

Л. И. СТЕКОЛЬНИКОВ, М. Н. ОСТРОУМОВА, О. М. ТЕПЕЛИНА,
С. В. ГОНЧАРЕНКО, В. М. ДИЛЬМАН

**ТОРМОЖЕНИЕ ГИПОКАЛЬЦЕМИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА
ТИРОКАЛЬЦИТОНИНА ЕГО АЦЕТИЛИРОВАННЫМ ДЕРИВАТОМ**

(Представлено академиком В. Н. Черниговским 2 III 1970)

Тирокальцитонин обладает способностью тормозить мобилизацию кальция костной системы, что приводит при его введении животным к снижению концентрации кальция в крови (1-4). В ряде случаев представляет интерес противодействие этому эффекту. Такое противодействие может быть достигнуто при помощи дериватов тирокальцитонина, у которых устранен специфический биологический эффект, но сохранена способность локализоваться в эффекторной ткани, что создает тем самым конкурирующие взаимоотношения между дериватом и активным гормоном.

Целью настоящей работы было изучение вопроса о возможности разделения указанных свойств тирокальцитонина и проведение экспериментов для получения феномена конкуренции.

Установление возможности разделения свойств тирокальцитонина имеет большое значение для изучения взаимосвязей между структурой и функцией гормона, так как совершенно очевидно, что в отношении этого полипептида, содержащего всего лишь 32 аминокислотных остатка (5), будут предприняты работы по получению более простых физиологически активных дериватов с заданными свойствами.

Методика. Тирокальцитонин был получен из свежемороженых щитовидных желез крупного рогатого скота по модифицированному нами методу (6). Гомогенность препарата подтверждена исследованиями в ультрацентрифуге, электрофорезом на бумаге и в свободном электрическом поле, разделительной хроматографией на колонках с ионообмен-

Таблица 1

Торможение гипокальцемического эффекта тирокальцитонина его ацетилированным дериватом

	Доза, $\mu\text{г}/\text{кг}$		Число животных	Концентрация кальция, мг %		Изменение содержания кальция, мг %	P
	ТКТ	А-ТКТ		до введения	через 2 часа		
ТКТ	0,1	—	6	$13,48 \pm 0,439$	$12,05 \pm 0,572$	$-1,43 \pm 0,228$	$<0,05$
А-ТКТ	—	1,0	16	$14,07 \pm 0,166$	$14,47 \pm 0,265$	$+0,40 \pm 0,196$	$>0,05$
ТКТ + А-ТКТ	0,1	1,0	15	$12,96 \pm 0,405$	$13,09 \pm 0,431$	$+0,13 \pm 0,108$	$>0,05$
	0,1	0,5	8	$13,82 \pm 0,272$	$14,16 \pm 0,331$	$+0,34 \pm 0,138$	$>0,05$
	0,1	0,2	11	$13,64 \pm 0,268$	$13,53 \pm 0,158$	$-0,11 \pm 0,172$	$>0,05$
	0,1	0,1	12	$14,65 \pm 0,456$	$14,10 \pm 0,385$	$-0,55 \pm 0,160$	$<0,05$
Ацетилированный альбумин + ТКТ*	0,1	—	12	$14,36 \pm 0,250$	$13,17 \pm 0,251$	$-1,19 \pm 0,130$	$<0,001$

* Ацетилированный альбумин вводили в отношении 10 : 1 к активному ТКТ.

ными смолами. Определение кальция в сыворотке крови производилось при помощи комплексонометрического титрования на фотоэлектроколориметре в присутствии индикатора мурексида. В опытах использовали кроликов обоего пола весом 3,0—3,5 кг, которые за сутки до начала опыта не получали пищу. Для определения активности гормона раствор тирокальцитонина вводили внутривенно в концентрации 0,1—0,5 $\mu\text{г}$ на 1 кг веса.

Ацетилирование 0,2% раствора тирокальцитонина производили в ацетатном буфере (рН 7,0) в растворе, содержащем два детергента: смачиватель типа ОП и додецилсульфат Na с конечной концентрацией 0,1%, — путем постепенного добавления уксусного ангидрида (25 мл на 100 мл раствора) при 0° через 1 час после инкубации раствора гормона с детергентом. Пробу подвергали диализу и лиофилизировали. Полученный дериват проверяли в отношении наличия свободных фенольных групп по спектральной характеристике в у.-ф. области, по титрованию диазотированной сульфаниловой кислотой и по методу определения свободных фенольных групп, рекомендованному в (7).

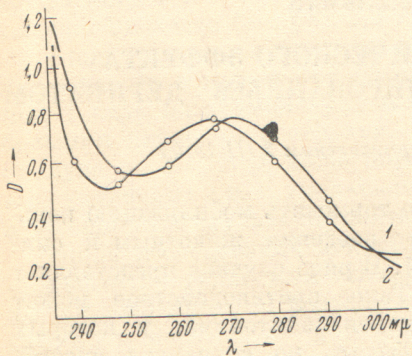


Рис. 1. Спектрофотометрические кривые тирокальцитонина и его ацетилированного деривата. 1 — ТКТ, 2 — А-ТКТ

Отсутствие гормонального эффекта ацетилированного деривата тирокальцитонина (А-ТКТ) устанавливали при введении кроликам 10-кратной действующей дозы для активного гормона. Феномен конкуренции осуществлялся таким образом, что А-ТКТ вводили животным за 30 мин. и одновременно с активным тирокальцитонином. Содержание кальция определяли до введения и через 2 часа после инъекции гормона в сочетании с дериватом. А-ТКТ использовали в соотношении 10; 5; 2 и 1 к активному тирокальцитонину.

Для проверки специфического эффекта конкуренции в отдельных опытах вместо А-ТКТ использовали ацетилированный тем же методом бычий альбумин. Всего в опытах было использовано 80 кроликов.

Результаты. Полученные результаты представлены в табл. 1. Как видно из приведенных данных, ацетилирование тирокальцитонина уксусным ангидридом приводит к исчезновению присущего этому гормону гипокальцемического эффекта. Вместе с тем, неактивный гормон в дозах, в 10; 5 и 2 раза превышающих дозу активного тирокальцитонина, препятствует проявлению его физиологического действия. Это свидетельствует о возможности разделения физиологического эффекта и тропности гормона к эффекторной ткани.

Феномен конкуренции не наблюдался нами при соотношении доз 1:1, а также при использовании вместо А-ТКТ ацетилированного альбумина. Это свидетельствует о специфичности полученного эффекта конкуренции.

Результаты проведенных тремя различными методами исследований по обнаружению свободных фенольных групп в А-ТКТ показали, что они остаются незамещенными при ацетилировании, о чем свидетельствует, в частности, спектр поглощения А-ТКТ в у.-ф. области (рис. 1). Этот факт представляет интерес, так как, согласно ранее полученным данным (8), иодирование тирокальцитонина, которое приводит к полному замещению свободных фенольных групп, вызывает инактивацию гормона. Можно полагать, что в состав активного центра тирокальцитонина входят различные функциональные группы молекулы этого гормона.

В дальнейшем представляет интерес выяснить, осуществляется ли феномен конкуренции не только в отношении действия на динамику кальция, но также и в отношении влияния на фосфор и калий.

Всесоюзный научно-исследовательский институт
антибиотиков
Москва

Поступило
24 II 1970

Научно-исследовательский институт онкологии
им. Н. Н. Петрова
Ленинград

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ P. Hirsch, Science, 146, 412 (1964). ² A. Tashjian. Endocrinology, 33, 469 (1965). ³ Л. И. Стекольников, О. М. Тепелина, В. М. Конопацкая, Биофизика, 13, № 1, 152 (1968). ⁴ Л. И. Стекольников, А. Абдукаримов, ДАН, 185, № 3, 723 (1969). ⁵ W. Rittel, M. Brugger et al., Helv. chim. acta, 51, № 4, 924 (1968). ⁶ T. Gudmundsson, J. MacIntyre, H. Soliman, Proc. Roy. Soc., B-164, № 966, 460 (1966). ⁷ H. Fraenkel-Conrat, Methods in Enzymology, 4, 247 (1957). ⁸ Л. И. Стекольников, С. Ю. Катковский и др., Вопр. мед. хим., 15, в. 3, 276 (1969).