

УДК 577.112.083

НАЛИЧИЕ ИНГИБИТОРА ТРИПСИНОПОДОБНЫХ ПРОТЕИНАЗ В ОТХОДАХ ПРОМЫШЛЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА ГАММА-ГЛОБУЛИНА

Дивоча В.А., Вилькинская Е.М., * Циркуль И.М.*

Украинский НИИ медицины транспорта, Одесса

*Одесская областная станция переливания крови

Ключевые слова: ингибиторы трипсиноподобных протеиназ, отходы промышленного производства гамма-глобулина

Учитывая исключительно высокую заболеваемость гриппом и острыми респираторными вирусными инфекциями (ОРВИ), ущерб от гриппа для экономики страны, для предприятий, для каждого гражданина поистине огромен. В 2009 году в Украине заболело гриппом около 5 млн. человек из них 1127 человек умерло. В Украине ущерб от каждого случая заболевания гриппом в среднем составляет 800-1200 грн. Одним из источников распространения вируса гриппа является транспорт (железнодорожный, авиационный, водный и др.) Поэтому разработка противовирусных препаратов крайне важна для здравоохранения. Имеющийся в арсенале медицинских работников перечень используемых лекарственных препаратов (Ремантадин, Занамивир, Озелтамивир и др.), с одной стороны, очень ограничен, а с другой – малоэффективен вследствие появления резистентных штаммов вируса гриппа (А, В, С) [1-6].

Цель наших исследований – выявление ингибитора трипсиноподобных протеиназ в отходах промышленного получения гамма-глобулина и альбумина из донорской крови человека для последующего использования его в качестве биоматериала для получения противовирусного вещества.

Ранее нами показано, что трипсиноподобная протеиназа играет ключевую

роль в развитии патологического процесса в организме [7]. Она расщепляет наружный белок вируса гриппа – гемагглютинин на две субъединицы HA_1 и HA_2 . Только после расщепления вирус проникает в клетку и начинает размножаться.

Значение протеолитической активации в инфекционном процессе, ее универсальность для ингибиторов протеолиза является предпосылкой для использования ее в качестве мишени с целью лечения вирусной инфекции. Такой подход к терапии вирусных заболеваний открывает перспективу для создания препаратов широкого антивирусного спектра действия, поскольку для определенных вирусов можно подобрать специфические ингибиторы протеолиза, эффективно блокирующие протеолитический процессинг [8, 9].

Поиск биоматериала, для получения препарата, обладающего противовирусной активностью (ингибитор трипсиноподобных протеиназ) и наименьшей аллергенностью для человека, заставил нас провести исследования отходов сывороточного производства на наличие в них трипсиноподобных протеиназ и их ингибиторов. Основанием для этого послужили результаты наших предыдущих исследований о том, что ингибитор присутствует как в плазме, так и в полученном из нее гамма-глобулине (по методу Кона) [10].

Таблица

Активность трипсиноподобной протеиназы и ее эндогенного ингибитора во фракциях отходов получения гамма-глобулина промышленным способом

№ п/п	Фракция	Показатели		
		Активность протеиназы, E_{508}	Содержание белка, г/кг*	Содержание ингибитора мг/кг**
1.	II+III-глобулины, центрифугат	0,210 ± 0,02	4,262 ± 0,38	481,11 ± 23,4
2.	Осадок протромбина	0,210 ± 0,02	2,167 ± 0,19	436,0 ± 16,3
3.	Осадок α , β -глобулины и липоиды	0,250 ± 0,02	4,381 ± 0,42	469,87 ± 18,4
4.	IV осадок (альбумин+другие белки)	0,157 ± 0,01	3,270 ± 0,31	137,40 ± 6,1
5.	Фильтрат (альбумин)	0,120 ± 0,01	4,800 ± 0,45	166,37 ± 8,5

Примечания: * - г белка на 1,0 кг отходов;

** - мг ингибитора на 1,0 кг отходов.

В работе использовались биохимические методы исследования. Содержание белка определяли по методу Лоури [11]. Активность трипсиноподобной протеиназы определяли по методу К.Н. Веремеенко в модификации С.В. Вовчук [12, 13]. Содержание ингибитора трипсиноподобных протеиназ в промышленных отходах определяли по методу К.Н. Веремеенко в модификации А.П. Левицко-

другие белки); фракция V, фильтрат центрифугата, содержащая альбумин.

По результатам наших исследований (табл.) центрифугат I-й стадии содержал 481,11 мг ингибитора трипсиноподобных протеиназ (ТП) на 1,0 кг отходов. На его долю в норме приходится 90% антитрипсиновой активности плазмы крови. Утилизируемый осадок TMTM-й стадии производства гамма-глобулина, по нашим

исследованиям, содержал 469,87 мг ингибитора ТП на 1,0 кг отходов.

Содержание ингибитора ТП на III-й стадии получения гамма-глобулина составило 137,40 мг на 1,0 кг отходов, что в 4 раза ниже, чем на

I-й и II-й стадиях. На IV-й стадии промышленного производства гамма-глобулина в центрифугате содержалось значительно меньшее количество ингибитора ТП – 166,37 мг на 1,0 кг отходов (рис.).

Результаты проведенных нами

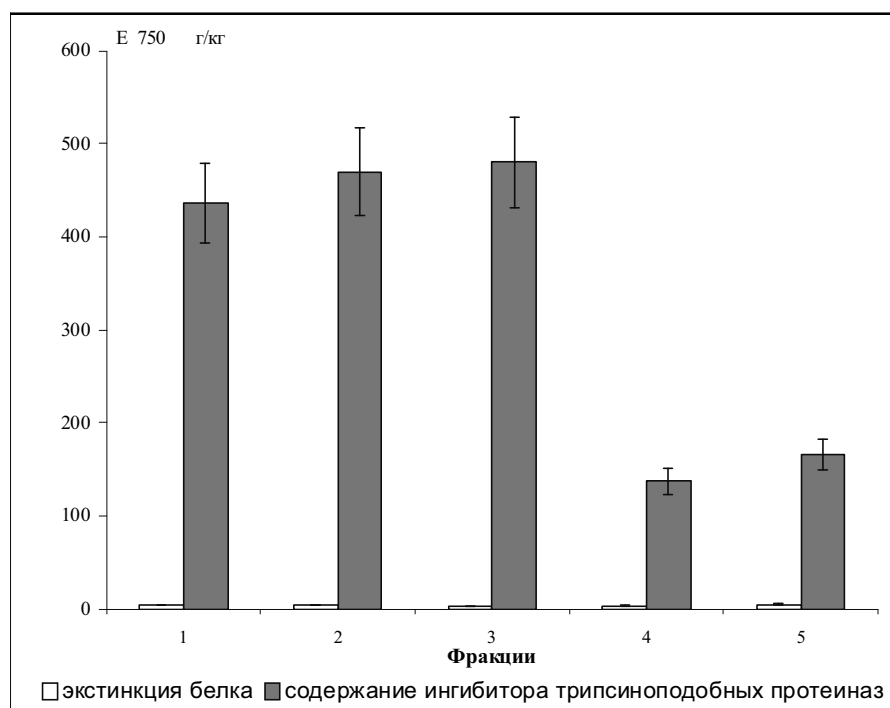


Рис. Содержание ингибитора трипсиноподобной протеиназы и экстинкция белка во фракциях, получаемых из отходов на этапах промышленного выделения гамма-глобулина

Примечание:

- 1 – центрифугат (НОЖ) фракции II + III (фибриноген, глобулины);
- 2 – осадок фракции II + III (протромбин);
- 3 – осадок, содержащий α , β -глобулины и липоиды;
- 4 – фракция IV, центрифугат гамма-глобулина, содержащий альбумин;
- 5 – фракция V, содержащая альбумин

исследований свидетельствуют о том, что сырьем для получения ингибитора трипсиноподобных протеиназ могут служить утилизируемые отходы, которые получают после I-й и II-й стадий технологического процесса выделения гамма-глобулина, содержащие самое большое количество данного ингибитора.

Эти результаты обосновывают возможность получения ингибитора трипсиноподобных протеиназ. Получение противовирусных препаратов из отходов донорской крови человека позволит полнее использовать этот утилизируемый биологический материал, понизит себестоимость и увеличит номенклатуру препаратов крови, а клиническая медицина получит в достаточных количествах новый высокоэффективный противогриппозный препарат.

Литература

1. Losben N. Reducing influenza risks: new treatment options / N. Losben, P. Peters, P. Drinka // Presented at the American Society of Consultant Pharmacists - Senior Care : Pharmacy'99 Annual Meeting, November 10-13, 1999, st. Louis, U.S.A. : plenary session. – Missouri, 1999. – P. 312-316.
2. Zanamivir in the prevention of influenza among healthy adults : A Randomized Controlled Trial / A. S. Monto, D. P. Rodinson, M. L. Herlocher [et al.] // JAMA, Jul 7, 1999. – 1999. - V. 282(1). - P. 5-31.
3. Use of the selective oral neuraminidase inhibitor Oseltamivir to prevent influenza / F. G. Hayden, R. L. Atmar, M. Schelling [et al.] // N. Engl. J. Med., Oct 28, 1999. – 1999. – V. 341(18). – P. 1336-1343.
4. Программа и рефераты 39-го УСААС, 26-29 сентября, 1999 г., Сан-Франциско, Калифорния, США / С. А. Гальперин, Б. Кузнец, К. Кларк [и др.] // Сборник рефератов. – Реферат 1637. – 1999.
5. Clinical features of influenza C virus infection in children / Y. Matsuzaki, N. Katsushima, Y. Nagai [et al.] // J Infect Dis. – 2006. - V. 193, N 9. – P. 1229–1235.
6. Laurent Kaizer The role of neuraminidase inhibitors in influenza / Laurent Kaizer // Second international symposium on influenza and other respiratory viruses, Day 3, December 12-1999. – USA, 1999. – P. 123-127.
7. Михальчук В. М. Роль протеолітичної системи клітини-господаря на ранніх стадіях розвитку вірусної інфекції / В. О. Дівоча., М. Т. Мікелашвілі, В. М. Михальчук // Медична хімія. - 2001. – Т. 3, № 1.- С. 78-80.
8. Дівоча В. А. Биолого-вирусологическое обоснование антипротеазной терапии гриппа: дис. доктора медицинских наук / Дівоча Валентина Афанасьевна. – Одесса, 2009. – 244 с.
9. Klenk H.-D. Further studies on the activation of influenza virus by proteolytic cleavage of the hemagglutination / H.-D. Klenk, R. Rott, M. Orlich // Journal of General Virology. — 1977. — V. 36. — P. 151-161.
10. Михальчук В. Н. Наявність трипсиноподібної протеази та її інгібіторів у відходах отримання гаммаглобуліну / В. М. Михальчук, В. П. Дівоча, А. І. Гоженко // Медична хімія. - 2006. – Т. 8, № 1. - С. 60-63.
11. Lowry W. J. Protein measurement with the Folin reagent / W. J. Lowry, F. Baker // J. Biol Chem. - 1951. – V. 193. - P. 265-275.
12. Веремеенко К. Н. Протеолитические ферменты и их ингибиторы в медицине / К. Н. Веремеенко // Биохимия животных и человека. – Киев, 1981. – 216 с.
13. Вовчук С. В. Определение активности протеолитических ферментов в зерне злаковых культур / С. В. Вовчук // Биохимические методы исследования селекционного материала : сб. науч. работ. – Одесса, 1979. - Вып. XV - С. 69-74.

14. Левицкий А. П. Методы определения ингибиторов трипсина / А. П. Левицкий // Биохимические методы исследования селекционного материала : сб. науч. работ. - Одесса, 1979. - Вып. XV - С. 68-73.

Резюме

**НАЯВНІСТЬ ІНГІБИТОРУ
ТРИПСИНОПОДІБНИХ ПРОТЕІНАЗ У
ВІДХОДАХ ПРОМИСЛОВОГО
ОТРИМАННЯ ГАМА-ГЛОБУЛІНУ**

*Дівоча В.П., Лагода О.В., Вількінська
О.М., Циркуль І.Н.*

Метою дослідження було визначення наявності інгібітору трипсиноподібних протеїназ у відходах промислового отримання гама-глобуліну та альбуміну з до-

норської крові людини для подальшого використання в якості біоматеріалу для одержання протигрипозного засобу.

Summary

**PRESENCE OF TRYPSIN-LIKE
PROTEINASE INHIBITOR IN THE WASTES
OF GAMMA-GLOBULIN PRODUCTION**

*Divocha V.A., Lagoda O.B., Vilkinskaya
O.M., Tsyrcul I.N.*

The aim of the work presented is to extract trypsin-like proteinase inhibitor from the wastes of i-globin production and albumin of human donors' blood for their further use as a biomaterial for flu funds.

*Впервые поступила в редакцию 19/08.2010 г.
Рекомендована к печати на заседании
редакционной коллегии после рецензирования*

УДК: 613.647:656

**ПЕРСПЕКТИВИ ВИВЧЕННЯ ШКІРЯНИХ ГАЛЬВАНІЧНИХ
РЕАКЦІЙ У ОПЕРАТОРІВ ТРАНСПОРТНИХ ЗАСОБІВ**

Горша О.В.

Український НДІ медицини транспорту, Одеса.

Ключові слова: гальванічні реакції, оператори, транспортні засоби

Одним із пріоритетних завдань медицини праці є виявлення патогенетичних основ загальних і специфічних реакцій організму на вплив, спричинений шкідливими чинниками виробництва, з метою розробки і обґрунтування критеріїв і методів, що дозволяють об'єктивно діагностувати профпатологію в преморбідний період [1, 4, 5, 7, 8].

В той же час, принцип роботи комісії професійного відбору на транспорті заснований лише на реєстрації стадії переходу здоров'я в хворобу, нозологічну діагностику і не націлений на оцінку резервів здоров'я і професійної адаптації, преморбїду захворювань (коли за рахунок мобілізації, напруги всіх резервів організму ще збережена працездатність, але існує загроза зриву адаптації і виникнення захворювань)

[1, 5, 7]. Проведення донозологічної діагностики серед фахівців операторських професій транспортної сфери (до них відносяться і водії автотранспортних засобів), є особливо актуальним завданням – адже зміни показників здоров'я у них наступають раніше, прогноз їх більш несприятливий, а наслідки загрожують ризиком створення аварійних ситуацій [1, 7]. Ситуація, що склалася, ставить в число актуальних проблем пошук методів, критеріїв оцінки найбільш ранніх змін адаптації у операторів транспортної галузі, а також подальшої корекції виявлених порушень.

Професійна експлуатація різних транспортних засобів пов'язана із систематичним несприятливим впливом ряду чинників, що створює умови для виникнення і модифікації різних захво-