

Архив журнала

Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1985

Внимание! Распознавание текста проведено в автоматическом режиме для облегчения работы поисковых систем. Будьте внимательны при копировании, возможны ошибки и неточности. Используйте сканированный графический вариант.

Archive of journal

Voprosy meditsinskoi khimii

ISSN 0042-8809

1985

Attention! OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible. Use scanned picture as standard.

<http://pbmc.ibmc.msk.ru>

ТОМ XXXI

ВЫПУСК 5

СЕНТЯБРЬ — ОКТЯБРЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.

ВОПРОСЫ
МЕДИЦИНСКОЙ
ХИМИИ



МОСКВА. МЕДИЦИНА. 1985



РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. И. МАЗУРОВ (зам. главного редактора), Т. Т. БЕРЕЗОВ, Е. Н. ГЕРАСИ-
МОВА, В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, А. Н. КЛИМОВ, Б. Ф. КОРОВКИН,
Л. А. ЛОКШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ, Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ,
Е. Л. РОЗЕНФЕЛЬД, Ю. А. РОМАКОВ (ответственный секретарь), В. А. САКС,
С. Е. СЕВЕРИН, В. Б. СПИРИЧЕВ

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

БАЕВ А. А. (Москва)
БЕЛИЦЕР В. А. (Киев)
БЫЧКОВ С. М. (Москва)
КОНСТАНТИНОВ А. А. (Хабаровск)
КУДРЯШОВ Б. А. (Москва)
ЛЯХОВИЧ В. В. (Новосибирск)
ПАСХИНА Т. С. (Москва)

ТРОИЦКИЙ Г. В. (Симферополь)
ТАРАКУЛОВ Я. Х. (Ташкент)
ТЯХЕПЫЛЬД Л. Я. (Тарту)
УТЕВСКИЙ А. М. (Харьков)
ШАПОТ В. С. (Москва)
ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)
ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)

Адрес редакции журнала:

Москва, Солянка, 14

АМН СССР

Тел. 297-16-44

Зав. редакцией Л. А. Фирсова

1983

COMPOSITION, CONCENTRATION AND
MOLECULAR SIZE OF LOW DENSITY LI-
POPROTEINS AND OF VERY LOW DEN-
SITY LIPOPROTEINS SUBFRACTIONS
FROM BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH
CHRONIC RENAL FAILURE

Z. Kuchinskiene

Chair of Physiology and Biochemistry, Medi-
cal Faculty, State University, Vilnius

Low density lipoproteins (LDL) and four subfractions of very low density lipoprotein (VLDL) were isolated by means of density gradient preparative ultracentrifugation from blood serum of patients with chronic renal failure. Constituents of the fractions were analyzed and physico-chemical characteristics of the lipoprotein particles were studied. These data showed that there are pronounced changes in the composition of VLDL subfractions containing small particles, thus suggesting the impaired catabolism of the particles in blood.

УДК 616.36-018.1-008.93-02:615.917:547.412.133

*О. Ю. Абакумова, А. Ю. Котасев, С. Р. Карагюлян, Э. И. Гальперин,
В. Н. Орехович*

**ВЛИЯНИЕ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ,
СТИМУЛИРУЮЩИХ ПРОЛИФЕРАЦИЮ, И ЧАСТИЧНОЙ
ГЕПАТЭКТОМИИ НА СИНТЕЗ ДНК В ПЕЧЕНИ КРЫС,
ПОДВЕРГНУТЫХ ДЛИТЕЛЬНОМУ ДЕЙСТВИЮ
ЧЕТЫРЕХХЛОРИСТОГО УГЛЕРОДА**

Институт биологической и медицинской химии АМН СССР, 1 Московский меди-
цинский институт им. И. М. Сеченова, Москва

После частичной гепатэктомии (ЧГЭ) в оставшейся части печени индуцируется пролиферация. Переход клеток печени из состояния покоя к делению связан, несомненно, с перестройкой генома клеток и обусловлен появлением в цитоплазме клеток факторов, играющих важную роль в перепрограммировании гепатоцитов [4]. В настоящее время известны следующие факторы: «фактор регенерации», активирующий РНК-полимеразу ядер гепатоцитов и появляющийся в печени в первые часы после ЧГЭ [1, 3, 5]; факторы, появляющиеся в культуральной среде после культивирования гепатоцитов и стимулирующие синтез ДНК в культуре фибробластов [10]; факторы из сыворотки крови крыс после ЧГЭ [12, 13] и из регенерирующей после ЧГЭ печени [9, 17], стимулирующие процесс пролиферации. Ранее [2, 16] мы показали, что низкомолекулярные вещества из регенерирующей печени крыс стимулируют пролиферативные процессы в соединительной ткани. В настоящей работе исследовали влияние на синтез ДНК в цирротически измененной введением четыреххлористого углерода (CCl_4) печени крыс цитоплазматических факторов стимуляции пролиферации (ФСП), выделенных из печени крыс через 48 ч после 70% ЧГЭ.

М е т о д и к а

ЧГЭ проводили под эфирным наркозом как описано ранее [11]. Для получения препаратов, содержащих ФСП, печень крыс гомогенизировали с водой в соотношении 1 : 3 в измельчителе тканей РТ-1 при 8000 об/мин в течение 1 мин. Полученный гомогенат центрифугировали 20 мин на центрифуге К-70 при 3000 об/мин и 4 °С. Надосадочную жидкость прогревали 15 мин при 100 °С, после охлаждения центрифугировали в тех же условиях, фильтровали через миллипоровый фильтр «Hufs» (0,3—0,6 мк, «Сыппор», ЧССР) и хранили при —20 °С.

Эксперименты проводили на белых крысах-самцах с массой тела в начале эксперимента 120—140 г. Животным в течение 6 нед давали вместо воды 0,05 % раствор фенобарбитала и 2 раза в неделю внутривентриально вводили 0,2—0,3 мл 10 % раствора CCl_4 в подсолнечном масле. После такой обработки в печени крыс наблюдали четко видимые цирротические изменения. Все крысы с циррозом были разделены на 6 групп. Животным 3 групп была произведена 30% ЧГЭ. 5 мл надосадочной жидкости, содержащей ФСП, вводили внутривентриально сразу и через 24 ч после, ЧГЭ. Животных декапитировали через 4, 24, 48 и 120 ч после ЧГЭ, за 2 ч перед декапитацией внутривентриально вводили 100 мкКи на крысу H^3 -тимидина (4,3 Ки/мМ, «Изотоп», СССР). Эксперименты проводили в утренние часы. Печень гомогенизировали в 4 объемах раствора А (0,25 М сахара; 0,025 М трис-НСI буфер рН 7,6; 0,05 М КСI; 0,005 М MgCl_2). Выделение фракций чистых ядер и митохондрий проводили по методу, описанному ранее [15]. Содержание РНК и ДНК определяли в печени и фракциях гомогената, как описано в работе [8]. Радиоактивность измеряли с помощью сцинтилляционного счетчика Mark-II («Nuclear Chicago», США) в ЖС-106.

Содержание РНК и ДНК (в мг на 1 г печени) в различных фракциях гомогената печени крыс

Условия эксперимента	Время после операции ЧГЭ, ч											
	4			24			48			120		
	РНК	ДНК	РНК/ДНК	РНК	ДНК	РНК/ДНК	РНК	ДНК	РНК/ДНК	РНК	ДНК	РНК/ДНК
Интактные крысы	10,18 ¹ 3,03 ² 1,07 ³	3,36 2,23 0,070	3,03 1,36 15,3									
30 % ЧГЭ + ФСП				10,16 3,93 0,69	2,85 2,28 0,080	3,57 1,73 8,61						
Обработка ССI ₄				8,00 1,99 0,85	2,28 1,54 0,060	3,51 1,30 14,1				8,66 1,63 1,70	2,65 1,99 0,081	3,27 0,82 20,4
Обработка ССI ₄ + 30 % ЧГЭ	7,86 2,10 0,58	3,06 2,16 0,041	2,57 0,97 14,2	8,85 1,79 1,19	2,67 2,06 0,072	3,32 0,87 16,5	8,48 2,65 1,11	2,14 1,61 0,048	3,94 1,64 23,6	3,03 2,11 0,090	2,55 0,090 22,9	1,18 22,9
Обработка ССI ₄ + ФСП 1 раз в 0 ч	7,85 1,92 0,67	3,63 2,65 0,046	2,16 0,73 14,6	8,34 2,92 0,79	2,43 1,94 0,040	3,43 1,51 19,7	7,61 2,22 1,44	2,88 2,03 0,069	2,64 1,10 20,1			
Обработка ССI ₄ + 30 % ЧГЭ + ФСП 1 раз в 0 ч	7,28 1,46 0,67	2,73 1,91 0,058	2,67 0,76 11,5	6,26 1,39 0,82	1,64 1,18 0,044	3,82 1,18 18,7	8,17 2,19 1,31	2,13 1,51 0,056	3,84 1,45 23,4			
Обработка ССI ₄ + 30 % ЧГЭ + ФСП дважды в 0 ч и в 24 ч							8,14 1,36 1,70	1,98 1,45 0,069	4,11 0,94 24,6			

Примечание. Здесь и в табл. 2 представлены средние значения трех опытов. 1 — РНК и ДНК гомогената; 2 — ядерная фракция; 3 — митохондриальная фракция.

Результаты и обсуждение

Из табл. 1 видно, что в печени крыс с цирротическими изменениями, вызванными длительным введением ССI₄, снижено содержание клеточных, митохондриальных и ядерных РНК и ДНК на 20—30% по сравнению с таковыми в печени интактных крыс. Очевидно, это связано с разрастанием соединительной ткани и глубокими изменениями паренхиматозных элементов печени [6]. 30% ЧГЭ приводила к увеличению содержания РНК в печени и исследуемых фракциях печеночных клеток у крыс с экспериментальным циррозом, возрастанию соотношения РНК/ДНК как после 30% ЧГЭ, так и особенно после совместного действия ЧГЭ и введения ФСП.

Из табл. 2 видно, что в печени крыс, не получавших ССI₄, стимуляция синтеза ДНК после ЧГЭ и введения ФСП наблюдалась через 24 ч после ЧГЭ и сохранялась на том же уровне к 48 ч после ЧГЭ. У крыс с циррозом печени ЧГЭ и введение ФСП стимулировали синтез клеточной ДНК только к 48 ч после операции. У этих же крыс введение ФСП резко стимулировало синтез митохондриальной ДНК в печени как после ЧГЭ, так и без нее. Отсутствие дальнейшего увеличения синтеза ДНК при повторном введении ФСП крысам с циррозом и ЧГЭ может свидетельство-

вать о том, что в данном случае синтез ДНК индуцирован практически во всех клетках печени, свободных к пролиферации, уже первым введением ФСП на фоне ЧГЭ. В группе же крыс с циррозом, которым не делали ЧГЭ, повторное введение ФСП включает, возможно, в систему пролиферации те клетки печени, которые еще находились в состоянии покоя.

Если принять за основу выдвинутую А. Ю. Яковлевым гипотезу [7], что только часть (в нормальной печени 60%) гепатоцитов обладает высокой способностью к пролиферации непосредственно в ответ на ЧГЭ, то можно предположить, что в цирротической печени эта часть очень мала и основной массе клеток такой печени требуется дополнительный период трансформации, сопряженный с усиленным синтезом РНК и митохондриальной ДНК. Возможно, дополнительный период трансформации, необходимый клеткам такой печени, обусловлен повреждающим действием ССI₄.

Стимуляция операций ЧГЭ процессов регенерации в цирротической печени достаточно хорошо изучена [6]. Процессы регенерации идут и в самой цирротической печени, о чем также свидетельствует выделение из сыворотки крови крыс после обработки их ССI₄ термостабильного фактора, стимулирующего синтез ДНК [14]. Использование препара-

Т а б л и ц а 2

Удельная радиоактивность ДНК в гомогенате, ядрах и митохондриях печени крыс

Условия эксперимента	Включение ^3H -тимидина, нмг/мин на 1 мг ДНК			
	Время после операции ЧГЭ, ч			
	4	24	48	120
30% ЧГЭ + ФСП	1 035* 1 190** 32 200***	5 510 5 756 17 265	5 320 5 890 16 300	
Обработка CCl_4		5 074 6 746 18 200		4 622 3 428 35 206
Обработка CCl_4 + 30% ЧГЭ	2 530 2 033 13 667	2 774 2 086 17 575	6 240 5 095 20 136	6 415 5 396 53 618
Обработка CCl_4 + ФСП в 0 ч	3 481 2 420 28 286	4 313 2 360 68 322	6 572 4 494 66 647	
Обработка CCl_4 + ФСП дважды в 0 и в 24 ч			10 800 8 536 78 812	
Обработка CCl_4 + 30% ЧГЭ + ФСП 1 раз в 0 ч	3 580 3 772 20 619	3 731 3 321 32 015	13 357 10 262 84 724	
Обработка CCl_4 + 30% ЧГЭ + ФСП дважды в 0 и в 24 ч			8 461 7 488 52 406	

* Гомогенат.

** Ядерная фракция.

*** Митохондриальная фракция.

тов, содержащих ФСП, позволяет значительно усилить пролиферативные процессы в печени с циррозом (как с ЧГЭ, так и без нее).

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Желябовская С. М., Свердел В. П. и др. — Биохимия, 1983, т. 48, № 11, с. 1774—1777.
2. Лерман М. Н., Абакимова О. Ю., Куценко Н. Г. и др. — В кн.: Экспериментально-клинические аспекты репаратив-

ных процессов и методы их стимулирования. М., 1977, с. 61—68.

3. Платонов О. М., Желябовская С. М. — Биохимия, 1980, т. 45, № 7, с. 1189—1195.
4. Родионова В. М., Кузьмичева Н. А., Поиселова А. В. — Вопр. мед. химии, 1981, с. 291—300.
5. Свердел В. П., Желябовская С. М. и др. — Докл. АН СССР. Серия Б, 1983, № 8, с. 71—73.
6. Сидорова В. Ф., Рябинина З. А., Лейкина Е. М. Регенерация печени у млекопитающих. Л., 1966.
7. Яковлева А. Ю. — Цитология, 1979, № 11, с. 1243—1252.
8. Blobel G., Potter V. R. — Biochim. biophys. Acta, 1968, vol. 166, p. 48—57.
9. La Brecque D. R., Le Roy A. P. — J. Physiol. (Lond.), 1975, vol. 248, p. 273—284.
10. Dulak N. C., Temin H. H. — J. Cell Physiol., 1973, vol. 81, p. 153—167.
11. Higgins G. M., Anderson R. M. — Arch. Path., 1931, vol. 12, p. 186—202.
12. Morley C. G., Kingdon H. S. — Biochim. biophys. Acta, 1973, vol. 308, p. 260—275.
13. Morley C. G. — Biochem. exp. Biol., 1976, vol. 12, p. 206.
14. Leevy C. M., George W. et al. — Exp. molec. Path., 1962, vol. 1, p. 457—469.
15. Lerman M. I., Abakimova O. Yu., Kucenko N. G. et al. — Cancer Res., 1974, vol. 34, p. 1536—1541.
16. Lerman M. I., Abakimova O. Yu., Kucenko N. G. et al. — Lancet, 1977, v. 1, p. 1225—1228.
17. Ruhensstroth-Bauer G., Goldberg M. et al. — Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem., 1978, Bd 359, S. 543.

Поступила 25.05.84

EFFECT OF CYTOPLASMIC PROLIFERATION STIMULATING FACTORS AND OF PARTIAL HEPATECTOMY ON DNA SYNTHESIS IN LIVER TISSUE OF RATS POISONED WITH CCl_4 FOR A LONG TIME

O. Yu. Abakimova, A. Yu. Kotlov, S. R. Karagulyan, E. I. Gal'perin, V. N. Orekhovich

Institute of Biological and Medical Chemistry, Academy of Medical Sciences of the USSR, I. M. Sechenov I Medical School, Moscow

Content of RNA was increased, synthesis of nuclear and mitochondrial DNA was induced in liver tissue of rats, which were poisoned with CCl_4 , within 6 weeks, after intraperitoneal administration of the preparation obtained from regenerating rat liver tissue and containing thermostable factors stimulating proliferation, as well as the low molecular substances of the cell pool. The most pronounced stimulating effect was observed if the administration of the preparation occurred simultaneously with 30% hepatectomy.