УДК 577.112.6:615.37:615.262.55:616.5-001 **DOI: 10.21626/vestnik/2019-1/09**

ИММУНОТРОПНЫЕ, АНТИОКСИДАНТНЫЕ И РЕПАРАТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ НОВОГО АНАЛОГА ТИМОГЕНА, МОДИФИЦИРОВАННОГО D-АЛАНИНОМ

© Смахтин М.Ю.[1], Бобынцев Я.И.[1], Корошвили В.Т.[2], Чуланова А.А.[1], Должикова И.Н.[3]

[1] **Курский государственный медицинский университет (КГМУ)**
Россия, 305041, Курская область, г. Курск, ул. К. Маркса, д. 3
[2] **Городская клиническая больница имени А.К. Ерамишанцева Департамента здравоохранения города Москвы (ГКБ им. А.К. Ерамишанцева ДЗМ)**
Россия, 129327, г. Москва, ул. Ленская, д. 15
[3] **Белгородский государственный национальный исследовательский университет (НИУ БелГУ)**
Россия, 308015, Белгородская область, Белгород, ул. Победы, д. 85

Целью исследований было выявление эффектов нового аналога тимогена, модифицированного D-аланином с С-конца пептида и имеющего формулу H_2N-L-Glu-L-Trp-D-Ala-COOH в условиях кожных ран.

Материалы и методы. Пептид вводили один раз в сутки внутрибрюшинно, десятикратно в эквимолярной тимогену (1 мкг/кг) разовой дозе 1,2 мкг/кг. Определяли фагоцитарную и кислородзависимую активности нейтрофилов крови и антиоксидантные эффекты пептида по активности супероксиддисмутазы и концентрации малонового диальдегида. Проводили гистологическое исследование кожных ран.

Результаты. Установлено, что аналог тимогена не ухудшает показатели поглотительной стадии фагоцитоза нейтрофилов крови, активности супероксиддисмутазы и количества лимфоцитов в коже по сравнению с тимогеном и сопоставимы с ним. Аналог тимогена, модифицированного D-аланином, обладает более выраженной по сравнению с тимогеном стимуляцией кислородзависимой активности нейтрофилов (НСТ-тест) и повышением количества фибробластов в коже, что свидетельствует о более выраженных иммунотропных и репаративных эффектах этого аналога.

Заключение. Благодаря введению в молекулу тимогена с С-конца аминокислоты D-Ala (D-аланина) усиливается его стимулирующее действие на кислородзависимую функцию нейтрофилов и ранозаживляющую активность.

Ключевые слова: тимоген; аналог тимогена; H_2N-L-Glu-L-Trp-D-Ala-COOH; кожные раны; функция нейтрофилов; антиоксидантная активность; репаративная регенерация кожи.

Смахтин Михаил Юрьевич – д-р. биол. наук, профессор, профессор кафедры биологической химии, КГМУ, г. Курск. E-mail: m.yu.smakhtin@mail.ru (автор, ответственный за переписку)

Бобынцев Ярослав Игоревич – студент, КГМУ, г. Курск.

Корошвили Вадим Теймуразович – врач-хирург, ГКБ им. А.К. Ерамишанцева ДЗМ, г. Москва. ORCID iD: 0000-0002-1613-1203. E-mail: koroshvili2010@yandex.ru

Чуланова Анна Александровна – заочный аспирант, ассистент кафедры биологической химии, КГМУ, г. Курск.

Должикова Ирина Николаевна – канд. биол. наук, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, НИУ БелГУ, г. Белгород. ORCID iD: 0000-0001-9534-2959. E-mail: ihcdaa@mail.ru

Возможность искусственного синтеза пептидных биорегуляторов сделала реальным создание новых высокоэффективных лекарственных препаратов пептидной природы, и сегодня они уже используются в клинической практике [2, 3, 8, 9].

При этом травматизм является одной из важнейших медико-социальных проблем для большинства стран мира. Кроме того, активация заживления кожных ран и других тканей может быть использована в спортивной медицине, в пожилом возрасте, когда процессы репаративной регенерации существенно снижены, и при плохо заживающих травмах. Поэтому применение регуляторных пептидов для стимуляции репаративной регенерации поврежденных тканей представляется перспективным научным направлением [8, 9].

Известно, что иммунная система непосредственно участвует в репаративной регенерации тканей и органов [1,10,14]. От активности фагоцитирующих клеток существенно зависит длительность раневого процесса [1]. В связи с этим представляется актуальным дальнейшее выявление эффектов пептидных иммуномодуляторов в условиях кожных ран. Одним из таких пептидов является тимоген, обладающий выраженными тимомиметическими иммуномодулирующими свойствами, у которого также обнаружен и ряд репаративных эффектов [6].

Учитывая то, что тимоген является дипептидом (глутамил-триптофан), и таким образом содержит только одну пептидную связь, перспективным могут быть исследования, направленные на выявление эффектов более устойчивых к действию протеаз его новых пептидных аналогов. Как известно, при воспалении актив-

ность протеолитических ферментов в крови существенно возрастает [12]. Предположительно введение D-аминокислот в молекулу пептида сможет защитить его от протеолиза, тем самым увеличив время полужизни, и соответственно пролонгировать эффекты [2, 3].

Цель исследования – выявление репаративных, иммунотропных и антиоксидантных эффектов нового аналога тимогена, модифицированного D-аланином, с целью создания синтетического ранозаживляющего средства пролонгированного действия с более высокой биологической активностью.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили на крысах Вистар массой 180-220 грамм. Раневой процесс моделировали под хлоралгидратным наркозом. При этом полнослойные раны стандартного размера (1 см^2) наносили на холке животных [1].

Новый аналог тимогена, имеющий формулу H_2N-L-Glu-L-Trp-D-Ala-COOH, был синтезирован в НИИ химии Санкт-Петербургского государственного университета. В качестве препарата сравнения был использован тимоген H_2N-L-Glu-L-Trp-COOH, который является общедоступным фармацевтическим средством и производится фирмой МБНПК ЦИТОМЕД ЗАО (Россия). Пептиды вводили один раз в сутки парентерально (внутрибрюшинно): тимоген в рекомендованной терапевтической дозе – 1 мкг на 1 кг массы тела [6], а аналог тимогена – пептид с общей формулой (H_2N-L-Glu-L-Trp-D-Ala-COOH вводили в эквимолярной разовой дозе – 1,2 мкг/кг. Соответствующую навеску пептида растворяли в стерильном изотоническом растворе хлорида натрия и вводили животным в обьеме 0,1 мл десятикратно (один раз в сутки) с интервалом в 24 часа между инъекциями. Последнее введение препаратов осуществляли за 12 часов до вывода животных из эксперимента. Крысам контрольной группы вводили изотонический раствор хлорида натрия в эквивалентном объеме в течение того же периода времени.

Иммунную функцию оценивали по активности нейтрофилов крови. Фагоцитарную активность нейтрофилов крови исследовали после их инкубации с латексом, определяя завершенность фагоцитоза, фагоцитарный индекс (ФИ – процент нейтрофилов, участвующих в фагоцитозе), фагоцитарное число (ФЧ – среднее количество поглощенных частиц латекса на один фагоцит, абс.) в мазках, окрашенных по Романовскому. В каждом мазке просчитывали 100 нейтрофилов [11].

Для оценки апктивности кислородзависимых механизмов защиты в фагоцитах использовали тест восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) на аппарате Multiscan MC 400 (Labsystems, Финляндия), при этом в качестве стимулятора использовали зимозан [4].

Выраженность свободнорадикальных реакций и антиоксидантное действие препаратов оценивали по содержанию в сыворотке крови малонового диальдегида (МДА) и активности супероксиддисмутазы (СОД) в крови. Уровень МДА проводили спектрофотометрически с использованием спектрофотометра «Apel 330 PD» (Япония) с использованием набора реактивов для определения ТБК-активных продуктов («Агат», Россия) [13]. Активность СОД также определяли спектрофотометрически на спектрофотометре «Apel 330 PD» (Япония) с помощью метода, основанном на определении степени торможения реакции автоокисления кверцитина. За условную единицу активности СОД принимали количество фермента, необходимое для снижения скорости окисления кверцитина на 50% [5].

Для оценки активности заживления кожных ран проводили их гистологическое исследование. Материал, взятый для исследования, фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. После обезвоживания и заливки в парафин изготавливали срезы толщиной 7-10 мкм, которые затем окрашивали гематоксилин-эозином. При морфометрии на световом микроскопе Leica CME в сосочковом слое кожи на 100 клеток определяли процентное соотношение лимфоцитов и фибробластов, как известно непосредственно участвующих в процессе ранозаживления [7].

Статистическую обработку материала проводили с помощью компьютерной программы Statistica 6.0 путем вычисления средней арифметической (M) и средней ошибки (m). Достоверность различий сравниваемых параметров между средними значениями контрольной группы и групп животных опытных серий определяли по расхождению границ доверительных интервалов и с помощью критерия Манна-Уитни при $p<0,05$ [2, 3, 8].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что в условиях кожных ран не наблюдалось достоверного повышения ФИ как при введении тимогена, так и при введении его нового аналога, модифицированного D-аланином. То есть в крови не было выявлено повышения числа нейтрофилов, участвующих в фагоцитозе (таблица 1). Но при этом наблюда-

лось повышение поглотительной активности нейтрофилов, участвующих в фагоцитозе, о чем свидетельствовало повышение ФЧ и показателя завершенности фагоцитоза как при введении тимогена, так и при введении его аналога. Причем выраженность их эффектов была сопоставима. Но в отношении кислородзависимой активности нейтрофилов, определяемой по уровню НСТ-теста, было выявлено, что новый аналог тимогена, модифицированный D-аланином, обладает более выраженным действием по сравнению с тимогеном (таблица 1).

Известно, что многие патологические процессы в тканях сопряжены с образованием активных форм кислорода, обладающих высокой окислительной способностью. Ключевым ферментом антиоксидантной защиты является супероксиддисмутаза (СОД), катализирующая обезвреживание супероксид-анион-радикала, который является первичным свободнорадикальным продуктом, вызывающим образование других радикалов и перекисное окисление липидов клеточных мембран [5, 12].

При изучении антиоксидантной активности препаратов было выявлено сопоставимое повышение активности СОД как при введении тимогена, так и при введении его нового аналога, что свидетельствует об активации первичной антиоксидантной защиты (таблица 2). В то же время по уровню МДА в этих условиях достоверных различий выявлено не было. Возможно это связано с тем, что повышается кислородзависимая активность нейтрофилов крови. То есть тем самым стимулируется образование свободных радикалов, которые из нейтрофилов проникают в плазму крови и приводят к усилению окислительных реакций. Вероятно, поэтому уровень МДА, отражающий образование конечных продуктов перекисного окисления липидов, достоверно не снижается.

Также было выявлено повышение количества лимфоцитов в коже как при введении тимогена, так и при введении его изучаемого аналога (таблица 2). Вероятно, это может быть связано с их иммунностимулирующим действием в условиях пониженной иммунной функции в условиях кожных ран [1, 6].

Пептид NH_2-L-Glu-L-Trp-D-Ala-COOH повышает число фибробластов в коже, что свидетельствует о его репаративной активности. При этом он обладает более выраженным действием по сравнению с тимогеном, для которого достоверного повышения этого показателя выявлено не было (таблица 2).

Возможно, что повышение фибробластов в коже связано с активацией иммунной функции, о чем свидетельствует увеличение лимфоцитов (вероятно и Т-хелперов), участвующих в процессах пролиферации клеток и ранозаживления [1, 10, 14]. Кроме того, повышение антибактериальной функции нейтрофилов, которые первыми из фагоцитов приходят в очаг воспаления, также сказывается на процессах ранозаживления [1].

Таблица 1

Table 1

Влияние пептида H_2N-L-Glu-L-Trp-D-Ala-COOH на активность нейтрофилов крови крыс (M±m, n=10) при внутрибрюшинном введении в условиях кожных ран

Effects of intraperitoneally injected peptide H_2N-L-Glu-L-Trp-D-Ala-COOH on rats' blood neutrophils (M±m, n=10) under conditions of skin wounds

№ п/п Group number	Условия опыта Investigation conditions	ФИ, % Phagocyte index, %	ФЧ, абс. Phagocyte number, absolute value	Завершенность фагоцитоза, % Phagocytosis completion, %	НСТ, ОП NBT-test, optical density
1	Контроль (NaCl) Control (NaCl)	67.1±3.8	4.53±0.43	66.2±1.5	0.22±0.015
2	Тимоген Thymogen	67.9±2.8	6.54±0.89*[1]	71.4±2.1*[1]	0.24±0.023
3	NH_2-L-Glu-L-Trp-D-Ala-COOH	69.6±2.5	5.7±0.54*[1]	71.9±2.3*[1]	0.29±0.009*[1,2]

Примечание: * – показывает достоверные отличия, p<0,05, а рядом стоящая цифра – номера групп сравнения; n – количество животных в группе.

Note: * – shows statistic differences in p<0.05, and nearby digit shows the group number, n- number of animals in the group.

Таблица 2

Table 2

Антиоксидантные и репаративные эффекты (M±m, n=10) пептида NH_2-L-Glu-L-Trp-D-Ala-COOH в условиях кожных ран при внутрибрюшинном введении

Antioxidant and reparative effects (M±m, n=10) of peptide NH_2-L-Glu-L-Trp-D-Ala-COOH in case of intraperitoneal injections in skin wounds

№ п/п Group number	Условия опыта Investigation conditions	Антиоксидантная функция Antioxidant function		Ранозаживляющая активность Activity of wound healing	
		Супероксид-дисмутаза, ус. ед. Superoxide dismutase, R.U.	МДА, мкмоль/л Malonic dialdehyde, μmole/L	Лимфоциты, % Lymphocytes, %	Фибробласты,% Fibroblasts, %
1	Контроль (NaCl) Control (NaCl)	2.22±0.14	2.26±0.21	20.7±1.2	29.3±1.2
2	Тимоген Thymogen	2.71±0.16*[1]	2.04±0.11	25.4±1.6*[1]	29.6±1.7
3	NH_2-Glu-Trp-D-Ala-COOH	2.93±0.17*[1]	1.98±0.19	24.6±1.4*[1]	34.7±1.5*[1,2]

Примечание: * – показывает достоверные отличия, p<0,05, а рядом стоящая цифра – номера групп сравнения; n – количество животных в группе.

Note: * – shows statistic differences in p<0.05, and nearby digit shows the group number, n- number of animals in the group.

Обобщая проведенные исследования, можно говорить о повышении активности препарата по ряду показателей, при введении в его структуру D-аланина. При этом снижения активности не было выявлено ни по одному из исследуемых показателей. А повышение наблюдалось по уровню НСТ-теста, то есть по уровню кислородзависимой активности нейтрофилов, и по числу фибробластов в коже, что свидетельствует о его более выраженной иммуностимулирующей и репаративной активности.

Таким образом, благодаря введению в молекулу тимогена с С-конца аминокислоты D-Ala (D-аланина) усиливается кислородзависимая активность нейтрофилов, а также ранозаживляющая активность, скорее всего и связанная с этим. Вероятным механизмом отмеченных изменений является повышение устойчивости молекул пептида к действию протеаз вследствие введения D-аминокислот в его состав.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование выполнено с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/EEC) и Хельсинкской декларации. Исследование одобрено Региональным этическим комитетом (протокол заседания РЭК № 1 от 25 января 2013 года).

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Смахтин М.Ю. – участие в разработке концепции и дизайна, обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение рукописи для публикации. Бобынцев Я.И. – участие в разработке концепции и дизайна, выполнение экспериментов, анализ и интерпретация данных, написание рукописи статьи. Корошвили В.Т. – участие в разработке концепции и дизайна, выполнение экспериментов, анализ и интерпретация данных. Чуланова А.А. – участие в разработке концепции и дизайна, выполнение экспериментов, анализ и интерпретация данных. Должикова И.Н. – участие в разработке концепции и дизайна, обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение рукописи для публикации.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Амирасланов Ю.А., Матасов В.М., Хотинян В.Ф. *Лечение ран в управляемой абактериальной среде.* Москва: издательство неизвестно, 1981. 157 с. [Amiraslanov Yu.A., Matasov V.M., Khotinyan V.F. *Treatment of wounds in a controlled abacterial environment.* Moscow: publisher unknown, 1981. 157 p. (in Russ.)]
2. Бобынцев И.И., Чернышёва О.И., Долгинцев М.Е., Смахтин М.Ю., Белых А.Е. Влияние пептида Gly-His-Lys и его аналогов на болевую чувствительность у мышей. *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2015; 78(1): 13-15 [Bobyntsev I.I., Chernysheva O.I., Dolgintsev M.E., Smakhtin M.Yu., Belykh A.E. Effect of Gly-His-Lys Peptide and Its An-

alogs on Pain Sensitivity in Mice. *Russian Journal of Experimental and Clinical Pharmacology.* 2015; 78(1): 13-15 (in Russ.)]

3. Бобынцев И.И., Чернышёва О.И., Долгинцев М.Е., Смахтин М.Ю., Белых А.Е. Исследование анксиолитических эффектов пептида Gly-His-Lys и его аналогов. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2014; 158(12): 684-687 [Bobyntsev I.I., Chernysheva O.I., Dolgintsev M.E., Smakhtin M.Y., Belykh A.E. Anxiolytic effects of Gly-His-Lys peptide and its analogs. *Bull Exp Biol Med.* 2015; 158(6):726-728. DOI: 10.1007/s10517-015-2847-3]
4. Зинкин В.Ю., Годков М.А. Способ количественной оценки кислородзависимого метаболизма нейтрофильных гранулоцитов человека. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2004; 8: 26-29 [Zinkin V.Yu., Godkov M.A. A method of quantitative evaluation of oxygen-dependent metabolism of human neutrophil granulocytes. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2004; 8: 26-29 (in Russ.)]
5. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.В. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина. *Вопросы медицинской химии.* 1990; 36(2): 88-91 [Kostyuk V.A., Potapovich A.I., Kovaleva Zh.V. A simple and sensitive method of determination of superoxide dismutase activity based on the reaction of quercetin oxidation. *Voprosy meditsinskoy khimii.* 1990; 36(2): 88-91 (in Russ.)]
6. *Регистр лекарственных средств России (РЛС). Энциклопедия лекарств, 2004.* 2004. 11 выпуск. 1540 с. [*The Register of Medicines of Russia (RLS). Encyclopedia of Drugs, 2004.* 2004. Issue 11. 1540 p. (in Russ.)]
7. Савостьянов Г.А. *Основы структурной гистологии. Пространственная организация эпителиев.* Санкт-Петербург: Наука, 2005. 375 с. [Savost'yanov G.A. *Basics of structural histology. Spatial organization of epithelia.* Saint-Petersburg: Nauka, 2005. 375 p. (in Russ.)]
8. Смахтин М.Ю., Конопля А.И., Швейнов И.А. Стимуляция репаративной регенерации фактором роста клеток печени и его иммунометаболические эффекты в условиях гепатопатии, вызванной гидразином. *Вестник новых медицинских технологий.* 2003; (1): 22-23 [Smakhtin M.Yu., Konoplya A.I., Shveynov I.A. Stimulation of reparative regeneration by liver cell growth factor and its immunometabolic effects in hepatopathy caused by hydrazine. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy.* 2003; (1): 22-23 (in Russ.)]
9. Смахтин М.Ю., Конопля А.И., Швейнов И.А. Применение пептида Gly-His-Lys в условиях хронического токсического поражения печени. *Вестник новых медицинских технологий.* 2003; (1): 37-38 [Smakhtin M.Yu., Konoplya A.I., Shveynov I.A. The use of Gly-His-Lys peptide in conditions of chronic toxic liver damage. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy.* 2003; (1): 37-38 (in Russ.)]
10. Смахтин М.Ю., Курцева А.А., Чердаков В.Ю. Иммунорегуляторное и гепатотропное действие пептидов Gly-His-Lys, DSLET и АКТГ $_{4-10}$. *Вестник Уральской медицинской академической науки.* 2006. 14(3-1): 223 [Smakhtin M.Yu., Kurtseva A.A., Cherdakov V.Yu. Immunoregulatory and hepatotropic effects of Gly-His-Lys, DSLET and ACTH $_{4-10}$ peptides. *Vestnik Ural'skoy meditsinskoy akademicheskoy nauki.* 2006. 14(3-1): 223 (in Russ.)]
11. Фримель Г. *Иммунологические методы.* Москва: Медицина, 1987. 472 с. [Frimel' G. *Immunological methods.* Moscow: Meditsina, 1987. 472 p. (in Russ.)]
12. Фурман Ю.В., Смахтин М.Ю. Некоторые функции протеолитических ферментов в норме и при патологии. *Актуальные проблемы социально-гуманитарного и научно-технического знания.* 2017; 4(13): 3-4 [Furman Yu.V., Smakhtin M.Yu. Some functions of proteolytic enzymes in normal and pathological conditions. *Aktual'nyye problemy sotsial'no-gumanitarnogo i nauchno-tekhnicheskogo znaniya.* 2017; 4(13): 3-4 (in Russ.)]
13. Mihara M., Uchiyama M., Fukuzawa K. Thiobarbituric acid value on fuch homogenate of rat as parameter of lipid peroxidation in aging, CCl_4 intoxication and vitamin E definienes. *Biochem Med.* 1980; 23(3):302-311.
14. Smakhtin M.Yu., Sever'yanova L.A., Konoplya A.I., Shveinov I.A. Tripeptide Gly-His-Lys is a hepatotropic immunosuppressor. *Bull Exp Biol Med.* 2002; 133(6): 586-587.

Поступила в редакцию 04.08.2018
Подписана в печать 21.03.2019

Для цитирования: Смахтин М.Ю., Бобынцев Я.И., Корошвили В.Т., Чуланова А.А., Должикова И.Н. Иммунотропные, антиоксидантные и репаративные эффекты нового аналога тимогена, модифицированного D-аланином. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье».* 2019;(1):77–82. DOI: 10.21626/vestnik/2019-1/09.

IMMUNOTROPIC, ANTIOXIDANT AND REPARATIVE EFFECTS OF A NEW THYMOGEN ANALOGUE MODIFIED WITH D-ALANINE

© Smakhtin M.Yu.[1], Bobyncev Ya.I.[1], Koroshvili V.T.[2], Chulanova A.A.[1], Dolzhikova I.N.[3]

[1] Kursk State Medical University (KSMU)
3, K. Marx st., Kursk, Kursk region, 305041, Russian Federation
A.K. Eramishancev Moscow City Clinical Hospital (A.K. Eramishancev MCCH)
15, Lenskaya st., Moscow, 129327, Russian Federation
[3] Belgorod State National Research University (NRU BelSU)
85, Pobedy st., Belgorod, Belgorod region, 308015, Russian Federation

Objective. The aim of the study was the investigation of the effects of a new Thymogen analogue modified with D-alanine from the C-terminus of the peptide and having the formula H_2N-L-Glu-L-Trp-D-Ala-COOH under conditions of skin wounds.

Materials and methods. The peptide was administered once a day, parenterally (intraperitoneally) in an single dose of 1.2 μg / kg which is tenfold equimolar to Thymogen (1 μg / kg). The values of phagocytic and oxygen-dependent activities of blood neutrophils and levels of superoxide dismutase and malonic dialdehyde were detected. Also the histological investigation of skin wounds was carried out.

Results. It has been established that an analogue of Thymogen does not impair the indicators of the absorption stage of blood neutrophils phagocytosis, the activity of superoxide dismutase and the number of lymphocytes in the skin in comparison with Thymogen and those are comparable to it. The Thymogen analogue, modified with D-alanine, has a more pronounced stimulation of oxygen-dependent neutrophil activity (NBT-test) and an increase in the number of fibroblasts in the skin, indicating a more pronounced immunotropic and reparative effects of this analogue.

Conclusion. Thus, due to its introduction of the amino acid D-Ala (D-alanine) from the C-terminus into the Thymogen molecule , its stimulating effect on the oxygen-dependent function of neutrophils and wound-healing activity increases.

Keywords: Thymogen; Thymogen analogue; H_2N-L-Glu-L-Trp-D-Ala-COOH; skin wounds; function of neutrophils; antioxidant activity; skin reparative regeneration.

Smakhtin Mihail Yu. – DBSc, Professor, Professor of Department of Biological Chemistry, KSMU, Kursk, Russian Federation. E-mail: m.yu.smakhtin@mail.ru (correspondence author)

Bobyncev Yaroslav I. – student, KSMU, Kursk, Russian Federation.

Koroshvili Vadim T. – surgeon, A.K. Eramishancev MCCH, Moscow, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-1613-1203. E-mail: koroshvili2010@yandex.ru

Chulanova Anna A. – Postgraduate Student, Assistant of Department of Biological Chemistry, KSMU, Kursk, Russian Federation.

Dolzhikova Irina N. – PhD in Medicine, Assistant Professor of Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, NRU BelSU, Belgorod, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-9534-2959. E-mail: ihcdaa@mail.ru

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.

CONFORMITY WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

The study was carried out in compliance with the principles of humanity set forth in the EU Directive 86/609/EEC and the Declaration of Helsinki. The study was approved by the Ethical Committee under Kursk state medical university (Protocol No. 1 of 25.01.2013).

AUTHORS CONTRIBUTION

Smakhtin M.Yu. – participation in developing the research concept and design, justification of the manuscript and critical revision of the manuscript for important intellectual content, final approval of the manuscript for publication; Bobyncev Ya.I. – participation in developing the research concept and design, performing the experiments, data analyzing and the results interpreting, writing the manuscript; Koroshvili V.T. – participation in developing the research concept and design, performing the experiments, data analyzing and the results interpreting; Chulanova A.A. – participation in developing the research concept and design, performing the experiments, data analyzing and the results interpreting; Dolzhikova I.N. – participation in developing the research concept and design, justification of the manuscript and critical revision of the manuscript for important intellectual content, final approval of the manuscript for publication.

Received 04.08.2018
Accepted 21.03.2019

For citation: Smakhtin M.Yu., Bobyncev Ya.I., Koroshvili V.T., Chulanova A.A., Dolzhikova I.N. Immunotropic, antioxidant and reparative effects of a new thymogen analogue modified with D-alanine. *Kurskiy nauchno-prakticheskiy vestnik "Chelovek i ego zdorov'ye" = Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health".* 2019;(1):77–82. DOI: 10.21626/vestnik/2019-1/09.