In this work the author presented study of peptide complex of kidneys on the processes of secretion and reabsorption in this organ during the action of the verospiron under conditions of a spontaneous diuresis. The study kidneys functions of kidneys was corriedout on 24 white rats of the Vistar line. The injection of the peptide complex of kidneys noticeably has influenced upon removing a sodium from the organism to the account of reducing an excretory factions a sodium. These processes occur on the background of reduction of separation a potassium and chlorides. In studies was observed increasing an экскреции phosphorus and nitrogen containinig materials.

Ukrainian Ministry of the Health Public Service
Ukrainian Medical Stomatological Academy
Shevchenko Str., 23, 314021, Poltava

Матеріал надійшов до редакції 13/I/99/

© Запорожець Т.М., Боброва Н.О., Кайдашев І.П.

УДК 612.112: 612. 111. 11]-092. 9

ЗМІНИ ЕКСПРЕСІЇ МАННОЗОВМІЩУЮЧИХ МЕМБРАННИХ СТРУКТУР ЛЕЙКОЦИТІВ ПІД ВПЛИВОМ ПЕПТИДНОГО КОМПЛЕКСУ ГЕМОГЛОБІНУ У ЗДОРОВИХ ТВАРИН ТА ЗА УМОВ ГЕМОЛІТИЧНОЇ АНЕМІЇ

Запорожець Т.М., Боброва Н.О., Кайдашев І.П.

Українська медична стоматологічна академія, м.Полтава

В останній час встановлено, що більшості низькомолекулярних пептидних речовин властиво впливати на імунітет, посилювати процеси антитілоутворення, збільшувати експресію рецепторів на Т- і В-лімфоцитах [7]. Виражену неспецифічну дію мають поліпептиди вилучені з простати, нирок, легень, еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів, тканин пародонта, сім'яників [3].

Відкритим залишається питання про механізми взаємодії регуляторних пептидів з рецепторними білками клітинної поверхні клітин, наприклад лейкоцитів. Дослідження вуглеводних рецепторів лейкоцитів, вивчення динаміки їх переміщення і обміна в клітині стало можливим завдяки використанню лектинів, як специфічних міток [5]. В основі використання лектинів для дослідження рецепторного апарату клітин лежить феномен зворотної взаємодії лектинів з вуглеводами [9]. Вуглеводна специфічність лектинів дозволила використовувати їх в якості детекторів певних вуглеводних груп на поверхні цитомембран. Таким чином, взаємодія лектинів з мембранними рецепторами лімфоцитів є зручним методом дослідження регуляторних механізмів клітинної мембрани.

Для вивчення експресії вуглеводних залишків рецепторних білків на мембранах лімфоцитів та нейтрофілів нами був використаний конканавалін А, який має специфічність до α-D- маннози [8]. В попередніх дослідженнях нами показано, що експресія таких мембранних структур чутливо реагує на зміну функціонального стану лейкоцитів [I]. В даній роботі ми вивчили вплив пептидного комплексу гемоглобіну на експресію маннозовміщуючих мембранних структур (МВМС) лейкоцитів у здорових тварин та при дії гемолітичної отрути – фенілгідразину сірчанокислого (ФГС).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

В дослідах використовували статевозрілих щурів лінії Вістар масою 130-160 г. Тварини були розподілені на дві серії. В першій серії здоровим тваринам внутрішньом'язово вводили пептидний комплекс в дозах 0,1 мг/кг, 1 мг/кг, 10 мг/кг на протязі 10 днів. Вибрані нами дози пептиду для внутрішньом'язового введення відповідали поліпептидним речовинам, які попередньо вивчались ЦНДЛ УМСА М.Полтава..

Отримані результати порівнювали з показниками контрольних тварин, яким вводили внутрішньом'язово 0,2 мл фізіологічного розчину. В другій серії була відтворена гостра форма гемолітичної анемії шляхом трикратного, через добу, підшкірного введення 2 % водного розчину ФГС (0,25 мл/100 г). Контрольній групі тварин вводили 0,9%

апірогенний розчин натрія хлорида, дослідній групі – пептидний комплекс гемоглобіну в дозі 1 мг/кг на протязі 5 діб до введення токсину і потім 5 діб паралельно з введенням ФГС.

Для виявлення МВМС лейкоцитів ми використовували непрямий лектин-пероксидазний метод [4]. Кров тварин стабілізували гепарином, потім інкубували у вологій камері на протязі 2 годин. Після відмивання в забуференому ізотонічному розчині на фіксовані препарати з клітинами наносили конканавалін А в дозі 30 мг/мл, який мав вуглеводну специфічність до моносахариду D-маанози, та продовжували інкубацію 30 хвилин. В якості маркера Кон-А використовували пероксидазу хріна («Reanal», Угорщина). Після інкубації активність пероксидази виявляли за допомогою реакції з 3,3-діамінобензидіна тетрагідрохлоридом («Chemapol», Чехія). Ядра дофарбовували в розчині сафраніну. Ступень експресії МВМС оцінювали за допомогою середнього цитохімічного коефіцієнту для лімфцитів та нейтрофілів окремо. Статистичну оцінку результатів проводили, використовуючи критерій Ст'юдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як показали дослідження, введення пептидного комплексу гемоглобіну здоровим тваринам в мінімальній дозі (0,1 мг/кг) викликало вірогідне зниження ступеню експресії МВМС лімфоцитів та нейтрофілів (табл.1).

Таблиця 1.

Експресія маннозовміщуючих мембранних структур лейкоцитів у здорових тварин при введенні пептидних фрагментів гемоглобіна

Показники, що вивчалися	Стат. показники	Контроль з фізіол. розчином n=10	Тварини, яким вводили пептидні фрагменти гемоглобіну		
			в/м 0,1 мг/кг n=10	в/м 1мг/кг n=10	в/м 10 мг/кг n=10
Експресія	M	1,53	0,60	1,21	0,67
манозовміщуючих	±m	0,09	0,04	0,11	0,12
мембранних структур	p1		p<0,05	p>0,05	p<0,05
лімфоцитів, СЦК	p2			P<0,05	p>0,05
	p3				p>0,05
Експресія	M	2,19	1,32	1,48	1,96
манозовміщуючих	±m	0,02	0,01	0,14	0,24
мембранних структур	p1		p<0,05	p<0,05	p>0,05
нейтрофілів, СЦК	p2			p>0,05	p>0,05
	p3				p>0,05

Середня доза (1 мг/кг) знижувала експресію конканавалін-А реагуючих структур тільки нейтрофілів, тоді як максимальна доза препарату (10 мг/кг) зменшувала кількість місць зв'язування для Кон -А лімфоцитів.

Таблиця 2.

Вплив пептидних фрагментів гемоглобіну на експресію маннозовміщуючих мембранних структур лейкоцитів за умов фенілгідразинової анемії

Показники, що вивчалися	Стат.показники	Інтактні тварини n=10	Контрольні тварини в/м фіз. розчин 11-10	Дослідні тварини в/м пептид 1 мг/кг n=10
Експресія	M	0,75	0,32	0,19
манозовміщуючих	±m	0,04	0,02	0,04
мембранних структур	p1		p<0,05	p<0,05
лімфоцитів, СЦК	p2			p<0,05
Експресія	M	1,05	0,79	0,42
манозовміщуючих	±m	0,06	0,03	0,03
мембранних структур	p1		p>0,05	p<0,05
нейтрофілів, СЦК	p2			p<0,05

Враховуючи здатність пептидних фрагментів гемоглобіну впливати на рівень експресії маннозовміщуючих рецепторів, нами був вивчений стан МВМС лейкоцитів у тварин після введення пептидного комплексу на фоні перебігу гемолітичної анемії. Відомо, що фенілгідразинова анемія, приводить до гемічної гіпоксії. В той же час фенілгідразин сприяє утворенню супероксидних радикалів, які посилюють процеси перекисного окислення мембран еритроцитів [2]. Джерелом вільних радикалів також можуть бути активовані антитілами нейтрофіли і макрофаги [6]. В свою чергу вільні радикали приймають участь в окислювальній денатурації білків, блокуючи сульфгідрильні групи, гальмуючи генерацію НАДН і НАДФН [2]. Отже порушення структури і молекулярної організації білків мембрани приводить до передчасної деструкції клітини.

Як свідчать дані таблиці 2, після введення фенілгідразину, у контрольних тварин спостерігалось вірогідне зниження кількості місць зв'язування для конканаваліна А лімфоцитів та нейтрофілів. Привертає увагу той ефект, що лімфоцити і нейтрофіли відповідали на стимули ідентично. Застосування пептидного комплексу гемоглобіну у дослідних тварин приводило до зниження експресії МВМС лейкоцитів і нейтрофілів на 59,0% та 53,0% відповідно.

Таким чином, при введенні пептидного комплексу гемоглобіну здоровим тваринам, відмічені дозозалежні зміни експресії мембранних структур лімфоцитів та нейтрофілів, що містять залишки D-маннози. Введення гемолітичного токсину приводило до зменшення кількості рецепторів до лектина на поверхні лейкоцитів та нейтрофілів. На цьому фоні поліпептидний комплекс гемоглобіну зменшував кількість місць зв'язування для конканаваліна – А.

ЛІТЕРАТУРА

1. Боброва Н.А., Кайдашев И.П. Влияние некоторых медиаторов на экспрессию маннозосодержащих структур мембран лейкоцитов in vitro // Иммунология. – 1998. – №1. – С.13-14.
2. Дударев В.П. О некоторых компенсаторних реакциях системы крови при фенилгидразиновой анемии в условиях равнины и среднегорья // Физиол. журн. – 1988.– №2. – С.67-74.
3. Кузник Б.И., Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Цитомедины и их роль в регуляции физиологических функций // Успехи современной биологии. – 1995. – т.115, вып.3. – С.353-364.
4. Луцик А.Д., Детюк Е.С., Луцик Д.М. Лектины в гистохимии // Львовский университет, 1989. – С.27-31.
5. Луцик М.Д., Панасюк Е.Н., Луцик А.Д. Лектины // Львов: Львовский университет, 1981. – С.63-67.
6. Молчанова Т.П. Основы молекулярной организации белков мембраны зритроцитов и их дефекты, приводящие к гемолитическим аномалиям // Гемотология и трансфузиология. – 1989. – №7. – С.32-41.
7. Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Пептидные биорегуляторы (25-летиий опыт экспериментального и клинического изучения). – СПб, 1996. – 71с.
8. Krupe M.Blugruppespezifische pflanzliche Fiweiskorper (Phytoagglutinine). V.Enke, Stutgart, 1956. – 132s.
9. Nicolson G. The interation of lectins with animal and cell surfaces // Int. Rev. Cytol. – 1974. v. 39. – p.89-19.

SUMMARY

THE CHANGE OF MANOZOCONTAINING EXPRESSION OF LEUCOCYTE MEMBRANE STRUCTURES AT THE INJECTION OF THE HEMOGLOBIN PEPTIDE COMPLEX IN HEALTHY ANIMALS AND IN THE CONDITIONS OFHEMOLITIC ANEMIA

Zaporozhets T.N., Bobrova N.A., Kaidashev I.P.

The influenece of hemoglobin peptide fragments on the carbo-hydrate remains expreession of receptors proteins an leucocytes and neutrophiles membranes with the usage ofConcanavalinum-A has been studied.

While injecting the hemoglobin peptide complex to healthy animals dose depending changes of leucocyte and neutrophile membrane structure expression have been noticed, they containing the remains of D-mannoza. The introduction of hemolitic toxine effected in the reseptor number decrease to lectyn on the leucocytes and neutrophiles surfase. At this background the hemoglobin polypeptide complex decreased the number of connection places for Concanavalinum-A.

Ukrainian Ministry of the Health Public Service
Ukrainian Medical Stomatological Academy
Shevchenko Str., 23, 314021, Poltava

Матеріал надійшов до редакції 13/I/99.