

ЭФФЕКТЫ ПЕПТИДА THR-LYS-PRO-ARG-PRO-GLY-PRO НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СТЕНКИ ОБОДОЧНОЙ КИШКИ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ

© Кривошлыкова М.С.¹, Бобынцев И.И.¹, Мишина Е.С.¹, Ворвуль А.О.¹, Медведева О.А.¹, Андреева Л.А.², Мясоедов Н.Ф.²

¹ Курский государственный медицинский университет (КГМУ)

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

² Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»

(НИЦ «Курчатовский институт»)

Россия, 123182, г. Москва, пл. Ак. Курчатова, д. 2

Цель – гистологическое исследование структуры и клеточного состава стенки ободочной кишки у крыс после введения пептида Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro при хроническом иммобилизационном стрессе.

Материал и методы. Эксперименты выполняли на 45 самцах крыс Вистар. Все животные были распределены на 5 групп по 9 особей в каждой. В группе 1 животные без стресса получали 0,9% раствор NaCl; в группе 2 животных стрессировали и вводили раствор NaCl; в группах 3, 4 и 5 стрессированным животным вводили тафтин-ПГП в дозах 80, 250 и 750 мкг/кг соответственно. Животных подвергали стрессу в течение 28 дней, пептид вводили с 15-го по 28-й день эксперимента. Проводили гистологическое исследование толстой кишки крыс, определяли глубину кишечных крипт и количество бокаловидных клеток в них. Подсчитывалось количество гранулоцитов, плазматических клеток, лимфоцитов, макрофагов и тучных клеток в собственной пластинке слизистой оболочки.

Результаты. Хроническое стрессирование экспериментальных животных (на протяжении 28 дней) вызывало структурные сдвиги и изменения клеточного состава в стенке ободочной кишки с развитием в ней признаков хронического воспаления. Применение пептида тафтин-ПГП с 15-го по 28-й день эксперимента способствовало значительному снижению выраженности вызванных стрессом изменений исследованных показателей с наибольшим эффектом в дозе 750 мкг/кг.

Заключение. Изменения структуры и клеточного состава стенки ободочной кишки в условиях хронического иммобилизационного стресса у крыс корректируются введением пептида тафтин-ПГП в дозах 250 и 750 мкг/кг.

Ключевые слова: пептид Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro; крысы Вистар; иммобилизационный стресс; ободочная кишка; воспаление.

Кривошлыкова Марина Сергеевна – ассистент кафедры фармакологии, КГМУ, г. Курск, Россия. ORCID iD: 0009-0005-2426-358X. E-mail: lew_marina@mail.ru (автор, ответственный за переписку).

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

Мишина Екатерина Сергеевна – канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии, зав. лабораторией морфологии и клеточных технологий НИИ экспериментальной медицины, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0003-3835-0594. E-mail: mishinaes@kursksmu.net

Ворвуль Антон Олегович – канд. мед. наук, ст. преподаватель кафедры патофизиологии, ст. науч. сотрудник НИИ общей патологии, КГМУ, г. Курск, Россия. ORCID iD: 0000-0002-1529-6014. E-mail: vorvul1996@mail.ru

Медведева Ольга Анатольевна – д-р биол. наук, профессор, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии, зав. лабораторией микробиологии и магнитобиологии НИИ общей патологии, КГМУ, г. Курск, Россия. ORCID iD: 0000-0002-2889-155X. E-mail: olgafrida@rambler.ru

Андреева Людмила Александровна – зам. зав. лабораторией молекулярной фармакологии пептидов, НИЦ «Курчатовский институт», г. Москва, Россия. ORCID iD: 0000-0002-3927-8590. E-mail: landr@img.ras.ru

Мясоедов Николай Федорович – д-р хим. наук, профессор, академик РАН, зав. лабораторией молекулярной фармакологии пептидов, НИЦ «Курчатовский институт», г. Москва, Россия. ORCID iD: 0000-0003-1294-102X. E-mail: nfm@img.ras.ru

Известно, что длительное стрессорное воздействие приводит к изменению взаимоотношений в оси «микробиота-кишечник-мозг» [1]. Одним из механизмов данных сдвигов может являться повышение проницаемости стенки кишки и развитие в ней воспалительной реакции с последующим нарушением адгезивных свойств слизистой оболочки и качественным и количественным сдвигами в составе микробиоты на ее поверхности. Наряду с этим воспаление приводит к увеличению продукции провоспалительных цитокинов, которые, как известно, оказывают влияние на центральную нервную систему (ЦНС) [2].

В связи с этим представляется целесообразным поиск новых эффективных препаратов, обладающих стресс-лимитирующим действием. К их числу можно отнести пептид тафтин-ПГП (Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro), являющийся действующим веществом анксиолитического препарата Селанк® (АО ПЕПТОГЕН, Россия) [3]. Ранее нами было показано, что тафтин-ПГП предотвращал развитие стрессиндуцированных изменений в стенке ободочной кишки при 14-дневном стрессе [4]. Однако для развития стрессорной реакции в организме характерна выраженная стадийность. С учетом данного обстоятельства вполне обоснованным являлось

изучение эффектов данного пептида на более поздних сроках хронического стресса.

Целью исследования являлось гистологическое исследование структуры и клеточного состава стенки ободочной кишки у крыс после введения пептида Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro при хроническом иммобилизационном стрессе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дизайн эксперимента показан на рисунке 1. Исследование выполнено на 45 крысах-самцах Вистар весом 250-300 г, разделенных на 5 групп ($n=9$): 1 – нестрессированные; 2 – стрессированные, 3, 4 и 5 – стрессированные, которым внутривенно вводили разведенный в 0,9% растворе NaCl тафтцин-ППП соответственно в дозах 80, 250 и 750 мкг/кг в объеме из расчета 1 мл/кг массы тела. Животным 1 и 2 групп вводили изотонический раствор NaCl в эквивалентных объемах.

Исследование одобрено Региональным этическим комитетом при Курском государственном медицинском университете (протокол № 8 от 06.12.2019 г.).

Стрессорное воздействие проводили иммобилизацией животных в течение 2 ч. на протяжении 28 дней. Иммобилизацию проводили путем помещения крыс в тесные пластиковые боксы в горизонтальном положении. Тафтцин-ППП вводили за 15 мин. до начала каждого стрессорного воздействия с 15-го по 28-й дни эксперимента, за 15 минут до иммобилизации крысам вводили пептид. Из эксперимента животных выводили обескровливанием забором крови из правого желудочка сердца крови под легким эфирным наркозом. Для проведения гистологического исследования брали фрагмент ободочной кишки и изготавливали гистологические срезы с последующей окраской их гематоксилином и эозином. Морфометрическое исследование проводили на 100 клеток в 10 полях зрения при увеличении $\times 400$, что соответствовало площади 502 мкм^2 (для достоверной идентификации карио-цитологических признаков) по 5 срезам. Измерение глубины крипт проводили

при помощи программы ImageJ v.1.53i (National Institutes of Health, США, <https://imagej.nih.gov/>).

Подтверждением развития стресса в использованной модели у крыс являлось определение изменений концентрации кортикостерона в сыворотке крови с использованием иммуноферментной тест-системы Corticosterone ELISA kit, ADI-900-097 (Enzo Life Sciences; США) на анализаторе Varioskan Flash (Thermo Fisher Scientific; США).

Статистическую обработку полученных данных проводили в среде R. Так как гипотеза о нормальности распределения (по критерию Шапиро-Уилка) была отклонена, для сравнения двух групп применяли U-критерий Манна-Уитни, четырех групп – критерий Краскела-Уоллиса с апостериорным тестом Данна. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей (Me [1Q; 3Q]). Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Гистологическое исследование стенки ободочной кишки нестрессированных животных патоморфологических изменений не выявило (рис. 2).

При моделировании стресса на фоне повышения концентрации кортикостерона (в 5 раз, $p < 0,05$) в стенке кишки определялись признаки хронического воспаления с изменением архитектоники слизистой оболочки (рис. 3). Наблюдались очаги язвенных дефектов слизистой вследствие некроза эпителия, определялись крипт-абсцессы и снижение плотности бокаловидных клеток (на 16%, $p < 0,01$) на стандартную площадь (рис. 4). При этом форма крипт была булавовидной на фоне значительного снижения их глубины (на 29%, $p < 0,01$). Вышеуказанные структурные изменения в слизистой развивались в сочетании с изменением клеточного состава в подслизистой основе, который был преимущественно представлен плазмócитами, тучными клетками и лимфоцитами. Их количество увеличилось в 4 ($p < 0,001$), 3,6 ($p < 0,001$) и 1,5 раза ($p < 0,001$) соответственно по сравнению со 2-й группой.

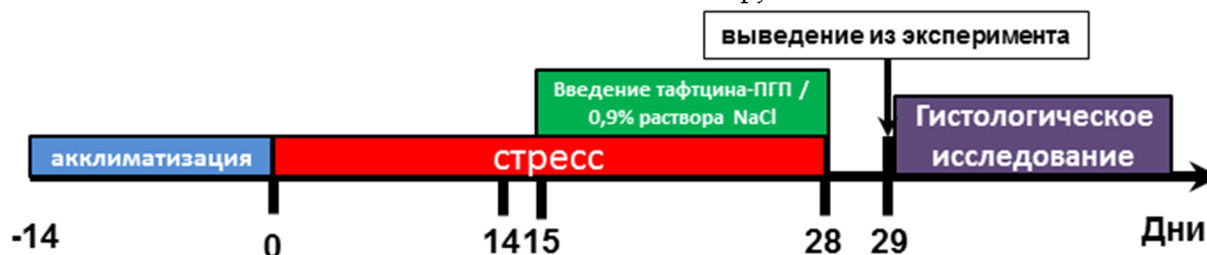
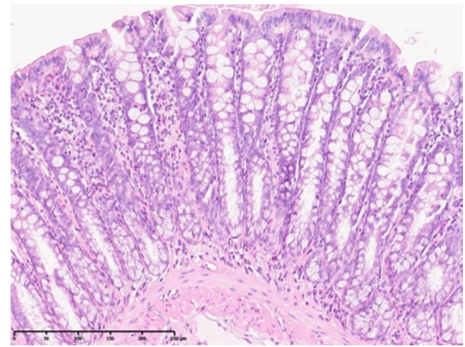


Рис. 1. Дизайн эксперимента.

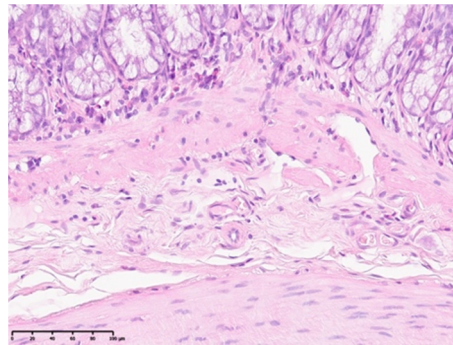
Fig. 1. Experimental design.



A.



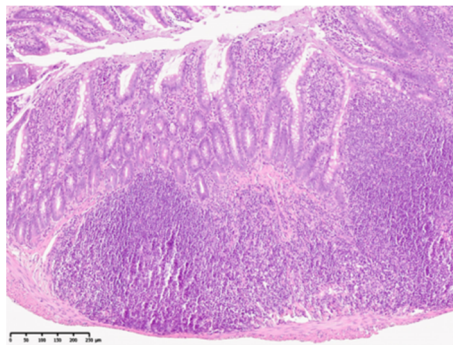
B.



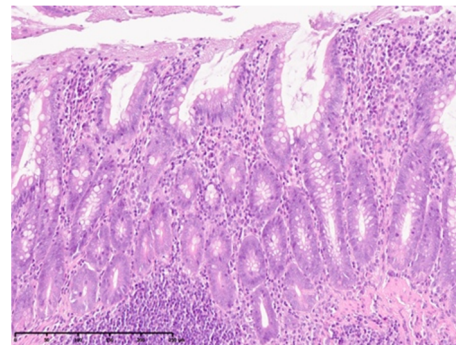
C.

Рис. 2. Микрофотографии участка стенки ободочной кишки у нестрессированной крысы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение: а)×40; б) ×100; с) ×400.

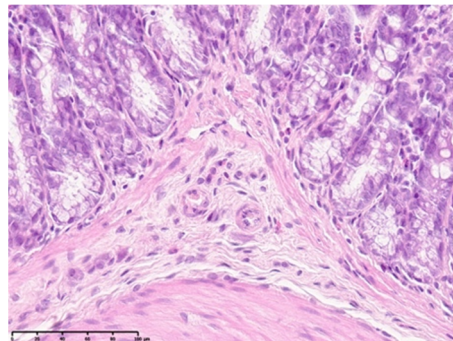
Fig. 2. Microphotographs of a section of the colonic wall in an unstressed rat. Haematoxylin and eosin staining. Magnification: a) ×40; b) ×100; c) ×400.



A.



B.



C.

Рис. 3. Микрофотографии участка стенки ободочной кишки у стрессированной крысы без последующего введения пептида тафтцин-ППП. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение: а)×40; б) ×100; с) ×400.

Fig. 3. Microphotographs of a section of the colonic wall in a stressed rat without subsequent administration of taftzin-PGP peptide. Haematoxylin and eosin staining. Magnification: a) ×40; b) ×100; c) ×400.

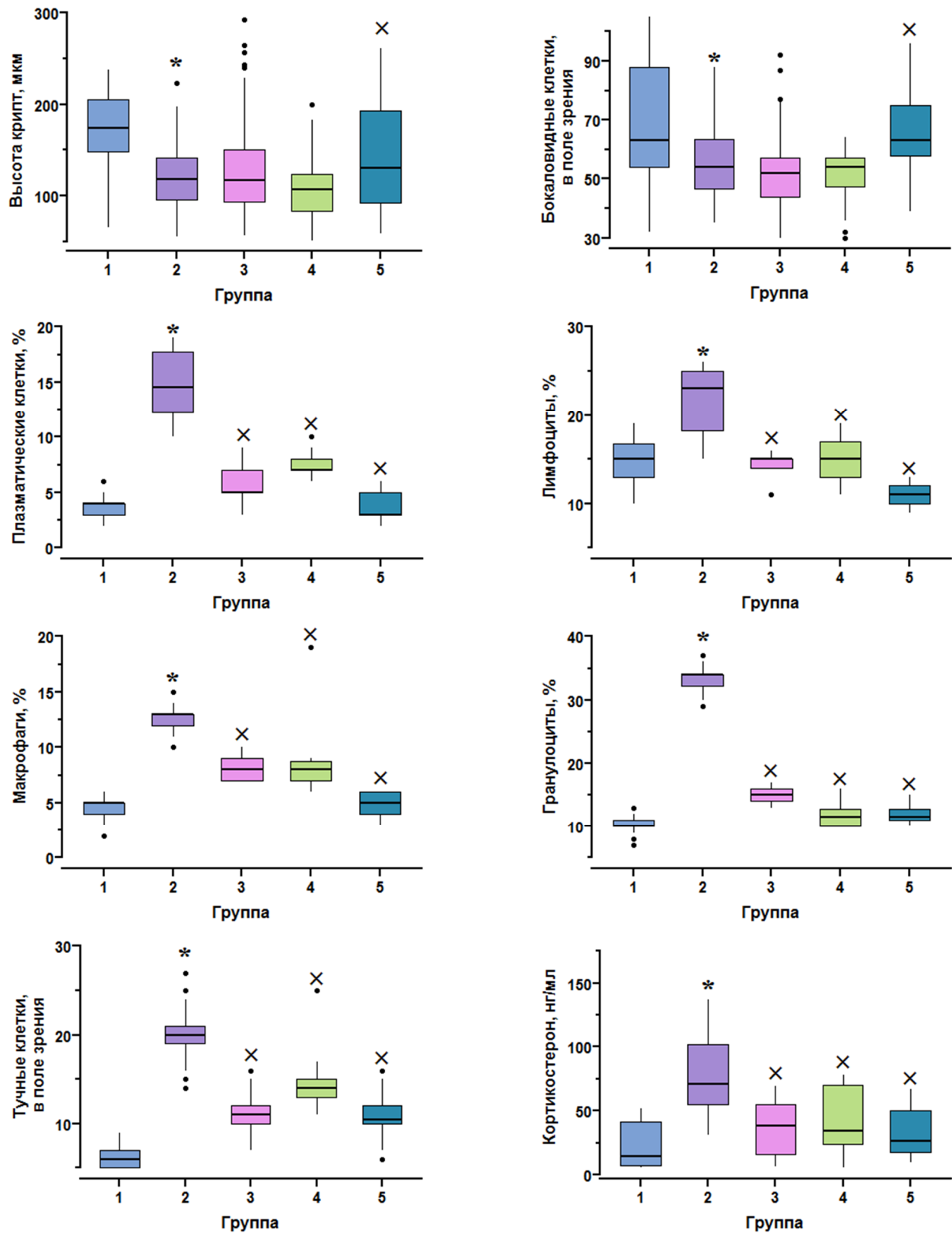


Рис. 4. Морфометрические показатели ободочной кишки и концентрация кортикостерона при применении тафтцин-ПГП в условиях иммобилизационного стресса.

Figure 4. Morphometric indices of colon and corticosterone concentration during application of taftzin-PGP under immobilisation stress conditions.

Примечание: * – $p < 0.05$ в сравнении с 1-й группой «Контроль» (U-критерий Манна-Уитни); × – $p < 0.05$ в сравнении со 2-й группой (критерий Краскела-Уоллиса с post hoc тестом Данна).

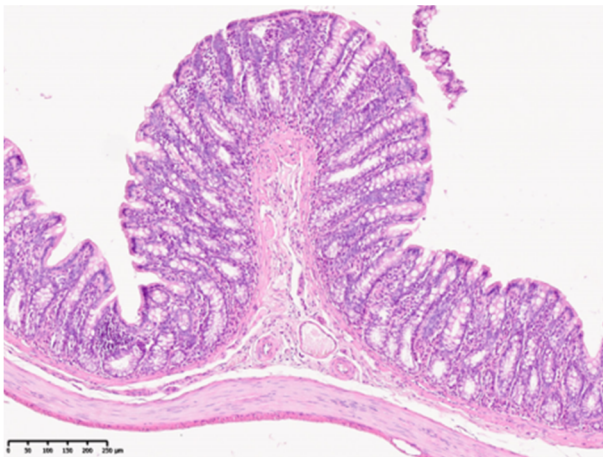
Note: * – $p < 0.05$ compared to group 1 'Control' (Mann-Whitney U-test); × – $p < 0.05$ compared to group 2 (Kruskal-Wallis test with Dunn's post hoc test).

Введение пептида стрессированным крысам в дозе 80 мкг/кг сопровождалось незначительными воспалительными изменениями стенки ободочной кишки по сравнению с группой контроля (рис. 5). При этом как глубина крипт, так и число бокаловидных клеток не отличались от животных 2-й группы. В слизистой оболочке определялась умеренно выраженная полиморфноклеточная инфильтрация, не распространяющаяся на собственную пластинку, в которой визуализируются полнокровные кровеносные сосуды мелкого калибра. При этом происходило снижение уровня кортикостерона (в 1,8 раза, $p < 0,05$) по сравнению со 2-й группой.

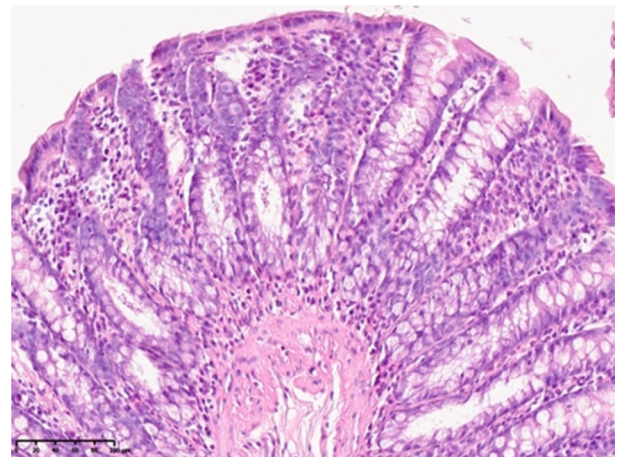
У животных четвертой группы (стресс + тафтцин-ППП 250 мкг/кг) стенка кишки без патоморфологических изменений (рис. 6) на фоне уменьшения концентрации кортикостерона на 46% ($p < 0,05$) по сравнению со 2-й группой. Глубина крипт и число бокаловидных клеток зна-

чимо не отличались от животных 2-й группы. Отмечалась умеренно выраженная инфильтрация полиморфноядерными клетками. В собственной пластинке слизистой большое количество тучных клеток.

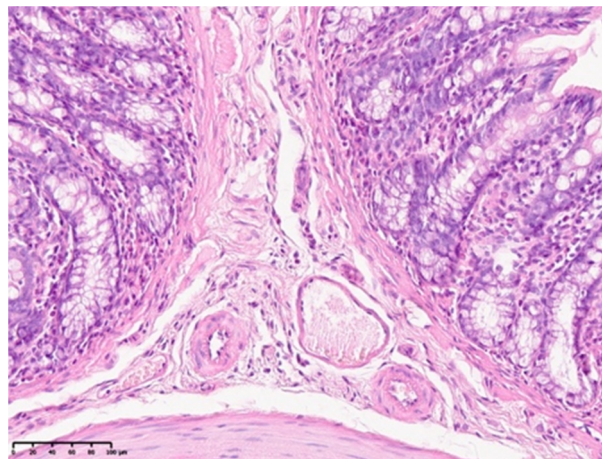
При применении пептида тафтцин-ППП в максимальной использованной дозе 750 мкг/кг показано увеличение глубины крипт (на 15%, $p < 0,01$) и числа бокаловидных клеток (на 16%, $p < 0,01$) на фоне снижения концентрации кортикостерона (в 2,7 раза, $p < 0,01$) относительно животных 2-й группы (рис. 7). В собственной пластинке слизистой на фоне отсутствия признаков нарушения микроциркуляции установлено снижение числа плазмоцитов (в 2 раза, $p < 0,01$) и тучных клеток (в 1,9 раза, $p < 0,01$) относительно животных 2-й группы. Также отмечалось снижение концентрации кортикостерона в сыворотке крови (в 2,7 раза, $p < 0,05$) по сравнению со 2-й группой.



A.



B.



C.

Рис. 5. Микрофотографии участка стенки ободочной кишки у стрессированной крысы с последующим введением пептида тафтцин-ППП в дозе 80 мкг/кг. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение: а) $\times 40$; б) $\times 100$; в) $\times 400$.

Fig. 5. Microphotographs of a section of the colonic wall in a stressed rat with subsequent administration of taftzin-PGP peptide at a dose of 80 $\mu\text{g/kg}$. Haematoxylin and eosin staining. Magnification: a) $\times 40$; b) $\times 100$; c) $\times 400$.

Установленные изменения могли являться следствием повышения продукции кортикотропин-рилизинг фактора (КРФ), приводящего к повышению проницаемости слизистой кишечника за счет разрушения плотных контактов [6], что, в свою очередь, способствует транслокации микроорганизмов в подслизистую основу, где развивается воспалительная реакция [7]. Также возможными механизмами установленных эффектов могли быть стресс-индуцированные нарушения гемостаза и активация свободно-радикального окисления в стенке ободочной кишки [8-11].

Влияние пептида тафтцин-ППП на исследованные гистологические показатели ободочной кишки может реализовываться как за счет его местного, так и общего (нейротропного) действия. Известно, что тафтцин-ППП и продукты его протеолиза обладают антикоагулянтным и антиагрегантным действием [12], что может способствовать улучшению реологических свойств крови и микроциркуляции. Кроме того, тафтцин-ППП влияет на баланс Th1/Th2/Treg, уровень цитокинов [13], снижает выраженность

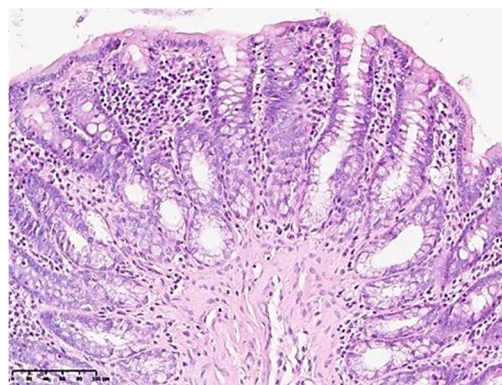
свободно-радикального окисления [14], а также снижает экспрессию гена *Map2k1*, кодирующего киназу МАРК-сигнального пути [15].

Центральные эффекты тафтцина-ППП реализуются за счет его способности проникать через гематоэнцефалический барьер, взаимодействовать со структурами ЦНС, воздействовать на системы нейротрансмиттеров [3, 16, 17], увеличивать экспрессию гена и продукцию мозгового нейротрофического фактора [17], что могло способствовать уменьшению продукции КРФ, снижению проницаемости слизистой оболочки и выраженности воспалительной реакции.

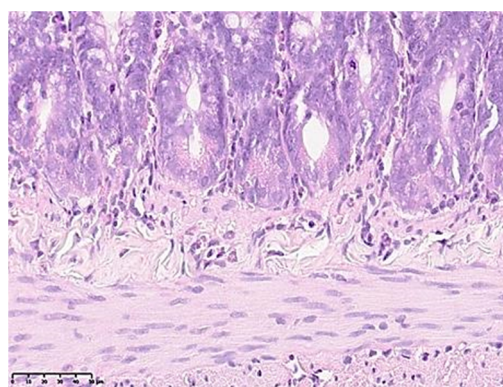
Таким образом, 28-дневное стрессирование экспериментальных животных приводило к выраженным морфофункциональным изменениям стенки ободочной кишки с развитием в ней признаков хронического воспаления. Изменения структуры и клеточного состава стенки ободочной кишки в условиях хронического иммобилизационного стресса у крыс корректируются введением пептида тафтцин-ППП в дозах 250 и 750 мкг/кг.



А.



В.



С.

Рис. 6. Микрофотографии участка стенки ободочной кишки у стрессированной крысы с последующим введением пептида тафтцин-ППП в дозе 250 мкг/кг. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение: а) $\times 40$; б) $\times 100$; в) $\times 400$.

Fig. 6. Microphotographs of a section of the colonic wall in a stressed rat with subsequent administration of taftzin-PGP peptide at a dose of 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Haematoxylin and eosin staining. Magnification: а) $\times 40$; б) $\times 100$; в) $\times 400$.

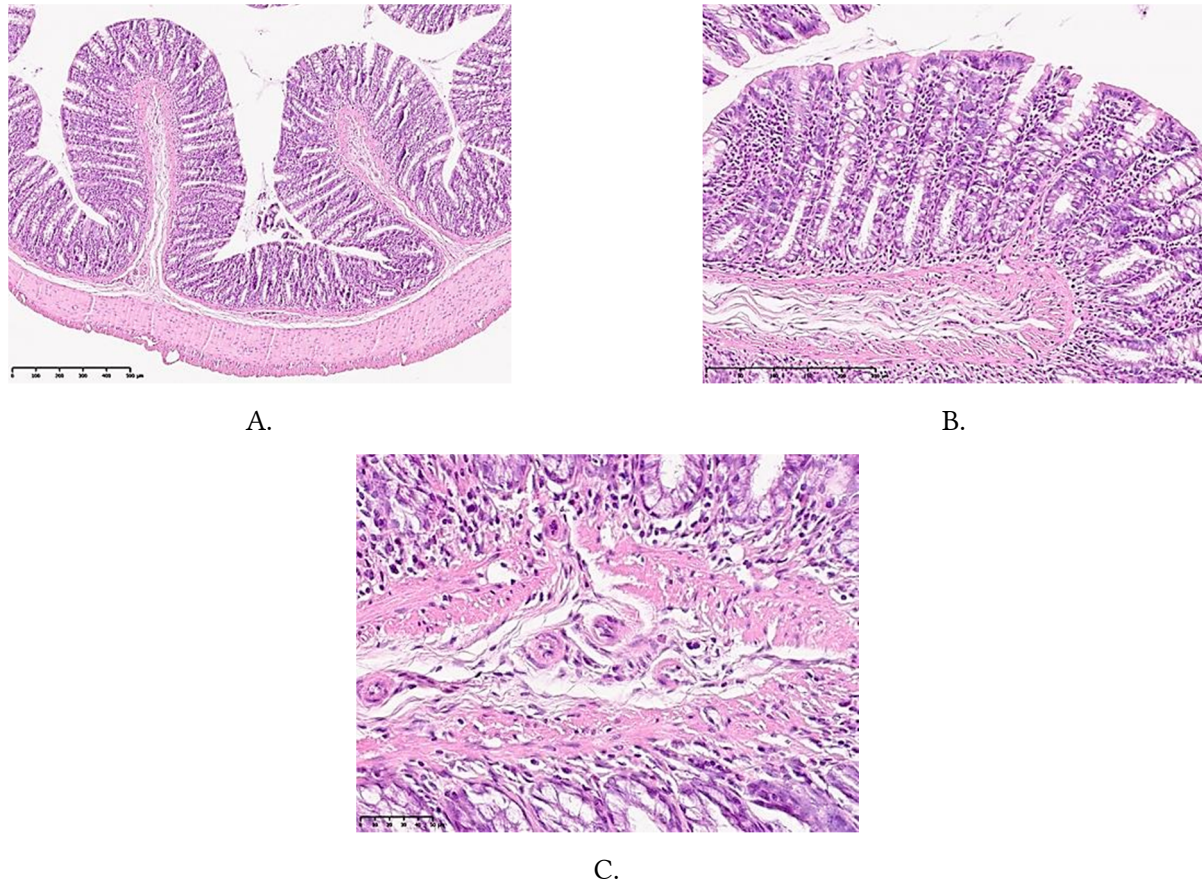


Рис. 7. Микрофотографии участка стенки ободочной кишки у стрессированной крысы с последующим введением пептида тафтцин-ППП в дозе 750 мкг/кг. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение: а) $\times 40$; б) $\times 100$; в) $\times 400$.

Fig. 7. Microphotographs of a section of the colonic wall in a stressed rat with subsequent administration of taftzin-PGP peptide at a dose of 750 $\mu\text{g/kg}$. Haematoxylin and eosin staining. Magnification: а) $\times 40$; б) $\times 100$; в) $\times 400$.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование одобрено Этическим комитетом Курского государственного медицинского университета (протокол № 8 от 06.12.2019 г.). Все эксперименты соответствовали принципам ARRIVE и были проведены в соответствии с директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Кривошлыкова М.С. – анализ и интерпретация данных. Бобынцев И.И. – разработка концепции и дизайна; анализ и интерпретация данных; обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания; окончательное утверждение для публикации рукописи. Мишина Е.С. – анализ и интерпретация данных; проверка критически важного интеллектуального содержания рукописи.

си. Ворвуль А.О. – анализ и интерпретация данных. Медведева О.А. – разработка концепции и дизайна; проверка критически важного интеллектуального содержания рукописи. Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф. – разработка концепции и дизайна.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Chato M., Li Y., Ma Z., Coote J., Du J., Chen X. Involvement of Corticotropin-Releasing Factor and Receptors in Immune Cells in Irritable Bowel Syndrome. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018;9:21. DOI: 10.3389/fendo.2018.00021.
2. Dinan T.G., Cryan J.F. The Microbiome-Gut-Brain Axis in Health and Disease. *Gastroenterol Clin North Am*. 2017;46(1):77-89. DOI: 10.1016/j.gtc.2016.09.007.
3. Westfall S., Caracci F., Estill M., Frolinger T., Shen L., Pasinetti G.M. Chronic Stress-Induced Depression and Anxiety Priming Modulated by Gut-Brain-Axis Immunity. *Front Immunol*. 2021;12:670500. DOI: 10.3389/fimmu.2021.670500.
4. Géa L.P., Colombo R., Rosa E.D.D., Antqueviezc B., Aguiar É.Z., Hizo G.H., Schmidt G.B., Oliveira L.F., Stein D.J., Rosa A.R. Anhedonic-like behavior correlates with IFN γ serum levels in a two-hit model of depression. *Behav Brain Res*. 2019; 373: 112076. DOI: 10.1016/j.bbr.2019.112076.

5. Voorhees J.L., Tarr A.J., Wohleb E.S., Godbout J.P., Mo X., Sheridan J.F., Eubank T.D., Marsh C.B. Prolonged restraint stress increases IL-6, reduces IL-10, and causes persistent depressive-like behavior that is reversed by recombinant IL-10. *PLoS One*. 2013;8(3):e58488. DOI: 10.1371/journal.pone.0058488.
6. Koroleva S.V., Mjasoedov N.F. Physiological effects of Selank and its fragments. *Biol Bull.* 2019;46(4): 407–414. DOI: 10.1134/S1062359019040071
7. Mukhina A.Y., Mishina E.S., Bobyntsev I.I., Medvedeva O.A., Svishcheva M.V., Kalutskii P.V., Andreeva L.A., Myasoedov N.F. Morphological Changes in the Large Intestine of Rats Subjected to Chronic Restraint Stress and Treated with Selank. *Bull Exp Biol Med.* 2020;169(2):281–285. DOI: 10.1007/s10517-020-04868-9.
8. Автандилов Г.Г. *Проблемы патогенеза и патологоанатомической диагностики болезней в аспектах морфометрии*. Москва: Медицина, 1984:285 с. [Avtandilov G.G. *Problems of pathogenesis and pathoanatomic diagnosis of diseases in aspects of morphometry*. Moscow: Meditsina, 1984:285 p. (in Russ.)]
9. Overman E.L., Rivier J.E., Moeser A.J. CRF induces intestinal epithelial barrier injury via the release of mast cell proteases and TNF- α . *PLoS One*. 2012; 7(6): e39935. DOI: 10.1371/journal.pone.0039935.
10. Ma Q., Li X., Yan Z., Jiao H., Wang T., Hou Y., Jiang Y., Liu Y., Chen J. Xiaoyaosan Ameliorates Chronic Immobilization Stress-Induced Depression-Like Behaviors and Anorexia in Rats: The Role of the Nesfatin-1-Oxytocin-Proopiomelanocortin Neural Pathway in the Hypothalamus. *Front Psychiatry*. 2019;10:910. DOI: 10.3389/fpsy.2019.00910.
11. Di Vincenzo F., Del Gaudio A., Petito V., Lopetuso L.R., Scadaferri F. Gut microbiota, intestinal permeability, and systemic inflammation: a narrative review. *Intern Emerg Med.* 2024;19(2):275–293. DOI: 10.1007/s11739-023-03374-w.
12. Spiezia L., Tormene D., Pesavento R., Salmaso L., Simioni P., Prandoni P. Thrombophilia as a predictor of persistent residual vein thrombosis. *Haematologica*. 2008; 93(3): 479–480. DOI: 10.3324/haematol.12205.
13. Yisireyli M., Alimujiang A., Aili A., Li Y., Yisireyli S., Abudureyimu K. Chronic Restraint Stress Induces Gastric Mucosal Inflammation with Enhanced Oxidative Stress in a Murine Model. *Psychol Res Behav Manag*. 2020;13:383–393. DOI: 10.2147/PRBM.S250945.
14. Israeli E., Hershovici T., Berenshtein E., Zannineli G., Wengrower D., Weiss O., Chevion M., Goldin E. The effect of restraint stress on the normal colon and on intestinal inflammation in a model of experimental colitis. *Dig Dis Sci.* 2008;53(1):88–94. DOI: 10.1007/s10620-007-9827-z.
15. Рогозинская Э.Я., Ляпина Л.А. Влияние аргининсодержащих пептидов на антикоагулянтную и фибринолитическую активность плазмы крови крыс в условиях *in vitro*. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2019;82(12):23–26 [Rogozinskaya E.Ya., Lyapina L.A. Arginin-containing peptides influence the anticoagulant and fibrinolytic activity of blood plasma *in vitro*. *Experimental and clinical pharmacology*. 2019;82(12):23–26 (in Russ.)]. DOI: 10.30906/0869-2092-2019-82-12-23-26. EDN: BVOZFF
16. Lyapina L.A., Pastorova V.E., Obergan T.Y., Samonina G.E., Ashmarin I.P., Myasoedov N.F. Comparison of anticoagulant effects of regulatory proline-containing oligopeptides. Specificity of glyprolines, semax, and selank and potential for their practical application. *Biol Bull.* 2006;33(2):153–161. DOI: 10.1134/S1062359006020099
17. Учакина О.Н., Учакин П.Н., Мясоедов Н.Ф., Андреева Л.А., Щербенко В.Э., Мезенцева М.В., Габеева М.В., Соколов О.Ю. и др. Иммуномодулирующее действие селанка у больных с тревожно-астеническими расстройствами. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2008;108(5):71–75 [Uchakina O.N., Uchakin P.N., Miasoedov N.F., Andreeva L.A., Scherbenko V.E., Mezentseva M.V., Gabaeva M.V., Sokolov O.Yu., et al. Immunomodulatory effects of selank in patients with anxiety-asthenic disorders. *S.S. Korsakov Journal of neurology and psychiatry*. 2008;108(5):71–75 (in Russ.)]
18. Флейшман М.Ю., Толстенок И.В., Иннокентьев А.А. Влияние пептида «Селанк» на уровень окислительного стресса в головном мозге и тонкой кишке белых крыс на модели черепно-мозговой травмы. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2019;39(2):46–51 [Fleyshman M.Yu., Tolstenok I.V., Innokent'ev A.A. Effects of peptide Selank on oxidative stress in the brain and thin intestine of white rats on experimental model of traumatic brain injury. *Sibirskij Nauchnyj Medicinskij Zhurnal*. 2019;39(2):46–51 (in Russ.)]. DOI: 10.15372/SSMJ20190205. EDN: IJPYOW.
19. Kolomin T.A., Agapova T.Y., Agniullin Y.V., Shram S.I., Shadrina M.I., Slominskii P.A., Limborskaya S.A., Myasoedov N.F. Changes in the Transcription Profile of the Hippocampus in Response to Administration of the Tuftsin Analog Selank. *Neurosci Behav Physiol*. 2014;44:849–855. DOI: 10.1007/s11055-014-9992-4.
20. V'yunova T.V., Andreeva L.A., Shevchenko K.V., Shevchenko V.P., Myasoedov N.F. Peptide regulation of specific ligand-receptor interactions of GABA with the plasma membranes of nerve cells. *Neurochem J.* 2014;8:259–64. DOI: 10.1134/S1819712414040114
21. Inozemtseva L.S., Karpenko E.A., Dolotov O.V., Levitskaya N.G., Kamensky A.A., Andreeva L.A., Grivennikov I.A. Intranasal administration of the peptide Selank regulates BDNF expression in the rat hippocampus *in vivo*. *Dokl Biol Sci.* 2008;421:241–243. DOI: 10.1134/s0012496608040066.

Поступила в редакцию 08.05.2024

Подписана в печать 25.12.2024

Для цитирования: Кривошлыкова М.С., Бобынцев И.И., Мишина Е.С., Ворвуль А.О., Медведева О.А., Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф. Эффекты пептида Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro на морфофункциональное состояние стенки ободочной кишки при длительном иммобилизационном стрессе. *Человек и его здоровье*. 2024;27(4):22–30. DOI: 10.21626/vestnik/2024-4/02. EDN: EUNYMK.

EFFECTS OF THR-LYS-PRO-ARG-PRO-GLY-PRO PEPTIDE ON THE MORPHOFUNCTIONAL STATE OF THE COLONIC WALL UNDER PROLONGED RESTRAINT STRESS

© Krivoshlykova M.S.¹, Bobyntsev I.I.¹, Mishina E.S.¹, Vorvul A.O.¹, Medvedeva O.A.¹, Andreeva L.A.², Myasoedov N.F.²

¹ Kursk State Medical University (KSMU)

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

² National Research Centr «Kurchatov Institute» (NRC «Kurchatov Institute»)

2, Academician Kurchatov Sq., Moscow, 123182, Russian Federation

Objective – histological examination of the structure and cellular composition of the colon wall in rats after administration of the peptide Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro under chronic immobilization stress.

Material and methods. The experiments were carried out on 45 male Wistar rats. All animals were divided into 5 groups of 9 animals each. In group 1 group, non-stressed animals received 0.9% NaCl solution; in group 2, animals were stressed and NaCl solution was administered; in groups 3, 4 and 5, stressed animals were administered tuftsin-PGP at doses of 80, 250 and 750 µg/kg, respectively. The animals were stressed for 28 consecutive days, the peptide was administered from the 15th to 28th experimental day. Histological examination of rat colon was performed, the depth of intestinal crypts and the number of goblet cells in them were determined. The number of granulocytes, plasma cells, lymphocytes, macrophages and mast cells in the lamina propria of the mucous layer was counted.

Results. Chronic stress in experimental animals (for 28 days) caused structural shifts and changes in the cellular composition of the colon wall with the development of signs of chronic inflammation in it. Application of the peptide tuftsin-PGP from day 15 to day 28 of the experiment contributed to a significant reduction in the severity of stress-induced changes in the parameters studied, with the greatest effect at a dose of 750 µg/kg.

Conclusion. Administration of tuftsin-PGP peptide at doses of 250 and 750 µg/kg on the background of stressing promotes the correction of inflammatory stress-induced morphofunctional changes in the colon wall.

Keywords: Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro peptide; Wistar rats; restraint stress; colon; inflammation.

Krivoshlykova Marina S. – Assistant Lecturer at the Department of Pharmacology, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0009-0005-2426-358X. E-mail: lew_marina@mail.ru (corresponding author)

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

Mishina Ekaterina S. – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Associate Professor at the Department of Histology, Cytology, Embryology, Head of the Laboratory of Morphology and cellular technologies, Research Institute of Experimental medicine, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-3835-0594. E-mail: mishinaes@kursksmu.net

Vorvul Anton O. – Cand. Sci. (Med.), Senior Lecturer at the Department of Pathophysiology, Senior Researcher at the Research Institute of General Pathology, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-1529-6014. E-mail: vorvul1996@mail.ru

Medvedeva Olga A. – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Head of the Department of Microbiology, Virology, Immunology, Head of the Laboratory of Microbiology and magnitobiology of the Research Institute of General Pathology, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-2889-155X. E-mail: olgafrida@rambler.ru

Andreeva Lyudmila A. – Deputy Head of the Laboratory of Molecular Pharmacology of Peptides, NRC "Kurchatov Institute", Moscow, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-3927-8590. E-mail: landr@img.ras.ru

Myasoedov Nikolay F. – Dr. Sci. (Chem.), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Molecular Pharmacology of Peptides, NRC "Kurchatov Institute", Moscow, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-1294-102X. E-mail: nfm@img.ras.ru

COMPLIANCE WITH PRINCIPLES OF ETHICS

The study was approved by the ethical committee of the Kursk State Medical University (protocol No. 8 of 06.12.2019). All experiments conformed to the ARRIVE principles and were conducted in accordance with Directive 2010/63/EU of the European Parliament and Council of the European Union on the protection of animals used for scientific purposes.

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 authors state that there is no funding for the study.

AUTHORS CONTRIBUTION

Krivoshlykova M.S. – data analysis and interpretation. Bobyntsev I.I. – concept and design development; data analysis and interpretation; justification of the manuscript or verification of critical intellectual content; final approval for publication of the manuscript. Mishina E.S. – data analysis and interpretation; verification of critical intellectual content of the manuscript. Vorvul A.O. – data analysis and interpretation. Medvedeva O.A. – concept and design development; verification of critical intellectual content of the manuscript. Andreeva L.A., Myasoedov N.F. – concept and design development.

Received 08.05.2024

Accepted 25.12.2024

For citation: Krivoshlykova M.S., Bobyntsev I.I., Mishina E.S., Vorvul A.O., Medvedeva O.A., Andreeva L.A., Myasoedov N.F. Effects of Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro peptide on the morphofunctional state of the colonic wall under prolonged restraint stress. *Humans and their health*. 2024;27(4):22–30. DOI: 10.21626/vestnik/2024-4/02. END: EUNYMK.