

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

вить, что в составе гидролизатов ингибитора плазмы крови крыс, а также ингибиторов выделенных из перечисленных выше тканей крыс содержатся одни и те же аминокислоты: аланин, аргинин, аспарагиновая кислота, валин, глутаминовая кислота, лейцин, лизин, пролин, серин, фенилаланин и цистин.

Таким образом, при помощи второй из приведенных выше совокупностей приемов удается выделить гомогенный препарат ингибитора самосборки фибрина, пригодный для аналитических целей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бышевский А. Ш., Чирятов Е. А. — Способ получения ингибитора полимеризации фибрина — А. с. 1044274 (СССР).
2. Бышевский А. Ш., Чирятов Е. А. — В кн.: Механизмы регуляции обмена веществ в норме и патологии. Свердловск, 1982, с. 104—109.
3. Бышевский А. Ш., Чирятов Е. А. — В кн.: Система регуляции агрегатного состояния крови в норме и патологии. М., 1982, с. 89—93.
4. Бышевский А. Ш., Чирятов Е. А. — Укр. биохим. журн., 1983, т. 55, № 3, с. 260—265.
5. Бышевский А. Ш., Чирятов Е. А. — Вopr. мед. химии, 1983, № 5, с. 22—27.

6. Дэвени Т., Гергей Я. Аминокислоты, пептиды и белки. М., 1976.
7. Мухачева И. А., Бышевский А. Ш. — Биохимия, 1979, т. 44, № 11, с. 1944—1951.
8. Умутбаева М. К. — В кн.: Механизмы регуляции обмена веществ в норме и патологии. Свердловск, 1982, с. 95—98.
9. Чирятов Е. А. Новый циркулирующий ингибитор самосборки фибрина. Автореф. дис. канд. Челябинск, 1983.
10. Чирятов Е. А., Левен П. И. — В кн.: Актуальные вопросы теории и практики медицины. Тюмень, 1981, с. 38—38.

Поступила 23.02.84

ISOLATION OF INHIBITOR OF THE FIBRIN SELFASSOCIATION FROM BLOOD PLASMA AND TISSUE EXTRACTS

A. Sh. Byshevsky, E. A. Chiryatov,
M. K. Umutbaeva

Chair of Biochemistry, Medical School, Tyumen

Procedures for isolation of an inhibitor of the fibrin selfassociation are described. The procedures involved dialysis across cuprophane or cellophane T-100, ion exchange chromatography (the first method) or gel filtration (the second method). The product containing amino acid impurities was obtained after dialysis across cuprophane and ion exchange chromatography; a homogenous inhibitor was isolated by means of dialysis across cellophane T-100 and gel filtration through Sephadex G-50.

УДК 616.127-005.8-07:616.831-008.939.43-02:613.863

Ф. З. Меерсон, А. Д. Дмитриев, В. И. Заяц, И. И. Рожницкая, Е. А. Кизим

ВЛИЯНИЕ СТРЕССА, ИНФАРКТА И АДАПТАЦИИ К КОРОТКИМ СТРЕССОРНЫМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ НА СОДЕРЖАНИЕ ОПИОИДНЫХ ПЕПТИДОВ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ

Институт общей патологии и патологической физиологии АМН СССР, Всесоюзный научный центр психического здоровья АМН СССР, Москва

Открытие опиоидных пептидов в головном мозге оказалось возможным на основе общей идеи о наличии в нем ранее установленных фармакологами опиатных рецепторов, связанных с существованием эндогенных лигандов, по химической структуре и действию подобных морфию и играющих важную роль в регуляции функций мозга [4]. Однако даже после установления химической структуры и распределения в мозге эндорфинов и энкефалинов [2, 6] вопрос об их роли в конкретных физиологических реакциях организма остается во многом нерешенным. Так, например, известно, что β -эндорфин и энкефалины выделяются в кровь при стрессе [5] и при определенных стрессорных ситуациях могут

накапливаться в тканях мозга [2]. Однако неясно, как изменяется содержание этих опиоидных пептидов в тканях мозга при адаптации к повторным стрессорным воздействиям. Между тем вопрос этот представляет существенный интерес для понимания физиологической роли указанных пептидов в организме, так как известно, что такого рода адаптация к стрессорным воздействиям может предупреждать повреждения сердца и других органов при длительном стрессе и ограничивать нарушения сократительной функции сердца при инфаркте миокарда [3].

В соответствии с изложенным целью настоящей работы состояла в определении содержания β -эндорфина и энкефалинов

Содержание опиоидных пептидов (в фмоль на 1 мг ткани) при стрессе, инфаркте и адаптации в структурах мозга и надпочечниках ($M \pm m$)

Пептиды	Объект исследования	Стресс		Инфаркт		Адаптация	
		контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
β -Эндорфин Leu-энке- фалин	Гипоталамус	11,6 \pm 1,2	15,7 \pm 0,6**	7,8 \pm 0,1	12,5 \pm 0,8***	10,2 \pm 0,8	17,8 \pm 1,5***
	Мозжечок	21,6 \pm 5,1	42,3 \pm 4,7*	39,8 \pm 12,9	40,9 \pm 7,2	20,2 \pm 3,8	37,2 \pm 6,8
	Гипоталамус	265,4 \pm 27,8	295,0 \pm 16,5	263,9 \pm 1,7	396,5 \pm 23,9***	123,3 \pm 22,9	271,9 \pm 41,2***
	Стриатум	312,5 \pm 32,6	289,3 \pm 25,4	293,7 \pm 17,9	376,5 \pm 18,2**	186,0 \pm 17,5	538,9 \pm 40,5***
	Кора мозга	61,0 \pm 5,4	70,9 \pm 5,9	91,0 \pm 9,8	86,5 \pm 2,6	49,1 \pm 5,7	56,5 \pm 5,0
Met-энке- фалин	Надпочечники	29,3 \pm 17,5	101,1 \pm 27,8	107,0 \pm 38,6	151,4 \pm 38,6	71,8 \pm 8,4	156,7 \pm 2,4
	Мозжечок	36,5 \pm 5,9	48,8 \pm 6,6	28,4 \pm 3,3	22,1 \pm 1,7	22,3 \pm 7,8	40,9 \pm 7,1
	Гипоталамус	564,0 \pm 57,0	594,6 \pm 44,7	461,6 \pm 26,3	554,4 \pm 33,9	226,7 \pm 0,2	422,3 \pm 54,0**
	Стриатум	456,5 \pm 52,8**	694,6 \pm 32,6	430,0 \pm 27,5	584,7 \pm 40,5**	263,2 \pm 8,9	468,8 \pm 44,0***
	Кора мозга	77,4 \pm 7,4	77,9 \pm 6,8	96,0 \pm 14,2	76,1 \pm 1,7	60,5 \pm 7,5	65,8 \pm 5,1
	Надпочечники	42,8 \pm 5,3	56,5 \pm 5,2	32,8 \pm 5,3	60,7 \pm 12,6	53,7 \pm 1,7	134,0 \pm 29,3*

Примечание. Достоверность различий данных, полученных при стрессе, инфаркте и адаптации, и в соответствующем контроле: одна звездочка — $p < 0,05$, две — $p < 0,01$, три — $p < 0,001$.

в различных отделах головного мозга и надпочечниках после 3 различных воздействий: после длительного иммобилизационного стресса, после инфаркта миокарда, и наконец, после длительной постепенной адаптации к коротким стрессорным воздействиям.

Методика

Опыты проводили на крысах-самцах линии Вистар с массой тела 180—200 г. Было выполнено 4 серии экспериментов. В I серии в эксперимент были взяты контрольные животные — отдельно для каждой из последующих трех групп; во II серии — животные после длительного иммобилизационного стресса; в III серии — животные с экспериментальным инфарктом миокарда; в IV серии — животные, постепенно адаптированные к коротким стрессорным воздействиям.

Иммобилизационный стресс вызывали путем фиксации животных в положении на спине в течение 10 ч. Спустя 2 ч животных забивали. Экспериментальный инфаркт воспроизводили перевязкой нисходящей ветви левой коронарной артерии по Селле. Животных декапитировали через сутки после перевязки артерий. Площадь инфаркта составляла около 50—60% от общей площади левого желудочка на его наружной поверхности и около 45% на внутренней. Контролем служили животные, подвергнутые торакотомии без перевязки коронарной артерии, и интактные животные. Адаптацию к коротким иммобилизационным стрессорным воздействиям проводили в течение 13 дней путем фиксации животных в положении на спине: в первый день на 15 мин, во второй день на 30 мин, в третий на 45 мин и в последующие 10 дней на 1 ч. В каждой серии опытов было использовано по 7 крыс. Немедленно после декапитации животных вскрывали черепную коробку, мозг извлекали, взвешивали и помещали в 0,2 М HCl. Концентрацию Leu- и Met-энкефалинов определяли в коре, мозжечке, стриате и надпочечниках, а содержание β -эндорфина — только в гипоталамусе. Пробы прогревали при 80 °C в течение 20 мин и измывали на холоду в гомогенизаторе (стекло — стекло). Экстракты центрифугировали (5000 g, 0 °C, 30 мин), осадок удаляли.

Надосадочную жидкость нейтрализовали до pH 7,0 1 М NaOH с 0,2 М Na_2HPO_4 ; образовавшийся осадок удаляли центрифугированием, а надосадочную жидкость использовали для радиоиммунологического определения опиоидных пептидов.

Радиоиммунологическое определение опиоидных пептидов. Все компоненты инкубационной смеси растворяли в буфере следующего состава: 0,05 М Na-фосфат (pH 7,5) с 0,15 М NaCl, 0,2% или 1% бычьего сыровяточного альбумина для энкефалинов и β -эндорфина соответственно, 0,01% NaN_3 (РИА-буфер).

Инкубационная смесь в конечном объеме 1 мл содержала соответствующий ^{125}I -пептид — 10^4 имп-мин $^{-1}$ в 0,1 мл, антисыворотку в соответствующем разведении — 0,1 мл, стандартное количество пептида (в случае калибровки) — 0,1 мл или неизвестный образец — 0,2—0,4 мл, РИА-буфер до конечного объема 1 мл. Получение антисывороток к опиоидным пептидам, йодирование пептидов и использование антисывороток для радиоиммунологического определения описаны ранее [1]. Антисыворотки характеризовались следующими свойствами: антисыворотка к β -эндорфину (№ 50) имела перекрестную иммунореактивность с α -эндорфином 0,15%, с γ -эндорфином 0,8%, с Leu- и Met-энкефалинами менее 0,02% и β -липотропином 6,6%; антисыворотка № 17 к Leu-энкефалину обладала перекрестной иммунореактивностью с Met-энкефалином 0,93%, с α -, β -, γ -эндорфинами и β -липотропином менее 0,01%; антисыворотка № 19 к Met-энкефалину проявляла перекрестную иммунореактивность в отношении Zep-энкефалина 5,8%, с эндорфинами и β -липотропином менее 0,1%. При радиоиммунологическом определении и Leu- и Met-энкефалинов пробы инкубировали в течение 16—18 ч; в случае β -эндорфина использовали двухстадийную инкубацию, добавляя метку через 16—18 ч, с последующей инкубацией в течение 2 сут. Все инкубации проводили на холоду при 4 °C. Для разделения связанного и свободного ^{125}I -пептида к пробам добавляли 0,1 мл нейтральной сыворотки кролика в разведении 1 : 30, 0,1 мл ослиных антител к иммуноглобулинам кролика в преципитирующей концентрации и 0,6 мл 8% полиэтиленгликоля (мол. м. 6000). Пробы перемешивали на вихревом смесителе и центрифугировали (1500 g, 0 °C, 30 мин). Надосадочную жидкость отсасывали с по-

монью водоструйного насоса. Радиоактивность в осадках определяли на гамма-счетчике «Вексман-4000».

Результаты и их обсуждение

Из результатов экспериментов, представленных в таблице, следует, что в соответствии с ранее известными данными [2, 6] наибольшее содержание энкефалинов отмечено в стриатуме; содержание их в других отделах мозга было меньше. При использованных воздействиях во всех отделах мозга наблюдали выраженную тенденцию к увеличению содержания Leu- и Met-энкефалинов. Однако достоверное увеличение уровня Leu- и Met-энкефалинов после стресса и инфаркта обнаруживали в том отделе мозга, где исходное их содержание было наибольшим, т. е. в стриатуме. При этом через 2 ч после завершения стрессорного воздействия содержание Met-энкефалинов в стриатуме было увеличено на 50 % ($p < 0,01$). Через сутки после развития инфаркта содержание Met-энкефалинов в стриатуме было увеличено на 35 % ($p < 0,01$), а Leu-энкефалинов — на 28 % ($p < 0,01$). Содержание β -эндорфина в гипоталамусе достоверно возросло после обоих воздействий: при инфаркте в 1,5 раза ($p < 0,001$), при стрессе на 30 % ($p < 0,01$).

Таким образом, содержание энкефалинов в зоне преимущественной локализации энкефалинергических нейронов (в полосатом теле и гипоталамусе) существенно увеличивается в результате таких острых стрессорных воздействий, как длительная иммобилизация и инфаркт миокарда. Из таблицы также следует, что при постепенной адаптации к коротким стрессорным воздействиям это явление оказывается еще более выраженным. Видно, что адаптация к повторным коротким стрессорным воздействиям вызвала увеличение содержания энкефалинов и β -эндорфина во всех изученных структурах мозга и надпочечниках. Однако достоверным этот сдвиг оказался лишь там, где исходное содержание определяемых пептидов было высоким: в стриатуме, гипоталамусе и надпочечниках. Содержание β -эндорфина в гипоталамусе увеличилось в результате адаптации на 75 %. Содержание Leu- и Met-энкефалинов в гипоталамусе, стриатуме

и надпочечниках возросло примерно вдвое.

Таким образом, полученные данные показывают, что острое стрессорное воздействие, в частности инфаркт миокарда, и еще в большей мере адаптация к коротким стрессорным воздействиям закономерно приводили к накоплению опиоидных пептидов в мозге и надпочечниках. Учитывая анальгезирующее действие этих нейропептидов [7], а также их влияние на психоэмоциональную сферу, можно думать, что такое увеличение резерва опиоидных пептидов в организме повышает его резистентность к последующим повреждающим воздействиям.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дмитриев А. Д., Голикова Ю. И., Кобылянский А. Т. — Нейрохимия, 1982, № 1, с. 66—74.
2. Эндорфин. Пер. с англ./Под ред. Э. Коста, М. Грабукки. М., 1981.
3. Меерсон Ф. З., Каткова Л. С., Козлов Ю. П., Манухина Е. Б. — Бюл. exper. биол., 1983, № 12, с. 25—27.
4. Смагин В. Г., Виноградов В. А., Булгаков С. А. Лиганды опиатных рецепторов. Гастроэнтерологические аспекты. М., 1983.
5. Guillemin R., Vargo T., Rossier I. et al. — Science, 1977b, vol. 197, p. 1367—1370.
6. Verhoef I., Wiegant V. M., DeWied D. — Brain Res., 1982, vol. 231, p. 454—460.
7. Tseng Liang-ju, Loh H., Li C. H. — Nature, 1976, vol. 263, p. 239—240.

Поступила 23.04.84

EFFECTS OF STRESS, INFARCTION AND ADAPTATION TO SHORT-TERM STRESSOR CONDITIONS ON CONTENT OF OPIOID PEPTIDES IN BRAIN

F. Z. Meerson, A. D. Dmitriev, V. I. Zayatz, I. I. Rozhitskaya, E. A. Kizim

Institute of General Pathology and Pathophysiology, All-Union Mental Health Research Centre, Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow

Content of β -endorphine, Met- and Leu-enkephalines was studied in various brain regions and in adrenal glands after long-term immobilization stress, after myocardial infarction and during prolonged gradual adaptation to short-term stressor affects. Acute stressor conditions, myocardial infarction or, especially distinct adaptation to short-term stressor affects were shown to cause an accumulation of opioid peptides in brain structures and in adrenal glands. This increase in opioid peptides accumulated as a tissue reserve appears to elevate the body resistance to subsequent injuring affects.