

Изучение специфической фармакологической активности комплекса гликозилированных полипептидов, выделенного из морских ежей вида *Strongylocentrotus droebachiensis* на модели острого бронхита у крыс

А.Е. Кательникова¹, К.Л. Крышень², М.Н. Макарова², В.Г. Макаров²,
В.В. Воробьева¹, А.Н. Шиков^{1,2}

¹ – ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург

² – ЗАО «Санкт-Петербургский институт фармации», п. Кузьмолковский, Ленинградская область

Контактная информация: Кательникова Анастасия Евгеньевна, varuna1989@yandex.ru

Проведено изучение противовоспалительной активности комплекса гликозилированных полипептидов (КГП), выделенных из морских ежей вида *Strongylocentrotus droebachiensis*, на модели острого бронхита, индуцированного сигаретным дымом у крыс.

Эксперимент проведен на самцах крыс Wistar. Животные были разделены на 6 групп: 4 экспериментальных, контрольная и интактная. Животным экспериментальных групп распыляли ингаляционно р-р КГП в дозах 25, 50 и 100 мкг/кг, а также препарат сравнения амброксол в дозе 3,6 мг/кг один раз в сутки, с 14-го дня от начала индукции острого бронхита и в течение последующих 14-ти дней. Индукцию патологии осуществляли путем экспозиции сигаретным дымом с помощью специального оборудования. В качестве критериев оценки использовали анализ гематологических показателей, клеточного состава бронхолегочного лаважа, а также гистологическое исследование ткани левого легкого на уровне средней трети (ворот легкого).

По результатом исследования КГП во всех исследуемых дозах снижал общее количество лейкоцитов в бронхоальвеолярном лаваже в среднем на 58%, в дозах 50 и 100 мкг/кг уменьшал данный показатель в крови в среднем на 44% по сравнению с результатами контрольной группы. Микроскопическая оценка толщины бронхов позволила установить дозозависимый эффект тестируемого комплекса со снижением толщины бронха на 61% в максимальной дозе по сравнению с результатами в контрольной группе.

Ключевые слова: комплекс гликозилированных полипептидов; острый бронхит, индуцированный сигаретным дымом; морские ежи (*S. droebachiensis*).

Введение

Острый бронхит (ОБ) – остро/подостро возникшее заболевание преимущественно вирусной этиологии, ведущим клиническим симптомом которого является кашель, продолжающийся 2–3 недели и, как правило, сопровождающийся конституциональными симпто-

мами и симптомами инфекции верхних дыхательных путей [3].

Провоцирующим фактором, или фактором, повышающим риск заболеваемости органов дыхания и, в частности, ОБ, является курение, причем не только хроническое курение, но и пассивное вдыхание табачного дыма. Поскольку 45%

от общей массы сигаретного дыма вдыхается активным курильщиком и 55% – рассеивается в окружающей среде [8, 9]. Уже после первого контакта с сигаретным дымом в бронхах возникает воспаление, а постоянное поступление приводит к воспалению бронхов с характерной для нее, главным образом, клеточной инфильтрацией нейтрофилами [6].

Терапия ОБ является одной из актуальных современных проблем. Для лечения бронхита применяют в первую очередь амброксол, бромгексин, карбоцистеин, ацетилцистеин, являющиеся синтетическими по своей природе, и антибиотики (пенициллины, цефалоспорины, макролиды). С учетом патогенеза ОБ (воспаление, инфекция верхних дыхательных путей) и симптомами заболевания (кашель, за счет отека и раздражения слизистой провоспалительными медиаторами) хорошие перспективы в качестве лекарственных средств имеют препараты, созданные на основе природного сырья. Например, пептиды, выделенные из лосося, с молекулярной массой 1-2 кДа, обладают противовоспалительной активностью за счет ингибирования продукции оксида азота и провоспалительных цитокинов TNF α , IL-6 IL-1 β [5]. Известно, что соединения, выделенные из морских ежей, обладают противовоспалительным, иммуностимулирующим, антибактериальным, противовирусным действием и др. фармакологическими эффектами [1]. К примеру, водный экстракт гонад морских ежей проявлял противовоспалительное действие на модели адьювантного артрита у крыс, снижая симптомы заболевания на 55% [10]. Хлороформные и метаноловые экстракты, полученные из кишечника, гонад, шипов этих жи-

вотных, проявляют высокую антибактериальную активность в отношении *Salmonella typhi*, *E. coli*, *Shigella sonnei* и *P. aeruginosa* [4]. Очевидно, биологически активные вещества из морских ежей могут рассматриваться как кандидаты в лекарственные препараты для лечения ОБ – в качестве не только симптоматической терапии, но и патогенетической.

Целью исследования явилась сравнительная экспериментальная оценка эффективности комплекса гликозилированных полипептидов, выделенных из морских ежей вида *Strongylocentrotus droebachiensis*, на модели острого бронхита, индуцированного сигаретным дымом у крыс.

Модель острого бронхита курильщика разработана в нашем институте на основании публикаций о моделировании повреждения легких сигаретным дымом, включая патологию хронической обструктивной болезни легких [7, 11].

Материалы и методы

Исследуемая субстанция представляет собой комплекс гликозилированных полипептидов (КГП), выделенных из зеленых морских ежей вида *Strongylocentrotus droebachiensis*. Методами ГЖХ-МС и ВЭЖХ-ELSD установлено, что субстанция содержит 10-15% пептидов, 35-45% аминокислот, 4-8% фосфолипидов, микроэлементы, сахара. При проведении электрофореза в полиакриламидном геле идентифицированы индивидуальные пептиды с молекулярными массами 19-15 кДа, 6-3,5 кДа и менее 3,5 кДа. В качестве препарата сравнения использовали амброксол (Амбробене, производитель – «MERCKLE, GmbH», Германия).

Разработка модели острого бронхита, индуцированного сигаретным дымом

В исследовании использованы самцы крыс Wistar конвенционального статуса массой тела 200-250 г, полученные из питомника лабораторных животных РАМН “Рапполово”. Животных содержали в виварии в стандартных условиях в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22.09.2010 г. по охране животных, используемых в научных целях. В период эксперимента животные были размещены в поликарбонатных клетках группами по 6 особей на подстиле (площадь пола на 1 животное составляла 395 см²). Для кормления использовали комбикорм ПК-120-1, приготовленный по ГОСТ Р50258-92 в соответствии с нормами, утвержденными Приказом Минздрава СССР от 12.08.1977 г. № 755. Эксперимент проводили согласно протоколу, одобренному биоэтической комиссией.

Животных разделяли методом блочной рандомизации на 6 групп по 12 в каждой: 4 экспериментальных, контрольная и интактная. Индукцию острого бронхита осуществляли путем экспозиции экспериментальных и контрольной групп животных сигаретным дымом с

помощью специального оборудования (курительная машина, разработка ЗАО “Санкт-Петербургский институт фармации”, Россия) на протяжении 28-ми дней (рис. 1).

Ежедневно для окуривания 6-ти клеток, содержащих по 12 экспериментальных животных, использовали 90 сигарет. Содержание смолы и никотина в сигаретах составляло 12 мг и 0,9 мг соответственно. Концентрация смолы, которая приходилась ежедневно на 1 экспериментальное животное, – 60 мг/кг, концентрация никотина – 4,2 мг/кг.

Дизайн исследования

Исследование направлено на установление специфической активности при курсовом ингаляционном введении в виде аэрозоля исследуемых препаратов. Р-р КГП распыляли при помощи ультразвукового ингалятора «Муссон-2» (ФГУП «Алмаз», Россия) в индивидуальные изолированные боксы для животного из расчета 25, 50 и 100 мкг/кг. Препарат сравнения – амброксол распыляли из расчета 3,6 мг/кг один раз в сутки. Введение исследуемых препаратов производили, начиная с 14-го дня от начала индукции острого бронхита и в течение последующих 14-ти дней. Контрольная группа животных по той же схеме в виде аэрозоля получала дистиллированную воду.

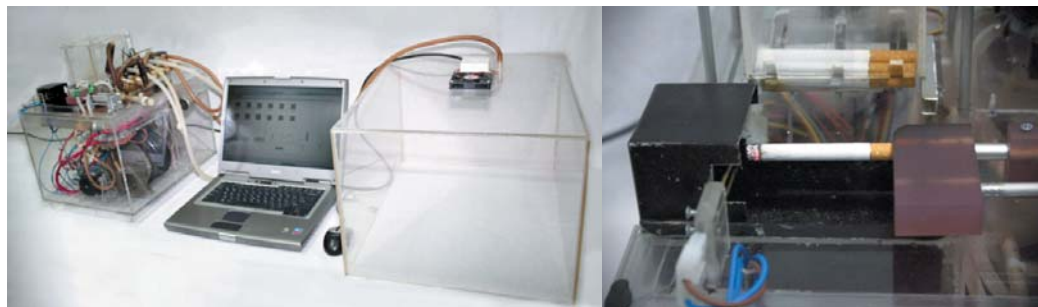


Рис. 1. Машина для курения сигарет.

Оцениваемые показатели

На 1-й, 7-й, 14-й и 28-й дни исследования производили забор крови из хвостовой вены. По окончании эксперимента (28-й день) животных эвтаназировали методом цервикальной дислокации. При этом каждую экспериментальную группу разделяли на две подгруппы по 6 животных в каждой: в одной осуществляли забор бронхолегочного лаважа (БАЛ); в другой – проводили макроскопическое и гистологическое исследование ткани левого легкого на уровне средней трети (ворот легкого) [2].

Критерии оценки

1. В образцах цельной крови и в БАЛ определяли: количество лейкоцитов и лейкоформулу (гранулоциты, моноциты, лимфоциты);

2. В процессе гистологического исследования оценивали:

- толщину слизистой бронхов на протяжении 500 мкм;

- степень (количественно) изменений в ткани легких в баллах по визуально-аналоговой шкале морфологических изменений слизистого и подслизистого слоя бронхов при остром бронхите: норма (0), слабая (1+), средняя (2+), сильная (3+);

- содержание (количественно) нейтрофилов, лимфоцитов и макрофагов в экссудате в просвете бронхов: отсутствие кле-

ток (0); минимальное количество от 1-й до 10-ти клеток (1+); умеренное количество от 11-ти до 30-ти клеток (2+); значительное количество от 31-й и выше (3+).

Статистическая обработка

Статистический анализ данных выполняли с помощью программного обеспечения Statistica 6.0 («StatSoft», США). Для статистического анализа показателей крови, клеточного состава БАЛ и толщины слизистой бронхов использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с последующим межгрупповым сравнением (post hoc) с использованием теста Тьюки (post hoc Tukey's). Для данных, представленных в баллах, использовали непараметрический критерий Краскела-Уоллиса. Различия были определены при уровне значимости, равном 0,05.

Результаты и их обсуждение

У всех животных, подвергшихся воздействию сигаретного дыма, к 7-му дню исследования количество лейкоцитов в крови увеличилось в среднем в 4 раза (ANOVA, $p < 0,05$). Количество лейкоцитов в контрольной группе животных с 14-го дня и по 28-й день исследования сохранялось на одном уровне, превышая показатель в интактной группе в 1,7-1,9 раза (см. табл. 1). Концентрации грануло-

Таблица 1
Динамика изменения количества лейкоцитов ($10^9/\text{л}$) в крови животных ($n=12$) в период с 1-го по 28-й день исследования, $M \pm m$

Группа	День исследования			
	1-й	7-й	14-й	28-й
Интактная	$5,1 \pm 0,5$	$5,4 \pm 0,3$	$5,1 \pm 0,3$	$5,2 \pm 0,7^{**}$
Контрольная	$5,1 \pm 0,3$	$26,6 \pm 1,1^*$	$8,8 \pm 0,6^*$	$9,9 \pm 0,4^*$
Амброксол, 3,6 мг/кг	$5,6 \pm 0,3$	$21,7 \pm 1,1^* **$	$9,9 \pm 0,8^*$	$5,9 \pm 0,7^{**}$
КГП, 25 мкг/кг	$5,7 \pm 0,3$	$22,8 \pm 1,2^*$	$8,4 \pm 0,5^*$	$8,4 \pm 0,5^*$
КГП, 50 мкг/кг	$5,5 \pm 0,3$	$22,8 \pm 1,2^*$	$9,1 \pm 0,3^*$	$4,8 \pm 0,4^{**}$
КГП, 100 мкг/кг	$5,6 \pm 0,4$	$34,9 \pm 1,2^* **$	$8,6 \pm 0,4^*$	$4,0 \pm 0,4^{**}$

Примечания: * – различия статистически значимы по сравнению с интактными животными, тест Тьюки, при $p \leq 0,05$; ** – различия статистически значимы по сравнению с контрольными животными, тест Тьюки, при $p \leq 0,05$.

цитов, моноцитов и лимфоцитов в течение 28-ми дней исследования существенно не изменялась (данные не приведены).

При оценке лейкоцитарного состава бронхоальвеолярного лаважа на 28-й день исследования в контрольной группе животных отмечено повышение содержания лейкоцитов за счет увеличения популяции моноцитов и гранулоцитов, что свидетельствует о воспалительном процессе в легких (см. табл. 2). Уровень лейкоцитов в БАЛ контрольных животных статистически значимо превосходил данный показатель интактной группы в 2,3 раза, по популяции моноцитов и нейтрофилов – больше в 4 и 6,7 раз соответственно (ANOVA, $p < 0,05$).

В экспериментальных группах состав БАЛ практически не отличался от пока-

зателей интактной группы. Тенденция к повышению числа гранулоцитов без достоверных отличий от интактной группы отмечена в группах животных, получавших референтный препарат амброксол и исследуемый КГП в дозе 25 мкг/кг.

При проведении гистологического исследования в контрольной группе животных были выявлены следующие изменения: гиперплазия эпителия бронхов, инфильтрация слизистого и подслизистого слоев стенки бронха нейтрофилами, лимфоцитами, макрофагами, очаговый некроз слизистой бронхов с деформацией слизистой бронха, а также развитие осложнения виде острой мелкоочаговой бронхопневмонии (рис. 2). Перечисленные гистологические признаки свидетельствовали о развитии

Таблица 2

Клеточный состав БАЛ на 28-й день исследования, $M \pm m$, $n=6$

Группа	Клетки крови			
	Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	Лимфоциты, $10^9/\text{л}$	Моноциты, $10^9/\text{л}$	Гранулоциты, $10^9/\text{л}$
Интактная	$0,11 \pm 0,04^*$	$0,09 \pm 0,03$	$0,009 \pm 0,002^*$	$0,012 \pm 0,005^*$
Контрольная	$0,26 \pm 0,02$	$0,14 \pm 0,02$	$0,037 \pm 0,002$	$0,080 \pm 0,007$
Амброксол, 3,6 мг/кг	$0,12 \pm 0,02^*$	$0,09 \pm 0,01$	$0,010 \pm 0,002^*$	$0,020 \pm 0,005^*$
КГП, 25 мкг/кг	$0,11 \pm 0,01^*$	$0,08 \pm 0,01$	$0,011 \pm 0,001^*$	$0,020 \pm 0,004^*$
КГП, 50 мкг/кг	$0,11 \pm 0,02^*$	$0,09 \pm 0,02$	$0,007 \pm 0,001^*$	$0,016 \pm 0,002^*$
КГП, 100 мкг/кг	$0,10 \pm 0,02^*$	$0,08 \pm 0,02$	$0,007 \pm 0,002^*$	$0,014 \pm 0,003^*$

Примечание: * – различия статистически значимы по сравнению с контрольными животными, тест Тьюки, при $p \leq 0,05$.

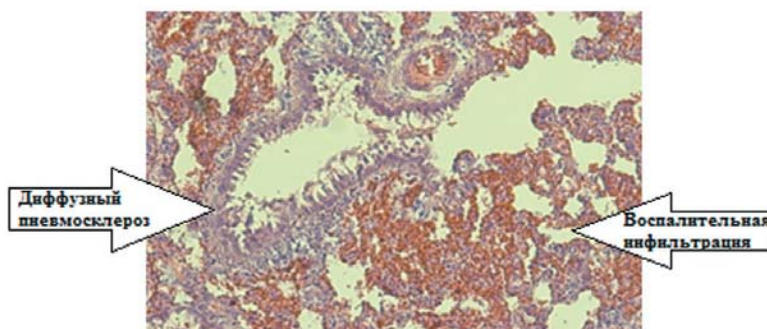


Рис. 2. Контрольная группа животных. Резко выраженный перибронхиальный и диффузный пневмосклероз, диффузно-выраженная воспалительная инфильтрация, деформация стенок бронхов. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 50$.

острого катарального / острого катарально-гнойного бронхита, а также мелкоочаговой бронхопневмонии.

В интактной группе бронхи среднего калибра были выстланы двурядным эпителием. В подслизистом слое стенки бронха наблюдалась слабо выраженная инфильтрация лимфоцитами и макрофагами. Волокнисто-хрящевая оболочка лишена хряща и представлена пучками циркулярно расположенных гладкомышечных волокон. Адвентициальная оболочка образована тонкой прослойкой рыхлой волокнистой соединительной ткани. Признаки воспаления отсутствовали (рис. 3).

В экспериментальной группе животных, получавших референтный препарат амброксол в дозе 3,6 мг/кг, в слизистой оболочке бронхиального дерева встречалась преимущественно слабо выраженная лимфо-макрофагальная инфильтрация. Слабая инфильтрация нейтрофилами встречалась в слизистом слое в большинстве случаев, в подслизистом слое преобладала слабо-выраженная инфильтрация нейтрофилами. Таким образом, в данной группе крыс имелась гистологическая картина острого катарально-гнойного бронхита.

При гистологическом исследовании среднего бронха у животных, получавших КГП в дозах 25 и 50 мкг/кг, толщина гиперплазированной слизистой была увеличена по сравнению с группой интактных крыс и снижена по сравнению с группой контрольных животных. В слизистой и подслизистом слоях бронхиального дерева регистрировали слабо и умеренно выраженную лимфо-макрофагальную инфильтрацию. Имела место также слабо выраженная инфильтрация нейтрофилами слизистого и подслизистого слоев, что соответствует гистологической картине преимущественно острого катарального бронхита и, в единичных случаях, острого катарально-гнойного бронхита.

Микроскопическая картина бронхов у животных, получавших КГП в максимальной дозе 100 мкг/кг, выглядела следующим образом: в слизистой бронхиального дерева отмечали лимфо-макрофагальную слабовыраженную инфильтрацию, в подслизистом слое инфильтрация также была слабо выражена. Инфильтрация нейтрофилами слизистого и подслизистого слоя – слабо выражена (рис. 4). Эти признаки соответствуют гистологической картине острого катарального бронхита.

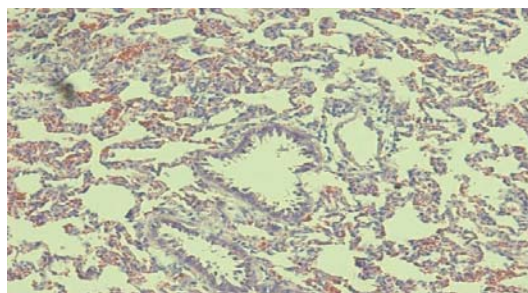


Рис. 3. Интактная группа животных. Изменения в пределах нормы. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. х50.

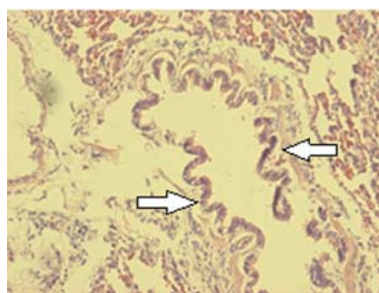


Рис. 4. КГП в дозе 100 мкг/кг. Слабо выраженная пролиферация мерцательного эпителия бронхов. Окраска гематоксилин-эозином (стрелки). Ув. х50.

По результатам гистологического исследования была проведена оценка степени выраженности воспалительного инфильтрата (лимфоциты, макрофаги, нейтрофилы) в ткани легких. Полученные данные представлены в табл. 3 и 4.

Таблица 3
Характеристика воспалительных изменений ткани легких в различных группах в баллах на 28-й день исследования (Ме (Q1;Q2)), n=6

Группа	Инфильтрация лимфоцитами и макрофагами (баллы)		Инфильтрация нейтрофилами, (баллы)	
	слизистая	подслизистая	слизистая	подслизистая
Интактная	0 (0;0)**	0 (0;0)**	0 (0;0)**	0 (0;0)**
Контрольная	2 (1;2)*	3 (3;3)*	1,5 (1;2)*	1 (1;2)*
Амброксол, 3,6 мг/кг	1 (0;1)* **	1 (0;1)* **	1 (0;1)* **	0,5 (0;1)*
КГП, 25 мкг/кг	1 (0;1)* **	1 (1;1)* **	1 (0;1)*	1 (0;1)*
КГП, 50 мкг/кг	1 (1;1)* **	1 (0;1)* **	1 (0;1)* **	0,5 (0;1)*
КГП, 100 мкг/кг	0,5 (0;1)* **	0 (0;1)**	0,5 (0;1)* **	0 (0;1)

Примечания: * – различия статистически значимы по сравнению с интактными животными, тест Манна-Уитни, при $p \leq 0,05$; ** – различия статистически значимы по сравнению с контрольными животными, тест Манна-Уитни, при $p \leq 0,05$.

Таблица 4
Гистологический анализ воспалительного экссудата в просвете бронхов в различных группах в баллах на 28-й день исследования (Ме (Q1;Q2)), n=6

Группа	Экссудат в просвете бронхов (баллы)			Очаги некроза эпителия бронхов
	Нейтрофилы	Лимфоциты	Макрофаги	
Интактная	0 (0;0)**	0 (0;0)**	0 (0;0)**	0 (0;0)**
Контрольная	2 (2;3)*	2 (2;3)*	1,5 (0;3)*	1 (1;2)*
Амброксол, 3,6 мг/кг	0 (0;0)**	0 (0;0)**	0 (0;1)	0 (0;1)**
КГП, 25 мкг/кг	0,5 (0;1)* **	1 (0;1)* **	1 (0;1)*	0,5 (0;1)*
КГП, 50 мкг/кг	0,5 (0;1)* **	0,5 (0;1)**	1 (0;1)*	0,5 (0;1)**
КГП, 100 мкг/кг	0 (0;1)**	0 (0;0)**	0 (0;0)**	0 (0;0) **

Примечания: * – различия статистически значимы по сравнению с интактными животными, тест Манна-Уитни, при $p \leq 0,05$; ** – различия статистически значимы по сравнению с контрольными животными, тест Манна-Уитни, при $p \leq 0,05$.

Таблица 5

Толщина слизистой бронхов, $M \pm m$, $n=6$

Группа	Толщина, мм
Интактная	39,5 $\pm$ 2,8*
Контрольная	94,3 $\pm$ 3,2
Амброксол, 3,6 мг/кг	61,2 $\pm$ 4,2*
КГП, 25 мкг/кг	71,7 $\pm$ 4,1
КГП, 50 мкг/кг	64,8 $\pm$ 10,3*
КГП, 100 мкг/кг	57,2 $\pm$ 9,0*

Примечание: * – различия статистически значимы по сравнению с контрольными животными, тест Тьюки, при $p \leq 0,05$.

Также была проведена количественная оценка толщины слизистой в бронхах среднего калибра, взятых на уровне центрального отдела легких на протяжении 500 мкм. Полученные данные представлены в табл. 5.

Полученные результаты свидетельствуют о развитии выраженной патологии в контрольной группе. Толщина слизистой бронхов статистически значимо увеличивалась в 2,4 раза по сравнению с интактными животными, что характеризует наличие воспалительной гиперплазии эпителия бронхов (ANOVA, $p < 0,05$).

Амброксол и КГП во всех исследуемых дозах также статистически значимо снижали толщину слизистой бронхов по сравнению с контрольными животными.

Эти данные свидетельствуют о сравнимой эффективности референтного препарата и КГП на нормализацию состояния слизистой бронхиального дерева.

Заключение

Воспроизведенный ОБ характеризовался лейкоцитозом в крови. При ги-

стологическом исследовании в ответ на воспалительную реакцию выявлено утолщение слизистой бронхов и наличие острого катарального бронхита, острого катарально-гнойного бронхита, либо острого катарального бронхита + острой мелкоочаговой пневмонии. При этом в тканях легкого и БАЛ отмечена лимфоцитарная и макрофагальная инфильтрация. Все это свидетельствует о развитии воспалительной реакции в бронхах.

КГП во всех предложенных дозах улучшал течение острого катарального бронхита, развившегося у животных, защищал бронхи от негативного воздействия табачного дыма и снижал степень выраженности воспаления. Положительное действие КГП сопоставимо с действием референтного препарата амброксола, являющегося «золотым стандартом» в терапии ОБ. Максимальный эффект тестируемого комплекса был достигнут при применении в дозе 100 мкг/кг, что в 36 раз меньше терапевтической дозы амброксола и эквивалентно 18 мкг/кг для человека.

Список литературы

1. **Крыжановский С.П.** Биологически активные вещества морских ежей – основа для разработки лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций // Бюллетень СО РАМН. 2013. Т. 33. № 2. С. 39-48.
2. **Музыкян А.А., Макарова М.Н., Гуцин Я.А.** Особенности гистологической обработки органов и тканей лабораторных животных // Международный вестник ветеринарии. 2014. № 2. С. 103-109.
3. **Чучалин А.Г.** Пульмонология: нац. рук-во. Кр. изд. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 800 с.
4. **Abubakar L., Mwangi C., Uku J., Ndirangu S.** Antimicrobial activity of various extracts of the sea urchin *Tripneustes gratilla* // Afr. J. Pharmacol. Ther. 2012. Vol. 1. No. 1. Pp. 19-23.
5. **Ahn C.B., Je J.Y., Cho Y.S.** Antioxidant and anti-inflammatory peptide fraction from salmon byproduct protein hydrolysates by peptic hydrolysis // Food Research International. 2012. Vol. 49. Pp. 92-98.
6. **Finkelstein R., Fraser R.S., Ghezze H., Cosio M.G.** Alveolar inflammation and its relation to emphysema in smokers // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1995. No. 152(5 Pt 1). Pp. 1666-72.
7. **Jarvis M.J.** Smoking cessation // Eur. Respir. Rev. 1997. Vol. 7. No. 45. Pp. 230-234.
8. **Pinkerton K.E., Joad J.P.** Influence of air pollution on respiratory health during perinatal development // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 2006. No. 33. Pp. 269-272.
9. **Sethi J.M., Rochester C.L.** Smoking and chronic obstructive pulmonary disease // Clin. Chest. Med. 2000. No. 21. Pp. 67-86.
10. **Sheean P., Hodges L.D., Kalafatis N., et al.** Bioactivity of extracts from gonadal tissue of the edible Australia purple sea urchin *Heliocidaris erythrogramma* // J. Sci. Food Agric. 2007. Vol. 87. No. 4. Pp. 694-701.
11. **Yoshida T., Rubin T.** Pathobiology of Cigarette Smoke-Induced Chronic Obstructive Pulmonary Disease // Physiol. Rev. 2007. Vol. 87. Pp. 1047-1082.
12. **farmatsevticheskikh substantsiy** [The urchin bioactive substances – framework for drugs and pharmaceutical materials development]. Bulletin of SB RAMS. 2013. V. 33. No. 2. Pp. 39-48. (In Russian).
13. **Muzhikyan A.A., Makarova M.N., Guschin Ya.A.** Osobennosti gistologicheskoy obrabotki organov i tkaney laboratornykh zhivotnykh [Features histological processing of organs and tissues of laboratory animals]. Mezhdunarodnyj vestnik veterinarii [International Bulletin of Veterinary Medicine]. 2014. No. 2. Pp. 103-109. (In Russian).
14. **Chuchalin A.G.** Pulmonologiya: nats. ruk-vo. Kr. izd. [Pulmonology: National leadership. Short Edition]. Moscow: GEOTAR-Media. 2013. 800 p. (In Russian).
15. **Abubakar L., Mwangi C., Uku J., Ndirangu S.** Antimicrobial activity of various extracts of the sea urchin *Tripneustes gratilla*. Afr. J. Pharmacol. Ther. 2012. Vol. 1. No. 1. Pp. 19-23.
16. **Ahn C.B., Je J.Y., Cho Y.S.** Antioxidant and anti-inflammatory peptide fraction from salmon byproduct protein hydrolysates by peptic hydrolysis. Food Research International. 2012. Vol. 49. Pp. 92-98.
17. **Finkelstein R., Fraser R.S., Ghezze H., Cosio M.G.** Alveolar inflammation and its relation to emphysema in smokers. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1995. No. 152(5 Pt 1). Pp. 1666-72.
18. **Jarvis M.J.** Smoking cessation. Eur. Respir. Rev. 1997. Vol. 7. No. 45. Pp. 230-234.
19. **Pinkerton K.E., Joad J.P.** Influence of air pollution on respiratory health during perinatal development. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 2006. No. 33. Pp. 269-272.
20. **Sethi J.M., Rochester C.L.** Smoking and chronic obstructive pulmonary disease. Clin. Chest. Med. 2000. No. 21. Pp. 67-86.
21. **Sheean P., Hodges L.D., Kalafatis N., et al.** Bioactivity of extracts from gonadal tissue of the edible Australia purple sea urchin *Heliocidaris erythrogramma*. J. Sci. Food Agric. 2007. Vol. 87. No. 4. Pp. 694-701.
22. **Yoshida T., Rubin T.** Pathobiology of Cigarette Smoke-Induced Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Physiol. Rev. 2007. Vol. 87. Pp. 1047-1082.

References

1. **Kryzhanovskiy S.P.** Biologicheski aktivnyie veschestva morskikh ezhey – osnova dlya razrabotki lekarstvennykh preparatov i

Specific pharmacological activity study of glycosylated polypeptide complex extracted from sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* in the model of acute bronchitis in rats

**A.E. Katelnikova, K.L. Kryshen, M.N. Makarova, V.G. Makarov,
V.V. Vorobieva, A.N. Shikov**

The anti-inflammatory activity of glycosylated polypeptide complex (GPC) extracted from sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* was studied in the model of acute bronchitis induced by a cigarette smoke in rats.

The experiment was performed in Wistar male rats. All animals were divided into six groups: four experimental, one control and one intact group. Animals in experimental groups were inhaled by GPC at 25, 50 and 100 µg/kg and also by a reference drug Ambrobene in 3.6 mg/kg, once a day, starting from the 14th day from acute bronchitis induction and during the following 14 days. Pathology induction was performed by an exposure to a cigarette smoke using special equipment. Hematological analysis, bronchopulmonary lavage cell composition and histological study of the left lung tissue at the level of the middle third (lung hilum) were used as the criteria for evaluation.

GPC at all tested doses reduced the number of leukocytes in bronchoalveolar lavage fluid by 58%, and at 50 and 100 µg/kg reduced the number of leukocytes in blood by 44% compared to control group. Microscopic observation of bronchial tissue evidenced about a dose-dependent reduction of bronchi thickness after administration of GPC. Maximal thickness reduction was observed at 100 µg/kg and reached 61% comparing with control group.

Key words: glycosylated polypeptide complex; acute bronchitis, cigarette smoke; sea urchins (*S. droebachiensis*).