

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н.Ореховича

Архив журнала

Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1986

Внимание! Распознавание текста проведено в автоматическом режиме для облегчения работы поисковых систем. Будьте внимательны при копировании, возможны ошибки и неточности. Используйте сканированный графический вариант.

Archive of journal

Voprosy meditsinskoi khimii

ISSN 0042-8809

1986

Attention! OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible. Use scanned picture as standard.

<http://pbmc.ibmc.msk.ru>

ТОМ XXXII

ВЫПУСК 2

МАРТ—АПРЕЛЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.

ВОПРОСЫ МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ



МОСКВА · МЕДИЦИНА · 1986

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. И. МАЗУРОВ (зам. главного редактора), Т. Т. БЕРЕЗОВ, Е. Н. ГЕРАСИМОВА,
В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, А. Н. КЛИМОВ, Б. Ф. КОРОВКИН, Л. А. ЛОК-
ШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ, Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ, Е. Л. РО-
ЗЕНФЕЛЬД, Ю. А. РОМАКОВ (ответственный секретарь), В. А. САКС, С. Е. СЕ-
ВЕРИН, В. Б. СПИРИЧЕВ

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

БАЕВ А. А. (Москва)
БЕЛИЦЕР В. А. (Киев)
БЫЧКОВ С. М. (Москва)
КОНСТАНТИНОВ А. А. (Хабаровск)
КУДРЯШОВ Б. А. (Москва)
ЛЯХОВИЧ В. В. (Новосибирск)
ПАСХИНА Т. С. (Москва)

ТРОИЦКИЙ Г. В. (Симферополь)
ТУРАКУЛОВ Я. Х. (Ташкент)
ТЯХЕПЫЛЬД Л. Я. (Тарту)
УТЕВСКИЙ А. М. (Харьков)
ШАПОТ В. С. (Москва)
ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)
ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)



Адрес редакции журнала:

Москва, Солянка, 14

АМН СССР

Тел. 297-16-44

Зав. редакцией Л. А. Фирсова

ON THE MECHANISM OF PYRACETAME
EFFECT ON NADH OXIDATION VIA EX-
TERNAL PATHWAY IN RAT LIVER MITO-
CHONDRIA

A. P. Agurcev, I. V. Zhigacheva

Institute for Biological Testing of Chemical
Compounds, Cupavna, Moscow Region

Activation of the external pathway (amytal-
antimycine A-resistant) of the exogenous

NADH oxidation was studied in rat liver mito-
chondria after long-term (within 6 days) admi-
nistration of pyracetame. Stimulation of lipid
peroxidation and a decrease in viscosity of
mitochondrial membranes accompanied the in-
crease in the rate of oxygen consumption in
mitochondria in presence of the exogenous
NADH, amytal and antimycine A.

УДК 612.173.1.015.1:577.152.633+616.127-008.931:577.152.633]-056.43

*В. П. Мирошниченко, Г. В. Крюкова,
А. М. Zubовская, И. Л. Шарлова*

**ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ГУАНИЛАТЦИКЛАЗЫ
МИОКАРДА КРОЛИКОВ В НОРМЕ И ПРИ ЕГО
АЛЛЕРГИЧЕСКОМ НОВРЕЖДЕНИИ**

НИИ медицинской энзимологии АМН СССР, Москва

Регуляция функциональной актив-
ности миокарда гормональными и биоло-
гически активными соединениями опо-
средуется циклическими нуклеотида-
ми цАМФ и цГМФ. Существование
цГМФ было установлено только в кон-
це 70-х годов, т. е. спустя 10 лет после
открытия цАМФ. В настоящее время
цГМФ обнаружен в большинстве тка-
ней животных. Широко исследуются
функции этого нуклеотида в организ-
ме. Можно с определенностью заклю-
чить, что функции цГМФ и цАМФ раз-
личны, а представление об их противо-
положном эффекте пока сохраняет
силу в отношении действия на ритм
сердца. цАМФ вызывает положительные
инотропный и хронотропный эф-
фекты, а цГМФ ослабляет их [13,
15, 20].

Разные механизмы вовлечены в ре-
гуляцию образования в тканях цАМФ
и цГМФ. Аденилатциклаза, катализи-
рующая синтез цАМФ — мембранный
фермент, регуляция активности кото-
рого находится под гормональным кон-
тролем; фермент тесно связан с соот-
ветствующими рецепторами. Гуанила-
тциклаза, катализирующая биосинтез
цГМФ, в значительной части находит-
ся в цитоплазме и только некоторая
часть фермента (в зависимости от ви-
да ткани) является мембраносвязан-
ной. Считается, что увеличение уровня
цГМФ обусловлено активацией гуа-
нилатциклазы. Однако регуляция ак-
тивности этого ключевого фермента,
механизм его действия, роль цитоплаз-

матической и мембраносвязанной форм
фермента, а также физиологическая
роль самого цГМФ не выяснены.

Уровень цГМФ в сердечной мышце
и его изменения отмечены при некото-
рых патологиях сердечно-сосудистой
системы [6, 19]. В то же время сведе-
ния об активности гуанилатциклазы
сердечной мышцы и ее регуляции в
норме крайне редки и отрывочны [14,
16], а в случаях патологии — практи-
чески отсутствуют. Между тем выяв-
ление нарушений в системе обмена
цГМФ и его регуляции в организме
способствует пониманию механизмов,
лежащих в основе патологических из-
менений в тканях и действия лекарст-
венных препаратов и создает возмож-
ность коррекции и направленной про-
филактики и терапии.

Целью настоящей работы было ис-
следование активности гуанилатцикла-
зы, ее регуляции гормональными фак-
торами, другими биологически актив-
ными соединениями, а также определе-
ние уровня цГМФ в ткани миокарда
кролика в норме и при аллергическом
повреждении сердца.

Методика

Подопытными животными служили кро-
лики-самцы (20 особей) массой 2,3—2,5 кг. Жи-
вотных декапитировали. Аллергическое по-
вреждение сердца (АПС) вызывали по ранее
описанному методу [3]. Уровень цГМФ и ак-
тивность гуанилатциклазы устанавливали в
тканях миокарда в норме и при АПС. Для
определения содержания цГМФ использовали
наборы фирмы «Amersham» (Англия) соглас-

по инструкции изготовителя. Для определения активности гуанилатциклазы в качестве источника фермента использовали гомогенат, а также его фракции, соответствующие мембраносвязанной и растворимой формам фермента. Ткань сердца (1,5—2,0 г) гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе с тефлоновым пестиком в 9 объемах буфера 5 мМ трис-HCl pH 7,6, содержащего 0,25 М сахарозу. Полученную суспензию фильтровали через капроновую ткань и использовали как тканевой гомогенат. Для получения мембраносвязанной и растворимой форм гуанилатциклазы гомогенат центрифугировали при 105 000 g в течение 60 мин. Полученную надосадочную жидкость использовали как фракцию растворимого фермента, а осадок промывали в среде выделения с последующим ультрацентрифугированием в указанных выше условиях, повторно суспендировали в 5 мМ трис-HCl pH 7,6; полученную суспензию использовали в качестве мембраносвязанной формы гуанилатциклазы.

Активность гуанилатциклазы определяли по количеству цГМФ, образовавшегося из гуанозинтрифосфата (ГТФ) при инкубации фермента (70—120 мкг белка) в течение 10 мин при 37°C в 100—150 мкл инкубационной среды следующего состава [10]: 50 мМ трис-HCl pH 7, 6, 10 мМ теofilлин, 1 мМ ГТФ, 4 мМ $MnCl_2$ или $MgCl_2$, 4 мМ креатинфосфат и 20 мкг креатинфосфокиназы (активность 120—160 ед/мг). При изучении регуляции активности гуанилатциклазы в инкубационную среду вносили по одному из следующих компонентов в указанных конечных концентрациях: ацетилхолин (10^{-7} — 10^{-5} М), гистамин (10^{-6} — 10^{-4} М), дитиотрейтол (10^{-2} М), азид натрия (10^{-2} М), нитропруссид натрия (10^{-4} М). Реакцию начинали добавлением фермента, останавливали нагреванием в кипящей водяной бане в течение 2 мин. После центрифугирования в 100 мкл надосадочной жидкости определяли содержание цГМФ. Прирост цГМФ оставался линейным в течение 15 мин. Представлены средние величины результатов 3—5 параллельных опытов.

Результаты и обсуждение

Данные табл. 1 показывают, что в ткани миокарда интактных кроликов обнаружено в среднем 7 пмоль цГМФ в 1 г ткани, тогда как при аллергическом миокардите уровень цГМФ возрастает примерно в 1,4 раза. В то же

время при аллергическом миокардите снижается (по сравнению с нормой) базальная активность гуанилатциклазы как в целом гомогенате, так и во фракциях, соответствующих мембраносвязанной и растворимой формам гуанилатциклазы. Активность гуанилатциклазы, как правило, всегда выше в присутствии ионов Mn^{2+} , чем Mg^{2+} . Из данных табл. 1 видно, кроме того, что активность растворимой формы гуанилатциклазы всегда выше, чем таковая мембраносвязанной формы фермента.

При исследовании регуляции активности гуанилатциклазы гормональными факторами в качестве последних были выбраны ацетилхолин и гистамин. Известно [20, 22], что цГМФ является вторичным мессенджером холинергических возбуждений. Использование же гистамина было обусловлено общепринятым фактом повышения его уровня в тканях при аллергических реакциях организма [2].

Как видно из рис. 1, ацетилхолин (в конечной концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ М) в присутствии Mn^{2+} активизирует гуанилатциклазу ткани миокарда нормальных кроликов в 2,3 раза в опытах с тканевыми гомогенатами. При АПС активация ацетилхолином (в диапазоне конечных концентраций 10^{-6} — 10^{-4} М) полностью отсутствует. Тот же характер изменений активности гуанилатциклазы наблюдается при добавлении в пробы гистамина (рис. 2). В ткани миокарда контрольных кроликов гистамин (в конечной концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ М) в присутствии Mn^{2+} активизирует гуанилатциклазу гомогенатов в 4 раза (рис. 2, а), мембраносвязанную форму в 1,6 раза (рис. 2, б). При АПС активация гуанилатциклазы гистамином (в диапазоне конечных концентраций 10^{-6} — 10^{-4} М) отсутствует как

Таблица 1

Содержание цГМФ и активность гуанилатциклазы сердца кролика в норме и при АПС

Вид опыта	Содержа- ние цГМФ, пмоль на 1 г ткани	Активность гуанилатциклазы, пмоль цГМФ на 1 мг белка в 1 мин						
		ион ме- талла	гомогенат		мембраносвязанный		растворимый	
			абсолют- ная ве- личина	степень снижения	абсолютная величина	степень снижения	абсолют- ная ве- личина	степень снижения
Контроль	6,8	Mn ²⁺	16,0		7,4		14,6	
		Mg ²⁺	3,8		1,2		11,2	
АПС	9,4	Mn ²⁺	4,5	3,5	2,1	3,1	4,0	3,6
		Mg ²⁺	2,0	1,9	0,4	3,0	3,1	3,6

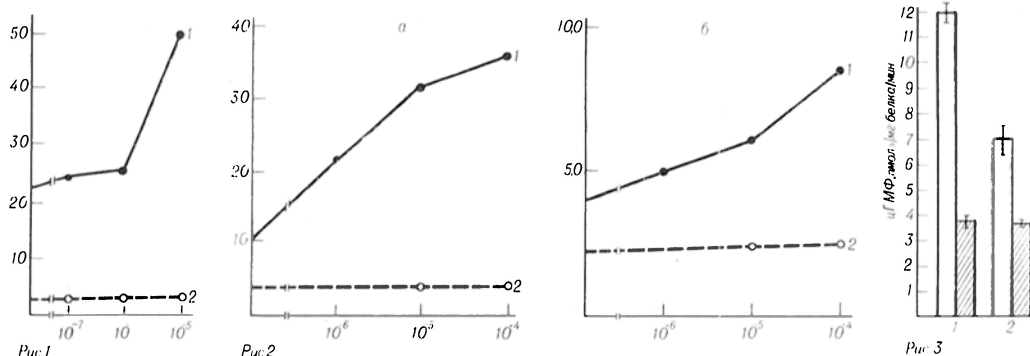


Рис. 1. Влияние ацетилхолина на активность гуанилатциклазы гомогената сердца кролика в норме (1) и при АПС (2).

Состав проб и условия опыта см. в тексте. Здесь и на рис. 2 по оси абсцисс — концентрация ацетилхолина (М), по оси ординат — количество образовавшегося циклического ГМФ (в нмоль на 1 мг белка в 1 мин).

Рис. 2. Влияние гистамина на активность гуанилатциклазы гомогената (а) и мембраносвязанной формы фермента (б) сердца кролика в норме (1) и при АПС (2).

Состав проб и условия опыта см. в тексте.

Рис. 3. Влияние ДТТ на активность гуанилатциклазы гомогената сердца кролика в норме (1) и при АПС (2).

Светлые столбики — активность гуанилатциклазы без ДТТ. Заштрихованные — в присутствии ДТТ ($1 \cdot 10^{-2}$ М).

в гомогенатах, так и в опытах с мембраносвязанной формой гуанилатциклазы. Замена иона Mn^{2+} на Mg^{2+} не привела к стимуляции. Следует отметить, что растворимая форма гуанилатциклазы не активируется гистамином ни в норме, ни при АПС (данные не представлены на рис. 2).

Результаты опытов по изучению влияния окислительно-восстановительных агентов на активность гуанилатциклазы представлены на рис. 3 и в табл. 2.

Как видно из рис. 3, дитиотрейтол (ДТТ) в конечной концентрации 10^{-2} М в присутствии Mn^{2+} снижает активность гуанилатциклазы гомогената ткани миокарда intactных кроликов в 3,4 раза, а при АПС — только в 1,9 раза.

Из табл. 2 следует, что азид натрия (10^{-2} М) активирует все использованные ферментные препараты гуанилат-

циклазы (гомогенат, мембраносвязанную и растворимую форму фермента) в норме и при АПС. Причем степень активации гуанилатциклазы гомогената и растворимой формы снижается при АПС по сравнению с нормой в 2 и 1,5 раза соответственно, тогда как степень активации мембраносвязанной формы азидом натрия практически не изменяется при АПС по сравнению с нормой (см. табл. 2). Активация фермента этим агентом в присутствии ионов Mg^{2+} выше, чем Mn^{2+} (см. табл. 2).

Аналогичные результаты были получены в опытах с нитропруссидом (см. табл. 2), в которых зависимость степени активации от природы использованного иона металла была выражена значительно резче.

Итак, при аллергическом повреждении сердца кролика выявлены значительные изменения в системе синтеза

Т а б л и ц а 2

Степень активации гуанилатциклазы сердца кролика азидом и нитропруссидом натрия в норме и при АПС

Вид опыта	Ион металла	Азид натрия, 10^{-2} М			Нитропруссид натрия, 10^{-4} М		
		гомогенат	мембраны	растворимость	гомогенат	мембраны	растворимость
Контроль	Mn^{2+}	2	1,5	1,6	>1,2	>1,3	>1,2
	Mg^{2+}	3,9	1,8	2,3	4,2	2,8	2,5
АПС	Mn^{2+}	1,2	—	—	Нет активации	Нет активации	Нет активации
	Mg^{2+}	2	2,5	1,7	2	2,8	1,5

цГМФ в ткани миокарда и ее регуляции.

Накопление в клетках цГМФ *in vivo*, вызванное гормональными факторами, основано на взаимодействии этих факторов с соответствующими рецепторами и последующей активации гуанилатциклазы. Этот факт не всегда воспроизводится *in vitro* [20, 22]. Предполагается, что промежуточным эффектором гормонов и нейромедиаторов являются ионы Ca^{2+} , концентрация которых контролирует активность гуанилатциклазы [2, 7, 20, 23]. Избыток гормональных факторов может вызвать десенситизацию рецепторов, что проявляется в отсутствие активации гуанилатциклазы этими факторами (по аналогии с десенситизацией аденилатциклазы) [20, 22].

В данной работе нам удалось обнаружить активацию гуанилатциклазы в условиях опытов *in vitro* гормональными факторами — ацетилхолином, гистамином в норме, что подтверждает предположение о существовании гормонорецепторных взаимодействий при активации фермента этими факторами. Потеря чувствительности гуанилатциклазы к ацетилхолину и гистамину при АПС (см. рис. 1 и 2) может быть обусловлена гормоннеспецифичной десенситизацией рецепторов (мускариновых к ацетилхолину и H_1 и H_2 -рецепторов к гистамину), что вызвано избытком гормональных факторов при изучаемой патологии. Нельзя исключить и недостаток ионов Ca^{2+} , наблюдаемого нами при аллергическом миокардите у кроликов [3].

Обнаруженное нами повышение уровня цГМФ в ткани миокарда при АПС в то же время сопровождается снижением базальной активности гуанилатциклазы при этой патологии (см. табл. 1). Одной из возможных причин этого факта, могло бы быть снижение интенсивности гидролиза цГМФ под действием фосфодиэстеразы. Такое предположение, действительно, подтверждается данными о снижении активности фосфодиэстеразы (на 20—30 %) в сердечной мышце кролика при АПС по сравнению с нормой [4].

Снижение же базальной активности гуанилатциклазы (см. табл. 1) по-видимому, может быть обусловлено следующим. Известно, что активность гуанилатциклазы *in vitro* регулируется

соединениями, образующимися в процессе окислительно-восстановительных реакций в организме [7, 18]. Такие оксиданты небелкового происхождения, как соединения, содержащие или образующие свободнорадикальную группу NO (азид натрия, различные нитросоединения — лекарственные препараты — релаксанты: нитропруссид, нитроглицерин и др.), некоторые канцерогены [9, 18], а также биологически активные соединения, такие как гидроперекиси жирных кислот, простагландинов и другие системы, генерирующие свободные радикалы [5, 12, 17], повышают активность гуанилатциклазы. На основании данных об этой активации и предотвращении ее антиоксидантами возникло представление об окислительно-восстановительном механизме регуляции гуанилатциклазы и было сделано заключение, что в процессах активации и дезактивации фермента принимают участие сульфгидрильные группы гуанилатциклазы [8], а также гем и катионы металлов с переменной валентностью — марганец и медь [7].

Известно, что максимальная активность фермента проявляется при определенной степени окисления сульфгидрильных групп и, наоборот, сниженная активность гуанилатциклазы — при их восстановлении [18]. Данные рис. 1 о влиянии ДТГ на активность фермента подтверждают это положение. ДТГ примерно в 3,5 раза снижает активность гуанилатциклазы в ткани сердечной мышцы нормальных кроликов. С другой стороны, выявлено повышение антиокислительной активности для поврежденных тканей в фазе репарации [1], в которой изучается данная патология. Можно допустить поэтому, что при АПС фермент уже находится в малоактивном восстановленном состоянии, и потому базальная активность его должна быть снижена, что и показали полученные нами данные (см. рис. 1).

Более того, можно было ожидать, что влияние ДТГ на активность гуанилатциклазы в сердечной мышце кролика при АПС будет менее выражено, чем в норме. Данные рис. 1 подтверждают и это положение.

Более высокая активность растворимой формы гуанилатциклазы по сравнению с мембраносвязанной в норме и при АПС (см. табл. 1), возможно,

обусловлена большей физиологической значимостью этой формы фермента. Не исключено также, что это предположение подтверждается тем, что именно эта форма в большей степени подвержена изменениям, чем мембранозная (см. табл. 2).

Что касается механизма активации гуанилатциклазы соединениями, содержащими или образующими группу NO (азид натрия, нитропруссид и др.), то в настоящее время он не выявлен. Имеющиеся в литературе объяснения этого факта весьма противоречивы. В последнее время получены данные, согласно которым стимуляция гуанилатциклазы упомянутыми выше соединениями, по-видимому, зависит от присутствия в препаратах фермента гема, являющегося простатической группой гуанилатциклазы, с которой непосредственно взаимодействуют эти соединения [7]. Связь этой группы с белком непрочна, легко нарушается, что приводит к частичной или полной потере ферментом гема и, следовательно, к возможному снижению или исчезновению наблюдавшейся до этого активации фермента [11].

Известно, что при миокардитах снижается рН среды в ткани сердечной мышцы [21], что может способствовать расщеплению связи между белком гуанилатциклазы и гемом. Возможно, что более слабая активация азидом и нитропруссидом гуанилатциклазы гомогениата и растворимой формы фермента в ткани миокарда при АПС по сравнению с нормой (см. табл. 2), связана с такой частичной потерей гема при изучаемой патологии.

Нарушение активации гуанилатциклазы окислительно-восстановительными агентами при аллергическом миокардите подтверждает гипотезу о том, что физиологическая роль цГМФ состоит в регуляции окислительно-восстановительных процессов в клетке.

Авторы приносят благодарность доктору биол. наук И. С. Севериной за проявленный интерес к работе и ценные замечания при обсуждении и оформлении работы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бурлакова Е. Б. — Успехи химии, 1975, т. 44, № 10, с. 1871—1886.
2. Гроздова М. Д., Северин С. Е. — В кн.:

Моделирование заболеваний. М., 1973, с. 203—222.

3. Гроздова М. Д., Григорович Ю. А., Зубовская А. М. и др. — Вopr. мед. химии, 1980, № 3, с. 415—421.
4. Мирошниченко В. П., Григорович Ю. А., Крюкова Г. В. — В кн.: Всесоюзный симпозиум по медицинской энзимологии. 4-й. Тезисы докладов. Алма-Ата, 1983, с. 176—177.
5. Соболев А. С., Тертов В. В., Рыбалкин С. Д. — Биохимия, 1982, т. 47, с. 1251—1261.
6. Arnold W. P. — Anesthesiology, 1981, vol. 55, p. 185.
7. Böhme E., Gerzer R., Grossmann G. et al. — Horm. Cell Regulat., 1983, vol. 7, p. 147—161.
8. Braughler J. M. — Biochem. Pharmacol., 1983, vol. 5, p. 811—818.
9. Braughler J. M., Gilloteaux J., Steggle A. W. — Cancer (Philad.), 1982, vol. 50, p. 78—84.
10. Garbers D. L., Murad F. — Advanc. Cyclic. Nucl. Res., 1979, vol. 10, p. 57—67.
11. Gerzer R., Böhme E., Hoffman F. — Advanc. Cyclic. Nucl. Res., 1981, vol. 14, p. 255—261.
12. Graff G., Stephenson J. H., Glass D. B. et al. — J. biol. Chem., 1978, vol. 253, p. 7662—7676.
13. Kabkin S. W., Ohmal M., Klass D. I. — Arch. int. Pharmacodyn., 1982, vol. 257, p. 225—238.
14. Kimura H., Murad F. — J. biol. Chem., 1974, vol. 249, p. 6910—6916.
15. Linden I., Brooker G. — Biochem. Pharmacol., 1979, vol. 28, p. 3351—3360.
16. Marayanan N., Johns A., Sulakhe P. V. — Arch. Biochem., 1981, vol. 211, p. 166—178.
17. Mittal C. K., Murad F. — Proc. nat. Acad. Sci. USA, 1977, vol. 74, p. 4360—4364.
18. Murad F., Arnold W. P., Mittal C. K. et al. — Advanc. Cyclic. Nucl. Res., 1979, vol. 11, p. 175—201.
19. Nichols I. R., Gonzalez N. C. — J. molec. cell. Cardiol., 1982, vol. 14, p. 181—183.
20. Opie H. L. — Cardiovasc. Res., 1982, vol. 16, p. 483—507.
21. Poole-Wilson P. A. — J. molec. cell. Cardiol., 1978, vol. 10, p. 511—593.
22. Richelson E., El-Fakahany E. — Biochem. Pharmacol., 1981, vol. 30, p. 2887—2891.
23. Takayanagi I., Hisayama T., Kotsugai T. — Jap. J. Pharmacol., 1981, vol. 31, p. 831—834.

Поступила 25.12.84

ACTIVITY OF GUANILATE CYCLASE IN RABBIT MYOCARDIUM IN NORMAL AND ALLERGIC STATES

V. P. Miroshnichenko, G. V. Kryukova,
A. M. Zubovskaya, I. L. Sharlova

Institute of Medical Enzymology, Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow

Activity of guanylate cyclase, regulation of the enzyme by means of hormones and other biologically active substances as well as level of cGMP were studied in rabbit myocardium of control animals and in animals with allergic impairment of the tissue. The enzyme was shown to exhibit no sensitivity to acetyl-

choline and histamine, which appears to occur as a result of the hormone-unspecific desensitization of the corresponding receptors in allergic impairment. Decreased basal activity of guanylate cyclase was accompanied by an increase in content of cGMP in myocardial tissue. This phenomenon was apparently also due to a decrease in phosphodiesterase activity, which is observed under the conditions of this

pathology. At the same time, the decrease in the basal activity of guanylate cyclase was caused by impairment in active restoration of the enzyme in the allergic tissue. A decrease in the enzyme activation by means of azide and nitroprusside appears to be due to loss of hem, prosthetic group of the cyclase. Physiological functions of guanylate cyclase are discussed.

УДК 616.155.392.8-07:616.155.3-008.931:577.152.321]-074

А. Л. Минакова, М. Е. Преображенская, Н. Д. Хорошко

КИСЛЫЕ ГЛИКОЗИДАЗЫ ЛЕЙКОЦИТОВ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ И ОСТРЫМИ МИЕЛОИДНЫМИ ЛЕЙКОЗАМИ

Институт биологической и медицинской химии АМН СССР, Центральный научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови, Москва

В настоящее время для диагностики лейкозов наряду с традиционными цитохимическими, иммунологическими и морфологическими методами все более широкое применение в клинике находят биохимические методы. Поиск биохимических маркеров той или иной формы лейкоза представляет значительный интерес как для более точной диагностики, так и для возможного прогнозирования клинического течения заболевания.

Изменение активности лизосомных гликозидаз лейкоцитов отмечали при разных формах лейкоза. При лимфолейкозах, как правило, наблюдали снижение активности кислых гликозидаз. Так, при всех исследованных формах лимфолейкоза обнаружено снижение активности кислой α -D-маниозидазы [6, 9, 11, 14]. Активность других гликозидаз изменялась по-разному в зависимости от типа лимфолейкоза. При хроническом лимфолейкозе (ХЛЛ) В-клеточного происхождения наблюдали значительное снижение активности N-ацетил- β -D-гексозаминидазы, β -D-глюкуронидазы и α -L-фукозидазы. При Т-клеточном ХЛЛ снижение активности этих ферментов было менее выражено [6]. Помимо изменения величины активности кислых гликозидаз, при некоторых формах лейкоза (особенно при лимфобластном лейкозе у детей), наблюдали изменения изоферментного спектра ряда гликозидаз, в частности N-ацетил- β -D-гексозаминидазы и α -D-маннозидазы [6, 7, 8, 10, 15].

В отличие от лимфоидных форм лейкозов при миелоидных формах наблюдали повышение активности кислых

гликозидаз [6, 14]. Однако это изменение было обнаружено лишь у отдельных больных, тогда как у других активность гликозидаз оставалась в пределах нормы [14]. Это позволяло предполагать, что активность указанных ферментов зависит от формы и стадии заболевания.

Мы проводили сравнительное определение активности следующих кислых гликозидаз: α -D-глюкозидазы (КФ 3.2.1.3), α -D-галактозидазы (КФ 3.2.1.22), β -D-глюкуронидазы (КФ 3.2.1.31), α -D-маннозидазы (КФ 3.2.1.24) и N-ацетил- β -D-гексозаминидазы (КФ 3.2.1.52) при хроническом миелолейкозе (ХМЛ) и остром миелобластном лейкозе (ОМЛ) на разных стадиях развития заболевания. Обнаружено, что у больных ХМЛ повышение активности гликозидаз лейкоцитов происходит в основном в хронической стадии заболевания и не наблюдается при бластном кризе. При ОМЛ повышения активности гликозидаз не отмечали.

Методика

Кровь брали у здоровых доноров и у больных лейкозом с использованием 6% ЭДТА в качестве антикоагулянта (2 мл ЭДТА на 10 мл крови). Лейкоциты выделяли с помощью декстрана Т-500 фирмы «Pharmacia Fine Chemicals». При определении активности гликозидаз использованы следующие гликопиранозиды: 4-метил-умбеллиферил- α -D-глюкопиранозид, 4-метил-умбеллиферил- α -D-галактопиранозид, 4-метил-умбеллиферил- α -D-маннопиранозид фирмы «Koch Light» (Англия), а также 4-метил-умбеллиферил- β -D-глюкуронид и 4-метил-умбеллиферил-N-ацетил- β -D-глюкозаминид фирмы «Serva» (ФРГ).

Лейкоциты выделяли осаждением декстрановой смесью, как описано ранее [4]. Полу-