

Архив журнала

Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1992

Том 38 выпуск 3

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

1992

Volume 38 issue 3

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>

1. Ашмарин И. П., Васильев И. Н., Амбросов В. А. Быстрые методы статистической обработки и планирование экспериментов.— Л., 1979.
2. Губский Ю. И. // Укр. биохим. журн.— 1982.— Т. 54, № 1.— С. 46—50.
3. Губский Ю. И. Коррекция химического поражения печени.— Киев, 1989.
4. Губский Ю. И., Левицкий Е. Л., Гольдштейн Н. Б. и др. // Докл. АН УССР, сер. Б.— 1988.— № 3.— С. 72—74.
5. Губский Ю. И., Левицкий Е. Л., Гольдштейн Н. Б. и др. // Там же.— 1989.— № 2.— С. 70—72.
6. Губский Ю. И., Левицкий Е. Л., Гольдштейн Н. Б. и др. // Вопр. мед. химии.— 1989.— № 4.— С. 119—124.
7. Губский Ю. И., Левицкий Е. Л., Чабанный В. Н. и др. // Укр. биохим. журн.— 1990.— Т. 62, № 2.— С. 76—82.
8. Збарский И. Б. Организация клеточного ядра.— М., 1988.
9. Левицкий Е. Л. // Укр. биохим. журн.— 1984.— Т. 56, № 4.— С. 460—472.
10. Левицкий Е. Л. // Там же.— 1986.— Т. 58, № 3.— С. 72—74.
11. Льюин Б. Гены.— М., 1987.— С. 365—367.
12. Радзинский В. О., Губский Ю. И., Смально П. Я. и др. // Докл. АН УССР, сер. Б.— 1983.— № 4.— С. 75—77.
13. Чихиржина Т. И., Домкина Б. К., Чигарева Н. Г. и др. Молекул. биол.— 1976.— Т. 10, № 6.— С. 1303—1310.
14. Birnboim H. C. // Biochem. Cell Biol.— 1988.— Vol. 66, N 15.— P. 374—381.
15. Brunius G. // Carcinogenesis.— 1987.— Vol. 8, N 11.— P. 1645—1650.
16. Chiu S. M., Oleinick N. L., Friedman L. R., Stambrook P. J. // Biochim. biophys. Acta.— 1982.— Vol. 699, N 1.— P. 15—21.
17. Doolittle D. J., Muller G., Seribner H. F. // J. Toxicol. environ. Hlth.— 1987.— Vol. 22, N 1.— P. 63—78.
18. Gomes M., Castro J. A. // Toxicol. appl. Pharmacol.— 1980.— Vol. 56, N 2.— P. 199—206.
19. Hincks J. R., Coulombe R. A. // Environ. molec. Mutagenes.— 1989.— Vol. 13, N 3.— P. 211—217.
20. Matssura T., Ueyama H., Nakayasu H., Ueda K. // Cell Struct. Funct.— 1981.— Vol. 6, N 1.— P. 79—82.
21. Miller M. R., Chinault D. N. // J. biol. Chem.— 1982.— Vol. 257, N 17.— P. 10204—10209.
22. Vaca C. E., Vilhelm J., Harms-Rindahl M. // Mutat. Res.— 1988.— Vol. 195, N 2.— P. 137—150.

Поступила 15.05.90

MOLECULAR MECHANISMS OF TETRACHLOROMETHANE-IMPAIRING EFFECTS ON THE LIVER TISSUE FRACTIONATED CHROMATIN

Yu. I. Gubsky, E. L. Levitsky, V. A. Zhila, A. Ya. Litoshenko

Institute of Pharmacology and Toxicology, Ministry of Public Health of the Ukrainian SSR, Institute of Gerontology, Academy of Medical Sciences of the USSR, Kiev

Impairing effects of tetrachloromethane on genetic apparatus were shown to consist in its high affinity and binding to transcriptionally active fraction of chromatin and subsequent destruction of DNA. As a result of the impairment the density of the chromatin fraction was increased which expressed as elevated stability to hydrolysis by endogenous nucleases. At the same time, content of single-stranded structures enriched with proteins was increased in the DNA of the transcriptionally active fraction of chromatin. Two dissimilar properties were detected in the fraction of impaired chromatin from the poisoned animals: increase of density in the chromatin fraction accompanied by insensitivity to S_1 -nuclease, which was detected after denaturation of chromatin and slight relaxation of apparently supernucleosome structures where content of sites, sensitive to short-term treatment with DNAase I, was increased. The hypothesis of the tetrachloromethane toxic effect on genetic apparatus is considered, according to which lipid moiety of chromatin and activation of lipid peroxidation are of definite importance in effects of the xenobiotic on chromatin.

В. В. Саломатин, А. Г. Лютов, А. Л. Цытович, Т. М. Соболевская, Р. И. Лившиц

ВЛИЯНИЕ α -КИСЛОГО ГЛИКОПРОТЕИНА НА ОБМЕН ОКСИПРОЛИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ

Челябинский медицинский институт, НПО «Иммунопрепарат», Уфа

α -Кислый гликопротеин (КГ) является типичным острофазовым белком плазмы. Синтез белка, осуществляемый гепатоцитами, лимфоцитами и моноцитами, многократно возрастает при остром воспалительном процессе, в том числе и вызванном ожоговой травмой [12]. Биологические функции белка остаются во многом неясными. Однако если исходить из его роли как регулятора воспаления, то можно полагать, что при обширных ожогах, когда заметное увеличение концентрации КГ в плазме происходит лишь на 3—4-е сутки после травмы [9, 10], первоначально имеет место дефицит белка, восполнение которого может положительно сказаться на развитии воспалительного процесса. И действительно, ранее в экспериментах на мышах нами было установлено, что введение КГ в первые 2 сут после ожоговой травмы приводит к ускорению заживления ожоговых ран, уменьшению частоты и тяжести раневой инфекции и некоторых других осложнений ожоговой болезни [6].

В настоящей работе с целью выяснения механизма лечебного действия КГ предпринято изучение его влияния на обмен оксипролина как показателя метаболизма соединительнотканной структур. Важность этого вопроса становится понятной, если учесть, что деструктивные и пролиферативные процессы в соединительной ткани во многом определяют течение раневого процесса.

Методика. Опыты проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 180—220 г. Ожог IIIБ степени (13 % поверхности тела) наносили на эпилированную поверхность спинки под эфирным раши-наркозом облучением на установке для дозированного ожога с кварцево-галогенными лампами.

Использовали иммунохимически чистый КГ (≈ 99 % основного вещества), который выделяли из балластного осадка α - и β -глобулинов при получении альбумина человеческой плазмы «каприлатным» методом. Стадии отделения и очистки белка включали гель-фильтрацию на сефадексе G-25, сорбцию на ДЭАЭ-целлюлозе и хроматографию на КМ-целлюлозе, как описано ранее [4]. Чистоту препарата определяли иммуноэлектрофорезом в 1 % агаре с применением моноспецифической сыворотки, а концентрацию — в реакции радиальной иммунодиффузии. Белок вводили подкожным животным внутривенно в дозе 75 мг/кг в физиологическом растворе дважды сразу и спустя 14 ч после нанесения ожога. Контрольным животным в те же сроки и в том же объеме (1 мл) вводили физиологический раствор.

У животных с ожогами каждую неделю производили измерение общей и открытой ожоговой поверхности и рассчитывали в процентах эпителизацию и контрактуру ожоговой раны [13]. Через 18 ч, 3, 7 и 21 сут у животных из ретробульбарного венозного сплетения производили забор крови, которую стабилизировали ЭДТА (конечная концентрация 0,1 %). В плазме определяли свободный и пептидно-связанный оксипролин. Перед забором крови у животных собирали суточную мочу, в которой определяли общий (свободный и пептидно-связанный) оксипролин. Определение окси-

Группа животных	Контрактура раны, %			Эпителизация раны, %	
	1 нед	2 нед	3 нед	2 нед	3 нед
Контрольная (ожог без введения КГ)	0,9±3,3 (8)	12,4±2,1 (8)	21,7±2,9 (8)	0,4±0,15 (8)	18,7±1,6 (8)
Опытная (ожог с введением КГ)	8,7±2,5 (6)	20,9±3,2 (6)	30,6±2,3 (6)	0,6±0,12 (6)	23,4±1,5 (6)
<i>p</i>	0,09	<0,05	<0,05	>0,1	0,07

Примечание. Здесь и в табл. 2 в скобках — число животных.

пролина проводили на основе реакции его окисленных продуктов с парадиметиламинобензальдегидом [7].

Результаты и обсуждение. Введение КГ крысам ускоряет у них заживление ожоговых ран (табл. 1). Различия в течении раневого процесса у подопытных и контрольных животных обнаруживали уже в первые 3 сут после ожога. У части животных (4 из 8), которым КГ не вводили, наблюдали увеличение раневой поверхности по сравнению с ее начальной площадью, что указывало на развитие вторичного некроза ожоговых ран, вероятной причиной которого является прогрессирующий микроваскулярный тромбоз.

Показатели обмена оксипролина, представленные в табл. 2, можно проанализировать, разграничив все время наблюдения на два основных периода, соответствующих процессам, протекающим непосредственно в зоне ожога. Это первые 2—3 сут после ожога, когда первичный коагуляционный и вторичный тромбоваскулярный некроз определяют преобладание катаболических процессов в обмене коллагена, и следующий за этим период заживления ожоговой раны, определяющий преобладание биосинтетических процессов в обмене коллагена (см. табл. 2).

Тот факт, что уровень пептидно-связанного оксипролина плазмы в группе подопытных животных через 18 ч после ожога в 2,5 раза ниже, чем у контрольных животных, свидетельствует о способности КГ ограничивать катаболическую реакцию в обмене коллагена. Примечательно, что соотношение пептидно-связанного оксипролина и уровня свободного оксипролина плазмы претерпевает характерные изменения. Так, если в норме

это соотношение составляет 0,88, то при ожогах без введения КГ — 1,10, 1,21, 1,13 и 0,91, а с введением КГ — 0,42, 0,88, 0,62 и 0,58 соответственно срокам его определения (18 ч, 3, 7 и 21 сут после ожога). Ранее в клинических исследованиях было установлено, что утяжеление ожога по глубине и площади поражения сопровождается тенденцией к снижению содержания свободного и увеличению уровня пептидно-связанного оксипролина плазмы [3]. Можно полагать, что раннее введение КГ при ожогах ограничивает объем вторичного некроза в ожоговой ране. Преимущественный рост содержания пептидно-связанного оксипролина плазмы может быть объяснен тем, что в условиях возросшего белкового катаболизма при ожогах проявляется относительная недостаточность активности сывороточных экзопептидаз [5], что и ведет к накоплению в плазме пептидного материала или так называемых среднемолекулярных пептидов, вносящих определенный вклад в развитие ожоговой эндотоксемии [1, 5].

Иначе, по-видимому, следует рассматривать наблюдаемое под влиянием КГ увеличение выведения оксипролина с мочой в период активной репарации ожоговых ран (7-е и 21-е сутки). Этот оксипролин, являясь по происхождению продуктом деградации коллагена, тем не менее косвенно отражает интенсификацию его биосинтеза и сопутствующее этому увеличение содержания в коже быстрообменивающихся незрелых фракций коллагена.

Относительно механизма положительного действия КГ на обмен коллагена при ожогах можно высказать два предположения. Во-первых, КГ способен улучшать деформируемость эритроци-

Таблица 2

Влияние КГ на показатели обмена оксипролина у крыс при ожогах

Группа животных и время после ожога	Свободный оксипролин плазмы, мкмоль/л		Пептидно-связанный оксипролин плазмы, мкмоль/л		Свободный и пептидно-связанный оксипролин мочи, мкмоль/сут		Суточный диурез, мл
Контрольная (ожог без введения КГ):	19,5±1,6	(12)	17,2±1,1	(12)	0,31±0,04	(12)	7,0±1,2 (12)
18 ч	24,7±2,5	(6)	27,2±3,8*	(6)	0,23±0,02	(12)	7,3±1,0 (6)
3 сут	12,2±1,2*	(6)	14,8±1,6	(6)	0,47±0,06*	(12)	15,7±1,9* (6)
7 сут	14,2±0,6*	(6)	16,1±1,0	(6)	0,36±0,06	(6)	9,1±2,3 (6)
21 сут	19,5±2,5	(8)	17,7±1,1	(8)	0,47±0,05*	(8)	9,4±2,4 (8)
Опытная (ожог с введением КГ):	26,9±1,8	(6)	11,3±3,2*	(6)	0,24±0,03	(6)	20,8±4,9* (6)
18 ч	16,9±1,4*	(6)	14,8±1,4	(6)	0,52±0,06	(6)	16,8±3,4 (6)
3 сут	18,9±2,6	(6)	11,7±1,4*	(6)	0,65±0,06*	(6)	21,4±3,3* (6)
7 сут	16,3±0,9	(6)	9,5±1,1*	(6)	0,84±0,13*	(6)	9,2±3,2 (6)
21 сут							

Примечание. Данные по оксипролину мочи и суточному диурезу через 18 ч после ожога соответствуют сбору мочи за 18 ч. Звездочка — результаты, достоверно отличающиеся ($p \leq 0,05$) в контрольной группе от интактных животных, а в опытной группе — от контрольных.

тов и нормализовывать таким образом микроциркуляцию в ишемических зонах [11]. Поэтому при ожогах он, возможно, ограничивает объем вторичного некроза ожоговых ран и массу разрушаемого коллагена. Влияние КГ на микроциркуляцию, возможно, обусловило также обнаруженный в наших опытах диуретический эффект белка (см. табл. 2), связанный с непосредственным воздействием на почки. Во-вторых, КГ способен ингибировать продукцию нейтрофилами супероксиданионов в процессе окислительного фагоцитоза [8]. Активация этого процесса всегда наблюдается в очагах воспалительного поражения. В свете гипотезы о свободнорадикальной деструкции соединительной ткани [2] это также объясняет защитное действие КГ на ее обмен при ожогах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вальдман Б. М., Пужевский А. С., Волчегорский И. А. и др. // Пат. физиол.— 1988.— № 6.— С. 40—42.
2. Герасимов А. М., Фурцева Л. И. Биохимическая диагностика в травматологии и ортопедии.— М., 1986.
3. Кляцкин С. А., Лифшиц Р. И. // Клин. хир.— 1989.— № 3.— С. 31—33.
4. Лютов А. Г., Алешкин В. А., Еникеева С. А. и др. // Гематол. и трансфузиол.— 1987.— № 5.— С. 58—61.
5. Николайчик В. В. Молекулярные механизмы развития эндогенной интоксикации и совершенствование путей детоксикации: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.— М., 1984.
6. Саломатин В. В., Соболевская Т. М., Курилова Т. В., Лифшиц Р. И. // Пат. физиол.— 1989.— № 6.— С. 37—40.
7. Шараев П. Н., Виленская Н. П., Иванов В. Г. и др. // Бюл. эксп. биол.— 1986.— № 3.— С. 304—306.
8. Costello M. J., Gewurs H., Siegel J. N. // Clin. exp. Immunol.— 1984.— Vol. 55.— P. 465—472.
9. Disson Ph. W., Sannister D., Schreiber G. // J. Trauma.— 1987.— Vol. 27.— P. 283—286.
10. Faymonville M. E., Michels J., Bodson L. et al. // Burns.— 1987.— Vol. 13.— P. 26—33.
11. Pat. 4362718 USA. Agent for curing peripheral circulation insufficiency / Maeda H., Nishi K. // Biol. Abstr.— 1982.— Vol. 70.— N 76207.
12. Sevaljevic L., Ivanovic-Matic S., Petrovic M. et al. // Biochem. J.— 1989.— Vol. 258.— P. 663—668.
13. Shi-liang W., Silberstein E. B., Likes S. // Burns.— 1986.— Vol. 12.— P. 312—317.

Поступила 15.01.91

EFFECT OF α_1 -ACID GLYCOPROTEIN ON METABOLISM OF HYDROXYPROLINE IN EXPERIMENTAL THERMIC TRAUMA

V. V. Salomatina, A. G. Lyutov, A. L. Tsylovich, T. M. Sobolevskaya, R. I. Lifshits

Medical School, Chelyabinsk, Research Industrial Association "Immunopreparation", Ufa

α_1 -Acid glycoprotein, isolated from human blood plasma, was shown to accelerate healing of burn wounds in rats and to increase daily urine excretion. The glycoprotein restricted an elevation of the peptide-bound hydroxyproline in blood plasma, decreased the ratio between peptide-bound and free hydroxyproline within all the periods of experiment during 3 weeks as well as stimulated hydroxyproline excretion with urine at the step of active reparation of burn wounds. The glycoprotein appears to protect connective tissue metabolism in burns.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1992

УДК 615.366.153.96-02:616-001.17].015.4:[616-008.931:577.152.34].-092.9

Б. М. Вальдман, В. П. Пушкарев, Н. А. Соболева, Р. И. Лифшиц

ВЛИЯНИЕ СРЕДНЕМОЛЕКУЛЯРНЫХ ПЕПТИДОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КРОВИ ИНТАКТНЫХ И ОБОЖЖЕННЫХ СОБАК, НА ПРОТЕОЛИЗ В ТКАНЯХ МЫШЕЙ

Челябинский медицинский институт

Усиление протеолитических процессов после ожогов у людей и экспериментальных животных хорошо изучено [3, 5, 14]. Кроме того, показано, что в токсемический период ожоговой болезни в крови больных, а также у животных в модельных опытах повышается содержание пептидов со средней молекулярной массой (300—5000 Д), которые обладают широким спектром действия на различные системы организма [2, 7—10]. Однако до сих пор мало исследован вопрос о влиянии среднемолекулярных пептидов (СМП), являющихся продуктами катаболической реакции, на протеолитические процессы в клетках печени и мозга. Между тем у больных с обширными глубокими ожогами наблюдаются токсемические поражения как печени, так и головного мозга с явлениями энцефалопатии. Оценить такое влияние СМП мы попытались в предлагаемой работе.

Методика. СМП получены из крови 4 интактных и 4 обожженных собак (через 24 ч после ожога). Манипуляции на собаках выполнены под наркозом (тиопентал-натрий, 30—40 мг/кг внутривенно). Методика термической травмы, выделение СМП и их нумерация в порядке выхода из хроматографической колонки описаны ранее [2].

В эксперименте использованы 200 беспородных мышей-самок массой 20—25 г, которые содержались в стандартных условиях вивария. Животным внутривенно вводили 0,2 мл раствора фракций 2, 3 и 4 СМП в физиологическом растворе в дозах, соответствующих их содержанию в 10 мл крови интактных и обожженных собак. Контрольным животным вводили 0,2 мл физиологического раствора. Через 30 мин или 24 ч после инъекции животных забивали. Все последующие операции проводили при 0—2 °С. У животных извлекали печень и головной мозг, которые промывали и помещали в заранее охлажденную среду выделения — 0,14 М хлорид натрия. С помощью гомогенизатора стеклостекло из органов готовили гомогенаты в отношении 1:9 к среде выделения (масса : объем), которые затем центрифугировали при 1500 об/мин 15 мин для удаления ядер и обломков клеток. Полученные супернатанты после 7 циклов замораживания — оттаивания использовали для определения протеолитической активности по методу [15] и содержания белка биуретовым методом с реактивом Бенедикта [6]. Протеолитическую активность в кислой среде (ПАК) определяли с использованием 2,5 % раствора денатурированного мочевиной гемоглобина в качестве субстрата при pH 4,5, протеолитическую активность в нейтральной среде (ПАН) — 2,5 % раствора денатурированного мочевиной бычьего сывороточного альбумина в качестве субстрата при pH 7,0. Время инкубации для гомогенатов печени составило 2 ч, мозга — 3 ч при 37 °С. Реакции останавливали добавлением трихлоруксусной кислоты в конечной концентрации 5 % (масса : объем). После центрифугирования проб при 5000 об/мин в течение 20 мин в надосадках определяли прирост величины поглощения кислоторастворимых продуктов расщепления белков к концу инкубации по сравнению с ее началом на спектрофотометре СФ-16 при длине волны 280 нм. Протеолитическую активность выражали в ΔE_{280} на 1 мг белка за 1 ч инкубации.

Статистическую обработку полученных результатов проводили общепринятыми методами, достоверность различий