

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ
ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ
Հ Ա Ն Դ Ե Ս

БИОЛОГИЧЕСКИЙ
Ж У Р Н А Л
АРМЕНИИ

Ներսիսյան Վ. Թ., Մեծտիրության Ի. Գ., Հակոբյան Լ. Պ., Մասայելյան Ն. Օ. Արյան իմունոգենետիկ ֆակտորների ուսումնասիրությունը Հայերի անակնցությունում	87
Ալեխանյան Յու. Պ., Զալադյան Վ. Ա., Քարյան Մ. Վ., Գասպարյան Է. Տ., Հակոբյան Ն. Գ., Մովսեսյան Ս. Վ., Պետրյան Ս. Գ., ՄԱՄԱ Ներսիսյանի կուլտիվացվող բջիջներով և նրանց միկրոօրգանիզմի միգրանսկային հիբրիդով իմունիտոգենետիկ իմունոլոգիական ուսումնասիրությունը	95
Ղամբարով Ս. Ա., Դանասովարով Ա. Վ., Մարկուսյան Կ. Մ., Պապյան Հ. Հ. Պարերա- հան իմանդության ժամանակ լակտանյան էրեկտիլ ադանանտությունները	99
Քառույան Ե. Խ., Ասովաձառյան Վ. Ա., Սարգսյան Յ. Յ., Հարությունյան Խ. Ս. Պարերական հիմանդության որոշ գենետիկական ապակտեր	102
Ռախչիկյան Թ. Զ., Ազատության Ա. Վ., Հակոբյան Է. Ս., Մկրտչյան Տ. Ա., Արտի- յան Ն. Ա. Դերմայի մակրոֆագ բջիջները	106
Բախչիկյան Մ. Տ., Հյարդի մակրոֆագ բջիջները	111
Կառավարյան Ս. Հ., Գալսյան Ա. Ա., Ներսիսյան Ս. Ե. և Լիսապետյանի ազդեցու- թյունը առնետների սերմնածորանի կմկոպակնության վրա	115
Կարյան Կ. Ա., Դավթյան Մ. Ա., Սրապիսյան Խ. Ս. Հյարդի արգինազային ակտիվու- թյունների դիմամիկան կապիտակով ներսիսյանները	119
Ամաղյան Մ. Գ., Դիարյան Լ. Ս. Լիպիդների դերոսիոգադուր առնետների գլխուղեղի սպիրտը ապոմոններում առաջացված և քերմային ալլոպատերի ժամանակ	123
Կառավարյան Լ. Մ., Սարգսյան Ժ. Ա., Ասիկյան Ս. Գ., Էնտոպիոնոկոպյան կորիզի դերը առնետների պայմանական ուղեղային գործունեության մեջ	127
Սարգսյան Ս. Հ., Քարյան Է. Ա., Խաչատրյան Ս. Խ. Նաորիոմի և կայիումի լիկնոթիների սեղանայինում սպիտակ առնետների արյան մեջ և միոկարդում նաորիոմի հիդրոկարբոնատի և կայիումի կարբոնատի ազդեցության ժամանակ	131
Խաչատրյան Ս. Հ., Նազարյան Է. Խ., Դավթյան Ա. Ա., Ստեփանյան Ս. Գ., Ներսիսյան Ս. Հ. Հիպերբարիայի պայմաններում ածխաջրառային գլուխակություն որոշ կոմեր	136
Միկայելյան Է. Մ., Լառազյան Կ. Գ., Հովսեփյան Ս. Ս., Էնտոպիոնոկոպի որպես լիպիդների գերօրիոգաման կարգավորիչ առնետի ժամանակ	140
Քառույան Է. Խ., Կառավարյան Ս. Հ., Սարգսյան Ս. Գ., Լառազյան Կ. Գ., Էնտոպիոնոկոպի առնետների ուսումնասիրությունը	144
ՀԱՄԱԿԱՐԴ ՀԱՊԱՐԿՈՒԹՅՈՒՆ	
Բակունց Գ. Գ. Լիմոնոգրանների կենսագործունեության արդյունքների ազդեցությունը կառու- թյունայինների պայմանականության վրա արյան մեջ	149
Կերիզյան Լ. Ս., Միկայելյան Ս. Յ., Գերօրիոգաման ուղեղային ազդեցությունը վայժարի պայմաններում ուղեղային մեջ	151
Քուրյան Կ. Հ., Հովսեփյան Գ. Խ., Սարգսյան Ս. Ա., Արիկյան Կ. Վ., Կարգավորիչ առնետների պայմանականության պայմանականության ուղեղային, լարդում և երկրամեկուրում առնետների ընթացում	153
Հովսեփյան Ս. Ա., Գերօրյան Ժ. Ա., Քարյան Մ. Յ., Գերօրյան Կ. Կ., Կարգավորիչ ակտիվության կարգավորման մեխանիզմի շուրջ	156
Հովսեփյան Ս. Ա., Գերօրյան Ժ. Ա., Արիկյան Կ. Կ., Կարգավորիչ առնետների ազդեցությունը Լ. Գերօրյանի և Լ. Կարգավորիչի ղեկավարման ինտերակցիայի վրա սպիտակ առ- նետների արիկյանների հիդրային դերում	158
Դավթյան Ս. Վ., Ավետիսյան Ս. Գ., Ալլախյան Լ. Գ., Պապյան Ս. Ա., Մացոյան Ս. Գ. Արիկյանի որոշ առնետների ակտիվության ուսում- նասիրությունը	161
Առախյան Լ. Մ. Առնետների ուղեղի և լարդի ֆոսֆոլիպիդների նրանց էթանոլ և իթանոլային ներմուծելիս	163
Ջիվանյան Կ. Ա., Տեր-Օհանյան Կ. Ա., Դիլիկյան Ս. Ս. Տնային փափուկ էնթալու- մառային գլուխի ներգաղանկային ղեկավարի ուղեղային մասին միաժամանակ կատարված լարդի մասնաճատման միջոցով	166

Նևսիայան Վ. Կ., Մարտիրոսյան Խ. Գ., Հակոբյան Լ. Պ., Մուսայելյան Ն. Ս. Արյան խմունքներով ֆանտաստիկ ռոմանտիկական հայերի ամենակենսոթյունում	87
Արևիկյան Յու. Բ., Ազատյան Կ. Լ., Թաթևյան Մ. Վ., Գասպարյան Է. Տ., Հակոբյան Ն. Գ., Մովսեսյան Լ. Վ., Պետրոսյան Ս. Գ. XXII-րդ դարի արվեստի կուլտուրայի բնութագրումը և նրանց փոփոխության մեջ առկա փոփոխությունները	95
Վասիլյան Լ. Ս., Մանուկյան Լ. Վ., Մարգարյան Կ. Լ., Պապյան Զ. Զ. Պարբերա- կան փոփոխության բնական փոփոխության էությունը, առանձնահատկությունները	99
Թորոսյան Ե. Խ., Աստվածատուրյան Վ. Լ., Մարգարյան Խ. Տ., Հարությունյան Խ. Մ., Պարբերական փոփոխության որոշ գնահատականներ	102
Բախչիյան Է. Զ., Ազատյան Լ. Վ., Հակոբյան Է. Ս., Բլաշտյան Տ. Ա., Արտիմ- յան Ն. Ա. Դերմանի մանրագիտության բնութագրումը	106
Բախչիյան Մ. Զ., Կարգի մանրագիտության բնութագրումը	111
Կարապետյան Խ. Զ., Պապյան Լ. Ս., Ներսիսյան Լ. Ս. և Կարապետյանի ազդեցու- թյունը առանձինների մեջ մասնավորապես կոմունիստական վրա	115
Կալյան Կ. Լ., Կալյան Լ. Ս., Սարգսյան Խ. Ս., Կարգի արդիականության ակտիվու- թյունների դինամիկան կարգիտական անցումներում	119
Ամառյան Մ. Գ., Կալյան Լ. Ս. Կալյանների գերագույնագույնը առանձինների զբաղմունքի տարբեր աստիճաններում հասարակական և զբոսային արվածքների ժամանակ	123
Կարապետյան Լ. Ս., Մարգարյան Խ. Ս., Մանուկյան Ս. Գ. Կենսակենսակցության կործակ- իչը առանձինների պայմանական օժիշկների զբաղմունքի մեջ	127
Արտիսյան Խ. Զ., Սարգսյան Է. Ա., Կալյանյան Լ. Ս., Կարգիում և կալիումի կենսական փոփոխության ակտիվությունը առանձինների մեջ և միջակարգում	131
Արտիսյան Խ. Զ., Կալյանյան Լ. Ս., Կալյանյան Լ. Ս., Կալյանյան Լ. Ս., Կալյանյան Լ. Ս., Կալյանյան Լ. Ս. Կալյանյանի պայմաններում առանձինների փոփոխության որոշ կողմերը	136
Արտիսյան Է. Ս., Կալյանյան Կ. Գ., Հովսեփյան Լ. Ս., Կալյանյանի որակա- կալիումի գերագույնագույնը կարգավորող ակտիվ ժամանակ	140
Սարգսյան Է. Խ. Հայր Բեռնարդին գործի յարդի արդիականության հասարակ մարտան ակտիվությունը	144
ՀԱՄԱԿԱՐԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ	
Սարգսյան Գ. Գ. Կենսակենսակցության փոփոխությունների ակտիվությունը կալի- ումի փոփոխության ակտիվության վրա արդյունք	149
Կարգիյան Է. Ս., Արտիսյան Լ. Ս., Կարգիյան Լ. Ս. Կարգիյանի ակտիվությունը փոփոխության պայմաններում ակտիվության վրա	151
Թորոսյան Կ. Զ., Հակոբյան Կ. Խ., Մանուկյան Լ. Ս., Արտիսյան Է. Ս., Կարգիյան Լ. Ս., Արտիսյանի ակտիվությունը ակտիվության փոփոխության վրա	153
Հովսեփյան Լ. Ս., Կարգիյան Խ. Ս., Սարգսյան Լ. Ս., Կարգիյանի ակտիվության ակտիվության կարգավորման փոփոխության վրա	156
Հովսեփյան Լ. Ս., Կարգիյան Խ. Ս., Արտիսյան Լ. Ս. և Կարգիյանի ակտիվությունը Լ. Ս., Արտիսյանի և Լ. Ս. ակտիվության ակտիվության փոփոխության վրա	158
Կարգիյան Լ. Ս., Արտիսյան Լ. Ս., Կարգիյան Լ. Ս., Կարգիյան Լ. Ս., Կարգիյան Լ. Ս., Կարգիյան Լ. Ս. Կարգիյանի ակտիվության փոփոխության ակտիվության ակտիվության	161
Արտիսյան Լ. Ս., Արտիսյան Լ. Ս., Կարգիյան Լ. Ս., Կարգիյան Լ. Ս., Կարգիյան Լ. Ս., Կարգիյան Լ. Ս. Կարգիյանի ակտիվության փոփոխության ակտիվության ակտիվության	163
Հովսեփյան Կ. Լ., Տեր-Մանուկյան Կ. Լ., Կարգիյան Լ. Ս., Տեր-Մանուկյան Կ. Լ., Տեր-Մանուկյան Կ. Լ. Կարգիյանի ակտիվության փոփոխության ակտիվության ակտիվության	166

СОДЕРЖАНИЕ

Нерсисян В. М., Мартиросян Н. Г., Аюян Л. П., Мусаелян Н. О. Изучение иммуногенетических маркеров крови в популяции армяв	87
Александрян Ю. Т., Кизарян К. А., Татаян М. В., Гаспарян Э. Т., Аюлян Н. Г., Мовсисян А. В., Петросян С. Г. Иммунологическая реактивность мышей, иммунизированных культивируемыми клетками гепатомы XXII, и их микроклеточным межвидовым гибридом	95
Гамбаров С. С., Шахсунваров А. В., Маркосян К. М., Налян Г. А. Особенности феномена контрастусупрессии при периодической болезни	99
Торосян Е. Х., Астацатурян В. А., Саркисян Т. Ф., Арутюнян Р. М. Некоторые генетические аспекты периодической болезни	102
Бахшицян М. З., Азнаурян А. В., Аюбян Э. С., Белоусова Т. А., Артемян Н. А. Макрофаги дермы	106
Бахшицян М. З. Макрофаги печени	111
Карпетян Р. О., Галоян А. А. Влияние нейрогормона «С» и гексапептида на сокращение семазыносящего протока крысы	115
Галоян К. А., Дивтян М. А., Срапионян Р. М. Динамика изменений активности аргиназы печени под воздействием кардиоактивных нейрогормонов «К» и «С»	119
Аюмян М. Г., Диарян Л. С. Перекисное окисление липидов в различных отделах головного мозга при облучении и термическом ожоге	123
Карачетян Л. М., Саркисян Ж. С., Саскян С. Г. Роль энтопеллуккулярного ядра в условнорефлекторной деятельности крысы	127
Саруханиян Ж. Г., Бабаян Э. А., Хачатрян Р. Р. Распределение электролитов натрия и калия в крови и миокарде белых крыс при воздействии гидрокарбоната натрия и карбоната калия	131
Хачатрян С. А., Назаретян Э. Е., Казарян А. А., Армениян А. Г., Брицян Р. А. Некоторые стороны усредненного обмена в условиях гипербарии	136
Микаелян Э. М., Карачетян К. Г., Овакисян С. С. Элеутероксик — регулятор перекисного окисления липидов при стрессе	140
Барсегян Э. Х. Изучение процесса обратимой инактивации аргиназы печени лягушек <i>Rana ridibunda</i>	144

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Бакунц Г. Г. Действие продуктов жизнедеятельности лимфоцитов на содержание катехоламинов в крови	149
Григорян Л. С., Чиншигарян С. Ц. Влияние перекисдирированной олеиновой кислоты на плазмолитическую реакцию селезенки	151
Туришян Г. А., Аюлян Л. Е., Сифразян С. С., Априкян Г. В. Активность γ-глутамилтрансферазы в мозгу, печени, почках и селезенке белых крыс в онтогенезе	153
Оганесян А. С., Геворкян Ж. С., Бабаян М. А. К механизму регуляции активности глутамат-дегидрогеназы	156
Оганесян А. С., Геворкян Ж. С. Влияние адреналина и инсулина на интенсивность деаминации L-глутамата и L-аспартата в корковом слое почек белых крыс	158
Казарян А. В., Аветян М. Г., Алавердова М. Г., Наллян С. А., Назарян С. Г. Изучение противоопухолевой активности некоторых производных азридина	161
Аракелян Л. М. Фосфолипиды мозга и печени крыс при введении им этанола и этаноламина	163
Джигорцян К. А., Тер-Оганян К. С., Гейлахян О. Б. О регенерации эндокринной ткани поджелудочной железы домашних кур, зараженных вирусом гепатита	166

CONTENTS

<i>Nersisyan V. M., Martirosian I. G., Hakobian I. P., Musayelian N. O.</i> Study of Blood Immunogenetical Markers in Armenian Population	87
<i>Alexanian Yu. T., Kazarian K. A., Tatyán M. V., Gasparian E. T., Hachopian N. G., Mousesian A. V., Petroyan S. G.</i> Immune Reactivity of Mice, Immunized by Cultivated Cells of Hepatoma XXIIa and Their Microcellular Interspecies Hybrid	95
<i>Gumbarov S. S., Shachsuparov A. V., Martirosian C. M., Papian G. A.</i> Peculiarities of Contrasuppressive Phenomenon during Periodical Disease	99
<i>Torossian E. Kh., Astvatsatryan V. A., Sarkissian T. F., Arutyunian R. M.</i> Some Genetical Aspects of Periodical Disease	102
<i>Bakhshinyan N. Z., Aznarayan A. V., Acupjanyan E. S., Betonsava T. A., Artemyan N. A.</i> Dermal Macrophages	106
<i>Bakhshinyan M. Z.</i> Macrophages of Liver	111
<i>Karapetian R. H., Guloyan A. A.</i> Influence of Neurohormone "C" and Hexapeptide on Contractility of Rat VAS Deferens	115
<i>Guloyan K. A., Davtian M. A., Srapionian R. M.</i> Dynamics of the Liver Arginase Activity Changes under the Influence of the Cardiac Neurohormones "K" and "C"	119
<i>Amatjan M. G., Darian I. S.</i> Peroxidation of Lipids in Different Parts of the Brain under Conditions of Radiation and Thermic Burns	123
<i>Karapetian L. M., Sargsian Zh. S., Sahakian S. G.</i> Role of Entopeduncular Nucleus in the Conditioned Reflex Activity of Rats	127
<i>Serukhman Zh. H., Babayan E. A., Khachatryan R. R.</i> Distribution of Electrolytes of Sodium and Potassium in Blood and Myocardium of the White Rats during the Influence of Sodium Hydrocarbonate and Potash	133
<i>Khachatryan S. A., Nazaretian E. Ye., Kazarian A. A., Armenyan A. G., Eritsian R. A.</i> Some Aspects of the Carbo-Hydrate Metabolism under Conditions of Hyperbaria	136
<i>Mkayelian E. M., Karagouzyan K. G., Hovakimyan S. S.</i> <i>Eleuterococcus</i> as a Regulator of Lipid Peroxidation during Stress	140
<i>Barseghian E. Kh.</i> Study of the Process of Reverse Inactivation of Liver Arginase of the Frogs <i>Rana ridibunda</i>	144
SHORT COMMUNICATIONS	
<i>Bakunts G. G.</i> Influence of Products of Lymphocytes Vitality on the Content of Catecholamines in the Blood	149
<i>Grigorian L. S., Chilingarian S. Ts.</i> Effect of Peroxidized Oleic Acid on the Spleen Plasmocytic Reaction	151
<i>Tuorshian J. H., Hakobian G. E., Safrasian S. S., Aprikian G. V.</i> Activity of γ -Glutamyltransferase in White Rats Brain, Liver, Kidneys and Spleen in Intogenesis	153
<i>Hovhannesian A. S., Gevorgian Zh. S., Babayan M. A.</i> To the Mechanism of Regulation of the Activity of Glutamate Dehydrogenase	156
<i>Hovhannesian A. S., Gevorgian Zh. S.</i> Influence of Adrenalin and Insulin on the Intensity of Deamination of L-Glutamate and L-Aspartate in the Renal Cortex of White Rats	158
<i>Ghazarian A. V., Avetian M. G., Allavardova L. G., Papoyan S. A., Matsoyan S. G.</i> Study of Antitumour Activity of Some Derivatives of Aziridine	161
<i>Arakelian L. M.</i> Phospholipids of Rats Brain and Liver during Introduction of Ethanol and Ethanolamine	163
<i>Jivanian K. A., Ter-Oganyan K. S., Geylikman O. V.</i> On Regeneration of Endocrine Tissue of Domestic Hens Pancreas by Simultaneous Liver Resection	166

Биолог. ж. Армения, № 2, (42), 1989

УДК 612+57:1612.118.221.2(919.81)

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ КРОВИ В ПОПУЛЯЦИИ АРМЯН

В. М. ИЕРСИСЯН, Н. Г. МАТИРОСЯН, Л. П. АКОПЯН, И. О. МУСАЕЛЯН

Армянский НИИ гематологии и переливания крови, Ереван

У армян изучены частоты встречаемости иммуногенетических маркеров крови систем HLA, ABO, Rh-Hr, MNSs, Pp, Duffy, Kidd, Kell-Cellano, Lewis, Lutheran, Diego, Gm и Inv. Выявлены особенности распределения антигенов и генов этих систем.

Հայերի մոտ ուսումնասիրվել է արյան իմունոգենետիկ մարկերների հանրաժողովրդական հաճախությունը HLA, ABO, Rh-Hr, MNSs, Pp, Duffy, Kidd, Kell-Cellano, Lewis, Lutheran, Diego, Gm և Inv համակարգերի: Արյան ներքին հատկանիշների անոթիվները և գեները հայ ազգաբնակչության մեջ հանդիպում էլ արտադրի համախառնակությամբ:

The frequencies of the distribution of blood immunogenetical markers of HLA, ABO, Rh-Hr, MNSs, Pp, Duffy, Kidd, Kell-Cellano, Lewis, Lutheran, Diego, Gm and Inv systems were studied in Armenian population. The distribution peculiarities of antigens and genes of the above-mentioned systems were discovered.

Популяция армян—антигенные маркеры—иммуногенетика.

В Армянской ССР, благодаря значительной плотности населения на сравнительно небольшой территории и самой высокой в СССР национальной однородности, создались благоприятные условия для проведения популяционно-генетических исследований крови. Подобные исследования в нашей многонациональной стране пока еще не полностью проведены, а среди армянского населения до настоящего времени не проводились.

Нами впервые представлены данные комплексного изучения частоты встречаемости 53 антигенов, генов генетических систем ABO, Rh-Hr, MNSs, Pp, Duffy, Kidd, Kell-Cellano, Lewis, Lutheran, Diego, HLA, Gm, Inv. Кроме антигенов A, B, O, M, N и D, все остальные 47 антигенов изучены у армян впервые.

Данная работа обобщает 25-летние исследования отдела по различным генетическим системам крови.

Материал и методика. Антигены эритроцитарных систем изучены методами геммагглютинации, коагглютинации и непрямой реакцией Кулбса, антигены HLA (локусы A и B)—лимфоцитотоксическим тестом, антигены сывороточных белков Gm и Lu—реакцией ингибирования геммагглютинации.

Для определения антигенов вышеупомянутых систем использовали антисыворотки, выпускаемые в нашей и других лабораториях страны, а также сыворотки фирм «Instituto Diagnostika» (Австрия) и «Biotest-Serum», (ФРГ).

Обследовались здоровые неродственные лица армянской национальности обоего пола в возрасте от 18 до 55 лет в количестве от 568 до 49892, в зависимости от исследуемых систем.

Материал был подвергнут статистическому анализу [1, 3].

Результаты работы сопоставлены с литературными данными о распределении антигенов различных генетических систем у народов ряда стран Европы, Азии, Америки, Африки, Австралии, у народностей Кавказа, Сибири, соседних с Арменией стран—Ирана, Турции (от 16 до 101 популяции).

Из многочисленных литературных данных мы привели в работе те, которые характеризуют разнообразие антигенного состава крови современного человека.

Результаты и обсуждение. Система ABO. Антигены системы ABO исследованы у 49892 коренных армян. Контрольную группу составили 3675 русских, проживающих в Армянской ССР, и 320 армян-студентов, приехавших для обучения в Советскую Армению со всех концов мира.

Анализ иммунологических исследований позволил установить следующие закономерности. Среди армян, проживающих в АрмССР, и студентов-репатриантов наблюдается выраженно повышенная частота встречаемости группы крови А (50,2 и 51,8%) и гена Р₁ (0,3550, 0,3670) и низкая частота встречаемости группы крови О (28,2 и 26,4%) и В (13,6 и 12,7%), генов т₁ (0,5300, 0,5170), сн (0,1550, 0,1160), по сравнению с русскими, проживающими в АрмССР и РСФСР (А—37,6 и 37,8%; Р₁—0,2640 и 0,2649; 0,33,0 и 33,5%; Г₀—0,5740 и 5786; В—21,3 и 20,5%; сн—0,1620 и 0,1557 соответственно). Распределение группы АВ у армян и у русских почти одинаково (8,0 и 8,2% соответственно).

Сравнительный анализ частоты встречаемости антигенов системы ABO в разных популяциях (101) показывает, что армяне по распределению антигенов ABO отличаются от народов Азии, Америки. Они отличаются также и от территориально близких им народностей Кавказа, Ирана, Турции. Наиболее близки они к некоторым народам Западной Европы (венграм, чехам, болгарам, румынам, испанцам Бетик) [4, 6, 8, 12, 14].

Система MNSS. Частоты встречаемости антигенов M и N обследованы у 5943 коренных армян и 320 армян-студентов-репатриантов. Частоты встречаемости фенотипов MN, MM и NN в обеих группах почти одинаковы (MN—58,5 и 55,6%, MM—28,2 и 30,0%, NN—13,3 и 14,4%).

Впервые научно распределение антигенов S и s у 1100 армян с учетом всех 9 фенотипов данной системы.

В исследуемой популяции наиболее распространены фенотипы MNSs (28,6%) и MNss (23,3%), остальные встречаются в следующей

сбывающей последовательности: $MMSs$ (12,0%), $MMss$ (10,5%), $MNSS$ (6,5%), NNs (6,3%), $MMSS$ (6,2%), $NNSs$ (5,0%), $NNSS$ (1,6%). Для армян характерна высокая частота встречаемости фенотипов MN (58,4%) и Ss (45,7%), сравнительно низкая — ss (40,0%) и MM (28,6%) и низкая — NN (13,0%) и SS (14,3%). Гены системы $MNSs$ встречаются в соотношении s (0,6295) $> M$ (0,5770) $> N$ (0,4230) $> S$ (0,3705).

Данные о частоте встречаемости у армян генов M и N были сопоставлены с результатами исследования 62, S и s — 18 популяций. Установлено, что по частоте встречаемости генов M и N армяне наиболее близки к эстонцам, испанцам, чехам, молдавиянам, немцам ($M = 0,5750, 0,5840, 0,5600, 0,5495, 0,5505, N = 0,4250, 0,4160, 0,4400, 0,4505, 0,4495$ соответственно), а по частоте встречаемости генов S и s близки к русским, жителям Большей Калифорнии — европейцам и мексиканцам ($S = 0,3705, 0,3500, 0,3440, 0,3425, s = 0,6295, 0,6500, 0,6560, 0,6525, 0,6495$ соответственно) и отличаются от населения Восточных Саян, негров Калифорнии, сингалов и японцев [5, 8, 9, 13, 17].

Система Rh—Hr. Частота встречаемости фактора D исследована у 49892 коренных армян, 320 армян-студентов-релатриантов и 3000 русских, проживающих в АрмССР. Полученные результаты сопоставлены с литературными данными исследований 60 различных популяций. Частота антигена и гена D у армян, проживающих в АрмССР, и студентов-релатриантов почти одинакова ($D = 87,9$ и $88,75\%$, $0,6522$ и $0,6616$ соответственно). У русских, проживающих в Армении, частота гена $D = 0,6250$, что соответствует данным [8, 9], полученным при обследовании русских, проживающих в Москве, Ленинграде и РСФСР ($D = 0,6255; 0,6313$ и $0,6352$ соответственно).

Впервые у 1400 армян были исследованы разновидности антигенов системы Rh—Hr. Из 18 возможных фенотипов системы Rh—Hr в исследуемой популяции выявлены 11. Фенотипы системы Rh—Hr у армян наблюдаются в следующей последовательности, %: $CcDcc$ — 33,4 $> CCDec$ — 19,3 $> CcDEe$ — 16,7 $> ccDEe$ — 11,8 $> ccdcc$ — 11,2 $> ccDce$ — 2,8 $> ccDEE$ — 2,4 $> Ccddee$ — 2,0 $> CCDEe$ — 0,22 $> CcDEE$ — 0,14 $> ccdDEe$ — 0,4. Гетерозиготные фенотипы Ce и Ee встречаются чаще (51,8 и 29,4%), чем гомозиготные CC и EE (19,6 и 0,25%). Антиген «e» отсутствует только в 2,5% случаев. Гены системы Rh—Hr у армян встречаются в соотношении e (0,8282) $> D$ (0,6297) $> c$ (0,5454) $> C$ (0,4546) $> d$ (0,3703) $> E$ (0,1718).

У народов Юго-Восточной Азии (индийцев, сингалов, китайцев, японцев) фенотип $ccDEe$ встречается реже (4,2, 3,2, 0,8, 1,2% соответственно), чем у европейцев ($ccDEe$ — 10—13%), а фенотип $CCDec$ чаще (49,3, 49,7, 58, 33,3% соответственно), по сравнению с европейцами ($ccDEe$ — 10—13%, $CCDec$ — 15—25%). У японцев и китайцев гораздо чаще, чем у европейцев (9—16%), индийцев (10%), сингалов (11,5%), наблюдается фенотип $CcDEe$ (41,8% и 29,6% соответственно). Но у японцев и китайцев отсутствуют фенотипы $ccdde$ и $Ccddee$, которые встречаются у индийцев (5,1 и 0,4%), сингалов (2,6 и 0,6% соответственно) и несколько чаще у европейцев (от 10—16 и от 1—1,5% соот-

ветственно). У японцев чаще, чем у других народов, встречаются фенотипы $ccddEe$ (0,72%), $ccddEE$ (3,4%), $CcddEe$ (0,24%) [8, 11, 18].

У указанных народов высока концентрация генов D, C, E и почти отсутствует ген d. По мере перехода от европейских народов к азиатским, как правило, уменьшается число лиц с резус-отрицательной принадлежностью крови. Таким образом, по характеру распределения антигенов, генов, генотипов системы Rh-Ilg армяне близки к европейским народам (русским, венграм, украинцам, полякам, чехам, итальянцам) и резко отличаются от азиатских народов [8, 9, 11, 13, 14, 18].

При обобщении полученных данных о системах ABO, MN, резус (D) в популяции армян можно отметить, что частота распределения антигенов и генов указанных систем среди армян, проживающих в разных странах мира (АрмССР, ГрузССР, Франции, Сирии, Ливане), и студентов-репатриантов, установленная разными исследователями на весьма неоднородном количественном материале и в разные годы, почти одинакова (табл.). Для популяции армян характерна высокая частота встречаемости фенотипов D, MN, A и низкая — O, B, N. Имеющиеся данные свидетельствуют о генетической общности исследуемой популяции.

Системы Кида, Даффи, Келл-Келлано. Антигены указанных систем исследованы у 1152 армян. В системе Кида фенотипы встречаются в последовательности: $Jk(a+b+)$ — $Jk(a+b-)$ — $Jk(a-b+)$. Гетерозиготный фенотип $Jk(a+b+)$ встречается в 2 раза чаще (50,8%), чем гомозиготные $Jk(a-b+)$ и $Jk(a+b-)$ — 26,6 и 22,5% соответственно. По системе Даффи гетерозиготные особи с фенотипом $Fy(a+b+)$ выявлялись в исследуемой популяции гораздо чаще (47,2%), чем гомозиготные — $Fy(a+b-)$ и $Fy(a-b+)$ — 19,62 и 33,16% соответственно. Антиген Fy^b обнаруживался в 66,84%, Fy^a — в 80,38% случаев, ген Fy^b (0,5677) преобладает над геном Fy^a (0,4323).

У армян гомозиготный фенотип по системе Келл-Келлано — kk встречается в подавляющем большинстве случаев (91,1%), KK — крайне редко (0,3%), а гетерозиготный фенотип Kk — в 8,3% случаев. По частоте встречаемости ген k значительно (0,9557) преобладает над геном K (0,0443).

Система Рr. Антиген P_1 исследовался у 1687 лиц. В исследуемой популяции антиген P_1 встречается в 76,94% случаев, ген P_1 (0,5198) несколько преобладает над геном P_2 (0,4802).

Сравнение данных исследования антигенов систем Кида, Даффи, Келл-Келлано, Рr у разных народов (от 19 до 31 популяции), у которых в большинстве случаев исследованы только антигены Jk^a , Fy^a , K , позволило установить:

1. по частоте встречаемости гена Jk^a (0,5208) армяне обнаруживают выраженное сходство с русскими, финнами, итальянцами, белым населением Америки, ген Jk^a у этих народов колеблется в пределах 0,5138—0,5227. У эванов и сингалов, по сравнению с армянами, концентрация гена Jk^a несколько снижена (0,4336, 0,4180); у индийцев, китайцев и японцев она снижена значительно (0,3805—0,1977). У негров ген Jk^a наблюдается в высокой, по сравнению с армянами, концентрации (0,7315), а у даяков он отсутствует [8, 9, 13, 17, 18];

Распределение антигенов и генов систем АВО, резус (D) и MN у армян, проживающих в разных странах мира

Частота антигенов (в %) и генов

Антигены	АрмССР ABO п=49892 D п=49892 MN п=5943 Наши данные 1970	Студенты-репатрианты ABO п=320 D п=320 MN п=320 Наши данные 1976	ГрузССР ABO п=906. Е. М. Се- менская, 1936	Турция ABO п=131 MN п=330. Бойл 1950. Пиль и Шэлл, 1958	Марсель ABO п=734 D п=731. Николи, 1968	Прованс ABO п=944 D п=944 Николи, 1966	Алеппо ABO п=653. Николи, 1968	Бейрут ABO п=2637 цят. по Ни- коли, 1968	Ливан ABO п=179 MN п=171. Бернард, 1974	Армяне все- го мира ABO п=7943 Керумян, 1943
O	28.2 $r_0=0.5300$	26.4 $r_0=0.5170$	28.9 $r_0=0.5060$	27.8 $r_0=0.5231$	22.0 $r_0=0.5658$	31.4 $r_0=0.5599$	27.0 $r_0=0.5310$	28.5 $r_0=0.5200$	24.5 $r_0=0.5072$	30.8 $r_0=0.5490$
A	50.2 $P_A=0.3550$	51.8 $P_A=0.5670$	51.5 $P_A=0.3910$	53.9 $P_A=0.3799$	45.5 $P_A=0.3244$	47.1 $P_A=0.3330$	53.0 $P_A=0.3630$	45.1 $P_A=0.3210$	53.07 $P_A=0.3730$	48.7 $P_A=0.3120$
B	13.6 $q_B=0.1150$	13.7 $q_B=0.1160$	10.8 $q_B=0.1030$	12.7 $q_B=0.1110$	13.6 $q_B=0.1142$	13.2 $q_B=0.1143$	13.6 $q_B=0.1060$	12.4 $q_B=0.1590$	14.09 $q_B=0.1198$	12.6 $q_B=0.1090$
AB	8.0	8.1	8.6	6.1	7.9	8.1	6.4	13.0	7.26	
D	87.9 D=0.6609	88.7 D=0.6620			86.2 D=0.6351	81.8 D=0.6242				
d	12.1 d=0.3391	11.3 d=0.3380			13.8 d=0.3649	14.2 d=0.3758				
M	28.2 M=0.570	30.0 M=0.5780		30.7 M=0.5670			31.58 M=0.5643			
N	13.3 N=0.4250	14.4 N=0.4220		17.3 N=0.4330			18.71 N=0.4356			
MN	58.5	55.6		52.0			49.71			

2. по частоте встречаемости генов Fy^a (0,4323) и Fy^b (0,5677) обнаружено выраженное сходство исследуемой популяции с итальянцами, англичанами, немцами, белыми-американцами, у которых ген Fy^a колеблется от 0,4152 до 0,4344, и столь же выраженное отличие как от монголов, эскимосов, у которых ген Fy^a наблюдается в высокой (0,9258—1,000) концентрации, так и от негров, у которых ген Fy^a обнаружен в низкой (0,0535) концентрации [8, 2, 18].

3. по частоте распределения гена Келл (0,0443) армяне наиболее близки к русским, полякам, немцам, итальянцам, европейцам Калифорнии, у которых этот ген встречается с частотой 0,0330—0,0570; в несколько более низкой, чем у армян, концентрации ген Келла встречается у народностей Ливана, сванов, якутов (0,0128—0,0280), и значительно более низкой — у американских негров, монголов, сингалов (0,0011—0,0030), у китайцев, японцев, а также белого населения Австралии этот ген отсутствует [8, 10, 13, 16, 17, 18];

4. по частоте встречаемости гена P_1 (0,5148) армяне наиболее близки к русским, бельгийцам, чехам, французам, грекам, у которых этот ген встречается с частотой 0,5154—0,5343, и резко отличается как от азиатских народов (китайцев, якутов, тибетцев, тофаларов, сингалов), у которых ген P_1 встречается в низкой концентрации (0,1785—0,330), так и от негров, у которых он наблюдается в высокой (0,7126), по сравнению с армянами, концентрации [5, 8—10, 16—18].

Система Диего. Антиген Di^a исследован у 1406 лиц. У армян, как и у европейцев, и в отличие от азиатских народов, этот антиген полностью отсутствует [8, 9, 16].

Система Лютеран. Антигены системы Лютеран были изучены у 1406 армян. Гомозиготный генотип по антигену Lu^{a+} — Lu ($a+a+$) встречается чрезвычайно редко (0,07%), а по антигену Lu^{b+} — Lu ($b+b+$)—достаточно часто (88,05%). Гетерозиготный генотип Lu ($a+b+$) обнаруживается в 11,88% случаев. Фенотипы системы Лютеран распределяются следующим образом: Lu ($a-b-$) > Lu ($a+b+$) > Lu ($a+b-$). По частоте встречаемости в исследуемой популяции ген Lu^b значительно преобладает над геном Lu^a (0,9399 и 0,0601 соответственно).

К сожалению, распределение антигенов системы Лютеран у разных народов изучено недостаточно полно. Имеющиеся в нашем распоряжении данные о частоте встречаемости антигенов этой системы среди 17 различных популяций не позволяют с достаточной долей убедительности сблизить армян с той или иной этнической группой. У большинства европейцев ген Lu^a встречается в меньшей (0,0465—0,0140) концентрации, у сванов, нигерийцев, индейцев—в более высокой, по сравнению с армянами, концентрации (0,0859—0,0910). У сингалов, эскимосов, аборигенов Австралии ген Lu^a отсутствует [8, 10, 16, 18]. Исходя из имеющихся литературных данных, можно отметить, что по частоте встречаемости генов Lu^a и Lu^b армяне наиболее близки к полякам (Lu^a —0,0601 и 0,0573, Lu^b —0,9399 и 0,9427 соответственно) [8].

Система Ленне. Генетика системы Ленне весьма сложна. Эта система состоит из двух зон—зон действия генов Ic или le . Антигены

Le^a и Le^b составляют зону Le , а антигены Le^c и Le^d — зону le . Антиген Le^a изучен у 1233 армян, оба антигена Le^a и Le^b — у 822 лиц. Выявлены три фенотипа системы Левис, которые распределяются следующим образом: $Le(a-b+)$ — 56,3% > $Le(a+b-)$ — 24,1% > $Le(a-b-)$ — 19,6%.

Сравнение данных по армянской и 18 различным популяциям показало, что по частоте встречаемости гена Le (0,558) к армянам наиболее близки мегрелы (0,528), кахетинцы (0,5), с меньшей частотой данный ген встречается среди азербайджанцев Шамахинского (0,382), Кулинского (0,461) районов, шведов (0,464), с большей — у англичан (0,730), русских (0,656) [2, 8, 9]. Резко отличаются от армян сваны, сингалы, японцы, у которых указанный ген встречается в высокой концентрации ($Le=1,000$) [6, 12, 13, 18].

Система Gm . Антигены Gm^a , Gm^b , Gm^s были обследованы у 1006 армян с учетом всех 6 фенотипов. Антигены и фенотипы системы Gm в исследуемой популяции распределяются следующим образом (%): Gm^b — 87,0 > Gm^a — 52,1 > Gm^s — 18,2, фенотипы Gm^{a+b+s-} — 47,9 > $Gm^{(a+b+s)-}$ — 27,4 > $Gm^{(a-b+s)-}$ — 11,7% > $Gm^{(a-b-s)-}$ — 6,6 > $Gm^{(a+b-s)-}$ — 6,4 > $Gm^{(a-b-s)+}$ — 0,39. Сравнение полученных нами результатов с данными о других популяциях [40] показали, что по частоте встречаемости указанных антигенов армяне наиболее близки к французам, немцам, голландцам, швейцарцам [8].

Система Inv . Антиген Inv [1] обследован у 568 армян. Он выявлен у 16,7% армян. При сопоставлении с литературными данными (16 популяций) можно отметить, что по частоте встречаемости этого антигена армяне наиболее близки к шведам, грекам, голландцам, югославам [6, 15] и резко отличаются от японцев, филиппинцев, гавайцев, у которых он встречается 52–70% случаев [8, 17].

Система HLA . Частота встречаемости антигенов локусов A и B системы HLA изучалась у 1530 армян. У 700 армян определены 14 антигенов локусов A и B : $HLA-A1$, $A2$, $A3$, $A9$ (23+24), $A10$ (25+26), $A11$, $A28$; $HLA-B5$ (51+w52), $B7$, $B8$, $B12$ (44+45), $B13$, $B27$, $B35$; у 830 армян — 22 антигена локусов A и B : $HLA-A1$, $A2$, $A3$, $A9$ (23+24), $A10$, (25+26), $A11$, $A28$; $HLA-B5$ (51+w52), $B7$, $B8$, $B12$ (44+45), $B13$, $B14$ (w64+w65), $B15$ (w62+w63), $B16$ (38+39), $B17$ (w57+w58), $B18$, $B21$ (49+w50), $Bw22$ (w54+w55), $B27$, $B35$, $B40$.

Частота встречаемости антигенов (генов) локусов A и B системы HLA в армянской популяции равна: $A1$ —20,1% (0,106); $A2$ —40,3% (0,228); $A3$ —23,6% (0,126); $A9$ —21,8% (0,116); $A10$ —17,7% (0,093); $A11$ —14,1% (0,074); $A28$ —4,8% (0,025); $B5$ —29,2% (0,159); $B7$ —23,3% (0,125); $B8$ —17,7% (0,093); $B12$ —23,5% (0,126); $B13$ —12,7% (0,065); $B14$ —5,3% (0,027); $B15$ —2,5% (0,013); $B16$ —3,2% (0,017); $B17$ —5,7% (0,029); $B18$ —8,07% (0,042); $B21$ —4,5% (0,023); $Bw22$ —3,9% (0,021); $B27$ —6,4% (0,031); $B35$ —7,2% (0,04); $B40$ —4,6% (0,024).

У армян в локусе A наиболее часто встречается антиген $A2$, наиболее редко — $A28$. В исследуемой популяции антигены локуса A находятся в соотношении: $A2 > A3 > A9 > A1 > A10 > A28$. В локусе B наиболее часто встречается антиген $B5$, наиболее редко — $B15$. Антигены локуса B встречаются в соотношении: $B5 > B12 > B7 > B8 > B13 > B18 > B35 > B27 > B17 > B14 > B40 > B21 > Bw22 > B16 > B15$.

У армян наиболее часто встречаются следующие сочетания антигенов локуса А: H1A—A2-A3 (8,3%), A2-A9 (8%), A1-A2 (7,8%), A3-A9 (7,0%); несколько реже A2-A11 (4,3%), A1-A3 (3,8%), A1-A9 (3,7%), A2-A10 (3,6%), A9-A10 (3,0%); крайне редко A9-A28 (0,6%), A1-A28 (0,7%). Среди антигенов локуса В чаще других встречаются сочетания H1A-B7-B12 (7,8%), B5-B12 (7,4%), B5-B7 (6,4%); несколько реже—B8-B12 (5,7%), B7-B8 (5,0%), B5-B8 (4,8%); крайне редко—B1-B27 (0,5%), B8-B27 (0,8%).

По частоте встречаемости в армянской популяции наиболее выраженными оказались гаплотипы H1A-A2 и B12 (0,0653), H1A-A2 и B5 (0,0585), H1A-A3 и B7 (0,0522); H1A-A1 и B8 (0,0294). При этом в некоторых случаях наблюдается параллелизм между частотой встречаемости гаплотипа и генной частотой соответствующей специфичности (A2 и B12—генные частоты соответственно 0,228 и 0,128, A2 и B5—0,28 и 0,1595; A3 и B7—0,126 и 0,125). В иных случаях распределение гаплотипов не зависит от частоты генов. Так, частота распределения антигенов A28 и B27 невелика, однако частота встречаемости гаплотипа A28-B27 достаточно высока—0,0104 ($P=10,3$). Корреляционный анализ материала выявил отрицательное значение некоторых гаплотипов (A3 и B12, A11 и B27, A28 и B8 и др.), указывающее на их отсутствие в армянской популяции, хотя фенотипически сочетания данных антигенов имеются. У армян сильная степень гаметной сцепленности обнаруживается для антигенов A3-B12 ($\Delta=0,0494$), A2-B12 ($\Delta=0,0219$), A3-B7 ($\Delta=0,0207$), A2-B5 ($\Delta=0,0177$), A1-B8 ($\Delta=0,0133$).

Сравнивая результаты изучения частоты встречаемости H1A-антигенов, генов, фенотипов, гаплотипов и гаметных ассоциаций между аллелями локусов А и В в армянской популяции с данными исследований других народов (27 популяций), можно отметить, что армяне по частоте распределения H1A-антигенов близки к европейским народам—французам, англичанам, болгарам, украинцам [3, 7].

Проведенные нами популяционно-генетические исследования позволили установить характерные особенности распределения антигенов эритроцитарных, лейкоцитарной (H1A) и сывороточных (Gm, Inv) систем в армянской популяции. Сравнительный анализ собственных результатов и литературных данных о частоте распределения генетических маркеров крови у армян и народов Европы, Азии, Америки, Африки, Австралии позволил констатировать близость армян к европеоидам и отличие их от монголоидов и негроидов. Разница в частоте распределения антигенов генетических систем у народов, проживающих в разных географических зонах, обусловлена не территориальной разобщенностью, а, по-видимому, их историко-генетическими особенностями.

Таким образом, исследование антигенного состава тканей человека интересно не только в плане популяционной иммуногенетики, но и с практической точки зрения, для создания кадров потенциальных доноров с установленным фенотипом и резерва криоконсервированных эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов и органов с определенным антигенным набором, необходимым для гемотрансфузий и трансплантации органов и тканей, что будет способствовать развитию службы иммунологического типирования тканей в разных регионах страны.

Полученные иммуногенетические параметры могут быть использованы для определения корреляционных связей между генофондом и развитием той или иной патологии в данной популяции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бойд У. Основы иммунологии (перев. с англ.). 674, М., 1969.
2. Воронов А. А. IX Междунар. конгр. антропол. и этнограф. наук, Чикаго, сентябрь, 1972, 12, М., 1973.
3. Зарецкая Ю. М. Клиническая иммуногенетика. 208, М., 1983.
4. Нильс Дж., Шелл У. Наследственность человека 389, М., 1958.
5. Рычков Ю. Г., Первозчиков Н. В., Шереметев В. А., Волкова Т. В., Башин А. Г. Вопросы антропологии, 31, 3—32, 1969.
6. Семская Е. А. Советская этнография, 1—5, 213—215, 1936.
7. Седл Дж., Доссе Ж., Нэтенсон С. Совместимость тканей (перев. с франц.), 481, М., 1979.
8. Тиминев А. К., Томлин В. В. Наследственный полиморфизм изоактигенов и ферментов крови в норме и патологии человека. 409, М., 1969.
9. Умнова М. А., Прокоп А. О., Пискунова Т. М., Самусева Г. С., Ичиловская Т. А., Прозоровская Г. П. VII Междунар. конгр. антропол. и этнограф. наук. М., 1964.
10. Bernard I., Ruffie F. Ctr. Acad. sci., 278, 9, 1301—1307, 1974.
11. Dutta R. Armed Forces Med. J. India, 29, 4, 89—93, 1973.
12. Kherumian R. Introduction a l'anthropologie du caucas. Les Armeniens Genhner Paris, 1943.
13. Mizawa S., Ohno N., Ishimoto G., Omoto K. Anthropol. Soc. Nippon, 82, 24, 135—143, 1974.
14. Neamtu G., Tridurescu—Baltranu A. Anthropol., 9, 201—205, 1972.
15. Niculi R. M., Rangur J., Mortel J. Anthropologie, 78, 1—2, 89—95, 1964.
16. Prokop O. Die menschlichen blut. und Serumgruppen, 1956.
17. Reed T. Amer. Human Genet., 29, 2, 142—151, 1968.
18. Roberts D. F., Green C. K., Abeyaratne K. P. Man, 7, 1, 122—127, 1972.

Поступило 11 VII 1988 г.

Биол. ж. Армении № 2, (42), 1989

УДК 612.017.1

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ РЕАКТИВНОСТЬ МЫШЦ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ КУЛЬТИВИРУЕМЫМИ КЛЕТКАМИ ГЕПАТОМЫ XXIIa И ИХ МИКРОКЛЕТОЧНЫМ МЕЖВИДОВЫМ ГИБРИДОМ

Ю. Т. АЛЕКСАНИАН, К. А. КАЗАРЯН, М. В. ТАТЬЯН, Э. Г. АСНАРЯН,
Н. Г. АКОПЯН, А. В. МОВСЕСЯН, С. Г. ЦЕТОНИ

Институт экспериментальной биологии АН АзССР Ереван

Мутанты длительно культивируемых клеток мышечной гепатомы XXIIa и микроклеточный межвидовой гибрид при введении мышцам в синтетической системе индуцировали образование сенсибилизированных лимфоцитов. Обнаружено повышение активности натуральных киллеров при иммунизации мышцей мембранными мутантами культивируемых клеток гепатомы как с повышенной, так и с ослабленной злокачественностью.

Сокращения: УС—уровень сенсибилизированности; ИЦГ—индекс цитотоксичности; РТПЛ—реакция торможения прилипания лейкоцитов; НК—натуральные киллеры; МК—микроклетки.

XXIIa մկանային ճեղքատմայի Երկարատև կուլտիվացվող բջիջների մուտանտները և միկրոբջջային միջուկաչափին հերթիդր մկաներին սինգլես սխտեմով ներարկելիս հարուցում են սևնաբրդեղացված լիմֆոցիտների առաջացում: Ճեղքատմայի կուլտիվացվող բջիջների ինչպես ուժեղացված, այնպես էլ թուլացված լարորակությամբ մեմբրանային մուտանտներով մկաներին իմունիզացնելիս նկատվում է նախաբայ բջիջների ակտիվության բարձրացում:

Mutants of long cultivated cells of mouse hepatoma XXIIa and microcellular interspecies hybrid during introduction into mice in syngeneic system induced formation of sensitized lymphocytes. Increase of activity of natural killers during immunization of mice by membrane mutants of cultivated cells of hepatoma with not only increased, but also weakened malignity was stated.

Иммунология опухолей—натуральные киллеры—сенситизированные лимфоциты—культивируемые опухолевые и гибридные клетки.

Изучение иммунобиологических взаимоотношений опухоли и организма является одним из важнейших направлений в области иммунологии опухолей. В этом аспекте огромный интерес представляет выяснение иммунного статуса при имплантации мышам культивируемых опухолевых клеток и разработке способов противоопухолевой вакцинации в условиях эксперимента [1, 4, 6—9].

В задачу настоящей работы входили идентификация сенситизированных лимфоцитов и изучение цитотоксической активности натуральных киллеров у мышей СЗНА, иммунизированных мутантами длительно культивируемых клеток мышинной гепатомы XXIIa и их межвидовым микроклеточным гибридом.

Материал и методика. Исследования проводили на мышах линии СЗНА массой 22—25 г, полученных из питомника «Рапполово» АМН СССР. Использовали мембранные мутанты длительно культивируемых клеток мышинной гепатомы XXIIa с повышенной и ослабленной злокачественностью и клетки микроклеточного межвидового гибрида (HRJK мк-2), полученного слиянием клеток линии МГХХIIa [2] с хомоциклическими (RJK) МК. Клетки культур выращивали на питательной среде Игла с 10% сыворотки крупного рогатого скота. Культивируемые опухолевые и гибридные клетки имплантировали подопытным животным подкожно, и в различные сроки после введения клеток определяли уровень сенситизированности лимфоцитов и цитотоксическую активность НК.

Наличие сенситизированных лимфоцитов определяли с помощью метода торможения прилипания лейкоцитов [3]. В качестве антигена использовали водно-солевые экстракты, полученные из тканей опухоли МГХХIIa и нормальной печеночной ткани мышей. Антиген стандартизировали по белку и использовали в концентрации 1 мг/мл. Цитотоксическую активность НК определяли по описанной в литературе методике [5].

В качестве клеток-эффекторов использовали спленоциты мышей линии СЗНА. Клеткам-мишенями служили меченные ³H-уридием клетки человеческого фибробласта К-562, чувствительности которых к действию НК, как известно, особенно высока. Клетки культивировали на среде RPMI-2640 с 10% эмбриональной телячьей сыворотки. Полученные данные подвергали статистической обработке.

Результаты и обсуждение. В таблице представлены результаты индикации сенситизированных лимфоцитов и определения цитотоксической активности НК у мышей, принятых мембранными мутантами длительно культивируемых клеток гепатомы XXIIa с повышенной и ослабленной злокачественностью и микроклеточным межвидовым гиб-

Определение сенсibilизированных лимфоцитов и цитотоксической активности натуральных киллеров на 9-й день после иммунизации культивируемыми опухолевыми и гибридными клетками

Прививаемые клетки	Доза приви- тых клеток	УС	ИЦТ
		M ± m, %	
Гибридные клетки НRJK мк-2	10 ⁷	39.0 ± 9.0	27.5 ± 0.5
Мутантные клетки линии МГХХIIa с повышенной злокачественностью	10 ⁸	8.0 ± 2.1	36.7 ± 1.33
	10 ⁷	13.6 ± 1.4	32.0 ± 1.7
	10 ⁶	22.3 ± 2.7	36.6 ± 1.67
	5 · 10 ⁵	9.6 ± 2.2	64.0 ± 5.0
	10 ⁴	34.6 ± 2.4	
Мутантные клетки линии МГХХIIa с ослабленной злокачественностью	2 · 10 ⁴	11.0 ± 3.0	34.0 ± 1.4
	4 · 10 ⁴	31.7 ± 1.67	30.5 ± 0.5
	10 ⁵	24.0 ± 4.05	65.0 ± 6.8
Спленоциты intactных мышей (контроль)		5.7 ± 0.6	23.0 ± 11.0

ридом клеток линии МГХХIIa. Как видно из представленных данных, на 9-й день после иммунизации мышей гибридными клетками с помощью РТП-I обнаруживаются сенсibilизированные лимфоциты. Этим же методом сенсibilизированные лимфоциты обнаружены у мышей, которым вводились в разных дозах клетки линии МГХХIIa с повышенной и ослабленной злокачественностью. Выяснилось, что при увеличении дозы прививаемых культивируемых опухолевых клеток как с повышенной, так и с ослабленной злокачественностью наблюдалось увеличение уровня сенсibilизированности лимфоцитов. Следует отметить, что при введении мышам опухолевых клеток с повышенной злокачественностью в дозе 5 · 10⁵ спустя две недели уровень сенсibilизированности лимфоцитов достигал максимальных величин (86,6 ± 2,0). Результаты проведенных исследований свидетельствуют также о том, что мембранный мутант длительно культивируемых клеток гепатомы с ослабленной злокачественностью сохранял иммуногенность. Индекс цитотоксичности НК на 9-й день после иммунизации мышей гибридными клетками, как видно из приведенных в таблице данных, не отличается от индекса цитотоксичности спленоцитов intactных животных. В то же время следует отметить, что на 17-й день после имплантации мышам гибридных клеток наблюдалось повышение цитотоксической активности НК (ИЦТ = 66,0 ± 12,0). У тех мышей, которые были иммунизированы наиболее высокими из использованных дозами опухолевых клеток (5 · 10⁵, 10⁶), отмечалось выраженное (в 2,8 раза) повышение цитотоксической активности НК к ксеногенным клеткам-мишеням. Идентификация сенсibilизированных лимфоцитов у мышей, иммунизированных клетками микроклеточного межвидового гибрида, свидетельствует об индукции процесса образования иммунных лимфоцитов гибридными клетками, что открывает определенные возможности для выяснения вопросов регуляции процесса образования этих лимфоцитов. Проведение работ в

этом направлении весьма важно в аспекте разработки способов индукции противоопухолевой резистентности и усиления противоопухолевого иммунитета. Наличие иммуногенности мембранных мутантов длительно культивируемых клеток мышинной гепатомы с ослабленной злокачественностью дает основание для использования этих клеток в целях экспериментальной противоопухолевой вакцинации.

Таким образом, на основании результатов проведенных исследований можно сделать заключение, что как мутанты, так и микрочеточный межвидовой гибрид длительно культивируемых клеток мышинной гепатомы ХХIIa при прививке мышам в сингенной системе индуцируют образование сенсibilизированных лимфоцитов. Уровень сенсibilизированности лимфоцитов возрастает с увеличением дозы прививаемых мутантных опухолевых клеток. При иммунизации мышей мембранными мутантами культивируемых клеток гепатомы как с повышенной, так и с пониженной злокачественностью наблюдается усиление цитотоксической активности натуральных киллеров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексикян Ю. Т. Иммунология культивируемых опухолевых и гибридных клеток. Ереван, 1985.
2. Алексикян Ю. Т., Бисмаджян М. Е., Мовсесян К. С., Манукян Л. А., Георгиевич С. К. Бюлл. экпер. биол. и мед., 73, 5, 94—95, 1972.
3. Куртенов О. А. Лаб. дело, 1, 11—13, 1979.
4. Матэ Ж. Активная иммунотерапия рака, иммунопрофилактика и иммунореабилитация. М., 1980.
5. Рыкова М. И., Спиранце Н. Б., Зеденидзе М. С., Лихачев В. В., Фукс Б. Б. Иммунология, 3, 88—90, 1981.
6. Benoit R., Marks A. Cancer Res., 41, 7, 2598—2604, 1981.
7. Ito T., Tachibana T. J. Natl. Cancer Inst., 65, 4, 739—749, 1980.
8. Kamm A., Grimes W. J. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 75, 12, 5912—5916, 1978.
9. Van Pel A., Boon T. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., Biol. Sci., 79, 15, 4718—4722, 1982.

Получено 16.XI 1988 г.

ОСОБЕННОСТИ ФЕНОМЕНА КОНТРАСУПРЕССИИ ПРИ ПЕРИОДИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ

С. С. ГАМБАРОВ, А. В. ШАХСУВАРОВ, К. М. МАРКОСЯН, Г. А. ПАПЯН

Ереванский филиал ВНИИ АМН СССР

Выявлено наличие двух уровней контрасупрессии: первый действует только в сингеничной системе, второй может действовать через «аллогенный» барьер. «Аллогенная контрасупрессия» не выявляется у здоровых лиц, а то время как при периодической болезни она характеризуется высокой активностью.

Բացահայտվել է Երկանցիաների երկու մակարդակներ՝ գոյությունը. առաջինը ազդում է միայն Եւմուրիկ (սինգենի) Եւմուրիզում, երկրորդը կարող է ազդել միայն ալլոգենիկին հանդիպման միջոցով. «Ալլոգենիկին Եւմուրիզում» չի Եւմուրիզում առաջ մարդկանց մոտ, այն զննքում, որը պարբերական հիվանդության ժամանակ այն բնութագրում է բարձր ակտիվությամբ:

The presence of two contrasuppressive levels has been revealed: the first level acts only in syngene system, the second one may effect through "Allogene barrier". "Allogene contrasuppression" is not found in healthy subjects, while in patients with periodical disease it is characterized by high activity.

Периодическая болезнь—супрессия—контрасупрессия.

В последние годы выявлен новый иммунорегуляторный цикл—контрасупрессия [1, 4]. Феномен контрасупрессии и его роль в иммунологическом гомеостазе у человека изучены недостаточно. Вероятно, в ряде случаев нарушение супрессии иммуногенеза может быть не следствием дефекта Т-супрессорного звена, а результатом повышенной (патологически) активности контрасупрессоров. Поэтому большой интерес представляет изучение состояния контрасупрессорного звена иммуногенеза у человека при различных состояниях, сопровождающихся дефектом Т-супрессии. Ранее было показано нарушение канканавалинииндуцированной супрессии при периодической болезни [2, 5].

Целью нашего исследования явилось изучение особенностей системы контрасупрессии у здоровых людей и при периодической болезни, в частности, возможности проявления эффекта контрасупрессии в аллогенной системе.

Материал и методика. Эффекты контрасупрессии изучали в системе отмены канканавалинииндуцированной супрессии [3]. Из локтевой вены здоровых людей и больных периодической болезнью брали кровь. В одноступенчатом градиенте фикола-верогрифии выделяли мононуклеары. Далее клетки помещали в пенициллиновые фла-

Сокращения: ФГА—фитогемагглютинин; Кон-А—канканавалин-А; ИС—индекс супрессии; [ФГА]—количество импульсов в тест-культуре с ФГА; [КС]—количество импульсов в культуре, содержащей смесь клеток, инкубированных с ФГА, и Кон-А-индуцированных супрессоров; ИКС—индекс контрасупрессии; ККС—количество импульсов культуры, содержащей клетки, инкубированные с ФГА, Кон-А-индуцированными супрессорами и свежевыделенные лимфоциты.

коны (3 флакона) для дальнейшего культивирования. Клетки в концентрации $1 \cdot 10^6$ и мл культивировали в 3 мл среды RPMI 1640 (Gibco, США) с добавлением 10%-ной эмбриональной телячьей сыворотки (Flow, США), $10 \mu\text{M}$ Мерес, $2 \mu\text{M}$ глутамина, 100 ед/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина.

В первый флакон добавляли ФГА (Serva, США) в дозе 20 мкг/мл (получение тест-культуры), во второй—Кон-А (Serva, США) в дозе 10 мкг/мл (индукция супрессоров), в третий флакон митогены не добавляли (контроль спонтанной пролиферации). Через 48 ч клетки первого флакона отмывали и помещали в девять флаконов по 3×10^5 в каждый. Лимфоциты доноров, инкубированные Кон-А, отмывали, ресуспендировали в среде RPMI 1640 с вышеуказанными добавками и инкубировали в течение 40 мин при температуре 37° с митрамицином С в концентрации 10 мкг/мл. Далее эти клетки дважды отмывали и переносили в шесть из девяти флаконов, содержащих клетки, стимулированные ФГА, в соотношении 1:1, а также в три пустых флакона (контроль обработки митрамицином). В три из шести флаконов добавляли свежely выделенные лимфоциты—зутологичные или аллогенные. В три флакона помещали клетки, инкубированные без митогенов ФГА и Кон-А (контроль спонтанной пролиферации). Во все флаконы добавляли H^3 -тимидин с радиоактивностью 2 мКи. Результаты учитывали через 24 ч по формулам

$$\text{IC} = \frac{I(\text{ФГА}) - I(\text{S})}{I(\text{ФГА})} \times 100; \text{ИКС} = \frac{I_{\text{же}} - I(\text{S})}{I(\text{ФГА}) - I(\text{S})} \times 100.$$

Результаты и обсуждение. На рис. 1 приводятся результаты изучения эффекта контрасупрессии у здоровых лиц. Видно, что конканавалин-индуцированные супрессоры при добавлении в тест-культуру лим-

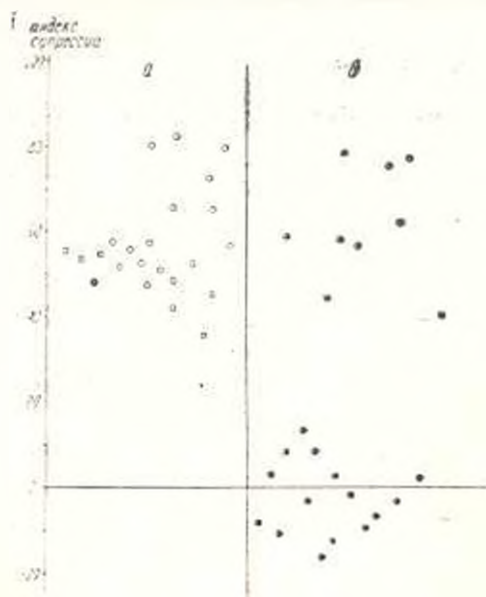


Рис. 1.

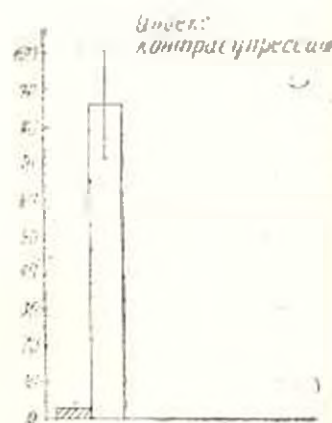


Рис. 2.

Рис. 1. Влияние аутологичных лимфоцитов на эффект конканавалин-индуцированной супрессии. а—значения индекса супрессии в культуре, содержащей лимфоциты, стимулированные ФГА, и Кон-А индуцированные супрессоры (ФГА-Кон-А); б—значения индекса супрессии в культуре, содержащей лимфоциты, стимулированные ФГА, Кон-А-индуцированные супрессоры и свежely выделенные лимфоциты (ФГА-Кон-А (с.к.)).

Рис. 2. Контрасупрессия при добавлении аллогенных лимфоцитов. — контрасупрессия при добавлении лимфоцитов здоровых людей; ▨ — контрасупрессия при добавлении лимфоцитов больного перитомической болезнью.

фоцитов, стимулированных ФГА, угнетают пролиферативную активность клеток-мишеней приблизительно на 50% (рис. 1, а). В то же время при добавлении в супрессорную культуру свежевыделенных аутологичных мононуклеаров в 70% случаев наблюдается отмена или значительное ослабление супрессорного эффекта (рис. 1, б). Таким образом, в популяции свежевыделенных мононуклеаров присутствуют клетки, блокирующие эффект супрессии, т. е. обладающие контра-супрессорной активностью. Добавление свежевыделенных мононуклеаров (от лиц, обладающих контра-супрессорной активностью) в аллогенную супрессорную систему не приводит к отмене супрессии. Следовательно, у здоровых людей в аллогенной системе эффект контра-супрессии не имеет места.

В дальнейших экспериментах мы исследовали влияние свежевыделенных мононуклеаров от больных периодической болезнью (при которой эффект конканавалин-индуцируемой супрессии не выявляется — индекс супрессии имеет знак минус и равен -36) на супрессорную систему здоровых людей. Как видно из рис. 2, добавление свежевыделенных мононуклеаров от больных периодической болезнью в аллогенную тест-систему во всех случаях приводит к отмене супрессорного эффекта. Следовательно, в популяции мононуклеаров больных периодической болезнью присутствуют контра-супрессорные клетки, эффект которых проявляется через аллогенный барьер.

Полученные данные позволяют предположить, что существует два уровня контра-супрессии: один из них действует только в сингенной системе, а другой может действовать через аллогенный барьер. Контра-супрессия, эффект которой проявляется через аллогенный барьер, по-видимому, у здоровых лиц отсутствует или характеризуется незначительной активностью и в исследуемой системе не регистрируется. При некоторых патологических состояниях, например, при периодической болезни, «аллогенная контра-супрессия» достигает высокого уровня активности, что проявляется в отмене супрессии в аллогенной системе.

Полученные данные позволяют предположить, что в нарушении регуляции иммуногенеза при периодической болезни важную роль играет изменение контра-супрессорного звена.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гамбаров С. С. Дисс. докт., М., 1980.
2. Гамбаров С. С., Шахсупаров А. В., Адамьян Н. В., Аракелова Г. М. Журн. экпер. и клин. медицины, 26, 3, 274—277, 1986.
3. Гамбаров С. С., Адамьян Н. В., Агасарян Т. В., Мхоян Л. Д. и др. Докл. АН АрмССР, 65, 5, 228—231, 1987.
4. Gershon R. K., Eardley D. D., Durum S. et al. J. Exp. Med., 153, 1533, 1981.
5. Hied D., Well S., Kuperman O. Clin. Immunol. Immunopath., 18, 261—267, 1981.

Поступил 19.X 1988 г.

НЕКОТОРЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПЕРИОДИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ

Е. Х. ТОРОСЯН, В. А. АСТВАЦАТРЯН, Т. Ф. САРКИСЯН, Р. М. АРУТЮНЯН

Ереванский медицинский институт,
Ереванский государственный университет

Обсуждается генетическая природа и возможные типы наследования периодической болезни—семейной средиземноморской лихорадки, встречающейся с высокой частотой у евреев, армян, арабов. Примерная частота этого заболевания в Армении—0,57%, чаще встречается у мужчин. Приводятся данные цитогенетического анализа у больных, обсуждаются генетические аспекты заболевания в связи с полом и этнической обусловленностью.

Քննարկվում են ամբողջական իրականության՝ բնական միջերկրամասնական տեղի, որը բարձր հաճախականությամբ հանդիպում է հրեաների, հայերի և արաբների մոտ, գենետիկական բնույթը և հառանգման նախաժողովրդի տիպերը: Հիմնական դրսևորման հաճախականությունը Հայաստանում կազմում է մոտավորապես 0,57%, տղամարդկանց մոտ՝ ավելի հաճախ: Բերվում են բնագենետիկական անալիզի տվյալները, բնարկվում են իրականության գենետիկական առկայությունը, որոնք կախված են սեռից և էթնիկական պայմաններից:

The genetic nature and the possible types of inheritance of periodical disease—familial Mediterranean fever, occurring among Jews, Armenians and Arabs with high frequency are discussed. An approximate frequency of this disease in Armenia is 0,57 per cent, with higher frequency in men. The data of cytogenetic analysis in patients are presented, genetic aspects of disease in connection with the sex and the ethnic dependence are discussed.

Периодическая болезнь—амилондоз—генетические аспекты.

Периодическая болезнь—наследственное заболевание, характеризующееся приступообразными болями в животе, грудной клетке, а также суставными изменениями на фоне выраженной лихорадки. Наиболее тяжелым осложнением ПБ является развитие амилоидоза. Одной из теорий, объясняющих природу этого малолученного заболевания, является генетическая. Предположения о наследственных аспектах ПБ выдвигались еще первыми исследователями заболевания [10, 13, 14].

Изучению генетического характера патогенеза ПБ способствовали такие факты, как этническая обусловленность, частота семейных случаев, преимущественно раннее, в детском возрасте, проявление болезни.

В период манифестации ПБ наблюдается некоторая зависимость возраста больных от наследственной формы и группы с семейными случаями заболевание обычно проявляется до 35 лет, в спорадических случаях несколько позже—до 40 лет; возможно, это различие связано с пенетрантностью гена [2].

Сокращения: ПБ—периодическая болезнь, СХО—сестринские хроматиды, обмен

Частота семейных случаев ПБ, по данным разных авторов, варьирует от 6,8 до 60,0%. Среди некоторых групп евреев она составляет 1 на 2720, что дает минимальную генную частоту 1 на 52 и частоту гетерозигот 1 на 26 [6].

Частота патологического гена среди евреев-сефардов с наиболее частым проявлением заболевания составила 1/15, или 0,22%. Генетический анализ еврейского населения позволил выявить браки между родственниками первой степени родства в 16% семей с ПБ [18, 20].

В Армении частота ПБ составляет 0,57%, а доля лиц, несущих патологический ген в гетерозиготном состоянии без клинических проявлений, составляет 1/100 [2]. Причем заболеваемость среди коренных жителей Армянской ССР ниже, чем среди репатриантов из стран Средиземноморья (Ливан, Сирия и др.).

Какая из групп еврейского происхождения может быть ближе к армянам по риску развития ПБ? Согласно имеющимся данным [7, 15, 16], частота генов, отвечающих за группы крови АВО, в Ереване равна: А—35, В—11, О—54%. У армян-католиков, живущих в Ливане, частота гена А ниже, до 29%.

Изучение распределения генов группы крови АВО у евреев-сефардов, живущих в Югославии, выявило следующее соотношение: А—21, В—15, О—64%. У евреев-сефардов, проживающих в Израиле, оно равно: А—23, В—15, О—62%. Считается, что повышенная частота встречаемости гена В у евреев-сефардов по сравнению с армянами связана с их восточно-средиземноморским происхождением.

Для евреев-ашкенази, проживающих как в Европе, так и в Израиле, эти показатели примерно равны: А—28,5, В—12,5, О—59% [9, 16], т. е. они по соотношению этих антигенов ближе к армянам.

Интересно отметить, что у армян очень низка частота встречаемости гена М группы крови MN, она составляет 56%. Такой же низкой частотой этого гена характеризуются только лица еврейского происхождения, живущие в Иране или Ираке, — 52–60% (у местного населения примерно 63%).

В то же время практически у всех народов Ближнего Востока и Передней Азии наблюдается повышенный уровень гемоглобинопатий, снижающих риск и тяжесть заболевания малярией в некоторых группах. Высока частота этих генов и у евреев. В Армении частота этих генов крайне низка, несмотря на наличие районов с ранее распространенной малярией.

Вероятно, ПБ в средиземноморском регионе распространялась в течение веков. Об этом свидетельствует описание заболевания со сходной картиной в древней медицинской литературе, и частности, в «Утешении при лихорадке» Мухтара Гераци (XII век).

Другие особенности наследования ПБ выражаются в высокой частоте заболеваемости среди родных сибсов, родителей пробандов и двоюродных сибсов. По нашим данным, из всех родственников больных ПБ представители первого поколения составили 39,5% (сибсы — 23,7% и двоюродные сибсы — 15,8%), второго поколения (матери, отцы, тети, зети) — 44,7%; третьего поколения (дети, бабушки) — 15,0%. При ана-

лизе родословных выявлено абсолютное превалирование родственников с ПБ по отцовской линии, а также преобладание пробандов мужского пола. Имеются данные о преимущественной передаче ПБ по мужской линии. Эти данные в совокупности с отмечаемым большинством авторов превалированием в 1,5 раза лиц мужского пола среди больных с ПБ убедительно демонстрируют определенную зависимость заболевания от пола. Однако высокая частота ПБ также и среди женщин не позволяет считать это заболевание сцепленным с полом.

В основном данные о характере наследования ПБ свидетельствуют о его аутосомно-рецессивном типе. Однако на протяжении всего периода изучения ПБ выявлялись семейные формы заболевания с аутосомно-доминантным типом наследования. Показана возможность также и квазидоминантного наследования этого заболевания [5]. Возможно, что квазидоминантный характер родословных (с пропусками поколений) обусловлен частыми браками между гетерозиготами и больными гомозиготами [6]. Имеется предположение о гетерогенном характере наследования ПБ [18, 20].

Роль конституционально-генетических факторов в проявлении ПБ доказывается также общностью биохимических сдвигов (гипергистаминемией, диспротеинемией) у пробандов и их родственников первой степени родства. По мнению некоторых авторов, среди родственников больных ПБ чаще наблюдаются заболевания, связанные с нарушением обмена веществ: подагра, сахарный диабет, литиазы и др. Особо выражена патогенетическая связь ПБ с аллергическими заболеваниями. Однако акцентуация аллергических аспектов ПБ поддерживается не всеми авторами [3]. По нашим данным, удельный вес аллергических заболеваний в общей структуре заболеваемости родственников больных ПБ составляет 4,0%. Этот показатель у пробандов со схожей с ПБ патологией равен 2,7%, т. е. достоверных различий между ними нет.

Единственным заболеванием, патогенетическая связь которого с ПБ не вызывает сомнений, является амилоидоз. Макьюсик считает, что редкость амилоидоза у армии свидетельствует о том, что лихорадка у них отличается от лихорадки, распространенной среди евреев-сефардов [6]. Ввиду частого сочетания ПБ с амилоидозом в еврейской популяции предполагается существование двух отдельных фенотипических проявлений единого врожденного нарушения обменного характера: при фенотипе I возникают типичные для ПБ пароксизмы с присоединением амилоидоза; при фенотипе II амилоидоз считается первичным проявлением, а приступы ПБ присоединяются позднее. По некоторым данным, системный амилоидоз чаще встречается у евреев-сефардов с ПБ на фоне его относительной редкости у других этнических групп. Маловероятно, что амилоидоз и полисерозит (ПБ) у североафриканских евреев—эффект действия двух генов—скорее всего они являются результатом плейотропного действия одного гена. Возможно также, что проявление ПБ и амилоидоза в различных этнических группах—следствие рецессивных мутаций разных генных локусов, выражающихся, однако, одним и тем же метаболическим эффектом. В та-

ким случае пораженные этим недугом потомки практически здоровых лиц могут быть гетерозиготными ни каждому из этих генов. Однако не отрицая возможности существования определенных этнически обусловленных особенностей как в исследовании, так и в клинике ПБ, мы не можем подтвердить наличие фенотипа ПБ среди больных армян. Об отсутствии предварительного развития амилоидоза при ПБ свидетельствуют и другие исследования [1]. Кроме того, сравнение в родословных пробандов с ПБ и лиц с клинически сходной патологией свидетельствует об их почти равном удельном весе амилоидоза среди других заболеваний в обеих группах (соответственно 0,6 и 0,9%).

В связи с этим интересно сравнить возможную этническую близость армян с евреями-ашкенази и евреями-сефардами.

В последние годы не раз предпринимались попытки выявления связи ПБ с системой HLA. Не установлено достоверной взаимосвязи ПБ с локусами A и B; лишь в некоторых случаях с амилоидозом обнаружен антиген A-28 [4, 9, 11, 19].

Актуальность изучения генетических особенностей заболевания являла необходимость детального хромосомного анализа в клеточных культурах больных. Проведенные единичные цитогенетические исследования выявили лишь редкие структурные изменения хромосом [3, 14].

На фоне преобладания медленного фенотипа инактивации (67%) в армянской популяции в целом среди больных ПБ число медленных ацетиляторов составляет 96,6%, а средняя активность ацетилирования $38,7 \pm 8,77\%$ [8]. Возможно, среди других генетических факторов медленный тип ацетилирования в какой-то мере определяет развитие ПБ. Причем его уровень не зависит от наличия амилоидоза, пола и возраста больных, клинических проявлений заболевания.

Нами проведен также и цитогенетический анализ у больных ПБ. У 10 больных ПБ детского возраста (до 16 лет) учитывалось количество хромосомных aberrаций и СХО. Лимфоциты периферической крови культивировали в течение 76 ч, для подсчета числа СХО на одну клетку и культуры добавляли 5-бромдезоксинуридин; клетки фиксировали смесью метанола с уксусной кислотой. У больных выявлено повышение количества хромосомных aberrаций в среднем до $5,84 \pm 0,20\%$, тогда как в контроле у здоровых доноров оно составляло $1,70 \pm 0,28\%$. Число СХО у больных на одну клетку составило в среднем $6,79 \pm 0,31$, что достоверно не превышает контрольный уровень, равный $7,71 \pm 0,60$ СХО на одну клетку.

Совместно с А. А. Казаряном впервые показано, что введение мочи больных ПБ в культуры клеток здоровых доноров за 24 ч до фиксации способствует повышению уровня aberrантных клеток, доля которых в некоторых случаях достигала 20%.

Повышение клеточной чувствительности больных ПБ к измененным условиям культивирования отмечено нами и при росте клеток в условиях с низким содержанием фолиевой кислоты на среде 199 с добавлением 5% сыворотки, что приводило к снижению доли парных фрагментов хромосом.

Таким образом, из результатов хромосомного анализа следует, что у больных ПБ уровень цитогенетических показателей несомненно отличается от аналогичных показателей здоровых доноров. В связи с этим нами проводится детальный анализ кариотипа больных с применением современных методов дифференциального окрашивания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Айвазян А. А. Периодическая болезнь. 215, Ереван, 1982.
2. Арсенов Г. М. Автореф. канд. дисс., 30, Ереван, 1975.
3. Виноградова О. М. Периодическая болезнь. 200, М., 1973.
4. Виноградова О. М., Зотиков Е. А., Кутеини Р. М., Кочубей Л. Н., Коваленко Л. В. Клин. мед., 65, 7, 118—122, 1987.
5. Ленц В. Медицинская генетика. 390, М., 1980.
6. Маклюкс. Наследственные признаки человека. 684, М., 1976.
7. Нерсисян В. Н. Автореф. докт. дисс., М., 1985.
8. Подымов В. К., Виноградова О. М., Ковалева В. Л., Кочубей Л. Н., Галстян С. М. Терапевтический архив, 60, 6, 95—98, 1988.
9. Benoist J., Journal of Human Evolution, 10, 599—603, 1981.
10. Cattan R., Khayri G., Hirsch-Marie H., Bull. soc. med. Hop. Paris, 113, 14, 1137, 1962.
11. Chacual Y., Formen J.P., Godtau P. et al. Nouv. Presse med., 6, 2949—2953, 1977.
12. Elshin M., Levy A., Ehrenfeld M. Recurrent polyserositis (FMF, periodic disease), New York, Elsevier North-Holland Inc., 227, 1981.
13. Gasit E., Orgad S., Pras M. Tissue Antigens, 9, 273—276, 1977.
14. Krey P. R., Cohen A. S. Am. J. Med. Sci., 249, 295, 1965.
15. Meyerhoff J., Medicine, 59, 66—77, 1980.
16. Mourant A. E., Kofoe A., C.Domaniewska-Sobczak. The distribution of the human blood groups and other polymorphisms, London, Oxford Univ. Press, 1976.
17. Reitman H. A., Mendel J., Semerdjian S., Sabayan P. J., 154, 1254, 1954.
18. Siegal S. Gastroenterol., 12, 231—247, 1949.
19. Schlesinger M., Lifeld D. N., Zamir R., Brautbar C. Tissue Antigens, 24, 1, 55—66, 1984.
20. Sohar E., Gafni J., Pras M., Heller H. Am. J. Med., 43, 227—253, 1967.

Поступило 19.X 1988 г.

Вестник ж. Армения, № 2, (42), 1989

УДК 616.007.612.017—1.112

МАКРОФАГИ ДЕРМЫ

М. З. БАХШИНЯН, А. В. АЗНАУРЯН, Э. С. АКОПДЖАНИЯ,

Т. А. БЕЛОУСОВА, И. А. АРТЕМЯН

Ереванский государственный медицинский институт, кафедра гистологии

Исследование макрофагов дермы в норме обнаружило их участие в поддержании тканевого гомеостаза кожи: при активации организма тканевым антигеном и ретиноидами наблюдается усиление слабо выраженной в норме фагоцитарной функции.

Сокращения. МЭРК—полностью трансметилловый эфир ретиноевой кислоты, ДГМЭРК—метилловый эфир 7,8 дегидропериноэвой кислоты, ГЭР—гранулярный эндоплазматический ретикулум, СФМ—система мононуклеарных фагоцитов.

Դերմաի մակրոֆագ բջիջների առամնափրոսթյունը նորմայում հարակերել է նրանց մանանկությունը մաշկի հյուսվածքային համեմատադր. պրոպորցիաներ, օրգանիզմը հյուսվածքային անտիգենով և ռետինոիդներով ակտիվացրելիս նկատվել է նորմայում իրեն արտահայտված ֆագոցիտար ֆունկցիայի ուժեղացում:

Investigation of macrophages of derma in norm revealed their participation in the preservation of tissue equilibrium of the skin; during activation of organism with tissue antigens and retinoids strengthening of phagocytar function, weakly expressed in norm, was observed

Дерма—тканевой антиген—ретиноиды.

Макрофаги дермы почти не изучены. Между тем в защитных реакциях организма известна важная роль кожи, одной из первых вступающей во взаимодействие с многочисленными чужеродными агентами [2]. Учитывая огромную площадь, занимаемую кожей, и тот факт, что основным изученным элементом ее, участвующим в иммунных реакциях, являются клетки Лангерганса, мы поставили цель исследовать макрофаги дермы в норме и при различных способах активации—тканевым антигеном и ретиноидами.

Материал и методика. Резидентные макрофаги дермы были исследованы у беспородных крыс (5), мышей (4) обоего пола, мышей F₁, C57 BL/CBA—самцов (7), мышей-самок F₁ CBA [6]. Активированные макрофаги дермы изучали: 1—при интубрюшинном введении 0,5 мл 8%-ной взвеси эритроцитов барана 25 беспородным белым крысам и 6%-ной—18 мышам. Животные были забиты в различные сроки (табл. 2)—при накожном нанесении 0,1%-ных бензольных растворов МЭРК и ДГМЭРК, которые наносили на кожу межлопаточной области 14 мышам-самцам F₁ C57 BL/CBA липеткой со стандартным диаметром конического отверстия по 2 капли и 5 дней в течение 36 дней. Животным отдельной группы вводили тем же способом касторовое масло в качестве контроля на растворитель.

Для маркировки макрофагов всем животным за 2 нед до забоя интубрюшинно вводили 50%-ный раствор коллоидного угля—мышам по 0,3—0,1 мл, крысам—по 3—5 мл. Количество макрофагов подсчитывали в 50—70 полях зрения (об. 40, ок. 15) в препаратах от каждого животного, затем производили перерасчет на одно поле зрения. Фагоцитарную активность изучали определением фагоцитарного показателя и среднего числа клеток со сверхинтенсивным фагоцитозом (ок. 10, об. 90). Фагоцитарный показатель отражал среднее число поглощенных частиц угля, произведенное на один макрофаг (подсчет частиц производили в 100 клетках от каждого животного). Сверхинтенсивный фагоцитоз отражал и процентах количество клеток, в которых грамулы угля из-за их многочисленности сосчитать не удавалось.

В опытах с накожным нанесением ретиноидов определяли размеры клетки, цитоплазмы, ядра (планиметрическим методом в условиях эталонах), кислотную фосфатазу—маркерный фермент лейкоцитов (на сажжезамороженных криостатных срезах методом азосочетаний с последующим количественным анализом на цитохромометре).

Морфологические данные были обработаны методом вариационной статистики по Стьюденту.

Для электронной микроскопии кусочки дермы толщиной не менее 1 мм фиксировали в 2%-ном растворе глицтаральдегида на какодильном буфере с последующей фиксацией в 1%-ном растворе того же буфера. Дегидратацию производили в этанолах возрастающей концентрации. В процессе обезвоживания материал контрастировали 0,5%-ным раствором уранилacetата в 70%-ном этаноле. Ультратонкие срезы готовили на ультратоме LKV, контрастировали нитратом свинца по Рейнольдсу и просматривали в электронном микроскопе JEM при ускоряющем напряжении 80 кВ.

Результаты и обсуждение. У всех изученных животных резидентные макрофаги дермы характеризуются сравнительно невысокой реактивностью (табл. 1). Для сравнения в таблице приведены аналогичные показатели резидентных макрофагов легкого. Высокую реактивность макрофагов других органов мы отмечали ранее [1].

Таблица 1 Морфометрическая характеристика резидентных макрофагов дермы и легкого у различных животных

Вид и количество животных	Орган	Содержание макрофагов (M±m)	Фагоцитарная способность	
			Фагоцитарный показатель	Содержание макрофагов с гиперинт. фагоцитозом %
Беспородные белые крысы, 5	дерма	3.135±0.143	1.9±0.077	1.55 1.57±0.09
	легкое	3±0.141	6.64±0.1	3.84±0.4
Беспородные белые мыши, 4	дерма	1.576±0.0124	2.91±0.39	1.93 1.97±0.13
	легкое	4±0.04	6.97±0.19	9.5 11±0.32
Мыши, 7	дерма	0.62±0.2	2.97±0.09	2.5 2.57±0.1
	легкое	1.606±0.215	5.805±0.277	7.19 7.75±0.475
Мыши СВА, 8	дерма	1.79±0.17	3.02±0.01	1.8 1.84±0.09
	легкое	3.515±0.218	6.68±0.222	13 15±2.64
Крысы 5	дерма	1.414±0.021	3.51±0.13	1.5 1.53±0.14
	легкое	2.025±0.093	5.72±0.037	7.97 8.66±1.2

Электронно-микроскопическими исследованиями у них выявлено: удлиненное тело, гладкая клеточная поверхность, немногочисленные липиды. Хорошо развиты рибосомы и ГЭР (рис. 1, см. вкл.). Часто резидентные макрофаги дермы находятся в тесном контакте с коллагеновыми волокнами, фибробластами (рис. 2, см. вкл.).

В условиях антигенной стимуляции описанные ультраструктурные признаки усиливались, что свидетельствует, как и в норме, о преобладании у макрофагов дермы в первую очередь белково-синтетической функции. Кроме того, имели место контакты макрофагов дермы с плазмочитами, вероятно, свидетельствующие о взаимном участии указанных клеток в иммунном ответе органа. При антигенной стимуляции иногда встречались макрофаги с типичными признаками фагоцитов — с активной клеточной поверхностью, обильным липосом. По-видимому, за счет появления таких макрофагов происходит активация фагоцитарной функции макрофагов дермы (табл. 2), проявляющаяся в увеличении числа макрофагов со сверхинтенсивным фагоцитозом, возрастанием фагоцитарного показателя. Между фагоцитарной активностью макрофагов дермы и содержанием в них кислой фосфатазы замечена прямая

корреляция (табл. 2), т. е. увеличение содержания фермента при по-
растании фагоцитарной функции клетки свидетельствует об интен-
сивном синтезе фермента.

Таблица 2. Морфометрическая характеристика макрофагов дермы в условиях
антигенной стимуляции

Сроки, дни		Количество животных	Содержание макрофагов. (M±m)	Фагоцитарная активность		Содержание кислот фосфатазы
				фагоцитарный индекс за 2 ч	среднее число макрофагов со сверхинтенсивным фагоцитозом, %	
Белые крысы	Контроль	7	3.135±0.143	1.9±0.077	1.55 (1.57±0.09)	73.5±1.29
	5—6	8	4.325±0.05	3.22±0.033	2.7 (2.85±0.15)	81.75±1.17
	7	7	5.14±0.414	3.69±0.00325	7.5 (8.2±1.44)	92.145±2.87
	10—16	5	3.675±0.22	4.907±0.0022	7.8 (8.5±2.16)	97.15±1.39
Темные мыши	14	5	3.53±0.182 P<0.1	3.89±0.0057	13.4 (15.1±2.16)	94.08±0.197
	контроль	4	1.576±0.0124	2.91±0.39	1.93 (1.97±0.19)	
	5—6	6	1.7366±0.0752 P<0.002	3.19±0.127	2.75 (2.83±0.13)	
	9	7	1.795±0.018	4.27±0.019	4.35 (1.95±0.07)	
	15—16	5	1.63±0.0372 P<0.1	3.92±0.08	3.85	

Во всех остальных случаях P<0,001.

При воздействии ретиноидами выявилась высокая пластичность ма-
крофагов дермы, изученные морфометрические показатели их функ-
циональной активности оказались в прямой зависимости от способа вве-
дения адьюванта (табл. 3). Содержание макрофагов возрастает при-
мерно одинаково при подкожном и внутрибрюшинном способах введе-
ния. Однако количество макрофагов со сверхинтенсивным фагоцитозом,
равно как и возрастание ядерно-плазменных отношений, преоблада-
ет при подкожном способе введения.

Полученные данные свидетельствуют о взаимосвязи степени акти-
зации макрофагов дермы и способа введения адьюванта, о появлении
у них общего признака, присущего всем представителям СМФ—при-
знака неспецифической активации, выражающейся в фагоцитировании
любого чужеродного агента, попавшего в организм парентеральным
путем.

Таким образом, макрофаги дермы, характеризующиеся в норме
слабой фагоцитарной функцией в сравнении с остальными представи-
телями СМФ являются важным структурно-функциональным компонен-
том кожи, регулирующим ее тканевое равновесие (гомеостаз). В ус-
ловиях активации организма некоторые представители данной клеточ-

Таблица 3. Влияние кожного и внутрибрюшинного нанесения МЭРК на морфометрические показатели макрофагов дермы

Воздействие	Количество животных	Содержание макрофагов	Фагоцитарная активность		Размеры (в условных единицах)		
			фагоцитарный показатель	среднее число макрофагов с 1 фазоцитозом, %	клетки	цитоплазмы	ядра
Контроль	6	0.74 ± 0.08	1.507 ± 0.013	1.95 (1.99 ± 0.17)	3.28 ± 0.001	2.517 ± 0.037 P = 0.001	0.75 ± 0.09
М.РК	9	0.78 ± 0.18 P < 0.1	2.09 ± 0.15 P < 0.001	2.12 (2.17 ± 0.102) P < 0.001	3.678 ± 0.06 P < 0.001	2.884 ± 0.05 P < 0.001	0.787 ± 0.007 P < 0.001
ДМ.ЭРК	9	0.748 ± 0.072 P < 0.1	1.731 ± 0.12 P < 0.1	2.21 (2.24 ± 0.11) P < 0.001	3.57 ± 0.048 P < 0.001	2.764 ± 0.005 P < 0.001	0.765 ± 0.003 P < 0.1
Контроль	5	0.81 ± 0.07	2.17 ± 0.15	1.49 (1.52 ± 0.09)	4.45 ± 0.021	2.547 ± 0.03	0.194 ± 0.03
Кедровое масло	4	0.87 ± 0.103 P < 0.1	2.12 ± 0.11 P < 0.1	1.29 (1.31 ± 0.19) P < 0.1	4.259 ± 0.205 P < 0.1	2.529 ± 0.039 P < 0.001	0.189 ± 0.007 P < 0.001

* ДМ — сверхинтенсивный.

ной популяции приобретают типичные для нее признаки клетки-фагоцита, обнаруживая при этом признаки значительной морфофункциональной реактивности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Азнаурян А. В., Бахшиян М. З. Биол. ж. Армении, 39, 5, 402—406, 1986.
2. Ян Карр. Макрофаги. Обзор ультраструктуры и функции. М., 1978.

Поступило 4.IV 1988 г.

Биол. ж. Армении, № 2, (42), 1989

УДК 616.097.6.12.017—1112

МАКРОФАГИ ПЕЧЕНИ

М. З. БАХШИЯН

Ереванский государственный медицинский институт, кафедра гистологии

Исследование печеночных макрофагов, активированных тканевым антигеном и ретиноидами (последними в условиях злокачественного роста), обнаружило их высокую реактивность, не исчерпывающуюся фагоцитарной функцией.

Էյարդի մակրոֆագ բջիթները, որոնք ակտիվացվել են օրգանաձևային անտիգենի և րետինոիդների ազդեցությամբ (վերջինների՝ դրսևումը ածի պաթոանոմիում) ցուցաբերում են բարձր ակտիվություն և չեն իսկապես փութացնում ֆագոցիտոզով:

The study of liver macrophages, activated by tissue antigens and retinoids (by the latter under conditions of malignant growth) has revealed its high reactivity not being exhausted by phagocytar function.

Ретинониды—перевивки опухолей—сверхинтенсивный фазоцитоз—лизосомы.

В таком сложном по строению и функции органе, какой является печень, макрофаги имеют значительное представительство [3—5]. Естественно поэтому предположение о важной роли указанных клеток в реализации многочисленных функций этого органа, особенно при различных состояниях организма. Исследований, касающихся морфологии и функции печеночных макрофагов, в указанном аспекте мы не встретили. В настоящей работе представлены результаты изучения печеночных макрофагов, активированных тканевым антигеном и ретиноидами в условиях злокачественного роста.

Материал и методика. Активацию макрофагов тканевым антигеном осуществляли интритубрюшинным введением 0,5 мл 8%-ной взвеси эритроцитов барана 25 беспородным белым крысам обоего пола. Действие ретиноидов изучали в условиях химически индуцированного канцерогенеза и перевивных опухолей.

Сокращения: МЭРК—полностью трансметилловый эфир ретиноевой кислоты; ДГМЭРК—метилловый эфир 7,5 дегидротетиноевой кислоты; БП—бензипирен; СМФ—система моноуклеарных фазоцитов; ХИК—химически индуцированный канцерогенез.

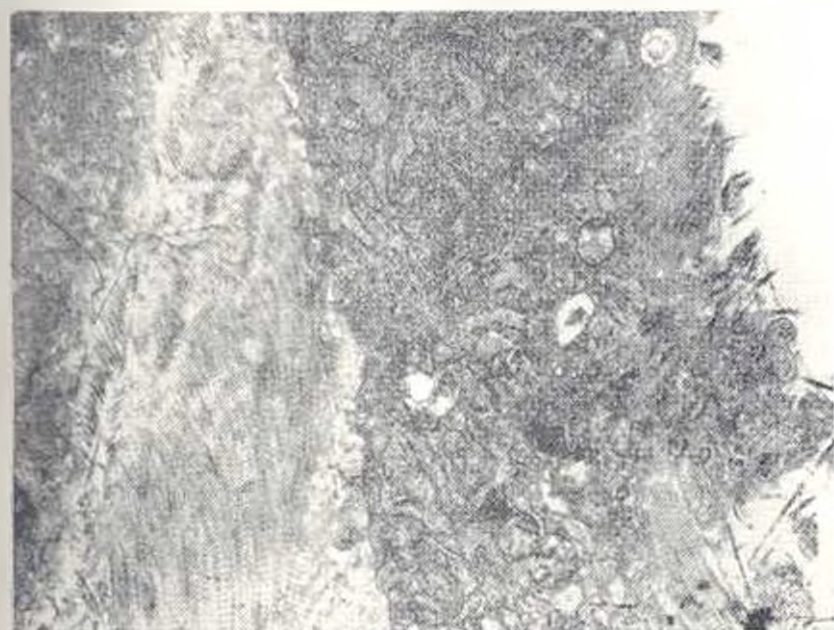
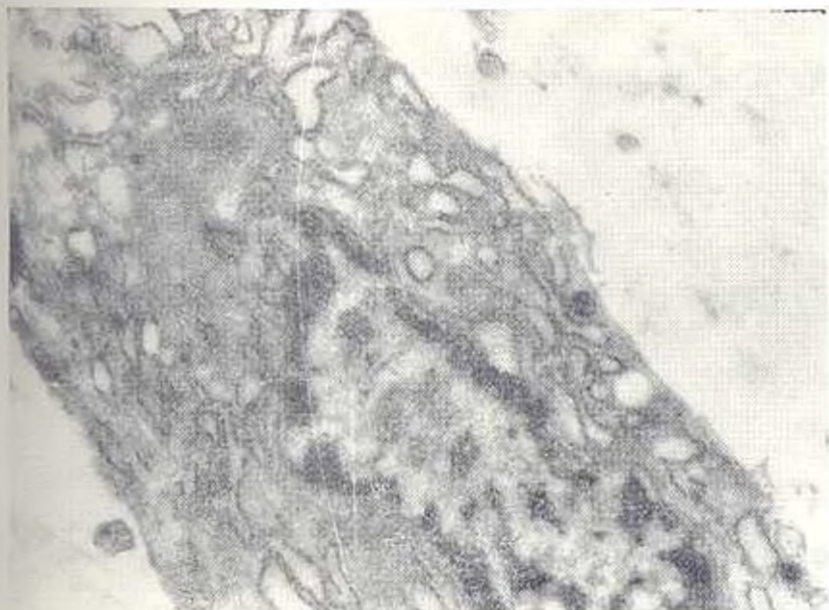


Рис. 1. Резидентный макрофаг дермы удлиненной формы с волнистой поверхностью и перитоническими липосомами. В цитоплазме хорошо развиты рибосомы и трикулярная эндоплазматическая сеть. X18,000

Рис. 2. Фрагмент резидентного макрофага дермы находящегося в тесном контакте с коллагеновыми фибриллами. X18,000

ной популяции приобретают типичные для нее признаки клетки-фагоцита, обнаруживая при этом признаки значительной морфофункциональной реактивности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Азнаурян А. В., Бахшиян М. З. Биол. ж. Армении, 39, 5, 402—406, 1986.
2. Ян Карр. Макрофаги. Обзор ультраструктуры и функции. М., 1978.

Поступило 4.IV 1988 г.

Биол. ж. Армении, № 2, (42), 1989

УДК 616.097.6.12.017—1112

МАКРОФАГИ ПЕЧЕНИ

М. З. БАХШИЯН

Ереванский государственный медицинский институт, кафедра гистологии

Исследование печеночных макрофагов, активированных тканевым антигеном и ретиноидами (последними в условиях злокачественного роста), обнаружило их высокую реактивность, не исчерпывающуюся фагоцитарной функцией.

Էյարդի մակրոֆագ բջիւնքի, որոնք մեք-բիւլը ևն էյտուածրային անտիգենի և ռետինոիդների ազդեցության տակ բնական ածր պայմաններում) առանձնաբերությունը հայտնաբերել է իրենց բարձր ֆագոցիտոզ անակոմբրոնները, որոնք չեն առանձնաբերվում ֆագոցիտոզով:

The study of liver macrophages, activated by tissue antigens and retinoids (by the latter under conditions of malignant growth) has revealed its high reactivity not being exhausted by phagocytar function.

Ретиноиды—перевивки опухолей—сверхинтенсивный фазоцитоз—лизосомы.

В таком сложном по строению и функции органе, какой является печень, макрофаги имеют значительное представительство [3—5]. Естественно поэтому предположение о важной роли указанных клеток в реализации многочисленных функций этого органа, особенно при различных состояниях организма. Исследований, касающихся морфологии и функции печеночных макрофагов, в указанном аспекте мы не встретили. В настоящей работе представлены результаты изучения печеночных макрофагов, активированных тканевым антигеном и ретиноидами в условиях злокачественного роста.

Материал и методика. Активацию макрофагов тканевым антигеном осуществляли интритабрюшинным введением 0,5 мл 8%-ной взвеси эритроцитов барана 25 беспородным белым крысам обоего пола. Действие ретиноидов изучали в условиях химически индуцированного канцерогенеза и перевивных опухолей.

Сокращения: МЭРК—полностью трансметилловый эфир ретиноевой кислоты; ДГМЭРК—метилловый эфир 7,5 дегидротиноевой кислоты; БП—бензипирен; СМФ—система моновуклеарных фазоцитов; ХИК—химически индуцированный канцерогенез.

Химический канцерогенез индуцировали у 7 мышей-самцов F₁C57 BL/СВА накожным нанесением 0,5% ного 3,4 БП на кожу межлопаточной области в течение 36 дней. Аналогично 14 мышам этой же линии наносили помимо БП ретиноид. Поскольку ретиновая кислота обладает выраженной противопухоловой активностью [2], мы использовали МЭРК и ДГМЭРК 0,1%-ные бензиновые растворы. В другой части эксперимента животным переносили карциному Люис (9 мышам-самкам C57 BL/СВА) — группа А и карциному РС-1 (10 крысам-самкам линии Wistar) — группа В. В группе А в качестве ретиноида использовали 1 диметил-1 этоксикарбоил-4-оксипентилден-уксусной кислоты этиловый эфир, который обладает меньшей токсичностью, чем ретиновая кислота, тормозит рост переносимых опухолей [1, 2]. Животным группы В вводили 0,5 мл 1%-ного масляного раствора МЭРК. Из отдельной группы животных (10 крыс-самок линии Wistar) с принятой карциномой РС-1 изучали фагоцитарную активность макрофагов печени при различных способах введения 1%-ного масляного раствора МЭРК перорально, интратрибушином (в/б), подкожно (п/к) на левую и контрольную к опухоли сторону.

Для изучения фагоцитарной способности животных из 2-х д. табоя интратрибушинно вводили 3—5 мл 50%-ного раствора коллоидного угля. Определяли два показателя — фагоцитарный и среднее число макрофагов со сверхинтенсивным фагоцитозом. Первый показатель отражал среднее число частиц угля, поглощенных одной клеткой (подсчет производили в 100 клетках, ок. 10, об. 20), второй — среднее число макрофагов, в которых гранулы угля из-за их многочисленности сосчитать не удавалось. Эти клетки мы условно обозначали как макрофаги со сверхинтенсивным фагоцитозом. Морфометрические данные были обработаны методом вариационной статистики по Стьюденту.

Для электронной микроскопии кусочки печени толщиной не менее 1 мм фиксировали в 2%-ном растворе глутаральдегида с последующей фиксацией в 1%-ном растворе того же буфера. Дегидратацию производили в ацетонах возрастающей концентрации. В процессе обезжиривания материал контрастировали 0,5%-ным раствором уранилacetата и 70%-ном ацетоне. Ультратонкие срезы готовили на ультратоме LKV, контрастировали цитратом свинца по Рейнольдсу и просматривали в электронном микроскопе JEM при ускоряющем напряжении 80 кВ.

Результаты и обсуждение. В условиях антигенной стимуляции среди активированных макрофагов ультрамикроскопически различаются две разновидности. Одна имеет признаки, присущие всем активированным представителям СМФ: значительное количество полиморфных лизосом, складчатая мембранность (рис. 1, см. вкл.). У другой разновидности лизосомы в цитоплазме немногочисленны, преобладают рибосомы (рис. 2, см. вкл.), складчатость поверхности умеренная. Вероятно, у последнего типа макрофагов фагоцитарная функция не является основной, преобладает белково-синтетическая функция.

В условиях данного эксперимента резко возрастает фагоцитарная активность, в отдельных случаях содержание макрофагов со сверхинтенсивным фагоцитозом превосходит контрольные данные в 2—3 раза (табл.).

Под влиянием ретиноидов мы наблюдали активацию фагоцитарной функции печеночных макрофагов в условиях злокачественного роста. Так, при накожном нанесении обоих ретиноидов при химически индуцированном канцерогенезе отмечалась значительная активация макрофагов печени (табл.).

В эксперименте с переносимой опухолью — карциномой Люис имела место значительная активация фагоцитарной функции макрофагов, что, на наш взгляд, способствует тормозящему влиянию данного ретиноида

Изменение фагоцитарной активности печеночных макрофагов при различных воздействиях на организм

Фагоцитарный показатель	Воздействие ретиноидами							Перевивные опухоли					
	Антигенная стимуляция, дни												
	Контроль 5-6		7	10-12	ХИК+	БП	БП+МЭРК	БП+ДГМЭРК	Контроль	Карцинома Люэс+ретиноид	Карцинома РС-1	Карцинома РС-1+МЭРК в'б	Карцинома РС-1+МЭРК п'к
	7.13±0.07	9.92±0.16	11.9±0.2	8.92±0.2	12.93±0.48	16.97±0.41	13.17±0.34	P<0.1					
								19.16±0.7	20.64±0.99	15.84±0.35	14.08±0.4	12.97±0.15	
								P<0.1					
Среднее число макрофагов со сниженной фагоцитозом, %	4.03	9.5	13.97	12.28	15.25	26.7	16.8	21.4	33.1	27.9	19.83	14.3	
	4.2±	10.5±	16.25±	14±1.22	18±1.87	35±3.4	20.25±2	32.3±1.15	43.5±5.1	33.75±1.19	21.75±4.23	16.75±2.	
	1.64	0.95	1.1					P<0.01					
	Во всех остальных случаях P<0,001.												

на рост опухоли. Наблюдаемая активация фагоцитарной функции макрофагов способствует, вероятно, активации метаболизма этих клеток и, как следствие, продуцированию ими биологически активных веществ, оказывающих цитотоксическое воздействие на опухолевые клетки. Тем более, что существуют отдельные указания на то, что дилатация лизосомальных мембран макрофагов ретиноидами способствует разрушению цитоплазматических мембран опухолевых клеток [6]. Нельзя исключить и продуцирование активированными макрофагами интерлейкина-1, способствующего активации участия в противоопухолевом иммунитете лимфоидных клеток.

Исследование влияния различных способов введения ретиноидов на фагоцитарную активность печеночных макрофагов в условиях злокачественного роста обнаружило следующее. Пероральный способ введения оказался неэффективным в отличие от парентеральных способов — внутрибрюшинного и подкожного. Данное обстоятельство связано, вероятно, со способностью макрофагов поглощать любой чужеродный агент, попавший в организм парентеральным путем. Наиболее эффективно подкожное введение ретиноида, особенно с контралатеральной по отношению к опухоли стороны. Полученные данные свидетельствуют, во-первых, о том, что внутрибрюшинный способ, вызывая явления перитонита, способствует, вероятно, миграции функционально активных печеночных макрофагов к очагу воспаления, вызванного введением ретиноида. Во-вторых, наиболее активные макрофаги, являясь к тому же, вероятно, и наиболее мобильными клетками, устремляются к близко расположенной опухоли (ипсилатеральный способ), в печени же остаются менее активные их представители. При контралатеральном способе, сравнительно затрудняющем в некоторой степени миграцию макрофагов к опухоли, прежде всего устремляются в печень их наиболее активные представители.

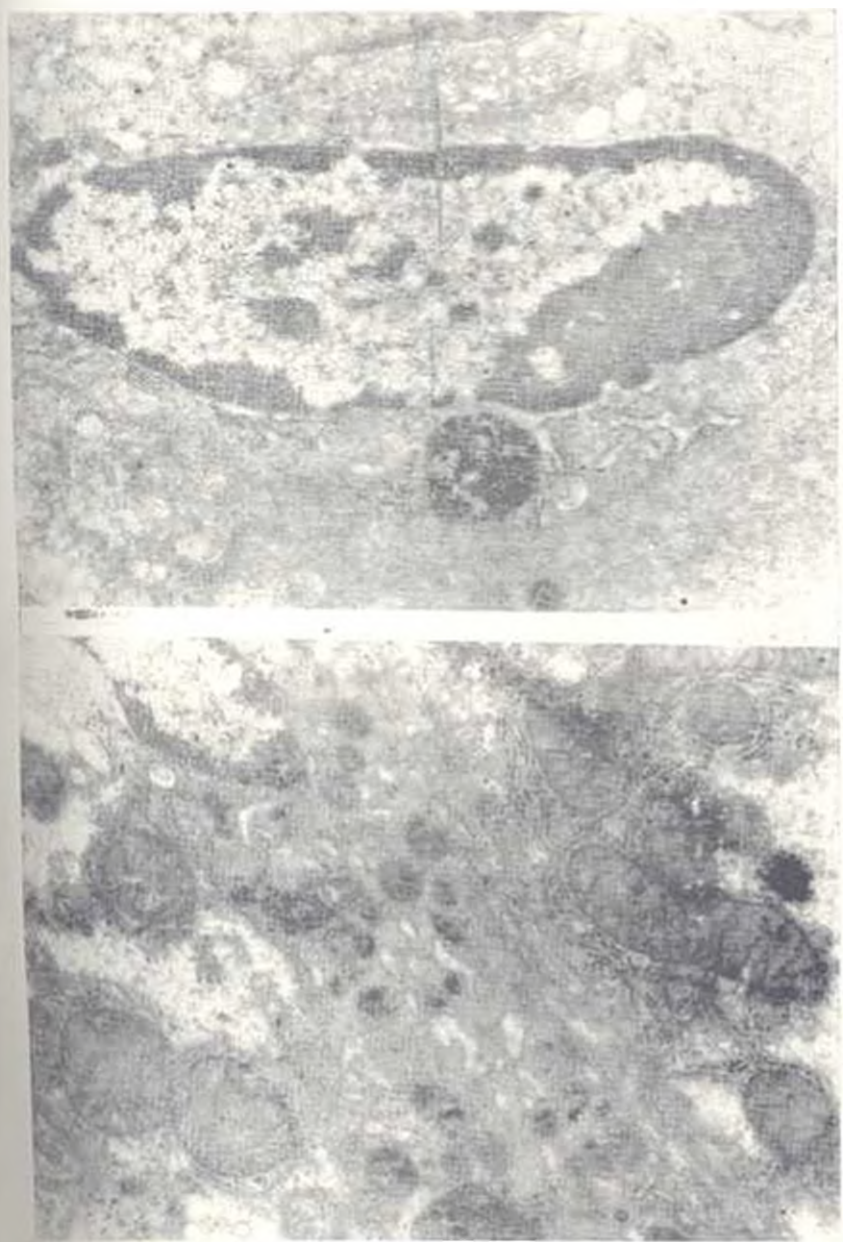
Таким образом, макрофаги печени являются высокореактивными клетками, выполняющими не только фагоцитарную функцию. Активируясь под влиянием ретиноидов, они обнаруживают высокую приспособляемость и мобильность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Афанасьев Ю. Н., Ноздрин В. Н., Михайлов О. Н., Сажожадов Г. Н., Вакхолов Л. А., Яхонтова Н. М., Давыдова Л. П. Вопросы онкологии, 30, 3, 79—81, 1983.
2. Афанасьев Ю. Н., Ноздрин В. Н., Перилья А. А. Вопросы онкологии, 12, 84—86, 1979.
3. Маянский Д. Н. Клетка Кулфери и система мононуклеарных макрофагов. Новосибирск, 1981.
4. Маянский Д. Н. Успехи современной биологии, 82, 1, 73—88, 1982.
5. Маянский А. Н., Маянский Д. Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. 257. Новосибирск, 1979.
6. Семенов А. А. Природные противоопухолевые соединения. 81—84. Новосибирск, 1979.

Получено 1 IV 1988 г.

Fig. 1. The wall of the cell of *Trichomonas vaginalis* (1000x).
 Fig. 2. The cell of *Trichomonas vaginalis* (1000x).
 Fig. 3. The cell of *Trichomonas vaginalis* (1000x).



ВЛИЯНИЕ НЕЙРОГОРМОНА «С» И ГЕКСАПЕПТИДА НА СОКРАЩЕНИЕ СЕМЯВЫНОСЯЩЕГО ПРОТОКА КРЫСЫ

Р. О. КАРАПЕТЯН, А. А. ГАЛОЯН

Институт биохимии АН АрмССР, Ереван

Установлено, что нейрогормон «С» и гексапептид увеличивают сокращение семявыносящего протока, вызванное трансмуральной стимуляцией, экзогенными норадреналином и фенилэфрином. Это, по-видимому, можно объяснить высвобождением норадреналина из норадренергических нейронов.

Ստույգ է պարզվել, որ նեյրոհորմոն «С»-ն և հեքսապեպտիդը ուժեղացնում են սերմնա-
նարանի կծկողականությունը, առաջացված տրանսմուրալ խթանումով, էկզոգեն
նորադրենալինի և ֆենիլէֆրինի ազդեցությամբ: Չա, հավանաբար, կարելի է
ըստատրել նորադրենալինի նկրտներից նորադրենալինի անջատումով:

It is determined that neurohormone «С» and hexapeptide increase contractility of vas deferens, induced by action of transmural stimulation of exogenous noradrenalin and phenylephrine. It can be probably explained by the release of noradrenalin from noradrenergic neurones.

Семявыносящий проток—нейрогормон «С»—гексапептид.

НС, выделенный нами из гипоталамуса крупного рогатого скота, является гликопептидом с сильно выраженным коронарорасширяющим свойством при внутривенном введении кошкам в опытах *in situ* [1, 2]. Нами был обнаружен также С-концевой фрагмент люлиберина—гексапептид в гипоталамусе, который также обладает коронарорасширяющим свойством [3]. Ацетилированная форма ГП в дозе $1,5 \cdot 10^{-6}$ М оказывает более эффективное действие на сердечную деятельность [4].

В связи с этим, представляло интерес изучение влияния НС и ГП на свойство издириванного семявыносящего протока крысы сокращаться под влиянием норадреналина, фенилэфрина и при трансмуральной стимуляции.

Материал и методика. Опыты проводили на белых крысах-самцах породы Вистар массой 180–200 г. Животным оглушали электрическим током и декапитировали. Извлеченный семявыносящий проток помещали в инкубационную среду объемом 10 мл, содержащую солевой раствор Тироде следующего состава (в мМ): NaCl—136,8; KCl—4,5; CaCl_2 —2,5; MgCl_2 —1; NaHCO_3 —11,9; NaH_2PO_4 —1; глюкоза—5,5; раствор эритроцитов—0,5% при 35°.

Раздражение постганглионарных симпатических нервов окончаний достигалось путем трансмуральной стимуляции семявыносящего протока [5]. Для этого использовали кольцевые электроды [5, 13], импульсы на которые подавали от электрогенератора ИСЭ—0,1 с частотой 15 Гц в течение 5 сек, напряжение субмаксимальное, длительность импульсов 0,08–0,8 мсек.

Сокращения: НС—нейрогормон «С», ГП—гексапептид, НА—норадреналин, ТС—трансмуральная стимуляция, ФЭ—фенилэфрин, ФДЭ—фосфодиэстераза, P_{50} —максимальный эффект.

Концентрацию норадреналина и фенилэфрина подбирали таким образом, чтобы величина реакции была приблизительно равна ответу на трансмуральную стимуляцию. Расчеты основных параметров адренергической реакции—константы (K) и максимальной реакции (P_M)—производили согласно описанному методу [6, 7].

Препарат НС, выделенный из состава низкомолекулярных соединений гипоталамуса по методу Галояна [8], подвергли дальнейшей очистке путем диссоциации на глициламинированном сефадексе G-10 [9]. НС применяли в количестве 0,6 Е активности фосфолипазы цАМФ, растворенной в 0,1 мл дистиллированной воды. ГП использовали в количестве 0,001 мг/мл.

Результаты и обсуждение. НС и ГП увеличивают чувствительность рецепторов к норадреналину и фенилэфрину в разной степени. Константа адренергической реакции семявыносящего протока после 40 мин инкубации с НС изменяется с $1,78 \pm 0,1$ до $1,1 \pm 0,08 \times 10^{-7}$ М г/мл, т. е. на 52,9% (табл. 1). Величина максимальной реакции возрастает с 99 до 109, а ответ трансмуральной стимуляции с 52 до 65 мм. После отмывания параметры изменяются сильнее (рис. 1, 2).



Рис. 1. Кривая зависимости эффективности действия НА от его концентрации в норме (○) на фоне действия НС (Δ) и после отмывания от НС (●). По оси абсцисс—обратное концентрации НА ($1/A$) по оси ординат—обратное эффективности действия НА ($1/\Sigma$).

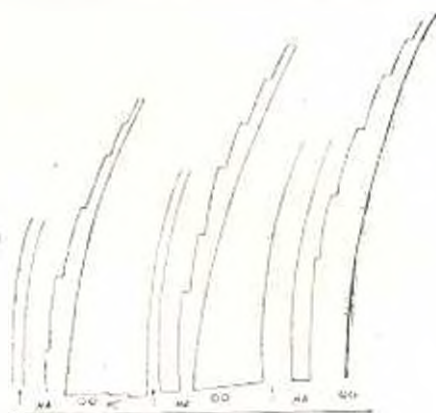


Рис. 2. Сокращения семявыносящего протока крысы на трансмуральную стимуляцию, введение НА и на фоне действия НС. Стимуляции в течение 5–10 с с частотой 15 Гц, при длительности 0,8 мсек. НА—в концентрациях 0,5X, 1,0X, 2,0X, 4,0X, 8,0X, 16,0X $\times 10^{-6}$ г/мл. 00—отмывка, стрелки—стимуляции.

Реакция на фенилэфрин изменяется в том же направлении, но выражена сильнее. Величина K на фенилэфрин снижается с $33,4 \pm 15,2$

Таблица 1. Влияние НС на сокращения семявыносящего протока крысы, вызванные НА, ФЭ, Т/С (данные 5 опытов)

Контроль			На фоне НС			Контроль			На фоне НС		
Т/С мм	НА $K \cdot 10^{-7}$ г/мл	P_m	Т/С мм	НС НА $K \cdot 10^{-7}$ г/мл	P_m	Т/С мм	ФЭ $K \cdot 10^{-7}$ г/мл	P_m	Т/С мм	НС ФЭ $K \cdot 10^{-7}$ г/мл	P_m
52 ± 10.1	1.78 ± 0.1	99 ± 15.7	65 ± 11.5	1.1 ± 0.08	109 ± 14.2	46 ± 13.7	33.4 ± 15.2	72 ± 27.1	46 ± 14.7	15.1 ± 4.0	93 ± 26.1
			$P > 0.2$	$P < 0.001$	$P < 0.5$				$P < 0.5$	$P > 0.2$	$P < 0.5$

Таблица 2. Влияние ГП на сокращения семявыносящего протока крысы, вызванные НА, ФЭ, и Т/С (данные 7 опытов)

Контроль			На фоне НС			Контроль			На фоне НС		
Т/С мм	НА $K \cdot 10^{-7}$ г/мл	P_m	Т/С мм	ГП НА $K \cdot 10^{-7}$ г/мл	P_m	Т/С мм	ФЭ $K \cdot 10^{-7}$ г/мл	P_m	Т/С мм	ГП ФЭ $K \cdot 10^{-7}$ г/мл	P_m
36 ± 5.7	9.0 ± 2.2	88 ± 10	53 ± 6.8	6.2 ± 1.9	68 ± 14	42.6 ± 9.2	8.5 ± 2.4	102.8 ± 7.3	61 ± 13	6.7 ± 2.3	106 ± 7.4
			$P < 0.05$	$P < 0.2$	$P < 0.1$				$P < 0.1$	$P < 0.5$	$P < 0.1$

до $15,1 \pm 4,0 \times 10^{-6}$ мкг/мл, т. е. в 2 раза, а после отмывания до 8,27 мкг/мл. Величина максимальной реакции возрастает с 72 до 83, после отмывания до 105, а ответ трансмуральной стимуляции с 40 до 46 мм, после отмывания параметры изменяются незначительно (табл. 1). ГП по сравнению с НС менее чувствителен к НА и ФЭ. При этом трансмуральная стимуляция с $36 \pm 5,7$ доходит до $53 \pm 6,8$. В присутствии ГП величина К на норадреналине снижается с $9,0 \pm 2,2$ до $6,2 \pm 1,9 \times 10^{-6}$ М г/мл, т. е. чувствительность к НА возрастает на 31%. Величина максимальной реакции снижается с 88 до 68.

Чувствительность к фенилэфрину соответственно с $8,5 \pm 2,4$ снижается до $6,7 \pm 2,3$ мкг/мл (на 21%) (табл. 2). Ответ трансмуральной стимуляции составляет 43%. При этом изменения максимальной реакции не наблюдается.

Опыты показали, что НС и ГП усиливают сокращения семявыносящего протока, вызванные трансмуральной стимуляцией. Вместе с тем они стимулируют также и сокращения, вызванные НА и ФЭ. Это можно объяснить выделением эндогенного НА из адренергических нейронов.

Не исключена возможность действия НС и ГП и на клеточную мембрану. Это влияние приводит к повышению чувствительности построенных в мембрану рецепторов к специфическим воздействиям медиаторов и, возможно, к активации транспортных систем клеточной мембраны.

Интересно отметить, что после отмывания семявыносящего протока от НС и ГП солевым раствором не восстанавливается ни ответ на трансмуральную стимуляцию, ни чувствительность к НА и ФЭ, а, наоборот, наблюдается тенденция к усилению сокращений семявыносящего протока, который, по-видимому, трудно отмывается.

Аналогичные результаты были получены при изучении влияния НС на холин- и адреночувствительность отрезка тонкой кишки крысы [10]. Трудность при отмывании отрезков тонкой кишки и семявыносящего протока можно объяснить высокой концентрацией нейротормона, и для восстановления исходной чувствительности к медиаторам после действия нейротормона необходимо более длительное отмывание.

Одинаковое по степени повышение чувствительности семявыносящего протока и тонкой кишки свидетельствует о действии НС на какое-то общее звено, которым, вероятно, является ФДЭ, активность которой снижается под влиянием НС [11].

Таким образом, НС и ГП в разной степени увеличивают чувствительность медиаторов в отношении сокращения семявыносящего протока. Не исключена возможность, что этот эффект реализуется посредством изменения внутриклеточного уровня ионов кальция, циклических нуклеотидов. НС, по нашим данным, усиливает биосинтез дофамина и норадреналина [12].

ЛИТЕРАТУРА

1. Галюк А. А. ДАН АрмССР, 34, 3, 109—151, 1962.
2. Галюк А. А., Срапникян Р. М., Мелкисев Ф. А. ДАН АрмССР, 66, 5, 302—306, 1978.

3. Галоян А. А. Вопросы биохимии мозга, 13, 9—38, Ереван, 1978.
4. Галоян А. А. ДАН АрмССР, 64, 2, 116—121, 1977.
5. Авакян О. М. Фармакологическая регуляция высвобождения и захвата норадреналина, Ереван, 1973.
6. Турпачев Т. М. Меднаторная функция ацетилхолина и природа холинорецепторов М., 1962.
7. Минухин Б. Н. Физиология адренорецепторов. М., 1968.
8. Галоян А. А. Патент № 403214 с приоритетом от 2 января 1968.
9. Галоян А. А., Срапионян Р. М., Карапетян Р. О., Саакян Ф. М., Саакян С. А., Сарибекян Г. А., ДАН АрмССР, 67, 3, 176—179, 1978.
10. Путинцева Т. Г., Карапетян Р. О. ДАН АрмССР, 69, 2, 119—124, 1979.
11. Галоян А. А., Гурвиц Б. Я., Логосян М. А. Вопросы биохимии мозга, 11, 89—96, Ереван, 1976.
12. Галоян А. А., Чифликян М. Д., Мурадян М. Ш., Едигорян А. К., Абрамян С. С. Нейрохимия, 5, 1, 45—48, 1986.
13. Birmingham A. T., Wilson A. B. Br. J. Pharmacol. Chemother., 11, 3, 369—580, 1962.
14. Swedin C. Acta Physiol. scand. suppl. 1, 369—375, 1971.

Поступило 6.V 1988 г.

Биолог. ж. Армении, № 2, (42), 1989

УДК 577.15

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ АКТИВНОСТИ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ КАРДИОАКТИВНЫХ НЕЙРОГОРМОНОВ «К» И «С»

К. А. ГАЛОЯН, М. А. ДАВТЯН, Р. М. СРАПИОНЯН

Институт биохимии АН АрмССР, Ереванский государственный университет

Выявлен неконкурентный тип ингибирования аргиназы нейрогормонами «К» и «С», что свидетельствует о связывании их с аргиназой не в каталитическом центре. Опыты по десенсибилизации аргиназы при помощи тепловой обработки выявили аллостерический механизм взаимодействия с нейрогормонами.

Բացահայտվել է «К» և «С» նեյրոհորմոնների արգինազի նկատմամբ անկոնկուրենտ տիպի ինհիբիցիոն ազդեցությունը, որը վկայում է արգինազի հետ նրանց կապակցման մասին ոչ կատալիտիկ կենտրոնում: Զերմային մշակմամբ արգինազի դեզսենսիթիզացիայի փորձերը ցուցաբերում են նեյրոհորմոնների հետ փոխազդեցության ալլոստերիկ մեխանիզմը:

Incompetitive type of arginase inhibition by neurohormones «K» and «C» is revealed, which indicates their connection with arginase not in the catalytic centre. Experiments on arginase desensibilization with the help of thermal treatment show the allosteric mechanism of interaction with neurohormones.

Аргиназа—нейрогормоны «К» и «С»—аллостеризм

Целью данного исследования являлось изучение влияния нейрогормонов «К» и «С» на активность коммерческой лиофилизированной аргиназы.

Сокращения: ДЭАЭ—целлюлоза—диэтиламиноэтил—целлюлоза, ФДЭ—фосфодистетрилат, ЭПР—электронноларамагнитный резонанс.

пазы, выделенной из печени крупного рогатого скота, а также на активность I и II изоэнзимов частично очищенной аргиназы печени крыс. Эти нейрогормоны путем возможного воздействия на активность аргиназ различной природы и их изоферментов могут оказать регулирующее влияние на ряд важных метаболических процессов.

Материал и методы. Кардиотактивные нейрогормоны «К» и «С» выделяли двумя способами: из плазматических соединений гипоталамуса и изсеропринципом из смеси белковых носителей методом диализа против 0,1 N CH_3COOH .

Гель-фильтрацию низкомолекулярных соединений проводили на колонке с модифицированным и ионообменным сефадексом G-10. Гликозилирование сефадекса вели по методу Крейга и соавт. с некоторыми модификациями [2, 5].

Ионообменную хроматографию проводили на колонках, заполненных ДЭАЭ-целлюлозой, уравновешенной 0,005 M натрий-фосфатным буфером (рН 6,5). Применяли линейную градиентную элюцию по соответствующей схеме. Значительный градиент концентрации соли (0,02—0,5 M) сочетался с небольшим понижением рН буфера, от 6,5 до 5,0. Скорость элюции составляла 20 мл/час.

Нисходящую хроматографию на бумаге FN-11 осуществляли в системе растворителей бутанол—уксусная кислота—вода (4:1:5).

Активность ФДЭ цАМФ мозга крыс определяли по количеству гидролизованного субстрата при его инкубации с ферментом по методу [8], модифицированному применением радиоактивного микрожела, предусматривающего разделение продуктов гидролиза с помощью восходящей тонкослойной хроматографии на пластинках «Силуфол-254» [1]. В качестве источника ФДЭ цАМФ использовали супернатант гомогената (2000 $\times$ g, 20 мин) мозга крыс. Счет радиоактивности продуктов гидролиза цАМФ проводили на сцинтилляционной спектрометре.

За единицу активности НК принимали активность препарата, ингибирующего 1 мЕ ФДЭ супернатанта гомогената (2000 $\times$ g, 10 мин) мозга крыс в минуту и процессе инкубации при 37° и рН 7,6. Препараты НК, как и НК, дозированы в единицах биологической активности. За единицу биологической активности принимали количество препарата, увеличивающее объемную емкость крови, оттекающей из венотомных сосудов сердца на 100% по сравнению с жорной. Выделение и очистку изоферментов аргиназы производили по методу [3]. Блок определяли по Лоури и модификации [7]. Константу ингибирования определяли по Диксону [6], аргиназную активность—методом [9], мочевины—по методу Арчибалда [4] с использованием набора реактивов для стандартных исследований биологических жидкостей («Лакма», СССР).

Результаты и обсуждение. Коммерческая лиофилированная аргиназа, выделенная из печени крупного рогатого скота («Реанал»), состоит из двух идентичных субъединиц с молекулярной массой 71000 Д. Исследования показали, что нейрогормон «С» по сравнению с нейрогормоном «К» оказывает ингибирующее влияние на активность аргиназы печени крупного рогатого скота в значительно меньших концентрациях: 70 мЕ/0,021 ед. биол. акт. нейрогормона «С» подавляют активность аргиназы на 18%, а 228 мЕ/0,063 ед. биол. акт. нейрогормона «С» почти не оказывают ингибирующего воздействия. 0,06 ед. биол. акт. нейрогормона «К» ингибируют активность аргиназы на 24%, а 0,24 ед. биол. акт.—на 15%. Эти данные также свидетельствуют о возможном непосредственном влиянии нейрогормонов на активность аргиназы печени крупного рогатого скота. Для выяснения типа ингибирования мы использовали известный метод Диксона для определения ингибиторных констант. При этом константу ингибирования K_i мы не определяли, так как пока мы не можем выразить концентрацию нейрогормонов в весовых количествах. Результаты исследований, пред-

ставленных на рис. 1, показали, что исследованные нейrogормоны не-
малкурентно ингибируют активность аргиназы.

Результаты экспериментов в условиях *in vivo* и *in vitro* по изуче-
нию влияния нейrogормонов «К» и «С» на активность аргиназы приве-
ли к необходимости изучения влияния указанных нейrogормонов на I
и II изоэнзимы аргиназы печени крыс, тем более что, очевидно, I изо-
энзим является уреотелическим, а II изоэнзим неуреотелическим.

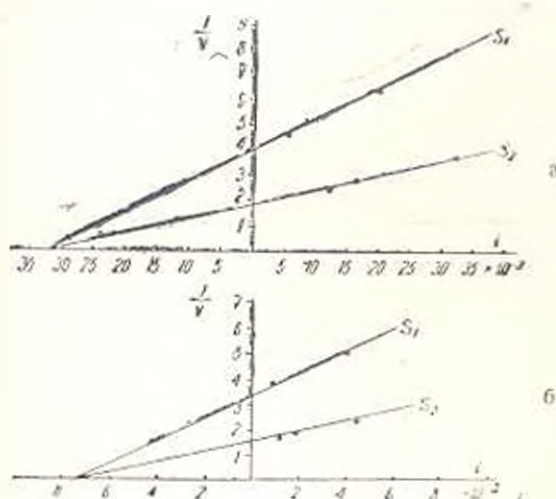


Рис. 1. Ингибирование аргиназы печени крупного рогатого скота: а) под
воздействием нейrogормона «К»; б) под воздействием нейrogормона «С».
 $1/v$ — величина, обратная скорости реакции, i — концентрация ингибитора,
в ед. биол. акт.

Выделение и очистку изоферментов аргиназы печени крыс осуше-
ствляли способом [3]. В результате были получены два изоэнзима,
I и II со степенью очистки 438 и 235 соответственно и выходом 63%
для I изоэнзима и 15% для II. Эксперименты показали, что актив-
ность I изоэнзима аргиназы печени крыс при действии 76 мЕ/0,021 ед.
биол. акт. нейrogормона «С» подавляется на 30%, а 228 мЕ/0,063 ед.
биол. акт. нейrogормона «С» — на 19%, второй, не-
уреотелический изоэнзим при воздействии той же концентрации нейро-
гормона «С» не подавляется, а 228 мЕ нейrogормона «К» снижает ак-
тивность всего на 12%. Отметим, что 0,06 ед. биол. акт. нейrogормона
«К» ингибирует I изоэнзим на 18%, II — на 17%, 0,021 ед. биол. акт.
нейrogормона «К» ингибируют I изоэнзим на 18%, а II — на 22%. Из
таблиц явствует, что нейrogормон «К» ингибирует активность как уреот-
елической, так и неуреотелической аргиназы, а нейrogормон «С» ока-
зывает свое воздействие на I изоэнзим, в то время как II изоэнзим, имею-
щий неуреотелическую природу, почти не поддается ингибирующему
влиянию этого нейrogормона. Необходимо еще раз отметить, что нейро-
гормон «С» оказывает подавляющее влияние в более низких concentra-
циях, нежели нейrogормон «К». При исследовании типа ингибирования
графическим методом Диксона, как это наглядно показано на рис. 2, ак-
тивность аргиназы печени крыс подавлялась исследованными нейро-

гормонами неконкурентным механизмом. Нейрогормоны не конкурируют с субстратом за связывание в каталитическом центре, следовательно, надо полагать, они связываются в другом, регуляторном центре.

В следующей серии экспериментов нами были проведены опыты с целью выявления возможного аллостерического характера ингибирования активности аргиназы. Для этого использовали коммерческий препарат аргиназы печени крупного рогатого скота. В первую очередь исследовали зависимость активности фермента от концентрации фер-

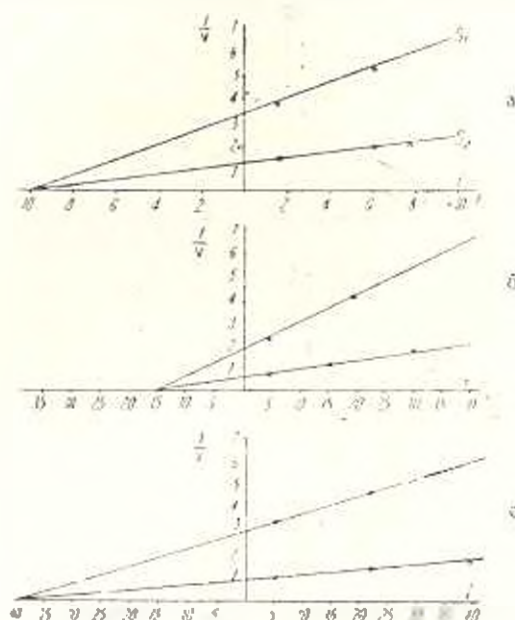


Рис. 2. Ингибирование активности I изоэнзима частично очищенной аргиназы печени крысы: а) под воздействием нейрогормона «С», б) под воздействием нейрогормона «К»; в) ингибирование активности II изоэнзима частично очищенной аргиназы печени крысы под воздействием нейрогормона «К»; $1/v$ — величина, обратная скорости реакции; i — концентрация ингибитора, в ед. биол. акт.

ментного белка. Оказалось, что зависимость выражается прямой линией. Гиперболической кривой выражается зависимость активности фермента от концентрации субстрата. Выявить зависимость, выраженную в виде характерной для аллостерических ферментов сигмовидной кривой, не удалось.

Выяснилось также, что каталитические свойства аргиназы исчезают при 10-минутной тепловой обработке при 70° . Нам нужно было найти ту температуру, при которой фермент, теряя свои регуляторные свойства, т. е. способность подвергаться воздействию модулятора (в нашем случае ингибироваться нейрогормонами), сохранял бы каталитические свойства. Оказалось, что при 10-минутной прединкубации фермента при 55° активность сохраняется полностью (контроль прединкубируется при 37° в течение 10 мин), но ферменты при этом теряют способность ингибироваться нейрогормонами «К» и «С». Мы получили данные, согласно которым 76 мЕ нейрогормона «С» ингибируют

активность аргиназы, подвергнутой тепловой обработке при 37° в течение 10 мин, на 18%, а 0,06 ед. биол. акт. нейрого르몬а «К» в аналогичных условиях—на 24%, однако после тепловой обработки фермента при 55° (10 мин) подавляющий эффект нейрого르몬ов не проявляется. Таким образом, нам удалось при помощи тепловой обработки десенсибилизировать аргиназу в отношении отрицательного модулятора, что является прямым доказательством аллостерического механизма ингибирования активности этого фермента исследованными нейрого르몬ами. Свидетельствует тепловая обработка фермента при 55° вызывает конформационные изменения модуляторных свойств, сохраняя конформацию каталитического центра. Для более детального изучения этого вопроса в другой серии экспериментов мы изучали ЭПР спектр аргиназы крупного рогатого скота и влияние на ЭПР спектры нейрого르몬ов. Под влиянием нейрого르몬ов «К» и «С» ЭПР спектр аргиназы печени крупного рогатого скота не меняется, не меняется также лигандное окружение марганца. Учитывая этот факт, а также то обстоятельство, что марганец является кофактором аргиназы, можно заключить, что указанные нейрого르몬ы связываются не с каталитическим центром. А это еще раз говорит в пользу аллостерического механизма взаимодействия аргиназы с нейрого르몬ами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беришвили Д. Р., Кафиани А. А. *Вопр. мед. химии*, **11**, 322—324, 1975.
2. Головак Л. А., Срапцонян Р. М., Карапетян Р. О., Сиакян С. А., Саридекян Г. А. *ДАН АрмССР*, **67**, 3, 176—179, 1978.
3. Давтян М. А., Алчуджян М. Ф. *Биология Межвуз. сб. науч. тр.*, **1**, 94—99, 1979.
4. Archibald R. M. *J. Biol. Chem.*, **156**, 1, 121—142, 1944.
5. Chen M., Creig S., Stoner J. *Biochemistry*, **19**, 11, 3559—3563, 1972.
6. Dixon M. *Biochem. J.*, **58**, 170—171, 1953.
7. Hess H. H., Lewin E. J. *Neurochem.*, **12**, 3, 205—211, 1965.
8. Poch G., Kukovetz W. *Life Sciences*, **10**, 133—137, 1971.
9. Ratner S., Pappas A. *J. Biol. Chem.*, **156**, 1, 121—142, 1944.

Поступило 18 V 1988 г.

Биолог. ж. Армении. № 2, (42), 1989

УДК 577.391:591.111

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ОБЛУЧЕНИИ И ТЕРМИЧЕСКОМ ОЖОГЕ

М. Г. АМАДЯН, Э. С. ДИАРЯН

НИИ медицинской радиологии МЗ АрмССР, лаборатория радиационной биохимии, Ереван

Установлено, что уровень фонového, ферментативного и неферментативного ПОЛ через 5 мин после облучения и термического ожога увеличивается в различных отделах головного мозга крыс. Через час и далее наблюда-

Сокращения: ПОЛ—перекисное окисление липидов; НЗП—ферментативная НАДФН-зависимая система ПОЛ; АЗП—неферментативная аскорбатзависимая система ПОЛ; МДА—малоновый диальдегид

ются фазовые изменения. Наиболее выраженные сдвиги обнаруживаются в коре больших полушарий; при ожоговой травме они выражены больше, чем при облучении.

Յուշք է արվել, որ ուղեղի տարբեր համաժամանակից և զերմային արգիւծքներից 5 րոպեի ընտելացում է ինքնակային, Ֆերմենտային և ոչ ֆերմենտային (ՊՄ-ի) միատարմ: Մեկ ժամից պիտանքից 3 րոպեի ընտելացում են ֆունկցիոնալ փոփոխություններ: Ազգայն արտահայտված տեղաշարժեր պատճառ են դրսևորվող կեղևում և զերմային արգիւծքների մամուռնով:

It has been shown that the level of phone, enzymatic and non-enzymatic POL increased in different parts of the rat brain after 5 min. of radiation and thermic burns. After an hour and so on phasic changes were observed. More obvious changes in the cortex of big hemispheres were revealed, under conditions of thermic burns they were expressed more than during radiation.

НО.І—облучение—термический ожог.

Ионизирующее излучение и ожоговая травма, согласно многочисленным литературным данным, сопровождается длительным и значительным увеличением свободнорадикального ПОЛ в различных тканях организма [1, 4, 5, 9, 10]. Чрезмерное накопление перекисей липидов может привести к структурным изменениям биомембран вследствие окисления ненасыщенных гидрофобных хвостов фосфолипидов [2].

Следует отметить, что в развитии лучевой и ожоговой болезни весьма важную роль играет центральная нервная система [6, 9, 11].

Выяснение динамики изменения процесса ПОЛ в различных отделах головного мозга при облучении и ожоговой травме важно для прогнозирования состояния пораженного организма и выяснения истинных биохимических механизмов развития этих патологических состояний. Такой подход может способствовать изысканию эффективных мер для регуляции ПОЛ путем применения различных антиоксидантов. Между тем сведения о процессе ПОЛ в различных отделах головного мозга на ранних стадиях развития лучевой и ожоговой болезни весьма немногочисленны.

В данном сообщении приведены результаты сравнительного изучения состояния ПОЛ в различных отделах головного мозга крыс в ранние сроки развития лучевой и ожоговой болезни.

Материал и методика. Эксперименты проведены на 186 самцовых белых бесгородных крысах обоего пола массой 180–210 г, содержащихся на обычном пищевом рационе вивария. В первой серии опытов биохимические показатели исследовали у интактных крыс, во второй—при облучении, и третьей—при термическом ожоге.

Исследования проводили через 5 мин, 1, 1 ч и 1, 3, 5, 7 и 9 суток после облучения и ожоговой травмы. Животных забивали путем декапитации, все дальнейшие операции проводили на холоду.

Были исследованы те отделы головного мозга (кора больших полушарий, межполушарный—средний мозг, ствол), которые, согласно данным литературы [7, 8, 11, 12] играют важную роль в патогенезе лучевой и ожоговой болезни.

Общее однократное рентгенооблучение крыс осуществляли на аппарате РУМ-17 в дозе 5,25 Гр ($1D_{50/30}$) при следующих условиях: напряжение 200 кВ, сила тока 15 мА, фильтры—0,5 мм Cu—1 мм Al, мощность дозы 0,26 Гр/мин, кожее фокусные расстояния—60 см.

Термический ожог III-B степени (15% поверхности тела) наносили прикладывая на металлической пластинки, нагретой до 200°, на эластичный участок спины.

О степени перекисеобразования в тканях судили по количеству образования МДА, который дает характерное окрашивание с 2-тиобарбитуровой кислотой. Фоновый (исходный), а также индуцированный НАДФ-Н- и аскорбат-зависимый ПОЛ определяли спектрофотометрически при 532 нм [2, 14]. Полученные результаты подвергли вариационно-статистической обработке.

Результаты и обсуждение. У интактных (контрольных) крыс наибольший уровень ПОЛ отмечается в филогенетически наиболее молодом отделе ЦНС—в коре больших полушарий, далее и убывающем порядке следуют межзачаточный + средний мозг и ствол.

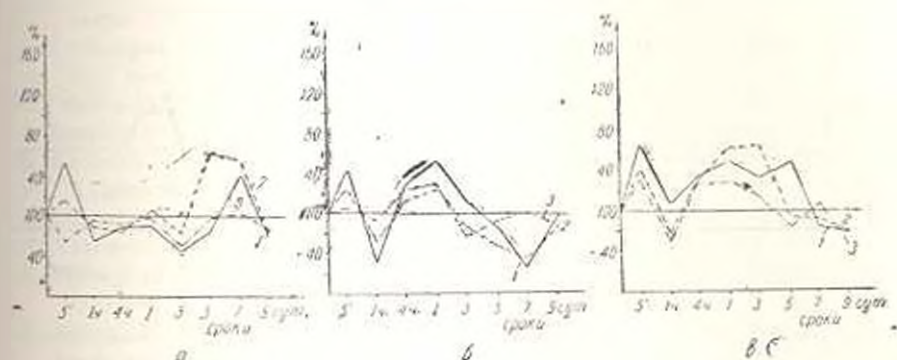


Рис. 1. Изменение содержания гидроперекисей липидов в различных отделах головного мозга крыс при облучении. По оси абсцисс—время (в ч и сут); по оси ординат—прирост концентрации ПОЛ (в %, контроль принят за 100%). Условные обозначения: 1—кора больших полушарий; 2—межзачаточный + средний мозг; 3—ствол; а—фоновый ПОЛ; б—НЗП; в—АЗП.

Как видно на рис. 1 а, б, в, через 5 мин после рентгеновского облучения крыс происходит значительное повышение уровня фонового, а также индуцированного НАДФ-Н- и аскорбат-зависимого ПОЛ в коре больших полушарий и межзачаточном + среднем мозге. В стволе достоверно увеличивается лишь аскорбат-зависимое ПОЛ. Наиболее выраженные сдвиги наблюдаются в коре больших полушарий. Любопытно, что через час уровень ПОЛ достоверно снижается в исследованных отделах мозга.

Уровень НЗП вновь достоверно возрастает в коре больших полушарий через 4 ч и на 1 сутки (соответственно на 30,7 и 55,0%), а уровень АЗП—через 4 ч, на 1, 3 и на 5 сутки (на 38,1; 47,3; 47,8% соответственно).

В межзачаточном + среднем мозге и в стволе сдвиги НЗП и АЗП менее выражены (рис. 1 б, в).

Через 5 мин после нанесения термического ожога (рис. 2 а, б, в) происходит резкое повышение уровня фонового, ферментативного и неферментативного ПОЛ в исследованных отделах мозга. Необходимо подчеркнуть, что при термическом ожоге возрастание уровня ПОЛ более выражено по сравнению с облучением. Наибольшие сдвиги отмечаются в коре, затем следуют средний + межзачаточный мозг и ствол.

Как и при облучении, при термическом ожоге через 1 ч после воздействия уровень ПОЛ достоверно снижается в исследованных отделах головного мозга, затем, до 9 суток, наблюдаются фазовые сдвиги.

В коре больших полушарий уровень фонового ПОЛ достоверно повышается через 4 ч, на 1 и 3 сутки после ожога (на 53,9; 75,7 и 38,7% соответственно), затем происходят фазовые изменения, и на 7 сут уровень ПОЛ возрастает. В межзачаточном + среднем мозге и стволе уровень фонового ПОЛ достоверно увеличивается лишь на 3 сутки.

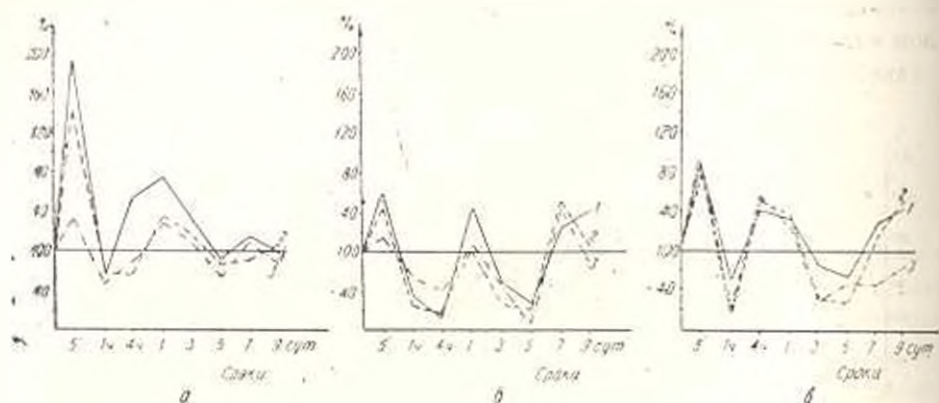


Рис. 2. Изменение содержания гидроперекисей липидов в различных отделах головного мозга крыс при термическом ожоге. Обозначения, как на рис. 1.

Индукцированный НЗП достоверно возрастает в коре больших полушарий на 1 и 9 сутки после ожоговой травмы (соответственно на 44,1 и 42,0% по сравнению с контролем). АЗП при этом достоверно повышается через 4 ч, на 7 и 9 сутки (соответственно на 43,8; 29,0 и 14,8%). В межзачаточном + среднем мозге и в стволе индуцированный НЗП достоверно повышается на 7 сутки после травмы, АЗП — соответственно через 4 ч, на 9 сутки и через 4 часа.

Ранние сдвиги в ПОЛ, по-видимому, обусловлены прямым воздействием радиации и стрессовыми факторами при термическом ожоге. В более поздних нарушениях важную роль играют нейрогуморальные расстройства. Наиболее выраженной была реакция со стороны коры больших полушарий головного мозга. Это говорит о том, что лучевые реакции и стрессорные влияния в разных отделах нервной системы развиваются несинхронно. Изменения ПОЛ имеют фазовый характер, что, по-видимому, следует рассматривать как показатель выживаемости животных после воздействия радиации и ожоговой травмы. В основе отмеченных реакций лежат высокие компенсаторные возможности ЦНС. Сдвиги в ПОЛ в мозге крыс при термическом ожоге более выражены по сравнению с «чистым» облучением.

Полученные результаты согласуются с литературными данными, согласно которым сразу после облучения и термического ожога повышается уровень ПОЛ в целом мозге крыс, затем происходят полнообразные сдвиги [1, 5, 10].

Через час после гипероксии наступает нормализация уровня ПОЛ в мозге [3], через 6 мин после облучения возникают значительные цитохимические изменения в митохондриях нервных клеток спинного мозга, которые нормализуются спустя 50—60 мин [13].

Таким образом, результаты проведенных экспериментов свидетельствуют о том, что у интактных крыс в функционально и морфологически различных структурах мозга уровень ПОЛ в нервной ткани неодинаков, наиболее высокие значения его отмечаются в коре больших полушарий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанов М. И., Геворкян Д. М., Ерицян Л. И. и др. В сб. Вопросы нейрохимии. 130—141, Л., 1977.
2. Владимирцов Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. 252, М., 1972.
3. Габитов М. М., Карагезян К. Г. Бюлл. exper. биол. и мед., 11, 1, 682—684, 1981.
4. Барабой В. А., Чеботарев Е. Е. Радиобиология, 26, 5, 591—597, 1986.
5. Журавлев А. И. В кн.: Роль перекисей и кислорода в начальных стадиях радиобиологического эффекта. 55—56, М., 1960.
6. Кительдорф Д., Хант Э. Действие ионизирующей радиации на функции нервной системы. 376, М., 1969.
7. Ливанос Л. Н. Некоторые проблемы действия ионизирующей радиации на нервную систему. 196, М., 1962.
8. Лившиц Н. Н. Влияние ионизирующих излучений на функции центральной нервной системы. 180, М., 1961.
9. Рева А. Д. Ионизирующие излучения и нейрохимия. 239, М., 1974.
10. Гарусов Б. Н. Радиобиология, 7, 5, 670—677, 1967.
11. Туманов Б. Т. Автореф. докт. дисс., М., 1974.
12. Ханин Х. Г. Радиобиология, 1, 2, 227—232, 1961.
13. Шабаташ А. Л. Радиобиология, 1, 2, 212—222, 1961.
14. Toshioka T., Fazenda K., Shimada T., Mori M. J. Obstet. and Gynecol., 3, 372, 1979.

Получено 9.II 1988 г.

Биол. ж. Армения, № 2, 1989

УДК 612.821.6

РОЛЬ ЭНТОПЕДУНКУЛЯРНОГО ЯДРА В УСЛОВНОРЕФЛЕКТОРНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ КРЫС

Л. М. КАРАПЕТЯН, Ж. С. САРКИСЯН, С. Г. САЛКИН

Институт экологии АН АрмССР, Ереван

Показано, что повреждение энтопедункулярного ядра у белых крыс приводит к нарушению процессов анализа и синтеза, появлению ошибок в выборе стороны подкрепления. Это может быть связано с нарушением оперативной памяти у животных.

Յուշտ Է. արգել. որ Էնտոպեդուկուլյար զորգի վնասումը բերում է աշխարհի ու տարբեր արդյունքների խախտմանը, սովորական կողմի ընտրության մեջ սխալներ է հայտ գալու: Փա կարող է կապված լինել կենդանիների օպերատիվ ինտելեկտի խախտման հետ:

Сокращения. ЭЯ — энтопедункулярное ядро.

It has been shown that the damage of the entopeduncular nucleus brings to violation of the processes of synthesis and analysis, and to appearance of mistakes in the election of the confirmation side. It can be connected with violation of the operative memory of the animals.

Условный рефлекс—лабиринт—энтопедункулярное ядро

Одной из важных проблем современной нейрофизиологии является изучение роли глубинных структур мозга в условнорефлекторной деятельности животных. Работами ряда авторов [1—8, 10] установлено, что такие структуры, как паллидум, хвостатое ядро, скорлупа, гиппокамп, миндалевидный комплекс, черное вещество, безмянная субстанция, играют важную роль в высшей нервной деятельности животных. Однако в литературе нет сведений о значении энтопедункулярного ядра в механизмах условнорефлекторной деятельности животных. Это тем более важно, что ЭЯ появилось на ранних этапах эволюционного развития и имеется у всех позвоночных.

В настоящей работе приводятся результаты, полученные на белых крысах при изучении роли ЭЯ в поведении животных.

Материал и методики. Опыты проводили на 30 белых крысах. У первой группы животных вырабатывали рефлексы до повреждения энтопедункулярного ядра, у второй группы сначала лабиринтировали ЭЯ, затем вырабатывали условные рефлексы.

Выработку условного рефлекса производили по пищевой методике в специальном «Г»-образном лабиринте, состоящем из длинного коридора со стартовым отсеком, перпендикулярно которому находился второй коридор, имеющий левый и правый отсеки. Один из отсеков перпендикулярного коридора был окрашен в белый цвет, другой — в черный. Выработка условного рефлекса сводилась к тому, чтобы крыса на условный сигнал (открытие дверей в стартовом отсеке), пробежав по длинному коридору, повернула в белый отсек и нашла там пищу. Белый и черный отсеки перпендикулярного коридора были устроены так, что экспериментатор имел возможность поворотом коридора на 180° менять место расположения отсеков. Изменение расположения отсеков делалось для того, чтобы препятствовать выработке стереотипа поведения, т. е. мы добивались того, чтобы животное только по белому цвету ориентировалось в направлении нахождения пищи.

Критерием наличия условных рефлексов служило проявление 10 правильных реакций из десяти проб в течение двух минут. При выработке условных рефлексов учитывали следующие показатели: скорость выработки условных рефлексов, латентный период (т. е. время от момента открытия дверей до выхода из стартового отсека), время пробежки до места подкрепления, процент правильного выбора стороны подкрепления, время исправления ошибок.

Опыты проводили при соблюдении специальных условий. У всех животных производили 48-часовую депривацию для обеспечения достаточной стабильности исходных условий голодания и сохранения постоянного фона доминирующей мотивации.

После достижения критерия обученности у крыс производили электролитическое разрушение энтопедункулярного ядра с одной стороны или с обеих сторон стереотаксическим координатом $T = 5,8$; $I = 2,3$; $H = 7,8$ атласа мозга крысы [9] (25—30 сек, 2—3 мА).

У животных второй группы предварительно производили повреждение энтопедункулярного ядра с одной стороны или двух сторон, затем вырабатывали условные рефлексы. У этой группы крыс проверяли двигательную активность до операции и ее сохранность после по методике «открытого поля». Последнее представляет собой квадратный ящик размером 80×80 см с полом, состоящим из 16 квадратов. Крысу помещали в один угол поля, после чего в течение 3 мин определяли количество квадратов, которое пересекает животное. Подсчитывали также количество стояк, совершаемых крысой, пробежек в центр «открытого поля».

По завершении опытов крыс обезглавливали, извлекали мозг и после фиксации в 10% ном растворе формалина подвергали его морфологическому исследованию для опре-

деления степени повреждения ЭЯ. Результаты опытов обрабатывали по методу Стью-дента (рис. 1, 2).

Результаты и обсуждение. У интактных крыс условные рефлексы в среднем вырабатывались на 14 сочетаний, закреплялись на 29 сочетаний. Латентный период равнялся 6.8 ± 1.9 сек, а время побегки к пище составляло 5.7 ± 1.05 сек. Правильность условной реакции в среднем соответствовала 95%.

После получения этих данных животных подвергали одностороннему неполному разрушению энтопедункулярного ядра, что приводило к следующим клиническим явлениям. В течение первых двух дней жи-

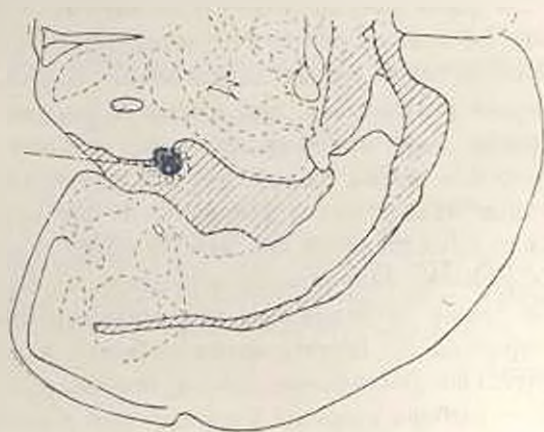


Рис. 1. Схематическое изображение мозга крысы. Стрелкой указана степень повреждения энтопедункулярного ядра с одной стороны.



Рис. 2. Схематическое изображение мозга крысы. Стрелками указаны степени повреждения энтопедункулярного ядра с двух сторон.

вотные пили воду или молоко в незначительном количестве, угнеталась пищевая реакция. Остальные безусловные рефлексы не страдали, жи-

животные самостоятельно брали пищу. Однако наблюдались частичные двигательные нарушения: появлялись вращательные движения, вправо или влево, оставление задних конечностей, застывание на месте, растопыренность пальцев на конечностях. В первые 3—4 дня отмечалась потеря в весе и его последующее восстановление до предоперационного фона на 5—6 день. К этому времени, когда проходили острые послеоперационные явления, животных брали в опыт по условному рефлексу.

Установлено, что при одностороннем неполном повреждении ЭЯ ранее выработанные рефлексы угнетаются и не всегда проявляются. Нарушается правильность выбора стороны подкрепления и изменяется латентный период. Если до операции он равнялся $6,8 \pm 1,8$ сек, а время побежки $5,7$ сек, то после операции он увеличился до $8 \pm 1,8$ сек, а время побежки — до $9 \pm 1,4$ сек. Процент правильных ответов снизился до $60,5\%$. Увеличилось также время исправления ошибок.

При сравнении результатов, полученных в опытах с предварительно оперированными и интактными крысами, оказалось, что у первых значительно возросло время выработки и закрепления условных рефлексов. Интактные крысы почти безошибочно выбирали сторону подкрепления после применения в среднем 30 проб, а у предварительно оперированных рефлексы закреплялись в среднем на 60 пробе. Временные параметры также претерпевали значительные изменения: латентный период возрастал до 10 сек, время побежки изменялось незначительно. Значительно увеличилось время исправления ошибок. Процент правильного выбора стороны подкрепления у предварительно оперированных крыс в среднем достигал до 75.

Таким образом, при повреждении энтопеллункулярного ядра с одной стороны сохраняются условные рефлексы, которые, однако, и основным проявляются с нарушением правильности выбора белого отсека и удлинением латентного периода.

Двухстороннее повреждение ЭЯ приводит к глубокому угнетению животных. Наблюдались афагия и адипсия. Даже при искусственном кормлении животные не глотали. В течение первых 6—7 дней имели место адинамия, шаткая походка, тремор головы и тела. Почти у всех оперированных крыс отмечалась дугообразная выгнутость спины и, несмотря на общее угнетенное состояние, животные реагировали раздражением на прикосновение к спинке. На 7—8 день большинство крыс погибло. Из десяти крыс лишь одна прожила 30 дней. У нее был выработан пищевой условный рефлекс лишь через 20 дней после операции. Однако правильность выбора стороны подкрепления выработать не удалось.

Опыты показывают, что одностороннее повреждение энтопеллункулярного ядра приводит к общему угнетению, однако условные реакции не исчезают. Нарушается лишь правильность выбора отсека, где находится подкрепление и удлиняется латентный период. Можно было предположить, что удлинение латентного периода связано с нарушением моторики, однако в специальных опытах по методике «открытого поля» было установлено, что в двигательной активности до и после операции различий нет. Следовательно, есть основания полагать, что удлинение

латентного периода связано с медленным протеканием процесса «думания». А тот факт, что животное совершает много ошибок в процессе выбора стороны подкрепления после операции, указывает на то, что «думание» не всегда завершается правильной реакцией.

Таким образом, повреждение энтопеллункулярного ядра приводит к кратковременному угнетению общего состояния животного, угнетению процесса анализа и синтеза и появлению ошибок в выборе стороны подкрепления. Последнее может быть связано с нарушением оперативной памяти у животных [6].

ЛИТЕРАТУРА

1. Гамбарян Л. С., Коваль И. Н. Гиппокамп, Ереван, 1973.
2. Гамбарян Л. С., Казарян Г. М., Гарибян А. А. Амигдала, Ереван, 1981.
3. Гарибян А. А. Роль глубинных структур мозга в механизмах целенаправленного поведения. М., 1984.
4. Карамян А. И. Эволюция конечного мозга. Л., 1976.
5. Коваль И. Н., Саркисов Г. Т., Гамбарян Л. С. Септо-гиппокампальная система и организация поведения. Ереван, 1986.
6. Саркисян Ж. С., Гамбарян Л. С. Паллидум, Ереван, 1984.
7. Суворов Н. Ф. Стриарная система и поведение. Л., 1980.
8. Черкес В. А. Мозговые структуры или нейронные сети? Киев, 1988.
9. De Groot J. The rat forebrain in stereotaxic coordinates. Amsterdam., 1959.
10. Rosvold H. E. Acta Neurobiol. exp. Warszawa. 32. 2, 1972.

Поступило 22.III 1988 г.

Биолог. ж. Армении. № 2, (42), 1989

УДК 615.9+546.3:612.392.6:616.127

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЭЛЕКТРОЛИТОВ НАТРИЯ И КАЛИЯ В КРОВИ И МИОКАРДЕ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ГИДРОКАРБОНАТА НАТРИЯ И КАРБОНАТА КАЛИЯ

Ж. Г. САРУХАНЯН, Э. А. БАБАЯН, Р. Р. ХАЧАТРЯН

НИИ общей гигиены и профзаболеваний им. Н. Б. Акопяна

Установлено, что гидрокарбонат натрия и карбонат калия могут привести к ионному дисбалансу, к сдвигам во взаимосвязанных окислительных и энергообеспечивающих процессах в миокарде, что в общем сложности может отразиться на его проводимости и сократительной функции.

Հանրագիտ. և արհեստագործական շրջանակներում օգտագործվող և կալիումի կարբոնատը կարող են առաջացնել բուժախնի դրսևախնի, միոկարդում օքսիդացման և էներգետիկական ֆոնդման փոփոխականությունները և սրտի օղակաշարի անցանցողականությունը և միոկարդի հազարգացման և կծկողական ֆունկցիաների վրա:

It is found that sodium hydrocarbonate and dolash may bring to ionic disbalance, to changes between connected oxidative and energy supplying processes in myocardium, which on the whole reflect on its conductivity and contractile function.

Сокращения: ГН—гидрокарбонат натрия, КК—карбонат калия, АТФ—аденозинтрифосфат, АТФ-аза—аденозинтрифосфатаза, КФ—креатинфосфат, КФК—креатинфосфокиназа, ЛДГ—лактатдегидрогеназа, ССС—сердечно-сосудистая система, Р_и—неорганический фосфор.

Широкое применение в народном хозяйстве и в быту ГН и КК вызвало повышенный интерес к изучению их влияния на организм. Об этом свидетельствуют данные, касающиеся гигиенической и токсикологической оценки указанных веществ [4, 7, 8, 13].

Хорошо диссоциируя в организме, ГН и КК могут изменить соотношение ионов натрия и калия и стать причиной нарушения динамического равновесия внутренней среды. В настоящее время нет сомнений, что от постоянства концентрации и соотношения электролитов (Na^+ , K^+ , Ca^{++} и др.) в значительной мере зависит нормальное функционирование всех органов и систем, в том числе и ССС. Поэтому целью данной работы являлось выявление связи между концентрацией и соотношением электролитов (Na^+ , K^+ , Ca^{++}) и биохимическими изменениями в крови и миокарде и нарушениями сократительной способности миокарда, при воздействии ГН и КК.

Материал и методика. Исследование проводили на белых крысах, подвергавшихся ингаляционной нагрузке в течение 4 месяцев ГН в концентрациях $77,2 \pm 3,63$, $14,9 \pm 0,63$ мг/м³ ($\text{Lim}_{\text{сн}}$) и КК в концентрациях $43,0 \pm 2,8$ и $4,7 \pm 0,23$ мг/м³ ($\text{Lim}_{\text{сн}}$).

Состояние ССС оценивали по изменениям ЭКГ, интегральной реографии [9], а также ряда биохимических показателей содержания электролитов Na^+ , K^+ в крови, миокарде и других тканях, Ca^{++} в сыворотке и моче [5], энергетических субстратов АТФ, КФ, активности АТФазы, КФКазы [3], ЛДГ и ее изоферментов [10], содержания P_{II} [5], креатина и креатинина в сыворотке и моче [11, 12], состоянии гематокрита [6].

Полученные данные обрабатывали статистически с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Установлено, что при загрузке животных ГН в концентрации $77,2$ мг/м³ имеет место изменение соотношения электролитов в крови—уменьшается содержание Ca^{++} в сыворотке, тогда как резко возрастает количество K^+ и Na^+ внутри эритроцита. О перераспределении электролитов из плазмы в эритроциты наглядно свидетельствует уменьшение трансмембранного градиента [13] для калия

$\left(\frac{\text{К}_{\text{пл.}}}{\text{К}_{\text{эр.}}} \right)$ почти на протяжении всего эксперимента начиная со II месяца

загрузки. При воздействии ГН в концентрации, близкой к пороговой, в хроническом эксперименте ($14,9$ мг/м³) проликирование натрия из плазмы в эритроциты не наблюдается. Трансмембранный градиент для натрия не меняется, но увеличивается для ионов калия. Последнее свидетельствует о биологических изменениях в мембране эритроцита, в результате чего ионы калия выходят в плазму. Загружая животных КК в высоких концентрациях ($43,0$ мг/м³), мы наблюдали перераспределение электролитов в системе эритроцит—плазма, аналогичное таковому в случае применения высоких концентраций ГН. Различие состоит в сроках перемещения электролитов (табл.). Если при высоких концентрациях КК имеет место перемещение натрия и калия в эритроциты, то при низкой концентрации его, как и в случае с низкими концентрациями ГН, наблюдается выход калия из эритроцитов в плазму, в чем

Изменение электролитов Na^+ и K^+ в крови и миокарде крыс, подвергнутых хроническому ингаляционному воздействию карбоната калия и гидрокарбоната натрия

Показатель		Карбонат калия (K_2CO_3)				Гидрокарбонат натрия (NaHCO_3)			
		43.0 $\pm$ 0.28 мг/м ³		4.7 $\pm$ 0.23 мг/м ³		77.2 $\pm$ 3.63 мг/м ³		14.9 $\pm$ 0.63 мг/м ³	
Сроки затравок (месяцы)		II	IV	II	IV	II	IV	II	IV
Na в миокарде, мг%	O	99.2 $\pm$ 6.6*	133.4 $\pm$ 3.9*	135.9 $\pm$ 4.4	113.7 $\pm$ 4.7	114.0 $\pm$ 5.0*	165.7 $\pm$ 4.8*	146.1 $\pm$ 6.2	171.3 $\pm$ 5.9*
	K	127.7 $\pm$ 5.9	119.6 $\pm$ 1.2	132.6 $\pm$ 4.0	142.3 $\pm$ 5.4	130.2 $\pm$ 5.7	119.6 $\pm$ 1.2	136.6 $\pm$ 9.2	148.0 $\pm$ 7.1
K в миокарде, мг%	O	297.8 $\pm$ 6.5*	246.1 $\pm$ 5.0	245.9 $\pm$ 16.0	214.4 $\pm$ 11.2	258.6 $\pm$ 8.1*	260 $\pm$ 10.2*	228.0 $\pm$ 5.6	221.2 $\pm$ 4.0
	K	245.0 $\pm$ 8.4	231.3 $\pm$ 6.8	221.3 $\pm$ 14.0	225.6 $\pm$ 5.0	236.3 $\pm$ 5.3	231 $\pm$ 6.8	221.3 $\pm$ 4.0	232.1 $\pm$ 12.0
Na в плазме, мэкв/л	O	189.1 $\pm$ 3.9*	130.4 $\pm$ 5.1	131.3 $\pm$ 1.2*	135.1 $\pm$ 6.4	122.2 $\pm$ 3.9	158.1 $\pm$ 2.1	147.9 $\pm$ 12.2	121.5 $\pm$ 3.9
	K	136.6 $\pm$ 2.7	136.2 $\pm$ 6.8	140.7 $\pm$ 1.3	131.5 $\pm$ 7.9	136.7 $\pm$ 1.5	150.6 $\pm$ 8.9	133.7 $\pm$ 8.7	136.6 $\pm$ 6.8
K в плазме, мэкв/л	O	6.67 $\pm$ 0.21	7.21 $\pm$ 0.21	10.2 $\pm$ 0.4	12.8 $\pm$ 0.3*	5.28 $\pm$ 0.30*	6.5 $\pm$ 0.04*	8.7 $\pm$ 0.32*	7.56 $\pm$ 0.9
	K	8.9 $\pm$ 0.3	7.15 $\pm$ 0.3	11.0 $\pm$ 0.2	10.9 $\pm$ 0.4	7.8 $\pm$ 0.4	7.2 $\pm$ 0.2	7.8 $\pm$ 0.3	7.65 $\pm$ 0.4
Na в эритроцитах, мэкв/л	O	50.4 $\pm$ 3.7	52.7 $\pm$ 1.95*	23.9 $\pm$ 2.9	27.58 $\pm$ 1.7	48.6 $\pm$ 4.0*	30.5 $\pm$ 3.0	37.5 $\pm$ 3.9	30.1 $\pm$ 3.1
	K	41.1 $\pm$ 3.1	34.9 $\pm$ 2.3	30.2 $\pm$ 2.7	32.1 $\pm$ 1.7	38.8 $\pm$ 2.1	35.6 $\pm$ 4.1	34.4 $\pm$ 4.5	33.6 $\pm$ 3.7
K в эритроцитах, мэкв/л	O	93.7 $\pm$ 2.7	87.9 $\pm$ 2.5	107.7 $\pm$ 1.9	87.4 $\pm$ 0.95	79.4 $\pm$ 1.8*	78.2 $\pm$ 1.4	77.7 $\pm$ 6.2	90.2 $\pm$ 1.3
	K	103.3 $\pm$ 5.5	85.2 $\pm$ 2.6	106.8 $\pm$ 2.4	84.9 $\pm$ 2.1	71.1 $\pm$ 1.2	77.7 $\pm$ 0.9	81.5 $\pm$ 1.6	87.2 $\pm$ 0.8

$P \leq 0.05$, O—опыт, K—контроль

свидетельствует возрастание трансмембранного градиента (I и IV месяцы). Выход калия в плазму коррелирует с достоверным увеличением экскреции калия с мочой при указанных концентрациях КК. Таким образом, при высоких и пороговых концентрациях ГН и КК наблюдается изменение динамического равновесия в соотношении ионов натрия и калия, их трансмембранного градиента в результате нарушения проницаемости мембраны эритроцита, несущего, вероятно, неспецифический характер.

В миокарде при высокой концентрации ГН ($77,2 \text{ мг/м}^3$) наблюдается достоверное уменьшение, потеря натрия в начале эксперимента, а в более поздние сроки — экстракция миокардом калия (II и IV месяцы). При воздействии КК в концентрации $43,8 \text{ мг/м}^3$ соотношение электролитов (Na, K) в миокарде в начале эксперимента претерпевает изменения, аналогичные таковым при высокой концентрации ГН. Однако в конце затравки (IV месяц) достоверно увеличивается содержание натрия при неизменном уровне калия. При пороговой концентрации ГН ($14,9 \text{ мг/м}^3$) наблюдается тенденция к увеличению содержания натрия и калия в миокарде, переходящее в достоверное увеличение количества натрия (IV месяц), тогда как при КК в концентрации $4,3 \text{ мг/м}^3$ уровень этих электролитов не меняется.

Резюмируя изложенное, можно сделать вывод о том, что при высоких концентрациях ГН и КК действуют весьма схоже, хотя имеется определенное различие в их влиянии на ионное равновесие в системе эритроцит/плазма, а также в миокарде. Способность указанных веществ воздействовать на мембранную проницаемость в свою очередь может стать основой для проявления патологических сдвигов в проводимости и сократительной способности сердца.

Известно, что поддержание ионного гомеостаза за счет транспорта ионов через мембраны связано с использованием энергии нуклеозидфосфатов [14]. Повышение активности в ферментной системе КФ — КФК, снижение активности АТФазы могут свидетельствовать об этом. Необходимо отметить также и увеличение количества веществ, косвенно подтверждающее усиление гидролиза высокоэнергичных фосфатных связей (II — IV месяцы), креатинина в сыворотке, экскреции креатинина с мочой (IV месяц).

Нарушение энергообеспечения в миокарде сочетается с ослаблением аэробных окислительных процессов [15]. В частности, при высоких концентрациях ГН и КК (II и IV месяцы) имеют место увеличение активности ЛДГ и нарушение соотношения ее изоферментов — ЛДГ₁, ЛДГ₂, ЛДГ₃ в миокарде. Изменения в изоферментном спектре ЛДГ в миокарде наблюдалось и при пороговых концентрациях ГН и КК ($14,9$ и $4,3 \text{ мг/м}^3$ соответственно). Изменение энергетического обмена и активности лимитирующих его окислительных ферментов в миокарде (концентрация ГН $77,0 \text{ мг/м}^3$) свидетельствует о снижении его сократительной функции. Это подтверждается также данными электрокардиографических и реографических исследований. Так, при высоких концентрациях ГН и КК имеют место замедление атриовентрикулярной проводимости (удлинение интервала Р — Q), нарушение сокра-

тительной способности миокарда (уменьшение амплитуды зубцов S₁ и R на II и IV месяцах эксперимента), однако КК в указанной концентрации вызывает менее выраженные электрофизиологические изменения. При пороговых концентрациях ГН и КК электрофизиологические и гемодинамические нарушения не обнаруживаются.

Таким образом, под влиянием ГН и КК нарушается ионный транспорт в системе эритроцит-плазма, что проявляется в изменении трансмембранных градиентов для натрия и калия. Нарушение соотношения натрия и калия наблюдается и в миокарде.

Ионный дисбаланс, сдвиги во взаимосвязанных окислительных и энергообеспечивающих процессах в миокарде при воздействии ГН и КК, в общей сложности отражающиеся на проводимости и сократительной функции миокарда, можно рассматривать как одно из патогенетических звеньев воздействия этих веществ на сердечно-сосудистую систему.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бюхнер М. В кн.: Нарушение электролитного обмена при сердечно-сосудистых заболеваниях. 61—71. Л., 1965.
2. Биологическая роль микроэлементов, электролитов и значение их в медицине. Томск, 1977.
3. Гринин Л. П., Консигторум А. В. Вopr. мед. химии, 10, 1, 70—73, 1964.
4. Камальдинова М. М., Вольсон М. П., Иванов П. Г. Гиг. труда и проф. забол., 11(С), 55—57, 1976.
5. Кондрашев М. Н., Школь С., Лесогорова М. Н. Биохимия, 3, 567—572, 1965.
6. Козловская Л. В., Маргынова М. М. Учебное пособие по клиническим лабораторным методам исследования. 15—27, М., 1975.
7. Лазарева Н. В. Вредные вещества в промышленности. 3, Л., 1977.
8. Лесковский Р. Ф., Сичовкин В. Н., Астахов А. И. Здравьохранение Белоруссии, 6, 45—48, 1975.
9. Маркова В. Е., Ковсичикова В. Г., Попович Н. Л. Журн. Патологическая физиол., 4, 44—48, 1980.
10. Маурер Г. Диск-электрофорез. Теория и практика электрофореза в полиакриламидном теле, М., 1971.
11. Методическая инструкция набора хим. реактивов для определения содержания креатинина в сыворотке и в моче. II. П. «Лаксма», Брно—Прага (Чехословакия), 1985.
12. Методическая инструкция набора хим. реактивов для определения содержания креатинина в сыворотке и моче. II. П. «Лаксма», Брно—Прага (Чехословакия), 1985.
13. Хачатрян Р. Р. В сб.: Первый съезд РИТО, 86, Ереван, 1986.
14. Штрауб Ф. Р. Биохимия, 265, Изд. АН Венгрии, 1965.
5. Cumberhack M., Zarcian K., Davidson C. et. al. Brit. J. Clin. Pharmacol., 11, 565—570, 1981.

Поступило 18 V 1988 г.

НЕКОТОРЫЕ СТОРОНЫ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА В УСЛОВИЯХ ГИПЕРБАРИИ

С. А. ХАЧАТРЯН, Э. Е. НАЗАРЕТЯН, А. А. КАЗАРЯН,
А. Г. АРМЕНЯН, Р. А. ЕРИЦЯН

Ереванский медицинский институт, ЦНИИ, кафедры патофизиологии

На крысах установлено, что при высоком атмосферном давлении имеют место нарушения в метаболизме углеводов, зависящие от длительности воздействия гипербарии.

Փայտի-հանձնելի է, որ ցածր ճնշությունների ներքին պայմաններում առկա են փոփոխություններ էն օրգանիզմի ածխաջրամետոբի ճնշարդիզմում: Կապի-
ված էիպերբարիայի ազդեցության տևողության հետ:

It is established that under high atmospheric pressure alterations take place carbo-hydrate metabolism at rats, depending on the duration of hyperbaria action.

Гипербария—углеводный обмен.

Из числа экстремальных факторов, оказывающих влияние на организм сравнительно мало изучена гипербария. Интерес к этой проблеме особенно возрос в последние десятилетия, несмотря на двухвековую историю практического освоения гипербарической среды.

Как известно, гипербарическая среда, возникающая при повышении атмосферного давления, является для организма экстремальной многофакторной и вызывает развитие разнообразных защитно-приспособительных и патологических реакций [4]. Учитывая важное значение углеводов в энергообеспечении различных процессов жизнедеятельности организма, их адаптивное значение в экстремальных состояниях, а также недостаточность и противоречивость литературных данных [1, 7, 9], мы задались целью изучить некоторые показатели углеводного обмена (содержание глюкозы и лактата в крови, гликогена и его фракций в печени) при действии на организм повышенного атмосферного давления.

Материал и методика. Эксперименты ставили на белых крысах-самцах массой 150—200 г. Эксперимент начинали с посадки животных в предварительно стерилизованную барокамеру типа РКУМ с последующей герметизацией и компрессией. Давление повышали со скоростью 0,4 кгс/см² в мин. Продолжительность компрессии—15 мин, декомпрессии—25 мин, экспозиция в барокамере 1 и 2 ч при 6 кгс/см². Парциальное давление кислорода на протяжении всей экспозиции поддерживали в пределах 1,25 кгс/см², относительную влажность—на уровне 65—70%, температуру—18°. Опыты проводили непосредственно после одно- и двухчасового пребывания животных в барокамере, а также в течение воздействия гипербарического фактора (через 24 ч на третьи, пятые, седьмые и четырнадцатые сутки).

Глюкозу определяли О-толуидиновым методом Бермеса, гликоген и его фракции—цветной реакцией с антроном методом Морриса [16].

Результаты и обсуждение. Из данных табл. I видно, что при одночасовом пребывании в условиях повышенного атмосферного давления

Сокращения: УДФГ—уридиндифосфатглюкоза

Таблица 1. Содержание глюкозы и лактата в крови в условиях гипербарии

Показатели		Контроль	После одночасовой экспозиции	После двухчасовой экспозиции	Период и следствия гипербарического фактора после двухчасовой экспозиции				
					спустя 24 часа	3-и сутки	5-е сутки	7-е сутки	14-е сутки
Глюкоза	$M \pm m$	98.75 $\pm$ 0.51	141.35 $\pm$ 1.29	59.47 $\pm$ 5.48	66.12 $\pm$ 2.28	77.57 $\pm$ 1.81	83.93 $\pm$ 2.16	97.05 $\pm$ 2.16	97.93 $\pm$ 0.99
	$\frac{p}{n} <$	15	0.001 30	0.001 30	0.001 16	0.001 16	0.001 20	0.001 16	0.5 12
Лактат	$M \pm m$	35.70 $\pm$ 0.78	50.56 $\pm$ 0.81	84.55 $\pm$ 2.11	65.40 $\pm$ 1.38	50.16 $\pm$ 1.04	32.95 $\pm$ 2.99	44.03 $\pm$ 0.81	39.62 $\pm$ 0.70
	$\frac{p}{n} <$	16	0.001 30	0.001 30	0.001 16	0.001 16	0.1 19	0.5 16	0.5 12

Таблица 2. Содержание гликогена и его фракций в печени белых крыс в условиях гипербарии

Показатели		Свободный гликоген		Гликоген, связанный с белками		Гликоген, связанный с липидами		Общий гликоген	
Метод исследования	Контроль	$M \pm m$	208.75 $\pm$ 16.85	$\frac{p}{n}$	2208.72 $\pm$ 77.66	$\frac{p}{n}$	17.16 $\pm$ 1.13	$\frac{p}{n}$	2409.38 $\pm$ 85.13
	После одночасовой экспозиции	$M \pm m$	177.14 $\pm$ 22.05	$\frac{p}{n}$	1394.40 $\pm$ 48.11	$\frac{p}{n}$	28.28 $\pm$ 3.93	$\frac{p}{n}$	1601.21 $\pm$ 70.30
		$p <$	0.3		0.01		0.02		0.01
	После двухчасовой экспозиции	$M \pm m$	244.55 $\pm$ 8.94	$\frac{p}{n}$	424.67 $\pm$ 23.38	$\frac{p}{n}$	13.67 $\pm$ 0.775	$\frac{p}{n}$	679.2 $\pm$ 21.65
		$p <$	0.01		0.01		0.01		0.01

резко повышается содержание глюкозы и лактата в крови, составили $141,35 \pm 1,29$ и $50,56 \pm 0,81$ мг% соответственно против $98,75 \pm 0,78$ и $38,70 \pm 0,78$ мг% в контроле. Наблюдаемые в наших опытах гипергликемия и гиперлактацидемия являются, по всей вероятности, результатом активации симпато-адреналовой и надпочечниковой систем, так как для состояния выраженного функционального напряжения организма типично увеличение количества катехоламинов и глюкокортикоидов при одновременном снижении инсулина [2, 5, 6, 10, 12, 13]. В результате этого, с одной стороны, усиливаются гликогенолитические и гликолитические процессы, а с другой — подавляются процессы гликогеносинтетические. Это предположение подтверждается также тем, что при функциональном напряжении организма существенно изменяется и состояние ключевых ферментов гликолиза и гликогенолиза [10]. Следует предположить, что в механизме наблюдаемых явлений, в частности гипергликемии, немаловажное значение имеет усиление гликогенолиза как одной из адаптивных реакций организма в стрессовых условиях [10].

При двухчасовой экспозиции животных (табл. 1) имеют место еще более выраженные гиперлактацидемия ($84,55 \pm 2,11$ мг%) и гипогликемия ($54,47 \pm 5,48$ мг%).

Эти изменения, по всей вероятности, являются результатом усиленного как гликогенолиза, так и гликолиза, но преимущественно гликолиза, о чем свидетельствует более выраженная гиперлактацидемия ($84,55 \pm 2,11$ мг% против $50,56 \pm 0,81$ мг% при одночасовой экспозиции).

Интересная картина наблюдалась спустя 24 ч после двухчасового пребывания животных в барокамере: незначительно повысилось количество глюкозы и, наоборот, снизилось содержание лактата по сравнению с их уровнем непосредственно после воздействия гипербарического фактора. Отмечаемое при этом повышение содержания сахара в крови по сравнению с его уровнем в предыдущий срок наблюдений, по всей видимости, является следствием усиления гликогенолиза при ацидотических состояниях организма в ответ на активацию ключевых ферментов гликогенолиза в ранние сроки последствия стрессового фактора [11, 14, 15]. Исследование этих показателей в более отдаленные периоды последствия гипербарии выявило тенденцию к нормализации — повышению содержания глюкозы и снижению лактата.

Нами было изучено также перераспределение и мобилизуемость отдельных форм гликогена в печени, что дало представление о направленности течения ферментативных реакций, участвующих в обмене гликогена под влиянием гипербарии (табл. 2). Выяснилось, что наибольшее количество гликогена связано с белками. Свободная фракция составляет примерно 10% от общего содержания его.

В табл. 2 показано также, что после одночасовой гипербарии количество общего и свободного гликогена значительно снижается. Содержание гликогена, связанного с белками, уменьшается почти в два раза и составляет $13,94 \pm 48,11$ мг%. Содержание липидного гликогена, наоборот, увеличивается и составляет $28,28\% \pm 3,93$ мг%.

Особый интерес представляют данные, полученные при двухчасовой гипербарии, которая, как показано в табл. 2, приводит к пятикратному снижению содержания гликогена, связанного с белками (424.67 ± 23.38 мг% против 2208.72 ± 77.55 мг% в контрольных опытах и 1394.40 ± 11 мг% при однократовой гипербарии). Количество же свободного гликогена значительно повышается, составляя 244.55 ± 8.94 мг% против 177.14 ± 22.05 в опытах контрольной группы. Содержание общего гликогена уменьшается в три раза, составляя 679.20 ± 21.65 мг%, в то же время уровень липидного гликогена не изменяется.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что при однократовой гипербарии происходит интенсивный распад энергетических веществ печеночной ткани с перераспределением различных форм гликогена. За счет уменьшения гликогена, связанного с белками, возрастает содержание его свободной формы с возрастанием активации α -амилазы [8].

Уменьшение количества связанного с белками гликогена в пять раз после двухчасовой гипербарии является следствием амилолитического распада и прекращение его биосинтеза через УДФГ— α -глюканглюкозил-трансферазную систему. Известно, что α -амилаза может играть определенную роль в синтезе и перераспределении гликогена и его фракций путем расщепления некоторых количеств гликогена до олигосахаридов, первичных акцепторов в трансглюкозилазных реакциях, необходимых для индуцирования синтеза новых молекул гликогена и регенерации его определенных форм.

Таким образом, обнаруженные нами нарушения в обмене углеводов при однократовой экспозиции являются кратковременной адаптивной реакцией организма и зависят от действия гипербарического фактора и направлены на поддержание гомеостаза. В то же время сдвиги при двухчасовом пребывании животного в барокамере, резко отличающиеся от предыдущих, могут сыграть определенную роль в механизме патологических изменений со стороны различных органов и систем организма в этих условиях. Мы полагаем, что изучение биохимических процессов при гипербарии позволяет не только регулировать нарушенные обменные процессы, но и, корректируя их, восстановить функциональные нарушения различных органов и систем организма, являющиеся в той или иной степени результатом нарушения обменных процессов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бадзиевкова Л. И., Жиронкин А. Г., Николаева Н. М., Новик А. Ф., Юрлова Л. Л. В кн.: Влияние повышенного давления кислорода на организм, 8, Ростов, 1969.
2. Горизонтов П. Д. В кн.: Мат-лы пленума Всесоюз. науч. мед. общ-ва патофизиологов, 23, Ереван, 1974.
3. Добрыхотов В. И., Никандров Р. И. Бюлл. exper. биол. и мед., 54, 9, 91, 1962.
4. Зильман Г. Л. В кн.: Организм в условиях длительной гипербарии, 163, Л., 1977.

5. Лисовский В. П., Семко В. В., Полотенцев С. Д. В кн.: Человек и животные в гипербарических условиях, 5, Л., 1980.
6. Лисовский В. П., Семко В. В. ВМЖ, 3, 62, 1974.
7. Матковский К. Л., Балак Н. А. В кн.: Повышенная резистентности организма к экстремальным воздействиям. 24. Кишинев, 1973.
8. Назаретян Э. Е. Тр. ЕрМИ, 15, 1, 1971.
9. Огородникова Л. Г. Косм. биол. и мед., 5, 35, 1974.
10. Панин Л. Е. В кн.: Энергетические аспекты адаптации. 190, Л., 1978.
11. Панин Л. Е. В кн.: Биохимические механизмы стресса. 38, М., 1983.
12. Полотенцев С. П. ВМЖ, 6, 56, 1973.
13. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме. 254, М., 1960.
14. Bergmeyer H. V. Herausgegeben von Methoden der enzymatischen Analyse, 1, 624, 1974.
15. Iyengar P. J. Biol. Chem., 259, 8, 5595-5600, 1975.
16. Morris L. S. Science, 107, 254, 1948.

Поступило 1.VII 1988 г.

Биол. ж. Армении, № 2 (42), 1989

УДК 615.2+612.0.15.32.616.47—001 1/3

ЭЛЕУТЕРОКОКК—РЕГУЛЯТОР ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ СТРЕССЕ

Э. М. МИКЕЛЯН, К. Г. КАРАГЕЗЯН, С. С. ОВАКИМЯН

Ереванский медицинский институт, Институт Биологии АН АрмССР

Установлено, что элеутерококк подавляет перекисное окисление липидов при стрессе, регулирует уровень токоферола и холестерина, стабилизирует эритроцитарные мембраны, модифицируя их фосфолипидный состав.

Հաստատվել է, որ էլեւտերոկոկը ընդունելի լիպիդների փերօքսիդացումը ստրեսի ժամանակ, կարգավորում է տոկոֆերոլի և քոլեստերինի մակարդակը, կայունացնում է էրիթրոցիտների մեմբրանները՝ մոդիֆիկացնելով ֆոսֆոլիպիդային կազմը:

It has been established that eleuterococcus suppresses the lipid peroxidation during stress, regulates the level of tocopherol and cholesterol, stabilizes erythrocyte membranes, modifying their phospholipid composition.

Стресс—перекисное окисление липидов—стабилизация мембран—элеутерококк.

Ранее нами было показано, что элеутерококк, введенный интактным животным, проявляет антиоксидантный эффект, существенно подавляет ПОЛ, снижая затраты эндогенного антиоксиданта токоферола [4].

Цель настоящего исследования заключалась в изучении влияния

Сокращения: ПОЛ—перекисное окисление липидов, АЗП—аскорбат-зависимое ПОЛ, НЗП—НАДФН-зависимое ПОЛ, СОД—супероксиддисмутаза, Г6ФД—глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, СИА—суммарная пероксидантная активность, ЛФХ—лизофосфатидилхоллин, сф/фх—сфингомиелин/фосфатидилхоллин, ХЛФЛ—холестерин/суммарный фосфолипидов.

элеутерококка на систему ПОЛ, фосфолипидный состав эритроцитарных мембран в условиях стресса.

Материал и методика. Опыты ставили в течение 1987—1988 гг. на 100 беспородных белых крысах-самцах массой 100—150 г, разделенных на 5 групп интактных (контроль) животные, подвергнутые острому и повторяемому стрессу, а также крысы, которым предварительно и на фоне стресса внутрибрюшинно вводили водный раствор смеси гликозидов элеутерококка в дозе 5 мг/кг. Острый стресс имитировали однократной иммобилизацией животных в течение 150 мин, повторяемый—путем повторения иммобилизации в течение 5 дней ежедневно.

У животных всех групп в крови и эритроцитарных мембранах определяли интенсивность АЗП и НЗП, содержание фоновых липоперекисей, конъюгированных диенол-токоферола, холестерина, активность СОД, г-6-ф-2 и Г-ПА. Все используемые методы исследования были описаны нами ранее [3]. Фосфолипиды эритроцитарных мембран определяли в суммарном липидном экстракте, полученном по Фалчу [8], с последующим фракционированием методом ступенчатой восходящей хроматографии на бумаге по методу Маринетти и Стотца [10] в модификации Смирнова и соотр. [6] и Карагезяна [3]. Белок в пробах определяли по Лоури [8].

Результаты и обсуждение. Установлено, что как при остром, так и при повторяемом стрессе в эритроцитарных мембранах существенно активируется индуцированный путь перекисления липидов АЗП и НЗП (табл. 1). Повышается содержание промежуточных продуктов перекисления диенольных конъюгатов. Уровень липидных перекисей, определяемый по конечному продукту малонового диальдегида, в случае острого стресса приближается к контролю, а при повторяемом даже снижается на 61% (табл. 1). Выраженность указанных сдвигов коррелирует с продолжительностью стрессорного воздействия.

Одной из причин активирования ПОЛ в изученные фазы стресса является ингибирование СОД в пределах 20—53% (табл. 1). СОД—фермент, устраняющий супероксидный анкион-радикал и контролирующей интенсивность свободнорадикального окисления на стадии зарождения цепи.

При остром стрессе активирование ПОЛ сопровождается значительными затратами токоферола, когда уровень его в крови снижается на 49%, в эритроцитарных мембранах—на 16% (табл. 1). При повторяемом стрессе содержание этого антиоксиданта почти выравнивается с контролем; по-видимому, компенсаторно происходит перераспределение между тканями за счет жирового депо. Усиление ПОЛ при стрессе влияет на качественный и количественный состав фосфолипидов эритроцитарных мембран. Возрастает соотношение нейтральных и кислых фосфолипидов на 13 и 56% при остром и повторяемом стрессе соответственно (табл. 2). Кислые фосфолипиды в своем составе содержат сравнительно больше ненасыщенных жирных кислот, поэтому легче подвергаются окислению.

Характерным признаком нарушения липидного метаболизма является увеличение в составе фосфолипидов мембран уровня ЛФХ, которые оказывают мембранотоническое и мембраностатическое действие. Увеличение отношения сф/фх при стрессе свидетельствует о повышении жесткости эритроцитарных мембран, что еще более усугубляется ростом коэффициента ХС/ФЛ (табл. 2). Нарушение количественных соотно-

Таблица 1. Сдвиги ПОЛ, токоферолов, холестерина, активности СОД, СПА и г-6-ф-з в крови и эритроцитарных мембранах, при остром и повторяемом стрессе и на фоне введения элеутерококка

Показатели		1 контроль	2 острый стресс	3 острый стресс + элеутерококк	%		4 повторяемый стресс	5 повторяемый стресс + элеутерококк				
					3 от 1	3 от 3			5 от 1	5 от 4		
Эритроцитарные мембраны	ЛЗП	1.97±0.059	2.78±0.25*	1.41	1.02±0.03**	-48	-63	4.37±0.09*	-122	0.85±0.01*	-57	80.5
	НЗП	2.44±0.064	4.11±0.17*	1.68	0.43±0.1**	-83	-90	5.78±0.08*	-137	0.32±0.06**	-87	-95
	токоферол	2.98±0.08	2.49±0.07*	1.16	2.71±0.1	-9	-6	2.9±0.15	-2	3.77±0.07**	+26	+20
Кровь	Липиды	22.5±2.1	26.89±0.8*	+20	21.1±0.6**	-6	-21	37.95±3.4*	-69	20.6±0.7**	-8	-46
	ЛП	6.64±0.22	7.06±0.18	+6	6.15±0.17**	-8	-13	2.6±0.16*	-61	5.2±0.1**	-22	+100
	токоферол	3.58±0.059	1.84±0.04*	-49	2.78±0.1**	-22	+51	3.3±0.12*	-7.5	3.47±0.08	-3	+5
	холестерин	26.98±0.74	32.9±1.7*	-22	30.004±0.8*	+11	-8	23.7±0.5*	-12	20.08±1.8*	-26	-15
	СОД	33.75±0.97	15.9±0.6*	-53	40.6±2.8**	-38	-103	25.98±0.97*	-20	34.8±0.6**	+3	-29
	СПА	10.6±1.98	19.28±1.3*	+82	13.7±1.1**	+29	-20	32.14±2.5*	+203	12.15±0.2**	+14	-62
	г-6-ф-з	3.4±0.07	3.2±1.2	+811	4.1±0.01**	12	-91	24±2*	+603	4.61±0.18**	+30	-61

Примечание: * — достоверно относительно контроля, ** — достоверно относительно стресса

Таблица 2. Сдвиги липидного состава эритроцитарных мембран при остром и повторяемом стрессе и на фоне введения элеутерококка

Показатели	1 контроль	2 острый стресс	3 острый стресс + элеутерококк	4 от 1	5 от 2	6 от 1	7 от 2	8 от 1	9 от 2	10 от 1	11 от 2
ЛФХ	187.3±0.9	253.64±5.15	-36.5	67.5±2.3**	-64	-73	189.8±4.3*	-6.7	95.7±1.7**	-49	-52
СФ	141.18±2.2	312.8±1.5*	-119	161.1±4.9**	+14	-47	162.8±1.69*	-13.7	177.5±5**	+24	-9
ФХ	336.3±6.7	417.12±3.8*	-24	283.8±5.9**	-24	-40	283.37±4.2*	-16	379.1±3.8**	+13	-14
СФ+ФХ	0.42	0.75	+78	0.65	-54	-13	0.57	-36	0.46	-9	-20
НФЛ	666.8±9.9	983.69±4.5*	+47	485.5±3.6**	-37	-51	646.03±10.1	-3	652.4±4.5	-2	
КФЛ	394.4±8.3	395.6±9.7*	+32	320.84±2.2**	-7	-14	167.5±5.7*	-38	320.82±2.1**	+7	+71
НФЛ+КФЛ	2.2	2.48	+13	1.52	-31	-39	3.44	-56	2.03	-7	-41
СФЛ	967.2±7.2	1379.5±5.2*	-42.6	806.4±3.6**	-16	-41	833.8±7.5*	-14	973.26±4.5**	-17	
Холестерин	50.65±1.38	79.4±0.4*	-56	38.97±0.4**	-23	-51	62.6±1.4*	-64	53.8±0.7**	+0	-35
ХСФЛ	0.05	0.657	-14	0.048	-4	-16	0.099	-98	0.055	-10	-45

пошений между разными категориями липидов играет существенную роль в расстройстве жидкости и текучести биологической мембраны, приводящем к сдвигу в ее биофизико-химических свойствах, к функциональной дестабилизации.

СПА и г-б-ф-д плазмы крови являются своеобразными маркерами целостности и стабильности эритроцитарных мембран. Пероксидазной активностью обладает комплекс гемоглобина с белком плазмы гаптоглобином, поэтому ее повышение тесно связано с проницаемостью эритроцитарных мембран. При остром и повторяемом стрессе происходит существенный рост ферментемии (табл. 1). Элеутерококк, введенный на фоне стресса, существенно корректирует нарушенный метаболизм, оказывая антиоксидантное действие. Все показатели ПОЛ снижаются до уровня, ниже контрольного (табл. 1). Токоферол затрачивается более экономно, поэтому его уровень приближается к исходному. Антиоксидантное действие проявляется также опосредованно, через активирование СОД. Как показали наши исследования, действие элеутерококка на активность СОД зависит от исходного метаболического фона: ингибируется у интактных животных и активируется в условиях интенсификации ПОЛ при стрессе (табл. 1). Подобный двукомпонентный характер действия элеутерококка наблюдали и другие авторы при регулировании уровня глюкозы в крови у сытых и голодных крыс [2].

Элеутерококк стабилизирует эритроцитарные мембраны в условиях стресса, резко снижает уровень ферментемии и доводит активность СПА и г-б-ф-д до контрольных величин (табл. 1). По результатам наших исследований, элеутерококк, подобно природным и синтетическим антиоксидантам (витамину Е, дибунолу, фенолану), при стрессе значительно снижает содержание ЛФХ в мембране, модифицирует фосфолипидный состав эритроцитарных мембран, регулируя липид-липидные, Х/СФЛ отношения.

Таким образом, адаптогенное действие элеутерококка в некоторой степени определяется его антиоксидантными свойствами, коррекцией ПОЛ и фосфолипидного состава биомембран.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дардымов И. В. Женьшень, Элеутерококк, 149, М., 1976.
2. Дардымов И. В., Беззубко Г. И., Посолов В. С., Хасина Э. И. Новые данные об элеутерококке и других адаптогенах, 12, В., 1981.
3. Карацелис К. Г. Лаб. дело, 1, 23, 1969.
4. Микселян Э. М., Мхитарян В. Г. Биолог. ж. Армения, 24, 593, 7, 1986.
5. Микаелян Э. М., Барсегян Л. А., Мхитарян В. Г. Журн. эксперим. и клин. медицины, 26, 421, 5, 1986.
6. Смирнов А. А., Чирковская Е. В., Маликян К. Г. Биохимия, 26, 6, 1023, 1961.
7. Хасина Э. И. Новые данные об элеутерококке и других адаптогенах, 45, В., 1981.
8. Folch S. S. Biol. Chem., 177, 2, 47, 1949.
9. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. Z. et al. J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.
10. Marklund G. V., Stolz E. Biochem. et Biophys. Acta, 21, 168, 1956.

Получено 31.1988 г.

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА ОБРАТИМОЙ ИНАКТИВАЦИИ
АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ ЛЯГУШЕК *RANA RIDIBUNDA*

Э. Х. БАРСЕГЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии и проблемная
лаборатория сравнительной и эволюционной биохимии

Установлено, что инактивирование аргиназы печени лягушек *R. ridibunda* при pH 3,6 происходит к 22 часу инкубации (на 85%). При действии ЭДТА—через 2 часа (на 92,8%). В случае кислотной инактивации присутствие ионов Mn^{2+} в низком диапазоне не предотвращает инактивирования фермента, а в вариантах с ЭДТА фермент при 0° инактивируется лишь на 10%. Показано, что при изученных двух способах инактивации аргиназы процесс обратим в равной степени, в зависимости от pH среды и наличия определенных двухвалентных ионов. Делается предположение о различных механизмах восстановления активности фермента.

Ցուցվում է, որ *R. ridibunda* գորտի լյարդի արգինազան pH 3,6-ի զննարում ինակտիվանում է 85%-ով 22 ժամից հետո, իսկ ЭДТА-ով իշակված արգինազան ինակտիվանում է 92,8%-ով 2 ժամ հետո: Ինակտիվացումը չի կասեցվում Mn^{2+} իոնների առկայությամբ և ցածր շերտառարձանը չեն կանխում պրոցեսը, իսկ ЭДТА-ի առկայությամբ 0°-ում ֆերմենտը ինակտիվանում է միայն 10%-ով: Ցուցվում է, որ երկու տարրերն էլ պահպանելով ինակտիվացված ֆերմենտը pH-ի և երկվալենտ իոնների ազդեցության տակ վերականգնում է ակտիվությունը տարրեր աստիճանով: Հետազոտությունները ցույց են տալիս ենթադրելու ֆերմենտի ակտիվության վերականգնման տարրեր ձևաառարձանների մասին:

It has been established that inactivation of liver arginase of the frogs *R. ridibunda* takes place after 22 hours at pH 3,6 (by 8,5 per cent), and EDTA treatment—after 2 hours (by 92,8 per cent). In case of acid inactivation the presence of Mn^{2+} ions, low temperature don't inhibit the enzyme inactivation, whereas in variants with EDTA the enzyme is inactivated by 10 per cent at 0°. It has been shown that at the studied two ways of arginase inactivation the process is reversible for various degrees in dependence on the medium pH and the presence of definite two valency ions. An assumption is made on various mechanisms of recovery of the enzyme activity.

Аргиназа—инактивация—реактивация—денатурация—репатурация.

Известно, что высокоочищенные препараты аргиназы печени ряда животных при значении pH ниже 6 в течение нескольких часов полностью теряют ферментативную активность. По мнению Дэвиса и Гринберга [7, 8], инактивация аргиназы при значении pH 5—3 происходит медленно и снижение активности незначительно. При pH ниже 3 уровень инактивации резко возрастает. При изучении аналогичного процесса у крыс показано, что при pH 2 в глициновом буфере ионы Mn^{2+} в концентрации 10 мМ не защищают фермент от денатурации. При этом аргиназа печени распадается на субъединицы с молекулярной массой 32.000 [10]. По мнению Исаиченкова и сотр., инактивирование фермента в этих условиях является следствием разрыва дисульфидных мостиков [3].

Поскольку двухвалентные катионы (Mn, Co, Ni и др.) участвуют в поддержании олигомерной структуры тетрамерной молекулы аргиназы и в проявлении каталитических свойств фермента, некоторые хелатные соединения (в частности, ЭДТА) неконкурентно ингибируют его, связывая эти ионы. Подавление активности аргиназ различного происхождения под влиянием ЭДТА выявлено рядом исследователей [4, 5, 6]. Этот процесс, очевидно, происходит вследствие распада фермента на субъединицы. В частности, показано, что аргиназа легких здоровых человека с молекулярной массой 120000 под влиянием ЭДТА распадается на субъединицы по 30000 [5].

Данное исследование предпринято с целью изучения процесса инактивации аргиназы печени лягушек *R. ridibunda* при низком значении pH и действии ЭДТА в разных условиях.

Материал и методика. Объектом исследования служили лягушки *R. ridibunda* (лягушка озерная) массой 100–120 г.

Активность аргиназы определяли по описанному нами методу [1]. Активность фермента выражали в мкмоль образовавшейся мочевины на 1 г свежей ткани.

Результаты и обсуждение. Результаты I серии экспериментов, в которых определяли время инактивирования аргиназы печени лягушек *R. ridibunda* при pH 3,6 и действии ЭДТА, представлены в табл. 1.

Таблица 1. Инактивирование аргиназы печени лягушек *R. ridibunda* (средние данные 5 опытов)

Проба	Активность аргиназы, мкмоль			
	контроль, нулевой момент	через 2 ч	через 22 ч	% инактивации
pH 9.5	30000			
pH 3.6	30000	19200	4734	85
pH 3.6 (предынкубация с Mn 10 мин)	30000	19680	4760	85
ЭДТА (pH 7.4)	29600	2140	0	92.8

Почти полное инактивирование экстракта аргиназы печени в 0,05 M глицин—HCl буфере при pH 3,6 наблюдалось к 22 часу инкубации (на 85%), при действии же ЭДТА в конечной концентрации $5 \cdot 10^{-2}$ M (pH 7.4) — через 2 часа (на 92,8%).

Такая быстрая инактивация фермента в присутствии ЭДТА свидетельствует, вероятно, об относительно непрочной связи Mn^{2+} с субъединицами аргиназы и о легкой диссоциации этих ионов при их поверхностном расположении на аргиназе, поскольку, как показано нами при исследовании ЭПР-спектров аргиназы, в печени лягушек *R. ridibunda* присутствуют два типа двухвалентного Mn, которые ассоциируются на поверхности, но отличаются по белковому окружению в молекуле фермента [2]. С целью выяснения роли ионов Mn в процессе инактивации мы проводили предварительную предынкубацию проб с Mn^{2+}

в концентрации 25 мкмоль на 1 мл инактивируемой пробы в течение 10 минут.

Как показали результаты исследования (табл. 1), в случае кислотной денатурации присутствие ионов Mn не предотвращает инактивирование фермента. Таким образом, в этом отношении аргиназа печени лягушек, подвергнутая кислотной инактивации, не отличается от фермента печени крыс [10].

Далее эксперименты по изучению инактивирования аргиназы печени мы проводили при двух температурных режимах (0° и 20°). Полученные данные показывают, что в случае кислотной инактивации (pH 3,6) температура инкубации не играет никакой роли. При обоих температурных режимах инактивирование фермента к 22 часу составляло 87% (табл. 2).

Таблица 2. Влияние температуры на процесс инактивации аргиназы печени (средние данные 3 опытов)

Проба	Активность аргиназы, мкмоль/л			
	pH 3.6		ЭДТА	
	0°	20°	0°	20°
0-й момент	49000	48000	49704	40704
Через 2 ч	24700	24700	40000	8140
Через 22 ч	6400	6400	0	0
% денатурации	87	87	10	80

В случае же инактивации аргиназы под действием ЭДТА (pH 7,4) при 20° через 2 ч фермент инактивировался на 80%, а при 0° всего на 10%. На тормозящий эффект низких температур в процессе инактивирования аргиназы под действием ЭДТА обратили внимание также Дейлинг и сотр. [5], изучавшие инактивацию аргиназы легких здорового человека.

Реактивация аргиназы. Влияние ионов двухвалентных металлов. С целью изучения вопроса, включает ли процесс инактивации диссоциацию фермента на субъединицы или при этом происходят необратимые изменения, нами проведены следующие эксперименты. После 22-часовой инкубации фермента в 0,05 М растворе глицин-HCl буфера (pH 3,6) мы повышали pH среды инкубации соответствующим щелочным буфером (0,05 М глицин-NaOH буфер) до pH 9,5 с последующей 22-часовой экспозицией фермента при 0° и 20° в присутствии ряда двухвалентных ионов (Mn , Co , Ni , Fe , Mg , Zn).

В вариантах же с ЭДТА после инактивации pH инкубационной среды доводили до pH 9,5 и далее также выдерживали ферментный препарат в течение 22 ч в присутствии указанных двухвалентных ионов (25 мкмоль на 1 мл инактивируемой пробы).

Как видно из таблицы 3, кислотная инактивация и инактивация под воздействием ЭДТА обратимы. И в том и в другом случае щелочная

Таблица 3. Восстановление активности аргиназы печени в присутствии двухвалентных ионов (средние данные 4 опытов)

Проба	Активность аргиназы, мкмоль/г			
	pH 3.6	% инактивации и реактивации	ЭДТА	% инактивации и реактивации
Экстракт	35127		29600	
Денатурированный экстракт	4800	- 87	2140	-93.6
Реконструкция:				
без иона (pH 9.5)	9184	+28	10952	+37
Mn	24800	+70.6	21670	+72
Co	26240	+74.7	14880	+50
Ni	24800	+70.6	41600	+140
Fe	25600	+72.8	27200	+91
Mg	25120	+71.5	2720	-81
Zn	19680	+56	6560	+22

восстановление активности фермента, однако по-разному в зависимости от наличия в инкубационной среде того или иного иона.

Активность фермента при pH 9,5 без добавления ионов повышалась незначительно (на 28%) в случае кислотной денатурации и на 37% в случае с ЭДТА).

При добавлении двухвалентных ионов после кислотной денатурации при pH 9,5 фермент реактивировался не только в присутствии Mn^{2+} , но практически в присутствии всех испытанных ионов. Восстановление активности фермента, инактивированного ЭДТА под влиянием испытанных ионов, также имело место, но с некоторыми особенностями. В частности, реактивирование аргиназы в присутствии ионов Ni было в 2 раза выше, чем в присутствии Mn , а ионы Zn почти не влияли на этот процесс. Можно допустить, что хотя при обеих формах инактивации, возможно, фермент распадается на субъединицы, однако механизмы этого распада различны. Если при кислотной инактивации, очевидно, развиваются дисульфидные связи [3], то в случае с ЭДТА удаляется Mn^{2+} , что и влечет распад олигомерной структуры фермента [4—6]. Соответственно и процесс реактивации инактивированных различными способами ферментных препаратов под влиянием двухвалентных ионов происходит различными путями. Возможно, при реактивировании фермента в присутствии ЭДТА взамен удаленного Mn^{2+} в белок внедряется другой двухвалентный ион, от характера которого и зависит степень реактивации. Однако даже при таком допущении трудно объяснить преимущество Ni^{2+} по сравнению с Mn^{2+} в процессе реактивации фермента. Очевидно, необходимы дополнительные исследования для объяснения этого факта.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барсегян Э. А., Никогосян Ф. Ц., Давидян М. А. Биол. ж. Армении, 20, 6, 1977
2. Барсегян Э. А., Никогосян Ф. Ц., Метрлян М. Б. Биол. ж. Армении, 32, 12, 1979
3. Исаченков Н. А., Нестайко Г. В. Эволюция некаталитических функций. М., 1971

4. *Curvajal N., Bustamante M., Hinrichsen D.* Comp. Biochem. and Physiol., 3B, 78, 591, 1984.
5. *Dahlig E., Porembska Z., Mochnacka J.* Acta biochim polon., 22, 176, 1975.
6. *Dahlig E., Porembska Z.* Acta biochim polon., 24, 3, 187, 1977.
7. *Davis R., Defalco A., Kopelman A.* Nature, 191, 288, 1961.
8. *Greenberg D., Sahib H., Knox W.* Arch. Biochim. Biophys., 137, 477, 1970.
9. *Hirsch-Kolb H., Greenberg D.* J. B. C., 243, 6123, 1968.
10. *Hosejama J.* Eur. J. Biochem., 27, 248, 1972.

Поступила 15.IX 1988 г.

Бислаг, ж. Армения, № 2, (42), 1989

УДК 517.16/17-1-612.43/45

ДЕЙСТВИЕ ПРОДУКТОВ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ
ЛИМФОЦИТОВ НА СОДЕРЖАНИЕ КАТЕХОЛАМИНОВ
В КРОВИ

Г. Г. БАКУНЦ

Ереванский государственный медицинский институт, ЦНИИ

Кровь—лимфоциты—катехоламины

Продукты жизнедеятельности лимфоцитов представляют собой биологически активные вещества (гликопротеиды), вырабатываемые как инертными клетками лимфоидного ряда, так и в результате стимуляции последних различными митогенами и осуществляющие регуляцию не только иммунологических реакций, но и оказывающие влияние на клетку-мишень неиммунного генеза [7, 8].

Показано, что Т-лимфоциты могут осуществлять контроль и регуляцию процессов пролиферации и дифференцировки стволовых кроветворных клеток [5, 10]. Обнаружено, что медиаторы иммунной системы, вырабатываемые костным мозгом, могут регулировать и нейрофизиологические реакции, обладают сильным опиатоводобным действием [2—4]. Являясь важными факторами поддержания гомеостаза организма, ПЖЛ, по-видимому, участвуют в процессе адаптации, в регуляции сердечно-сосудистой системы при напряженных состояниях организма. В этой связи представляет интерес исследование влияния ПЖЛ на активности симпато-адреналовой системы. В настоящей работе представлены результаты изучения действия ПЖЛ на содержание адреналина и норадреналина в крови интактных и подвергнутых стрессу крыс (при ишемическом повреждении сердца).

Материал и методика. Опыты ставили на белых крысах-самках массой 120—150 г. Выделяли ПЖЛ тимуса (I) и вводили внутрибрюшинно (в/бр) в дозе, найденной экспериментально и составляющей по белку 300 мкг на 100 г массы животного. Модель стресса создавали подкожным (п/к) введением адреналина в концентрации 0,5 мг на 100 г массы крысы, вызывающей ишемию миокарда [5]. Животные были разделены на 5 групп: I—интактные крысы; II (также контрольная)—в/бр вводили среду инкубации лимфоцитов, забивали через 1 час; III—в/бр вводили ПЖЛ, забивали через 1 час; IV—п/к вводили адреналин (модель стресса), забивали через 30 мин; V—в/бр дважды вводили ПЖЛ с промежутком в 1 час, через час п/к вводили адреналин, забивали через 30 мин. Содержание катехоламинов в крови определяли флюориметри-

Сокращения: ПЖЛ—продукты жизнедеятельности лимфоцитов, ГПС—гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система

ческим методом. Шаталовой [6]. Катехоламины экстрагировали из крови кистей бутанолом, добавлением гептана переводили их в водную фазу. Окисление проводили триоксинилоловым методом, в качестве окислителя применяя дод. Флуориметрию проводили на спектрофлуориметре марки Хитачи MPF-4 (Япония).

Результаты и обсуждение. Как видно из таблицы, ПЖЛ повышают содержание катехоламинов в крови, адреналина—до 152%, а норадреналина—до 69% по отношению к контролю. Введение адреналина, вызывающее ишемию миокарда, также сопровождается повышением содержания адреналина и норадреналина в крови на 68 и 43% соответственно.

Содержание адреналина и норадреналина в крови крыс (мкг/мл) при в/бр введении ПЖЛ

Катехоламины	Контроль	Введение ПЖЛ	Введение адреналина	Введение ПЖЛ и адреналина
Адреналин M±m P	2.37±0.162	5.635±0.568 <0.001	3.765±0.088 <0.001	7.195±0.614 <0.001
Норадреналин M±m P	3.560±1.053	6.02±0.311 <0.001	5.10±0.124 0.001	6.89±0.119 0.001

Примечание: поскольку контрольные данные группы интактных животных и с введением среды инкубации лимфоцитов не различались между собой, в таблице приведены обобщенные данные.

Таким образом, ПЖЛ по сравнению с адреналином вызывают более выраженную активацию симпато-адреналовой системы и, следовательно, являются факторами, моделирующими стресс. В этой связи возникает вопрос, могут ли ПЖЛ при двукратном введении в определенных условиях выступать в качестве ограничителей стресс-реакции или они являются факторами ее усиления. Проведенная серия экспериментов показала, что двукратное введение ПЖЛ в той же концентрации на фоне ишемии миокарда не подавляет активации симпато-адреналовой системы, а, наоборот, усиливает ее, что проявляется в более резком повышении содержания адреналина и норадреналина в крови по сравнению с контролем—на 222 и 93% соответственно. Итак, действие ПЖЛ как на интактных, так и на подвергнутых стрессу животных имеет одинаковую направленность, выражающуюся в активации симпато-адреналовой системы.

На основании полученных результатов мы пришли к заключению, что ПЖЛ усиливают выброс катехоламинов из мозгового слоя надпочечников и периферических окончаний симпатических нервов, поскольку основным источником адреналина в крови является хромаффинная ткань надпочечников, а норадреналина—пресинаптические окончания адренергических нервов. Активация высвобождения катехоламинов из надпочечников при действии ПЖЛ может протекать как по центральному, так и периферическому механизму. Дальнейшие исследования выявят, активируется ли при введении ПЖЛ ГПС, что возмож-

при прохождении ПЖЛ через гемато-энцефалический барьер и
станови на гипоталамо-гипофизарном уровне.

Действие ПЖЛ может реализоваться и на уровне надпочечников
через активацию β -адренорецепторов или α -холинорецепторов [9—11].
Исключается также прямое воздействие ПЖЛ на кальциевые кана-
лы или на другие свойства мембраны, регулирующие каналы для каль-
ция. Выдвинутые предположения нуждаются в экспериментальной
верификации.

ЛИТЕРАТУРА

- Зильфян А. В., Овсепян Р. С., Хачатрян В. Г., Петросян М. С., Арутюнян С. Г.
Докл. АН АрмССР, 85, 3, 142—144, 1987.
Михайлова А. А., Петров Р. В., Захарова Л. А. и др. Тез. докл. 16-й конф.
ФЕВО, М., 1984.
Петров Р. В., Дуринкин Р. А., Василенко А. М. и др. Докл. АН СССР, 265, 2,
501—503, 1982.
Петров Р. В., Захарова Л. А., Михайлова А. А. Гематол. и трансфузиол., 2,
43—45, 1984.
Целлариус Ю. Г., Семенова Л. А. Гистопатология остронекротических
преждений миокарда. Новосибирск, 1972.
Шатадова А. А. Вopr. мед. химии, 15, 2, 323—327, 1969.
Cohen S., Ward P. A., Wigzitz P. E. In: Mechanisms of cell-matrix adhesion and immunity,
New-York, 331, 1974.
Cohen S., Yoshida T. J. Immunol., 119, 719, 1977.
Gutman Y., Bonnyayevy J. P., Naiman-Schmiedeleberg's. Arch. Pharmacol., 307, 1,
39—44, 1979.
Lindmar R., Loffelholz K., Werscholl E. Brit. J. Pharmacol., 32, 280—291, 1968.
Smith A. D., Winkler H. In: Catecholamines. Handbook of Experimental Pharmacology,
Berlin, Heidelberg—New York: Springer, 33, 538—617, 1972.

Поступило 24.VI 1988 г.

Вop. ж. Армения, № 2, (42), 1989

УДК 616.411.547.915.5

ВЛИЯНИЕ ПЕРОКСИДИРОВАННОЙ ОЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ПЛАЗМОЦИТАРНУЮ РЕАКЦИЮ СЕЛЕЗЕНКИ

Л. С. ГРИГОРЯН, С. И. ЧИЛИНГАРЯН

Ереванский государственный медицинский институт

Пероксидированная олеиновая кислота — плазмацитарная реакция

Несмотря на достаточно убедительные данные о роли повышенной ли-
пероксидации в возникновении ряда заболеваний и патологических
процессов, а также об антимитотической и мутагенной активности ее
в микроорганизмах, до сего времени нет сведений о роли ПОК в
системе иммунных нарушений.

Сокращения: ПОК — пероксидированная олеиновая кислота.

Ранее нами было показано влияние ПОК на антигелообразование, иммунное розеткообразование, титр гемолитинов и гемагглютининов. Для детального исследования влияния перекисей липидов на реактивность организма представлялось необходимым изучение влияния ПОК на плазмоцитарную реакцию селезенки. Это даст возможность комплексно оценить иммунный статус животных и обосновать иммунокорректирующую лечебную тактику—антиокислительную защиту иммунокомпетентных клеток.

Материал и методика. Опыты поставлены на белых крысах-самках массой 120 г. Патологическое состояние селезенки изучали методом отпечатков по Шумкавой и Гурвичу [8]. Подсчитывали 1000 клеточных элементов, среди них выделяли клетки плазматического ряда, количество которых выражали в % [1]. Клетки плазматического ряда учитывали по номенклатуре, предложенной Покровской и соавт. [7].

Результаты и обсуждение. При воздействии ПОК в различных дозах (с перекисным кислородом, составляющим 250 мкмоль на 1,0 г навески масла) у иммунизированных крыс наблюдалось статистически достоверное снижение плазматических клеток в препаратах отпечатках селезенки. В контрольной группе крыс (иммунизированных эритроцитами барана) общее количество клеток плазматического ряда на 10^3 клеток селезенки составляло $47,8 \pm 7,9\%$. Отмечалось резкое снижение общего количества клеток плазматического ряда (в 5,56 раза), количество плазматических клеток снизилось до 8,6 на 10^3 клеток селезенки.

Иная картина плазмоцитарной реакции наблюдалась у неиммунизированных крыс. При пероральном введении ПОК в течение 4 и 7 дней плазмоцитарная реакция активизировалась, составляя 24 и 44% соответственно, а в контрольной группе (интактные крысы) плазматические клетки составляли 18%.

Как при внутрибрюшинном введении ПОК (доза 0,1 мл), так и при пероральном в течение 4, 7 и 14 дней (доза 0,3 мл) выявлена активация плазмоцитарной реакции (48—51%).

Полученные результаты согласуются с литературными данными, указывающими на мутагенное действие липидных перекисей [6]. Эти деструктивные процессы, которые реализуются в организме мультитоксичными продуктами перекисного окисления липидов, приводят к мутации. В организме появляются клетки лимфоцитов, продуцирующие антитела против собственных антигенов, что подтверждается обнаружением противоорганных аутоантител [2].

Таким образом, плазмоцитарная реакция у иммунизированных крыс под влиянием ПОК подавляется, а у неиммунизированных она активизируется вследствие аутоиммунной перестройки организма. Плазмоцитарная трансформация лимфоцитов при внутрибрюшинном и пероральном введении ПОК в дозе 0,1—0,3 мл активизируется. У иммунизированных крыс данная реакция заблокирована, так как при наличии в организме 2 антигенных стимулов (эритроциты барана и аутоантигены) первый становится доминантным, а на втором временно блики-

руется иммунный ответ. Более того, снижается плазмощитарная трансформация лимфоцитов до более низкого уровня, чем у интактных животных. Это говорит об антимитотическом эффекте ЛЮК, (вследствие Σ II-зависимого нарушения сборки митотического аппарата лимфоцитов).

Результаты, полученные в разных группах (у иммунизированных и неиммунизированных) животных, при разных дозах и сроках воздействия ЛЮК, — угнетение или усиление плазмощитарной трансформации лимфоцитов *in vivo*, выявляемых плазмощитарной реакцией, показывают антимитотическое и мутагенное действие ЛЮК, что вполне согласуется с литературными данными [6].

При избыточной липидной перекисидации через циклооксигеназный и липооксигеназный пути метаболизма арахидоновой кислоты реализуется как мутагенное, так и антимитотическое действие ЛЮК на иммунокомпетентные клетки, модулируя их функциональную активность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Григорян Л. С. Тр. Ереванск. ун-та. Вопросы иммунологии и иммунопатологии, 17, 3, 140—144, Ереван, 1977.
2. Григорян Л. С. Журн. эксперим. и клинич. медицины АН АрмССР, 22, 6, 525—529, 1982.
3. Григорян Л. С. Биолог. ж. Армении, 35, 4, 284—288, 1982.
4. Дурихин К. В., Леви М. И. ЖМЭИ, 8, 16—20, 1970.
5. Дурихин К. В., Леви М. И. ЖМЭИ, 3, 112—116, 1971.
6. Кудряшов, Ю. Б. и др. Журн. общей биологии, 25, 1, 3—11, 1964.
7. Покровский М. П. и др. ЖМЭИ, 3, 8—13, 1965.
8. Шулакова Г. В., Гурвич Г. А. Бюлл. эксперим. биологии и медицины, 46, 11, 66—72, 1958.

Поступило 7 XII 1988 г.

Биолог. ж. Армении, № 2, (42), 1989

УДК 577.112.384.4

АКТИВНОСТЬ γ -ГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗЫ В МОЗГУ, ПЕЧЕНИ, ПОЧКАХ И СЕЛЕЗЕНКЕ БЕЛЫХ КРЫС В ОНТОГЕНЕЗЕ

Г. А. ТУРЦИЯН, Г. Е. АКОНЯН, С. С. САФРАЗЯН, Г. В. АПРИКЯН

Институт биохимии АН АрмССР, Ереван

Мозг—печень—почки—селезенка— γ -глутамилтрансфераза.

Ранее нами было показано [1], что активность γ -глутамилтрансферазы в мозгу значительно выше в тех областях его, где нейрональные клетки преобладают над глияльными; исследование субклеточных фракций выявило наличие выраженной активности фермента в синаптосомной фракции. Эти данные указывают на возможную транспортную функцию γ -глутамильного цикла для аминокислот и глутаминовой кислоты и, следовательно, на определенную его роль в синаптической активности.

В настоящей работе представлены результаты изучения динамики изменения γ -глутамилтрансферазы в мозгу, печени, почках и селезенке в онтогенезе в аспекте тканевых функциональных различий.

Материал и методика. Опыты ставили на белых крысах следующих возрастных групп: новорожденных, 10-дневных, месячных, зрелых (5–6-месячных) и старых (24-месячных). γ -Глутамилтрансферазу определяли в 10%-ном гомогенате, приготовленном из цельного мозга без мозжечка, печени, почек и селезенки на 0,1 М трис-HCl буфере, содержащем 0,32 М сахарозу (pH 7,5 для мозга и pH 8,2 для остальных органов). В качестве донора γ -глутаминовой группы использовали γ -глутамил-п-нитроанилид, а акцептора- глицилглицин. При определении гидролитической активности фермента в инкубационной смеси отсутствовал акцептор γ -глутаминовой группы, т. е. глицилглицин [6]. Инкубацию проводили в течение 15 мин при 37°. Белок определяли по методу Лоури и соавт. [5]. Принято считать, что оптимальная величина pH для действия γ -глутамилтрансферазы колеблется в пределах 8–9 [6]. Намп обнаружено [1], что для γ -глутамилтрансферазы мозга крыс pH 7,5 является оптимальным, что согласуется с результатами исследований Лизн и Лодина [3], проведенных на ферменте мозга мышей.

Результаты и обсуждение. Из данных, приведенных в табл. 1, следует, что у новорожденных животных активность γ -глутамилтрансферазы в мозговой ткани очень низкая, постепенно она увеличивается и достигает в зрелом возрасте величин, почти в 4 раза превышающих аналогичный показатель у новорожденных. Следует отметить, что повышение активности этого фермента в мозгу продолжится до наступления старости, но в старческом возрасте увеличивается недостоверно. Полученные результаты указывают на то, что γ -глутамилтрансфераза играет определенную роль в функциональной деятельности головного мозга. Активность γ -глутамилтрансферазы в печеночной ткани (табл. 1) у новорожденных очень высокая, 34 мкмоль, т. е. приблизительно

Таблица 1. γ -Глутамилтрансферазная активность мозга, печени, почек и селезенки крыс, мкмоль п-нитроанилина/100 мг белка

Органы	Новорожденные	10-дневные	Месячные	Зрелые	Старые
Мозг	7.4 $\pm$ 1.2 (25)	6.5 $\pm$ 0.6 P<0.5 (10)	17.5 $\pm$ 1 P<0.001 (25)	27.6 $\pm$ 1.8 P<0.001 (25)	31.6 $\pm$ 2 P>0.1 (25)
Печень	34.1 $\pm$ 3.1 (25)	6.6 $\pm$ 0.5 P<0.001 (10)	16.8 $\pm$ 1.8 P<0.001 (25)	19.3 $\pm$ 1.9 P>0.2 (25)	11.3 $\pm$ 1.3 P<0.005 (25)
Почки	3120 $\pm$ 122 (10)	5503 $\pm$ 151 P<0.001 (10)	7188 $\pm$ 378.1 P<0.001 (20)	36350 $\pm$ 454 P<0.001 (12)	16304 $\pm$ 341.3 P>0.005 (10)
Селезенка	10.1 $\pm$ 2 (10)	14 $\pm$ 4 P>0.4 (10)	16 $\pm$ 3 P>0.5 (10)	12.8 $\pm$ 0.2 P>0.2 (10)	18.8 $\pm$ 1.2 P<0.001 (10)

P по сравнению с предыдущим возрастом.

в 5 раз выше, чем в мозговой ткани, однако с возрастом она снижается: у 10-дневных в пять раз, у зрелых и месячных в два раза, у старых в три раза меньше, чем у новорожденных. Это говорит о том, что активность γ -глутамилтрансферазы в печени в основном связана с созре-

ваньем ее ткани, а в мозговой она играет функциональную роль. В почечной ткани изменение активности фермента у исследуемых групп животных происходит так же, как в мозговой, с той лишь разницей, что здесь активность фермента значительно выше, чем в мозговой ткани. В селезенке активность фермента до наступления зрелого возраста значительным изменениям не подвергается, но к старости она достоверно увеличивается.

Интересно, что наши данные в отношении почек и печени подтверждаются гистохимическими исследованиями Альберта и других [2], но в отношении мозга они расходятся.

Данные, приведенные в табл. 2, показывают, что гидролитическая активность γ -глутамилтрансферазы, т. е. способность фермента путем гидролиза и трансферирувания образовать или γ -глутамилглутаминовую кислоту, или просто глутаминовую кислоту в отсутствие акцептора глутамильной группы, по сравнению с ее трансферазной активностью намного ниже, но в процессе онтогенетического развития меняется с такой же закономерностью, что и трансферазная активность.

Таблица 2. Гидролитическая активность γ -глутамилтрансферазы мозга, печени, почек и селезенки крыс, миколь п-нитроанилина/100 мг белка

Органы	Новорожденные	10-дневные	Месячные	Зрелые	Старые
Мозг	2 ± 0.07 (25)	0.7 ± 0.02 $P > 0.5$ (10)	2 ± 0.1 $P < 0.001$ (5)	2.7 ± 0.2 $P < 0.01$ (25)	3.6 ± 0.4 $P > 0.05$ (25)
Печень	7.3 ± 0.7 (25)	3.6 ± 0.1 $P < 0.01$ (10)	3.3 ± 0.1 $P < 0.1$ (25)	4.1 ± 0.4 $P < 0.1$ (25)	4.1 ± 0.9 $P > 0.5$ (25)
Почка	446.1 ± 16.6 (10)	391.6 ± 18.6 $P > 0.5$ (10)	830 ± 23.9 $P < 0.001$ (20)	3197.4 ± 398.3 $P < 0.001$ (12)	2600 ± 299.8 $P > 0.2$ (10)
Селезенка				4.8 ± 0.2 (10)	5.9 ± 0.2 $P > 0.001$ (10)

P по сравнению с предыдущим возрастом.

Недавние исследования Роте и Вольфа [7] показали, что активность γ -глутамилтрансферазы в гомогенатах из разных частей (гиппокампа, мозжечка, спинных и верхних шейных ганглий) мозга крыс возрастает у 100-дневных крыс по сравнению с 6-дневными. Подобные результаты были получены Лиз и Мёрфи [4] в отношении γ -глутамилтрансферазной активности в мозговых капиллярах и в различных частях мозга мышей в ранней стадии развития и в зрелом возрасте.

Наши исследования показывают, что активность γ -глутамилтрансферазы подвергается выраженным изменениям в зависимости от периода развития головного мозга, что указывает на возможную роль фермента в метаболизме и функции этого органа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Турциян Г. А., Акоян Г. Е., Сифразян С. С. Пейрохимия, 3, 1, 47-50, 1981.

2. Albert Z., Rzuicido Z., Starzyk H. Acta histochem. Bd., 37, S 34—39, 1970.
3. Lisy I., Lodin Z., Collect. Czechosl. Chem. Commun., 42, 2967—2975, 1977.
4. Lisy V., Murphy S. Physiologia Bohemoslovaca, 33, 17—22, 1984.
5. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. J. Biol. chem., 193, 265—275, 1951.
6. Orłowski M., Meister A. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 67, 1248—1252, 1970.
7. Roth F., Wolf G. Neuroscience Letters, 62, 107—112, 1985.

Поступило 3.II 1988 г.

Биолог. ж. Армения. № 2, (42), 1989

УДК 557.1.01

К МЕХАНИЗМУ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ГЛУТАМАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ

А. С. ОГАНЕСЯН, Ж. С. ГЕВОРКЯН, М. А. БАБАЯН

Институт биохимии АН АрмССР, Ереван

Глутаматдегидрогеназа — фосфорилирование — дефосфорилирование.

Процессы фосфорилирования и дефосфорилирования белков, и в особенности ферментов, относятся к числу важнейших в живой клетке. В результате этих реакций ряд ферментов переходит из активного состояния в неактивное и наоборот. Многочисленными исследованиями установлено изменение активности ряда ферментов и физиологически активных белков посредством фосфорилирования и дефосфорилирования [3—5, 7].

Ранее нами [1] было показано, что при инкубировании срезов коркового слоя почек и условиях, приводящих к снижению содержания АТФ, интенсивность процессов дезаминирования ряда L-аминокислот (глутамата, аспаргата, орнитина) снижается, а при высоких значениях АТФ она значительно повышается. Учитывая вышесказанное, а также роль АТФ в процессах фосфорилирования тканевых ферментов и ряда физиологически активных белков, мы предположили возможность регуляции активности ферментов, катализирующих дезаминирование аминокислот, путем фосфорилирования и дефосфорилирования. Для выяснения этого вопроса мы изучали изменение активности кристаллической глутаматдегидрогеназы при ее фосфорилировании и дефосфорилировании.

Материал и методы. В опытах использовали коммерчески prepared кристаллической ГДГ из печени быка («Sigma», США), активность которой определяли спектрофотометрически по увеличению или уменьшению оптической плотности НАДН [6].

Дефосфорилирование фермента проводили в присутствии щелочной фосфатазы (1 мг на пробу), а фосфорилирование судили по связыванию γ -³²P-АТФ с ГДГ в присутствии протеникиназы и cAMP. Количественное измерение ³²P проводили на сцинтилляционном спектрометре SL-30 (Intertechnique, Франция). Содержание неорганического фосфата определяли по стандартной методике [2].

Сокращения: ГДГ — глутаматдегидрогеназа; ЭДТФ — этилендиаминтетрафосфоновая кислота

Результаты и обсуждение. Полученные результаты показали наличие остатка фосфорной кислоты в составе ГДГ (0,6—0,9 мкмг белка). Предварительное инкубирование ГДГ с щелочной фосфатазой снижает ее активность. На этом фоне добавление ^{32}P -АТФ, в присутствии протеникиназы и сАМР приводит к активному включению метки в фермент и значительному восстановлению его активности (рис. 1, 2).

Наличие фосфата в составе кристаллической ГДГ было устанавливаемо также при помощи ЯМР спектрального анализа на приборе ЯР-360 с рабочей частотой 145,78 МГц. В качестве эталона использовали ЭДФ. Химические сдвиги сигналов определяли относительно ЭДФ. Выявлено три пика.

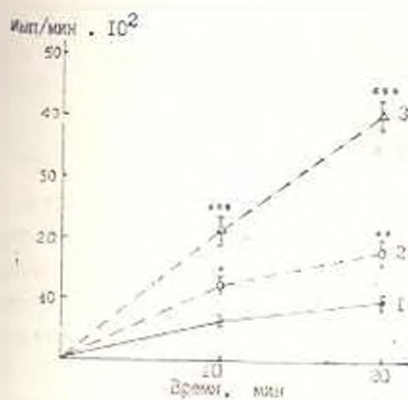


Рис. 1.

Рис. 1. Связывание ^{32}P (γ - ^{32}P -АТФ) с кристаллической глутаматдегидрогеназой ($n=6$). 1—глутаматдегидрогеназа+щелочная фосфатаза+протеникиназа+ γ - ^{32}P -АТФ; 2—щелочная фосфатаза+протеникиназа+ γ - ^{32}P -АТФ+сАМР; 3—глутаматдегидрогеназа+щелочная фосфатаза+протеникиназа+ γ - ^{32}P -АТФ+сАМР. Достоверность по отношению к 1—* $p<0,001$; ** $p<0,005$; к 2—*** $p<0,001$.

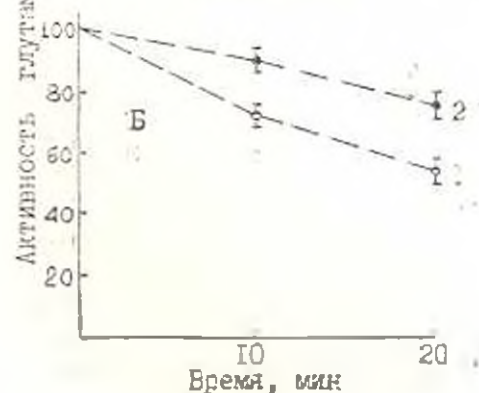
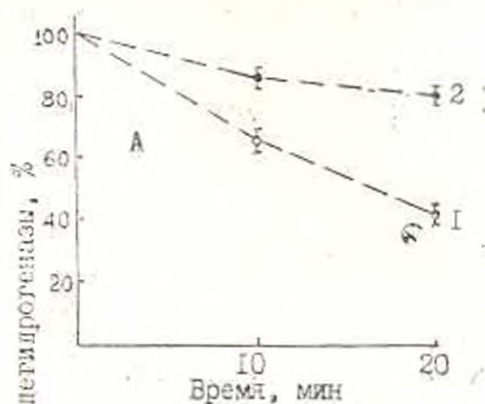


Рис. 2.

Рис. 2. Влияние щелочной фосфатазы и протеникиназы на имитирующую (А) и дезактивирующую (Б) активности кристаллической глутаматдегидрогеназы ($n=6$). 1—действие щелочной фосфатазы; 2—щелочная фосфатаза+протеникиназа+АТФ+сАМР.

Анализ приведенных данных показывает, что в почечной ткани активность ГДГ регулируется ее фосфорилированной и дефосфорилированной формами, причем фосфорилирование приводит к повышению, а дефосфорилирование—к понижению ее активности.

1. Геворкян Ж. С. ДАН АрмССР, 69, 5, 285—289, 1979.
2. Fiske C. H., Subbarow Y. J. Biol. Chem., 66, 2, 375—400, 1925.
3. Hardie D. G., Gray P. S. Eur. Biochem. J., 110, 1, 167—177, 1980.
4. Hemmings B. A., J. Biol. Chem., 253, 15, 5255—5258, 1978.
5. Krebs E. G., Beavo J. A. Ann. Rev. Biochem., 48, 923—959, 1979.
6. Schmidt E. Methods of enzymatic analysis (Ed. by H. H. Bergmeyer), 2, 650—656, 1974.
7. Yamachi T., Fujisawa H. Biochem. Biophys. Res. Commun., 93, 4, 1172—1178, 1979.

Поступило 20 VI 1988 г.

Биолог. ж. Армения, № 2, (42), 1989

УДК 577.122.3-

ВЛИЯНИЕ АДРЕНАЛИНА И ИНСУЛИНА НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ДЕЗАМИНИРОВАНИЯ L-ГЛУТАМАТА И L-АСПАРТАТА В КОРКОВОМ СЛОЕ ПОЧЕК БЕЛЫХ КРЫС

А. С. ОГАНЕСЯН, Ж. С. ГЕВОРКЯН

Институт биохимии АН АрмССР, Ереван

Адреналин—инсулин—дезаминирование аминокислот

Ранее нами было установлено, что активность глутаматдегидрогеназы как в тканевых, так и кристаллических препаратах регулируется фосфорилированием и дефосфорилированием, причем фосфорилирование приводит к повышению ее активности, а дефосфорилирование — к снижению [3]. Подобное явление наблюдается в тканевых препаратах и в отношении фермента, дезаминирующего L-аспартат.

Сывороточный фактор, обнаруженный нами [1], в зависимости от физиологического состояния организма путем изменения интенсивности процессов фосфорилирования указанных ферментов, оказывает регулирующее действие на их активность, и, следовательно, на скорость дезаминирования аминокислот в корковом слое почек.

Изложенное выше послужило основанием для изучения гормональной регуляции процессов дезаминирования L-глутамата и L-аспартата, в частности, влияния адреналина и его антагониста инсулина на интенсивность этих процессов в корковом слое почек белых крыс.

Материал и методика. Опыты ставили на белых крысах обоего пола массой 180—200 г. Использовали методику, описанную нами ранее [2]. Адреналин вводили подкожно из расчета 1 мг/кг массы за 30 мин до начала опыта, инсулин — внутривенно из расчета 10 ед/кг массы за 60 мин до начала опыта. В некоторых экспериментах инсулин добавляли *in vitro*, (0,1 ед/мл), в отдельной серии опытов изучали влияние указанных гормонов на активность сывороточного ингибитора и выделение аммиака с мочой.

Результаты и обсуждение. Как видно из данных табл. 1, адреналин и инсулин в условиях *in vivo* стимулируют активность ферментов.

катализирующих дезаминирование глутамата и аспартата и срезах коркового слоя почек, между тем как инсулин в опытах *in vitro* вызывает подавление этих процессов. Из этой же таблицы следует, что ингибирующий эффект сыворотки крови животных, предварительно получивших адреналин, менее выражен по сравнению с действием сыворотки контрольных животных и крыс, получивших инсулин.

Таблица 1. Влияние адреналина и инсулина на аммиакообразование из *L*-глутамата и *L*-аспартата в срезах коркового слоя почек и на активность сывороточного ингибитора ($n=7$)

Условия опыта	Содержание глюкозы в крови, мг %	Количество образующейся аммиака, мкмоль/ткань/ч	
		глутамат	аспартат
Контроль	115.0±16.9	5.8±0.7	8.4±0.7
Адреналин (<i>in vivo</i>)	231.0±28.6 p < 0.001	8.1±1.2 < 0.005	10.0±1.3 < 0.05
Инсулин (<i>in vivo</i>)	43.0±11.8 p < 0.001	7.9±1.4 < 0.025	10.1±1.0 0.025
Инсулин (<i>in vitro</i>)	p	4.4±0.6 < 0.01	6.2±0.7 0.005
1.5 мл буфер + 0.5 мл сыворотки контрольных животных	p	0.5±0.2 < 0.001	3.7±0.7 < 0.001
1.5 мл буфер + 0.5 мл сыворотки крыс, получивших адреналин	p	3.5±0.1 < 0.001	6.6±1.1 < 0.01
Опыт — 1.5 мл буфер + 0.5 мл сыворотки крыс, получивших инсулин	p	1.2±0.2 < 0.001	5.5±1.4 < 0.001

Введение адреналина способствует повышению диуреза и увеличению количества аммиака, выделенного с мочой (табл. 2). Между тем инсулин вызывает снижение диуреза, не изменяя общего количества аммиака, выделенного с мочой. Однако при расчете содержания аммиака на 1 мл мочи выяснилось, что инсулин также вызывает усиление экскреции аммиака с мочой.

Таблица 2. Влияние адреналина и инсулина на диурез и выделение аммиака с мочой ($n=5$)

Условия опыта	Количество мочи, мл за 24 ч	Количество аммиака мочи, мкмоль, 24 ч	Количество аммиака, мкмоль на мл мочи
Контроль	4.3±0.4	216.0±11.5	50.1±3.7
Адреналин (<i>in vivo</i>) p	5.9±0.4 < 0.001	358.0±24.6 < 0.001	60.9±5.1
Инсулин (<i>in vivo</i>) p	3.5±0.4 < 0.025	208.0±18.4 0.035	59.4±12.2

Таким образом, адреналин повышает интенсивность дезаминирования исследуемых аминокислот в корковом слое почек и выделения аммиака с мочой. Аналогичное явление отмечалось в опытах с инсулином в условиях *in vivo*, однако в условиях *in vitro* имело место обратное. Нам было установлено [3], что активность глутаматдегидроге-

зы и фермента, дезаминирующего аспартат (в тканевых препаратах), регулируется фосфорилированием и дефосфорилированием. Стимулирование процессов дезаминирования указанных аминокислот под действием адреналина можно объяснить повышением активности глутаматдегидрогеназы и фермента, катализирующего дезаминирование аспартата, в результате усиления их фосфорилирования. Подавляющий эффект инсулина в условиях *in vitro*, по всей вероятности, связан со снижением интенсивности фосфорилирования ферментов, участвующих в процессах дезаминирования аминокислот, в результате подавления активности аденилатциклазы [6], снижения содержания сАМР и активности сАМР-зависимой протеникиназы [4]. Из приведенных данных видно, что в условиях *in vitro* инсулин вызывает усиление дезаминирования указанных аминокислот. Этот эффект инсулина (а также адреналина), по-видимому, связан с его подавляющим действием на синтез сывороточного фактора в печени, принимающего активное участие в регуляции процессов дезаминирования аминокислот. Однако трудно окончательно объяснить механизм указанных явлений, так как эти гормоны вызывают многосторонние изменения в метаболизме и функциональной деятельности организма.

Таким образом, процессы дезаминирования L-глутамата и L-аспартата в корковом слое почек подвергаются гормональной регуляции и в значительной мере зависят от функционального состояния организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Букчян Л. А., Геворкян Ж. С., Оганесян А. С. ДАН СССР, 236, 6, 1493—1496, 1977.
2. Геворкян Ж. С., Майсурян К. Г., Оганесян А. С. ДАН АрмССР, 77, 3, 136—140, 1983.
3. Оганесян А. С., Геворкян Ж. С. Бюл. ж. Армении, 34, 10, 1018—1053, 1981.
4. Lerner J., Galusco G., Cheng K., Di Paolo-Runch A. A., Huang L., a. Kollog J Science, 206, 1408—1460, 1979.
5. Manganiello V. a. Vaughan M. J. Biol. Chem., 248, 7164—7170, 1973.
6. Sakel A. R., Segal M. J., Jacobs S. a. Cantrecases P. Biochemistry, 79, 3513—3517, 1982.

Поступило 15.III 1988 г.

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АЗИРИДИНА

А. В. КАЗАРЯН, М. Г. АНЕСЯН, Л. Г. АЛЛАВЕРДОВА,
С. А. НАПОЯН, С. Г. МАЦОЯН

НИИ медицинской радиологии МЗ АрмССР

Производные азиридина — активность противоопухолевая — токсичность.

Азиридины и его производные занимают особое место в ряду гетероциклических соединений, что можно объяснить их интересными физическими, химическими и биологическими свойствами [3, 6].

В настоящем сообщении приводятся результаты изучения токсичности и противоопухолевой активности шести соединений, относящихся к оксалатам азиридина.

Материал и методики. Изучали: 1) оксалат N-(α -пропоксибензил)азиридина; 2) оксалат N-(α -метоксибензил)азиридина; 3) оксалат N-(α -этоксибензил)азиридина; 4) оксалат N-(α -бутоксибензил)азиридина; 5) оксалат N-(α -изобутоксибензил)азиридина; 6) оксалат N-(α -этоксипарахлорбензил)азиридина.

Биологические испытания проводились по общеизвестной методике [7]. Токсичность веществ изучали на белых беспородных мышах массой 18–20 г при однократном внутримышечном введении указанных соединений. Определяли ЛД₁₀₀ и МПД, а затем вычисляли ЛД₅₀ по формуле Кербера [2].

После установления токсических доз определяли терапевтические дозы для ежедневных введений. Под «терапевтической» подразумевают та дозу, которая при многократном введении не вызывает значительной потери веса животных и колеблется в пределах 1/5–1/6 ЛД₅₀.

После установления токсических и терапевтических доз были проведены терапевтические опыты на белых беспородных крысах массой 90–100 г с веретеноклеточной саркомой 45.

Критерием оценки антибластического действия испытанных соединений служили %Т и К_р. Для определения достоверности %Т результаты подвергали статистической обработке по методу Стьюдента, применяли многофакторный дисперсионный анализ [1], реализованный в среде пакета прикладных программ «Статистика» микро-ЭВМ «Искра-226» [5].

Для соединений, проявившего активность на саркоме 45, определяли спектр антибластического действия, для чего изучали его противоопухолевую активность на следующих моделях перевиваемых экспериментальных опухолей: карциносаркоме Уокера 256, лимфосаркоме Плесса, лейкозе Шенка, саркоме 37.

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что изученные соединения менее токсичны по сравнению с известными препаратами этой же химической группы. Наименее токсичным оказалось соединение № 3 (ЛД₅₀ = 255 мг/кг). Данные о токсичности соединений представлены в табл. 1.

Антибластические исследования, проведенные на веретеноклеточной саркоме 45, выявили ингибирующий эффект четырех соединений

Сокращения: МПД — максимально переносимая доза; ЛД₅₀ — средняя летальная доза; ЛД₁₀₀ — абсолютно летальная доза; %Т — процент торможения роста опухоли; К_р — коэффициент роста, выявляющий изменение массы животных к концу опытов.

указанной группы, проявившийся в различной степени; два соединения оказались неактивными (табл. 2).

Таблица 1. Токсичность соединений, мг/кг

№ соединения	МПД	LD ₅₀	LD ₁₀₀
1	103	152	205
2	95	125	185
3	175	255	355
4	345	215	295
5	135	190	255
6	20	103	250

Таблица 2. Антибластическая активность соединений

№ соединения	% Т	Кр
1	0	31
2	11	20
3	70*	0.6
4	9.4	5.0
5	0	6.7
6	15.6	2.2

* Данные статистически достоверны.

Наиболее активным оказалось соединение оксалат N-(α -этоксibenзил)-азиридины, которое тормозило рост саркомы 45 на 70–80%. Такой же %Т был у соединения E-39, 2,5-ди-пропокси-3,6-дiazиридино-бензохинон-(1,4), взятого нами для сравнения. Но токсичность изученного нами вновь синтезированного соединения значительно ниже, что предполагает более широкое и безопасное использование его. Это соединение было отобрано для дальнейшего углубленного исследования, которое показало, что оно угнетает рост различных штаммов переносимых экспериментальных опухолей на 25–35%.

Важно отметить, что у животных с этими опухолями коэффициент роста, показывающий изменение массы животных к концу лечения испытуемым соединением, был положительным или имел небольшую отрицательную величину (табл. 3) [4].

Таблица 3. Спектр антибластического действия оксалат N-(α -этоксibenзил)-азиридина

Штаммы опухолей	% Т	Кр (%)
Карцин сарк. м. Уокера 256	37*	7.6
Лимф. саркома Шнейса	34.5*	1.2
Лейкома Шнейса	24.6*	7.96
Саркома 37	30*	1.21

Таким образом, в ряду оксалатов азиридины выявлено новое, ранее не исследованное соединение оксалат N-(α -этоксibenзил)-азиридина, обладающее противоопухолевой активностью.

Это позволяет расширить поиски новых антибластических соединений среди производных азиридины.

ЛИТЕРАТУРА

1. Афифи А. А., Эйзен С. П. Статистический анализ. Машинноориентированный подход. 488, М., 1982.
2. Бесядовский Р. А., Иваков К. В., Козюра А. К. Справочное руководство для радиобиологов. 47–49, М., 1978.

- 3 Гембицкий Л. А., Жук Д. С., Карсан В. А. Химия этиленмина. 255. М., 1966
- 4 Казарян А. В., Аветян М. Г., Аллавердова Л. Г., Папоян С. А., Мацюк С. Г. Свид. на изобр. № 1220296 от 22.11.85.
- 5 Машинная вычислительная электронная клавиатура, управляемая Искра-226. Статистикв: Библиотека программ. 1.320.336. Д15-3. 97
- 6 Саркисян М. Г. Канд. дисс., 109. Ереван, 1973.
- 7 Чернов В. А. Методы экспериментальной химиотерапии. 357. М., 1971

Поступило 26 VI 1988 г.

Бюлет. ж. Армянн, № 2. (42). 1989

УДК 636.612.393:577.1

ФОСФОЛИПИДЫ МОЗГА И ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ ИМ ЭТАНОЛА И ЭТАНОЛАМИНА

Л. М. АРАКЕЛЯН

Ереванский политехническо-ветеринарный институт,
лаборатория обмена веществ с/х животных

Фосфолипиды мозга — этанол — этаноламин

ЭА является производным этанола и оказывает ингибирующее действие на алкогольдегидрогеназу, метаболизирующую этанол. Оба соединения генерируют ацетальдегид и восстановленные пиримидинуклеотиды [1, 2, 6, 8]. Вместе с тем ЭА в отличие от этанола может акцентировать ацильные радикалы. Следовательно, продукт окисления этанола, ацетальдегид, который приблизительно в 30 раз токсичнее этанола, ацетилируя ЭА и другие амины, может быть частично нейтрализован.

ЭА и этанол являются естественными метаболитами, включающимися в ряд жизненно важных ферментативных процессов, в такие, в частности, как синтез фосфолипидов. Не исключена конкуренция между ЭА и этанолом за включение в молекулу фосфолипида.

В настоящей работе представлены результаты изучения закономерностей изменения спектра фосфолипидов в норме и при алкогольном отравлении под действием ЭА.

Материал и методика. Исследования были проведены на бесспорных белых крысах-самцах массой 180—200 г, содержащихся в условиях вивария. Животные были разбиты на 3 группы: I—интактные, II—получавшие этанол (3 г·кг⁻¹ массы внутривенно), III—ЭА (10 мг·кг⁻¹) и через 15 мин этанол. Животных декапитировали через 3 ч, и быстро извлекали мозг и печень. Материалом для экстракции служил ацетонсый порошок, полученный из гомогенатов указанных органов [3]. Фракционирование индивидуальных фосфолипидов проводили методом одномерной хроматографии в тонком слое силикагеля марки ЛС5/40 (УССР) с использованием системы растворителей хлороформ—метанол—вода (65:25:4). Фосфолипидные пятна идентифицировали с помощью соответствующих свидетелей. Минерализацию фосфора осуществляли в среде 5н H₂SO₄ и конц. HNO₃. Фосфор определяли спектрофотометрически, регистрируя экстинкцию при 815 нм. Количество фосфора в липидах выражали в мкг на мг сухой ткани.

Сокращения: ЭА—этанол.

Результаты и обсуждение. Известно, что печень использует этанол в качестве энергетического субстрата путем превращения его в ацетальдегид, ацетат и ацетил-КоА. Такая направленность в обмене этанола при длительном его применении приводит к декомпенсации обмена, проявляющейся в накоплении липидов. Ранее нами были выявлены определенные сдвиги в липидных фракциях печени при однократном введении этанола и ЭА [5]. Кроме того, имеются данные о включении в молекулу фосфолипидов ЭА и этанола [4, 8], что не может не отразиться как на количественном содержании отдельных фракций фосфолипидов, так и на физико-химических свойствах плазматических и митохондриальных мембран. Результаты количественного определения фосфолипидов печени показывают (табл. 1), что общее содержа-

Таблица 1. Содержание фосфора общих и индивидуальных фосфолипидов в печени белых крыс (в мг на 1 мг сухой ткани)

Показатели	Контроль	Этанол	ЭА-этанол
Неидентифицируемые фосфолипиды	$0,49 \pm 0,05$	$0,54 \pm 0,05$	$0,55 \pm 0,06$
Лизофосфатиды	$0,56 \pm 0,07$	$0,66 \pm 0,04$	$0,61 \pm 0,03$
Фенилсоединения	$0,5 \pm 0,04$	$0,57 \pm 0,04$	$0,55 \pm 0,04$
Фосфатидилхолины	$1,52 \pm 0,07$	$1,91 \pm 0,14$	$1,95 \pm 0,12$
Фосфатидилэтаноламины	$0,35 \pm 0,04$	$1,20 \pm 0,13$	$1,05 \pm 0,07$
Фосфатидисерпины	$0,61 \pm 0,02$	$0,60 \pm 0,06$	$0,61 \pm 0,03$
Кардиолипиды	$0,44 \pm 0,01$	$0,52 \pm 0,04$	$0,69 \pm 0,04$
Общее количество	5,32	6,3	6,04

ние фосфолипидов при однократном введении этанола, как и при предпринятом введении его до ЭА, существенно не изменяется. Вместе с тем этанол вызывает достоверное увеличение количества фосфатидилэтаноламинов и фосфатидилхолинов в тканях печени соответственно на 41,0 и 27,5%. Следует отметить, что в ряде опытов было обнаружено пятно, соответствующее фосфатидилэтанола [8]. Образование этого фосфолипида, по мнению авторов, объясняется изменением текучести мембран при алкогольном отравлении, т. е. мембранотоксическим эффектом алкоголя. В наших опытах фосфолипид с подобным R_f обнаруживался при хроматографии редко и в следовых количествах, так что делать вывод исходя из этих данных о его образовании, тем более об опосредованном эффекте алкоголя, оснований недостаточно.

Не исключено, что в условиях наших опытов этот фосфолипид подвергался распаду в процессе экстракции, хранения и разделения. Следует отметить, что введение ЭА почти не влияет на эффекты алкоголя на фракции фосфолипидов печени, за исключением некоторого повышения содержания кардиолипидов. Результаты экспериментов, представленные в табл. 2, показывают, что у алкоголизированных животных достоверно повышается содержание фосфатидилхолинов и фосфатидилэтаноламинов в головном мозге. Введение ЭА за 15 мин до

Таблица 2. Содержание фосфора общих и индивидуальных фосфолипидов в головном мозге у белых крыс (в мкг на 1 мг сухой ткани)

Показатели	Контроль	Этанол	ЭА — этанол
Идентифицированные фосфолипиды	0.72±0.01	0.62±0.06	0.85±0.03
Лизофосфатиды	0.92±0.05	0.95±0.03	0.82±0.06
Сфингомиелины	1.03±0.05	1.17±0.10	1.01±0.10
Фосфатидилхолины	3.37±0.13	3.50±0.07	2.37±0.16*
Фосфатидилэтаноламины	2.20±0.10	2.65±0.12*	3.69±0.13*
Фосфатидилсерины	1.04±0.05	0.96±0.09	0.75±0.03*
Кардиолипины	0.78±0.07	0.63±0.02	0.70±0.01
Общее количество	10.06	11.08	10.19

* Статистически достоверно.

этанола еще больше повышает уровень фосфатидилэтаноламинов (+68%), количество фосфатидилхолинов и фосфатидилсеринов достоверно уменьшается (—30 и —28%).

Неидентифицированные фосфолипиды, лиофосфатиды, кардиолипины головного мозга в результате алкоголизации и при предварительном введении ЭА не претерпевают заметных количественных изменений.

Таким образом, однократное введение этанола приводит к уменьшению в мозге количества доминирующих в нем фосфолипидов — фосфатидилхолинов и фосфатидилэтаноламинов, основных компонентов мембран. Наблюдается также тенденция к уменьшению количества кардиолипидов, локализованных в основном в митохондриальных мембранах.

Предварительное введение ЭА крысам за 15 мин до алкоголизации приводит к изменению соотношения фосфатидилхолин: фосфатидилэтаноламин в пользу последнего. Хотя оба этих представителя фосфолипидов относятся к нейтральным, этаноламинные фосфатиды содержат больше ненасыщенных жирнокислотных остатков, что имеет существенное значение для физико-химического состояния мембран и их проницаемости. Наблюдается также уменьшение серинсодержащих фосфолипидов. По-видимому, в мозге этаноламин вытесняет холин и серин из фосфолипидов в реакции обмена оснований. Последние могут быть использованы в какой-то мере как энергетические субстраты, дефицит которых наблюдается при алкоголизации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Какалян Р. Г. Автореф. докт. дисс. 1978.
2. Какалян Р. Г. В сб. Митохондрии. Механизмы сопряжения и регуляции. 59, Пушкино, 1981.
3. Карагезян А. Г. Лаб. дело, 1, 23, 1969.
4. Киметиачи Н. А. и др. Тр. 1 Закавказ. конф. по мед. радиологии 262—329, Тбилиси, 1966.
5. Котасян В. А. и др. Биол. журнал Армении, 534—536, 1985.
6. Метелица Л. И. Активация кислорода ферментными системами 167—193, М., 1982.
7. Atting Ch. et al. Biochem. Biophys. Acta, 723, 113—123, 1984.
8. Sprinson D. B., Welby J. B. and Roberts R. C. J. Biol. Chem., 36, 5, 835, 1969.

Поступила 29.11 1988 г.

О РЕГЕНЕРАЦИИ ЭНДОКРИННОЙ ТКАНИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ДОМАШНИХ КУР ОДНОВРЕМЕННОЙ РЕЗЕКЦИЕЙ ПЕЧЕНИ

К. А. ДЖИВАНЯН, К. С. ТЕР-ОГАНЯН, О. В. ГЕЙЛИКМАН

Ереванский государственный университет, кафедра зоологии

Железа поджелудочная—панкреатическая островки—панкреатэктомия—гепатэктомия.

В литературе имеются данные о восстановлении эндокринной ткани поджелудочной железы у млекопитающих после резекции органа. Отмечается увеличение размеров островков [3, 4, 7] и их новообразование путем дифференцировки малодифференцированных эпителиальных структур в зоне резекции [1] и превращения ацинарных клеток в островковые [9].

В настоящей работе приводятся данные об особенностях регенерации эндокринной ткани поджелудочной железы после резекции у кур с интактной и регенерирующей печенью.

Материал и методы. У 5—6 месячных петушков удаляли 1/5—1/6 паренхимы поджелудочной железы и дистальную часть правой доли печени, составляющую 1/6 массы органа. Материал для гистологической обработки брали через 3, 5, 10, 30 и 60 суток после операции. Кусочки поджелудочной железы фиксировали в жидкостях Буаля и Тейссенского. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином-эозином и алдегид-фуксинном. На срезах методом точечного счета определяли относительный объем экзокришной, эндокришной тканей и стромы, на стандартной площади среза (0,5 мм²) подсчитывали количество островков разных классов, интеграл площади сечения В-клеток, подсчитывали количество А- и В-клеток. В крови птиц подопытных и контрольных групп во Хатедорфе-Менсепе определяли содержание сахара.

Результаты и обсуждение. Реакцию эндокринного аппарата поджелудочной железы после частичной панкреатэктомии у домашних кур можно характеризовать как регенерационную гипертрофию. Она выражается в некотором увеличении объемной доли эндокринной ткани в органе. Это происходит благодаря увеличению размеров островков. Уровень гликемии нормализуется в конце нового месяца регенерации.

После одновременной резекции печени и поджелудочной железы первые признаки регенерационной гипертрофии эндокринной ткани появляются уже через 3—5 суток. Они выражаются в эти сроки в некотором увеличении относительного объема островковой ткани, в незначительном увеличении на стандартной площади среза количества крупных островков и в статистически достоверном увеличении площади сечения ядер В-клеток. Последнее максимально выражено именно в эти сроки опыта. Уровень сахара в крови через 3 суток после операции несколько повышен ($176 \pm 10,52$ мг% против $154 \pm 10,95$ мг% в норме).

Через 10 суток после одновременной резекции печени и поджелудочной железы объем эндокринной ткани более чем в 2 раза увеличивается. Разница с нормой приобретает статистическую значимость

($P < 0,001$). Отношение эндокринной ткани к экзокринной составляет 0,0295 (в норме—0,010). По-прежнему увеличено количество крупных островков и значительно гипертрофированы ядра В-клеток. Содержание сахара в крови у подопытных птиц нормализуется.

Через 20—30 суток после операции мы наблюдали дальнейшее увеличение относительного объема эндокринной ткани. Отношение эндокринной ткани к экзокринной через 30 суток после операции составляет 0,0344, что в 3,4 раза выше нормы. По сравнению с нормой увеличено количество как мелких, так и крупных островков. Ядра В-клеток значительно гипертрофированы, причем средняя площадь сечения ядер этих клеток превышает аналогичный показатель в регенерирующей поджелудочной железе у кур с интактной печенью на 18,84%.

В течение второго месяца регенерации объем эндокринной ткани и общее количество островков значительным изменениям не подвергаются, но мы наблюдали значительное увеличение количества А-клеток в эндокринной ткани. В этот последний срок опыта несколько уменьшается гипертрофия ядер В-клеток. Однако разница с нормой значительная ($P < 0,01$).

Полученные данные показывают, что при однопременной резекции печени в регенерирующей поджелудочной железе стимулируется регенерационная гипертрофия эндокринной ткани.

Учитывая чрезвычайно низкий уровень митотической активности островковых клеток (в многочисленных препаратах поджелудочной железы как контрольных, так и подопытных кур мы видели лишь единичные митозы этих клеток), мы предполагаем, что главным источником регенерации островковой ткани в поджелудочной железе домашних кур являются клетки, возникшие путем ацино-инсулярной трансформации. Такой вывод подтверждается литературными данными о наличии в поджелудочной железе птиц ацино-инсулярных клеток [5] и высказываниями ряда авторов о незначительной роли митоза в процессах роста эндокринной ткани поджелудочной железы млекопитающих [6, 8].

ЛИТЕРАТУРА

1. Анисимова-Александрова, Старшинова В. М. В кн.: Регуляторные механизмы регенерации. 184—195. М., 1973.
2. Нопкова В. Ф., Пузырев А. А., Рейсханов А. В. Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. 7. 93—96, 1974.
3. Кидилов Е. В., Корзина В. В. Бюллет. ж. Армения, 25, 1, 21—27, 1972.
4. Морозова С. А., Рабен Н. А., Щедлов Г. Г. Патологическая физиология и ее экспериментальная терапия. 4. 40—43, 1973.
5. Пузырев А. А. Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. 7. 92—97, 1979.
6. Фазин, Л. И. В кн.: Становление эндокринных функций в зародышном развитии, 58—81. М., 1966.
7. Preda Maria Luisa M., Cruz Andre R. Acta anat., 116, 4. 346—352 (1973).
8. Picini R., Rutter W. Y. In Handbook of Physiology. 11. Washington, 1972.
9. Szabo G., Blatnicky L., Vigh S. Acta biol. Acad. sci. hung. 23. 3, 309—325, 1972.

Поступило 14 VII 1988 г