

# Проблеми екології та медицини

Том 1 № 1-2 1997

НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ ЖУРНАЛ

Заснований в 1997 році

Виходить 1 раз на 2 місяці

## Зміст

1. Скрипніков М.С. Слово до читача..... 4
2. Губський Ю.І. Молекулярні аспекти хімічної екології: вільнорадикальні механізми токсичної загибелі клітини..... 6
3. Цебржинский О.И. Биофизическая оценка возможности синтеза фторорганических соединений в организме млекопитающих..... 10

## I. СТАТТІ

### Проблеми біорегуляції

1. Кайдашев И.П., Катрушов А.В. Методические подходы к проведению скрининга биологической активности пептидных веществ..... 12
2. Звягольська І.М. Вплив пептидних комплексів серця та еритроцитів на гемостатичні показники щурів в умовах гострого емоційно-больового стресу..... 17
3. Фисун Ю.А., Грицай Н.Н., Катрушов А.В., Кайдашев И.П., Павленко В.Ф. Экспериментальная терапия хронической недостаточности мозгового кровообращения некоторыми биологически активными пептидами..... 20
4. Гейко О.А., Кайдашев И.П. Изучение терапевтической активности синтетических пептидов - аналогов естественного пептидного комплекса почек на некоторые показатели гомеостаза у хомяков при аутоиммунном нефрите..... 24
5. Боброва Н.А., Куценко Л.А. Пептидергическая регуляция экспрессии маннозо-содержащих мембранных структур лейкоцитов при экспериментальном инфаркте миокарда..... 27
6. Гаркович О.Л. Вплив пептидного комплексу печінки, на метаболізм цього органу в умовах дії гемолітичної отрути..... 29
7. Веснина Л.Э. Изменение экспрессии мембранных рецепторов лимфоцитов под влия-

21. Desiderate O., MacKinnon J.R. Development of gastric ulcerous in rats following stress termination //J. Camp. Physiol. Psychol. - 1974. - V. 87. - P. 208-14.
22. Gryglewski R.J. The role of oxygen free radicals in the destruction factor //Agents and Actions. - 1987. - V. 22, v 3. - P. 351-352.
23. Janusz M. Immunomodulatory peptydowel //Post. Hig. i Med. Dosw. - 1988. - 42, v 2. - P. 173-197.
24. Wharton J., Gulbenkian S. Peptides in the mammalian cardiovascular system //Experientia. - 1987. - 43, v 7. - P. 821 - 832.

## CORRECTION OF LIPID-PEROXIDATION BY PEPTIDE EXTRACTS OF A HEAD BRAIN AND HEART IN CONDITIONS OF STRESS

I.N. Zvyagolskaya, A.V. Katrushov

In experiences on rats-male of a line Vistar is revealed, that with sharp emotionally-pains stress expectatios 6the preliminary introduction of peptide extracts from of a head brain and heart renders correctional effect on processes of lipid-peroxidation and functional condition oi antioxidant system of protection in same bodies and blood.

Ministry Public Health of Ukraine

Ukrainian Medical Stomatological Academy

314024, Shevchenko str. 23, Poltava, Ukraine

*Матеріал надійшов до редакції 29/VIII/1997*

© Запорожець Т.М.

УДК:612.112+ 612.017.1]:547.964.4

# ВПЛИВ ПЕПТИДНИХ ФРАГМЕНТІВ ГЕМОГЛОБІНУ НА СТАН ПОКАЗНИКІВ ІМУНІТЕТУ ТА ЕКСПРЕСІЮ МАННОЗО-ВМІЩУЮЧИХ МЕМБРАННИХ СТРУКТУР ЛЕЙКОЦИТІВ

*Запорожець Т.М.*

Українська медична стоматологічна академія, м.Полтава

Регуляторні поліпептиди привертають увагу науковців всього світу, як новий клас біологічно активних речовин. Сьогодні широко обговорюється гіпотеза універсальності біологічно активних пептидів і наявність в них загального попередника[5].

Роботами ЦНДЛ Української медичної стоматологічної академії ( м.Полтава ) показано, що пептиди, які знаходяться в структурних формуваннях пептидів'язуючих білків молекул головного комплексу гістосумісності ( ГКГС), беруть участь в міжклітинній регуляції і впливають на процеси метаболізму тканин, виявляють імунні ефекти.

Тому пошук і створення нових лікарських препаратів на основі дослідження природно існуючих пептидних біорегуляторів і стало нашим завданням. Так, на базі ЦНДЛ Української медичної стоматологічної академії, разом з завідуючим лабораторією І.П.Кайдашевим були вилучені пептидні фрагменти гемоглобіну, біологічно активні фрагменти якого притаманні поліпептидним екстрактам паренхіматозних органів [3].

В даній роботі ми зробили спробу дослідити вплив пептидних фрагментів гемоглобіну на стан показників імунітету та експресію маннозо-вміщуючих мембранних структур (МВМС) лейкоцитів.

## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Пептидні фрагменти гемоглобіну отримували після пепсинового дайджесту з наступною очисткою.

З метою оцінки впливу пептидних фрагментів гемоглобіну на стан показників імунітету та експресію маннозо-вміщуючих мембранних структур лейкоцитів в кров донорів вносили пептидний екстракт в дозах 10, 25 та 50мкг/мл. В контрольну серію вносили 0,3 мл фізіологічного розчину. Кров у людей брали для дослідження зранку натщесерце, та потім стабілізували гепаріном ("Reanal", Угорщина).

Для оцінки імунного статусу використовували загальноновизнані імунологічні методи: тест відновлення нітросинього тетразолія (НСТ-тест) [7], фагоцитоз [8], підрахунок Е-РУК (розеткоутворюючі клітини) і М-РУК, Т-хелперів (теофілін резистентних клітин), Т-супресорів (теофілін чутливих клітин) та О-клітин [4].



Таблиця 1 Вплив пептидних фрагментів гемоглобіну на показники імунограми в дослідгах in vitro для виборок, що зв'язані по парам

Показники		Контроль	Доза пептида 10мкг/мл	Доза пептида 25мкг/мл	Доза пептида 50мкг/мл
Е-РУК, %	M±m p p1 p2	57,0±1,31	60,67±4,63 > 0,05	56,0±1,56 >0,05 >0,05	56,3±2,98 >0,05 >0,05 >0,05
М-РУК, %	M±m p p1 p2	25,67±1,91	28,17±0,83 <0,05	35,17±0,96 <0,05 <0,01	32,67±2,52 <0,05 <0,05 <0,05
Теофілін, резистентні клітини, %	M±m p p1 p2	40,67±4,61	45,33±6,97 <0,05	46,33±3,63 <0,05 >0,05	51,67±4,20 <0,01 <0,05 <0,05
Теофілін, чутливі клітини, %	M±m p p1 p2	8,0±2,16	10,0±3,37 >0,05	24,33±4,23 <0,01 <0,01	12,67±4,13 >0,05 >0,05 <0,01
О-клітини, %	M±m p p1 p2	24,0±4,85	22,83±8,37 >0,05	29,33±7,79 <0,05 <0,05	15,33±6,89 <0,05 <0,05 <0,01
Кількість нейтрофільних розеток (на 100 лейкоцитів)	M±m p p1 p2	40,30±2,47	32,00±2,58 <0,05	30,32±2,80 <0,05 >0,05	23,67±1,45 <0,01 <0,05 <0,05
Фагоцитарний індекс, %	M±m p p1 p2	67,57±7,80	65,75±7,56 >0,05	69,28±6,74 >0,05 >0,21	72,85± 5,84 >0,05 <0,05 >0,05
НСТ-тест, (індекс стимуляції)	M±m p p1 p2	1,97±0,31	1,09±0,22 >0,05	1,2±0,23 >0,05 >0,05	1,06±0,1 >0,05 >0,05 >0,05

Підрахунок нетрофільних розеток проводили на 100 лейкоцитів за методикою Д.И.Бельченко (1992) [1].

Для виявлення МВМС лейкоцитів нами був застосований непрямий лектин-пероксидазний метод [6]. Ступінь експресії МВМС оцінювали за допомогою середнього цитохімічного коефіцієнту для лейкоцитів та нейтрофілів.

Результати дослідів обробляли методом варіаційної статистики з використанням коефіцієнту Стьюдента для виборок, що зв'язані по парам [2].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як показали дослідження після 40 хвилин інкубації крові з поліпептидним препаратом гемоглобіну в різних дозах показники активності нейтрофілів та стану клітинного імунітету суттєво відрізнялись від показників контролю (табл. 1).

Після внесення пептидних фрагментів гемоглобіну в мінімальній дозі (10 мкг/мл) вірогідно зростав відсоток М-РУК і теофілін резистентних клітин. Одночасно, спостерігали зменшення адгезивної активності нейтрофілів, яка знижувалась порівнянно з контролем на 21% ( $p < 0,05$ ).

Додавання в донорську кров поліпептидного комплексу в дозі 25 мкг/мл викликало підвищення відсотку М-РУК, збільшувало кількість теофілін резистентних, теофілін чутливих та О-клітин. Одночасно спостерігали зниження адгезивної активності нетрофілів.

Внесення поліпептидного комплексу гемоглобіну в дозі 50мкг/мл приводило до підвищення числа В-лейкоцитів та Т-хелперів, зниженню кількості О-клітин. При цьому суттєво (на 41%,  $p < 0,01$ ) знижувалась кількість нейтрофільних розеток з власними еритроцитами, але адгезивна та фагоцитарна активність нейтрофілів залишалась на рівні контролю.

Крім того, після внесення пептидного комплексу гемоглобіну в кров донорів вірогідно змінювалась

ступінь експресії МВМС лейкоцитів (табл. 2).

Мінімальна доза визивала вірогідне зниження ступеню експресії МВМС

лейкоцитів, в той же час, як максимальна і середня дози не здійснювали впливу на експресію конканавалін-А реагуючих структур. Дослідження відповіді нейтрофілів на внесення пептидних фрагментів гемоглобіну показало в цілому подібну реакцію.

Таким чином, ці дослідження показали, що вивчаний пептидний комплекс містить субстанції з вираженими імуномодулюючими властивостями, а також впливає на кількість місць зв'язування (їх зменшення) для конканаваліна -А - лектину, реагуючого з моносахаридним кінцевим залишком D-маннози.

Вивчаючи вплив пептидних біорегуляторів, ми прийшли до думки про існування системи біорегуляції, яка функціонує в організмі разом з системою пептидних гормонів, кінінов та цитомедінів. Можливо, що ця система є універсальною і на її базі функціонують різні пептиди та білки.

На користь цього положення говорить наявність в структурах біологічно активних поліпептидів печінки, нирок, селезінки фрагментів, які мають однотипні сигнатури - фрагменти гемоглобіну. [3]. Це підтверджує концепцію біохімічної універсальності, щодо однакових механізмів дії активних центрів регуляторних пептидів.

## ЛІТЕРАТУРА

- Бельченко Д.И. Внутрисосудистое резеткообразование при гемолитических анемиях // Гематол. и трансфузиол.-1992.-№4.- С.23-25.
- Иванов Ю.И.,Погорелюк О.Н. Статистическая обработка результатов медико-биологических исследований на микрокалькуляторах по программам.- М.:Медицина,1990.- 215 с.
- Кайдашев И.П. Сравнительное изучение хроматографических спектров полипептидов, экстрагированных из селезенки, печени, почек, тимуса и парадонта сви-

Таблиця 2 Вплив пептидних фрагментів гемоглобіну на експресію маннозо-вміщуючих мембранних структур лейкоцитів для виборок, що зв'язані по парам

Показники		Контроль	Доза пептида 10мкг/мл	Доза пептида 25мкг/мл	Доза пептида 50мкг/мл
Лектин конканавалін-А, (лімфоцити), СЦК	M±m p p1 p2	1,11±0,15	0,76±0,21 <0,05	1,09±0,20 >0,05 >0,05	1,11±0,06 >0,05 <0,05 > 0,05
Лектин конканавалін-А, (нейтрофіли) СЦК	M±m p p1 p2	1,39±0,07	0,98±0,11 <0,05	1,09±0,11 >0,05 >0,05	1,22±0,03 >0,05 <0,05 >0,05

- ней // Укр. биохим. журн. - 1995. - т. 67. - № 5. - С. 85-89.
4. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунограмма в клинической практике. М.: Наука, 1990. - 224 с.
5. Ломакин М.С., Арцимович Н.Г. Сравнительные аспекты структуры и функции нейропептидов низших позвоночных // Журнал эволюц. биохимии и физиологии. - 1992. - № 1. - С. 84-91.
6. Луцик А.Д., Детюк Е.С., Луцик Д.М. Лектины в гистохимии. - Львов Госуниверситет, 1989. - С. 27-31.
7. Нагоев Б.С. Модификация цитохимического метода восстановления НСТ // Лаб. дело. - 1983. - № 8. - С. 7-11.
8. Herscovitz H.B., Holden T.N., Bellanti J.A., Manual of macrophage methodology. Collection, characterization and function. Immunol. Ser. 13, Marsel Dekker, New York and Basel, 1981.

## The influence of peptide fragments of hemoglobin on the immunity indexes and expression of mannose containing membrane structures of leucocytes

Zaporozhets T.N.

It was put forward a supposition about the existance of bioregulation system active center of bioregulation system active center of which contains fragments of hemoglobin.

It was proved that peptide complex under study contains substances with the expressed immunomodelling properties and this complex influences on the number of places for linking concanavaline-A.

Ministry Public Health of Ukraine

Ukrainian Medical Stomatological Academy

314024, Shevchenko str. 23, Poltava, Ukraine

*Матеріал надійшов до редакції 18/XI/1997*