

Архив журнала

## Вопросы медицинской химии

*ISSN 0042-8809*

1989 том 35 выпуск 3

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

## Voprosy meditsinskoï khimii

The journal archive

*ISSN 0042-8809*

1989 volume 35 issue 3

**Attention!** OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible.

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

ТОМ 35

ВЫПУСК 3

МАЙ — ИЮНЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.

# ВОПРОСЫ МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ



МОСКВА · МЕДИЦИНА · 1989



## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. Б. СПИРИЧЕВ (зам. редактора), И. П. АШМАРИН, Т. Т. БЕРЕЗОВ, А. А. ВАСИЛЬЕВ, Е. Н. ГЕРАСИМОВА, В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, В. Л. КОЗЕЛЬЦЕВ (ответственный секретарь), А. И. КЛИМОВ, Б. Ф. КОРОВКИН, Л. А. ЛОКШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ, Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ, Е. Л. РОЗЕНФЕЛЬД, Ю. А. РОМАКОВ, В. А. САКС, С. Е. СЕВЕРИН, В. А. ТУТЕЛЬЯН

## 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)

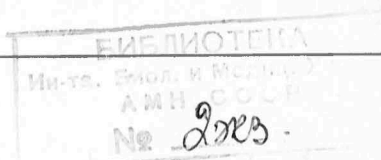
ТУРАКУЛОВ Я. Х. (Ташкент)

ТЯХЕПЫЛД Л. Я. (Тарту)

ШАПОВ В. С. (Москва)

ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)

ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)



В. Н. Калюнов, Г. П. Петрусенко, К. В. Фомищенко

## ВЛИЯНИЕ ФАКТОРА РОСТА НЕРВОВ, ГУАНЕТИДИНА И ИХ СОВМЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ НА АКТИВНОСТЬ НУКЛЕАЗ В ТКАНЯХ ЖИВОТНЫХ

Институт физиологии АН БССР, Минск

Хотя биологическая роль факторов роста нервов (ФРН) продолжает уточняться, неизменным остается признание того, что он является регулятором развития и поддержания нормального функционирования адренергических, симпатических, отчасти первичных чувствительных и центральных холинергических нейронов базальных ядер переднего мозга [29—31, 33, 34, 37, 38]. Свое действие на клетки этот эндогенный белок осуществляет главным образом через модификацию обменных процессов [10]. Доказательства участия нуклеазного аппарата клетки в процессинге, репликации рекомбинации, репарации и других превращениях нуклеиновых кислот (НК) свидетельствуют о том, что от их состояния зависит общий ход клеточного метаболизма [1, 4, 26]. Последний во многом определяется иницирующими и регуляторными влияниями внешнего окружения, включая поступления различного рода трофических сигналов, передаваемых нервной системой. В обоснование данного тезиса и было предпринято настоящее исследование с использованием моделей животных с чрезмерно развитым симпатическим отделом вегетативной нервной системы, обладающим адаптационно-трофической функцией [22] или практически лишенных его. Они создавались путем пролонгированного введения соответственно ФРН и гуанетидина, избирательно разрушающего ганглионарные адренергические нейроны [5, 32, 36].

### Методика

Определяли активность кислых и щелочных ДНКаз (ДНКазы I, КФ 3.1.4.5; ДНКазы II, КФ 3.1.4.6) и РНКаз (РНКазы I, КФ 3.1.4.22; РНКазы II, КФ 3.1.4.23) в головном мозге и периферических органах: почках, печени и сердце. Проведено 4 серии опытов на крысах-самцах линии Вистар, которым с рождения ежедневно в течение месяца внутримышечно вводили физиологический раствор (I-я группа, контроль), либо получаемую в лаборатории [6] из подчелюстных слюнных желез самок мышей высокополимерную форму 7S ФРН 10—15 мкг

на 1 г массы (2-я группа), либо гуанетидин (изобарин) («Рiiva», Югославия) 30 мг/кг (3-я группа), либо комбинацию двух последних препаратов в указанных дозировках (4-я группа). В возрасте 1 мес животных умерщвляли декапитацией.

Активность ферментов, рассчитанную в пикокаталах на 1 мг белка [3], определяемого по Лоури и соавт. [35] оценивали по приросту кислоторастворимых продуктов деградации НК спектрофотометрически [14, 25]. Активность ДНКазы I и РНКазы I определялась в трис-HCl-буфере pH 7,8 и 7,4 соответственно, ДНКазы II — в ацетатном буфере pH 5,4 и РНКазы II — в ацетатно-вероналовом буфере pH 6,0. Субстратом служили предварительно очищенные [13] РНК отечественного производства и ДНК («Reanal», Венгрия). Обработанные статистически [21] на ЭВМ Д-3-28 данные в обобщенном виде представлены в табл. 1 и 2.

### Результаты и обсуждение

Как следует из табл. 1, активность щелочной ДНКазы в мозге месячных крыс не претерпевала значительных отклонений от нормы ни в одной из 3 экспериментальных серий. Это относится и к активности кислой ДНКазы у животных, обработанных только ФРН или комбинацией его с гуанетидином. Несколько повышенной была активность указанного фермента при введении одного гуанетидина. Напротив, активность РНКаз мозга отличалась повышенной лабильностью, особенно в случае инъекций ФРН, приводившего к статистически значимому ее снижению фактически в одинаковых пределах для обеих форм этого энзима. Имело место ингибирование активности щелочной РНКазы и при совместном применении ФРН и гуанетидина.

В ткани печени (см. табл. 1) изучаемые показатели на фоне обработки крыс ФРН не претерпевали статистически значимых модификаций, тогда как гуанетидин вызывал достоверное их увеличение. Сочетанное их введение как бы сглаживало последствия действия премедикации симпатолитиком, ибо активность ДНКазы I и II, РНКазы I приближалась к уровню

Таблица 1

Активность нуклеаз (в пкат на 1 мг белка) в мозге, печени и почке одномесячных крыс ( $M \pm m$ )

Серия опытов	Щелочная ДНКаза	Кислая ДНКаза	Щелочная РНКаза	Кислая РНКаза
<b>Мозг</b>				
Контроль	15,60 $\pm$ 1,29 (14)	33,30 $\pm$ 2,00 (14)	135,52 $\pm$ 10,10 (14)	559,56 $\pm$ 38,27 (14)
ФРН	12,86 $\pm$ 0,51 (11)	34,70 $\pm$ 3,29 (11)	105,81 $\pm$ 5,71* (11)	433,17 $\pm$ 16,23* (11)
Гуанетидин	16,98 $\pm$ 1,03 (10)	40,68 $\pm$ 3,24 (10)	143,93 $\pm$ 13,92 (10)	464,95 $\pm$ 29,78 (10)
Гуанетидин + ФРН	13,01 $\pm$ 0,58 (12)	35,67 $\pm$ 2,39 (11)	139,55 $\pm$ 12,85 (12)	406,97 $\pm$ 28,03* (12)
<b>Печень</b>				
Контроль	36,83 $\pm$ 2,58 (11)	71,54 $\pm$ 5,78 (14)	129,91 $\pm$ 9,50 (14)	262,36 $\pm$ 10,87 (14)
ФРН	40,54 $\pm$ 2,52 (11)	87,10 $\pm$ 2,84 (11)	116,52 $\pm$ 8,81 (11)	258,31 $\pm$ 24,80 (11)
Гуанетидин	59,01 $\pm$ 4,79* (10)	112,65 $\pm$ 8,18* (10)	194,04 $\pm$ 10,59* (11)	489,31 $\pm$ 29,15* (11)
Гуанетидин + ФРН	35,30 $\pm$ 2,55 (11)	69,78 $\pm$ 9,39* (11)	131,63 $\pm$ 17,45* (11)	355,95 $\pm$ 27,92* (11)
<b>Почка</b>				
Контроль	64,83 $\pm$ 3,79 (13)	81,44 $\pm$ 3,72 (13)	432,09 $\pm$ 26,27 (13)	440,14 $\pm$ 30,63 (12)
ФРН	64,76 $\pm$ 4,46 (11)	89,60 $\pm$ 9,10 (11)	455,07 $\pm$ 49,97 (10)	362,13 $\pm$ 19,55 (10)
Гуанетидин	91,07 $\pm$ 8,82* (10)	102,33 $\pm$ 8,53* (10)	424,83 $\pm$ 41,01 (10)	475,95 $\pm$ 43,43 (10)
Гуанетидин + ФРН	59,85 $\pm$ 3,19 (12)	61,81 $\pm$ 3,50* (12)	358,79 $\pm$ 18,90* (12)	384,12 $\pm$ 21,20 (11)

Примечание. Здесь и в табл. 2 в скобках — число опытов; звездочка —  $p \leq 0,05$ .

контроля, а активность РНКазы II хотя и сохранялась повышенной (136 %), но не в такой мере, как при действии одного гуанетидина (187 %).

Сходные по направленности с тканью печени сдвиги активности РНКаз наблюдались при использовании гуанетидина в ткани почек (см. табл. 1). Наоборот, экзогенный ФРН не оказывал существенного влияния на активность всех исследуемых ферментов, а комбинация препаратов влекла за собой ее некоторое снижение, причем для кислой ДНКазы и щелочной РНКазы оно оказалось статистически достоверным.

Иная картина наблюдалась в ткани сердца (см. табл. 2). Здесь ФРН достоверно повышал, а гуанетидин сам по себе или в сочетании с фактором снижал активность щелочной ДНКазы. Особенно глубокое снижение отмечено в опыте с гуанетидином.

По-видимому, неоднотипность ответной реакции различных видов нуклеаз

на один и тот же агент заключается в особенностях их структурно-функциональных свойств. Правда, имеющиеся различия минимальны, но и они могут существенно видоизменять реактивность каждой из них. Так, продемонстрировано преимущественное расщепление ДНКазой I одноцепочечной ДНК, в то время как ДНКаза II гидролизует в основном нативную двухцепочечную ДНК. Этот факт связан с особенностями строения молекул упомянутых ферментов. ДНКаза II, например, — димер с двумя активными центрами, а ДНКаза I — мономер с одним центром [23, 28]. Одни нуклеазы в клетке тесно связаны с природным ингибитором, другие — в меньшей степени [18].

Ежедневные инъекции ФРН новорожденным крысам уже к месячному возрасту вызывали более чем двукратное увеличение массы краниального шейного ганглия, тогда как на фоне введения гуанетидина его масса

Таблица 2

Активность нуклеаз (в пкат на 1 мг белка) в сердце одномесячных крыс ( $M \pm m$ )

Серия опытов	Щелочная ДНКаза	Щелочная РНКаза
Контроль	72,87 $\pm$ 2,89 (9)	253,38 $\pm$ 18,38 (10)
ФРН	89,63 $\pm$ 6,26* (9)	291,26 $\pm$ 27,06 (9)
Гуанетидин	42,49 $\pm$ 1,73* (10)	182,64 $\pm$ 10,66* (10)
Гуанетидин + ФРН	49,36 $\pm$ 4,83* (11)	298,01 $\pm$ 20,03 (12)

уменьшалась на 40—60 %, а при комбинированном применении препаратов ганглии практически не отличались от контрольных; противоположные результаты наблюдали при использовании гуанетидина, приводившего к массовой дегенерации (88 %) нервных клеток [8, 9].

Гипериннервация (введение ФРН) и десимпатизация (введение симпатолитика гуанетидина) имеют различную физиологическую и метаболическую основу, частным случаем последней являются биохимические процессы, протекающие с участием нуклеаз. Эффект десимпатизации более всего проявляется в функционировании нуклеаз печени. Можно предположить, что гуанетидин, действуя на мембраны, высвобождает нуклеазы из латентных форм, активируя их действие на субстрат [2, 16]. Возможны и изменения состояния внутриклеточного ингибитора нуклеаз — особого белка, без освобождения из ассоциата с которым функция нуклеаз осуществляется с трудом. Судя по данным литературы, это является определяющей причиной колебаний активности щелочных нуклеаз при различных физических и химических воздействиях [19, 27]. На уровне целостного организма активность нуклеаз регулируется не только гормонами гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы [17], но и нервной системы в результате симпатолитического действия гуанетидина [20].

Действие ФРН на нуклеазы может опосредоваться через гиперфункцию периферического отдела симпатической нервной системы и (или) быть прямым [11, 12]. Вероятность второго допущения подтверждается и тем, что модифицирующее влияние на активность нуклеаз обнаруживается и при использовании альбумина [15]. Правда, выраженность сдвигов в этом случае уступает таковой от применения ФРН. ФРН способствует возврату к норме ряда биохимических параметров [8, 9], устраняя вызываемое гуанетидином торможение синтеза РНК и белка в краиниальном шейном ганглии [7].

#### ЛИТЕРАТУРА

- Арбузов В. А., Кречетова Г. Д. // Экспер. онкол. — 1981. — № 3. — С. 3—11.
- Беляева Н. Ф., Никулин И. Р., Молчанова Л. В. // Структура и функции лизосом. — М., 1986. — С. 17—18.
- Баррет А. Дж., Хит М. Ф. // Лизосомы: Методы исследования / Под ред. Дж. Дингла: Пер. с англ. — М., 1980. — С. 25—156.
- Блехман Г. И. // Успехи совр. биол. — 1983. — Т. 95, № 2. — С. 181—198.
- Борисов М. М., Мухаммедов А., Доронин И. П. и др. // Успехи физиол. наук. — 1977. — Т. 8, № 1. — С. 74—90.
- Буравский В. А., Горбунова Н. Б., Колтунов В. В. и др. // Вестн. АН БССР; Сер. биол. наук. — 1984. — № 3. — С. 52—58.
- Буравский В. А., Грабовая О. И., Жук О. П. и др. // Всесоюзное физиологическое о-во им. И. П. Павлова: Съезд: Тезисы науч. сообщ. — Л., 1987. — Т. 2. — С. 313.
- Жук О. Н., Калюнов В. Н. // Вестн. АН БССР; Сер. биол. наук. — 1985. — № 4. — С. 61—64.
- Жук О. Н., Калюнов В. Н., Гулецкая Е. М. // Там же. — 1986. — № 1. — С. 56—60.
- Калюнов В. Н. Фактор роста нервной ткани. — Минск, 1984.
- Калюнов В. Н. Биология фактора роста нервной ткани. — Минск, 1986.
- Карпентер Г., Козн С. // Перспективы биохимических исследований / Под ред. Дж. Туза, С. Прентиса: Пер. с англ. — М., 1987. — С. 114—120.
- Коцетов Г. А. Практическое руководство по энзимологии. — М., 1971.
- Нечаева Г. А. // Укр. биохим. журн. — 1964. — Т. 36, № 4. — С. 607—614.
- Петрусенко Г. П., Фомищенко К. В., Горбунова Н. Б. // Вестн. АН БССР; сер. биол. наук. — 1984. — № 2. — С. 43—47.
- Покровский А. А., Тутельян В. А. Лизосомы. — М., 1976.
- Протасова Т. П. Гормональная регуляция активности ферментов. — М., 1975.
- Керова Н. И., Пухова Г. Г., Чеботарев Е. Е. Естественные ингибиторы нуклеаз. — Киев, 1974.
- Рева А. Д., Черненко Г. П. // Укр. биохим. журн. — 1974. — Т. 46, № 5. — С. 606—609.
- Родионов И. М., Борисов М. М., Мухаммедов А. // Вестн. Моск. ун-та; Сер. биол. — 1977. — № 2. — С. 3—11.
- Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. — Минск, 1973.
- Татарская Р. И. // Молекул. биол. — 1976. — № 2. — С. 235—259.
- Федорова Т. М., Рысюкова Л. Н., Абилова Г. А. // Журн. эволюц. биохим. — 1980. — Т. 16, № 3. — С. 222—227.
- Фомищенко К. В., Петрусенко Г. П. // Вестн. АН БССР; Сер. биол. наук. — 1984. — № 5. — С. 71—74.
- Шапот В. С., Чудинова И. А., Кречетова Г. Д. // Современные методы в биохимии. — М., 1964. — Т. 1. — С. 267—281.
- Шапот В. С. Нуклеазы. — М., 1968.
- Шапот В. С. Биохимические аспекты опухолевого роста. — М., 1975.
- Bernardi G., Appella E., Zito R. // Biochemistry (Wash.). — 1985. — Vol. 4, N 9. — P. 1725—1729.
- Black I., Coughlin M., Coehard P. // Soc. Neurosci. Symp. — 1979. — Vol. 4. — P. 184—207.

30. Chun L., Patterson P. // J. Cell. Biol. — 1977. — Vol. 75. — P. 694—704.
31. Edgar D., Barde Y. // Trends Neurosci. — 1983. — Vol. 6. — P. 260—262.
32. Johnson E., Macia J. // Brain Res. — 1979. — Vol. 171. — P. 461—472.
33. Kessler J., Black I. // Ibid. — 1980. — Vol. 189. — P. 157—168.
34. Levi-Montalcini R. // Progr. Brain Res. — 1976. — Vol. 45. — P. 235—257.
35. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. // J. biol. Chem. — 1951. — Vol. 193. — P. 265—275.
36. Manning P., Russell J., Sommons B. et al. // Brain Res. — 1985. — Vol. 340. — P. 61—69.
37. Marx J. // Science. — 1986. — Vol. 232. — P. 1341—1342.
38. Thoenen H., Barde Y., Edgar D. // Life Sci. Res. Rept. — 1982. — Vol. 24. — P. 173—185.

Поступила 30.12.87

# EFFECTS OF NERVE GROWTH FACTOR, GUANETHIDINE AND THEIR MIXTURES ON ACTIVITY OF NUCLEASES IN ANIMAL TISSUES

V. N. Kalyunov, G. P. Petrusenko, K. V. Fomichenko

Institute of Physiology, Academy of Sciences of the Byelorussian SSR, Minsk

Activity of ribo- and deoxyribonucleases RNAases I and II, DNAases I and II was studied in brain hemispheres, liver, kidney and heart tissues of one-month-old rats, which were administered daily, beginning from birth either with nerve growth factor 15 µg/kg, guanethidine 30 µg/kg or with these compounds simultaneously at the doses mentioned above. Activity of the nucleases studied was altered in nervous tissue and in vegeto-dependent tissues after separate treatment with both nerve growth factor and guanethidine, while their simultaneous administration caused slight normalization but not to complete recovery of the patterns studied.

УДК 612.112.94.015.2:612.6].063.08

А. А. Карелин, В. С. Демидова, А. Г. Глоба, А. И. Марчук,  
Б. В. Втюрин

## СТИМУЛИРУЕМОЕ ИНТЕРЛЕЙКИНОМ-2 ОБРАЗОВАНИЕ АТФ ПРЕПАРАТАМИ ОБОГАЩЕННЫХ ПЛАЗМАТИЧЕСКИМИ МЕМБРАНАМИ ЧАСТИЦ ИЗ Т-КЛЕТОК

Институт хирургии им. А. В. Вишневского АМН СССР, Москва

Интерлейкин-2 (ИЛ-2) является регуляторным пептидом, имеющим большое значение для роста и дифференциации антигенспецифических Т-лимфоцитов и больших гранулярных лимфоцитов тимуса [11, 25]. Взаимодействие ИЛ-2 со своим специфическим рецептором приводит к ускорению S-фазы клеточного цикла, к изменению определенных клеточных окружений, а также стимулирует Т-лимфоциты к продукции и высвобождению γ-интерферона [10, 13, 26]. Установлено [24], что рецепторы для ИЛ-2 существуют в двух формах, различающихся по аффинитету к лиганду: низкоаффинные и высокоаффинные. Изменение конформации рецепторов, например в результате предобработки фитогемагглютинином, увеличивает аффинность к лиганду. Охарактеризовано связывание ИЛ-2 с высокоаффинными специфическими рецепторами [9, 23]. Однако внутриклеточные механизмы, посредством которых это лигандорецепторное взаимодействие активирует рост и диф-

ференциацию Т-лимфоцитов, остаются неясными. Ранее сообщалось [1—6] об активации процессов фосфорилирования образованием АТФ на плазматических мембранах клеток-мишеней в ответ на различные опосредуемые рецептором пептидные сигналы. Показано, что сигналиндуцированный мембраносвязанный АТФ играет важную роль в трансдукции гормонального сигнала благодаря фосфорилированию с помощью тирозинспецифических протеинкиназ или протеинкиназы С ключевых регуляторных белков [6]. Имеются литературные данные об участии протеинкиназы С в процессе активации Т-лимфоцитов под действием ИЛ-2 [12]. Под влиянием этого же фактора наблюдалось фосфорилирование мембранных и цитозольных белков в Т-лимфоцитах.

В настоящем сообщении приводятся факты, свидетельствующие, что процесс активации Т-клеток ИЛ-2, по-видимому, сопряжен с образованием мембраносвязанного АТФ.