

Д. А. АГАРОНОВА, М. Б. АВЕТИКЯН, Э. И. ГАСПАРЯН,
С. А. БАЙБУРТЯН

К ИЗУЧЕНИЮ АЛЛЕРГОГЕННЫХ СВОЙСТВ Д-НАД

Проведены испытания Д-НАД на аллергогенность. По показателям реакций повышенной чувствительности замедленного типа (кожный тест, торможение миграции в агаре и бласттрансформация лимфоцитов *in vitro*) установлено, что Д-НАД по характеру влияния на лимфоциты приближается к митогенам типа ФГА.

Впервые гидролитическое деаминирование НАД (никотинамидадениндинуклеотид) и образование Д-НАД (никотинамидгипоксантиндинуклеотид) в организме животных было обнаружено Г. Х. Бунятыном с соавт. в 1966 г. [2]. Было показано, что взаимопревращение НАД-Д-НАД может играть важную роль в регуляции окислительно-восстановительных процессов, в частности, в интеграции гликолиза и окислительного фосфорилирования и в интенсификации последнего.

Дальнейшими исследованиями [8, 9] установлено, что Д-НАД действует как переносчик электронов в первом пункте сопряженного фосфорилирования и по сравнению с НАД легко преодолевает митохондриальный барьер.

Нами [3] была сделана попытка использовать эту способность Д-НАД с целью восстановления нарушенного процесса окислительного фосфорилирования при тиреоидной недостаточности. Полученные данные позволили выдвинуть предположение о возможности использования Д-НАД как вещества, способного подобно тироксину (в малых терапевтических дозах) восстанавливать систему должного энергетического тонуса, нарушенного при тиреоидной недостаточности. Это требовало оценки некоторых сторон возможного влияния Д-НАД на животный организм и, в частности, изучения его аллергогенных свойств.

Материал и методы

Наблюдения проводились на белых крысах, которым ежедневно в течение 14 дней вводился Д-НАД внутримышечно по 0,8 мг/100,0 массы животного. По истечении указанного срока крысы были разделены на три группы, каждая из которых исследовалась в три срока, считая с начала инъецирования Д-НАД, на 14, 21 и 30-й дни.

Тестами служили: лапочная проба, реакции бласттрансформации (РБТЛ), торможения миграции лимфоцитов (РТМ) и показатель л/п активности (отношение лимфоцитов/полинуклеаров в периферической крови). До постановки основных опытов были определены максимальные дозы препарата, которые во всех перечисленных тестах не вызывали никаких отклонений у интактных крыс. При постановке лапочной пробы в ладонную поверхность одной из передних лапок вводился 0,1 мг препарата в 0,1 мл физиологического раствора, а в контрольную—0,1 мл физиологического раствора. Учет результатов производился через 48 часов по общепринятой методике. Реакция бласт-

трансформации ставилась по методу И. И. Копелян и М. Г. Григорьевой [5]. Кровь бралась из аксиллярной вены. При определении рабочей дозы Д-НАД титрация производилась во флаконах с различными дозами препарата (0,025; 0,05; 0,1 и 0,2 мг/мл). Параллельно проводились наблюдения с добавлением к культуральной среде ФГА и без стимуляторов. Оптимальной оказалась доза Д-НАД 0,025 мг/мл, большие дозы отчетливо активировали бластную трансформацию лимфоцитов.

Для РТМ лейкоциты выделялись из крови по несколько модифицированному нами методу Л. Н. Маркарян [6].

Постановка и учет РТМ осуществлялись в агарозе по методике Clausen [10] в модификации Э. В. Гюллинг с соавт. [4].

Как при определении рабочей дозы Д-НАД, так и при постановке основных опытов осадок лейкоцитов ресуспендировался в 2 мл среды 199, в которую вводилась соответствующая доза препарата. После 30 мин инкубации при 37°C суспензия вновь центрифугировалась и осторожно отсасывалось 1,6 мл надосадочной жидкости. Подсчет клеток производился в камере Горяева, и в лунки в агарозе вносились лейкоцитарная взвесь, содержащая около 5×10^5 клеток. Д-НАД в дозе 0,025 мг/мл не изменял индекса миграции. В присутствии больших доз препарата индекс миграции лимфоцитов увеличивался.

Л/п активность определялась в мазках крови из хвостовой вены. Мазки фиксировались смесью Никифорова и окрашивались азури-эозином. Высчитывалось в сумме до 100 полинуклеаров и лимфоцитов. Полученное соотношение определяло л/п активность.

Результаты и обсуждение

Экспериментальные данные суммированы в таблице.

Таблица
Показатели РТМ, РБТЛ и лапочной пробы у крыс под влиянием Д-НАД

Дни исследований	Лапочная проба		Индекс миграции лимфоцитов	РБТЛ	
	контрольная	опытная		спонтанная	стимулиров. Д-НАД
	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$
14-й	$0,5 \pm 0,08$	$0,83 \pm 0,19$	$1,51 \pm 0,39$	$3,75 \pm 0,31$	$9,66 \pm 0,93$
21-й	$0,25 \pm 0,07$	$0,42 \pm 0,06$	$1,24 \pm 0,16$	$4,66 \pm 0,61$	$9,6 \pm 1,12$
30-й	$0,2 \pm 0,02$	$0,17 \pm 0,02$	$1,23 \pm 0,09$	$4,1 \pm 1,12$	$8,1 \pm 1,16$
Контрольный показатель	—	—	$1,0 \pm 0,09$	—	—

Приведенный цифровой материал свидетельствует о том, что введение Д-НАД не вызывает у крыс статистически достоверного утолщения лапок ($P > 0,05$), хотя у отдельных животных намечались небольшие изменения на 14 и 21-й дни исследования. В то же время была выявлена отчетливая тенденция нарастания индекса миграции лимфоцитов, а РБТЛ в присутствии Д-НАД во все сроки исследования была значительно интенсивнее по сравнению с контрольными показателями ($P <$

0,01). В препаратах в большом количестве обнаруживались и бласт-трансформированные моноциты. Л/п активность, по мнению авторов, предложивших и пользовавшихся этим тестом, не является прямым иммунологическим показателем, но в определенной степени отражает сдвиги, происходящие в иммунокомпетентной ткани, и нередко изменяется параллельно с некоторыми иммунными реакциями, например, с числом антителообразующих клеток в селезенке [12]. Полученные нами данные в отношении количественного соотношения лимфоцитов и полинуклеаров оказались малоинформативными, но было выявлено, что чем продолжительнее вводился крысам Д-НАД, тем больше возрастало число больших лимфоцитов (до 60% при норме 5—8%) Около 50% больших лимфоцитов имели постоянные признаки активации: уменьшенное ядерно-плазменное отношение, базофилию цитоплазмы, разрыхление хроматина, наличие нуклеолей, отдельные клетки находились в фазе плазматизации.

Таким образом, результаты кожного теста (лапочная проба), который является важной моделью при изучении эффекторных механизмов клеточного иммунитета и прообразом его основных феноменов, и реакции торможения миграции, проявляющейся у животных с ярко выраженной повышенной чувствительностью замедленного типа [7], недостаточны для того, чтобы рассматривать Д-НАД как препарат, обладающий аллергогенными свойствами. Сопоставление данных по различным тестам свидетельствует о том, что воздействие Д-НАД на лимфоидные клетки напоминает влияние таких митогенов, как ФГА, который вызывает бласттрансформацию интактных и стимулированных Т-лимфоцитов и активирует продукцию лимфокинов. Не исключено, что положительный кожный тест у некоторых крыс и увеличение индекса миграции мононуклеаров являются результатом выработки активированных Д-НАД лимфоцитами фактора, усиливающего миграцию макрофагов и кожнореактивного фактора (КРФ). Возможность синтеза КРФ *in vivo* под влиянием митогенов показана рядом авторов [1].

Полученные данные диктуют необходимость продолжения изучения характера и механизма влияния Д-НАД на иммунологическую реактивность организма.

ЦНИЛ Ереванского медицинского института,
Институт общей гигиены и профзаболеваний им. Н. Б. Акопяна

Поступила 25/V 1981 г.

Ջ. Ա. ԱՀԱՐՈՆՈՎԱ, Մ. Բ. ԱՎԵՏԻՔՅԱՆ, Է. Ի. ԳԱՍՊԱՐՅԱՆ, Ս. Ա. ԲԱՅԲՈՒՐՔՅԱՆ

Դ-ՆԱԴ-Ի ԱԼԵՐԳԱՄԻՆ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅԱՆ ՄԱՍԻՆ

Դ-ՆԱԴ-ի ալերգածին հատկությունները փորձարկված են սպիտակ առնետների վրա:

Դանդաղեցած գերզգայնության ռեակցիաների ցուցանիշների հիման վրա (մաշկային փորձ, լիմֆոցիտների բլաստոթանսֆորմացիայի ռեակցիա *in vitro* և լիմֆոցիտների տեղաշարժման արգելակման ռեակցիա ագարոզայում) հայտնաբերված է, որ Դ-ՆԱԴ-ը լիմֆոցիտների վրա իր ազդեցության բնույթով նմանվում է ֆրոնոհեմագլյուտինինի տիպի միտոգեններին:

ON THE STUDY OF ALLERGOGENIC PROPERTY OF D-NAD

D-NAD was tasted as allergogenic substance on albino rats. With the help of reactions of low type hypersensitivity (skin test, inhibition of lymphocytes migration in agarose and blasttransformation in vitro) it is established that D-NAD has mytogenic property as PHA.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Авербах М. М., Гергерт В. Я., Литвинов В. И. Повышенная чувствительность замедленного типа и инфекционный процесс. Иркутск, 1977.
2. Бунятян Г. Х., Мовсесян С. Г. Вопросы биохимии мозга АН Арм. ССР, 1966, т. 2, стр. 5.
3. Гаспарян Э. И. В печати.
4. Гюллинг Э. В., Помяткина М. П., Земляная И. А. Лаб. дело, 1977, 12, стр. 733.
5. Копелян И. И., Григорьева М. П. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1972, 8, стр. 119.
6. Маркарян Л. Н. Лаб. дело, 1969, 3, стр. 177.
7. Медуняц Н. В., Литвинов В. И., Мороз А. М. В кн.: Медиаторы клеточного иммунитета и межклеточные взаимодействия. М., 1980, стр. 217.
8. Мовсесян С. Г., Бунятян Г. Х. ДАН Арм. ССР, 1969, т. 49, 2, стр. 98.
9. Мовсесян С. Г. Вопросы биохимии мозга АН Арм. ССР, 1968, т. 8, стр. 19.
10. Clausen J. E. Acta Allergol. (Kbh), 1971, 26, 1, 56.
11. Metcalf D. Ann. N. J. Acad.Sci. 1958, 73, 113.
12. Mizutani A., Mizutani T. Chem. and Pharm. Bull., 1977, 25, 7, 1601.

УДК 577.175.522.085

Р. Р. КАЗАРЯН, Ю. М. ДЕМИН, М. А. ДАВТЯН

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ АДРЕНАЛЭКТОМИИ ПРИ БЕЛКОВОЙ РЕГУЛЯЦИИ ИНДУКЦИИ КАТАБОЛИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ПЕЧЕНИ ЖИВОТНЫХ

Проведен полный флуоресцентный анализ хроматина, выделенного из печени крыс при высокобелковой диете и введении смеси аминокислот, после удаления надпочечников. Показано, что адреналэктомия не предотвращает в флуоресцирующих свойствах хроматина характерные для состояния индукции катаболических ферментов флуоресцентные изменения.

Известно, что, помимо гормонов, существует целый ряд других факторов негормональной природы (голодание, высокобелковая диета, холодовой стресс, тиаминный дефицит, введение смеси аминокислот), вызывающих в печени животных индукцию аргиназы, гистидазы, урокиназы, триптофанпирролазы, тирозинтрансминазы и, очевидно, многих других катаболических ферментов аминокислотного обмена [8—11].

Ранее нами с помощью метода флуоресцентной спектроскопии было показано, что хроматин печени интактных животных имеет флуоресценцию при 340 нм, обусловленную остатками триптофанилов, в то время как у индуцированного гидрокортизоном хроматина обнаружива-