

тиамина в органах сопоставимо или даже несколько превышает используемые концентрации, а в крови концентрация тиамина в 6—10 раз ниже, чем та, которая была создана в среде. Для крови крыс активность АЛТ снижалась при добавлении ТПФ, а для крови людей ингибирующую активность проявляли ТПФ и тиохром, но по отношению к АСТ. В основе ингибирующего действия этих метаболитов тиамина лежит, вероятно, их конкуренция с ПАЛФ за присоединение к апотрансаминазам. Об этом свидетельствует полное нивелирование при наличии ТПФ и тиохрома активации трансаминаз пиридоксальфосфатом.

THE INFLUENCE OF THIAMINE AND ITS METABOLITES
ON THE ASPARTATE AND ALANINE AMINOTRANSFERASE ACTIVITY
IN THE WHITE RAT ORGANISM AND DONOR BLOOD

S. A. Petrov, E. V. Donesko

ThPP and thiochrome, being thiamine metabolites, are inhibitors of blood transaminase. Their action is evidently realized on the level of competition with PALP when these compounds attach to apotransaminases.

I. I. Mechnikov State University,
Ministry of Higher and Secondary Special Education
of the Ukrainian SSR, Odessa

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Борец В. М., Мирончак В. В., Артаева Л. П. и др. Межвитаминные отношения при ишемической болезни сердца и гипертонической болезни.— Минск: Наука и техника, 1988.—206 с.
2. Виноградов В. В. Гормональные механизмы метаболического действия тиамина.— Минск: Наука и техника, 1984.—203 с.
3. Воскобоев А. И., Черников И. П. Биосинтез, деградация и транспорт фосфорных эфиров тиамина.— Минск: Наука и техника, 1987.—200 с.
4. Колб В. Г., Камиников В. С. Справочник по клинической биохимии.— Минск: Беларусь, 1982.—366 с.
5. Мажуль А. Г., Островский Ю. М. Изучение взаимоотношений между тиамином и пиридоксином // Укр. биохим. журн.— 1972.—44, № 1.— С. 49—58.
6. Математический энциклопедический словарь // Под ред. Ю. В. Прохорова и др.— М.: Сов. энциклопедия, 1988.—847 с.
7. Петров С. А., Розанов А. Я., Тищенко Д. В. Влияние тиамина и его производных на активность ацетилхолинэстеразы мозга и крови белых мышей // Укр. биохим. журн.— 1987.—59, № 3.— С. 76—79.
8. Петров С. А., Галина М. С., Давыдова Ю. П. Влияние тиамина и его производных на активность трансаминаз гемолимфы черноморских мидий // Тез. докл. III Всесоюз. конф. по морской биологии.— Севастополь, 1988.— С. 58—59.
9. Экспериментальная витаминология / Под ред. Ю. М. Островского.— Минск: Наука и техника, 1979.—550 с.

Одес. ун-т им. И. И. Мечникова
М-ва высш. и сред. спец. образования УССР

Материал поступил в редакцию 26.05.88

УДК 616.24:577.17.322

Г. В. Глинский, И. Е. Соловьева, В. А. Березовский, В. Б. Винницкий

**Влияние пептидно-белкового связывания
на элиминацию соматостатина и эпидермального
фактора роста из кровеносного русла
тканью легкого**

Известно, что легкие захватывают из кровеносного русла, а также синтезируют и высвобождают в кровь и межклеточные пространства ряд биологически активных веществ [1, 3, 5—9]. В частности, легкие

способны синтезировать вазоактивный интестинальный пептид, бомбезин, субстанцию Р, брадикинин, ряд других соединений. Установлено, что клетки легких продуцируют по меньшей мере 10 различных регуляторных пептидов [7]. Показано, что биологическая активность пептидов модулируется образованием комплекса пептид—белок в плазме крови [4].

Как правило, биологическая активность соединения обусловлена наличием пептида в свободной форме. Изменение соотношения между белковосвязанной и свободной формами пептида в плазме крови влияет на транспорт пептидов через гематоэнцефалический барьер [2, 4]. Однако до настоящего времени вопрос о роли пептидно-белкового связывания в изменениях скорости транспорта пептидов через гемато-паренхиматозный барьер (ГПБ) не изучен.

Цель нашей работы — исследовать влияние пептидно-белкового связывания на элиминацию регуляторных пептидов из циркуляторного русла тканью легких на модели изолированного легкого.

Методика

Исследования проведены на 60 крысах-самцах массой 200—250 г. Животных наркотизировали внутрибрюшинной инъекцией раствора гексенала (15 мг/кг). В *v. jugularis* вводили 300 ЕД/кг гепарина. Выделяли трахею с последующей трахеостомией и подключением к аппарату искусственной вентиляции легких УИДЖ-1. Искусственную вентиляцию легких проводили с частотой 60 дыхательных движений в 1 мин и дыхательным объемом 3 мл. Грудную клетку вскрывали срединным разрезом. Легочную артерию и правое предсердие катетеризировали. Создавали систему изолированного легкого. Легкое перфузировали по замкнутому контуру с помощью перистальтического насоса фирмы «ЛКВ» (Швеция) в течение 12 мин со скоростью перфузата 5 мл/мин. В качестве перфузата использовали аэрированный физиологический раствор. Контроль за отеком ткани легкого осуществляли, определяя сухой остаток последней. Поскольку известно, что отек не наступал в течение 12 мин, продолжительность эксперимента не превышала этого времени. После удаления из объема циркулирующей жидкости 10 мл перфузата в изолированное легкое вводили перфузат объемом 20 мл, содержащий радиоактивно меченый пептид. В эксперименте были использованы пептиды, меченные ^{125}I (соматостатин и эпидермальный фактор роста — ЭФР фирмы «Amersham», Англия), удельной радиоактивностью 2 мКи/нмоль (соматостатин) и 136 мКи/мкг (ЭФР). В перфузат вносили $1,5\text{--}3,0 \cdot 10^{-12}$ моль ЭФР и $0,18\text{--}0,24 \cdot 10^{-12}$ моль соматостатина. Пробы перфузата отбирали через 0,5; 1,5; 2; 4; 6; 8; 10 и 12 мин. Кроме того измеряли объем и радиоактивность проб исходного и конечного перфузатов, и 100 мкл каждой пробы анализировали на счетчике фирмы «Searle» (Франция). По изменению концентрации пептида в перфузате рассчитывали его захват тканью легкого. Исходное количество пептида было принято за 100 %. Выполняли 3—6 независимых эксперимента в каждой серии опытов. В экспериментах по модификации связывания использовали гликоамины [2] и спермидин фирмы «Serva» (ФРГ) конечной концентрацией 1 ммоль/л, плазму крови контрольных крыс и крыс с карциномой Герена (конечная концентрация белка 7 мг/мл), бычий сывороточный альбумин (БСА, фирма «Serva», ФРГ) в виде 0,2 %-ного раствора и 0,9 %-ный раствор NaCl. Достоверность различий оценивали по критерию *t* Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Показано, что перфузия изолированного легкого физиологическим раствором, содержащим определенный пептид (рис. 1, а, б), приводит к резкому уменьшению его концентрации в последующих пробах в результате перехода пептида из крови в ткань легкого. При добавлении в перфузат БСА скорость этого перехода резко снижается. По результатам стабилизации процесса к 12-й минуте в обеих сериях с введением как ЭФР, так и соматостатина, при наличии альбумина, резко уменьшалась интенсивность (в 2,9 раза в первом случае и 3,7 — во втором) выхода в ткань легкого вышеуказанных пептидов (см. рис. 1, а, б). Таким образом, БСА способствует удержанию пептидов

в циркуляторном русле, вероятно, вследствие связывания пептидов с этим белком.

Для модификации образования пептидно-белкового комплекса была использована плазма крови нормальных животных и животных с экспериментальными опухолями, так как имеются данные о различном связывании в ней ряда пептидов [4]. Известно, в частности, о повышении связывания соматостатина и снижении связывания ЭФР в плазме крови животных-опухоленосителей. Представляло интерес выяснить, изменяется ли проницаемость ГПБ легкого для этого вида

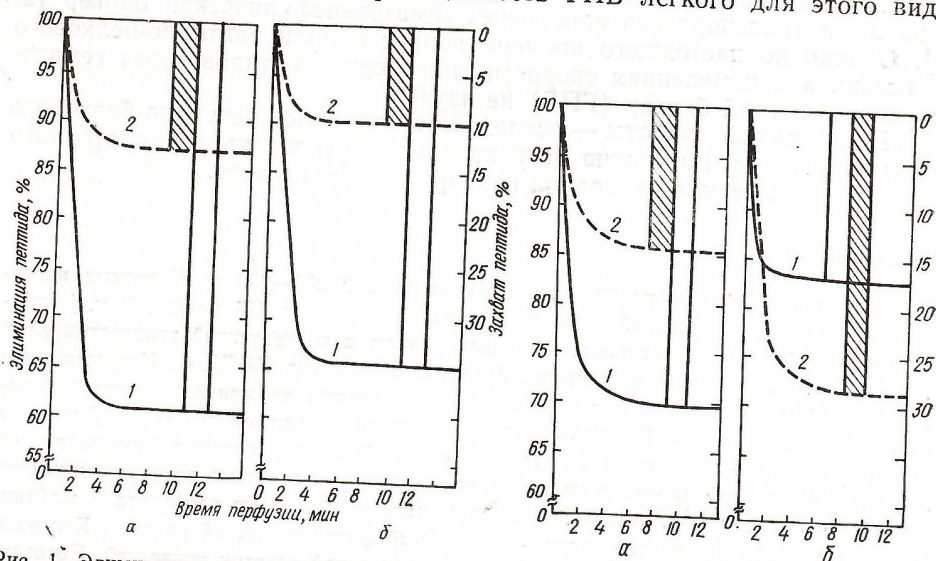


Рис. 1. Элиминация соматостатина (а) и эпидермального фактора роста (б) из циркуляторного русла без (1) и с (2) добавлением 0,2 %-ного раствора бычьего сывороточного альбумина (БСА) и захват пептидов тканью легкого из физиологического раствора (столбики без штриховки) и из физиологического раствора с добавлением 0,2 %-ного раствора БСА (заштрихованные столбики).

Рис. 2. Изменение связывания в плазме крови и захват тканью легкого из циркуляторного русла соматостатина (а) и эпидермального фактора роста (б) у контрольных животных (1, столбики без штриховки) и крыс с карциномой Герена (2, заштрихованные столбики). Обозначения осей координат те же, что на рис. 1.

биологически активных веществ в результате изменения образования комплекса пептид—белок в плазме крови. Проведенные эксперименты показали, что при добавлении в перфузат, содержащий ЭФР, плазмы крови животных с карциномой Герена происходит более интенсивный переход пептида в ткань легкого по сравнению с таковым при добавлении плазмы крови intactных животных. Если в перфузат с соматостатином добавляли плазму крови животного-опухоленосителя, происходил обратный процесс — переход пептида в ткань легкого из перфузата был снижен в 2 раза (рис. 2, а, б). Таким образом, модификация образования пептидно-белкового комплекса с помощью эндогенных факторов может способствовать изменению интенсивности перехода пептида в ткань легкого, и изменения этого перехода соответствуют изменению образования в плазме крови комплекса пептид—белок.

Добавление в перфузат экзогенных модификаторов образования пептидно-белкового комплекса (спермидин, гликоамины) показало, что они обуславливают изменение перехода регуляторных пептидов в ткань легкого. Так, если в перфузат, содержащий БСА и ЭФР, добавляли спермидин (10^{-3} моль/л), выход пептида из перфузата возрастал почти в 2 раза (рис. 3, а, б). Прибавление к физиологическому раствору, содержащему БСА и ЭФР, гликоаминов также приводило к увеличению перехода пептида в ткань легкого. Изменения перехода пептидов в ткань легкого соответствуют изменениям связывания этих пептидов, вызываемых экзогенными модификаторами.

Таким, образом, можно предположить, что образование комплекса пептид—белок оказывает влияние на переход пептидов в ткань легкого. Изменения образования этого комплекса в плазме крови могут приводить к соответствующим изменениям скорости выхода пептида

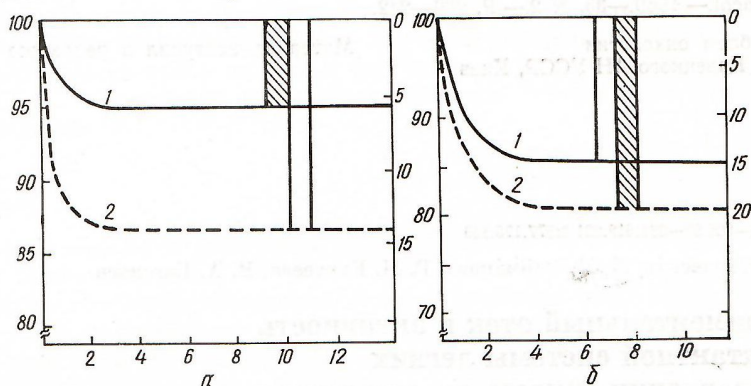


Рис. 3. Элиминация эпидермального фактора роста (ЭФР) из циркуляторного русла без (1) и с (2) добавлением модификаторов пептидно-белкового связывания спермидина (а) и гликоаминов (б) и захват ЭФР тканью легкого из физиологического раствора, содержащего 0,2 % раствора бычьего сывороточного альбумина без (заштрихованный столбик на а и незаштрихованный на б) и с (заштрихованный столбик на а и незаштрихованный на б) добавлением данного модификатора. Обозначения осей координат те же, что на рис. 1.

из крови в ткань. Полученные результаты позволяют считать перспективной разработку нового подхода к направленной коррекции тканевой биофармакодинамики эндогенных биорегуляторов, лекарственных средств и токсических продуктов модификацией транспортных характеристик белков плазмы крови.

THE EFFECT OF PEPTIDE-PROTEIN BINDING ON ELIMINATION OF SOMATOSTATINE AND EPIDERMAL GROWTH FACTOR FROM THE HEMOCIRCULATORY CHANNEL BY THE LUNG TISSUE

G. V. Glinsky, I. E. Solovieva, V. A. Berezovsky, V. B. Vinnitsky

Somatostatine and epidermal growth factor have been studied for their elimination from the hemocirculatory channel by the lung tissue. Formation of the peptide-protein complex decreases introduction of peptides into the lung tissue. Changes of the peptide-protein binding in blood plasma induce corresponding variations in transport of peptides through the hematoparenchymatous lung barrier, that can be of regulatory significance.

Institute for Oncology Problems, Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бerezовский В. А. Легкое, недыхательные функции // Словарь-справочник по физиологии и патофизиологии дыхания // К.: Наук. думка.— 1984.— С. 143—145.
2. Глинский Г. В., Глинский В. В., Сурмило Н. И. и др. Высокоэффективная жидкостная хроматография опухольассоциированных пептидов плазмы крови // Докл. АН СССР.— 228, № 2.— С. 495—496.
3. Сыромятникова Н. В., Гончарова В. А., Котенко Т. В. Метаболическая активность легких.— Л.: Наука.— 1987.— 168 с.
4. Glinsky G. V. Modification of peptide-protein binding as an extracellular biological function of polyamines: physiological role of primary amine dependent regulation of the bioactivity of neuropeptides, hormones, growth factors and its significance in the pathogenesis of neoplastic growth // J. Tumor marker oncol.— 1987.— N 4.— P. 249—294.
5. Junod A. Metabolism, production and release of hormones and mediators in the lung // Amer. Rev. Resp. Dis.— 1975.— 112.— P. 93—105.
6. Richardson J. Neurotransmitter and their role in pulmonary physiology // Rec. Res. Cancer Res.— 1985.— 99, N 1.— P. 29—33.