

## ВЛИЯНИЕ ГЛУТАМИЛ-ТРИПТОФАНА НА СЕКРЕЦИЮ ЦИТОКИНОВ, ПАРАМЕТРЫ РАНОЗАЖИВЛЕНИЯ И АНТИОКСИДАНТНУЮ СИСТЕМУ *IN VITRO* И *IN VIVO*

© 2019 г. Т. А. Кудрявцева<sup>1\*</sup>, Э. А. Старикова<sup>2</sup>, И. В. Воронкина<sup>3</sup>,  
В. С. Смирнов<sup>1</sup>

\*E-mail: tkudriavtceva@cytomed.ru

<sup>1</sup>ЗАО «МБНПК «Цитомед», Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup>ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия;

<sup>3</sup>ФГБУН Институт Цитологии Российской Академии Наук, Санкт-Петербург, Россия

Поступила: 28.02.2019. Принята: 13.03.2019

Дипептид глутамил-триптофан, оказывает позитивное влияние на метаболические процессы в клетках, стимулирует функциональную активность клеток иммунной системы, восстанавливает нарушения в антиоксидантной системе организма, улучшает процессы регенерации тканей, ускоряет заживление ран, активизирует функции клеток соединительной ткани, эндотелиоцитов, макрофагов и лейкоцитов в очаге повреждения.

**Ключевые слова:** глутамил-триптофан, тимоген, ICAM-1, интерлейкины, матриксные металлопротеиназы, регенерация, СОД

DOI: 10.31857/S102872210006681-4

Адрес: 199004 Санкт-Петербург, ВО, 4-я линия дом 11, ЗАО «МБНПК «Цитомед», научный отдел, Кудрявцева Татьяна Анатольевна. Тел: 8 (812) 6020593 доб. 246; моб 8921 646 1553  
E-mail: tkudriavtceva@cytomed.ru

### Авторы:

**Кудрявцева Т. А.**, к.б.н., ведущий научный сотрудник научного отдела ЗАО «МБНПК «Цитомед», Санкт-Петербург, Россия;

**Старикова Э. А.**, к.б.н., старший научный сотрудник отдела иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия;

**Воронкина И. В.**, к.б.н., старший научный сотрудник отдела клеточных культур ФГБУН Институт Цитологии Российской Академии Наук, Санкт-Петербург, Россия;

**Смирнов В. С.**, д.м.н., профессор, руководитель научного отдела, ЗАО «МБНПК «Цитомед», Санкт-Петербург, Россия.

Дипептид глутамил-триптофан (Тимоген натрия, ГТ) хорошо известный препарат, синтезирован методом классического пептидного синтеза в растворе. Препарат обладает отчетливой иммуномодулирующей активностью, выраженными регенеративными свойствами, а также способностью влиять на системы антиоксидантной защиты организма. Эти свойства вместе с хорошим профилем безопасности позволяют активно использовать ГТ в качестве, как самостоятельного

лекарственного средства, так и в виде компонента сложных готовых лекарственных форм (1). При этом плейотропный характер влияния дипептида на организм делает актуальными дальнейшие исследования механизмов реализации этих эффектов в моделях *in vivo* и *in vitro*.

**Целью** данной работы было изучить клеточные механизмы, опосредующие иммуномодулирующий, регенеративный и антиоксидантный эффекты ГТ.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для анализа механизмов иммуномодулирующего действия ГТ было проведено изучение его эффектов в моделях воспаления *in vitro*. Изучали его влияние на спонтанную и индуцированную TNF $\alpha$  секрецию IL-8, IL-6 – моноцитоподобными клетками THP-1 и клетками эпидермоидной карциномы A431; IL-8, IL-6, IL-1 $\alpha$  – эндотелиальными клетками EA.hy 926; IL-8 – мононуклеарными клетками периферической крови здоровых доноров, а также уровень экспрессии на этих клетках адгезионной молекулы ICAM-1, препаратом сравнения выступал актовегин (NYCOMED, Takeda).

Влияние изучаемых препаратов на интенсивность внутриклеточного метаболизма оценивали с помощью МТТ-теста. Статистическая обработка проводилась с использованием программы «STATISTICA 6.0».

Изучение влияния ГТ на процессы ранозаживления проводили, моделируя незаживающую неэпителизируемую рану на здоровых кроликах, и вводя препараты внутрибрюшинно в течение 21 дня эксперимента. Негативный контроль – физиологический раствор, положительный контроль – актовегин. В качестве маркеров процесса ранозаживления оценивали активность матриксных металлопротеиназ (ММП 1, 2, 8, 9). По динамике активности ММП-9 и ММП-1 судили о наличии и действии в тканях раны воспалительных клеток – нейтрофилов и макрофагов. По динамике активности ММП-2 судили о присутствии в ране фибробластов и начале образования грануляционной ткани, а по динамике активности ММП-1 оценивали начало процесса синтеза коллагена и зрелости новообразованной грануляционной ткани.

Способность ГТ влиять на систему антиоксидантной защиты организма оценивали в опытах *in vivo* в моделях водоиммерсионного стресса и индометацинового язвообразования у крыс. В качестве критериев оценки использовали активность СОД (супероксиддисмутазы) и содержание МДА (малонового диальдегида) в сыворотке крови экспериментальных животных.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

ГТ и актовегин не оказывали токсического влияния на представленные клеточные линии в концентрациях ниже 1,0 мг/мл. ГТ оказывал стимулирующее влияние на клеточный метаболизм EA.hy 926 и A431 в более широком диапазоне от 0,1 нг/мл до 0,1 мг/мл, а клеток ТНР-1 в концентрации 10,0 мкг/мл и 1,0 мкг/мл. Влияние актовегина на секрецию цитокинов IL-8 и IL-6 культурами клеток было разнонаправленным. ГТ в разных концентрациях понижал собственную и индуцированную секрецию обоих цитокинов клетками EA.hy 926 и A431. При этом на спонтанную секрецию цитокинов ТНР-1 клетками препарат оказывал разнонаправленное влияние, но во всех концентрациях усиливал индуцированную TNF $\alpha$  продукцию IL-6. ГТ снижал индуцированную TNF $\alpha$  секрецию IL-1 $\alpha$ , и при этом в аналогичной дозе увеличивал секрецию адгезионной молекулы ICAM-1 эндотелиальными клетками. ICAM-1 (CD54) молекула се-

мейства адгезинов, в физиологических условиях практически не экспрессирующаяся на эндотелиальных клетках. Индукторами для этой молекулы служат, компоненты комплемента, оксид азота, липополисахариды, провоспалительные цитокины (IL-1, -6, -8) и другие медиаторы.

Изучение влияния ГТ на процессы регенерации проводили на здоровых кроликах, моделируя незаживающую неэпителизируемую рану и вводя препараты внутрибрюшинно в течение всего эксперимента (2). Негативный контроль – физиологический раствор, положительный – актовегин. Введение ГТ статистически значимо уменьшало время заживления ран по сравнению с актовегином. Также была отмечена повышенная активность желатиназ (ММП-2, -9) на ранней воспалительной фазе (что способствовало ускоренной очистке раны), и уменьшение ее в фазе ремоделирования. Активность коллагеназ (ММП-1, -8) ГТ снижал только в фазе ремоделирования. Гистологический анализ тканей раны подтвердил ускоренное образование грануляционной ткани и более активную реэпителизацию у животных, получавших ГТ. Полученные результаты показывают, что использование ГТ изменяет процессы ранозаживления, улучшая их результаты.

В экспериментальных моделях водоиммерсионного стресса и индометацинового язвообразования ГТ кроме выраженной гастропротекторной активности влиял на активность ферментов антиоксидантной системы. Использование дипептида полностью нормализовало активность СОД в обеих моделях, как при профилактическом, так и при лечебном введении, и оказывало позитивное влияние на процессы перекисного окисления липидов.

Таким образом, исследуемый дипептид ГТ оказывает позитивное влияние на метаболические процессы в клетках, стимулирует функциональную активность клеток иммунной системы, восстанавливает нарушения в антиоксидантной системе организма, улучшает процессы регенерации тканей, ускоряет заживление ран, активизирует функции клеток соединительной ткани, эндотелиоцитов, макрофагов и лейкоцитов в очаге повреждения.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Смирнов В. С., Петленко С. В. Комплексный препарат «Цитовир-3». В кн.: Грипп и острые респираторные вирусные инфекции (характеристика, патогенез, профилактика и лечение), изд. 3-е

- перераб. и доп. – СПб: Гиппократ 2019. 128–163. [Smirnov V. S., Petlenko S. V. Complex drug “Cytovir-3”. In: Influenza and acute respiratory viral infections (characteristics, pathogenesis, prevention and treatment), Гиппократ, St. Petersburg 2019, 128–163]
2. Shevtsov M. A., Smagina L. V., Kudriavtceva T. A., Voronkina I. V. Glu-Trp-ONa or its acylated analogue (R-Glu-Trp-ONa) administration enhances the wound healing in the model of chronic skin wounds in rabbits. *Drug Design, Development and Therapy* 2015:9, 1717–1727.

## INFLUENCE OF GLUTAMYL-TRYPTOPHAN ON CYTOKINE SECRETION, WOUND HEALING, AND ANTIOXIDANT SYSTEM *IN VITRO* AND *IN VIVO*

© 2019 T. A. Kudriavtceva<sup>1</sup>, E. A. Starikova<sup>2</sup>, I. V. Voronkina<sup>3</sup>, V. S. Smirnov<sup>1</sup>

\*E-mail: tkudriavtceva@cytomed.ru

<sup>1</sup>ZAO MPSPS CYTOMED, St Petersburg, Russia;

<sup>2</sup>Institute of Experimental Medicine, St Petersburg, Russia;

<sup>3</sup>Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences (RAS) St Petersburg, Russia

Received: 28.02.2019. Accepted: 13.03.2019

Dipeptide glutamyl-tryptophan influences on metabolic processes in different cells, stimulates the functional activity of immune cells, restores disorders in the antioxidant system, improves tissue regeneration, accelerates wound healing, activates the functions of connective tissue cells, endotheliocytes, macrophages and leukocytes in the outbreak damage.

*Key words:* glutamyl-tryptophan, timogen, ICAM-1, interleukins, matrix metalloproteinases, regeneration, SOD

### Authors:

**Kudriavtceva T. A.**, ☒ PhD, Chief Scientific Officer Department of Science, ZAO MPSPS CYTOMED, St Petersburg, Russia.  
E-mail: tkudriavtceva@cytomed.ru;

**Starikova E. A.**, PhD Leading Researcher Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine, St Petersburg, Russia;

**Voronkina I. V.**, PhD Leading Researcher Department of Cell Cultures, Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences (RAS) St Petersburg, Russia;

**Smirnov V. S.**, MD, Professor, Head of Department of Science, ZAO MPSPS CYTOMED, St Petersburg, Russia.