

ERAL BLOOD
RATS OF DIFFERENT SEX

rotovarova

letz Institute of Physiology,
SSR, Kiev

oxicorticosteroids (corticosterone)
ntact, castrated, adrenalectomized
at different time after adrenal

corticosterone content in peripheral
ales. In castrated rats (females
in intact animals.

corticosterone content in peripheral
adrenalectomy, but it does not
crease in the corticosterone level
nal extirpation. On the tenth—
terably increases, however being
ed rats (males and females) on
ase in the corticosterone content
erved than in animals who were
articipation of sex hormones in

612.822.1

АКТИВНІСТЬ АСПАРТАТ- І АЛАНІНТРАНСАМІНАЗ
ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПІСЛЯ ВИДАЛЕННЯ НАДНИРКОВИХ
ЗАЛОЗ І КАСТРАЦІЇ

Р. І. Хільчевська

Відділ патології нейрогуморальних регуляцій Інституту фізіології
ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ

Сьогодні вважають встановленим, що перерозподіл азоту в організмі, біосинтез сечовини і процеси утворення і розпаду амінокислот регулюються реакціями переамінування [1].

Процес переамінування практично протікає в усіх органах ссавців, але в ряді праць [1, 2, 14] показана переважна роль механізму трансдезамінування в дисиміляції азоту, аланіну, аспартату та інших амінокислот у печінці.

Саме печінка, як орган, де здійснюється основна частина біохімічних процесів, що підтримують гомеостаз організму, є основним об'єктом вивчення регулюючої дії стероїдних гормонів на клітинний метаболізм [3, 4].

У наше завдання входило визначення змін рівня активності аспартаттрансамінази (АСТ, КФ 2.6.1.1.) і аланінтрансамінази (АЛТ, КФ 2.6. 1.2) печінки щурів в умовах адrenaлектomії, кастрації та спільного видалення надниркових і статевих залоз.

Методика досліджень

Досліди проведені на 188 білих щурах-самцях вагою 100—150 г. Двобічна адrenaлектomія здійснювалась одномоментно. Піддослідних тварин поділили на п'ять груп: інтактні (контроль); адrenaлектomовані (на 3, 5, 10, 15, 20 і 30-й день після операції); адrenaлектomовані, яким для пиття давали 1%-ний розчин NaCl (на 5, 10, 15-й день); кастровані (на 3, 10, 15 і 30-й день після видалення гонад); адrenaлектomовані на фоні кастрації, проведеної за сім—десять днів до видалення надниркових залоз (на третій, десятій і 15-й день).

Активність АСТ і АЛТ гомогенату печінки визначали методом Рейтмана і Френкеля [16]. Тканину печінки гомогенізували на холоду у фосфатному буфері (рН 7,4), білки печінки екстрагували протягом 15 хв при 0—4°С, центрифугували протягом 10 хв при 6000 об/хв. Розведення 1:100. Розрахунок вели в мікромолях виділеного пірувату натрію на 1 г білка гомогенату. Білок визначали за методом Лоурі [13]. Одержані дані оброблені методом варіаційної статистики за Стьюдентом.

Застосований нами метод одержання гомогенату печінки дозволяє більшою мірою судити про зміни активності цитоплазматичних АСТ і АЛТ, які беруть особливо активну участь у процесах глюконеогенезу [11, 12].

Результати досліджень

У таблиці наведені результати досліджень, з яких видно, що у групі адrenaлектomованих (АЕ) щурів, яких утримували на звичайній дієті, починаючи з 15-го дня, відзначається достовірне зниження актив-

ності АСТ (до 30% щодо контролю на 30-й день досліджу). Активність АЛТ, рівень якої у інтактних щурів вищий, ніж АСТ, більшою мірою чутлива до видалення надниркових залоз. У АЕ щурів достовірне зниження її активності відзначається з перших строків дослідження (на третій день активність знижується на 33,5%), з дальшим зниженням активності АЛТ в міру розвитку надниркової недостатності до 23,2% від цього ж показника у інтактних тварин (30-й день).

Активність трансаміназ печінки щурів при різного роду недостатності стероїдних гормонів

Стан тварини	Строки досліджень у днів	АСТ в мкмоль/л виділеного піривату натрію на 1 г білка гомогенату			АЛТ в мкмоль/л виділеного піривату натрію на 1 г білка гомогенату		
		M	±m	p ¹	M	±m	p ¹
Норма		301,6	30,1	14	1006,2	36,5	19
Адреналектомія	3	281,4	12,8	0,5	679,6	24,2	0,001
	5	320,9	28,4	0,5	478,9	38,5	0,001
	10	200,2	19,4	0,01	450,5	43,1	0,001
	15	114,1	7,4	0,001	405,4	44,6	0,001
	20	87,4	10,8	0,001	291,3	27,4	0,001
Адреналектомія на фоні кастрації	30	92,9	10,9	0,001	234,4	22,9	0,001
	3	234,7	39,2	0,1	616,8	15,4	0,001
	10	161,9	12,9	0,001	191,2	16,1	0,001
	15	91,5	2,6	0,001	261,0	18,3	0,001
	3	603,3	40,7	0,001	1538,3	50,1	0,001
Кастрація	10	936,3	61,3	0,001	1495,6	85,1	0,001
	15	944,0	76,4	0,001	1500,4	68,7	0,5
	30	312,6	17,5	0,05	1191,6	54,7	0,001
		441,5	56,9	8	1523,5	56,2	9
Норма ²	5	1048,9	24,3	0,001	1478,7	116,2	0,5
Адреналектомія + 1%-ний розчин NaCl для пиття	10	920,0	72,8	0,001	1457,2	68,4	0,5
	15	1007,1	61,4	0,001	1224,9	82,3	0,01
Норма ³		585,4	36,2	10	1593,7	90,7	15

1) Достовірними вважаються зміни при $p \leq 0,001$.

2) Контроль до 15-го і 30-го дня серії кастрованих щурів.

3) Контроль до серії адреналектомованих щурів, яким давали для пиття 1%-ний розчин NaCl.

Ще значніші зміни у більш ранні строки спостерігаються при спільному видаленні статевих і надниркових залоз. Активність АСТ знижується вже до десятого дня досліджу на 46,8%, до 15-го дня на 69,7%. До 20-го і 30-го дня такі тварини не доживають. Активність АЛТ щурів цієї групи на десятій день у 2,5 раза нижча, ніж у тварин, які зазнали тільки адреналектомії у ці самі строки.

Кастровані щури характеризуються високим рівнем активності АСТ: вдвоє вище, ніж у інтактних на третій день і втричі вище на десятій і 15-й день з дальшою нормалізацією активності АСТ до 30-го дня

досліджу. Активність АЛТ, до 30-го дня досліджу.

Особливий інтерес становлять для пиття 1% таких тварин у всі строки досліджу щурів, активність

Обговорення

Як видно з таблиці, однозначно як при адреналектомії на фоні кастрації, так і при кастрації на фоні адреналектомії активність АСТ у АЕ щурів на 30-й день досліджу щурів якось «пом'якшує» у цих тварин. Це припу [5], яка показала, що розщеплення залоз має істотне значення в віком, зокрема глюкокортикоїдів печінки.

Підвищення активності АСТ можна віднести за рахунок кастрації. Так, на несправжню вишене виділення 17-ОН прогестерону їх рівня нормалізацію.

Високий рівень активності АСТ кастрації може бути результатом розщеплення залоз, стимульованою розумінні розглядають статеву залозу [6]. Активність АСТ, але, очевидно, білків.

У АЕ щурів, які кастрували, активність АСТ печінки у нормі, активність АСТ у результаті, одержані від щурів, які одержали кастрацію, враження, що коли йтиме видалення надниркових залоз Na^+ і K^+ . На користь цього свідчать коливань її у певних строках вою регуляції активності АСТ [10, 17]. Вводячи щурів у кастрацію, автори домоглися знизити до двох разів активність АСТ тварин, а також до двох разів активність АЛТ, глутаміну, глутаміну повернення до норми лізувався.

Не виключені й інші фактори, що впливають на активність трансаміназ енергетичних процесів, проникність їх сублімура [7], після видалення залоз зниження активності АСТ. Максимальне

день досліду). Активність АСТ, більшою мірою АЕ щурів достовірно зни- строків дослідження (на %), з дальшим зниженням до 23,2% 30-й день).

ного роду недостатності

	АЛТ в мкмоль/х виділеного пірватату натрію на 1 г білка гомогенату			p ¹
	M	±m		
4	1006,2	36,5		19
10	679,6	24,2	0,001	10
15	478,9	38,5	0,001	15
14	450,5	43,1	0,001	15
9	405,4	44,6	0,001	9
8	291,3	27,4	0,001	10
9	234,4	22,9	0,001	9
8	616,8	15,4	0,001	8
5	191,2	16,1	0,001	5
10	261,0	18,3	0,001	10
9	1538,3	50,1	0,001	10
9	1495,6	85,1	0,001	10
6	1500,4	68,7	0,5	6
14	1191,6	54,7	0,001	15
8	1523,5	56,2		9
10	1478,7	116,2	0,5	10
10	1457,2	68,4	0,5	10
10	1224,9	82,3	0,01	10
10	1593,7	90,7		15

1. аних щурів.
в, яким давали для пиття 1%-ний

роки спостерігаються при их залоз. Активність АСТ на 46,8%, до 15-го дня на не доживають. Активність 5 разів нижча, ніж у тварин, ті строки.

високим рівнем активності й день і втричі вище на десяти- активності АСТ до 30-го дня

досліду. Активність АЛТ, достовірно підвищуючись на третій і десятій день, до 30-го дня досліду навіть нижче норми.

Особливий інтерес становлять результати, одержані на АЕ щурах, яким давали для пиття 1%-ний розчин NaCl. Активність АСТ печінки таких тварин у всі строки дослідження майже вдвоє вища, ніж у контрольних щурів, активність АЛТ — не відрізняється від норми.

Обговорення результатів досліджень

Як видно з таблиці, зниження рівня активності обох трансаміназ однозначне як при адреналектомії, так і при видаленні надниркових залоз на фоні кастрації. В останньому випадку вже до 15-го дня експерименту активність АСТ і АЛТ знижується до рівня, спостережуваного у АЕ щурів на 30-й день досліду. Очевидно, наявність гонад у АЕ щурів якимось «пом'якшує» перебіг розвитку надниркової недостатності у цих тварин. Це припущення не суперечить висновкам Полікарпової [5], яка показала, що розвиток інкреторної функції чоловічих статевих залоз має істотне значення для зміни дії гормонів, яка розвивається з віком, зокрема глюкокортикоїдних, що регулюють синтез ферментів у печінці.

Підвищення активності трансаміназ на третій день після кастрації можна віднести за рахунок стресового стану після хірургічного втручання. Так, на несправжньооперованих щурах було показано [18] підвищене виділення 17-ОКС у перший день після операції та поступову нормалізацію їх рівня до п'ятого дня після хірургічного втручання.

Високий рівень активності трансаміназ на 10-й і 15-й день після кастрації може бути зумовлений підвищеною функцією надниркових залоз, стимульованою гонадотропним гормоном. Деякі автори в цьому розумінні розглядають кору надниркових залоз як другу додаткову статеву залозу [6]. Активність АЛТ меншою мірою відповідає на кастрацію, але, очевидно, більшою мірою залежить від інтактних гонад.

У АЕ щурів, які одержували для пиття 1%-ний розчин NaCl, активність АСТ печінки у всі досліджувані строки майже вдвоє вища, ніж у нормі, активність АЛТ коливається в межах норми. При порівнянні результатів, одержаних у адреналектомованих щурів, а також у таких же щурів, які одержували для пиття 1%-ний розчин NaCl, створюється враження, що коли йдеться про трансамінази, визначальним результатом видалення надниркових залоз є порушення балансу електролітів Na⁺ і K⁺. На користь того, що йонна асиметрія за умов постійних коливань її у певних межах є обов'язковою і першорядною передумовою регуляції активності АСТ і АЛТ, свідчать праці ряду дослідників [10, 17]. Вводячи щурам через шлунковий зонд катіонно-обмінну смолу, автори домоглися зменшення вмісту K⁺ у печінці тварин на 46%, що привело до дворазового підвищення активності АСТ і АЛТ печінки цих тварин, а також до дворазового збільшення вмісту в печінці аланіну, глутаміну, глутамінової і аспарагінової кислоти. Через тиждень після повернення до нормальної дієти обмін K⁺, як і інші показники, нормалізувався.

Не виключені й інші шляхи впливу нестачі іонів натрію в клітині на активність трансаміназ, шляхи, опосередковані через порушення енергетичних процесів клітини, відповідальних за синтез ферментів та проникність їх субстратів крізь мембрани. Як було показано на мириці щура [7], після видалення надниркових залоз відбувається поступове зниження активності АТФ-ази, що вимагає сумісної присутності K⁺ і Na⁺. Максимальне зниження (до 50%) активності її спостерігається

на шостий-сьомий день після операції. Саме цей строк [9] характеризується різким зменшенням загальної кількості кортикостероїдів у тканинах адреналектомованих щурів, зокрема, в нирках і печінці.

І, нарешті, наявність доступного субстрату дії для АСТ і АЛТ також певною мірою пов'язана з обміном електролітів клітини [7, 10, 17].

Провідне значення порушень електролітного гомеостазу в розвитку надниркової недостатності у щурів видне також і з праць французьких вчених [15]. За їх даними, в організмі щура після видалення надниркових залоз та при достатньому надходженні з їжею та питтям NaCl (0,009% NaCl для пиття) загальна кількість кортикостероїдів не відрізняється від цього ж показника у інтактних щурів, очевидно, за рахунок додаткової надниркової тканини, що продукує глюкокортикоїди. Змінюється тільки співвідношення гідрокортизону і кортикостерону. Процентний вміст першого різко збільшується (до 50%), а другого — відповідно зменшується. Порушення ендокринного балансу таких щурів приводить до заміни біологічно менш активного кортикостерону на біологічно більш активний гідрокортизон, і, отже, у АЕ щурів створюється стан гіперфункції надниркових залоз. Очевидно, цим зумовлена висока активність АСТ печінки у таких щурів. Активність АЛТ, як можна судити на підставі наших даних, меншою мірою залежить від регулюючої ролі глюкокортикоїдів.

Висновки

1. Активність аспартаттрансамінази і аланінтрансамінази печінки адреналектомованих щурів, яких утримують на нормальній дієті, достовірно знижується, АЛТ, починаючи з третього дня після операції, АСТ — з 15-го дня.

2. У печінці адреналектомованих щурів, у раціоні яких замість води був 1%-ний розчин NaCl, активність АСТ достовірно підвищувалась майже вдвоє в усі строки досліджень (5, 10, 15-й дні після операції), активність АЛТ не відрізнялась від норми.

3. Активність трансаміназ печінки щурів, адреналектомованих на фоні кастрації, достовірно знижувалась, АСТ, починаючи вже з десятого дня, АЛТ — на третій день.

4. При кастрації активність АСТ печінки щурів збільшувалась (3, 10, 15-й дні) з дальшою нормалізацією до 30-го дня дослідження. Активність АЛТ печінки, достовірно підвищуючись на третій і десятий день, до 30-го дня дослідження була навіть нижче норми.

Література

1. Браунштейн А. Е. — Биохим. аминокислоты. обмен, М., 1949.
2. Браунштейн А. Е. — Главные пути ассимиляции и диссимиляции азота у животных (XII ежегодн. Баховское чтение), М., 1957.
3. Крицман М. Г., Коникова А. С. — Индукция ферментов в норме и патол., М., 1968.
4. Покровский Б. В. — В сб.: Соврем. вопр. эндокринол., М., 1969, 100.
5. Поликарпова Л. И. Журн. эвол. биохим. и физиол., 1968, 4, 5, 459.
6. Botella-Llusia J. — Berliner Medicini, 1958, 9, 69, 73.
7. Chignell C., Titus E. — J. Biol. Chem., 1966, 241, 21, 5083.
8. Elliott K., Tarig R., Bilodeau F., Zopell R. — Canad. j. Biochem., 1965, 43, 107.
9. Fazekas Gy., Fazekas A. — Endocrinol., 1966, 50, 1-2, 20.
10. Grundig E., Hanbauer I. — J. Neurochem., 1969, 16, 7, 1077.
11. Huzino A., Kimura H., Aburaya T., Katunuma N. — J. Biochem., 1963, 54, 5.
12. Katunuma N., Okada M., Wishii I. — Advance Enz. Red., 1966, 4, 328.
13. Lowery O., Rosenbrough N., Farr A., Randall R. — J. Biol. Chem., 1951, 193, 1, 265.

14. Meister A., Sober H., Tic...
15. Ratsimamanga S., Urb...
16. Reitman S., Frankel S. —
17. Raab W., Hanbauer J. — V...
18. Tipnis P., Rindani T. — P...

ASPARTATE TRANSAMINASE OF RAT LIVER AFTER ADRENALECTOMY

R. I.

Department of Pathology of Neuro
of Physiology, Acad

The changes in the activity (AST and ALT) in rat liver were studied 3d, 5th, 10th, 15th, 20th and 30th day after operation. The rats were put into ration of 1% solution of NaCl. On 15th and 30th day after operation (the 3d, 10th, 15th day). The activity of AST and ALT was determined by the method of and Frankel's (1957) method and of liver homogenate protein. Protein of liver AST and ALT in adrenalectomized rats decreases: ALT — beginning from the 15th day.

The same decrease in the activity of ALT was observed against a background of

In the liver of adrenalectomized rats the activity of NaCl instead of water level was much at all the times of the investigation.

With castration the activity of ALT was much at all the times of the investigation by the 30th day after operation.

е цей строк [9] характерності кортикостероїдів у та, в нирках і печінці. ату дії для АСТ і АЛТ та тролітів клітини [7, 10, 17]. ного гомеостазу в розвитку кож і з праць французьких після видалення надниркові з їжею та питтям NaCl кортикостероїдів не відрізняє шурів, очевидно, за рахунок продукує глюкокортикоїди. тизону і кортикостерону. ся (до 50%), а другого — ного балансу таких шурів вного кортикостерону на отже, у АЕ шурів створює. Очевидно, цим зумовлено шурів. Активність АЛТ, як шую мірою залежить від

анінтрансамінази печінки а нормальній дієті, достовірно після операції, АСТ —

у раціоні яких замість АСТ достовірно підвищується, 10, 15-й дні після операції.

адrenaлектомованих на, починаючи вже з десятих

ки шурів збільшувалась 30-го дня досліджу. Активна третій і десятий день.

на, М., 1949. диссимил. азота у животных

ферментов в норме и патол.,

нол., М., 1969, 100.

нол., 1968, 4, 5, 459.

73.

21, 5083.

ell R.—Canad j. Biochem.,

1, 1-2, 20.

1, 16, 7, 1077.

atunuma N.—J. Biochem.,

Enz. Red., 1966, 4, 328.

and all R.—J. Biol. Chem.,

14. Meister A., Sober H., Tice S., Fraser Ph.—J. Biol. Chem., 1952, 197, 319.
15. Ratsimamanga S., Urberg M., Rabinowicz M., Rakoto Ratsimamanga—C.R. Acad. Sc., Paris, 1968, 266, 379.
16. Reitman S., Frankel S.—Amer. J. Clin. Pathol., 1957, 28, 56.
17. Raab W., Hanbauer J.—Wien. Klin. Wochenschr., 1969, 81, 17, 311.
18. Tipnis P., Rindani T.—Proc. Indian. Acad. Sci., 1968, 68, 6, 314.

Надійшла до редакції
18.V 1970 р.

ASPARTATE TRANSAMINASE AND ALANINE TRANSAMINASE ACTIVITY OF RAT LIVER AFTER ADRENAL EXTIRPATION AND CASTRATION

R. I. Khilchevskaya

Department of Pathology of Neurohumoral Regulations, the A. A. Bogomoletz Institute
of Physiology, Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev

Summary

The changes in the activity of aspartate transaminase and alanine transaminase (AST and ALT) in rat liver were studied under conditions of adrenalectomy (on the 3d, 5th, 10th, 15th, 20th and 30th day after operation), adrenalectomy with introduction into ration of 1% solution of NaCl (the 5th, 10th, 15th day), castration (the 3d, 10th, 15th and 30th day after operation) and combined extirpation of adrenals with gonads (the 3d, 10th, 15th day). The activity of transaminases was determined by Reitman's and Frankel's (1957) method and expressed in μ m of sodium pyruvate isolated per 1 g of liver homogenate protein. Protein was determined by Lowry (1951). The activity of liver AST and ALT in adrenalectomized rats, which were put on a normal diet, trustworthy decreases: ALT—beginning from the 3d day after adrenal extirpation, AST—beginning from the 15th day.

The same decrease in the transaminase activity was observed in rats adrenalectomized against a background of castration.

In the liver of adrenalectomized rats the ration of which contained 1% solution of NaCl instead of water level of AST activity authentically increased almost twice as much at all the times of the investigation. The ALT activity did not differ from the norm.

With castration the activity of the studied transaminases increased, normalizing by the 30th day after operation (AST) and decreasing by this time in case of ALT.