

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)

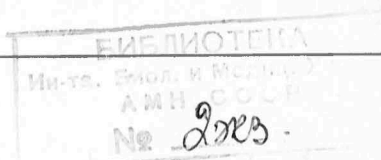
ТУРАКУЛОВ Я. Х. (Ташкент)

ТЯХЕПЫЛД Л. Я. (Тарту)

ШАПОВ В. С. (Москва)

ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)

ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)



Л. П. Дворянинович

ИЗМЕНЕНИЕ СИНТЕЗА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В СЕЛЕЗЕНКЕ КРЫС С ОСТРЫМ ДЕФИЦИТОМ ВИТАМИНА В₁ ПРИ ИММУНОГЕНЕЗЕ

Кафедра биологической химии Гродненского медицинского института

Относительно давно установлена взаимосвязь между обеспеченностью тиамином и состоянием иммунореактивных систем, однако единого мнения о характере влияния витамина В₁ на общую иммунологическую реактивность организма не сложилось [5, 7, 27].

Рядом авторов [2, 16, 24] показано, что образование антител в ответ на введение различных антигенов сопровождается увеличением концентрации и общего количества нуклеиновых кислот в лимфоидной ткани. Единственным источником рибозо-5-фосфата, который занимает важное место в реакциях биосинтеза нуклеотидов и нуклеиновых кислот, является пентозофосфатный путь расщепления углеводов. Различные ткани животного организма могут образовывать пентозофосфаты с преимущественным использованием или окислительных, или неокислительных реакций, катализируемых трансальдозазой и транскетолазой. Таким образом, оба процесса (и ассимиляция, и генерация пентозофосфатов) находятся под контролем транскетолазы — фермента, активность которого прямо зависит от обеспеченности организма тиамином. Это дает основание полагать, что витамин В₁ и катализируемая им транскетолазная реакция могут оказывать влияние на процесс антителообразования, вмешиваясь в обмен нуклеиновых кислот.

Цель настоящей работы — изучение биосинтеза ДНК и РНК в селезенке крыс с острой В₁-недостаточностью, вызванной окситиамином, при введении человеческого γ -глобулина.

Методика

Опыты поставлены на половозрелых белых крысах-самцах массой 180–200 г, содержащихся на обычном рационе вивария. Для стимуляции иммунного ответа применяли человеческий противокоревой γ -глобулин — ЧГГ (производственный отдел Белорусского НИИ эпидемиологии и микробиологии, Минск). Использованы две схемы иммунизации: первичный

иммунный ответ вызывали однократным внутривенным введением ЧГГ в хвостовую вену из расчета 30–40 мг на 1 кг массы животного, вторичный — четырехкратным (с интервалом 4 дня) внутрибрюшинным введением ЧГГ в дозе 1 мг с последующей реиммунизацией через 60 дней в дозе 3–4 мг [1]. Животных забивали декапитацией на 4-й день после внутривенного введения ЧГГ и в такой же срок после реиммунизации, что совпадало с максимальным синтезом антител в селезенке животных, иммунизированных белковыми антигенами [4].

Для воспроизведения у крыс острого дефицита витамина В₁ использовали модель острого окситиаминового авитаминоза (окситиамин вводили из расчета 400 мг на 1 кг массы животного однократно подкожно на 72 ч) с максимумом проявления на 4-е сутки по ряду показателей, характеризующих обеспеченность организма тиамином [9].

Животные были разделены на 4 группы: 1-я — интактные (общий контроль), 2-я — подопытные, которым вводили окситиамин, 3-я — подопытные иммунизированные, 4-я — подопытные, которым окситиамин вводили на фоне иммунизации. Животным контрольных групп вводили в тех же объемах физиологический раствор хлорида натрия.

За 2 ч до декапитации крысам вводили внутрибрюшинно ¹⁴C-тимидин отечественного производства (54 мкКи/мкмоль) по 5 мкКи на крысу в 0,3 мл физиологического раствора хлорида натрия. В гомогенате селезенки определяли содержание нуклеиновых кислот путем извлечения их с помощью гидролиза с последующим спектрофотометрическим измерением максимума спектра поглощения нуклеотидов [19].

Полученный хлорно-кислый экстракт ДНК нейтрализовали раствором КОН. Осадок отделяли центрифугированием. Счет радиоактивности проводили во флаконах с жидким толуальным сцинтиллятором, в которые вносили 0,3 мл нейтрализованного центрифугата. Удельную радиоактивность выражали в импульсах в минуту на 1 мг ДНК.

О глубине авитаминоза В₁ судили по активности транскетолазы, определение которой в ткани селезенки проводили по количеству образовавшегося седогептулозо-7-фосфата [17].

Результаты и обсуждение

Как известно, воздействие антигена вызывает в иммунокомпетентной ткани усиление клеточной пролиферации, в основе которой лежат процессы, обеспечивающие удвоение генетического материала клеток — ДНК. Поэтому исследование изменения синтеза ДНК

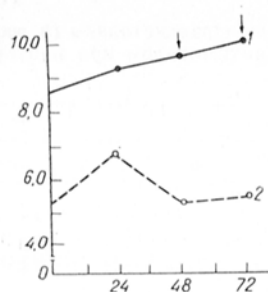


Рис. 1. Изменение содержания ДНК (1) и РНК (2) в селезенке крыс после однократного внутривенного введения ЧГГ.

По оси абсцисс — время после иммунизации (в ч). По оси ординат — содержание нуклеиновых кислот (в мкг/г ткани). Стрелка — достоверные различия по сравнению с контролем.

в лимфоидной ткани позволяет судить о величине клеточной пролиферации и о роли, которую играют связанные с ней процессы в изменениях нуклеиновых кислот. В наших опытах при введении ЧГГ интенсивность синтеза ДНК в селезенке увеличивается уже в 1-е сутки и в дальнейшем продолжает нарастать по крайней мере до 72 ч (рис. 1). На 4-й день иммуногенеза, в разгар синтеза антител в селезенке, наблюдалось максимальное увеличение синтеза ДНК — на 35—78 % (табл. 1, 2). Аналогичные данные об усилении синтеза ДНК в лимфоидной ткани селезенки иммунизированных животных получены и другими авторами [8, 14, 21].

Количество ДНК в клетке — величина постоянная. Следует отметить, что при иммунизации количество ДНК в расчете на массу селезенки увеличивается. Это свидетельствует о том, что объем органа в процессе иммуногенеза увеличивается за счет пролиферации.

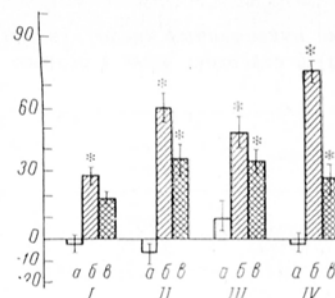


Рис. 2. Влияние окситиамина на синтез ДНК в селезенке крыс при повторном введении ЧГГ.

По оси ординат — исследуемые показатели (в % от контроля). I — содержание ДНК в мкг/г ткани; II — в имп/мин/мг ткани; III — имп/мин/мг белка; IV — имп/мин/мкг ДНК. Во всех случаях а — 2-я, б — 3-я, в — 4-я группа животных.

У животных, получавших окситиамин одновременно с антигеном, интенсивность синтеза ДНК была снижена на 43—63 % по сравнению с группой иммунизированных животных. Таким образом, недостаток тиамин в условиях иммунологического напряжения препятствует клеточному делению. Так как клеточному делению всегда предшествует увеличение содержания ДНК, опосредованное участие тиамин в синтезе ДНК очевидно. Ценными с этой точки зрения оказались эксперименты, в которых показано активирующее действие тиаминдифосфата на биосинтез ДНК *in vivo* [23], причем активация синтеза ДНК была прямо пропорциональна концентрации тиаминдифосфата. Позднее было показано, что пищевой В₁-авитаминоз снижает синтез ДНК в мозгу у крыс, а инъекция тиамин этим крысам (0,5 мг внутривентриально) повышает синтез ДНК до нормы [22]. На возможное участие тиамин В₁ в синтезе нуклеиновых кислот указывают и данные экспериментов,

Таблица 1

Содержание нуклеиновых кислот (в мкг/г ткани) и активность транскетолазы (в мкмоль на 1 мг белка) в селезенке крыс с острым окситиаминовым В₁-авитаминозом при однократном внутривенном введении ЧГГ

Показатель	Группа животных			
	1-я	2-я	3-я	4-я
Масса селезенки, мг	785±44,8 (10)	818±31,2 (10)	865±74,6 (10)	728±41,7 (11)
Содержание РНК	6,15±0,42 (9)	6,07±0,42 (9)	6,77±0,38 (9)	6,20±0,38 (9)
Содержание ДНК	11,7±1,68 (8)	11,1±0,99 (8)	20,8±2,84* (8)	12,8±1,72** (8)
Активность транскетолазы	1,40±0,08 (7)	0,93±0,10* (7)	1,19±0,09 (8)	0,78±0,07* (8)

Примечание. Здесь и в табл. 2: в скобках — число животных. Одна звездочка — достоверные различия с показателями в контрольной группе, две звездочки — с показателями в группе иммунизированных животных.

Содержание нуклеиновых кислот (в мкг/г ткани) и активность транскетолазы (в мкмоль/г на 1 мг белка) в селезенке крыс с острым окситиаминным V_1 -авитаминозом при повторном введении ЧГГ

Показатель	Группа животных			
	1-я	2-я	3-я	4-я
Масса селезенки, мг	1207 \pm 71,3 (8)	1270 \pm 71,2 (8)	1558 \pm 127* (8)	1509 \pm 101* (8)
Содержание РНК	5,87 \pm 0,37 (10)	5,80 \pm 0,33 (11)	6,65 \pm 0,43 (10)	6,45 \pm 0,35 (10)
Содержание ДНК	11,2 \pm 0,89 (9)	11,3 \pm 0,47 (9)	15,2 \pm 1,27* (8)	10,6 \pm 0,85** (10)
Активность транскетолазы	1,67 \pm 0,09 (8)	0,92 \pm 0,06* (8)	1,57 \pm 0,14 (8)	1,26 \pm 0,09* (7)

выполненные на *Lactobacillus viridescens*, ауксотрофных по тиамину [15]. В этих экспериментах выявлено зависимость от тиамина включения пиримидиновых нуклеозидов в нуклеиновые кислоты и пиридинфосфатные конъюгаты. В фазе экспоненциального роста в присутствии достаточных количеств тиамина клетки эффективно поглощали радиоактивные пуриновые и пиримидиновые рибонуклеозиды, при недостаточности тиамина — только цитидин, а при добавлении тиамина после «тиаминового голодания» — и уридин. Известно, что состояние V_1 -авитаминоза приводит к нарушению синтеза ряда аминокислот, в том числе и глутаминовой. В то же время в опытах на белых крысах показано, что введение в организм животного избытка глутамата и глутамина приводит к четкому увеличению содержания РНК и ДНК в ядрах клеток селезенки [3]. Отмечено также резкое усиление выработки антител при добавлении глутамина *in vitro* и показано, что последний не только утилизируется в ходе белкового синтеза, но и играет роль в синтезе нуклеиновых кислот [20]. Полученные нами результаты опытов с включением в ДНК [C^{14}]-тимидина находятся в русле вышеизложенных фактов (рис. 2). Включение [C^{14}]-тимидина в ДНК селезенки иммунизированных ЧГГ крыс достоверно повышено (на 110 %). Состояние острого окситиаминного V_1 -авитаминоза приводит к достоверному снижению включения [C^{14}]-тимидина в ДНК селезенки иммунных крыс по сравнению с иммунизированным контролем на 70 % ($p < 0,01$), не оказывая заметного влияния на включение радиоактивной метки у интактных животных.

В большом количестве исследований особое внимание уделяется участию

РНК в иммуногенезе. Установлено, что РНК может передавать информацию об антигене из макрофагов в лимфоидную ткань, вызывать трансформацию интактных лимфоидных элементов в иммунологически компетентные, принимать непосредственное участие в синтезе антител при однократной и повторной иммунизациях [6]. Результаты наших опытов свидетельствуют о том, что количество РНК в селезенке после внутривенной инъекции ЧГГ повышается статистически достоверно на 1-й день опыта (см. рис. 1). На 2-й день содержание РНК снижается до нормы и через 72 ч иммунизации, когда содержание ДНК в селезенке увеличивается до максимума, уровень РНК не отличается от исходного. Значительное повышение количества РНК в селезенке в 1-е сутки после введения ЧГГ можно рассматривать как результат неспецифического действия антигена на процесс биосинтеза белка, обусловленный его влиянием на нуклеиновые матрицы клеток лимфоидной ткани. Относительно небольшое усиление синтеза РНК в селезенке животных на пике пролиферации антителообразующих клеток (4-й день) было отмечено и в работах других исследователей [10, 12, 14].

При исследовании специфической активности некоторых ферментов нуклеотидного обмена выявлено через 8 ч после введения антигена (эритроциты барана и бычий γ -глобулин) резкое повышение активности уридинкиназы и концентрации уридинмонофосфата в селезенке мышей, которые достигали максимума через 16—24 ч, сохранялись до 72 ч, а затем снижались до исходного. Активность тимидинкиназы постепенно повышалась в течение 48 ч, достигая трехкратного увеличения, и затем падала к 44 ч до исход-

ной [26]. Отмеченное расхождение на 4-й день иммуногенеза, когда увеличение общего содержания нуклеиновых кислот в лимфоидной ткани доходило до максимума, а уровень РНК в селезенке переставал достоверно отличаться от исходного, по-видимому, связано с понижением метаболической активности хромосом во время митоза, сопровождающего иммунологическую перестройку, что приводит к торможению синтеза РНК [25]. Увеличение содержания РНК в лимфоидных органах у иммунизированных животных найдено также другими авторами [11, 13, 18 и др.]. Степень увеличения варьировала в зависимости от вида животного и исследуемого органа, типа и количества инъецированного антигена, способа и схемы иммунизации и т. д. Введение большой дозы антивитамина в наших экспериментах не оказывало существенного влияния на содержание РНК в селезенке крыс, иммунизированных ЧГГ (см. табл. 1, 2).

Таким образом, состояние острого авитаминоза В₁, вызванного введением окситиамина в дозе 400 мг/кг на 72 ч, сопровождается снижением синтеза ДНК в лимфоидной ткани селезенки крыс, иммунизированных растворимым антигеном. Полученные данные свидетельствуют о том, что у интактных животных еще достаточны резервы обеспечения субстратами синтеза нуклеиновых кислот даже при остром дефиците тиамина, однако в условиях мобилизации органа при антигенной стимуляции этот синтез нарушается.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аверкин Р. А. // Руководство по иммунологии / Под ред. О. В. Вязова, Ш. Х. Ходжаева. — М., 1973. — С. 189—200.
2. Васильев Н. В. Очерки о роли кроветворной ткани в антителообразовании. — Томск, 1975.
3. Воронцова Е. Н., Окунев В. Н. // Вопр. питания. — 1976. — № 4. — С. 41—45.
4. Гурвич А. Е., Дризлих Г. И. // Молекул. биол. — 1967. — № 2. — С. 279—287.
5. Желтаков М. М., Скрипкин Ю. К., Сомов Б. А., Бутов Ю. С. // Вестн. дерматол. — 1969. — № 1. — С. 62—65.
6. Иммунобиология: Иммунохимия: Иммунопатология / Под ред. И. Месрбяну, Шт. Берчану. — Бухарест, 1977.
7. Луцук Н. Б., Васильев Н. В. Витамины и иммунитет. — Томск, 1979.
8. Максимова Г. Ф. // Бюл. экспер. биол. — 1972. — № 3. — С. 65—67.
9. Островский Ю. М. // Экспериментальная витаминология. — Минск, 1979. — С. 213—216.

10. Перелыгин Н. Л., Перелыгина О. В., Бабицев В. А., Утешев Б. С. // Журн. микробиол. — 1975. — № 5. — С. 29—33.
11. Станчев Б. Д. // Экспер. мед. морфол. (София). — 1967. — № 6. — С. 67.
12. Фролова М. А., Далин М. В., Перепечкина Н. П. // Журн. микробиол. — 1964. — № 6. — С. 70—73.
13. Шапошникова Т. В. // Труды 2-го Моск. мед. ин-та. — 1975. — Т. 37. — С. 50—51.
14. Begovic G., Circovic D. // Acta vet. (Belogr.). — 1975. — Vol. 25, N 1. — P. 11—18.
15. Bohne L., Bocker R., Kersten H., Kersten W. // Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. — 1974. — Bd 355, N 11. — S. 1355—1366.
16. Brawerman G., Mendecki G., Lee S. G. // Biochemistry (Wash.). — 1972. — Vol. 2. — P. 637.
17. Bruns F. H., Dunwald E., Noltmann E. // Biochem. Z. — 1958. — Bd 330. — S. 497—508.
18. Church R. B., Storb U., McCarthy B. J., Weiser R. S. // J. Immunol. — 1968. — Vol. 101, N 3. — P. 399—408.
19. Fleck A., Hunro M. N. // Biochim. biophys. Acta. — 1962. — Vol. 55, N 5. — P. 571—583.
20. Fuji Hiroshi, Prince A. M. Цит. по Васильеву Н. В.
21. Harris G., Pelc S. R., Blackmore D. K. // Europ. J. Immunol. — 1973. — Vol. 3. — P. 103—108.
22. Henderson G. J., Schenker S. // J. Lab. clin. Med. — 1975. — Vol. 86, N 1. — P. 77—90.
23. Kitulesku I., Pasku D. // Oncol. si Radiol. — 1967. — Vol. 6, N 1. — P. 7—12.
24. Lutz D., Kroger H., Uecker W. et al. // Z. Immun. Forsch. — 1975. — Bd 150, N 5. — S. 424—431.
25. Masia D. // The Cell Biochemistry, Physiology, Morphology. — New York, 1961. — Vol. 3. — P. 77.
26. Raska K., Cohen E. // Clin. exp. Immunol. — 1967. — Vol. 2, N 5. — P. 559—564.
27. Nobuo Watarai, Akira Okawash, Toruro Kooka et al. // Vitamins. — 1953. — Vol. 6, N 3. — P. 350—353.

Поступила 20.11.87

ALTERATION IN NUCLEIC ACID SYNTHESIS IN SPLEEN OF RATS WITH ACUTE VITAMIN B₁ DEFICIENCY UNDER CONDITIONS OF IMMUNOGENESIS

L. N. Dvoryaninovich

Medical School, Grodno

After four administrations of human blood serum γ -globulin (intraperitoneally, once during 4 days at a dose of 1 mg and the following reimmunization within 60 days at a dose of 3–4 mg) distinct incorporation of ^{14}C -thymidine (specific activity 54 $\mu\text{Ci}/\mu\text{mole}$, by 5 μCi per an animal, 2 hrs before decapitation, intraperitoneally) into rat spleen DNA was detected within 4 days of immunogenesis. Acute oxythiamine B₁ avitaminosis (single subcutaneous administration of oxythiamine at a dose of 400 mg/kg) led to a decrease in the label incorporation into spleen DNA of immunized rats by 70% ($p < 0.01$) as compared with control immunized animals, while incorporation of ^{14}C -

thymidine was unaltered in intact rats. Content of RNA was not distinctly altered in spleen of B₁-deficient rats within the 4 days of immuno-

genesis. Acute deficiency of vitamin B₁ thus impaired synthesis of DNA in spleen during development of immunogenesis.

УДК 612.115.1.015

Е. А. Чирятьев, О. П. Леонова, А. Ш. Бышевский

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ И СВОЙСТВА ИНГИБИТОРОВ САМОСБОРКИ ФИБРИНА

Кафедра биохимии Тюменского медицинского института

Самосборка фибрина — единственный неферментативный процесс, завершающий сложный механизм формирования сети нестабилизированного фибрина [1]. До сих пор нет сложившихся представлений о механизмах регуляции этого процесса и эффекторах, модифицирующих самосборку фибрина в норме.

Установлено, что плазма (сыворотка) крови обладает антиполимеризационной активностью, не обусловленной ранее известными ингибиторами самосборки — продуктами распада фибриногена или комплексами гепарина с биологически активными соединениями [2]. Получены данные, указывающие на присутствие в плазме крови и тканях внутренних органов ингибитора самосборки фибрина пептидной природы, содержание которого в тканях коррелирует с состоянием гемокоагуляции, но достаточно постоянно в плазме крови [6]. Уровень ингибитора изменяется с возрастом и зависит от положения животного на эволюционной «лестнице» [4], что наряду с вышеуказанным свидетельствует о роли ингибитора в регуляции свертывания крови на уровне заключительного, филогенетически наиболее древнего этапа.

Установлено, что антиполимеризационная активность реализуется по конкурентному типу торможения путем образования малоактивных комплексов ингибитора с промежуточными продуктами процесса самосборки. В состав сформировавшегося фибринового сгустка ингибитор не включается [3].

В настоящей работе приведены данные об аминокислотном составе ингибиторов самосборки пептидной природы, полученных из плазмы крови человека, характере взаимодействия пептидов с мономерным фибрином, а также антиполимеризационной активности

плазмы, обусловленной присутствием в ней пептидов-ингибиторов.

Методика

Ингибиторы самосборки фибрина выделяли из плазмы крови человека с помощью ультрафильтрации (целлофан Т-100), ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-сефадексе А-25 и гель-фильтрации на сефадексе G-15, как описано ранее [5]. Чистоту препаратов контролировали хроматографией на бумаге и пластинках «Фиксцион 50×8» [8]. Гомогенность ингибиторов оценивали по числу пиков оптической плотности (280 нм) после обработки препаратов ингибиторов финилизотиоцианатом с последующей хроматографией на колонке Ultrasphere ODS (4,6×250 мм) в градиенте 0,005 М ацетат аммония — этанол от 0 до 40 % за 20 мин на жидкостном хроматографе высокого давления (Altex-324). Во всех случаях наблюдался 1 пик роста оптической плотности. Гидролиз индивидуальных пептидов проводили с помощью 6 н. соляной кислоты в среде аргона в присутствии 0,050 % β-меркаптоэтанол и 0,10 % фенола в течение 24 ч при 110 °С. Аминокислотный анализ пептидов осуществляли на автоматическом аминокислотном анализаторе LKB-4101 в трехбуферной натриевой системе с применением ионообменной смолы Dugum DC 6A.

Мономерный фибрин выделяли из нефракционированной бычьей плазмы [10]. Эффективность торможения самосборки фибрина исследуемыми ингибиторами рассчитывали по формуле $i = 1 - V_0/V_k$, где i — эффективность торможения, V_k и V_0 — скорость самосборки в контроле и опыте соответственно. Количество ингибитора выражали в условных единицах активности (ЕА) с помощью графика зависимости количества ингибитора от эффективности торможения [2]. Фрагмент D выделяли из 120-часового триптического гидролизата фибриногена [7].

Ингибитор метили с помощью $[^{131}\text{I}]$ [11], освобождаясь от несвязавшегося йода гель-фильтрацией на колонке с сефадексом G-15. Радиометрию проводили с помощью установок ДП-100 и пересчетного устройства ПП-16.

Эффективность торможения самосборки пептидным ингибитором и фрагментом D порознь, а также при их совместном введении оценивали, исходя из того, что суммация эффектов наблюдается при $i_{1,2} = (i_1 + i_2) - i_1 \cdot i_2$, синергизм — при $i_{1,2} > (i_1 + i_2) - i_1 \cdot i_2$, антагонизм — при $i_{1,2} < (i_1 + i_2) - i_1 \cdot i_2$, где $i_{1,2}$ — эффективность торможения при совместном введении