

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

Архив журнала

## **Вопросы медицинской химии**

*ISSN 0042-8809*

1986

**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*

1986

**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 XXXII

ВЫПУСК 2

МАРТ—АПРЕЛЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.

ВОПРОСЫ  
МЕДИЦИНСКОЙ  
ХИМИИ



МОСКВА · МЕДИЦИНА · 1986



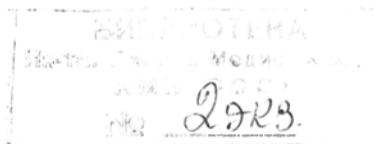
РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

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. ЛОК-  
ШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ, Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ, Е. Л. РО-  
ЗЕНФЕЛЬД, Ю. А. РОМАКОВ (ответственный секретарь), В. А. САКС, С. Е. СЕ-  
ВЕРИН, В. Б. СПИРИЧЕВ

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

БАЕВ А. А. (Москва)	ТРОИЦКИЙ Г. В. (Симферополь)
БЕЛИЦЕР В. А. (Киев)	ТУРАКУЛОВ 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

Изменение концентраций дофамина, ДОФУК и активности дофамин-β-гидроксилазы в крови больных депрессией в процессе лечения парлоделом

Группа обследуемых	Дофамин, нг/мл	ДОФУК, нг/мл	Дофамин-β-гидроксилаза, нмоль/мл/мин
Здоровые (n = 10)	143 ± 8,2	38,0 ± 6,1	35,2 ± 6,9
Больные депрессией (n = 6):			
до лечения	90,0 ± 5,0	46,0 ± 2,0	23,8 ± 3,0
2-й день лечения	109 ± 11,2	40,0 ± 4,1	26,7 ± 4,8
1-я неделя лечения	128 ± 7,5	40,0 ± 4,3	26,6 ± 2,6
2-я неделя лечения	152 ± 10,0	37,0 ± 1,9	25,6 ± 3,4
3-я неделя лечения (клиническое улучшение)	166 ± 13,8	33,0 ± 3,0	22,9 ± 3,0

препарату наступала быстро. Патологии со стороны внутренних органов и крови не отмечалось.

Сопоставление клинического состояния больных с биохимическими показателями свидетельствует о том, что терапевтический эффект парлодела сопровождался выраженным изменением в обмене дофамина у обследуемых больных депрессией. Результаты биохимического анализа позволяют предположить, что положительное терапевтическое действие препарата осуществляется путем стимуляции дофаминергического процесса, приводящего к нормализации обмена дофамина у больных.

Клинические данные позволяют считать парлодел достаточно эффективным антидепрессантом. Следует подчеркнуть, что терапевтический эффект носит устойчивый характер. Парлодел может быть использован при лечении больных депрессией с дефицитом дофамина, резистентных к терапии.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Анохина И. П., Коган Б. М., Мезенцева Л. Н., Агазаде Н. В. — В кн.: Проблемы патогенеза психических заболеваний. М., 1979, с. 3—8.
2. Дмитриева Т. Б. Психогенные депрессии в

подростковом и юношеском возрасте (Клиника, патогенез, лечение). Автореф. дис. канд. мед. наук. М., 1981.

3. Коган Б. М. — Лаб. дело, 1980, № 4, с. 222—224.
4. Borg V. — Acta psychiat. scand., 1983, vol. 68, p. 100—110.
5. Corrodi H., Fuxe K., Hokfelt T. et al. — J. Pharm. Pharmacol., 1973, vol. 25, p. 409.
6. Maas J. W. — Arch. gen. Psychiat., 1975, vol. 32, p. 1357.
7. Nagatsu T., Udenfriend S. — Clin. Chem., 1972, vol. 18, p. 980.
8. Schildkraut J. J., Orsulak P. S. — Amer. J. Psychiat., 1978, vol. 135, p. 122.

Поступила 27.06.85

#### THERAPEUTIC EFFECT OF PARLODEL IN RESISTANT DEPRESSION AND ITS CONNECTION WITH DOPAMINE METABOLISM

T. A. Beltjukova, D. I. Hmelevsky,  
O. A. Gladishev

Laboratory of Psychopharmacology, V. P. Serbsky All-Union Institute of General and Forensic Psychiatry, Ministry of Public Health of the USSR, Moscow

Effect of dopamine agonist Parlodel in treatment of different types of depressions was investigated. Parlodel was found to have an antidepressant action which enabled to cure some resistant forms of the disease. The positive therapeutic effect of Parlodel resulted in normalization of dopamine metabolism. The drug can be used for treatment of depressions accompanied by dopamine deficiency and resistant to therapy.

УДК 612.438+612.351.1]:612.397.2:547.915-39]-06:577.175.853

Г. А. Суханова

#### МОДИФИКАЦИЯ БРАДИКИНИНОМ МЕМБРАНОСВЯЗАННЫХ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТИ Ca<sup>2+</sup>-АТФазы ТИМУСА И ПЕЧЕНИ

Кафедра биохимии медико-биологического факультета Томского медицинского института

Мембраны лимфоцитов тимуса выполняют важные функции рецепции антигенных и гормональных сигналов, осуществляя регуляцию пролифера-

ции, дифференцировки и гибели этих клеток. Показано, что в регуляции пролиферативной активности тимоцитов принимает участие брадикинин, из-

вестный вазоактивный полипептид [9, 15]. Стимуляция деления клеток тимуса при внутривенном введении брадикинина сопровождалась активацией мембранных ферментов — аденилатциклазы и 5'-нуклеотидазы и реципрокным угнетением активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и гуанилатциклазы, локализованных в цитоплазме [10].

Основными критериями функционального состояния мембран в пролиферативном ответе на митогенный стимул является интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и скорость транспорта  $\text{Ca}^{2+}$  в лимфоциты [8]. Целью настоящей работы было исследование эффектов брадикинина на активность  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимой АТФазы (КФ 3.6.1.3) и скорость накопления малонового диальдегида (МДА), одного из продуктов ПОЛ, в пролиферирующей популяции клеток тимуса и относительно неделящихся клеток печени в опытах *in vivo* и *in vitro*. Для сравнения мембранных эффектов брадикинина в опытах *in vitro* использовали также гидрокортизон. Предполагалось, что гидрокортизон и брадикинин обладают разнонаправленными эффектами на тимоциты в связи с тем, что брадикинин стимулировал деление, а гидрокортизон вызывал цитоллиз этих клеток [16].

#### Методика

В опытах использовали белых мышей-самцов в возрасте 2 мес с массой тела 16—20 г. Брадикинин триацетат («Reanal», ВНР) вводили в хвостовую вену в дозе 2 мг на 1 кг массы. Через 2, 6 ч и 1, 3, 7 сут после введения брадикинина изучали скорость ПОЛ и активность  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы тимуса и печени. Готовили 10 % гомогенат печени и суспензию тимоцитов ( $10^6$  клеток/мл) в 10 мМ трис-НСI буфере pH 7,4, содержащем 0,15 М NaCl.

Для изучения эффектов брадикинина *in vitro* выделяли мембраны из 6 г тимуса теленка. Суспензию тимоцитов ( $10^6$  кл/мл) центрифугировали 10 мин при 1000 g, осадок ресуспендировали в буфере указанного выше состава, трижды промывали, добавляли равный объем 4 % раствора твин-40 («Loba Chemie», Австрия) и перемешивали в течение 1 ч на холоду. Суспензию центрифугировали 30 мин при 3000 g на центрифуге К-24 (ГДР). Надосадочную жидкость центрифугировали 1 ч при 105 000 g на центрифуге VAC-602 (ГДР). Мембраны, полученные в осадке, ресуспендировали в 50 мМ растворе трис-НСI буфера pH 7,5.

Активность ПОЛ в суспензии клеток печени и тимуса мышей с концентрацией белка 2—2,5 мг/мл оценивали по скорости накопления МДА при спонтанном и неферментативном ПОЛ [3]. В мембранах тимоцитов теленка

(1 мг белка на 1 мл) ПОЛ индуцировали добавлением 10 нмоль  $\text{Fe}_2\text{SO}_4$  на 1 мг белка и 0,2 мМ аскорбата.

Активность  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимой АТФазы определяли по приросту неорганического фосфата в присутствии и в отсутствие ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в среде инкубации [11] следующего состава: 0,05 М трис-НСI буфер pH 7,4; 3 мМ  $\text{MgCl}_2$ ; 15 мМ KCl; 85 мМ NaCl; 0,2 мМ  $\text{CaCl}_2$ ; 5 мМ АТФ и 0,1 мМ ЭДТА. К среде инкубации добавляли брадикинин ( $10^{-6}$  М) и гидрокортизон ( $10^{-5}$  М, «Рихтер», ВНР). 2 мл инкубационной смеси, содержащей  $2 \cdot 10^6$  клеток тимуса, 0,2 мл гомогената печени или суспензию мембран тимоцитов теленка (1 мг белка на 1 мл) инкубировали 30 мин при 37 °С. Реакцию останавливали добавлением 1 мл 10 % ТХУ, центрифугировали 10 мин при 6000 об/мин. В центрифугате определяли концентрацию  $\text{P}_i$  по методу Ратбуна и Бетлах [11]. Активность фермента рассчитывали как разность между общей АТФазной активностью в присутствии  $\text{Ca}^{2+}$  и ( $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ )-зависимой активностью.

Результаты обработаны статистически с использованием *t*-критерия Стьюдента.

#### Результаты и обсуждение

Данные опытов по изучению активности  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы и скорости образования МДА в печени и тимусе мышей при внутривенном введении брадикинина представлены на рис. 1. Брадикинин понижал интенсивность неферментативного ПОЛ и не оказывал влияния на скорость спонтанного ПОЛ в клетках тимуса и печени. Максимальное снижение скорости неферментативного ПОЛ в тимусе наблюдалось через 6 ч — оно составило 56 % от уровня контроля. Активность  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы резко возрастала уже через 2 ч (в 2,3 раза; см. рис. 1, а). В печени снижение скорости образования МДА и повышение активности АТФазы наблюдалось лишь через 1 сутки (см. рис. 1, б). Кроме того, повышение активности  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы в печени было менее выраженным, чем в тимусе. В дальнейшем в обоих органах наблюдалось постепенное возрастание эффективности ПОЛ и снижение  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазной активности. Полученные результаты свидетельствуют о более раннем и значительном влиянии брадикинина на состояние исследуемых мембранных процессов в тимусе по сравнению с печенью.

При изучении эффектов брадикинина на мембранах тимуса теленка также получены данные о снижении интенсивности ПОЛ (рис. 2) и увеличении активности  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы (рис. 3). Добавление брадикинина в среду инкубации мембран тимуса теленка приводит

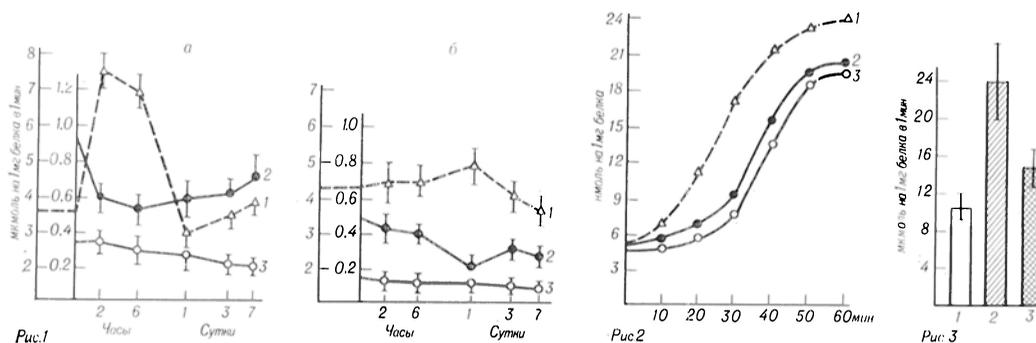


Рис. 1. Активность  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы (1), скорость накопления МДА при неферментативном (2) и спонтанном (3) ПОЛ в тимусе (а) и печени (б) мышей после внутривенного введения брадикинина в дозе 2 мг на 1 кг массы (представлены данные 6–8 опытов).

Рис. 2. Накопление МДА, индуцированное добавлением 10 нмоль  $\text{Fe}_2\text{SO}_4$  (на 1 мг белка) и 0,2 мМ аскорбата, в процессе инкубации изолированных мембран тимоцитов теленка (1) при добавлении в среду инкубации  $10^{-6}$  М брадикинина (2) и  $10^{-5}$  М гидрокортизона (3) ( $n=4$ ).

Рис. 3. Активность  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы мембран тимоцитов теленка (1) после добавления в среду инкубации  $10^{-6}$  М брадикинина (2) и  $10^{-5}$  М гидрокортизона (3) ( $n=4$ ).

ло к удлинению латентного периода с 10 до 25 мин и снижению максимальной скорости накопления МДА с  $0,40 \pm 0,02$  до  $0,33 \pm 0,01$  нмоль на 1 мг белка в 1 мин ( $P < 0,02$ ). В опытах с добавлением  $10^{-5}$  М гидрокортизона в среду инкубации мембран тимуса латентный период удлинился до 30 мин и скорость накопления МДА снижалась до  $0,31 \pm 0,01$  нмоль на 1 мг белка в 1 мин (см. рис. 2).  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазная активность в процессе инкубации мембран тимоцитов с брадикинином увеличивалась в 2,2 раза; возрастание ее активности при добавлении гидрокортизона было менее выраженным.

Следовательно, на мембранах тимоцитов, так же как и в опытах *in vivo*, брадикинин снижал скорость накопления МДА и увеличивал активность  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы.

К настоящему времени широко известны физиологические и патогенетические функции брадикинина [2, 6]. Его способность к быстрым изменениям проницаемости и тонуса сосудов, участие в процессах воспаления сопровождаются стимуляцией деления лимфоцитов тимуса [9, 15] и фибробластов [12]. При изучении роли брадикинина в метаболизме пролиферирующих клеток несомненный интерес представляет его влияние на мембранные процессы, активность которых связана с усилением транспорта ионов и образования внутриклеточных эффекторов, регули-

рующих наиболее важные пути метаболизма клетки. Увеличение поглощения  $\text{Ca}^{2+}$  является пролиферативным сигналом в процессе активации тимоцитов митогенами [14]. Функционирование  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы, участвующей в транспорте иона, зависит от ее липидного окружения и состояния процессов ПОЛ [11].

При обсуждении данных о снижении интенсивности ПОЛ под влиянием брадикинина необходимо выделить два аспекта. Во-первых, накопление МДА в тимусе протекает приблизительно в 2 раза интенсивнее, чем в печени. Очевидно, это связано с тем, что мембраны лимфоидных органов, в том числе тимуса, на 90 % состоят из фосфолипидов, содержащих большое количество ненасыщенных жирных кислот [8], легко подвергающихся перекисному окислению. Высокая скорость ПОЛ и меньшая активность  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы тимуса по сравнению с печенью (см. рис. 1) является, вероятно, предпосылкой большей чувствительности тимуса к пролиферативному стимулу брадикинина.

Во-первых, в опытах на мембранах тимоцитов было показано, что непосредственное действие брадикинина вызывает подобное гидрокортизону удлинение латентного периода (см. рис. 2). Величина латентного периода накопления продуктов ПОЛ, зависящая от антиокислительных свойств

мембран [3], может увеличиваться под влиянием стероидных гормонов [4]. Торможение накопления МДА в тимусе и печени, удлинение латентного периода ПОЛ при действии брадикинина, очевидно, свидетельствуют о его антиокислительных свойствах. Аналогичный эффект дает фракция полипептидов сыворотки крови [5].

Из сопоставления эффектов брадикинина и гидрокортизона можно заключить, что для брадикинина характерна более значительная активация мембранного фермента, участвующего в транспорте ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , чем для гидрокортизона (см. рис. 3). Возможно, это обусловлено разными механизмами рецепции веществ. Гидрокортизон, как известно, взаимодействует с рецепторами цитоплазмы [13]. Средство брадикинина к мембранам лимфоцитов пока не установлено, однако выяснена локализация рецепторов брадикинина в плазматической мембране гладкомышечных препаратов [7].

Таким образом, брадикинин вызывает снижение ПОЛ в тимусе и печени, оказывает тормозящее и, возможно, антиоксидантное действие на мембранах тимоцитов и способствует значительной активации  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы тимуса. Модификация этих мембранных процессов является, очевидно, одним из важных этапов пролиферативного эффекта брадикинина в лимфоцитах тимуса.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Архипенко Ю. В., Каган В. Е., Козлов Ю. П. — Биохимия, 1983, т. 48, № 3, с. 433—441.
2. Веремеенко К. П. Кининовая система. Киев, 1977.
3. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
4. Гукасов В. М., Сергеев П. В., Сейфулла Р. Д., Владимиров Ю. А. — Бюл. экпер. биол., 1974, № 11, с. 54—57.
5. Лопухин Ю. М., Владимиров Ю. А., Молоденков М. П. и др. — Вопр. мед. химии, 1983, № 1, с. 116—120.

6. Пасхина Т. С. — Вести. АМН СССР, 1982, № 9, с. 50—56.
7. Попкова Г. А., Астапова М. В., Иванов В. Г. — Биооргани. химия, 1979, № 4, с. 516—525.
8. Ситковский М. В. Молекулярные механизмы активации лимфоцитов. М., 1979.
9. Суханова Г. А., Докина Г. А., Климентьева Т. К. — Радиобиология, 1977, т. 17, № 5, с. 739—742.
10. Суханова Г. А., Сальник Б. Ю. — В кн.: Весоюзный симпозиум по медицинской энзимологии. 4-й. Тезисы. Алма-Ата, 1983, с. 249—250.
11. Транспортные аденозинтрифосфатазы: Современные методы исследования / Под ред. А. А. Болдырева. М., 1977.
12. Voucek R. J., Noble N. L. — Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.), 1973, vol. 144, p. 929—933.
13. Chan L., O'Malley B. W. — Ann. intern. Med., 1978, vol. 89, p. 694—701.
14. Hume D. A., Vijayakumar E. K., Schmeimberger F. et al. — Biochem. J., 1978, vol. 174, p. 711—716.
15. Perris A. D., Whiffild J. F. — Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.), 1969, vol. 130, p. 1198—1201.
16. Thompson E. B., Lippman M. E. — Progr. Endocr. Metabol., 1974, vol. 23, p. 159—202.

Поступила 27.06.85

#### MODIFICATION BY BRADIKININ OF LIPID PEROXIDATION AND $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase ACTIVITY IN CELL MEMBRANES OF THYMUS AND LIVER TISSUE

G. A. Sukhanova

Chair of Biochemistry, Medico-Biological Faculty, Medical School, Tomsk

Effect of bradikinin on activity of  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase and accumulation of malonic dialdehyde (MDA) was studied in proliferating and relatively non-proliferating (resting) cells of thymus and liver tissues. The peptide effect was studied *in vivo* and *in vitro* after intravenous administration into mice at a dose of 2 mg/kg or by means of addition of bradikinin ( $10^{-6}$  M) to a suspension of calf thymocyte membranes. *In vivo* bradikinin caused the most distinct decrease in MDA accumulation and activation of  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase in thymus as compared with liver tissue. *In vitro* incubation of thymocyte membranes with bradikinin led to prolongation of the latent period of MDA formation and to a distinct increase in the  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity. Modification of these processes in membranes appear to be one of important functions of bradikinin in proliferation.