

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УКРАИНЫ
КРЫМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМ С. И. ГЕОРГИЕВСКОГО

**Проблемы, достижения и
перспективы развития медико-
биологических наук и
практического здравоохранения**

ТРУДЫ КРЫМСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА
ИМ. С. И. ГЕОРГИЕВСКОГО

Посвящается 70-летию КГМУ

2001, ТОМ 137, ЧАСТЬ 3

Издается с 1935 г.

Симферополь

Издательский центр КГМУ

2001

with simple form of haemangioma removed by modulated ray of CO₂-laser. The using of method laser

retraction let existantly decrease the area of postoperative wound and diminish the period of curing.

УДК: 612.111.11/.13.001.6:615.55

ЕФЕКТИ КОМПЛЕКСУ ПЕПТИДНИХ ФРАГМЕНТІВ ГЕМОГЛОБІНУ ТА МОЖЛИВІ МЕХАНІЗМИ ВПЛИВУ НА ПРОЦЕСИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ ТА ГЕМОСТАЗ

Т. М. Запорожець

Українська медична стоматологічна академія, м.Полтава

ВСТУП

Новим шляхом вирішення проблеми біологічної регуляції функцій організму є створення лікарських засобів на основі ендогенних фізіологічно активних речовин, що утворюються в організмі. Серед них важливе значення надається поліпептидним біорегуляторам, що здійснюють перенос інформації, необхідної для нормального функціонування, розвитку і взаємодії клітинних популяцій [4]. В останній час велика увага приділяється коротким (менш 20 амінокислотних залишків) біологічно активним пептидам, які утворюються внаслідок фрагментації гемоглобіну [2]. Збільшення вмісту окремих пептидних компонентів гемоглобіну виявлено у онкологічних хворих, що супроводжується порушенням процесу протеолізу [6]. Роль пептидних фрагментів гемоглобіну в розвитку патології поки що невідома, але припускається, що вона може бути пов'язана з порушенням медіаторної регуляції міжклітинних взаємодій [3]. Фізіологічна роль та ефекти пептидних фрагментів гемоглобіну потребують досліджень.

Метою дослідження стало вивчення впливу пептидного комплексу гемоглобіну на стан перекисного окислення ліпідів та гемостаз після введення здоровим тваринам.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження проведено на 40 мурчаках масою 380-420 г, поділених на чотири групи. Перша група – контрольні тварини (10), яким вводили внутрішньом'язово 0,2 мл фізіологічного розчину на протязі 7 днів. Відповідно – другій (10 тварин), третій (10 тварин) і четвертій (10 тварин) групам тварин вводили комплекс пептидних фрагментів гемоглобіну в дозах 0,1 мг/кг, 1 мг/кг, 10 мг/кг на протязі 7 днів. Кров тварин під гексеналовим наркозом забирали з правого шлуночка в пластиковий шприц, який містив 3,8% розчин цитрату натрію в співвідношенні

9:1.

Комплекс пептидних фрагментів гемоглобіну отримували за власною методикою шляхом ферментативного гідролізу гемоглобіну. Екстракцію гідролізату проводили органічною галогенвміщуючою кислотою в присутності катіонів цинку та магнію з наступною очисткою шляхом гельфільтрації для вилучення пептидів з молекулярною масою менше 10 кД. Препарат давав позитивну біуретову реакцію з максимумом спектра поглинання в УФ-області (200-210 нм).

Після останнього введення препарату у тварин вивчали показники, що характеризують перекисне окислення ліпідів (ПОЛ): кінетику накопичення продуктів, які реагують з тіобарбітуровою кислотою (концентрація ТБК-активних продуктів), спонтанний гемоліз еритроцитів, активність антиоксидантних ферментів – каталази; церулоплазміну. [7]. При вивченні гемокоагуляційних властивостей плазми досліджували час рекальцифікації, протромбіновий, тромбіновий, вміст антитромбіну III. [1]. Отриманий цифровий матеріал був статистично оброблений з використанням коефіцієнта Ст'юдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Як інтегральний показник, який відображає інтенсивність понадмембранних транспортних процесів, було обрано рівень вільнорадикального окислення.

У ході вивчення стану ПОЛ при введенні різних доз поліпептидного комплексу виявлено зміни, які мали дозозалежний характер (таблиця 1). У тварин, які одержували внутрішньом'язово пептидний комплекс гемоглобіну в дозі 1 мг/кг та 10 мг/кг, порівняно з контролем, були підвищені показники спонтанного гемолізу еритроцитів у 2,1 рази та 3,4 рази ($P < 0,01$), активність каталази в еритроцитах у 1,5

рази та 1,3 рази ($P<0,01$) відповідно. Введення дози 10 мг/кг збільшувало вихідну концентрацію ТБК-реагуючих оксосполук (продуктів пероксидації) крові в 1,6 рази ($P<0,01$), а приріст МДА за 1,5 години інкубації у 2,3 рази ($P<0,01$). В плазмі крові відмічено підвищений рівень церулоплазміну при введенні всіх доз пептидного комплексу. Введення пептидних комплексів, що отримані ферментативним гідролізом

гемоглобіну в дозі 1 мг/кг сприяло зростанню фагоцитарного індексу на 48% ($P<0,01$), та зниженню індексу стимуляції в НСТ-тесті при введенні усіх доз пептидного комплексу.

Враховуючи, що процеси ПОЛ мають міцні функціональні зв'язки з системою зсідання крові [5] нами проаналізовані показники коагуляційного гемостазу (таблиця 2).

Таблиця 1

Показники перекисного окислення ліпідів в крові здорових тварин після введення комплексу пептидних фрагментів гемоглобіну через 7 діб

Показники, що вивчалися	Стат.-показники	Контроль з фізіологічним розчином	Доза комплексу Пептидних фрагментів гемоглобіну		
			0,1 мг/кг	1 мг/кг	10 мг/кг
СГЕ, %	$M \pm m$	7.69 ± 0.55	8.24 ± 0.57	$16.16 \pm 1.50^*$	$26.11 \pm 0.43^{**}$
Концентрація ТБК-активних продуктів, мкмоль/л	$M \pm m$	14.56 ± 0.87	17.19 ± 0.90	18.14 ± 2.52	$21.89 \pm 0.56^{**}$
Концентрація ТБК-активних продуктів після 1,5 годин інкубації	$M \pm m$	17.43 ± 1.03	$21.31 \pm 1.04^*$	22.48 ± 3.17	$28.60 \pm 0.57^{**}$
Накопичення МДА за час інкубації, %	$M \pm m$	2.87 ± 0.37	4.12 ± 0.86	4.37 ± 0.82	$6.71 \pm 0.16^*$
Активність каталази, індекс	$M \pm m$	1.28 ± 0.08	1.13 ± 0.02	$1.87 \pm 0.01^*$	$1.63 \pm 0.05^*$
Концентрація церулоплазміну, мг/л	$M \pm m$	201.60 ± 12.33	259.52 ± 25.75	272.55 ± 8.51	259.73 ± 14.10

Примітка: в цій та інших таблицях: * - $P<0,05$, ** - $P<0<01$. Достовірність відмінностей показників між контрольними та дослідними тваринами

Таблиця 2

Показники зсідання крові здорових тварин після введення комплексу пептидних фрагментів гемоглобіну через 7 діб

Показники, що вивчалися	Стат. показники	Контроль з фізіологічним розчином	Доза комплексу Пептидних фрагментів гемоглобіну		
			0,1 мг/кг	1 мг/кг	10 мг/кг
Час рекальцифікації, с	$M \pm m$	53.20 ± 1.85	56.40 ± 2.48	$67.00 \pm 1.10^*$	56.80 ± 3.37
Час тромбіновий, с	$M \pm m$	21.60 ± 0.68	23.20 ± 1.85	$31.00 \pm 1.00^*$	22.00 ± 2.00
Час протромбіновий, с	$M \pm m$	22.60 ± 0.51	19.00 ± 1.92	21.00 ± 1.61	20.40 ± 2.54
Антитромбін-111, %	$M \pm m$	24.0 ± 0.41	22.00 ± 2.92	$31.00 \pm 1.31^*$	25.20 ± 2.66

Як ілюструє таблиця, в крові щурів, які одержували поліпептид в дозі 1 мг/кг, спостерігалась гіпокоагуляція (подовження часу рекальцифікації у 1,2 рази ($P < 0,05$), тромбінового часу у 1,3 рази, ($P < 0,05$), та зростання вмісту антитромбіну III у 1,3 рази ($P < 0,01$) порівняно з контролем. Інші дози препарату не викликали вірогідних змін показників коагуляційного гемостазу.

ВИСНОВКИ

Таким чином, пептидному комплексу, отриманному шляхом ферментативного гідролізу гемоглобіну, притаманна неспецифічна дія на систему вільнорадикального окислення, що проявлялось в підвищенні спонтанного гемолізу еритроцитів, підвищенні рівня ТБК-активних продуктів до та після 1,5-годинної інкубації еритроцитів. Ці зміни ставали більш вираженими при збільшенні дози поліпептиду. В плазмі відмічено зростання концентрації головного антиоксиданту плазми церулоплазміну незалежно від введеної дози пептидного комплексу. Що до аналізу показників зсідання крові, то можна відзначити розвиток гіпокоагуляції при введенні пептиду в дозі 1 мг/кг. Слід відмітити, що модулюючий вплив комплексу пептидних фрагментів гемоглобіну на систему перекисного окислення ліпідів та гемостаз споріднює їх з цитомединами – пептидними регуляторами, які складаються з декількох амінокислот і мають порівняно невелику молекулярну вагу [4].

Подальше вивчення фізіологічної ролі пептидних фрагментів гемоглобіну надасть можливість розробити нові підходи до терапії патологічних станів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Балуда В.П., Баркаган З.С., Гольдберг Е.Д. и соавт. Лабораторные методы исследования системы гемостаза. – Томск, ТМИ.-1980.-312 с.
2. Гомазков О.А. Физиологически активные пептиды. Справочное руководство. Москва:ИПГМ, 1995.-142с.
3. Запорожець Т.М. Вплив пептидних фрагментів гемоглобіну на стан показників імунітету та експресію маннозо-вміщуючих мембранних структур лейкоцитів //Проблеми екології та медицини.-1997.-№1-2.-С.38-40.
4. Кузник Б.И., Морозов В.Г.,Хавинсон В.Х. Цитомедины.-СПб, Наука,1998- 304 С.
5. Лобань Г.А. Роль перекисного окисления липидов в регуляции агрегатного состояния крови. Автореф дис. док. Мед. наук.- Харьков, 1992.- 33с.
6. Пивнык А.В., Моисеева Т.Н., Карпова И.Б.

Изменение внутриэритроцитарного протеолиза гемоглобина при онкологических заболеваниях//Гематол. и трансфузиол.-2000, Т.45,-№4.-С.14-18.

7. Посібник з експериментально-клінічних досліджень в біології та медицині //І.П.Кайдашев, О.В.Катрушов, Л.В.Беркало та ін.-Полтава, 1997. - 271 с.

РЕЗЮМЕ

Эффекты комплекса пептидных фрагментов гемоглобина и возможные механизмы его действия на процессы перекисного окисления липидов и гемостаз

Т. Н. Запорожец

Статья посвящена исследованию влияния пептидного комплекса гемоглобина на процессы перекисного окисления липидов и гемостаз после введения здоровым морским свинкам. Комплекс пептидных фрагментов гемоглобина повышал уровень свободнорадикального окисления и увеличивал антиоксидантную активность крови. Введение его в дозе 1 мг/кг массы тела оказывало гипokoагуляционное действие. Дальнейшее выявление физиологической роли пептидных фрагментов гемоглобина позволит разработать новые подходы к терапии патологических состояний.

SUMMARY

The haemoglobin fragments peptide complex effects and possible mechanisms of its action on the peroxidative lipid oxidation and hemostasis

T. N. Zaporozhets

The clause is devoted to the haemoglobin peptide complex influence research on the peroxidative lipid oxidation processes and haemostasis after introduction to healthy guinea pigs. The haemoglobin fragments peptide complex raised a free-radical oxidation level and increased the antioxidative activity of blood. Its introduction in a dose of 1 mg/kg of a body weight rendered the hypocoagulative action. The continuous detecting of the haemoglobin peptide fragments physiological role allow to identify the new methods deal with the pathological disturbances therapy.

Key words: haemoglobin peptide complex, peroxidative lipid oxidation, haemostasis