. EDN: AOWBYB.
7. Chulanova A.A., Smakhtin M.Yu., Bobyntsev I.I., Mishina E.S., Artyushkova E.B., Smakhtina A.M. Reparative and antioxidant effects of new analogues of immunomodulator thymogen in experimental model of liver damage. *Bull Exp Biol Med*. 2023;175(5):700–703. DOI: 10.1007/s10517-023-05929-5. EDN: MAVTUD.
8. Чуланова А.А., Смахтин М.Ю., Суняйкин К.И., Смахтина А.М. Иммунорегуляторное и гепатотропное действие пептидов Gly-His-Lys и тимогена. *Российский иммунологический журнал*. 2019;13(2):644–646 [Chulanova A.A., Smakhtin M.Y., Sunaykin K.I., Smakhtina A.M. The immunoregulatory and hepatotropic action of gly-his-lys and timogen. *Russian Journal of immunology*. 2019;13(2): 644–646 (in Russ.)]. DOI: 10.31857/S102872210007000-5. EDN: SSJEVM.
9. Миронов А.Н., под. ред. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. Часть первая. Москва: Гриф и К, 2012. 944 с. [Mironov A.N., editors. *Guidelines for Preclinical Studies of Drugs*. Part one. Moscow: Griff and K, 2012. 944 p. (in Russ.)]
10. Фримель Г. *Иммунологические методы*. Москва: Медицина, 1987. 472 с. [Frimel' G. *Immunological methods*. Moscow: Meditsina, 1987. 472 p. (in Russ.)]
11. Виксман М.Е., Маянский А.Н. *Способ оценки функциональной активности нейтрофилов человека по реакции восстановления нитросинего тетразолия: методические рекомендации*. Казань, 1979. 15 с. [Viksmann M.E., Mayanskiy A.N. *A method for evaluating the functional activity of human neutrophils by the reaction of reduction of nitrosine tetrazolium: methodological recommendations*. Kazan', 1979. 15 p. (in Russ.)]
12. Deigin V.I., Ksenofontova O.B., Khrushchev A.Yu., Yatskin O.N., Goryacheva A.S., Ivanov V.T. Chemical platform for the preparation of synthetic orally active peptidomimetics with hemoregulating Activity. *ChemMedChem*. 2016;11(18):1974–1977. DOI: 10.1002/cmdc.201600157
13. Deigin V.I., Vinogradova Y.E., Vinogradov D.L., Krasilshchikova M.S., Ivanov V.T. Thymodepressin–Unforeseen Immunosuppressor. *Molecules*. 2021;26(21):6550. DOI: 10.3390/molecules26216550.
14. Соколова Т.М., Полосков В.В., Шувалов А.Н., Бурова О.С., Соколова З.А. Сигнальные TLR/RLR-механизмы иммуномодулирующего действия препаратов ингавирин и тимоген. *Российский биотерапевтический журнал*. 2019;18(1):60–66 [Sokolova T.M., Poloskov V.V., Shuvalov A.N., Burova O.S., Sokolova Z.A. Signaling TLR/RLR-mechanisms of immunomodulating action of ingavirin and thymogen preparations. *Russian Journal of Biotherapy*. 2019;18(1):60–66 (in Russ.)]. DOI: 10.17650/1726-9784-2019-18-1-60-66. EDN: ENUWKF.
15. Avolio F., Martinotti S., Khavinson V.K., Esposito J.E., Giambuzzi G., Marino A., Mironova E., Pulcini R., et al. Peptides regulating proliferative activity and inflammatory pathways in the monocyte/macrophage THP-1 cell line. *Int J Mol Sci*. 2022;23(7):3607. DOI: 10.3390/ijms23073607.
16. Sela M., Zisman E. Different roles of D-amino acids in immune phenomena. *FASEB J*. 1997;11(6):449–456. DOI: 10.1096/fasebj.11.6.9194525.
17. Morozov V.G., Khavinson V.K. Natural and synthetic thymic peptides as therapeutics for immune dysfunction. *Int J Immunopharmacol*. 1997; 19(9–10):501–505. DOI: 10.1016/S0192-0561(97)00058-1.
18. Газатова Н.Д., Юрова К.А., Тодосенко Н.М., Вульф М.А., Литвинова Л.С. Роль иммунных реакций в гомеостазе и патологии печени. *Цитология*. 2019;61(3):185–197 [Gazatova N.D., Yurova K.A., Todosenko N.M., Vulf M.A., Litvinova L.S. The role of immune reactions in homeostasis and liver pathology. *Tsytoplogia*. 2019;61(3):185–197 (in Russ.)]. DOI: 10.1134/S0041377119030052. EDN: YYYKZF.
19. Markose D., Kirkland P., Ramachandran P., Henderson N.C. Immune cell regulation of liver regeneration and repair. *J Immunol Regener Med*. 2018;2:1–10. DOI: 10.1016/j.regen.2018.03.003.
20. Hashimoto H., Takagi T., Asaeda K., Yasuda T., Kajiwarra M., Sugaya T., Mizushima K., Inoue K., et al. D-alanine Inhibits Murine Intestinal Inflammation by Suppressing IL-12 and IL-23 Production in Macrophages. *J Crohns Colitis*. 2024;18(6):908–919. DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjad217.

Поступила в редакцию 17.09.2024

Подписана в печать 25.11.2024

Для цитирования: Чуланова А.А., Смахтина А.М., Маль Г.С., Бобынцев И.И., Смахтин М.Ю., Мишина Е.С., Копейкин П.М., Богомолова Е.Г. Иммуномодулирующее действие аналогов тимогена при токсическом поражении печени. *Человек и его здоровье*. 2024;27(3):86–91. DOI: 10.21626/vestnik/2024-3/09. EDN: TYAYHU.

IMMUNOMODULATORY EFFECT OF THYMOGEN ANALOGUES IN TOXIC LIVER INJURY

© Chulanova A.A.¹, Smakhtina A.M.¹, Mal G.S.¹, Bobyntsev I.I.¹, Smakhtin M.Yu.¹, Mishina E.S.¹, Kopeykin P.M.², Bogomolova E.G.²

¹Kursk State Medical University (KSMU)

3, K. Marx St., Kursk, Kursk region, 305041, Russian Federation

²LLC «IQChemical»

Office 5, Facility 2N, 50A, Moskovskoe Shosse, Saint Petersburg, 196158, Russian Federation

Objective – to study the effects of thymogen and its structural analogs on the functional activity of blood neutrophils in toxic liver damage with tetrachloromethane and hydrazine hydrochloride.

Materials and methods. Carbon tetrachloride hepatopathy accompanied by an increase in immune reactivity was modeled by a 5-fold intragastric administration of carbon tetrachloride. Liver damage with hydrazine associated with immunosuppression was induced by a single intraperitoneal administration of a hepatotropic poison. Rats were administered thymogen (1 µg/kg) and its structural analogues (1.2 µg/kg) intraperitoneally for 5 days. In carbon tetrachloride hepatopathy, peptides were administered simultaneously with the hepatotropic poison, in hydrazine – 24 hours after intoxication. Phagocytic and oxygen-dependent activities of neutrophils were assessed.

Results. It was found that in liver damage by carbon tetrachloride, thymogen does not exert a corrective effect on the functional activity of neutrophils. Structural analogues reduced the activity of neutrophils under conditions of hyperactivation of the immune system. In hydrazine hepatopathy, all peptides exhibited immunostimulating activity, with its greater expression in structural analogs of thymogen.

Conclusion. Thymogen analogues modified with D-alanine exert an immunomodulatory effect in toxic hepatopathies with different levels of immune reactivity.

Keywords: thymogen; D-alanine; toxic hepatopathy; carbon tetrachloride; hydrazine; neutrophil function.

Chulanova Anna A. – Senior Lecturer at the Biochemistry Department, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-0990-0390. E-mail: chulanofs@mail.ru

Smakhtina Angelina M. – Full-Time Postgraduate Student at the Department of Pharmacology, Junior Researcher at the Research Institute of General Pathology, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-8458-3925. E-mail: smaxtina2012@yandex.ru (corresponding author)

Mal Galina S. – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Pharmacology Department, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-1712-5005. E-mail: mgalina.2013@mail.ru

Bobyntsev Igor' I. – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Pathophysiology Department, Head of the General Pathology Research Institute, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-7745-2599. E-mail: bobig@mail.ru

Smakhtin Mikhail Yu. – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Professor at the Biochemistry Department, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-7372-1819. E-mail: m.yu.smakhtin@mail.ru

Mishina Ekaterina S. – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor at the Histology, Cytology and Embryology Department, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-3835-0594. E-mail: mishinaes@kursksmu.net

Kopeykin Pavel M. – Cand. Sci. (Biol.), General Director, Limited Liability Company «IQChemical», Saint Petersburg, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-6076-8842. E-mail: pmkopeikin@gmail.com

Bogomolova Elena G. – Cand. Sci. (Biol.), Limited Liability Company «IQChemical», Saint Petersburg, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-4047-4086. E-mail: elenabogomolova000@gmail.com

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The study was conducted within the framework of the KSMU intrauniversity grant (contract for the provision of paid services No. 37 of 01/25/2024).

COMPLIANCE WITH PRINCIPLES OF ETHICS

The experiment was approved by the Ethics Committee of Kursk State Medical University (Protocol No. 6 of November 6, 2018) and conducted in accordance with the principles of ARRIVE and Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the EU on the protection of animals used for scientific purposes.

AUTHORS CONTRIBUTION

Chulanova A.A. – participation in the development of the concept and design of research, conducting experiments, statistical processing, analysis and interpretation of results,

writing a manuscript; Smakhtina A.M. – participation in the development of the concept and design of research, conducting experiments, statistical processing, analysis and interpretation of results, writing a manuscript; Mal G.S. – participation in the development of the concept and research design, analysis and interpretation of results, verification of critically important intellectual content; Bobyntsev I.I. – participation in the development of the concept and design of the study, analysis and interpretation of the results, writing the manuscript; Smakhtin M.Yu. – participation in the development of the concept and design of the study, analysis and interpretation of the results, verification of critical intellectual content, final approval of the manuscript for publication; Mishina E.S. – analysis and interpretation of the results, verification of critical intellectual content; Kopeykin P.M. – synthesis of structural analogues of thymogen, writing a manuscript; Bogomolova E.G. – synthesis of structural analogues of thymogen, writing a manuscript.

Received 17.09.2024

Accepted 25.11.2024

For citation: Chulanova A.A., Smakhtina A.M., Mal G.S., Bobyntsev I.I., Smakhtin M.Yu., Mishina E.S., Kopeykin P.M., Bogomolova E.G. Immunomodulatory effect of thymogen analogues in toxic liver injury. *Humans and their health*. 2024;27(3):86–91. DOI: 10.21626/vestnik/2024-3/09. EDN: TYAYHU.