

Архив журнала

## Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1990

Том 36 выпуск 2

**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

1990

Volume 36 issue 2

**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. Кочетков С. Н., Абдурагимов А. Р., Лукашина Т. Н., Северин Е. С. // Биохимия. — 1984. — Т. 49, № 2. — С. 344—348.
2. Datta A., DeHaro C., Sierra J. M., Ochoa S. // Proc. nat. Acad. Sci. USA. — 1977. — Vol. 74. — P. 1463—1467.
3. Farrell J., Balkow K., Hunt T. et al. // Cell. — 1977. — Vol. 11. — P. 187—200.
4. Hovannesian A. G., Kerr J. M. // Europ. J. Biochem. — 1979. — Vol. 93. — P. 515—526.
5. Laemli U. K. // Nature. — 1970. — Vol. 227. — P. 680—685.
6. Leilig C. E., Coldberg N. D. // Proc. nat. Acad. Sci. USA. — 1977. — Vol. 74. — P. 1053—1056.
7. Lohmann S. M., Waeter U., Greengard P. // J. biol. Chem. — 1980. — Vol. 255. — P. 9985.
8. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. // Ibid. — 1951. — Vol. 193. — P. 265—275.
9. Sieghart W., Forn J., Greengard P. // Proc. nat. Acad. Sci. USA. — 1979. — Vol. 76. — P. 2475—2479.

Поступила 05.10.88

## EFFECT OF HIGH MOLECULAR INDUCTION OF INTERFERON (dcRNA) ON ADSORPTION OF VIRUS

K. A. Bakunts, M. G. Gevorkyan, E. B. Tazulakhova, R. A. Zakharyan, F. I. Yershov

Institute of Experimental Biology, Academy of Sciences of the Armenian SSR, Yerevan, N. F. Gamaleja Institute of Epidemiology and Microbiology, Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow.

Interrelationship between phosphorylation of plasmatic membrane proteins in brain cells and the rate of mice encephalomyocarditis virus adsorption was studied. Phosphorylation of proteins induced by dcRNA (laryphane) was most distinctly manifested in membrane fraction and cytosole of rat brain neuronal cells. Similarity of molecular mass spectra in dcRNA- and cAMP-dependent phosphorylation enabled to suggest that dcRNA activated protein kinase. An increase in the rate of plasmatic membrane proteins phosphorylation appears to correlate with inhibition of virus adsorption as shown by studies of these reactions dynamics. Under conditions of considerable increase in the rate of membrane proteins phosphorylation adsorption of virus on cells was distinctly inhibited.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1990

УДК 618.3/7-06:616.94]-07:616.15-008.6-074

Р. И. Степанянц, Ш. Г. Мухамедиева, М. А. Ли, Э. М. Султанова, И. Казаков, Ш. И. Салихов  
МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ И КОРРЕКЦИИ  
ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ПРИ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ В  
АКУШЕРСКОЙ ПРАКТИКЕ

Институт биоорганической химии АН Узбекской ССР, Ташкент

Важную роль в развитии эндогенной интоксикации при патологических состояниях играют эндогенные токсины пептидной природы с мол. м.

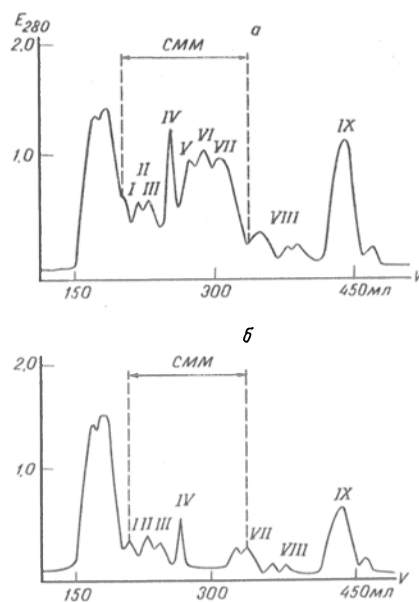


Рис. 1. Пептиды СММ в плазме крови больных с гнойно-септическими заболеваниями (а) и у здоровых небеременных женщин (б).

Здесь и на рис. 2 и 3: колонка (1,5×100 см) с сефадексом G-25, буфер — 0,01 М раствор ацетата натрия, pH 6,7, скорость элюции 12 мл/ч.

300—5000, получившие название «средние молекулы» [6]. Были разработаны способы исследования пептидов средней молекулярной массы (СММ) при почечной недостаточности [3, 4].

Цель настоящего исследования — поиск новых методов диагностики и коррекции эндогенных интоксикаций, обусловленных накоплением в крови пептидов СММ, при септических состояниях в акушерской практике.

## Методика

Исследована плазма крови больных с гнойно-септическими заболеваниями акушерской этиологии — метростеном, метростеном, гнойно-септическими осложнениями после кесарева сечения и др.

Для определения уровня пептидов СММ использованы методы гель-хроматографии и экспресс-метод. Метод гель-хроматографии на колонке с сефадексом G-25 позволяет идентифицировать около 8 фракций пептидов СММ. Для разделения пептидов была использована колонка (1,5×100 см, «Pharmacia», Швеция), заполненная сефадексом G-25. Пептиды элюировали 0,01 М раствором ацетата натрия, pH 6,7; скорость элюции 12 мл/ч. Для анализа пептидов СММ был использован разработанный нами ранее способ [3] со следующей модификацией: надсадочную жидкость после обработки трихлоруксусной кислотой разбавляли не в 3, а в 2 раза. Биологическую активность пептидных фракций определяли на бимолекулярных фосфолипидных мембранах (БФМ), которые получали по методу [5]. Формирование мембран и измерение их электрических характеристик осуществляли, как описано Е. А. Либманом [1]. Для коррекции эндоген-

## Пептиды СММ в крови больных с гнойно-септическими заболеваниями до и после АУФОК

Интоксикация	До сеанса АУФОК	Число сеансов АУФОК										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Средней тяжести	0,410 ±0,039	0,430 ±0,040	0,380 ±0,037	0,300 ±0,033	0,280 ±0,029	0,260 ±0,031						
Тяжелая	0,720 ±0,041	0,800 ±0,039	0,690 ±0,044	0,600 ±0,038	0,580 ±0,035	0,400 ±0,031	0,370 ±0,030	0,320 ±0,032	0,320 ±0,027			
Крайне тяжелая	0,980 ±0,049	1,100 ±0,054	0,990 ±0,051	0,860 ±0,053	0,800 ±0,050	0,670 ±0,047	0,620 ±0,043	0,570 ±0,038	0,480 ±0,042	0,440 ±0,038	0,380 ±0,037	0,370 ±0,039

Примечание. Представлены средние арифметические величины (±средние ошибки средних арифметических величин) содержания пептидов СММ (в усл. ед.). Норма — 0,270±0,032.

ной интоксикации нами был применен метод аутоотрансфузии крови, облученной УФ-лучами (АУФОК), как описано в работе [2].

## Результаты и обсуждение

По нашим данным, в крови больных с гнойно-септическими заболеваниями повышено содержание пептидов СММ (рис. 1). Особого внимания заслуживает фракция VI, не обнаруживаемая в крови здоровых доноров. Увеличение содержания в крови больных остальных фракций пептидов СММ также является признаком эндогенной интоксикации. В состоянии септического шока эти изменения достигали максимума, что было особенно заметно для фракции VI.

При исследовании биологической активности фракций пептидов СММ свойство изменять проводимость БФМ обнаруживала только фракция VI, причем для реализации мембранотропного эффекта необходимо было присутствие в среде ионов калия или натрия. При наличии в среде, омывающей БФМ, 10 мМ KCl или NaCl и фракции пептидов СММ, выделенных из 5 мл плазмы, проводимость БФМ возрастала в среднем на 1,5 порядка. Обнаружено достоверное снижение в крови больных уровня пептидов СММ после АУФОК (см. таблицу). Наибольшее снижение уровня пептидов СММ у больных со средней степенью тяжести интоксикации достигается после 4-го сеанса АУФОК. У тяжелобольных число сеансов АУФОК, необходимых для снижения уровня пептидов, возрастало. Учитывая эти данные, нами разработана программа АУФОК, основанная на контроле за содержанием пептидов СММ в крови больных. По этой программе сеансы АУФОК проводили через 1 день (до 4—5 сеансов) при уровне пептидов в крови до 0,500 усл. ед. и до 7—8 сеансов при уровне пептидов 0,900 усл. ед. При уровне пептидов выше 0,900 усл. ед. проводили по 3 сеанса каждый день, затем 7—8 сеансов через день. В таких условиях уровень пептидов после АУФОК снижался до 0,270—0,300 усл. ед., что составляет норму.

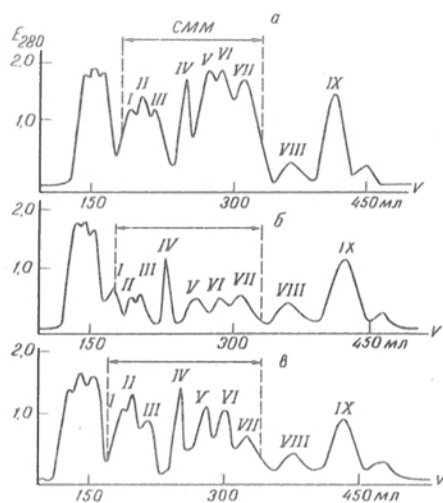


Рис. 2. Пептиды СММ в плазме крови больных с гнойно-септическими заболеваниями до процедуры АУФОК (а), после 6 сеансов АУФОК (б) и после 6 сеансов гемосорбции (в).

Сравнение проводили для больных с равной степенью тяжести интоксикации.

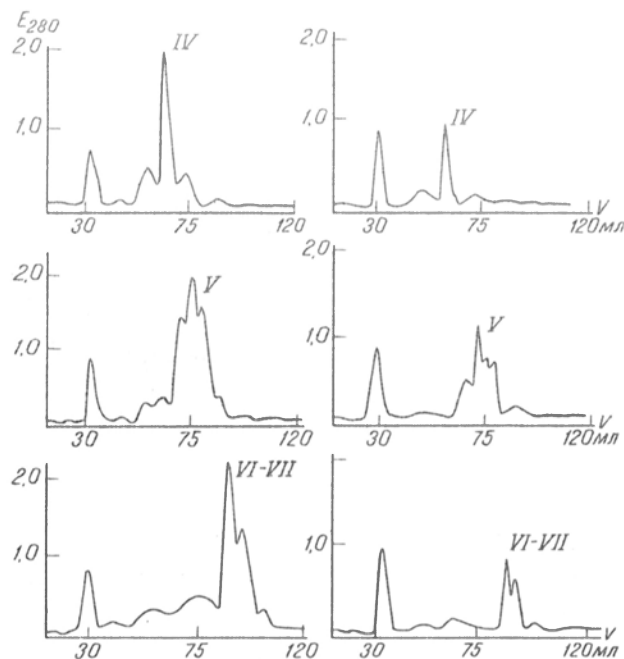


Рис. 3. Разделение смеси путем гель-фильтрации пептидов СММ и альбумина до облучения (слева) и после облучения (справа).

Колонка 1×100 см. Объяснения условий эксперимента см. в тексте.

Эффективность детоксикации при проведении АУФОК доказана также биотестом по изменению проводимости БФМ до лечения и после лечения. Так, если исходная мембраноактивность плазмы больных составляла в среднем  $9,36 \cdot 10^8 \text{ Ом}^{-1}/\text{см}^2$ , то после процедур АУФОК она достигала  $3,27 \times 10^9 \text{ Ом}^{-1}/\text{см}^2$ , что является верхней границей нормы. По-видимому, процедура АУФОК приводит к снижению в крови больных фракций пептидов СММ, оказывающих мембранотропное действие. По нашим данным (рис. 2), после АУФОК достигалось наиболее эффективное снижение фракций VI и VII, обладающих мембранотропными свойствами, и наименьшее — для фракции IV. При сравнении эффекта АУФОК и гемосорбции обнаружено, что АУФОК дает лучшую детоксикацию (см. рис. 2) и в то же время является более доступной и экономичной.

С целью исследования механизма эффекта АУФОК для элиминации пептидов СММ были проведены модельные эксперименты по связыванию белка крови — альбумина с пептидами СММ до и после облучения УФ-светом при той же длине волны и в тех же условиях, как и при облучении крови. Установлено (рис. 3), что наибольшее связывание облученного альбумина наблюдается для пептидов из фракций VI и VII, а наименьшее — с пептидами из фракции IV. По-видимому, это объясняется различием физико-химических характеристик пептидов. Свойство АУФОК снижать интоксикацию, вызванную пептидами СММ, по-видимому, обусловлено возникновением на молекуле альбумина или других сывороточных белков дополнительных мест связывания с токсинами. Этот метод можно использовать для детоксикации и при других патологических состояниях, связанных с накоплением в крови пептидов СММ.

Использование методов детоксикации требует определения степени интоксикации. Методы опре-

деления пептидов СММ и биотест с использованием БФМ могут служить критерием интоксикации в клинической практике.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Либерман Е. А. // Биологические мембраны.— М., 1973.— С. 46—48.
2. Потапов Л. В., Чеминава Р. В., Перельгин В. Г. // Механизмы влияния облученной ультрафиолетовыми лучами крови на организм человека и животных.— Л., 1986.— С. 25—30.
3. Садыков А. С., Салихов Ш. И., Салихова Н. Н. и др. Способ диагностики почечной недостаточности: А. с. 1255933 СССР, 1986.
4. Салихов Ш. И., Мухамедиева Ш. Г., Абдурахманова Ж. А. и др. Способ диагностики почечной недостаточности: А. с. 1240413 СССР, 1986.
5. Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G. // J. biol. Chem.— 1957.— Vol. 226.— P. 497—509.
6. Bergstrom J., Furst P. // Uremic Toxins — Montreal., 1978.— P. 669—675.

Поступила 31.10.88

## PROCEDURES FOR DIAGNOSIS AND CORRECTION OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN PYO-INFLAMMATORY DISEASES OCCURRING IN OBSTETRIC PRACTICE

R. I. Stepanyants, Sh. G. Mukhamedieva, M. A. Li, E. M. Sultanova, I. Kazakov, Sh. I. Salikhov

Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of the Uzbek SSR, Tashkent.

Content of middle molecular mass peptides was studied in blood of patients with pyo-inflammatory diseases. The peptide fraction was detected exhibiting a membrano-tropic effect, which correlated with the rate of endogenous intoxication. A procedure of autotransfusion of UV-irradiated blood was used in the course of detoxication.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1990

УДК 615.013.83.015.4: [612.35.015.348:577.123]: 076.9

А. И. Божков, В. Г. Гопкалов, А. И. Скляр, Ц. М. Шерешевская, М. К. Асадова

## ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА АМНИОЦЕНА НА МЕТАБОЛИЗМ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В КЛЕТКАХ ПЕЧЕНИ КРЫС

НИИ биологии Харьковского университета

Поиск новых биологически активных веществ, обладающих свойствами эндогенных биорегуляторов, является актуальным направлением в современной медицине. Плаценту и амниохорион человека используют как источники биологически активных веществ [7, 8, 10]. Из ткани амниона во ВНИИ химии и технологии лекарственных средств получен препарат амниоцен.

Проблема влияния лекарственных средств на функцию генетического аппарата имеет два аспекта. Во-первых, даже незначительные изменения в функционировании генетического аппарата под влиянием ксенобиотиков могут привести в конечном итоге к существенным перестройкам в системе метаболизма клетки и организма в целом. Во-вторых, испытание медицинских препаратов на функционирование системы реализации генетической информации (репликацию, транскрипцию, процессинг и транспорт РНК в цитоплазму, трансляцию) позволяет ускорить процесс поиска мо-

лекулярных механизмов действия испытуемых веществ.

Целью настоящей работы было изучение влияния амниоцена на скорость синтеза ДНК, РНК и транспорт РНК в цитоплазматические структуры клеток печени крыс.

## Методика

Опыты проводили на крысах линии Вистар 2—3-месячного возраста. Препарат амниоцен вводили подкожно за 24 или 48 ч до забоя животных. Частичную гепатэктомию проводили под эфирным наркозом по известному методу [9]. В экспериментах было использовано около 100 животных.

**Определение скорости регенерации печени.** В этом эксперименте 15 подопытным и 15 контрольным крысам вводили соответственно по 0,6 мл амниоцена и физиологического раствора на 100 г массы тела ежедневно, в 9 ч утра. Животных обеих групп забивали через 2, 6 и 10 дней после частичной гепатэктоми. Печень освобождали от крови, взвешивали и рассчитывали массу печени на 100 г массы тела.

**Определение удельной радиоактивности ДНК и РНК клеточных ядер.** Подопытным и контрольным животным, голодавшим в течение ночи, вводили внутривенно по 2,96 МБк  $^3\text{H}$ -тимидина и по 1,1 МБк  $^{14}\text{C}$ -оротовой кислоты на 100 г массы тела. Спустя 40 мин животных забивали декапитацией. Ядра клеток печени выделяли по методу [6]. Из очищенных ядер экстрагировали РНП-частицы по методу [2]. Кислотный гидролиз ДНК проводили после извлечения РНК хроматина по методу [4]. Концентрацию ДНК и РНК соответствующих фракций определяли на спектрофотометре СФ-46 [3]. Радиоактивность ДНК и РНК определяли в диоксановом сцинтилляторе на счетчике Ультра-Бета (Швеция). Удельную радиоактивность выражали в импульсах в мин на 1 мг ДНК или РНК соответственно.

**Определение удельной радиоактивности РНК рибосом и пострибосомной фракции.** Животным контрольной и опытной групп, голодавшим в течение ночи, вводили внутривенно по 1,1 МБк  $^{14}\text{C}$ -оротовой кислоты на 100 г массы тела. Через 40 мин животных забивали. Ядра и митохондрии осаждали центрифугированием при 10 000 g в течение 20 мин при 2—4 °С. Мембраны, содержащиеся в постмитохондриальной фракции, разрушали 1,5 % тритоном X-100. Рибосомы осаждали в присутствии высокой концентрации хлорида магния [11]. В рибосомальной и пострибосомальной фракциях определяли содержание РНК и ее удельную радиоактивность как и в случае РНК хроматина.

**Определение скорости транспорта предшественников синтеза нуклеиновых кислот в клетках печени.** Животным вводили по 1,1 МБк  $^{14}\text{C}$ -оротовой кислоты. Через 20 мин крыс забивали, печень перфузировали холодным раствором сахарозы, клетки печени выделяли по методу [1]. О скорости транспорта судили по количеству включившихся в клетки меченых предшественников за 120 мин. После лизиса клеток выделяли кислоторастворимую фракцию, в которой определяли содержание и удельную радиоактивность, как и в случае нуклеотидов РНК хроматина. Все полученные результаты обрабатывали статистически по методу Стьюдента — Фишера.

## Результаты и обсуждение

Через 24 ч после подкожного введения препарата амниоцена интактным крысам линии Вистар 3-месячного возраста в дозе 0,6 мл на 100 г массы тела (терапевтическая доза, увеличенная примерно в 100 раз) не наблюдали изменений удельной радиоактивности ДНК клеток печени (см. таблицу).

Все ксенобиотики по действию на биологические процессы могут быть отнесены к трем различным группам: стимуляторы, ингибиторы и вещества, не оказывающие биологического действия. Можно полагать, что стимуляторы лучше проявляют свой биологический эффект в системах с низким уровнем метаболизма, в то время как ингибиторы проявляют его в системах с высоким уровнем метаболизма.

Известно, что рост и дифференцировка печени завершаются в относительно ранние периоды онто-