

Архив журнала

Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1992

Том 38 выпуск 3

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

1992

Volume 38 issue 3

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>

тов и нормализовывать таким образом микроциркуляцию в ишемических зонах [11]. Поэтому при ожогах он, возможно, ограничивает объем вторичного некроза ожоговых ран и массу разрушаемого коллагена. Влияние КГ на микроциркуляцию, возможно, обусловило также обнаруженный в наших опытах диуретический эффект белка (см. табл. 2), связанный с непосредственным воздействием на почки. Во-вторых, КГ способен ингибировать продукцию нейтрофилами супероксиданионов в процессе окислительного фагоцитоза [8]. Активация этого процесса всегда наблюдается в очагах воспалительного поражения. В свете гипотезы о свободнорадикальной деструкции соединительной ткани [2] это также объясняет защитное действие КГ на ее обмен при ожогах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вальдман Б. М., Пужевский А. С., Волчегорский И. А. и др. // Пат. физиол.— 1988.— № 6.— С. 40—42.
2. Герасимов А. М., Фурцева Л. И. Биохимическая диагностика в травматологии и ортопедии.— М., 1986.
3. Кляцкин С. А., Лифшиц Р. И. // Клин. хир.— 1989.— № 3.— С. 31—33.
4. Лютов А. Г., Алешкин В. А., Еникеева С. А. и др. // Гематол. и трансфузиол.— 1987.— № 5.— С. 58—61.
5. Николайчик В. В. Молекулярные механизмы развития эндогенной интоксикации и совершенствование путей детоксикации: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.— М., 1984.
6. Саломатин В. В., Соболевская Т. М., Курилова Т. В., Лифшиц Р. И. // Пат. физиол.— 1989.— № 6.— С. 37—40.
7. Шараев П. Н., Виленская Н. П., Иванов В. Г. и др. // Бюл. экспер. биол.— 1986.— № 3.— С. 304—306.
8. Costello M. J., Gewurs H., Siegel J. N. // Clin. exp. Immunol.— 1984.— Vol. 55.— P. 465—472.
9. Disson Ph. W., Sannister D., Schreiber G. // J. Trauma.— 1987.— Vol. 27.— P. 283—286.
10. Faymonville M. E., Michels J., Bodson L. et al. // Burns.— 1987.— Vol. 13.— P. 26—33.
11. Pat. 4362718 USA. Agent for curing peripheral circulation insufficiency / Maeda H., Nishi K. // Biol. Abstr.— 1982.— Vol. 70.— N 76207.
12. Sevaljevic L., Ivanovic-Matic S., Petrovic M. et al. // Biochem. J.— 1989.— Vol. 258.— P. 663—668.
13. Shi-liang W., Silberstein E. B., Likes S. // Burns.— 1986.— Vol. 12.— P. 312—317.

Поступила 15.01.91

EFFECT OF α_1 -ACID GLYCOPROTEIN ON METABOLISM OF HYDROXYPROLINE IN EXPERIMENTAL THERMIC TRAUMA

V. V. Salomatina, A. G. Lyutov, A. L. Tsylovich, T. M. Sobolevskaya, R. I. Lifshits

Medical School, Chelyabinsk, Research Industrial Association "Immunopreparation", Ufa

α_1 -Acid glycoprotein, isolated from human blood plasma, was shown to accelerate healing of burn wounds in rats and to increase daily urine excretion. The glycoprotein restricted an elevation of the peptide-bound hydroxyproline in blood plasma, decreased the ratio between peptide-bound and free hydroxyproline within all the periods of experiment during 3 weeks as well as stimulated hydroxyproline excretion with urine at the step of active reparation of burn wounds. The glycoprotein appears to protect connective tissue metabolism in burns.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1992

УДК 615.366.153.96-02:616-001.17].015.4:[616-008.931:577.152.34].-092.9

Б. М. Вальдман, В. П. Пушкарев, Н. А. Соболева, Р. И. Лифшиц

ВЛИЯНИЕ СРЕДНЕМОЛЕКУЛЯРНЫХ ПЕПТИДОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КРОВИ ИНТАКТНЫХ И ОБОЖЖЕННЫХ СОБАК, НА ПРОТЕОЛИЗ В ТКАНЯХ МЫШЕЙ

Челябинский медицинский институт

Усиление протеолитических процессов после ожогов у людей и экспериментальных животных хорошо изучено [3, 5, 14]. Кроме того, показано, что в токсемический период ожоговой болезни в крови больных, а также у животных в модельных опытах повышается содержание пептидов со средней молекулярной массой (300—5000 Д), которые обладают широким спектром действия на различные системы организма [2, 7—10]. Однако до сих пор мало исследован вопрос о влиянии среднемолекулярных пептидов (СМП), являющихся продуктами катаболической реакции, на протеолитические процессы в клетках печени и мозга. Между тем у больных с обширными глубокими ожогами наблюдаются токсемические поражения как печени, так и головного мозга с явлениями энцефалопатии. Оценить такое влияние СМП мы попытались в предлагаемой работе.

Методика. СМП получены из крови 4 интактных и 4 обожженных собак (через 24 ч после ожога). Манипуляции на собаках выполнены под наркозом (тиопентал-натрий, 30—40 мг/кг внутривенно). Методика термической травмы, выделение СМП и их нумерация в порядке выхода из хроматографической колонки описаны ранее [2].

В эксперименте использованы 200 беспородных мышей-самок массой 20—25 г, которые содержались в стандартных условиях вивария. Животным внутривенно вводили 0,2 мл раствора фракций 2, 3 и 4 СМП в физиологическом растворе в дозах, соответствующих их содержанию в 10 мл крови интактных и обожженных собак. Контрольным животным вводили 0,2 мл физиологического раствора. Через 30 мин или 24 ч после инъекции животных забивали. Все последующие операции проводили при 0—2 °С. У животных извлекали печень и головной мозг, которые промывали и помещали в заранее охлажденную среду выделения — 0,14 М хлорид натрия. С помощью гомогенизатора стеклостекло из органов готовили гомогенаты в отношении 1:9 к среде выделения (масса : объем), которые затем центрифугировали при 1500 об/мин 15 мин для удаления ядер и обломков клеток. Полученные супернатанты после 7 циклов замораживания — оттаивания использовали для определения протеолитической активности по методу [15] и содержания белка биуретовым методом с реактивом Бенедикта [6]. Протеолитическую активность в кислой среде (ПАК) определяли с использованием 2,5 % раствора денатурированного мочевиной гемоглобина в качестве субстрата при pH 4,5, протеолитическую активность в нейтральной среде (ПАН) — 2,5 % раствора денатурированного мочевиной бычьего сывороточного альбумина в качестве субстрата при pH 7,0. Время инкубации для гомогенатов печени составило 2 ч, мозга — 3 ч при 37 °С. Реакции останавливали добавлением трихлоруксусной кислоты в конечной концентрации 5 % (масса : объем). После центрифугирования проб при 5000 об/мин в течение 20 мин в надосадках определяли прирост величины поглощения кислоторастворимых продуктов расщепления белков к концу инкубации по сравнению с ее началом на спектрофотометре СФ-16 при длине волны 280 нм. Протеолитическую активность выражали в ΔE_{280} на 1 мг белка за 1 ч инкубации.

Статистическую обработку полученных результатов проводили общепринятыми методами, достоверность различий

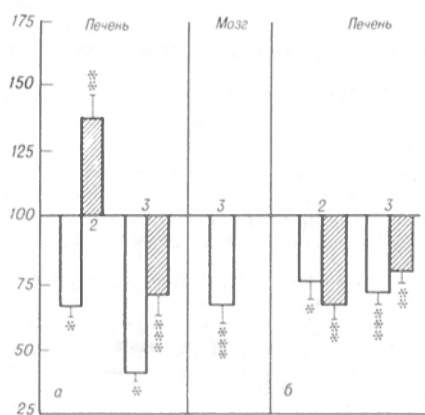


Рис. 1. Изменение ПАК и ПАН в печени и мозге мышей через 30 мин после внутривенного введения СМП из крови интактных (а) и обожженных (б) собак.

Здесь и на рис. 1: по оси абсцисс — номер фракции СМП: 1 — фракция 2, 2 — фракция 3, 3 — фракция 4; по оси ординат — достоверное отклонение исследуемых протеолитических активностей, в % от контроля; светлые столбики — ПАК, заштрихованные — ПАН; три звездочки — $p < 0,05$, две — $p < 0,02$, одна — $p < 0,01$.

средних оценивали с помощью критерия t Стьюдента и непараметрического критерия U Вилкоксона — Манна — Уитни [4].

Результаты и обсуждение. Результаты представлены на рис 1 и 2. Следует обратить внимание на то, что отдельные СМП, выделенные из крови интактных животных, а также аналогичные фракции из крови обожженных животных, во-первых, обладают различным влиянием на протеолитическую активность в исследуемых органах и, во-вторых, изменяют свою активность во времени. Как видно, фракция 2 «норма» не влияла на протеолитическую активность в исследуемых органах ни через 30 мин, ни через 24 ч после введения. В то же время введение фракции 2 «ожог» сопровождалось через 24 ч активацией в печени ПАК до 136 % ($p < 0,05U$) и ПАН до 121 % ($p < 0,05$) от контрольного уровня; в мозге в этот же срок наблюдалось подавление ПАН до 68 % ($p < 0,05$) от контроля.

СМП фракции 3 «норма» изменяли исследуемые параметры только в печени. Через 30 мин после введения они вызывали ингибирование ПАК до 65 % ($p < 0,01$) и активацию ПАН до 138 % ($p < 0,02$) от уровня интактных животных. Через 24 ч после инъекции этой фракции ПАН сохранялась на том же уровне — 137 % ($p < 0,05U$) от контроля, в то время как действие на ПАК отсутствовало, СМП фракции 3 «ожог» через 30 мин после введения вызывали ингибирование ПАК в печени до 68 % ($p < 0,01$), а ПАН до 66 % ($p < 0,02$) от контроля. Через 24 ч после этого наблюдалось противоположное изменение ПАН, которая повысилась до 130 % ($p < 0,05$). Одновременно в мозге наблюдалось угнетение ПАН до 80 % ($p = 0,05U$) от контрольного уровня.

СМП фракции 4 «норма» вызывали в печени через 30 мин после инъекции угнетение ПАК до 44 % ($p < 0,01$) и ПАН до 70 % ($p < 0,05$) от контроля. Через 24 ч после этого ингибирование отсутствовало. В мозге эта же фракция через 30 мин после введения вызывала снижение ПАК до 64 % ($p < 0,05$), а через 24 ч при сохранившейся сниженной ПАК до 75 % ($p = 0,05U$) активировала ПАН до 133 % ($p < 0,01$) от конт-

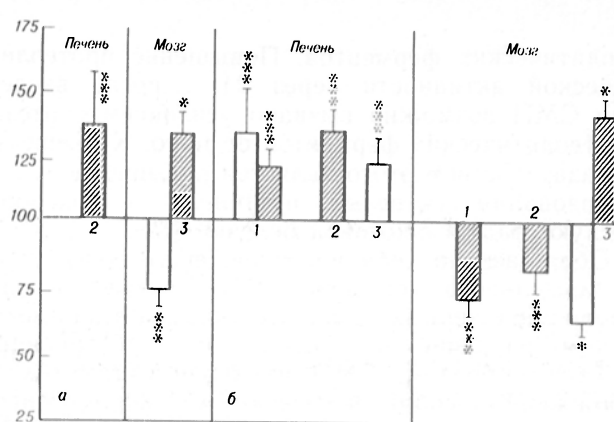


Рис. 2. Изменение ПАК и ПАН в печени и мозге мышей через 24 ч после внутривенного введения СМП из крови интактных (а) и обожженных собак (б).

роля. Введение фракции 4 «ожог» сопровождалось через 30 мин в печени только снижением ПАК до 71 % ($p < 0,05$) и ПАН до 78 % ($p < 0,02$) от контроля. При этом через 24 ч изменение ПАК было противоположным: она выросла до 121 % ($p < 0,05U$), тогда как ПАН не отличалась от контроля. В мозге эти же СМП через 30 мин после инъекции не проявляли активности, в то время как через 24 ч они вызывали снижение ПАК до 65 % ($p < 0,01$) и подъем ПАН до 138 % ($p < 0,001$) от контроля.

Использованные нами методы определения общей протеолитической активности гомогенатов печени и мозга в кислой и нейтральной среде не позволяют идентифицировать активность индивидуальных протеиназ. Учитывая мочевинорезистентность и оптимум pH эндопептидаз, можно полагать, что в условиях определения ПАК активны лизосомальные ферменты — катепсины D и L [12, 13], тогда как в условиях ПАН это, по всей вероятности, протеиназы, локализованные в цитоплазме [1, 15]. Причиной разнонаправленности изменений исследованных протеолитических активностей, наблюдаемой под влиянием некоторых фракций СМП, может быть различная компартиментализация ферментов.

Полученные данные показывают, что СМП из крови здоровых и обожженных собак способны как повышать, так и понижать активность протеолитических ферментов в печени и мозге. Можно полагать, что угнетение исследованной активности связано с прямым ингибирующим действием СМП на протеолитические ферменты. Основанием для такого заключения являются данные [11] о том, что ферментативный гидролиз альбумина катепсином В (так же как папаином, трипсином и химотрипсином) сопровождается появлением продуктов, обладающих свойствами кислотно- и термостабильных ингибиторов цистеиновых протеиназ. Возможно также, что снижение общей протеолитической активности в тканях под действием СМП связано с их лабилизирующим действием на мембраны лизосом [10] и выходом ферментов в цитоплазму клеток и далее в кровь. В результате этого зафиксированное нами снижение протеолитической активности является следствием перераспределения между внутри- и внеклеточными пулами про-

теолитических ферментов. Повышение протеолитической активности через 24 ч после введения СМП возможно вызвано усилением синтеза протеолитических ферментов *de novo*. Косвенным доказательством этого является повышение новообразования тканевых протеиназ в токсемическую стадию ожоговой болезни [5].

Обращает на себя внимание факт более продолжительного действия СМП, выделенных из крови обожженных собак, что указывает на имеющееся различие в природе этих соединений.

Таким образом, СМП из крови интактных и обожженных собак оказывают модифицирующее действие на протеолитические процессы в печени и мозге и, вероятно, вносят определенный вклад в регуляцию протеолиза как в норме, так и при ожогах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Березин В. А., Шевченко Г. М., Семаева О. П. // Биохимия.— 1981.— № 12.— С. 2234—2241.
2. Вальдман Б. М., Волчегорский И. А., Лифшиц Р. И. // Пат. физиол.— 1985.— № 2.— С. 36—40.
3. Веремеенко К. П., Васильчук Ю. М., Козинец Г. П. и др. // Клини. хир.— 1984.— № 3.— С. 22—25.
4. Гублер Е. В. Вычислительные методы распознавания патологических процессов.— Л., 1970.
5. Камилов Ф. Х. Исследование обмена белков и нуклеиновых кислот при экспериментальных термических ожогах: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.— Омск, 1975.
6. Кочетыгов Г. А. Практическое руководство по энзимологии.— М., 1980.
7. Лифшиц Р. И., Сашенков С. Л., Вальдман Б. М. и др. // Бюл. exper. биол.— 1988.— № 12.— С. 666—668.
8. Лифшиц Р. И., Вальдман Б. М., Волчегорский И. А.,

Пужевский А. С. // Там же.— 1986.— № 3.— С. 280—282.

9. Туликова З. А., Осипович В. К. // Всп. мед. химии.— 1990.— № 3.— С. 24—26.
10. Чарная Л. Ф. Исследование биологической активности пептидов крови в норме и в периоде ранней ожоговой токсемии: Дис. ... канд. мед. наук.— Челябинск, 1978.
11. Щербак И. Г., Никандров Н. Н., Фаенкова В. П., Курпиченко Л. Н. // Всп. мед. химии.— 1987.— № 5.— С. 115—119.
12. Barrett A. J., Kirschke H. // Meth. Enzymol.— 1981.— Vol. 80.— P. 535—561.
13. Kirschke H., Wiederanders B. Methode zur Aktivitätsbestimmung von Proteinasen.— Halle, 1984.
14. Odessey R. // Metabolism.— 1986.— Vol. 35.— P. 750—757.
15. Umana R. // Arch. Biochem.— 1967.— Vol. 119.— P. 526—535.

Поступила 30.10.90

EFFECT OF MEDIAN MOLECULAR-WEIGHT PEPTIDES ISOLATED FROM BLOOD OF INTACT DOGS AND OF THOSE WITH BURNS ON THE RATE OF PROTEOLYSIS IN TISSUES OF MOUSE

B. M. Valdman, V. P. Pushkurev, N. A. Skobeleva, R. I. Lifshits

Medical Institute, Chelyabinsk

The median molecular-weight peptides (MMP), detected in blood of patients with burns and in that of experimental animals with burns, were shown to affect various systems *in vivo*. The MMP from the blood of intact dogs and of the animals with burns exhibited the modifying effect on proteolysis within acid and neutral pH ranges in liver and brain tissues of mouse. The MMP appears to be involved in the regulation of proteolysis both in normal state and in burns.

СОДЕРЖАНИЕ

Оригинальные статьи

- Максименко А. В., Безрукавникова Л. М., Григорьева Е. Л., Тищенко Е. Г., Архипова О. Г., Яглов В. В., Торчилин В. П. Антифиброзное действие модифицированных форм каталазы и супероксиддисмутазы при экспериментальном силикозе 4
- Ляпков Б. Г., Киселева Т. В. Молекулярные типы триацилглицеринов женского молока на различных стадиях лактации 8
- Лопина Н. П., Быковская Н. Г., Каргаполов А. В., Анискин В. В., Ястребов Г. Н. Исследование динамики содержания фосфатидилинозита у больных с инфарктом миокарда 10
- Пархомец В. П., Чопик Н. Г., Васильева И. Г. Изменение содержания жирных кислот в полушариях большого мозга кроликов в динамике экспериментального сотрясения 11
- Глоба А. Г., Зайцева Н. В., Тепляков В. Г., Карелин А. А. Образование плазмамембранного сигнального АТФ активированными нейтрофилами и макрофагами: связь с продукцией супероксида и состоянием рецепторов к формилпептидам 13
- Матвеев С. Б., Марченко В. В., Голиков П. П. Влияние α-токоферола на перекисное окисление липидов в печени при острой кровопотере 18
- Карагодина З. В., Корф И. И., Львович Н. А., Аббакумов А. С., Погозьева А. В., Левачев М. М. Перекисное окисление липидов при использовании в лечении гипертонии и ишемической болезни сердца полиненасыщенных жирных кислот семейства ω³ 20

CONTENTS

Original Papers

- Maximenko, A. V., Bezrukavnikova, L. M., Grigoryeva, E. L., Tischenko, E. G., Arkhipova, O. G., Yaglov, V. V., Torchilin, V. P. Antifibrous effects of native and modified forms of catalase and superoxide dismutase in experimental silicosis 4
- Lyapkov, B. G., Kiseleva, T. V. Molecular types of triacylglycerols in women milk in various periods of lactation 8
- Lopina, N. P., Bykovskaya, N. G., Kargapolov, A. V., Anikin, V. V., Yastrebov, G. N. Changes of phosphatidylinositol content in patients with myocardial infarction 10
- Parkhometz, V. P., Chopik, N. G., Vasilyeva, I. G. Alterations in content of fatty acids in rabbit brain hemispheres in dynamics of experimental brain concussion 11
- Globa, A. G., Zaitseva, N. V., Teplyakov, V. G., Karelin, A. A. Formation of plasma membrane signal ATP with activated neutrophils and macrophages: relationship between superoxide production and the state of formyl-peptide receptors 13
- Matveev, S. B., Marchenko, V. V., Golikov, P. P. Effect of α-tocopherol on lipid peroxidation in liver tissue in acute blood loss 18
- Karagodina, Z. V., Korf, I. I., Lvovich, N. A., Abbakumov, A. S., Pogozheva, A. V., Levachev, M. M. Lipid peroxidation in treatment of hypertension and ischemic heart disease with polyunsaturated fatty acids of ω₃ species 20