

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н.Ореховича

Архив журнала

Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1989

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

1989

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 35

БЫПУСК 5

СЕНТЯБРЬ — ОКТЯБРЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.



МОСКВА · МЕДИЦИНА · 1989

ВОПРОСЫ МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ



РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. Б. СПИРИЧЕВ (зам. редактора), И. П. АШМАРИН, Т. Т. БЕРЕЗОВ, А. В. ВАСИЛЬЕВ, Е. Н. ГЕРАСИМОВА, В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, В. Л. КОЗЕЛЬЦЕВ (ответственный секретарь), А. Н. 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)
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)
ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)
ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)

ления IgM. Так, IgM содержит лишь следовые количества α_2 -МГ и β -липопротеида — примесей, затрудняющих очистку IgM (см. рис. 3 и 5).

Таким образом, с помощью комбинации примененных методов достигнуто отделение α_2 -МГ от главных примесей — Нр и IgM. α_2 -МГ получен в функционально активной форме ингибитора протеаз. Псевдолигандная аффинная хроматография и неидеальная гель-фильтрация являются перспективными видами хроматографии с большими потенциальными возможностями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бэм Э. // Иммунологические методы: Пер. с нем. — М., 1979. — С. 58—63.
2. Куртенок О. А., Смородин Е. П. // Экспер. онкол. — 1983. — № 2. — С. 55—57.
3. Смородин Е. П. А. с. 1090406, СССР.
4. Arnaud P., Gianazza E. // FEBS Lett. — 1982. — Vol. 137, N 1. — P. 157—161.
5. Barret A. J., Starkey P. M. // Biochem. J. — 1973. — Vol. 133, N 4. — P. 709—724.
6. Barret A. J., Brown M. A., Sayers C. A. // Ibid. — 1979. — Vol. 181, N 2. — P. 401—418.
7. Gianazza E., Arnaud P. // Ibid. — 1982. — Vol. 203. — P. 637—641.

8. Gonias S. L., Roche P. A., Pizzo S. V. // Ibid. — 1986. — Vol. 235. — P. 559—567.
9. Hall P. K., Roberts R. C. // Biochem. J. — 1978. — Vol. 173, N 1. — P. 27—38.
10. Kurecki T., Kress L. F., Laskowski M. // Analyt. Biochem. — 1979. — Vol. 99, N 2. — P. 415—420.
11. McEntire J. E. // J. Immunol. Meth. — 1978. — Vol. 24. — P. 39—45.
12. Virca G. D., Travis J., Hill P. K., Roberts R. C. // Analyt. Biochem. — 1978. — Vol. 89, N 1. — P. 274—278.

Поступила 15.12.88

ISOLATION OF α_2 -MACROGLOBULIN FROM HUMAN BLOOD PLASMA BY MEANS OF PSEUDOLIGAND AFFINITY CHROMATOGRAPHY COUPLED WITH GEL FILTRATION

E. P. Smorodin, Kh. E. Arukaeu

Institute of Experimental and Clinical Medicine,
Ministry of Public Health of the Estonian SSR,
Tallinn

Combination of two procedures — pseudoligand affinity chromatography on Cibacron blue agarose and usual gel filtration on TSK HW-60 enabled to separate successfully blood plasma α_2 -macroglobulin from immunoglobulin M, haptoglobins and low molecular weight proteins. The preparation of α_2 -macroglobulin obtained exhibited high inhibitory activity towards proteases.

УДК 616-008.939.15-39-02:615.917:547.262]-07

Л. Н. Овчинникова, В. З. Горкин

ОБ ОСОБЕННОСТЯХ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Всесоюзный научный центр медико-биологических проблем наркологии Минздрава СССР,
Институт биологической и медицинской химии АМН СССР, Москва

В настоящее время успешно исследуются мембранные механизмы клеточной патологии. Установлено, в частности, существование определенной взаимосвязи между интенсивностью перекисного окисления липидов (ПОЛ) биомембран и особенностями их функционирования в норме и при патологии [2]. Многие авторы наблюдали ПОЛ в печени при метаболизме этанола [22], но данные о сравнительной характеристике процессов ПОЛ в органах человека при алкогольной интоксикации не опубликованы.

Основной целью настоящей работы было сравнительное исследование динамики аскорбатзависимого ПОЛ в тканях печени, легких, почек и сердца человека при острой и хронической алкогольной интоксикации. В ходе исследования мы охарактеризовали так-

же активность ферментов супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГП) и глутатионтрансферазы (ГТ) как важных компонентов антиоксидантной защитной системы клетки [10].

Методика

Навески органов трупов мужчин (25—55 лет), которые при жизни подвергались хронической алкогольной интоксикации и погибли от несчастных случаев (14 человек), от острой алкогольной интоксикации (16 человек), от несчастных случаев или других причин, не связанных со злоупотреблением этанолом (5 человек, контроль), были получены не позже чем через 24 ч после смерти. До момента вскрытия трупы находились в одинаковых условиях морга. Аутопаты были любезно представлены нам канд. мед. наук А. И. Угрюмовым.

Митохондриальные фракции выделяли из 10 % тканевых гомогенатов в 0,25 М сахарозе [17]. Содержание белка определяли колори-

Содержание МДА (в нмоль на 1 г влажной массы ткани) в органах человека ($M \pm m$)

Вариант исследования	Печень	Легкие	Почки	Сердце
1. Контроль	8,5 \pm 1,07 (5)	8,2 \pm 0,13 (5)	20,7 \pm 0,2 (5)	14,4 \pm 0,4 (5)
2. Хронический алкоголизм p_{2-1}	11,1 \pm 1,6 (8) н. д.	7,0 \pm 1,9 (8) н. д.	11,7 \pm 1,7 (8) <0,01	20,8 \pm 5,5 (10) н. д.
3. Острое отравление алкоголем p_{3-1} p_{3-2}	16,8 \pm 2,1 (16) <0,05 н. д.	8,4 \pm 2,2 (8) н. д. н. д.	16,7 \pm 2,3 (8) н. д. н. д.	28,3 \pm 6,2 (13) н. д. н. д.

Примечание. В скобках—число исследованных случаев; н. д.—различия статистически не достоверны ($p > 0,05$).

метрически [21] с альбумином сыворотки крови быка или человека в качестве стандарта.

Для характеристики процессов ПОЛ колориметрически исследовали содержание и кинетику образования [11] малонового диальдегида (МДА) по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой [3]. Пробы инкубировали в аэробных условиях при 37°C в течение 30, 60, 90 и 120 мин в присутствии 0,5 мкМ $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ и 5 мкМ аскорбиновой кислоты [5]. При спектрофотометрическом определении диеновых конъюгатов [8] непредельные жирные кислоты экстрагировали смесью гексана с изопропиловым спиртом (1:1). О содержании гидроперекисей липидов [6] судили по реакции тиоцианата аммония с образующимся в их присутствии трехвалентным железом. Липофусциноподобные пигменты [12, 24] определяли флюориметрически при 435 нм (длина волны света, возбуждающего флюоресценцию, 365 нм) после экстракции смесью хлороформа с метанолом (2:1).

Активность антиоксидантных ферментов исследовали на базе отдела сердечно-сосудистой патологии Института кардиологии им. А. Л. Мясникова ВКНЦ АМН СССР под руководством доктора биол. наук В. З. Ланкина, которому приносим искреннюю благодарность. Об активности СОД судили по ингибированию восстановления нитросинего тетразолия в ксантин-ксантинооксидазной системе на спектрофотометре «Hitachi-220А» (Япония) [7]. Активность ГП и ГТ характеризовали соответственно по окислению НАДФ·Н в сопряженной глутатион-редуктазной системе (при использовании в качестве субстрата гидроперекиси третбутила) и по образованию конъюгатов глутатиона с 1-хлор-2,4-динитробензолом на химическом анализаторе FP-901 («Labsystems», Финляндия) [7, 15].

Результаты опытов обрабатывали статистически по методу Стьюдента при условии нормальности распределения вариант в вариационных рядах [16]. Различия между средними арифметическими величинами считали статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В печени при острой смертельной алкогольной интоксикации, а также в почках при хроническом алкоголизме удалось отметить статистически достоверные отклонения (по сравнению

с контролем) в содержании МДА — важного продукта липопероксидации (см. таблицу), но во всех 4 исследованных органах (печень, легкие, почки, сердце) не было достоверных различий в содержании МДА при хроническом алкоголизме по сравнению с этим показателем при остром смертельном отравлении алкоголем. Такие различия были выявлены лишь при исследовании динамики накопления МДА в ходе аскорбатзависимого ПОЛ (рис. 1). В печени при хрониче-

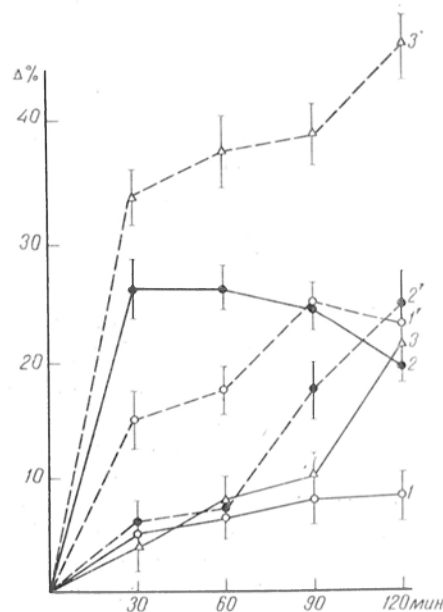


Рис. 1. Накопление МДА в гомогенатах печени (сплошные линии) и легких (штриховые линии) человека при алкогольной интоксикации в ходе аскорбатзависимого ПОЛ.

По оси абсцисс — длительность инкубации (в мин) при 37°C, по оси ординат — прирост (в %) МДА (в нмоль на 1 г свежей массы ткани). 1 и 1' — контроль (соответственно для печени и легких; число исследованных случаев 5 и 5); 2 и 2' — хронический алкоголизм (10 и 10); 3 и 3' — острая алкогольная интоксикация (12 и 15). Данные представлены в виде $M \pm m$.

ском алкоголизме удалось обнаружить резкие статистически достоверные различия в динамике прироста содержания МДА уже за первые 30 мин инкубации по сравнению не только с контролем, но и с его уровнем в печени людей, погибших от острой алкогольной интоксикации. В легких подобное явление было отмечено при острой смертельной алкогольной интоксикации, но не при хроническом алкоголизме (см. рис. 1), что позволяет получить сведения для посмертной дифференциальной диагностики хронического алкоголизма и острой смертельной алкогольной интоксикации у человека. В почках и сердце динамика прироста содержания МДА при аскорбатзависимом ПОЛ была совершенно однотипной в случаях хронического алкоголизма, острой смертельной алкогольной интоксикации и в контроле (данные на рис. 1 не представлены).

Данные о резко выраженных различиях в динамике накопления (особенно за первые 30 мин инкубации) МДА в печени при аскорбатзависимом ПОЛ в случаях острой смертельной алкогольной интоксикации и хронического алкоголизма не могут быть обусловлены различиями в содержании этанола в крови. Сопоставление результатов наших исследований с данными клинико-биохимических анализов свидетельствует о том, что в печени при высоком (от 3,0 до 4,5‰ или от 4,5 до 6,0‰) содержании этанола в крови накопление МДА не только не превышало соответствующие величины, обнаруживаемые при низком (от 0 до 1,5‰) содержании этанола в крови, но даже было ниже этих величин. Результаты аналогичных исследований ткани легких указывают, однако, на соответствие между высоким содержанием этанола в крови и накоплением в ходе аскорбатзависимого ПОЛ примерно в 2 раза большего количества МДА при острой смертельной алкогольной интоксикации, чем при хроническом алкоголизме или в контроле.

Результаты изучения содержания особенно лабильных дневных конъюгатов (характеризующих первичные этапы ПОЛ) и гидроперекисей высших непредельных жирных кислот (промежуточных продуктов ПОЛ) не позволили выявить различия между процессами ПОЛ в печени, легких,

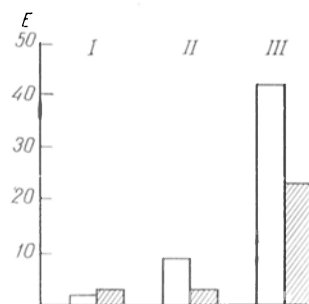


Рис. 2. Содержание липофусциноподобных пигментов в гомогенатах печени (белые столбики) и легких (заштрихованные столбики) человека при алкогольной интоксикации.

По оси ординат — интенсивность флюоресценции (в отн. ед.). I — контроль, II — хронический алкоголизм, III — острая смертельная алкогольная интоксикация. Представлены средние данные (M), 3—5 параллельных исследований; ошибка средней (m) превышала 10 % от M.

почках, сердце человека при хроническом алкоголизме, острой смертельной алкогольной интоксикации и в контроле. О существовании таких различий свидетельствуют результаты исследований липофусциноподобных пигментов — стабильных продуктов взаимодействия МДА с биохимическими компонентами клетки (рис. 2). Так, например, в печени при хроническом алкоголизме содержание этих пигментов было в среднем в 5 раз, а при острой смертельной алкогольной интоксикации — в 20 раз выше, чем в норме. Аналогичные результаты получены при исследовании ткани легких (см. рис. 2), но не почек или сердца в условиях алкогольной интоксикации у человека.

Полученные данные указывают на активацию ПОЛ (по крайней мере в некоторых жизненно важных органах) в условиях алкогольной интоксикации у человека, что соответствует основным преимущественно на результатах экспериментальных исследований на животных представлениям о действии низких концентраций этанола на структуру и биохимические свойства биологических мембран [14, 18, 20, 23]. К числу возможных причин активации ПОЛ при патологических состояниях или интоксикациях, по современным представлениям [13], относят: 1) стимуляцию активности ферментных систем, при функционировании которых образуются активные формы кислорода, что приводит к повышению их концентрации в клетке;

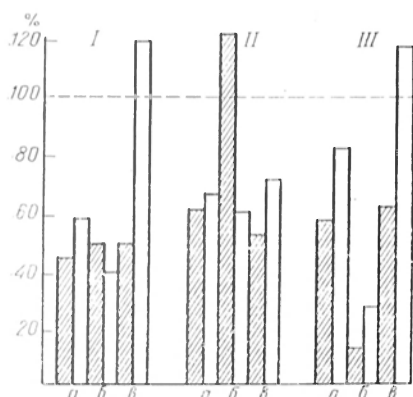


Рис. 3. Активность антиоксидантных ферментов в печени (а), легких (б) и сердце (в) человека при алкогольной интоксикации.

По оси ординат: относительная активность ферментов (в % к контролю). Заштрихованные столбики — хронический алкоголизм, белые столбики — острая смертельная алкогольная интоксикация. I — СОД, II — ГП, III — ГТ. Представлены средние данные (M) 7—8 параллельных исследований, ошибка средней (m) не превышала 10 % от M.

2) повышение концентрации и переход из связанного в свободное состояние металлов с переменной валентностью (железо, медь), оказывающих проокислительное действие [2, 19]; 3) повышение доступности высших непредельных жирных кислот воздействию активных форм кислорода и проокислителей; 4) снижение содержания в клетке природных антиоксидантов; 5) снижение активности антиоксидантных ферментов — каталазы [5], СОД, ГП, глутатиопредуктазы, ГТ [7, 15]. Снижению активности антиоксидантных ферментов в клетке придается важное патогенетическое значение при ишемии миокарда, гипоксии, стрессовых воздействиях [7].

По нашим данным, при хроническом алкоголизме и острой смертельной алкогольной интоксикации активность СОД, ГП, ГТ в печени, легких и сердце человека, как и можно было ожидать на основании данных о динамике ПОЛ и накоплении липофусциноподобных пигментов, обычно была снижена по сравнению с контролем (рис. 3). При хроническом алкоголизме активность ГП в легких была повышена по сравнению с контролем, что можно сопоставить с относительно медленным накоплением МДА при аскорбатзависимом ПОЛ (см. рис. 1) на фоне незначительного накопления липофусциноподобных пигментов в этом органе (см. рис. 2). В случаях

острой смертельной алкогольной интоксикации в сердечной мышце было обнаружено повышение активности СОД и ГТ по сравнению с контролем, что, по-видимому, отражает компенсаторные изменения активности антиоксидантных ферментов в условиях стимуляции ПОЛ [13].

Независимо от оценки конкретной роли нарушения активности антиоксидантных ферментов в стимуляции ПОЛ этому неспецифическому и часто вторичному процессу придается важное патогенетическое значение при патологических состояниях, связанных с нарушениями функций клеточных мембран [9]. К числу таких патологических состояний относится и алкогольная интоксикация [1].

Результаты настоящего исследования указывают на целесообразность изучения возможности применения для лечения последствий алкогольной интоксикации наряду с другими средствами и антиоксидантов, которые уже получили признание клиницистов в работах по лечению эпилепсии и других патологических состояний, сопровождающихся стимуляцией ПОЛ [9, 13]. В связи с этим важны также данные о мощном антиоксидантном эффекте природных имидазолсодержащих дипептидов карнозина и ансерина [4]. Такие, лишенные токсичности, мышечные дипептиды могли бы найти применение как ингибиторы ПОЛ в комплексном лечении последствий алкогольной интоксикации у человека.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анохина И. П., Коган Б. М. // Токсикология. — М., 1984. — Т. 13. — С. 151—178.
2. Владимиров Ю. А. // Природа. — 1987. — № 3. — С. 36—48.
3. Гаврилов В. Б., Гаврилова А. Р., Мажуль Л. М. // Вопр. мед. химии. — 1987. — № 1. — С. 118—122.
4. Душин А. М., Беманандзера М., Стволинский С. Л. и др. // Биохимия. — 1987. — Т. 52, № 5. — С. 782—787.
5. Каган В. Е., Смирнов А. В., Савов В. М., Горкин В. З. // Вопр. мед. химии. — 1984. — № 1. — С. 112—118.
6. Колесова О. Е., Маркин А. А., Федорова Т. Н. // Лаб. дело. — 1984. — № 9. — С. 540—546.
7. Коновалова Г. Г., Литвицкий П. Ф., Шерматов К. С. и др. // Бюл. экспер. биол. — 1984. — № 9. — С. 271—272.
8. Костюк В. А., Потапович А. И., Лунец Е. Ф. // Вопр. мед. химии. — 1984. — № 4. — С. 125—127.

9. Крыжановский Г. Н. // Пат. физиол. — 1987. — № 1. — С. 3—6.
10. Ланкин В. З. // Биохимия липидов и их роль в обмене веществ / Под ред. С. Е. Северина. — М., 1981. — С. 75—95.
11. Ланкин В. З., Гуревич С. М., Бурлакова Е. Б. // Биоантиокислители. — М., 1975. — С. 73—79.
12. Логонов А. С., Матюшин Б. Н., Ткачев В. Д., Павлова Н. М. // Тер. арх. — 1985. — № 2. — С. 63—67.
13. Никушкин Е. В., Крыжановский Г. Н. // Пат. физиол. — 1987. — № 6. — С. 19—24.
14. Панченко Л. Ф., Пирожков С. В., Попова С. В., Антоненков В. Д. // Бюл. экспер. биол. — 1987. — № 4. — С. 407—410.
15. Пентюк А. А., Яковлева О. А., Коновалова Г. Г., Ланкин В. З. Биохимия. — 1987. — Т. 52, № 6. — С. 1009—1012.
16. Урбах В. Ю. Математическая статистика для биологов и медиков. — М., 1963.
17. Хужамбердиев М., Мамадиев М., Горкин В. З. // Вопр. мед. химии. — 1981. — № 6. — С. 829—834.
18. Green F. A., Claesson H.-E. // Biochem. biophys. Res. Commun. — 1986. — Vol. 140, N 3. — P. 782—788.
19. Halliwell B., Gutteridge J. M. C. // TIBS. — 1986. — Vol. 11, N 9. — P. 372—375.
20. Hoensch H. // Pharmacol. Ther. — 1987. — Vol. 33, N 1. — P. 121—128.
21. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. // J. biol. Chem. — 1951. — Vol. 193, N 1. — P. 265—275.
22. Shaw S., Jayatilake E. // Biochem. biophys. Res. Commun. — 1987. — Vol. 143, N 3. — P. 984—990.
23. Tarashi T., Rubin E. // Lab. Invest. — 1985. — Vol. 52, N 1. — P. 120—131.
24. Wilhelm J., Sonka J. // Experienta (Basel). — 1981. — Vol. 37, N 6. — P. 573—574.

Поступила 21.04.88

SPECIFIC PROPERTIES OF LIPID PEROXIDATION IN ALCOHOL INTOXICATION

L. N. Ovchinnikova, V. Z. Gorkin

All-Union Research Centre of Medico-Biological Problems in Narcology, Institute of Biological and Medical Chemistry, Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow

Content of malonic dialdehyde and dynamics of its accumulation in ascorbate-dependent lipid peroxidation (LP), content of diene conjugates, lipid hydroperoxides and lipofuscine-like pigments as well as activity of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, glutathione peroxidase and glutathione transferase) were studied in homogenates of liver, lung, heart and kidney tissues of persons suffering from chronic alcoholism during life-time, of persons lost from acute alcohol intoxication as well as of persons not abusing with alcohol during life-time and lost from accidents (control). In chronic alcoholism the rate of ascorbate-dependent LP was distinctly increased in liver tissue as compared with controls or with acute mortal alcohol intoxication, while the rate of the patterns studied was increased in lung tissue of the latter group of patients. At the same time, increase in content of lipofuscine-like pigments and a decrease in the activity of antioxidant enzymes studied were noted.

УДК 616.132-008.939.22+616.155.33-008.939.22]-02:[615.357:577.175.724

А. В. Васильев, Ли Ха Рен, А. Н. Орехов, В. В. Тертов, В. А. Тутельян

ВЛИЯНИЕ ГЛЮКАГОНА И КОНКАНАВАЛИНА А НА АККУМУЛЯЦИЮ ХОЛЕСТЕРИНА ПЕРИТОНЕАЛЬНЫМИ МАКРОФАГАМИ МЫШИ И КЛЕТКАМИ ИНТИМЫ АОРТЫ ЧЕЛОВЕКА

Институт питания АМН СССР, Москва

Многочисленными клиническими и экспериментальными исследованиями убедительно показана роль повышенных концентраций липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) в крови как риск-фактора атеросклероза и их значение в формировании белково-липидных образований при атерогенезе [2, 6, 8]. В настоящее время выяснены важнейшие клеточные проявления атеросклероза, расшифрованы некоторые механизмы цитогенеза бляшки, открыты рецепторы для липопротеидов [3, 12, 19].

Вместе с тем детальные механизмы воздействия ЛПНП на сосудистую

стенку остаются неясными. Результаты клинических и патоморфологических наблюдений свидетельствуют о том, что нет простой однозначной зависимости между нарушениями в обмене липопротеидов и пенетрантностью и экспрессивностью атеросклеротических поражений [1, 4]. В связи с этим встает вопрос о причинах атерогенности ЛПНП, путях транспорта ЛПНП в сосудистую стенку и их катаболизме. Однако, если изучению взаимосвязи между структурными особенностями ЛПНП (нативные и модифицированные формы) и их атерогенностью, как и транспорту ЛПНП в