

THE ROLE OF BIOELEMENTS IN FORMATION OF GALLSTONES IN CONNECTION WITH GEOGRAPHICAL PLACES

The spectral analyses on gallstones have shown that the main bioelements, such as Fe, Ti, Mn, Si, Al have direct influence on the formation of gallstones.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беловолов А. В. Дисс. канд. Донецк, 1970.
2. Бондарев Л. Г. Ландшафты, металлы и человек. М., 1976.
3. Войнар А. О. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека. М., 1953.
4. Крисс Е. Е., Яцимирский К. Б. Успехи химии, 1966, т. 35, вып. 2, стр. 37.
5. Крутникова Н. А. Дисс. канд. Винница, 1974.
6. Максимов В. А., Бессонова Н. В. Лаб. дело, 1979, 3, стр. 23.
7. Мирзоян М. И., Народницкая Р. В. Секрция компонентов желчи как показатель состояния фракции печени при заболеваниях желчевыводящих систем. М., 1976.
8. Петросян А. Г. Ж. Экспер. и клин. мед. АН Арм. ССР, 1980, 1, стр. 98.
9. Ревуцкий Б. И. Сов. мед., 1973, 11, стр. 89.
10. Сорока В. Р. Дисс. докт. Донецк, 1965.
11. Флеровский И. А., Комбринский Е. С. Холестерин крови и желчи при холецистите. Сб. трудов ХГМИ. Хабаровск, 1969.

УДК 616—018.2:612.015.1

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

АКТИВНОСТЬ АМФ- И АДЕНОЗИНДЕЗАМИНАЗЫ ЛЕЙКОЦИТОВ ПРИ ПЕРИОДИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ

Работа посвящена исследованию активности некоторых ферментов нуклеотидного и нуклеозидного обмена при периодической болезни в лейкоцитах периферической крови.

Полученные данные свидетельствуют о подавлении активности аденозиндезаминазы при периодической болезни (ПБ), осложненной амилоидозом, и отсутствии различия в регуляторных свойствах АМФ-дезаминазы лейкоцитов здоровых людей и больных ПБ.

В патогенезе периодической болезни рядом исследователей придается большое значение генетически обусловленному иммунодефицитному состоянию и ослаблению иммунологического контроля, связанного с деятельностью Т- и В-лимфоцитов [1, 16].

Известно, что в развитии многих аутосомальных рецессивных заболеваний, характеризующихся нарушениями клеточного и гуморального иммунитета, важное значение имеет изменение активности ряда ферментов нуклеотидного и нуклеозидного обмена. В частности, показано, что подавление иммунной функции лейкоцитов при такого рода заболеваниях связано с дефицитом пуриннуклеозидфосфорилазы [8] и аденозиндезаминазы [7].

В регуляции уровня аденозина в организме, наряду с 5-нуклеотидазой и аденозиндезаминазой, принимает участие также АМФ-дезамина-

наза, изученная нами ранее в гемолизате эритроцитов больных ПБ. Было выявлено, что при данном заболевании в регуляции активности АМФ-деаминазы наблюдаются значительные сдвиги [2].

В настоящей работе проведено исследование аденозин- и АМФ-деаминазной активности в лейкоцитах больных ПБ и изучены некоторые регуляторные особенности АМФ-деаминазы лейкоцитов.

Материал и методика

В экспериментах были использованы лейкоциты, выделенные из крови 95 доноров и 86 больных абдоминальной, торакальной, торако-абдоминальной или суставной формами периодической болезни. У 17 больных наблюдалось осложнение заболевания амилоидозом. Больные были в возрасте от 17 до 60 лет, из них 42% обследованных составляли женщины и 58% — мужчины.

Венозную кровь (7,5 мл) смешивали с 0,5 мл 2,5% поливинилового спирта и с 2 мл 5% цитрата натрия. После отстаивания в течение 45—60 мин при 37°C плазму отсасывали и центрифугировали в течение 10—15 мин при 1500 об/мин. Эритроциты осадка лизировали водой (1,5 мл), добавляли 0,5 мл 0,6 М раствора KCl и 1,0 мл физиологического раствора и центрифугировали при 800 об/мин для удаления оболочек гемолизированных эритроцитов. Эту процедуру повторяли 2—3 раза. Чистоту полученных лейкоцитов проверяли микроскопически. Выделенные лейкоциты разрушали гомогенизированием и трехкратным замораживанием и оттаиванием. Полученную суспензию использовали как источник фермента. Реакционная смесь в объеме 1,5 мл содержала 0,4 мл или 0,8 мл ферментного препарата (1,2—1,7 мг или 2,4—3,4 мг белка соответственно), 7,5 мкмоль АМФ или аденозина и в зависимости от условий опыта 3 мкмоль АТФ, АДФ, ГТФ, неорганического фосфата, 0,5 мг гексокиназы, 50 мкмоль KCl и Трис-HCl буфера, pH 7,0.

АМФ-деаминазную активность определяли по приросту аммиака при 30-минутной инкубации при 37°C. Аммиак определяли микродиффузионным способом [4], неорганический фосфат — по методу Lowry, Lopes [10], содержание белка — по Lowry и сотр. [11]. Аденозин- и АМФ-деаминазную активность выражали в мкг аммиака на 1 мг белка.

Результаты и обсуждение

Проведенные нами исследования показали, что аденозиндеаминазная активность лейкоцитов здоровых людей и больных различными формами ПБ одинакова и составляет 6,37 и 6,7 мкг аммиака/мг белка соответственно (табл. 1).

Определение активности вышеуказанного фермента у группы больных ПБ, осложненной амилоидозом, показало, что при прогрессировании заболевания происходит понижение активности аденозиндеаминазы лейкоцитов на 32%. Полученный нами факт представляет определенный интерес в свете суждения о течении ПБ и осложнении ее амилоидозом.

Таблица 1
Активность аденозиндезаминазы (в $\mu\text{кг}$
аммиака/ мг белка) лейкоцитов крови здоровых
людей и больных ПБ

Контроль ($n=32$)	ПБ ($n=21$)	ПБ с переходом в амилоидоз ($n=17$)
$6,37 \pm 0,28$	$6,7 \pm 0,39$ $P=0,5$	$4,2 \pm 0,23$ $P < 0,001$

Примечание. В таблице даны средние показатели ($M \pm m$), n — число обследованных.

Следует отметить, что при ряде заболеваний (острый или хронический лейкоз, наследственные аномалии скелета, макроглобулинемия Вальденстрема, острая дизентерия у детей и т. д.) по изменению активности аденозиндезаминазы в сыворотке или форменных элементах крови судят о течении заболевания, о нарушении функционального состояния печени и об эффективности выбранного метода лечения [12, 19, 20].

Другим ферментом, играющим немаловажную роль в обмене пуриновых нуклеотидов, является АМФ-дезаминаза, обнаруженная почти во всех тканях. АМФ-дезаминаза эритроцитов человека и животных хорошо изучена. Этому ферменту придается особенно важная регуляторная роль в обмене адениннуклеотидов в эритроцитах, так как последние не способны синтезировать пуриннуклеозиды или их фосфорные эфиры из предшественников или превращать инозидную кислоту в 5-АМФ [6].

АМФ-дезаминаза найдена и в других форменных элементах крови. Так, установлено, что непосредственное дезаминирование АМФ возможно в полиморфноядерных лейкоцитах [13, 14] и в тромбоцитах, в которых АМФ-дезаминаза обеспечивает стабилизацию аденилатного энергетического заряда [9].

Проведенные нами исследования показали, что АМФ-дезаминазная активность лейкоцитов здоровых людей и больных ПБ значительно выше аденозиндезаминазной активности и составляет 30,5 и 24,1 $\mu\text{кг}$ аммиака/ мг белка соответственно (табл. 2).

Этот фермент, в отличие от аденозиндезаминазы, принадлежит к числу регуляторных, аллостерических ферментов.

Лейкоциты, выделенные в бескальевой среде (на гепарине, желатине, бидистиллированной воде и т. д.), были полностью лишены АМФ-дезаминазной активности.

Таким образом, оказалось, что для выявления АМФ-дезаминазной активности в лейкоцитах необходимо наличие в среде их выделения ионов калия. При дополнительном внесении в пробу ионов калия (50 $\mu\text{М}$ KCl), как видно из табл. 2, изменений в АМФ-дезаминазной активности не наблюдается.

Следует отметить, что в ряде исследований АМФ-дезаминаза не проявляет активности в скелетных мышцах крысы, в экстрактах клеток

асцитной опухоли Эрлиха, эритроцитах человека и т. д. при низкой концентрации субстрата в отсутствие ионов калия [3].

Таблица 2

Действие различных эффекторов на АМФ-деаминазную активность (в мкг аммиака/мг белка) лейкоцитов крови здоровых людей и больных ПБ

Регуляторы Группа	АМФ (n=18)	АТФ (n=10)	АДФ (n=10)	K ⁺ (n=10)	Гексокиназа (n=10)	ГТФ (n=10)	Ф _n (n=10)
Контроль	30,5±1,0	43,4±1,5 P<0,001	51,9±2,8 P<0,001	28,1±0,9 P<0,025 >0,01	31,0±0,8 P=0,5	29,3±0,8 P<0,2 >0,1	30,1±0,8 P=0,5
ПБ	24,1±0,8 P<0,001	38,9±1,2 P<0,001	39,0±1,4 P<0,001	27,0±0,8 P<0,05 >0,025	26,3±0,8 P<0,1 >0,05	25,2±0,6 P<0,4 >0,2	25,0±0,7 P<0,4 >0,2

В наших экспериментах выделение лейкоцитов проводили в среде, содержащей 0,6 М KCl, вследствие чего используемые нами пробы для определения АМФ-деаминазной активности содержали 3,0—3,5 М K⁺ на пробу (количество калия в пробе было определено методом пламенной фотометрии). При промывании лейкоцитов водой до полного удаления ионов калия активность АМФ-деаминазы резко падала и не проявлялось активирующее действие АТФ и АДФ.

К аллостерическим регуляторам АМФ-деаминазы различных тканей относятся нуклеотиды—АТФ, АДФ, ГТФ и т. д. [15, 18]. Известно, что во многих тканях (мозг, почки, печень) наиболее эффективным активатором АМФ-деаминазы является АТФ [18]. В скелетных мышцах наибольшее количество аммиака из АМФ образуется в присутствии АДФ [17]. В эритроцитах человека, по данным некоторых авторов, присутствие АТФ делает АМФ-деаминазу более чувствительной к воздействию одновалентных катионов [5]. В ряде тканей (мозг, скелетные мышцы) АМФ-деаминазная активность стимулируется дрожжевой гексокиназой.

Данные, приведенные в табл. 2, свидетельствуют о том, что активность АМФ-деаминазы у больных ПБ на 20% ниже, чем в контроле. При этом показано, что стимулирующее действие АТФ и АДФ на активность фермента у больных ПБ проявляется одинаково, в то время как у здоровых людей эффект АДФ более выражен. Образование аммиака из АМФ происходит при непосредственном ее дезаминировании, так как лейкоциты обладают очень незначительной АМФ-фосфогидролазной активностью. В условиях наших экспериментов фосфор из АМФ почти не образуется (1,5 мкг/мг белка).

Из табл. 2 видно также, что дрожжевая гексокиназа не оказывает какого-либо воздействия на АМФ-деаминазную активность лейкоцитов. ГТФ и неорганический фосфат (Ф_n), будучи мощными ингибиторами АМФ-деаминазы из различных источников, не эффективны в отношении фермента лейкоцитов.

Не исключено, что в условиях наших экспериментов необычная, по сравнению с АМФ-деаминазой из других источников, регуляция фер-

мента лейкоцитов, проявляющаяся в отсутствии эффекта ингибиторов и гексокиназы, обусловлена наличием в среде их выделения ионов калия.

Ранее нами было показано, что АМФ-деаминаза гемолизатов эритроцитов больных ПБ утрачивает способность активироваться одновалентными катионами и значительно эффективнее, по сравнению с контролем, ингибируется ионами хлора [2].

В данном исследовании нам не удалось обнаружить в отличие от фермента эритроцитов разницы в регуляторных свойствах АМФ-деаминазы лейкоцитов здоровых людей и больных ПБ.

Институт биохимии АН Арм. ССР, кафедра госпитальной терапии

Ереванского медицинского института

Поступила 21/X 1981 г.

Է. Ա. ԳՈՒԼԻԱՆ, Է. Ե. ՆԱԶԱՐԵՏԻԱՆ, Է. Ն. ՕՍԻՊՈՎԱ, Ա. Վ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆԻԱՆ

ԱՄՖ — ԵՎ ԱԴԵՆՈՑԻՆԵԶԱՄԻՆԱԶԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ ԼԵՅԿՈՑԻՏՆԵՐՈՒՄ ՊԱՐԲԵՐԱԿԱՆ ՀԻՎԱՆԴՈՒԹՅԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ

Ուսումնասիրվել են նուկլեոտիդային և նուկլեոզիդային փոխանակությանը մասնակցող մի շարք ֆերմենտների ակտիվության փոփոխությունները ծայրամասային արյան լեյկոցիտներում պարբերական հիվանդության (ՊՀ) ժամանակ: Ցույց է տրված, որ ՊՀ ժամանակ ընկճվում է ադենոզինդեզամինազի ակտիվությունը, երբ ՊՀ բարդանում է ամիլոիդոզով: Միաժամանակ ստացված տվյալները վկայում են այն մասին, որ լեյկոցիտների ԱՄՖ-ի դեզամինազի ակտիվության կարգավորման տարբերություններ չկան, ինչպես առողջների, այնպես էլ ՊՀ տառապողների մոտ:

E. A. GULIAN, E. Ye. NAZARETIAN, E. N. OSIPOVA, A. V. HAROUTYUNIAN

AMP-DEAMINASE AND ADENOSINE DEAMINASE ACTIVITIES OF LEUKOCYTES IN PERIODICAL DISEASE

The activity of some enzymes of nucleotide and nucleoside metabolism in leukocytes of patients with periodical disease was investigated.

The data obtained have shown the decrease in adenosine deaminase activity in cases complicated by amyloid disease.

Simultaneously it was not observed any difference in AMP-deaminase activity and its regulation in leukocytes of patients with different kinds of periodical disease.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Айвазян А. А. и др. Ж. exper. и клин. мед. АН Арм. ССР, 1977, т. 17, стр. 37.
2. Арутюнян А. В., Назаретян Э. Е., Гулян Э. А. Ж. exper. и клин. мед. АН Арм. ССР, 1981, т. XXI, 2, стр. 213.
3. Пеккель В. А. Успехи современной биол., 1980, т. 89, стр. 377.
4. Силакова А. И., Труш Г. П., Являкова А. А. Вопр. мед. химии, 1962, т. 3, стр. 538.
5. Askari A., Franklin I. E. Biochem. Biophys. Acta, 1965, 110, p. 162.
6. Chun-Yet Lian and Donald R. Harkness. Biochem. Biophys. Acta, 1974, 341, 27.
7. Daddona P. E., Kelley W. N. Mol. and Cell. Biochem., 1980, 29, 91.

8. Giblett E. R., Anderson J. E., Cohen F., Pollara B., Meuwissen H. J. *Lancet*, 1972, 2, 1067.
9. Holmsen H., Ostvold A., Pimentel M. Tromb. and Haemost., 1977, 37, 380.
10. Lowry O. H., Lopes J. J. *Biol. Chem.*, 1946, 182, 421.
11. Lowry O. H., Rosebrough N. G., Farr A. L. and Randall R. T. *J. Biol. Chem.*, 1951, 193, 265.
12. Ludwig H., Kurmits R., Pletschmann H., Muller M. M. *Blut*, 1979, 39, 309.
13. Matsumoto S. S., Ratulo K. O., Selgmiller I. E. J. B. C., 1979, 254, 8956.
14. Newby A. C. *Biochem. J.*, 1980, 186, 907.
15. Ogasawara N., Yoshino M. and Kawamura Y. *Biochem. Biophys. Acta*, 1972, 258, 680.
16. Pries R. J., Nixon P. K. *Ann. Intern. Med.*, 1959, 51, 1253.
17. Ronca G., Raggi A. and Ronga-Testoni S. *Biochem. Biophys. Acta*, 1967, 167, 626.
18. Setlow B. and Lowenstein J. M. *J. Biol. Chem.*, 1967, 242, 607.
19. Stillvan J. Z., Osborne W. R. A., Wedgwood R. J. *Brit. J. Haematol.*, 1977, 37, 157.
20. Zajackowski J., Reubi J., Joller P., Frater M., [Peuss H. J., Hitzig W. H. Zellweger C. *Res. Exp. Med.*, 1979, 176, 81.

УДК 616.126—002.77

Э. Р. ПАШИНЯН, А. Г. АНТОНЯН

ВЛИЯНИЕ СТРЕПТОЛИЗИНА «О» НА МИГРАЦИЮ КЛЕТОК В «КОЖНОМ ОКНЕ» ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СТЕПЕНЯХ АКТИВНОСТИ РЕВМАТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА

Приведены результаты исследования влияния стрептолизина О на миграцию клеток в «кожном окне» у больных при ревматическом процессе.

Выявлено отчетливое подавление миграции мононуклеаров в неактивной фазе ревматического процесса, что указывает на наличие ГЗТ у больных. При умеренной и выраженной активности ревматического процесса миграция мононуклеаров почти не подавлялась. Недостаточность кровообращения заметных изменений на миграцию клеток не оказывала.

В патогенезе системных поражений соединительной ткани при коллагенозах, в том числе при ревматизме, гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) придается большое значение [3]. Одним из тестов для определения ГЗТ является тест торможения миграции макрофагов. Ряд авторов показали, что воздействие специфического антигена подавляет миграцию сенсibilизированных макрофагов [1, 7, 10—14]. Показано, что реакцию подавления макрофагов различными антигенами можно использовать с диагностической целью и для установления десенсibilизации организма после проведенного лечения при ряде заболеваний, в том числе и при ревматизме [2, 7]. Механизм подавления миграции окончательно не выявлен. Ясно лишь, что реакция торможения является характерным показателем ГЗТ [8] и выявляется только тогда, когда в популяции клеток имеются сенсibilизированные к данному антигену лимфоциты. В этом случае появляется фактор торможения миграции макрофагов, который, взаимодействуя с макрофагами, подавляет их миграцию. Макрофаги являются как бы клетками-индикаторами [9] к сенсibilизированным лимфоцитам.