

РЕГЕНЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПЕПТИДОВ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПЕРЕЛОМА КОСТЕЙ

© Смахтин М.Ю.¹, Бобынцев И.И.¹, Дудка В.Т.¹, Чердаков В.Ю.², Ворвуль А.О.¹, Чуланова А.А.¹, Смахтина А.М.¹¹ Курский государственный медицинский университет (КГМУ)

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

² Курская городская больница № 3 (КГБ № 3)

Россия, 305018, Курская область, г. Курск, ул. Обоянская, д. 16

Целью исследования было провести сравнительную оценку активности репаративного остеогенеза и функции нейтрофилов при введении в область экспериментального перелома пептидов тимогена, даларгина, Gly-His-Lys (ГНК) и их парных комбинаций.

Материалы и методы. Пептиды вводили крысам Вистар в область перелома в течение десяти дней со дня травмы. Использовались эквивалентные разовые дозы препаратов: даларгин - 1,2 мкг/кг, а тимоген и ГНК вводили в дозе 0,5 мкг/кг массы. Репаративную активность остеогенеза оценивали гистологически и рентгенологически. Определяли фагоцитарную и кислородзависимую активности нейтрофилов крови.

Результаты. Все пептиды и их парные сочетания повышали активность репаративного остеогенеза. Еще более выраженная активность репарации костной ткани наблюдалась при введении пептида ГНК в комбинации с даларгином или тимогеном с максимальной выраженностью у животных, получавших сочетанные введения ГНК и даларгина. Также перелом бедренной кости у экспериментальных крыс сопровождался снижением фагоцитарной и кислородзависимой активностей нейтрофилов. Пептиды повышали показатели активности нейтрофилов, более выраженно при использовании парных сочетаний пептидов и с проявлением корригирующего эффекта у животных, получавших сочетанные введения ГНК и даларгина.

Заключение. При переломах трубчатых костей благодаря синергичному действию пептидов Gly-His-Lys, тимогена и даларгина происходит существенное усиление репаративного и стимулирующего функцию нейтрофилов эффектов, что может быть использовано для активации репаративного остеогенеза и бактерицидной активности нейтрофилов.

Ключевые слова: пептид Gly-His-Lys (ГНК); тимоген; даларгин; переломы костей; функция нейтрофилов; репаративный остеогенез.

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 (автор, ответственный за переписку)

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

Дудка Виктор Тарасович – канд. мед. наук, доцент, зав. кафедрой патологической анатомии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0001-9392-5288. E-mail: dudka@mail.ru

Чердаков Виктор Юрьевич – канд. мед. наук, врач-травматолог, КГБ № 3, г. Курск. ORCID iD: 0000-0002-2837-9652. E-mail: vic.cherdacov@rambler.ru

Ворвуль Антон Олегович – очный аспирант кафедры патофизиологии, мл. науч. сотрудник НИИ общей патологии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0002-1529-6014. E-mail: vorvul1996@mail.ru

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

Смахтина Ангелина Михайловна – студентка, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0001-8458-3925. E-mail: smaxtina2012@yandex.ru

Одним из перспективных направлений развития современной медицины является исследование механизмов регуляции регенераторных процессов, в том числе разработка новых способов стимуляции репаративного остеогенеза. Они могут найти применение в спортивной медицине для ускорения восстановления опорно-двигательного аппарата спортсмена, при лечении переломов у пожилых людей и пациентов с сопутствующими заболеваниями, в случае снижения активности репаративных процессов [5]. Известно, что в этих случаях необходима не только адекватная фиксация костных отломков, но и применение новых методов стимуляции репарации костей.

Восстановительные процессы, в том числе и костной ткани, находятся под контролем нейро-эндокринной и иммунной систем организма с активным участием пептидных молекул, благодаря которым они взаимодействуют [1]. К числу наиболее активных регуляторных пептидов с выраженной полифункциональностью относятся опиодные пептиды, в частности, энкефалины, рецепторы к которым выявлены во многих тканях [4] и на основе синтетического аналога лей-энкефалина был создан фармакологический препарат с регенераторным действием даларгин.

Также имеются данные о выраженном влиянии на репаративные процессы опорно-

двигательного аппарата пептидного иммуномодулятора тимогена [2] и пептида Gly-His-Lys (ГНК), который непосредственно стимулирует процессы роста и дифференцировки клеток [10, 11]. При этом невыясненными остаются вопросы потенцирования или синергичного действия регуляторных пептидов [1], в связи с чем целесообразно изучение эффектов комбинированного введения пептидных молекул.

Необходимо отметить, что существенное значение для проявления выраженности эффектов регуляторных пептидов имеет способ их введения. Поэтому важное значение может иметь скорость достижения препаратом травмированной области для последующего влияния на внутрикостные рецепторы и скорость внутрикостного кровотока [9].

Цель исследования – провести сравнительную оценку активности репаративного остеогенеза и функции нейтрофилов при введении в область экспериментального перелома пептидов тимогена, даларгина, Gly-His-Lys и их парных комбинаций.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования выполнены на крысах-самцах Вистар массой 180-220 г. С использованием хлоралгидратного наркоза (300 мг/кг массы животного) проводили закрытый перелом правой бедренной кости с последующей интрамедуллярной фиксацией кости спицей [7].

Пептиды вводили в область перелома (внутрикостно) в объеме 0,1 мл в течение 10 дней со дня травмы. Использовались эквимолярные разовые дозы препаратов. Даларгин – 1,2 мкг/кг массы (Микроген НПО ФГУП, Россия), а тимоген – (МБНПК ЦИТОМЕД ЗАО, Россия) и экспериментальный репаративный пептид ГНК (синтезирован в НИИ химии Санкт-Петербургского государственного университета) вводили в дозе 0,5 мкг/кг массы. ГНК взвешивали и растворяли навеску в изотоничном растворе (NaCl). Крысы контрольной группы получали физиологический раствор. Через 10 суток после перелома животных выводили из эксперимента.

Лапы крыс фиксировали в 10% нейтральном формалине на 0,1 М фосфатном буфере pH=7,2. Готовили парафиновые срезы и окрашивали гематоксилином и эозином. После этого изучали морфологическую картину наружной костной мозоли. Репаративную активность остеогенеза оценивали гистологически и рентгенологически.

После взятия крови у животных, выделяли нейтрофилы, используя фикоколл-верографиксированный градиент. После инкубации

с латексом [8] исследовали фагоцитарную активность нейтрофилов крови. Для оценки фагоцитарной активности нейтрофилов использовали фагоцитарный индекс (ФИ) и фагоцитарное число (ФЧ). ФИ (процент нейтрофилов, участвующих в фагоцитозе) и ФЧ (среднее количество поглощенных частиц латекса на один фагоцит) определяли в мазках, окрашенных по Романовскому [8]. В каждой мазке просчитывали 100 нейтрофилов. После определения ФИ и ФЧ вычисляли индекс активации фагоцитоза (ИАФ) [8].

Активность кислородзависимых механизмов нейтрофилов крови оценивали с помощью теста восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) на аппарате Multiscan MC 400 (Labsystems, Финляндия) [3]. Параллельно со спонтанным фагоцитозом, ставили стимулированную зимозаном реакцию. Об уровне функционального резерва нейтрофилов судили по коэффициенту КАО (оз/с) [3].

Полученные цифровые данные обрабатывались с помощью встроенных алгоритмов пакета анализа приложения для персонального компьютера STATISTICA v.13 (StatSoft, США). Достоверность различий сравниваемых параметров между средними значениями контроля и других групп животных определяли по перекрытию областей интервалов при $p < 0,05$ и с помощью критерия Манна-Уитни для двух независимых выборок (по сравнению с контрольной группой животных с переломом или без него).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования гистологических срезов костных мозолей показали, что все пептиды и их парные сочетания повышали активность репаративного остеогенеза по сравнению с животными, получавшими физиологический раствор (рис. 1). Костная мозоль у этих животных представляла собой васкуляризованную ткань из остеогенных клеток, в дистально расположенных от места перелома отделах. В глубине ее наблюдались новообразованные остеобластами костные трабекулы.

Репаративная активность остеогенеза повышалась при использовании пептида ГНК (рис. 2). В препаратах этих животных определяются новообразованные костные трабекулы и формирование губчатой кости. В группах животных, получавших даларгин и тимоген, репаративные изменения были менее выражены.

Еще более выраженная активность репарации костной ткани наблюдалась при введении

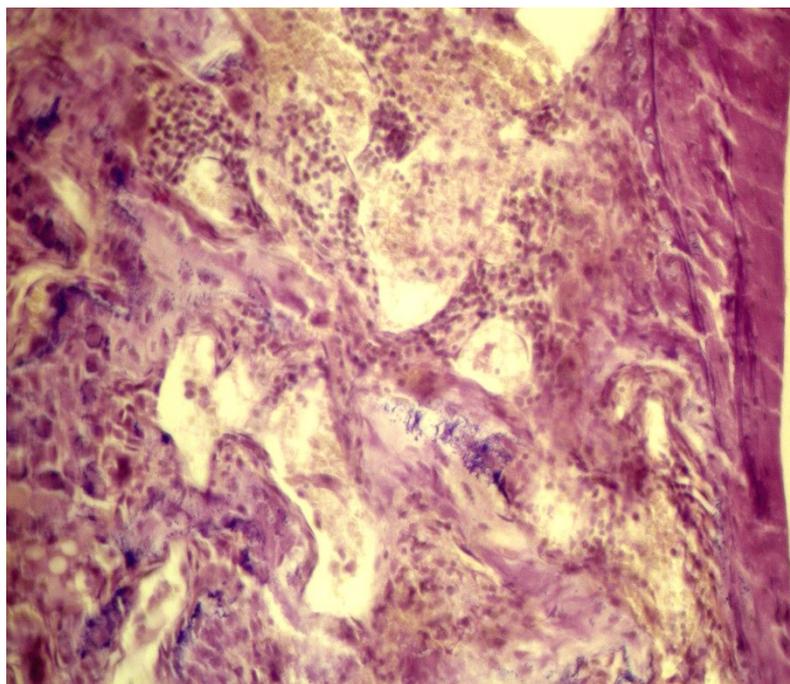


Рис. 1. Фотография гистологического среза наружной костной мозоли лабораторных крыс, получавших физиологический раствор (контроль), через 10 суток после перелома бедренной кости (фото). Определяются новообразованные костные трабекулы, непосредственно связанные с костным отломком (микрофото, окраска гематоксилин + эозин, x140).

Fig. 1. Photograph of a histological section of the external bone callus of laboratory rats treated with physiological saline (control) 10 days after femur fracture (photo). Newly formed bone trabeculae directly connected to the bone fragment are detected (microphotograph, hematoxylin + eosin staining, x140).

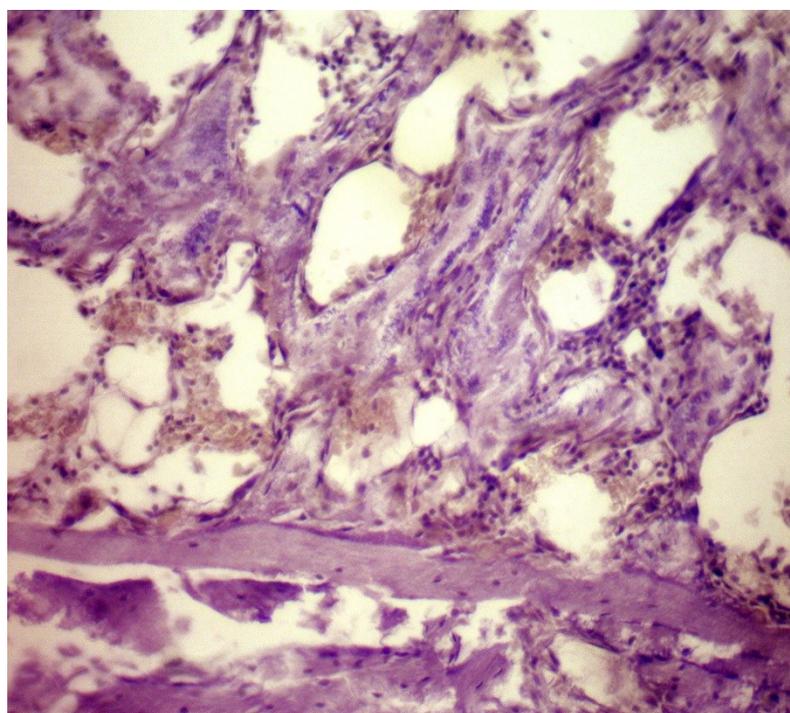


Рис. 2. Гистология наружной костной мозоли у животных, получавших пептид GHK через 10 суток после перелома бедренной кости (фото). Определяются новообразованные костные трабекулы, формирование губчатой кости (микрофото, окраска гематоксилин + эозин, x200).

Fig. 2. Histology of the external bone callus in animals receiving the peptide GHK 10 days after the fracture of the femur (photo). Newly formed bone trabeculae and the formation of spongy bone are determined (microphoto, hematoxylin + eosin color, x200).

пептида ГНК в комбинации с даларгином или тимогеном с максимальной выраженностью у животных, получавших сочетанные введения ГНК и даларгина (рис. 3). У этих крыс в области перелома наружная костная мозоль представляла собой два слоя: слой новообразованных остеообластами костных трабекул, над костными отломками, снаружи – слой остеогенных клеток с мелкими скоплениями хондроцитов, покрытый фиброзным слоем надкостницы. В дистальных от линии перелома отделах костной мозоли обнаруживалась новообразованная костная ткань с надкостницей и с перестройкой в компактную кость.

Рентгенологически также была подтверждена наибольшая репаративная активность комбинаций ГНК с даларгином или тимогеном, где через 10 дней линия перелома практически не наблюдалась (рис. 4).

В ходе изучения иммунореактивности экспериментальных животных было установлено, что после перелома наблюдается резкое ослабление поглотительной активности нейтрофилов крови, о чем свидетельствовало снижение всех исследованных показателей ФИ, ФЧ и ИАФ (табл. 1). Раздельное введение пептидов ГНК, даларгина и тимогена сопровождалось повышением фагоцитарной активности нейтрофилов, и судя по перекрытию областей интервалов, более выраженной у тимогена. Несмотря на проявление ими такой активности ни один из выбранных пептидов, введенных по отдельности, не нормализовал уровень поглотительной стадии фагоцитоза нейтрофилов крови в условиях экспериментального перелома. Десятикратные инъекции комбинаций ГНК+даларгин и ГНК+тимоген нормализовали изученные показатели (табл. 1).

Также перелом бедренной кости у экспериментальных крыс сопровождался ослаблением кислородзависимой активности нейтрофилов (рис. 5). Было установлено существенное снижение индекса КАо, отражающего функциональный резерв кислородзависимой активности нейтрофилов [3]. Инъекции пептидов тимогена и даларгина, но не ГНК, стимулировали эту функцию нейтрофилов и были сопоставимы. Но при этом коррекции этого показателя не наблюдалось. Эффекты совместного введения ГНК +тимоген и тимоген+даларгин также были сопоставимы и не отличались от введения препаратов по отдельности, тогда как при использовании комбинации ГНК +даларгин наблюдалось усиление эффекта, что сопровождалось коррекцией индекса КАо (рис. 5)

Поэтому при совместном применении пептидов ГНК, тимогена и даларгина наблюдалось их синергичное стимулирующее действие пре-

имущественно в отношении поглотительной стадии фагоцитоза нейтрофилов. Тогда как в отношении кислородзависимой активности нейтрофилов отмечалось усиление как стимулированной, так и спонтанной реакций НСТ-теста в группах животных, где в парных сочетаниях применялся тимоген, как известно, стимулирующий функции фагоцитов [6]. Скорее всего с этим связано отсутствие дальнейшего повышения коэффициента КАо, который рассчитывается как отношение стимулированной и спонтанной реакции НСТ-теста и отражает резерв усиления бактерицидной активности этих реакций при контакте с различными возбудителями. Именно этот показатель восстанавливается до уровня животных без перелома при использовании комбинации ГНК и даларгина, что свидетельствует о проявлении синергичного действия этих пептидов.

Выраженная репаративная активность комбинации ГНК и даларгина могла быть обусловлена не только непосредственным действием двух пептидов-репаративов [5, 10, 11] на клетки костной ткани, но и сочетанием синергичной иммунокорректирующей активности в отношении функции нейтрофилов, которые, как известно, первыми из фагоцитов приходят в зону воспаления [8] и от активности которых зависят и восстановительные процессы поврежденных тканей, в том числе и костной. Кроме того, нельзя исключить и проявление стресс-лимитирующего действия даларгина [4].

Перелом костей сопровождается выраженной иммуносупрессией. Это объясняет применение тимогена в этих условиях, обладающего иммуномодулирующими свойствами [6]. Вероятно, сочетание его с такими репаративами как пептид ГНК или даларгин сопровождается синергичным воздействием на процессы репаративного остеогенеза, и через иммунные механизмы, и через активацию репарации, благодаря непосредственному действию этих пептидов на костную ткань [6].

Эффект прямого воздействия на костную ткань может быть использован для создания новых, стимулирующих репарацию материалов и имплантов, необходимых для травматологии и хирургии. Поэтому для введения было выбрано местное (внутрикостное) введение пептидов в область перелома. Введение лекарственных препаратов непосредственно в губчатую ткань позволяет воздействовать на внутрикостный кровоток и внутрикостные рецепторы. Препарат поступает как можно ближе к патологическому очагу. Это позволяет рассчитывать на его более выраженные и пролонгированные эффекты [9]. Кроме того, этот способ введения применяется при невозможности внутривенного введения

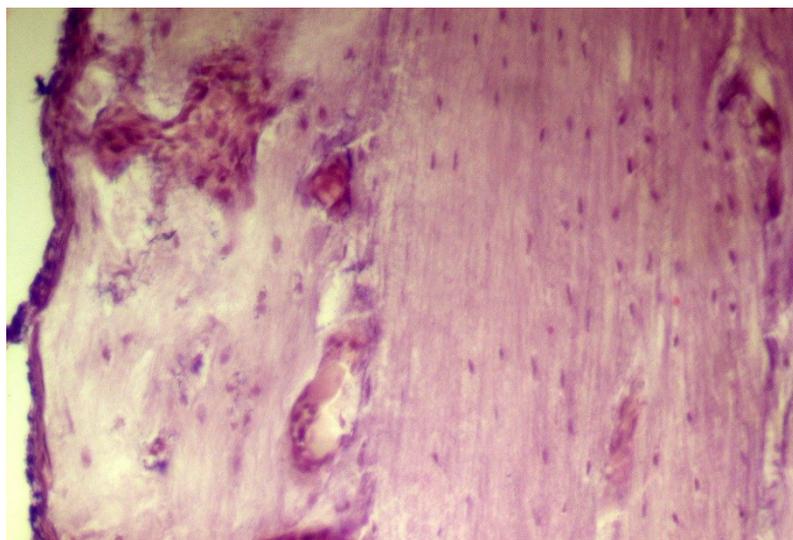


Рис. 3. Гистологическая картина наружной костной мозоли у животных, получавших комбинацию пептидов ГНК+даларгин, через 10 суток после перелома бедренной кости (фото) при введении в область перелома. В тесной связи с тканью костного отломка определяется новообразованная костная ткань с надкостницей и с явлениями перестройки в компактную кость (микрофото, окраска гематоксилин-эозином, x200).

Fig. 3. Histological picture of the external bone callus in animals treated with the combination of GnA peptides+dalargin 10 days after femur fracture (photo) when injected into the fracture area. In close connection with the bone fragment tissue, newly formed bone tissue with periosteum and with the phenomena of rearrangement into compact bone was detected (microphotograph, hematoxylin-eosin staining, x200).

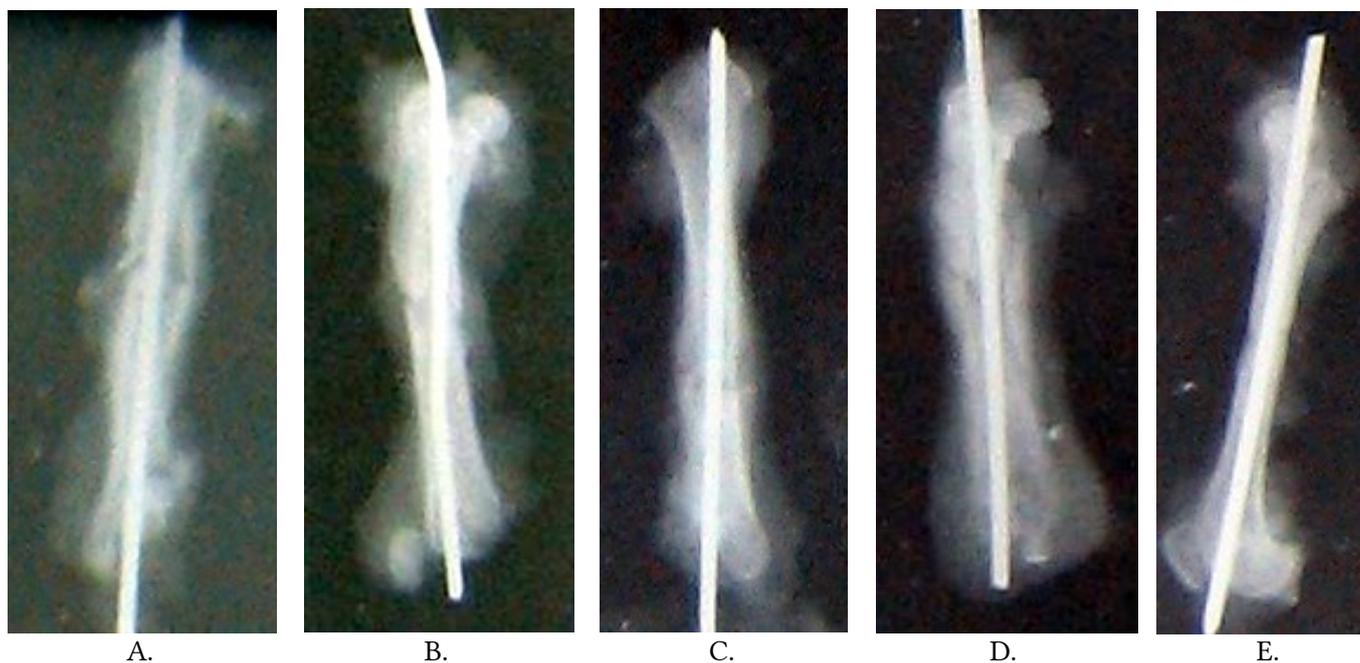


Рис. 4. Фотографии рентгенограмм бедренных костей лабораторных крыс через 10 суток после моделирования перелома при местном (внутрикостном) введении пептидов. А – введение физиологического раствора (контроль), В – введение пептида ГНК, С – введение комбинации пептидов тимоген+даларгин, D – введение комбинации пептидов ГНК + тимоген, E – введение комбинации пептидов ГНК+даларгин.

Fig. 4. The radiograph images of the femur bones of laboratory rats 10 days after simulated fracture with local (intraosseous) injection of peptides. A – administration of saline (control), B – administration of GHK peptide, C – administration of the peptide combination thymogen+dalargin, D – administration of the peptide combination GHK+thymogen, E – administration of the peptide combination GHK+dalargin.

Таблица 1

Table 1

Влияние пептидов Gly-His-Lys (ГНК), тимогена и даларгина, а также их комбинаций на фагоцитарную активность ($M \pm m$, $n=8$) нейтрофилов крови при местном (внутрикостном) введении в область перелома
Effects of peptides Gly-His-Lys (GHK), Thymogen and Dalargin and their combinations on phagocyte activity ($M \pm m$, $n=8$) of blood neutrophils with local administration into the fracture area.

Условия опыта Investigation conditions	Фагоцитарный индекс, % Phagocyte index, %	Фагоцитарное число, абс. Phagocyte number, absolute value	Индекс активации фагоцитоза Phagocytosis activation index
Животные без перелома (введение физиологического раствора) Animals without fracture (saline injection)	70.7±7.0	4.0±0.3	2.7±0.2
Животные с экспериментальным переломом Animals with experimental fracture			
Введение физиологического раствора Saline injection	30.8±3.1 ^{*1}	1.3±0.1 ^{*1}	0.4±0.03 ^{*1}
Введение ГНК GHK injection	40.7±3.2 ^{*1,2}	2.7±0.2 ^{*1,2}	1.2±0.1 ^{*1,2}
Введение даларгина Dalargin injection	40.5±3.0 ^{*1,2}	2.7±0.2 ^{*1,2}	1.3±0.1 ^{*1,2}
Введение тимогена Thymogen injection	53.2±4.1 ^{*1,2}	2.8±0.2 ^{*1,2}	1.7±0.1 ^{*1,2}
Введение комбинации ГНК+даларгин Injection of GHK + Dalargin combination	71.3±5.1 ^{*2}	3.9±0.3 ^{*2}	2.4±0.3 ^{*2}
Введение комбинации ГНК+тимоген Injection of GHK + Thymogen combination	75.3±5.9 ^{*2}	4.0±0.3 ^{*2}	2.6±0.2 ^{*2}
Введение комбинации тимоген + даларгин Injection of Thymogen + Dalargin combination	54.6±5.1 ^{*1,2}	2.8±0.2 ^{*1,2}	1.8±0.1 ^{*1,2}

Примечание: * - достоверность отличий ($p < 0,05$), цифры рядом со звездочкой показывают по отношению к показателю какой группы эти различия достоверны (1 – по сравнению с животными без перелома, 2 – по сравнению с группой контроля (перелом)), n – количество животных в группах.

Note: * – shows statistic differences in $p < 0.05$ and nearby digit shows the group number, (1 – compared to animals without fracture, 2 – compared to control group (fracture)), n – number of animals in the group

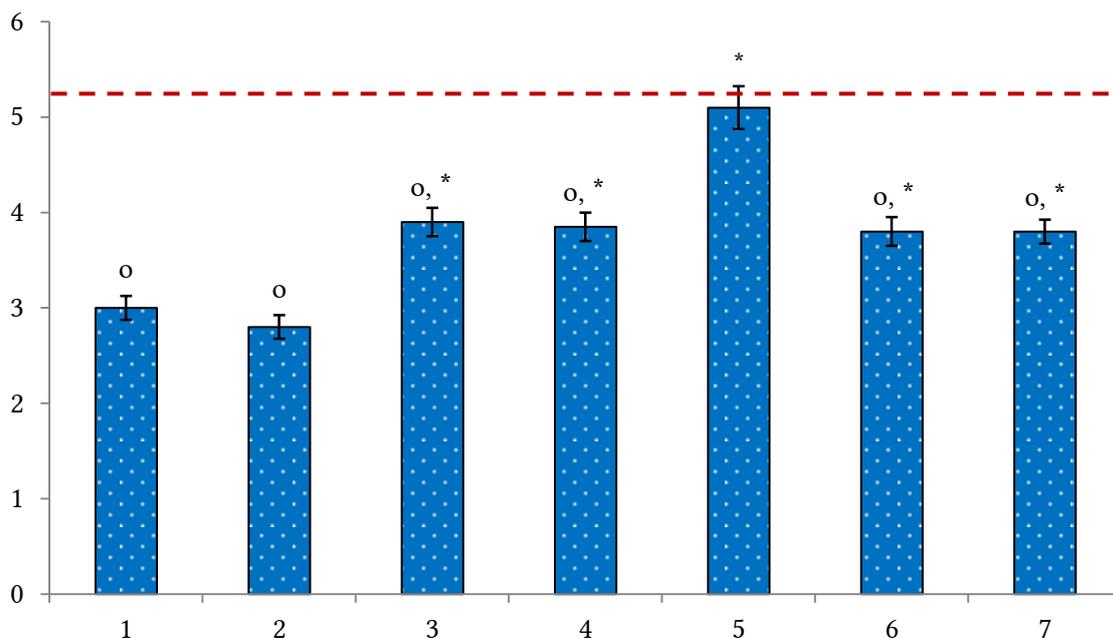


Рис. 5. Влияние регуляторных пептидов ГНК, тимогена и даларгина, а также их комбинаций на уровень функционального резерва ($M \pm m$, $n=8$) нейтрофилов крови (коэффициент КАо) при местном введении в область перелома. 1 – введение физиологического раствора (контроль); 2 – введение ГНК; 3 – ведение даларгина; 4 – введение тимогена; 5 – введение ГНК+даларгин; 6 – введение ГНК+тимоген; 7 – введение тимоген+даларгин.

Примечание: пунктирная линия – уровень животных без перелома (группа – 0). Столбики – животные с экспериментальным переломом. * – $p < 0,05$, различия достоверны по отношению к группе контроля с переломом; o – $p < 0,05$, различия достоверны по отношению к группе животных без перелома

Fig. 5. Effect of the regulatory peptides GHK, thymogen and dalargin and their combinations on the level of functional reserve ($M \pm m$, $n=8$) of blood neutrophils (KAo coefficient) when applied locally to the fracture area. 1 – Administration of physiological saline (control); 2 – GHK administration; 3 – Administration of Dalargin; 4 – Administration of Thymogen; 5 – Administration of GHK+Dalargin; 6 – Administration of GHK+Thymogen; 7 – Administration of Thymogen+Dalargin.

Note: dotted line – level of animals without fracture (group – 0). Columns – animals with experimental fracture. * – $p < 0,05$, differences are significant with respect to control group with fracture; o – $p < 0,05$, differences are significant with respect to group of animals without fracture.

препаратов (ожоги, деформация конечностей, спадение подкожных вен, детский возраст) [9]. Поэтому проявление эффектов регуляторными пептидами при местном введении позитивным образом сказывается на их возможном применении в дальнейшем.

Таким образом, при переломах трубчатых костей благодаря синергичному местному действию пептидов Gly-His-Lys, тимогена и даларгина происходит существенное усиление репаративного и стимулирующего функцию нейтрофилов эффектов, что может быть использовано для активации репаративного остеогенеза и бактерицидной активности нейтрофилов.

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/ЕЕС) и Хельсинкской декларации. Исследование одобрено Региональным этическим комитетом (протокол № 6 от 06 ноября 2018 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 И.И. – участие в разработке концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, написание рукописи статьи; Дудка В.Т. – выполнение гистологических исследований, анализ и интерпретация данных; Чердаков В.Ю. – участие в разработке концепции и дизайна, выполнение экспери-

ментов, анализ и интерпретация данных; Ворвуль А.О. – статистическая обработка данных; Чуланова А.А. – участие в разработке концепции и дизайна, обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение рукописи для публикации; Смахтина А.М. – выполнение экспериментов, анализ и интерпретация данных.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Акмаев И.Г. Современные представления о взаимодействиях регулирующих систем: нервной, эндокринной и иммунной. *Успехи физиологических наук*. 1996;27(1):3–20 [Akmaev I.G. Current concepts of the interactions of regulating systems: nervous, endocrine and immune. *Progress in physiological science*. 1996;27(1):3–20 (in Russ.)]
2. Бердюгина О.В. *Иммунологическое прогнозирование в травматологии и ортопедии*. Екатеринбург: ИздатНаукаСервис, 2009. 251 с. [Berdyugina O.V. *Immunological prognosis in traumatology and orthopedics*. Ekaterinburg: IzdatNaukaServis, 2009. 251 p. (in Russ.)]
3. 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.)].
4. Максакова Е.В. Даларгин в лечении травматических повреждений роговицы. *Офтальмологический журнал*. 2000;(6):95–97 [Maksakova E.V. Dalargin in the treatment of traumatic injuries of the cornea. *Journal of ophthalmology*. 2000;(6):95–97 (in Russ.)]
5. Склянчук Е.Д., Зоря В.И., Гурьев В.В., Васильев А.П. Остеогенные потенции нативного аутогенного костного мозга, индуцированного кристаллическим химотрипсином, при лечении посттравматических нарушений костной регенерации. *Травматология и ортопедия России*. 2009;1(51):15–21 [Sklyanchuk E.D., Zorya V.I., Guriev V.V., Vasiliev A.P. Osteogenous potencies of native autogenic marrow induced crystalline chymotrypsin in treatment of posttraumatic abnormalities of bone regeneration. *Traumatology and orthopedics of Russia*. 2009;1(51):15–21 (in Russ.)]
6. Смирнов В.С. *Клиническая фармакология тимогена*. Санкт-Петербург, 2004. 106 с. [Smirnov V.S. *Clinical pharmacology of thymogen*. Saint-Peterburg, 2004. 106 p. (in Russ.)]
7. Файтельсон А.В., Дубровин Г.М., Гудырев О.С., Покровский М.В., Иванов А.В. Фармакологическая коррекция экспериментального остеопороза и переломов на его фоне. *Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова*. 2010;(3):47–51 [Faitelson A.V., Dubrovin G.M., Gudyrev O.S. et al. Pharmacologic correction in experimental osteoporosis and osteoporotic fractures. *N.N. Priorov Journal of traumatology and orthopedics*. 2010;(3):47–51 (in Russ.)]
8. Фримель Г. *Иммунологические методы*. Москва: Медицина, 1987. 472 с. [Frimel G. *Immunological methods*. Moscow: Meditsina, 1987. 472 p. (in Russ.)]
9. Buck M.L., Wiggins B.S., Sesler J.M. Intraosseous drug administration in children and adults during cardiopulmonary resuscitation. *Ann Pharmacother*. 2007;41(10):1679–1686. DOI: 10.1345/aph.1K168
10. Smakhtin M.Y., 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. DOI: 10.1023/a:1020242127443
11. Trachy R.E., Fors T.D., Pickart L., Uno H. The hair follicle-stimulating properties of peptide copper complexes. Results in C3H mice. *Ann N Y Acad Sci*. 1991;642:468–489. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1991.tb24420.x

Поступила в редакцию 25.09.2021

Подписана в печать 20.12.2021

Для цитирования: Смахтин М.Ю., Бобынцев И.И., Дудка В.Т., Чердаков В.Ю., Ворвуль А.О., Чуланова А.А., Смахтина А.М. Регенеративная активность регуляторных пептидов в условиях экспериментального перелома костей. *Человек и его здоровье*. 2021;24(4):59–67. DOI: 10.21626/vestnik/2021-4/08

REGENERATIVE ACTIVITY OF REGULATORY PEPTIDES IN EXPERIMENTAL BONE FRACTURE

© Smakhtin M.Yu.¹, Bobyntsev I.I.¹, Dudka V.T.¹, Cherdakov V.Yu.², Vorvul A.O.¹, Chulanova A.A.¹, Smakhtina A.M.¹

¹ Kursk State Medical University (KSMU)

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

² Kursk City Hospital No. 3 (KCH No. 3)

16, Oboyanskaya St., Kursk, Kursk Region, 305018, Russian Federation

The aim of the study was to provide a comparative assessment of reparative osteogenesis activity and neutrophil function when thymogen, dalargin, Gly-His-Lys (GHK) peptides and their paired combinations were injected into the experimental fracture area.

Materials and methods. Peptides were administered to Wistar rats in the area of fracture for ten days from the day of injury. Equimolar single doses of the drugs were used: dalargin - 1.2 µg/kg, while thymogen and GHK were injected in a dose of 0.5 µg/kg weight. Reparative activity of osteogenesis was assessed histologically and radiologically. Phagocytic and oxygen-dependent activity of the blood neutrophils was determined.

Results. All peptides and their paired combinations increased the activity of reparative osteogenesis. Even more pronounced bone repair activity was observed after the injection of GHK peptide in combination with dalargin or thymogen with maximum intensity in animals treated with combined administration of GHK and dalargin. The fracture of the femur bone in experimental rats was also accompanied by a decrease in phagocytic and oxygen-dependent activity of neutrophils. The peptides increased the indices of neutrophils activity more markedly when using paired combinations of peptides and with the manifestation of a corrective effect in animals receiving combined administrations of GHK and dalargin.

Conclusion. Synergistic action of Gly-His-Lys peptides, thymogen and dalargin significantly enhances reparative and stimulating neutrophil function in tubular bone fractures and can be used to activate reparative osteogenesis and neutrophil bactericidal activity.

Keywords: peptide Gly-His-Lys (GHK); thymogen; dalargin; bone fractures; neutrophil function; reparative osteogenesis.

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

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

Dudka Viktor T. – Cand. Sci. (Med.), Assistant Professor of the Department of Pathanatomy, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-9392-5288. E-mail: dudka@mail.ru

Cherdakov Viktor Yu. – Cand. Sci. (Med.), traumatologist, KCH No. 3, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-2837-9652. E-mail: vic.cherdacov@rambler.ru

Vorvul Anton O. – Full-Time Postgraduate Student of the Department of Pathophysiology, Junior Researcher of the Research Institute of General Pathology, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-1529-6014. E-mail: vorvul1996@mail.ru

Chulanova Anna A. – Part-time Postgraduate Student, Assistant of the Department of Biological Chemistry, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-0990-0390. E-mail: chulanofs@mail.ru

Smakhtina Angelina M. – student, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-8458-3925. E-mail: smaxтина2012@yandex.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. 6 of 06.11.2018).

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; Bobyntsev I.I. – participation in the development of the concept and design, analysis and interpretation of data, writing the manuscript. Dudka V.T. – performing histological studies, analyzing and interpreting data. Cherdakov V.Yu. – participation in the development of the concept and design, performance of experiments, analysis and interpretation of data. Vorvul A.O. – statistical data processing. Chulanova A.A. – participation in the development of the concept and design, substantiation of the manuscript and verification of critical intellectual content, final approval of the manuscript for publication. Smakhtina A.M. – execution of experiments, analysis and interpretation of data.

Received 25.09.2021

Accepted 20.12.2021

For citation: Smakhtin M.Yu., Bobyntsev I.I., Dudka V.T., Cherdakov V.Yu., Vorvul A.O., Chulanova A.A., Smakhtina A.M. Regenerative activity of regulatory peptides in experimental bone fracture *Humans and their health*. 2021;24(4):59–67. DOI: 10.21626/vestnik/2021-4/08