

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

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. ГЕРАСИМОВА, 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)	ТРОИЦКИЙ Г. В. (Симферополь)
БЕЛИЦЕР В. А. (Киев)	ТАРАҚУЛОВ Я. Х. (Ташкент)
БЫЧКОВ С. М. (Москва)	ТЯХЕПЫЛЬД Л. Я. (Тарту)
КОНСТАНТИНОВ А. А. (Хабаровск)	УТЕВСКИЙ А. М. (Харьков)
КУДРЯШОВ Б. А. (Москва)	ШАПОТ В. С. (Москва)
ЛЯХОВИЧ В. В. (Новосибирск)	ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)
ПАСХИНА Т. С. (Москва)	ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)

Адрес редакции журнала:

Москва, Солянка, 14

АМН СССР

Тел. 297-16-44

Зав. редакцией Л. А. Фирсова

1983

6. Faridy E. E.— Resp. Physiol., 1976, v. 27, p. 323—334.
7. Fodashi O. H., Nogueshi A. H., Cantor M. L. et al.— Nutrition, 1973, v. 103, p. 1502—1511.
8. Groniowski J.— Acta med. pol., 1971, v. 12, p. 303—317.
9. King K. J.— Fed. Proc., 1974, v. 33, p. 2238—2247.
10. King R., Martin H., Mills D. et al. J. appl. Physiol., 1977, v. 42, p. 483—491.
11. Massaro D.— J. Lab. clin. Med., 1982, v. 98, p. 155—165.
12. Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K.— Analyt. Biochem., 1979, v. 95, p. 358—361.
13. Tierney D. F.— Ann. Rev. Physiol., 1974, v. 36, p. 209—232.
14. Winsel K., Iwainisky H.— Pharmazie, 1980, Bd 35, S. 575—581.
15. Yorke J.— Biochim. biophys. Acta, 1974, v. 344, p. 241—261.

Поступила 10.05.84

REGULATION OF FREE RADICAL OXIDATION IN LIPIDS OF LUNG SURFACTANTS

V. P. Verbolovich, E. P. Pelrenko, Yu. K. Podgorodny

A. N. Syzganov Institute of Clinical and Experimental Surgery, Ministry of Public Health of the Kazakh SSR, Alma-Ata

Surface-active substances of lung tissue, covering the alveoli, resembled the biological membranes in their structure. Their composition was controlled, among the other factors, also by free radical oxidation reactions. Under conditions of circulatory hypoxia the activity of antioxidative enzymes correlated with the alterations in antioxidative activity, with the rates of spontaneous and inducible lipid peroxidation in lung surfactants. As surfactant exhibited a limited antioxidative activity important for resistance of alveol pneumocytes, their functions may be controlled by various exogenous antioxidants.

УДК 612.111.7.015.32].014.46:577.175.8591-08

С. А. Макаров, Г. В. Кудрявцева, А. И. Колотилова

ВЛИЯНИЕ ТРОМБИНА И ПРОСТАГЛАНДИНОВ СЕРИЙ E и F НА НЕКОТОРЫЕ РЕАКЦИИ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА В ТРОМБОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА

Ленинградский университет

В реакциях пентозофосфатного пути (ПФП) обмена углеводов участвует свыше 10% метаболизируемой в тромбоцитах глюкозы, что обеспечивает высокий уровень энергетического и пластического обмена этих форменных элементов крови [17]. Действие агрегирующих агентов на кровяные пластинки приводит к перестройке метаболизма углеводов в сторону усиления гликолитических процессов [20]. Хотя имеются данные о влиянии агрегирующих агентов на отдельные реакции ПФП тромбоцитов [1, 6, 8, 19], вопрос о регуляции этого пути обмена углеводов под влиянием факторов свертывания и противосвертывания до сих пор не решен окончательно. В ранее опубликованных работах [6, 7] установлен разнонаправленный эффект действия тромбина и простагландинов (ПГ) E₂ и F_{2α} на ключевые реакции ПФП тромбоцитов. Известно, что тромбин стимулирует окисление арахидоновой кислоты с образованием эндоперекисей, простагландинов и тромбоксанов. Полагают, что в основе стимулирующего действия индукторов агрегации лежат два различных механизма:

активация биосинтеза ПГF_{2α} и подавление биосинтеза ПГE₂ [3]. В связи с этим представлялось целесообразным продолжить исследование влияния названных регуляторов агрегации тромбоцитов на их метаболизм. В настоящей работе на фоне действия ПГ исследовали влияние тромбина на реакции ПФП, глутатионксидоредуктазу и лактатдегидрогеназу кровяных пластинок человека.

Методика

Кровяные пластинки выделяли из свежей консервированной крови человека (250 мл) методом дифференциального центрифугирования [9]. Тромбоциты суспендировали в 20 мл инкубационной среды следующего состава (в г/л): NaCl — 8; KCl — 0,2; NaHCO₃ — 1, NaH₂PO₄ — 0,05, CaCl₂ — 0,306, MgCl₂ — 0,203; глюкоза — 1; pH среды 7,35. В полиэтиленовые пробирки отбирали по 2 мл суспензии клеток, содержащей 5 мг общего белка тромбоцитов. В пробы вносили 0,1 мл 0,1% раствора ПГE₂ или ПГF_{2α} (производства экспериментального участка опытно-технической базы АН Эстонской ССР, Таллин) и 2 ед. на пробу человеческого тромбина (производства Каунасского химико-фармацевтического завода). Объем проб доводили указанным солевым раствором до 2,5 мл.

Влияние тромбина, ПГЕ₂ и ПГФ_{2α} на ферменты ПФП тромбоцитов человека (активность Г-6-ФД и 6-ФГД выражали в нмоль NADP·H на 1 мг в 1 мин; скорость накопления седогентулозо-7-фосфата (в нмоль гентулозофосфата на 1 мг в 1 мин; n=6—8 опытов)

Препарат	Г-6-ФД	6-ФГД	Накопление седо- гентулозо-7-фосфата
Контроль	7,32±1,46	14,8±3,36	3,75±0,31
Тромбин	5,00±0,75*	15,6±1,96	3,94±0,27
ПГЕ ₂	14,6±1,45*	16,3±2,25	4,75±0,39*
ПГЕ ₂ +тромбин	8,65±0,97	12,6±1,81	3,82±0,41
ПГФ _{2α}	10,6±1,20*	15,4±1,96	4,57±0,21*
ПГФ _{2α} +тромбин	6,00±1,09	12,0±1,82	3,95±0,39

* $P < 0,05$.

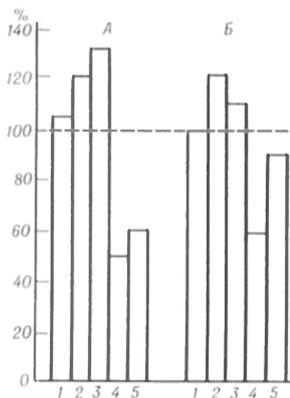
Пробы инкубировали с ПГ или тромбином в течение 10 мин при 37 °С. В ряде экспериментов проводили преинкубацию тромбоцитов с ПГ (10 мин) и последующую инкубацию с тромбином при 37 °С (10 мин). После инкубации тромбоциты разрушали однократным замораживанием в смеси сухой лед — этанол в течение 3 мин с последующим оттаиванием. Затем пробы центрифугировали 30 мин при 20 000 g. Полученный экстракт использовали в экспериментах.

Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФД), 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6-ФГД), глутатионоксидоредуктазы (ГОР) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) определяли спектрофотометрически [2, 11, 12] и выражали в наномолях NAD(P)H на 1 мг белка экстракта в 1 мин. Изменение скорости образования седогентулозо-7-фосфата при введении в пробы рибозо-5-фосфата проводили в системе, описанной ранее [7], и выражали в наномолях гентулозофосфата на 1 мг белка экстракта в 1 мин. Белок в пробах определяли, как описано в работе [13]. Статистическую обработку результатов экспериментов проводили с применением методов вариационной статистики.

Результаты и обсуждение

Как следует из таблицы, тромбин при инкубации с кровяными пластинками человека на 30% снижает скорость окисления глюкозо-6-фосфата, ПГЕ₂ и ПГФ_{2α} активируют Г-6-ФД на 100 и 46% соответственно, а уровень образования гентулозофосфатов повышают в среднем на 25%. Тромбин, добавленный в пробы, после инкубации пластинок с ПГ, снимает активирующее действие этих клеточных гормонов на ключевые реакции ПФП, нормализуя активность исследованных ферментов. Как известно, Г-6-ФД в тромбоцитах играет важную роль. Обладая высокой функциональной лабильностью, этот фермент связан через коферментные молекулы NADP с углеводным, липидным и бел-

ковым обменом клеток. Показано, что недостаточность Г-6-ФД в тромбоцитах приводит к нарушению процесса агрегации за счет значительного снижения активности фактора 3 [13, 16]. Установлено, что действие ПГ опосредовано через специфические рецепторы неклассического типа. Прямое воздействие насыщенных и ненасыщенных жирных кислот, а также некоторых продуктов их метаболизма приводит к ингибированию активности Г-6-ФД из различных объектов [4]. Активность дегидрогеназ ПФП в большой степени зависит от соотношения NADP·H/NADP. При накоплении восстановленной формы NADP скорость окислительных процессов ПФП резко снижается. Полное ингибирование эритроцитарных дегидрогеназ наблюдается в тех случаях, когда отношение NADP·H/NADP составляет около 9. Для цитоплазмы печени крыс в норме это соотношение равно 100 [15]. В неактивированных тромбоцитах поток глюкозы, вступающей в реакцию ПФП, составляет 0,02—0,03 мкмоль·×мин⁻¹·10⁻¹¹, т. е. всего 0,1—1% от максимальной активности окислительных ферментов [10]. Окисленный глутатион при физиологических концентрациях противодействует ингибированию Г-6-ФД, вызываемому NADP·H. Использование NADP·H в глутатионоксидоредуктазной реакции может снизить соотношение NADP·H/NADP. Подсчитано, что изменение этого соотношения может вызывать 30—50-кратные колебания скорости Г-6-ФД-реакции [5]. Высокий уровень восстановленной формы глутатиона в тромбоцитах (4,5±0,16 мкмоль на 10⁻¹¹ клеток) обеспечивается стимуляцией активности Г-6-ФД, создающей мощный поток NADP·



Влияние тромбина ПГЕ₂ и ПГФ_{2α} на активность ГОР (А) и ЛДГ (Б) тромбоцитов человека (в % от контрольных значений). 1 — тромбин; 2 — ПГЕ₂; ПГФ_{2α}; 4 — ПГЕ₂ + тромбин; 5 — ПГФ_{2α} + тромбин.

×Н для системы восстановления глутатиона [10]. Недостаточность Г-6-ФД в тромбоцитах коррелирует с пониженным внутриклеточным содержанием NADP·Н и восстановленного глутатиона [16]. Возможно вовлечение глутатиона в непосредственный синтез ПГ на стадии превращения ПГУ в ПГН [18]. Таким образом, поддержание высокого уровня восстановленного глутатиона, который в комплексе с глутатионпероксидазой, супероксиддисмутазой и каталазой защищает клетку от факторов окислительного стресса, свидетельствует о важности ГОР-реакции. Активация ГОР наблюдается и при агрегации тромбоцитов [1].

Как следует из рисунка, инкубация кровяных пластинок с тромбином не вызывала достоверных изменений скорости восстановления глутатиона. ПГЕ₂ и ПГФ_{2α} достоверно активировали этот процесс в среднем на 25%. Однако последовательное применение ПГ и тромбина приводит к резкому ингибированию ГОР (на 52% для ПГЕ₂ и 40% для ПГФ_{2α}). Полученные результаты можно объяснить, по-видимому, тем, что ПГЕ₂ и ПГФ_{2α} усиливают индуцирующее действие стимуляторов агрегации тромбоцитов. Можно также предположить, что активация окислительного звена ПФП связана с понижением соотношения NADP·Н/NADP в связи с усилением потребления NADP·Н в ходе ГОР-реакции.

Мы исследовали влияние ПГ и тромбина на активность ЛДГ тромбоцитов. Известно, что пируват стимулирует ПФП

в эритроцитах, клетках щитовидной железы и культуре клеток сердечной мышцы вследствие участия NADP·Н в лактатдегидрогеназной реакции [14]. Нам установлено, что в тромбоцитах скорость окисления NADP·Н в лактатдегидрогеназной реакции в 200 раз ниже, чем скорость окисления NAD·Н. Однако следует учесть возможность сопряжения дегидрогеназ ПФП с лактатдегидрогеназной реакцией гликолиза с помощью трансгидрогеназной реакции [4]. В наших экспериментах не было установлено достоверных сдвигов активности ЛДГ при инкубации тромбоцитов с тромбином и ПГ (см. рисунок). Однако последовательная инкубация тромбоцитов с ПГЕ₂, а затем с тромбином приводила к резкому снижению (на 40% ниже нормы) скорости лактатдегидрогеназной реакции. Достоверного эффекта воздействия тромбина на фоне ПГФ_{2α} на активность ЛДГ не было установлено.

Таким образом, по нашим данным, тромбин снимал активирующий эффект ПГ на ключевые реакции ПФП. Простагландины препятствовали развитию ингибирующего эффекта тромбина на Г-6-ФД тромбоцитов и усиливали действие этого агрегирующего агента на активность ГОР. Изменение активности ГОР под влиянием исследованных ПГ, вероятно, можно рассматривать как один из механизмов регуляции глюкозо-6-фосфатдегидрогеназной реакции тромбоцитов через систему никотинамидных коферментов. Это предположение подкрепляется данными литературы о роли кофакторной индукции в активации ПГ дегидрогеназ ПФП [4].

ЛИТЕРАТУРА

1. Еволентьева Н. Е., Черняк Н. Б. — *Вопр. мед. химии*, 1977, № 4, с. 449—453.
2. Кочетов Г. А. *Практическое руководство по энзимологии*. М., 1980.
3. Кубатиева А. А., Андреев С. В. — В кн.: *Актуальные проблемы гемостазиологии*. М., 1981, с. 150—152.
4. Кудрявцева Г. В. — *Успехи совр. биол.*, 1979, т. 88, № 1 (4), с. 50—66.
5. Кудрявцева Г. В. — *Успехи совр. биол.*, 1980, т. 89, № 1, с. 74—89.
6. Макаров С. А., Кудрявцева Г. В., Колотилова А. И. — *Фармакол. и токсикол.*, 1983, № 5, с. 48—52.
7. Макаров С. А., Кудрявцева Г. В., Колотилова А. И. — *Вопр. мед. химии*, 1983, № 5, с. 27—32.
8. Никулин А. А., Аксенова А. М., Петрович Ю. А. — *Фармакол. и токсикол.*, 1979, № 3, с. 254—257.

9. Черняк Н. Б., Евелентьева Н. Е., Гуртовой И. М. — Пробл. гематол., 1979, № 11, с. 54—56.
10. Akkerman J. W. N. — Thrombos. a. Haemost., 1978, vol. 39, p. 712—714.
11. Glock C. E., Mczean P. — Biochem. J., 1953, vol. 55, p. 400—410.
12. Moroff G., Kosow D. P. — Biochim. biophys. Acta, 1978, vol. 527, p. 327—336.
13. Ohnishi S. T., Barr J. K. — Analyt. Biochem., 1978, vol. 86, p. 193—200.
14. Ravid K., Diamant P., Avi-dor Y. — FEBS Netters, 1980, vol. 119, p. 20—24.
15. Rodrigues-Segade S., Carrion A., Freire M. — Biochem. biophys. Res. Commun., 1979, vol. 89, p. 149—154.
16. Spangenberg P., Bosia A., Arese P. et al. — Acta biol. med. germ., 1982, Bd 41, S. 25—31.
17. Ulutin O. N. The Platelets, Fundamental and Clinical Applications. Istanbul, 1976.
18. Yamamoto S., Ohki S., Ogino N. — Advanc. Prostagland. Thromboxane Res., 1980, vol. 6, p. 27—41.
19. Yardimci T. U., Ulutin O. N. — New Istanbul Contrib. Clin. Sci., 1976, vol. 11, p. 142—147.
20. Zieve P. D., Schmucler M. — Biochim. biophys. Acta, 1973, vol. 313, p. 350—355.

Поступила 10.05.84

EFFECT OF THROMBIN AND PROSTA- GLANDINS E AND F ON SOME PATTERNS OF CARBOHYDRATE METABOLISM IN HUMAN THROMBOCYTES

S. A. Makarov, G. V. Kudryavtseva,
A. I. Kolotilova

State University, Leningrad

After incubation of intact thrombocytes with prostaglandins E₂ and F_{2α} stimulation of glucose-6-phosphate dehydrogenase and glutathione reductase activities as well as an increase in the rate of sedoheptulose-7-phosphate accumulation were found. Thrombin inhibited the glucose-6-phosphate dehydrogenase activity by 30% in these thrombocytes. Addition of thrombin, following the incubation of thrombocytes with prostaglandins, removed the activating effect of the prostaglandins on the pentosephosphate pathway reactions, inhibited glutathione reductase and lactate dehydrogenase.

УДК 616.61-007.21-02:616.8-07:616.612-02:577.175.532]-092.9

Я. И. Ажипа, Ю. А. Акимов, А. А. Родионов

НЕЙРОГЕННЫЕ ДИСТРОФИИ ПОЧЕК КРЫС И ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АЛЬДОСТЕРОНА С РЕЦЕПТОРАМИ ЦИТОПЛАЗМЫ И ЯДЕР КЛЕТОК КАНАЛЬЦЕВ ОРГАНА

Лаборатория трофической функции нервной системы Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии АН СССР, Москва

Эндокринная система чутко реагирует на те или иные изменения трофической функции нервной системы. Известно, что при первично-дистрофическом процессе (НДП), сопровождающемся усиленной и извращенной нервно-проводниковой стимуляцией органов и тканей, имеет место изменение трофического состояния организма, что влияет на его чувствительность к гормонам [1—5]. Результаты опытов на целостном организме свидетельствуют о том, что НДП, возникающий в результате перерезки седалищного нерва, изменяет чувствительность почек животных к различным физиологически активным веществам, в том числе к альдостерону [6, 7]. Эксперименты показали, что этот минералокортикоид, регулирующий реабсорбцию натрия в канальцах почек в норме [10, 11, 15, 16, 20], практически не вызывал изменения реабсорбции натрия при НДП. Отмечено также, что

при рефлекторной дистрофии почек крыс происходит пятикратное снижение накопления ³H-альдостерона срезами коркового вещества этого органа [8]. Следовательно, можно предположить, что НДП, сопровождающийся изменением чувствительности почек крыс к альдостерону, ведет к каким-то нарушениям в молекулярном механизме использования этого гормона клетками канальцев органа. К настоящему времени стал известен биохимический механизм взаимодействия альдостерона с клетками органов-мишеней [13, 14, 16—18, 21]. Цель настоящего исследования — установление влияния НДП на интенсивность связывания альдостерона с рецепторами цитоплазмы этого гормона в клетках канальцев почек и передачу альдостерона с рецепторов цитоплазмы на рецепторы ядер в условиях целостного организма и *in vitro*.