

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fagerhol M. K., Cox D. W. The P_i polymorphism: genetic, biochemical and clinical aspects of human α_1 -antitrypsin // *Adv. Human Genet.*— 1981.— **11**, N 1.— P. 1—62.
2. *The α_1 -antitrypsin gene and its imitations. Clinical consequences and strategies for therapy* / R. G. Crystal, M. L. Brantly, R. C. Hubbard et al. // *Chest.*— 1989.— **95**, N 1.— P. 196—208.
3. Erickson S., Carlson J., Velez R. Risk of liver cirrhosis and primary liver cancer in α_1 -antitrypsin deficiency // *N. Engl. J. Med.*— 1986.— **314**, N 6.— P. 736—739.
4. *Prenatal diagnosis of α_1 -antitrypsin deficiency by direct analysis of the mutant site in the gene* / V. J. Kidd, M. S. Golbus, R. B. Wallace et al. // *Ibid.*— 1984.— **310**, N 5.— P. 5639—5642.
5. Cox D. W., Mansfield T. Prenatal diagnosis of α_1 -antitrypsin deficiency and estimates of fetal risk for disease // *J. Med. Genet.*— 1987.— **24**, N 1.— P. 52—59.
6. *Prenatal diagnosis of α_1 -antitrypsin deficiency using polymerase chain reaction (PCR). Comparison of conventional RFLP methods with PCR used in combination with allele specific oligonucleotides or RFLP analysis* / M. Schwartz, K. Bruun-Petersen, N. Gregersen et al. // *Clin. Genet.*— 1989.— **36**, N 3.— P. 419—426.
7. Gyllenstein U. B., Erlich H. A. Generation of single-stranded DNA by the polymerase chain reaction and its application to direct sequencing of the HLA-DQA locus // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*— 1988.— **85**, N 20.— P. 7652—7656.
8. *Analysis of point mutation in DNA. The amplification refractory mutation system (ARMS)* / C. R. Newton, A. Graham, L. E. Heptinstall et al. // *Nucl. Acids Res.*— 1989.— **17**, N 7.— P. 2503—2516.

НИИ эксперим. медицины АМН СССР, Ленинград
Ин-т генетики человека Польской Академии Наук, Познань

Получено 05.07.90

УДК 616-0.53.1:577.112:577.122.5

Л. В. Пучкова, И. А. Вербина, В. В. Денежкина,
В. С. Гайцхоки, С. А. Нейфах

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ДЕФЕКТ ВЫВЕДЕНИЯ МЕДИ ЧЕРЕЗ ЖЕЛЧЬ У БОЛЬНЫХ ГЕПАТОЛЕНТИКУЛЯРНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИЕЙ

Методами иммуноэлектрофореза проведен скрининг сывороток крови гомо- и гетерозиготных носителей мутации Вильсона. Показано, что наряду с нормальным церулоплазмином (ЦП) в сыворотке носителей вильсоновской мутации присутствует специфический для этой мутации ЦП-подобный белок (вильсоновский). Показано что у здоровых людей ЦП-подобный белок, идентичный вильсоновскому ЦП, участвует в выведении меди из организма через желчь. Обсуждаются механизмы дефекта выведения меди через желчь у больных гепатолентикулярной дегенерацией.

Введение. Гепатолентикулярная дегенерация (ГЛД), или болезнь Вильсона (БВ), представляет собой наследственное аутосомно-рецессивное моногенное заболевание, при котором происходит нарушение обмена меди, выражающееся в задержке выведения меди из организма и отложении ее в токсических количествах в жизненно важных органах [1].

Основными патогномическими признаками БВ являются снижение скорости выведения меди через желчь, увеличение содержания ее в моче и крови, образование в клетках различных органов электронплотных гранул, содержащих медь. При этом содержание меди в гепатоцитах увеличивается в 30—50 раз до развития клинической картины заболевания.

Главными клиническими признаками ГЛД являются цирроз печени и дегенерация подкорковых ядер мозга, что является следствием токсического действия меди [2].

Специфической биохимической манифестацией заболевания является наследственный дефицит медьсодержащего гликопротеина сыворотки крови — церулоплазмينا (ЦП), что позволило сформулировать предположение о локализации молекулярного дефекта БВ в гене ЦП

© Л. В. ПУЧКОВА, И. А. ВЕРБИНА, В. В. ДЕНЕЖКИНА, В. С. ГАЙЦХОКИ, С. А. НЕЙФАХ, 1991

[3, 4]. Однако анализ сцепления вильсоновского гена с маркерными белками и ДНК в больших семьях, пещущих эту мутацию, показал, что бВ сцеплена с хромосомой 13 [5, 6], тогда как ген ЦП, по данным соматической гибридизации, находится на хромосоме 3 [7]. В то же время при бВ наблюдается снижение содержания ЦП-мРНК в печени [8], связанное с нарушением экспрессии гена ЦП на уровне транскрипции [9]. При этом в структуре ЦП, выделенного из сыворотки больных бВ, изменений не обнаружено [10].

Приведенные данные позволяют отнести бВ к наследственным болезням с «плюс»-формой дефицита белка, в данном случае ЦП, и предположить, что вильсоновская мутация локализована вне гена ЦП и затрагивает ген, осуществляющий регуляцию экспрессии гена ЦП [11].

С другой стороны, сопоставление содержания ЦП в сыворотке больных ГЛД, членов их семей (облигатных гетерозигот и здоровых людей), определенного иммунологическим методом, с величиной содержания ЦП, по данным оксидазной активности, показало, что в сыворотке носителей вильсоновского гена может присутствовать ЦП, не обладающий оксидазной активностью [12], т. е. мутантный ЦП, специфический для бВ. Идентификация, выделение и изучение свойств этого белка может привести к пониманию молекулярного дефекта бВ.

Материалы и методы. В работе использованы образцы сыворотки крови больных, находившихся на обследовании в Неврологическом отделении клиники НИИЭМ АМН СССР; биоптат печени, полученный при операции по поводу невилсоновского цирроза печени; желчь из желчных протоков, катетеризированных после удаления желчного пузыря в связи с желчно-каменной болезнью; коммерческий препарат ЦП, изготовленный Институтом эпидемиологии и микробиологии МЗ РСФСР им. Л. Пастера.

Двухмерный иммуноэлектрофорез, выделение вильсоновского ЦП, получение моноспецифических антител к нему описаны в нашей предыдущей работе [13].

Электрофорез в ПААГ в денатурирующих условиях проводили по методу [14].

Перенос белков после электрофореза на нитроцеллюлозную пленку (GSWP, «Millipore», США) осуществляли полусухим способом [15]. В качестве жидкой фазы при иммуноблоттинге использовали смесь двух частей обезжиренного молока с одной частью 0,15 М раствора NaCl, содержащего 10 мМ калий-фосфатного буфера, pH 7,4. Иммуновый комплекс идентифицировали с помощью [¹²⁵I] белка А, иодированного химическим способом в присутствии хлорамина Т.

Фракцию мембран гепатоцитов получали по методу [16].

Результаты и обсуждение. Иммуноэлектрофоретический анализ молекулярных форм ЦП в сыворотке носителей вильсоновского гена. В связи с изложенными выше соображениями нам представлялся перспективным иммунологический скрининг сывороток носителей вильсоновского гена с целью выявления молекулярных форм ЦП с неполной иммунологической идентичностью по отношению к ЦП.

Из широкого набора иммунологических методов анализа как наиболее чувствительный был выбран метод двухмерного перекрестного иммуноэлектрофореза [17].

Иммунологическому скринингу были подвергнуты сыворотки 83 пациентов обоего пола в возрасте от 8 до 67 лет из разных регионов СССР, находящихся под наблюдением в клинике НИИЭМ АМН СССР. Обследуемые составили две группы. В первую группу вошли 48 больных с диагнозом ГЛД, точно установленным на основании клинической симптоматики и согласующихся с ней результатов биохимического и офтальмологического обследования, а также 13 членов их семей — облигатных гетерозигот. Таким образом, эту группу составили носители вильсоновского гена. Вторую, контрольную, группу составили 5 больных

с атопической бронхиальной астмой, характеризующейся незначительным, но устойчивым наследственным снижением содержания ЦП в сыворотке крови [18], 9 человек с хроническими заболеваниями нервной системы и 8 больных с хроническим гепатитом не наследственной этиологии. То есть вторую группу составили больные с клинической симптоматикой, напоминающей бВ, но не несущие вильсоновской мутации. В

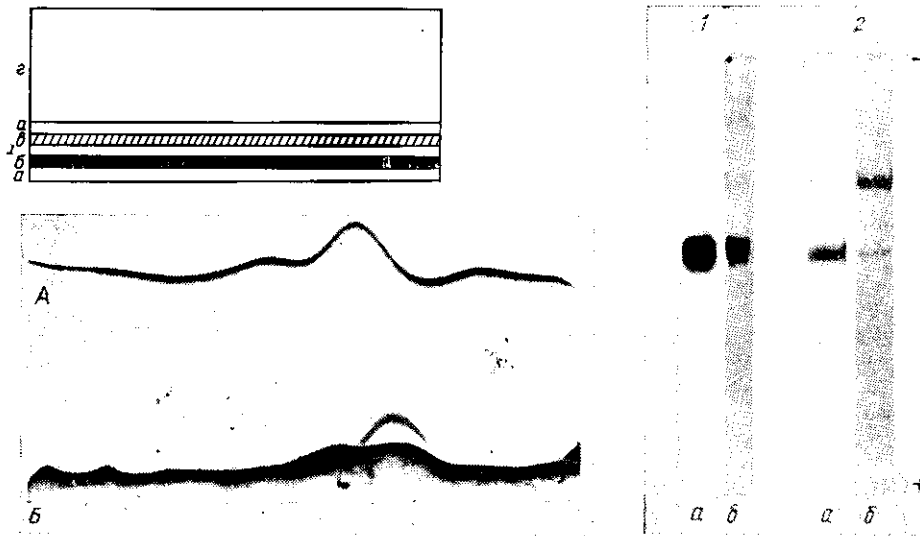


Рис. 1. Обнаружение ЦП-подобного белка в сыворотке носителей вильсоновского гена методом двухмерного перекрестного иммуноэлектрофореза. Вверху — схема распределения агарозных слоев на иммуноэлектрофореграмме: *a* — 1 %-ный гель, разделяющий зоны; *b* — 1,5 %-ный агарозный гель с предварительно разделенным электрофорезом образцом сыворотки; *c* — 1 %-ный агарозный гель, содержащий 255 мкл донорской сыворотки в 1 мл агарозного раствора; *g* — 1 %-ный агарозный гель, содержащий 0,04 мг/мл фракции IgG из сыворотки кроликов, иммунизированных нормальным ЦП. *A* — типичная иммуноэлектрофореграмма донорской сыворотки; *B* — то же, сыворотка больного бВ

Рис. 2. Электрофорез препарата ЦП, выделенного из сыворотки донора (1) и больного ГЛД (2): *a* — окрашено орто-дианизидином; *b* — окраска белка

качестве сыворотки «здорового донора» использовали смесь 70 образцов донорской сыворотки, полученных на Ленинградской станции переливания крови № 1.

На рис. 1, *A*, представлена типичная иммуноэлектрофореграмма сыворотки обследуемого из контрольной группы, в данном случае сыворотки больного с диагнозом болезни Паркинсона. Видно, что в сыворотке пациента присутствует одна молекулярная форма ЦП, идентичная ЦП сыворотки здоровых людей. Аналогичные иммунограммы получены при обследовании всех пациентов, входивших в контрольную группу. Различия между иммунограммами выражались только в высоте пиков, что отражает индивидуальные колебания концентрации ЦП в периферической крови.

На иммунограммах, полученных при скрининге сывороток носителей вильсоновского гена, над общим фронтом преципитации обнаруживается дополнительный пик иммунопреципитации, не окрашивающийся орто-дианизидином, специфическим хромогенным субстратом для ЦП (рис. 1, *B*). В пределах группы обследованных носителей вильсоновского гена нами не обнаружены качественные различия иммуноэлектрофореграмм, что позволило сделать заключение о присутствии в сыворотке носителей вильсоновской мутации наряду с нормальным ЦП специфической молекулярной формы ЦП. Вильсоновский ЦП иммунологически не идентичен ЦП, отличается от него по электрофоретической подвижности и ферментативным свойствам.

Выделение и анализ вильсоновского ЦП. Выделение электрофоретически чистого препарата ЦП из сыворотки донорской крови методом аффинной хроматографии, разработанным в нашей лаборатории [13], осуществляется в один этап (рис. 2, а). Препарат ЦП, полученный тем же методом из сыворотки больного ГЛД, наряду с нормальным ЦП содержит ЦП-подобный белок, не обладающий оксидазной активностью (рис. 2, б). Идентичность этого белка и белка, образующего дополнительную зону преципитации при двухмерном перекрестном иммуноэлектрофорезе сыворотки больного ГЛД (см. рис. 1, б), была продемонстрирована при сравнении иммунограмм, представленных на рис. 3. Видно, что полученный препарат ЦП и сыворотка больного, из которой был получен этот препарат, содержат одинаковый набор молекулярных форм ЦП.

Вильсоновский ЦП выделен в чистом виде при дополнительной электрофоретической очистке. К нему получены антитела, перекрестно

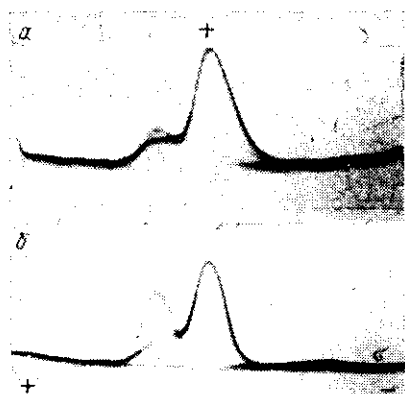
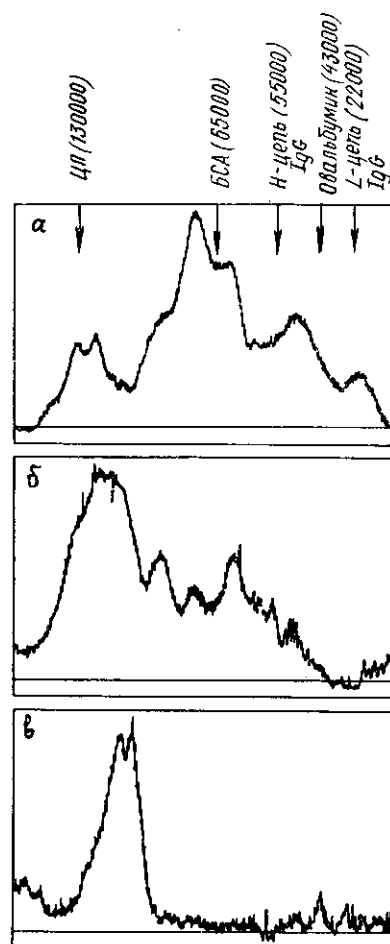


Рис. 3. Двухмерный перекрестный иммуноэлектрофорез сыворотки больного ГЛД (а) и препарата ЦП, выделенного из этой сыворотки аффинным способом (б)

Рис. 4. Денситометрический анализ иммуноблоттинга пептидов ЦП-подобного белка. 45 мкг белка обработаны трипсином в соотношении 165 : 11 в течение 30 мин при 37 °С. Затем образцы разделены электрофорезом в 10 %-ном ПААГ с 0,1 %-ным DS-Na в трех параллельных дорожках, перенесены на нитроцеллюлозный фильтр и выявлены иммуореактивные полипептиды с помощью антител к ЦП (а), к ЦП-подобному белку (б) и моноспецифических антител к ЦП-подобному белку (в). В качестве белков-маркеров использовали: ЦП человека (130 000), бычий сывороточный альбумин (65 000), птичий овалбумин (43 000), тяжелую и легкую цепи IgG (55 000 и 22 000 соответственно)



взаимодействующие также и с нормальным ЦП. Моноспецифические антитела к вильсоновскому ЦП были получены после истощения анти-сывороток на сорбенте с ковалентно связанным нормальным ЦП [13].

В дальнейшем для идентификации специфической антигенной детерминанты в вильсоновском ЦП использовали антитела к оксидазному ЦП, вильсоновскому ЦП, а также моноспецифические антитела к последнему.

Электрофоретически чистый препарат вильсоновского ЦП был подвергнут мягкой протеолитической обработке трипсином в присутствии ингибитора химотрипсина. Затем аликвоты белка в трех пара-

лельных дорожках были разделены электрофорезом в 10 %-ном ПААГ с 0,1 %-ным DS-Na и перенесены на нитроцеллюлозные фильтры. Иммунореактивные полипептиды идентифицировали с помощью техники иммуноблоттинга с использованием перечисленных выше трех типов антител. Результаты, представленные на рис. 4, показывают, что антитела к оксидазному ЦП не выявляют полипептида с молекулярной массой (м. м.) 80 000, с которым преимущественно взаимодействуют нестойкие антитела к вильсоновскому ЦП. За этим исключением оба типа антител взаимодействуют с одними и теми же полипептидами. Моноспецифические антитела к вильсоновскому ЦП взаимодействуют

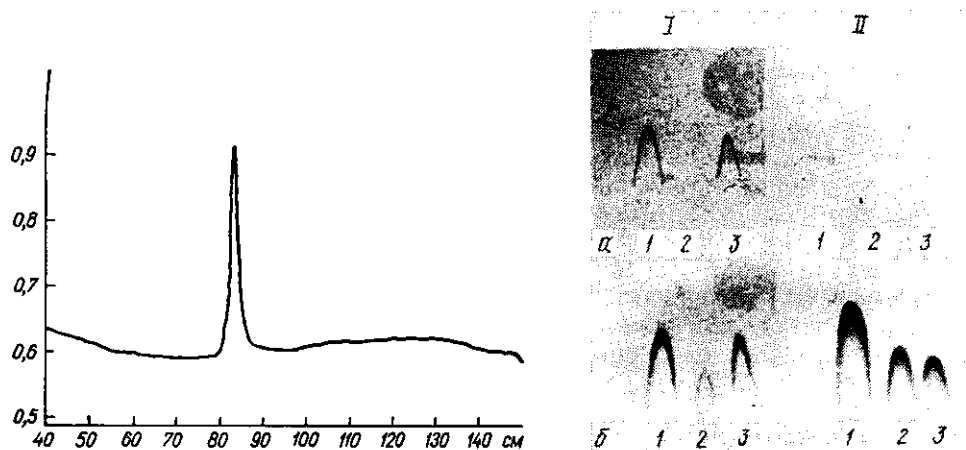


Рис. 5. Иммуноблоттинг белков внутриклеточных мембран из печени здорового человека с моноспецифическими антителами к вильсоновскому ЦП. 200 мкг белка мембран фракционировали в 7,5 %-ном ПААГ с 0,1 %-ным DS-Na. По оси абсцисс: длина геля; по оси ординат: денситометрический профиль радиоавтографа

Рис. 6. Ракетный иммуноэлектрофорез препарата ЦП больного ГЛД (1), вильсоновского ЦП (2) и желчи (3) против антител к нормальному ЦП (1) и к вильсоновскому ЦП (11): а — окрашено орто-дианизидином; б — окраска белка

только с фрагментом размером 80 000. Известно, что в наборе протеолитических фрагментов ЦП нет полипептида с м. м. 80 000 [19].

Таким образом, в сыворотке носителей вильсоновского гена наряду с неизмененным оксидазным ЦП, содержание которого снижено, присутствует специфическая молекулярная форма ЦП, отличающаяся по первичной структуре от нормального ЦП.

В отдельной серии опытов по изучению биосинтеза ЦП у экспериментальных животных мы показали, что в печени крыс, кроме ЦП, секретируемого в кровоток, синтезируется также изоформа ЦП, остающаяся связанной с эндоплазматическими мембранами и не секретируемая в кровяное русло [20]. Обе изоформы ЦП образуются в результате посттрансляционной модификации из одинаковых по молекулярной массе пребелков [21]. Эти данные, а также полученные нами ранее сведения о нарушении созревания ЦП у больных ГЛД [22—24] и результаты других авторов о блоке секреции ЦП при бВ [25] позволили нам предположить, что вильсоновский ЦП является не мутантной сывороточным ЦП, а мутантной формой несекретируемого в кровоток ЦП.

Это предположение подтвердилось данными опыта, в котором с помощью моноспецифических антител к вильсоновскому ЦП было обнаружено присутствие специфического для вильсоновского ЦП 80 000-фрагмента в мембранах гепатоцитов здорового человека. В этом эксперименте фракцию мембран гепатоцитов, выделенных из операционного биоптата печени, подвергли электрофорезу в 7,5 %-ном ПААГ с 0,1 %-ным DS-Na. После переноса разделенных полипептидов среди них методом иммуноблоттинга с моноспецифическими антителами был обна-

ружен полипептид размером 80 000 — специфический компонент вильсоновского ЦП (рис. 5).

Физиологическая роль несекреторной изоформы ЦП. Приведенные выше данные показывают, что в печени человека, кроме ЦП, секретируемого в кровь, синтезируется также мембрано-связанная изоформа ЦП. Более 30 лет назад высказано предположение о существовании внутриклеточного ЦП-подобного белка, осуществляющего медьтранспортную функцию в клетке [26]. А в недавней работе [27] было показано, что медь выводится из организма через желчь в комплексе с ЦП, который не обнаруживается в желчи больных ГЛД. Фракция ЦП желчи здорового человека гетерогенна и, по мнению авторов, содержит наряду с ЦП, иммунологически идентичным сывороточному ЦП, также фрагменты этого ЦП, проявляющие лишь частичное иммунологическое сродство.

Наше предположение состояло в том, что обнаруженный внутриклеточный ЦП участвует в выведении меди из организма через желчь и идентичен ЦП-подобному белку, описанному авторами [27]. Это предположение было проверено в опытах, где методом ракетного иммуноэлектрофореза с использованием антител к оксидазному ЦП и моноспецифических антител к вильсоновскому ЦП были сравнены антигенные свойства препарата ЦП из сыворотки больного, высокоочищенного вильсоновского ЦП и ЦП желчи. Результаты представлены на рис. 6. Видно, что желчь, как и препарат ЦП из сыворотки больного, содержит две молекулярные формы ЦП, одна из которых взаимодействует с антителами к оксидазному ЦП и окисляет орто-дианизидин, а другая взаимодействует с моноспецифическими антителами к вильсоновскому ЦП и не обладает оксидазной активностью.

Эти, а также приведенные выше данные по обнаружению внутриклеточного ЦП, доказывающие структурное и функциональное сходство этих белков, позволяют считать, что ЦП-подобный белок желчи, вильсоновский ЦП и внутриклеточный ЦП идентичны друг другу.

Таким образом, с большой долей вероятности можно предположить, что физиологическая функция внутриклеточного ЦП состоит в выведении меди из организма через желчь, а при вильсоновской мутации происходит нарушение направления секреции специфической изоформы ЦП.

Детальный молекулярный механизм вильсоновской мутации может быть, следовательно, выявлен только после получения сравнительных данных о первичной структуре вильсоновского ЦП из сыворотки больных ГЛД и ЦП-подобного белка из желчи здорового человека, а также из сравнения структуры генов, кодирующих эти белки.

Резюме

Методами иммуноэлектрофорезу проведено скринінг зразків сироватки крові гомо- та гетерозіготних носіїв мутації Вільсона. Показано, що поряд з нормальним церулоплазміном (ЦП) у сироватці носіїв вільсонівської мутації присутній специфічний для цієї мутації ЦП-подібний білок (вільсонівський). У здорових людей ідентичний вільсонівському ЦП-подібний білок бере участь у виведенні міді з організму через жовч. Обговорюються механізми дефекту цього процесу у хворих хворобою Вільсона.

Summary

The screening of the samples of blood serum of homo- and heterozygotes with Wilson's disease gene was using immunoelectrophoretic methods. It was shown that patients with Wilsonian gene alongside with normal ceruloplasmin contain in serum ceruloplasmin-like protein too. The same protein was involved into the process of liver cooper secretion in normal subjects. The molecular defect of biliary excretion of copper in patients with Wilson's disease is discussed.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Owen C. A. Wilson's disease: the etiology, clinical aspects and treatment of inherited copper to toxicosis.— New York: Acad. press, 1981.— 682 p.
2. Лекарь П. Г., Макарова В. А. Гепатоцеребральная дистрофия. — Л.: Медицина, 1984.— 204 с.
3. Sternlieb J., Van den aHmer, Morrell A. G. Lysosomal defect of hepatic copper excretion of Wilson's disease (hepatolenticular degeneration) // Gastroenterology.— 1973.— 64, N 1.— P. 99—105.
4. Neifakh S. A., Vassiletz J. M., Shavlovski M. M. Molecular pathology of ceruloplasmin // Biochem. Genet.— 1972.— 6, N 2.— P. 231—238.
5. Assignment of the gene of Wilson disease to chromosome 13: linkage to the esterase D locus / M. Frydman, B. Bonne-Tamir, L. A. Farrer et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1985.— 82, N 7.— P. 1819—1821.
6. Carrier detection and early diagnosis of Wilson's disease by restriction fragment length polymorphism analysis / A. Ficus, R. Lampis, M. Devoto et al. // J. Med. Genet.— 1989.— 26, N 1.— P. 78—82.
7. Characterization, mapping and expression of the human ceruloplasmin gene / F. Yang, S. L. Naylor, J. B. Lum et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1986.— 83, N 11.— P. 3257—3261.
8. Молекулярная структура гена церулоплазмينا человека и его экспрессия при мутации Вильсона / Коновалова / Л. Л. Шварцман, В. Г. Вахарловский, В. С. Гайцхоки, С. А. Нейфах // Докл. АН СССР.— 1981.— 3, № 3.— С. 717—720.
9. Molecular studies of ceruloplasmin (deficiency in Wilson's disease) // M. J. Czaja, F. R. Weiner, S. J. Schwarzenberg et al. // J. Clin. Invest.— 1987.— 66, N 7.— P. 1200—1205.
10. Нейфах С. А., Шавловский М. М. Генетически обусловленные нарушения обмена меди при гепатолентикулярной дегенерации // Прогресс в мед. генетике. М.: Медицина, 1978.— С. 106—150.
11. Гайцхоки В. С. Молекулярная гетерогенность наследственных болезней человека и проблемы генной терапии // Биополимеры и клетка.— 1990.— 6, № 1.— С. 31—46.
12. Reduced oxidase activity in the ceruloplasmin of two families with Wilson's disease / G. L. Gollon, G. Stocks, T. L. Dormandy, S. Sherlock // J. Clin. Pathol.— 1977.— 30, N 1.— P. 81—83.
13. Опыт выявления гетерозигот по мутации Вильсона — Коновалова на основе исследования молекулярных форм церулоплазмينا / Л. В. Пучкова, И. А. Вербина, В. Г. Вахарловский и др. // Журн. невропатологии и психиатрии.— 1989.— 89, № 12.— С. 14—18.
14. Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature.— 1970.— 227, N 5259.— P. 680—685.
15. Improved technique utilizing nonfat dry milk for analysis of proteins and nucleic acids transferred to nitrocellulose / D. A. Johnson, J. W. Gautsch, J. R. Sportsman, J. H. Elder // Gene Anal. Techn.— 1984.— 1, N 1.— P. 3—8.
16. Fleischer B., Fleischer S. Glucosidase activity of bovine liver plasma membranes // Biochim. et biophys. acta.— 1969.— 183, N 2.— P. 265—275.
17. A manual of quantitative immunoelectrophoresis / Eds N. H. Axelsen, J. Kroll, B. Weeke.— Oslo; Berger; Tromso: Univ. Storalet, 1973.— 216 p.
18. Снижение уровня церулоплазмينا в сыворотке крови — показатель атопии при бронхиальной астме / С. С. Жихарев, Т. Ф. Субботина, М. А. Петрова и др. // Терапевт. архив.— 1984.— 56, № 3.— С. 23—26.
19. Нейфах С. А., Васильев В. Б., Шавловский М. М. Структура, каталитические свойства и эволюция церулоплазмينا и других голубых белков // Успехи биол. химии.— 1988.— 28.— С. 102—124.
20. Экспрессия гена церулоплазмينا в различных органах крысы / В. С. Гайцхоки, О. В. Воронина, В. В. Денежкина и др. // Биохимия.— 1990.— 55, № 5.— С. 927.
21. Биосинтез церулоплазмينا в различных органах крысы / Л. В. Пучкова, В. В. Денежкина, Е. Т. Захарова и др. // Там же.— № 10.— С. 1798—1809.
22. Внутриклеточные белки — предшественники церулоплазмينا / С. А. Нейфах, Т. Д. Алейникова, В. С. Гайцхоки и др. // Докл. АН СССР.— 1979.— 244, № 1.— С. 238—240.
23. Молекулярный дефект синтеза и созревания церулоплазмينا при болезни Вильсона — Коновалова / Л. В. Пучкова, В. Г. Вахарловский, В. С. Гайцхоки и др. // Генетика.— 1982.— 18, № 5.— С. 703—712.
24. Intracellular stages in biosynthesis and maturation of ceruloplasmin / L. V. Puchkova, V. S. Gaitskhoki, V. M. L'vov et al. // Macromolecular in the functioning cell / Ed. A. A. Bayev.— Moscow: Nauka, 1982.— Pt 2.— P. 209—227.
25. Immunocytochemical identification of ceruloplasmin in hepatocytes of patients with Wilson's disease / R. S. Graul, O. Epstein, S. Sherlock, P. J. Scheuer // Liver.— 1982.— 2, N 2.— P. 207—211.
26. Deure C. J., Stone M. J., Frenkel E. P. Trace metals in hematopoiesis // Amer. J. Hematol.— 1981.— 11, N 2.— P. 309—331.
27. Studies of cholecystokinin-stimulated biliary secretions reveal a high molecular weight copper-binding substance in normal subjects that is absent in patients with Wilson's disease / V. Iyengar, G. I. Brewer, R. D. Dick, C. Owyang // J. Lab. Clin. Med.— 1988.— 111, N 3.— P. 267—274.

НИИ эксперим. медицины АМН СССР, Ленинград

Получено 05.07.90