

УДК 616—018.015

А. В. АРУТЮНЯН, Э. Е. НАЗАРЕТЯН, Э. А. ГУЛЯН

РЕГУЛЯЦИЯ АМФ-ДЕЗАМИНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ КРОВИ В НОРМЕ И ПРИ ПЕРИОДИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ

Работа посвящена выяснению биохимических механизмов в развитии периодической болезни—малоизученного и довольно распространенного в условиях Армении заболевания.

Изучалась активность фермента АМФ-деаминазы в эритроцитах человека. Полученные результаты свидетельствуют о значительных нарушениях при этом процессов регуляции активности фермента, что может иметь значение в процессе развития иммунной недостаточности.

Периодическая болезнь (ПБ) относится к числу наследственных заболеваний, характеризующихся иммунодефицитным состоянием и ослаблением иммунологического контроля. В основе этого явления лежат генетически обусловленные нарушения отчасти гуморального и главным образом клеточного иммунитета, связанные соответственно с деятельностью Т- и В-лимфоцитов [1, 2]. Некоторые исследователи, отстаивая эту точку зрения, признают также роль генетических энзимопатий в патогенезе ПБ [9, 16].

Многочисленные исследования свидетельствуют о том, что в крови больных, страдающих иммунной недостаточностью, обнаруживается резко выраженный дефицит активности аденозиндеаминазы [10, 12, 19]. Наряду с этим установлено, что аденозин оказывает цитотоксический эффект, подавляя деятельность иммунных клеток— лимфобластов, макрофагов и фибробластов в культуре тканей [11, 20]. В регуляции уровня аденозина в организме, кроме аденозиндеаминазы, принимает участие также 5-нуклеотидаза и АМФ-деаминаза—ферменты, осуществляющие распад адениловой кислоты, являющейся предшественником аденозина. В настоящей работе проведено исследование регуляции АМФ-деаминазной активности эритроцитов больных ПБ.

Нами исследовалась кровь 92 больных, страдающих ПБ. (33% пациентов—женщины и 67%—мужчины). Из числа больных 42 человека страдали абдоминальной формой ПБ, 18—торакально-абдоминальной, 26 человек—торакальной формой и в 6 случаях наблюдалась ПБ, осложненная амилоидозом. В контрольной группе использовали кровь практически здоровых пациентов.

Венозную кровь центрифугировали 10 минут при 3,500 об/мин. Осадок, представлявший собой эритроцитарную массу, смешивали с равным объемом 0,2 М Трис-НСl буфера рН 7,2, гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе с тефлоновым пестиком и полученную суспензию использовали в качестве источника фермента. Реакционная смесь в объеме 1,5 мл содержала: 0,2 мл ферментного препарата (10,5 мг белка); 7,5 мкмоль АМФ и в зависимости от условий опыта 7,5 мкмоль АТФ; 0,1 мкмоль тироксина (T_4); 3,3',5-трийодтиронина (T_3); 3,3',5-трийодтиреоacetата (T_3A) и по 100 мкмоль хлористых солей калия, натрия, лития, тетраметиламмония (ТМА-Cl) или ацетатных солей калия или натрия. Инкубация проводилась в 0,2 М Трис-НСl буфере рН 7,2 в течение 30 минут. АМФ-деаминазную активность определяли по приросту аммиака [7].

Эритроциты человека содержат АМФ-деаминазу, активируемую одновалентными катионами [8—17]. Как явствует из полученных нами данных, хлористые соли всех испытанных нами одновалентных катионов (KCl, NaCl, LiCl, $(CH_3)_4NCl$) не оказывали стимулирующего влияния на АМФ-деаминазную активность эритроцитов как у здоровых людей, так и у больных ПБ (табл. 1). Более того, все эти соединения, за исключением LiCl, вызывали ингибирование АМФ-деаминазы, которое было особенно выражено при ПБ. Дальнейшие исследования выявили, что отсутствие активирующего эффекта одновалентных катионов в проведенных экспериментах обусловлено наличием Cl-аниона. Как выяснилось, ацетатные соли калия и натрия приблизительно на 50% повышают активность АМФ-деаминазы в крови контрольной группы.

Таким образом, стало очевидным, что анион хлора, ингибируя активность АМФ-деаминазы эритроцитов, способен перекрывать (KCl, NaCl, ТМА-Cl) или нивелировать (LiCl) активирующее действие одновалентных катионов.

Ранее было установлено [14, 18], что различные анионы, в том числе и анион хлора, применяемые в высоких концентрациях (150 мг и выше), резко снижают стимулирующий эффект калия на активность АМФ-деаминазы скелетных мышц крыс и эритроцитов человека. Проведенные нами исследования показали, что анион хлора является эффективным ингибитором АМФ-деаминазы эритроцитов человека. Эффективность исследуемых нами при ПБ хлоридов в качестве ингибиторов фермента меняется при ПБ в следующем направлении: $TMA-Cl > KCl \approx NaCl > LiCl$ в норме и $LiCl > KCl \approx NaCl \approx TMA-Cl$.

При сопоставлении эффектов одновалентных катионов и аниона хлора на активность АМФ-деаминазы эритроцитов в норме и при ПБ можно отметить, что активирующее действие K^+ и Na^+ проявляется только в контрольной группе, а ингибирующее влияние Cl^- заметно усиливается при ПБ. Так, активность фермента при ПБ ингибируется под влиянием LiCl, KCl и NaCl на 70, 45 и 42%, тогда как в норме

соответствующие величины равны 8, 26,5 и 28%. Что касается ацетатных солей калия и натрия, то у больных ПБ они не только стимулируют активность АМФ-деаминазы эритроцитов, но приводят к незначительному, статистически недостоверному снижению активности фермента на 6—12%. Исходя из полученных данных, можно констатировать, что при ПБ утрачивается способность АМФ-деаминазы крови активироваться под влиянием одновалентных катионов и одновременно заметно повышается ее чувствительность к ингибирующему влиянию аниона хлора.

Во многих тканях (мозг, печень, почки, сердечная мышца) наиболее эффективным активатором АМФ-деаминазы является АТФ [3]. АМФ-деаминаза неочищенных гемолизатов эритроцитов человека не активируется АТФ, однако в его присутствии фермент проявляет чувствительность к ряду катионов (Li^+ , Rb^+ , Cs^+), которые сами по себе не обладают активирующим действием [8]. Исходя из этого, представляло интерес исследовать ингибирующее влияние Cl^- -аниона на активность АМФ-деаминазы в присутствии АТФ в крови в норме и при ПБ. Как показали проведенные исследования, добавление АТФ не влияет на величину ингибирующего эффекта хлора (табл. 2).

Следует отметить, что по литературным данным [14], ингибирование АМФ-деаминазы эритроцитов человека под влиянием фтора, оказывающего аналогичное хлору действие на фермент, носит неконкурентный характер и мало изменяется под влиянием АТФ.

В регуляции АМФ-деаминазной активности в мозге и скелетных мышцах, помимо одновалентных катионов, АТФ и других нуклеотидов, принимают участие тиреоидные гормоны и их производные [4, 6]. В табл. 2 представлены данные, касающиеся действия ряда тиреоидных соединений на АМФ-деаминазную активность эритроцитов в норме и при ПБ. Оказалось, что испытанные нами тиреоидные соединения (T_4 , T_3 и T_3A) не влияют на активность фермента в норме, но ингибируют ее в среднем на 22% у больных ПБ. Полученные данные указывают на то, что АМФ-деаминаза эритроцитов человека в норме аналогично ферменту из печени и почек [4] не подвергается действию тиреоидных соединений, однако у больных ПБ проявляется чувствительность к ингибирующему влиянию, что характерно для фермента скелетных мышц [6].

Проведенные исследования свидетельствуют о том, что, хотя уровень АМФ-деаминазной активности эритроцитов при ПБ не изменяется, в регуляции ее активности отмечаются существенные отличия. Эти отличия могут быть обусловлены изменением свойств и строения, а также изоферментного состава АМФ-деаминазы при патологии. Многочисленными исследованиями установлено, что в разных органах (мозг, почки, скелетные мышцы) АМФ-деаминаза представлена различными изоферментами, отличающимися кинетическими и регуляторными свойствами [5, 15]. В отношении фермента эритроцитов человека этот вопрос детально не изучен, хотя имеются сведения от-

носителем того, что по ряду параметров (субъединичное строение, аминокислотный состав, кинетические свойства) он весьма сходен с мышечной АМФ-дезаминазой [13, 21].

Таким образом, АМФ-дезаминаза эритроцитов при ПБ утрачивает способность активироваться одновалентными катионами и значительно эффективнее, по сравнению с нормой, ингибируется ионами хлора. Ти-

Таблица 1

Таблица 2

Действие одновалентных катионов и анионов на активность АМФ-дезаминазы эритроцитов (в $\mu\text{кг NH}_3/\text{пробу}$) при ПБ ($M \pm m$)

Действие АТФ и тиреоидных соединений на активность АМФ-дезаминазы (в $\mu\text{кг NH}_3/\text{пробу}$) при ПБ ($M \pm m$)

Условия опыта	Норма	ПБ
Контроль	$38,5 \pm 0,7$ (17)	$39,3 \pm 0,6$ (15)
KCl	$27,6 \pm 0,8$ (8)	$22,9 \pm 0,6$ (12)
NaCl	$28,4 \pm 0,8$ (6)	$21,6 \pm 0,75$ (10)
LiCl	$34,9 \pm 1,3$ (6)	$11,8 \pm 0,7$ (5)
TMA-Cl	$22,9 \pm 0,75$ (7)	$23,0 \pm 0,7$ (10)
CH_3COOK	$56,9 \pm 1,2$ (8)	$37,8 \pm 1,0$ (8)
CH_3COONa	$58,0 \pm 1,6$ (6)	$34,5 \pm 1,1$ (5)

Условия опыта	Норма	ПБ
Контроль	$35,8 \pm 0,7$ (17)	$39,3 \pm 0,6$ (15)
АТФ	$42,8 \pm 1,0$ (6)	$38,2 \pm 1,4$ (6)
KCl	$27,6 \pm 0,8$ (8)	$22,9 \pm 0,6$ (12)
KCl + АТФ	$27,7 \pm 1,0$ (6)	$21,9 \pm 1,0$ (5)
T_4	$38,0 \pm 0,8$ (5)	$30,6 \pm 1,4$ (5)
T_3	$41,3 \pm 0,9$ (5)	$30,8 \pm 0,7$ (5)
T_3A	$38,0 \pm 0,8$ (5)	$29,4 \pm 1,4$ (5)

реонидные гормоны и их производные, не оказывая влияния на активность АМФ-дезаминазы эритроцитов здоровых людей, несколько ингибируют ее при ПБ.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что при ПБ. ряду с отсутствием сдвигов в уровне АМФ-дезаминазной активности отмечаются существенные изменения в ее регуляции.

Институт биохимии АН Армянской ССР,
Кафедра госпитальной терапии
Ереванского медицинского института

Поступила 17/II 1980 г.

Ա. Վ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ, Է. Ե. ՆԱԶԱՐԵԹՅԱՆ, Բ. Ա. ԴՈՒԼՅԱՆ

ԱՄՖ-ԴԵԶԱՄԻՆԱԶԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ԿԱՐԴԱՎՈՐՈՒՄԸ ԱՐՅԱՆ ՄԵԶ
ՆՈՐՄԱՅՈՒՄ ԵՎ ՊԱՐԲԵՐԱԿԱՆ ՀԻՎԱՆԴՈՒԹՅԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ

Ուսումնասիրվել է մարդու էրիթրոցիտներում ԱՄՖ-դեզամինազայի ակտիվությունը պարբերական հիվանդությամբ մարդկանց մոտ: Ցույց է տրվել, որ այդ հիվանդության ժամանակ խանգարվում է այդ ֆերմենտի կարգավորումը ներքաշին մի քանի մետաբոլիտներով:

ԱՄՖ-դեհամինազան պարբերական հիվանդությամբ տառապող հիվանդների արյան մեջ, ի տարբերություն նորմալի, չի ակտիվանում միավալենտ կատիոններով և որոշ չափով ակտիվանում է թիրոիդ միացություններից: Միաժամանակ նկատվում է ֆերմենտի ակտիվության վրա քլոր անիոնի արգելակող ազդեցության ուժեղացում:

A. V. HAROUTYUNIAN, E. E. NAZARETIAN, E. A. GOULIAN

REGULATION OF THE BLOOD AMP-DESAMINASE ACTIVITY IN THE NORM AND PERIODICAL DISEASE

The study of the AMP-desaminase activity in erythrocytes of patients with periodical disease has shown that during this disease the regulation of the ferment activity is disturbed due to some intracellular metabolites.

AMP-desaminase in the blood of the patients, contrary to the norm, is not activated by monovalent cations and is partially stimulated by thyroid compounds. Parallel with this, significant increase of the inhibiting effect of chlorine anion on the ferment is observed.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Айвазян А. А., Завгородняя А. М., Абрамян М. К., Пашиян С. А., Багдасарян Г. Б., Гуюмджян И. О., Овсепян Л. А. Ж. эксперим. и клин. мед. АН Армянской ССР, 1977, 17, 1, стр. 37.
2. Айвазян А. А., Завгородняя А. М., Абрамян М. К., Пашиян С. А., Багдасарян Г. Б., Гуюмджян И. О., Овсепян Л. А. Клин. мед., 1977, 2, стр. 91.
3. Арутюнян А. В. Вопр. биохимии мозга, 1974, 9, стр. 251.
4. Гулян Э. А., Кегисян Г. П., Арутюнян А. В., Оганесян В. С. Биол. ж. Армении, 1978, 31, стр. 141.
5. Арутюнян А. В., Ловенштейн Дж. М. ДАН СССР, 1977, 234, стр. 951.
6. Арутюнян А. В., Гулян Э. А., Кегисян Г. П., Оганесян В. С. Биол. ж. Армении, 1979, 32, 8, стр. 715.
7. Силакова А. И., Труш Г. П., Являнова А. Вопр. мед. химии, 1962, 8, стр. 538.
8. Askari A., Franklin J. E. Biochem. Biophys. Acta, 1965, 110, 162.
9. Bondy P. K., Cohn G. L. J. Biol. Med., 1958, 30, 395.
10. Gibert E. R. et al. Lancet, 1972, 2, 7786, 1067.
11. Green H., Chan T. S. Science, 1973, 182, 336.
12. Knudsen B. B., Dissing J. Clin. Genetig., 1973, 4, 344.
13. Kruckeberg W. C. et al. Biochemistry, 1978, 17, 376.
14. Lian C. Y., Harkness D. R. Biochem. Biophys. Acta, 1974, 341, 27.
15. Ogasawara N. et al. Biochem. Biophys. Acta, 1975, 403, 530.
16. Pries R. J., Nixon P. K. Ann. Intern. Med., 1959, 51, 1253.
17. Rao S. N. et al. Biochem. Biophys. Acta, 1968, 151, 651.
18. Ronca G. et al. Ital. J. Biochem., 1972, 21, 305.
19. Van der Welden M. B., Kelly W. N. Life Sciences, 1977, 20, 1645.
20. Wollerg G. et al. Science, 1975, 187, 957.
21. Yun S. L., Suelter C. H. J. Biol. Chem., 1978, 253, 404.