

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)

ALTERATIONS IN CYCLIC AMP LEVEL AND ACID PHOSPHATASE ACTIVITY IN PRIMARY MONOLAYER HEPATOCYTE CULTURE OF NEW BORN RATS UNDER CONDITIONS OF ANOXIA AND SUBSTRATE DEPRIVATION

S. E. Nikulina, O. Y. Krylova, T. M. Goncharenko, N. S. Stvolinskaya, E. D. Polyakova, B. F. Korovkin

Institute of Medical Enzymology, Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow

Acid phosphatase activity and cAMP level were studied in primary hepatocyte culture of new born rats under conditions of anoxia and substrate deprivation (incubation of the cells in Hanks salt solution). Incubation of hepatocytes in Hanks salt solution within one hour under

conditions of anoxia caused a significant increase in free (cytosolic) enzyme activity. Substitution of Hanks salt solution by normal tissue culture medium and reoxygenation after 1 hr anoxia resulted in a decrease of free acid phosphatase activity, whereas activity of the enzyme in lysosomal fraction was increased. Content of cAMP was decreased distinctly after 15 min incubation of hepatocyte culture under conditions of anoxia and substrate deprivation and was increased above control values within 5 min of reoxygenation and substitution of Hanks salt solution by normal tissue culture media. Addition of cAMP-containing liposomes to hepatocyte culture under these experimental conditions led to a decrease in free acid phosphatase activity and to an increase of the enzyme activity in lysosomal fraction. cAMP appears to modulate the lability of hepatocyte lysosomal membrane. The mechanisms involved in these processes are discussed.

УДК 612.115.1.064.014.46:615.362.438

Г. В. Андреев, И. П. Ашмарин, В. Д. Зажирей, В. А. Лившиц, Т. И. Серебрякова, Л. В. Подорольская

ВЛИЯНИЕ ТИМОПТИНА НА ПРОЦЕСС ФЕРМЕНТАТИВНОГО ФИБРИНОЛИЗА

Московский университет им. М. В. Ломоносова, ВНИИ технологии кровезаменителей и гормональных препаратов, Москва

Фибринолиз как один из важнейших процессов ограниченного протеолиза, кроме своей основной специфической роли, выполняет многочисленные другие физиологические функции, находясь под регулирующим влиянием нервной и гуморальных систем организма.

В настоящее время большое внимание уделяется исследованию неспецифических регуляторных воздействий. К их числу можно отнести действие факторов иммунной системы [9, 10]. О взаимосвязи иммунной и фибринолитической систем свидетельствуют данные литературы [13, 14]. Известны представления о так называемом «иммунологическом надзоре» за системами ограниченного протеолиза (гемостаза, фибринолиза, калликреин-кининовой системой, компонентов комплекса), осуществляемом тимусом посредством его гормонов (тимозины, тимопоэтины и др.). [4, 6].

Целью данной работы явилось дальнейшее изучение взаимосвязи иммунной и фибринолитической систем — исследование действия тимоптина, одного из тимусных пептидных препаратов, на процесс ферментативного фибринолиза.

Методика

Использовали препарат тимоптин, полученный во ВНИИ технологии кровезаменителей и гормональных препаратов. Тимоптин представляет собой комплекс полипептидов, выделенный из тимуса млекопитающих. Исследовали 2 дозы препарата: 0,1 мкг/200 г и 1 мкг/200 г в соответствии с рекомендациями разработчиков препарата [3].

Белым беспородным крысам, разделенным на 3 группы, препарат вводили однократно внутривенно в яремную вену, многократно внутримышечно — ежедневно в течение 5 дней, а также подкожно — 5 инъекций через день.

В опытах по изучению предполагаемого действия тимоптина, предупреждающего тромбообразование после курса подкожных или внутривенных инъекций (5 раз по 0,1 мкг/200 г), проводили тромбиновую пробу. Тромбин вводили в большой дозе (100—200 ед.), вызывающей гибель 50 % контрольных животных. Затем тромбин инфузирвали подопытным животным в соответствии с их массой и подсчитывали процент погибших крыс.

В опытах по изучению предполагаемого тромболитического действия тимоптина использовали модель тромбоза в яремной вене. У животных под аминазиновым наркозом (1 мл 2,5 % раствора аминазина внутривенно) образовывали тромб, вводя в изолированный сегмент вены 0,02 мл тромбина с активностью 40 ед./мл. Степень лизиса рассматривали как максимальную (100 %) в случае полного растворения тромба либо как частичную, которую выражали величиной оставше-

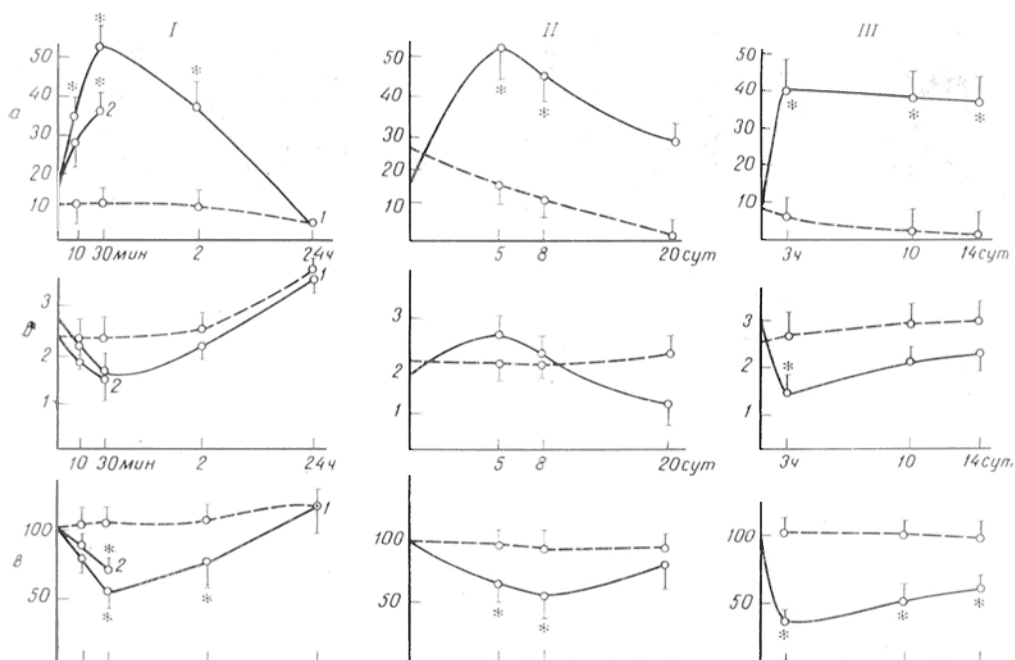


Рис. 1. Динамика изменений биохимических показателей фибринолиза после внутривенного (I), внутримышечного (II) и подкожного (III) введения тимонтина.

По осям абсцисс — время после окончания курса введений; по осям ординат: а — активность активатора плазминогена (в мм), б — содержание фибриногена (в г/л), в — уровень ингибиторов (в %). 1 — доза тимонтина 0,1 мкг/200 г (внутривенное введение); 2 — доза 1 мкг/200 г (внутривенное, внутримышечное и подкожное введения). Штриховые линии — контроль, сплошные линии — подопытные животные. Звездочка — достоверные отличия от контроля.

гося тромба, рассчитанной в процентах от его начальной величины.

Кровь для анализа брали из яремной вены и в ней определяли следующие показатели: содержание фибриногена по Лазару, уровень активатора плазминогена по зонам лизиса на стандартных и прогретых фибриновых пластинках (Аструп, Мюллертц), уровень ингибиторов фибринолиза по Нордо, как описано ранее [8]. Тромбоэластографическую регистрацию рекальцификации плазмы крови осуществляли на тромбоэластографе «Hellige».

Результаты и обсуждение

На рис. 1 представлены результаты определения содержания активатора плазминогена, ингибиторов фибринолиза и уровня фибриногена в крови животных после однократного внутривенного введения 5-кратных внутримышечных и подкожных инъекций (0,1—1 мкг/мл). Во всех случаях отмечено увеличение фибринолитической активности, снижение содержания фибриногена и уровня ингибиторов. При многократном введении увеличенный фибринолитический фон сохранялся не только в процессе инъекций препарата, но и спустя 2 нед по

окончании курса. Однократное же внутривенное введение вызывало усиление фибринолиза в течение 2 ч, максимум — через 30 мин. Через 24 ч показатели восстанавливались. Большая доза (1 мкг/200 г) также была эффективной, но в меньшей степени. Практическое значение имеет изучение влияния многократных подкожных или внутримышечных введений препарата, так как именно эти способы используются при лечении иммуноактивными препаратами различных заболеваний [1, 2, 7].

Поскольку фибринолитический эффект однократного введения исчезал уже через 1 сут, а в результате хронического применения препарата в ткани наблюдалось длительное последствие эффекта усиления фибринолиза, можно думать, что механизмы влияния тимонтина при этих двух способах его использования различны. При однократной инъекции, вероятно, имеет место влияние препарата на эндотелий сосудов с выбросом активатора плазминогена в кровь. Этому может способствовать тромбопластическое действие препарата, обнаруживаемое

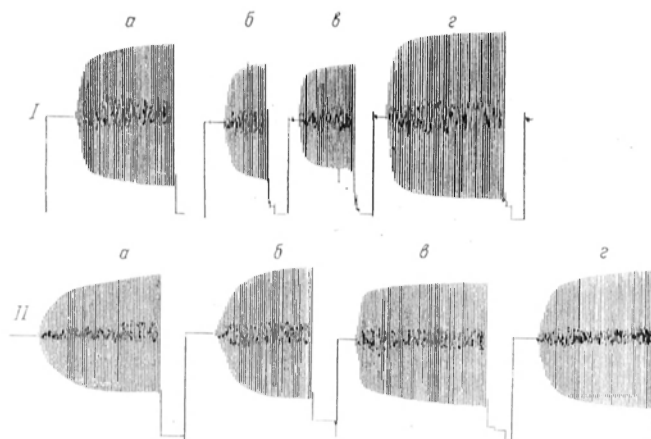


Рис. 2. Тромбоэластограммы плазмы крови животных после внутривенного введения тимоптина в дозе 0,1 мкг/200 г (I) и физиологического раствора (II).

а — до введения тимоптина или физиологического раствора; б, в, г — соответственно через 10 мин, 30 мин, 2 ч после введения.

при тромбоэластографической регистрации процесса коагуляции после однократной внутривенной инъекции (укорочение показателя R на тромбоэластограмме; рис. 2). Тогда увеличение фибринолитической активности будет вторичным в ответ на усиление тромбиногенеза, вероятно, присущего тимоптину.

Тромбинообразующее действие другого иммуноактивного препарата — тималина отмечалось в работе [5]. При многократном введении тимоптина имеет место активация клеточного иммунитета с увеличением количества и функциональной способности Т-лимфоцитов и макрофагов. Эти клетки содержат активатор плазминогена [11], плазминоген [12], которые способны выделяться в окружающую среду и создавать высокий фибринолитический фон. Не исключен этот механизм и при однократном внутривенном введении тимоптина.

У подопытных животных после курса подкожных инъекций препарата вероятность развития тромбоза меньше, чем у контрольных крыс. Об этом свидетельствуют результаты тромбиновой пробы. Введение сублетальной дозы тромбина после курса подкожных инъекций тимоптина вызвало гибель лишь 1 животного из 18, в то время как в контрольной группе из 9 крыс погибли 4. Длительное внутривенное введение 0,1 мкг тимоптина (5 ежедневных инъекций) также вызвало профилактический эффект препарата в отношении тромбообразования, хотя и менее выраженный. Полученные данные свидетельствуют о мобилизации тимоптином противотромботического потенциала организма и могут

служить основанием для возможного использования изучаемого препарата с целью предотвращения тромботических осложнений, возникающих при различных заболеваниях.

Кроме антитромботического действия, препарат при однократном внутривенном введении в дозе 0,1 мкг оказывал умеренное тромболитическое влияние, растворяя небольшие тромбы при экспериментальном венозном тромбозе (см. таблицу). Из таблицы видно, что трихолизин (комплекс протеаз растительного происхождения, обладающий ярко выраженными тромболитическими свойствами), растворял все тромбы в течение 2 ч. Добавление тимоптина не ускоряло лизис. Сам препарат растворял небольшие тромбы в 25 случаях из 57, большие тромбы — частично (77 % лизис) в отличие от спонтанного лизиса у контрольных животных, наблюдавшегося в 8 случаях из 41; у остальных животных лизис был частичным и составил 22 %. Фибринолитическая активность, измеренная после полного или частичного лизиса тромбов, также была различной. При применении трихолизина активность активатора плазминогена была в 10 раз больше, чем в контроле, после использования тимоптина она оказалась выше в 5 раз. Как следствие было снижено содержание фибриногена примерно в 2 раза и после введения трихолизина, и после введения тимоптина. Таким образом, тимоптин в дозах 0,1 и 1 мкг на 200 г массы крысы умеренно увеличивает фибринолитическую активность, уменьшает уровень ингибиторов фибринолиза, способствует мобилизации резервных противотромботических потенциалов ор-

Лизис экспериментальных тромбов у животных после внутривенного введения трихолизина и тимоптина по сравнению с контролем

Введенные вещества	Число животных	Число животных с лизированными тромбами		Время лизиса, ч	Степень лизиса, %	Фибринолитическая активность после лизиса тромба	
		абс.	%			активатор плазминогена, мм ²	фибриноген, г/л
Трихолизин	4	4	100	2	100	120±10 $p<0.01$	1.80±0.14 $p<0.05$
Трихолизин+тимоптин	5	5	100	2	100	110±11 $p<0.01$	1.90±0.16 $p<0.02$
Тимоптин	57	25	44 $p<0.02$	4	77±10.3 $p<0.02$	52±8 $p<0.02$	2.10±0.26 $p<0.05$
Изотонический раствор 0,9% NaCl (контроль)	41	8	19	6	22±5.4	11±4	3.60±0.21

ганизма, усиливает спонтанное растворение тромбов у животных с экспериментальным тромбозом. Многократное внутримышечное или подкожное введение препарата наиболее благоприятно, поскольку увеличенный фибринолитический фон сохраняется некоторое время после окончания курса инъекций.

Полученные в работе данные указывают на возможность использования тимоптина в клинической практике с целью повышения защитных противотромботических потенциалов организма. Сочетание присущего препарату иммуностимулирующего влияния и обнаруженного нами повышающего фибринолиз и предупреждающего тромбоз действия позволит, вероятно, в дальнейшем наиболее рационально применять его в тех ситуациях, когда недостаточность, дефицит иммунных факторов сопровождаются опасной гиперкоагуляцией, (пневмонии, нефриты, онкологические заболевания).

ЛИТЕРАТУРА

1. Борисова А. М., Леякина Ю. А., Симонова А. В. // Иммунология. — 1987. — № 4. — С. 84—89.
2. Даренская С. Д. // Актуальные проблемы гемостаза в клинической практике. — М., 1987. — С. 32.
3. Зажирей В. Д., Соколова Е. А., Тепелина О. М. и др. // Нейроэндокринные механизмы адаптации. — Ставрополь, 1985. — С. 98—109.
4. Кузник Б. И. // Медицинская наука — здравоохранению Забайкалья. — Чита, 1984. — С. 12—17.
5. Кузник Б. И., Будажанова Д. Ц., Загребина Л. А. // Фармакол. и токсикол. — 1981. — № 4. — С. 422—425.
6. Кузник Б. И., Цыбиков Н. Н. // Успехи

совр. биол. — 1981. — Т. 92, № 2. — С. 243—260.

7. Максимова О. П. // Актуальные проблемы гемостаза в клинической практике. — М., 1987. — С. 31—32.
8. Методы исследования фибринолитической системы крови. — М., 1981.
9. Петров Р. В. Иммунология. — М., 1987.
10. Проблемы и перспективы современной иммунологии: Метод. анализ / Под ред. Р. В. Петрова, В. Н. Лозовой. — Новосибирск, 1988.
11. Greineeler D. K., Connorton K. J., David J. R. // J. Immunol. — 1979. — Vol. 123. — P. 2803—2809.
12. Human neutrophil plasminogen activator is localized in specific granules and is translocated to the cell surface by exocytosis // J. exp. Med. — 1986. — Vol. 164, N 3. — P. 826—840.
13. Maillard J. L., Favreau C. // J. Immunol. — 1981. — Vol. 126. — P. 1126—1139.
14. Vermeylen J., Blockmans D., Spits B., Dekmyn H. // Clin. Haemat. — 1986. — Vol. 15, N 2. — P. 383—405.

Поступила 21.06.88

EFFECT OF THYMOPTINE ON ENZYMATIC FIBRINOLYSIS

G. V. Andreenko, I. P. Ashmarin, V. D. Zazhi-
reya, V. A. Livshits, T. N. Serebryakova,
L. V. Podorol'skaya

M. V. Lomonosov State University, All-Union
Institute of Blood Substitutes Technology and
Hormonal Preparations, Moscow

Stimulation of fibrinolysis, decrease in content of fibrinogen and inhibitors were observed after intravenous, intramuscular or subcutaneous administrations of thymoptine preparation (complex of peptides, isolated from mammalian thymus) at doses of 0.1 µg, 1.0 µg/200 g of rat body mass. A more long-term effect was found after a course of treatment involving 5 subcutaneous or intramuscular injections (1.0 µg). Single intravenous administration of thymoptine (0.1 µg/200 g) caused a moderate thrombolytic action. Development of thrombosis, provoked by subtotal dose of thrombin, was inhibited after subcutaneous injection of the preparation.