

УДК 576.8.097.29.612.015.1

Л. Л. Громашевська, Т. І. Галенко

ВИВЧЕННЯ АКТИВНОСТІ ОРГАНОСПЕЦИФІЧНИХ ФЕРМЕНТІВ У ТВАРИН З УРАЖЕННЯМ ПЕЧІНКИ ПРИ ВВЕДЕННІ АНТИГЕПАТОЦИТОТОКСИЧНОЇ СИРОВАТКИ

Працями ряду дослідників показано, що антигепатоцитотоксична сироватка (АГЦС), застосована у великих дозах, викликає порушення морфологічної структури печінки та пригнічує її функції [1, 2, 5, 7, 8, 12, 13, 17]; а малі дози виявляють стимулюючий вплив на регенераторні процеси, а також стимулюючу та нормалізуючу дію на деякі функції печінки при її ушкодженні [3, 4, 9, 14, 18].

Чутливим показником стану печінки є активність ферментів у сироватці крові. Підвищення активності органоспецифічних ферментів, таких як, орнітинкарбамоїлтрансфераза (ОКТ) і, значною мірою сорбітолдегідрогеназа (СДГ), є показником залучення до патологічного процесу печінки [10, 11], а вираженість змін активності характеризує її ушкодження.

Ми вивчали зміни активності орнітин-карбамоїлтрансферази і сорбітолдегідрогенази в сироватці крові та печінці при застосуванні малих стимулюючих доз антигепатоцитотоксичної сироватки на фоні отруєння щурів чотирихлористим вуглецем.

Методика досліджень

Проведено дві серії досліджень на 540 білих щурах-самках вагою 180—230 г. Антигепатоцитотоксичну сироватку, специфічну для щурів, одержували імунізацією кроликів водно-сольовим екстрактом печінкової паренхіми. Як контроль застосовували антиміоцитотоксичну (АМЦС) та нормальну кролячу (НКС) сироватки. Титр антитіл в імунних сироватках визначали за реакцією зв'язування комплексу Борде-Жангу в модифікації О. О. Богомольця. Застосовані сироватки з титром 1:200 та 1:320. Для проведення експерименту тварин розподілили на п'ять груп. Перша група (здорові тварини) була контрольною, друга, третя, четверта і п'ята — тварини з ураженням печінки чотирихлористим вуглецем (CCl_4). При цьому, до другої групи входили щури, яким вводили тільки CCl_4 , тварини, третьої, четвертої і п'ятої груп одержували малі дози відповідно АГЦС, НКС та АМЦС (при визначенні СДГ). В першій серії досліджень CCl_4 , розведений соняшниковою олією 1:1, вводили триразово з інтервалами між введеннями в три дні, під шкіру в дозі 0,5 мл на 100 г ваги тварини. В другій серії експериментів CCl_4 вводили семиразово: перші рази по 0,5 мл, останні — по 0,15 мл на 100 г ваги тіла. Малі дози АГЦС і контрольних сироваток застосовували триразово в кількості $2,5 \cdot 10^{-5}$ мл на 100 г ваги наступного дня після кожного введення CCl_4 (в серії дослідів з триразовим введенням) і наступного дня після кожного з трьох останніх введень CCl_4 (в серії дослідів з семиразовим введенням). На третю, сьому і 14 добу (при визначенні ОКТ — на третю, сьому і 12 добу) після останнього введення CCl_4 тварин декапітували і в одержаній сироватці крові та гомогенаті печінки визначали активність досліджуваних ферментів. Активність ОКТ визначали за методом Рейхарда в модифікації Моретті [19] та виражали в гаммах аміачного азоту. Активність СДГ визначали за методом, описаним Пирковим, Соколовою, Малкіною [16] та виражали в мікромолях/мл/хв $\cdot 100$ для сироватки і в мікромолях/г/хв для печінки. Одержані дані оброблені методом варіаційної статистики [15].

Результати досліджень та їх обговорення

Результати проведених досліджень наведені на рис. 1 і 2, з яких видно, що ураження печінки чотирихлористим вуглецем, при триразовому його введенні, супроводжується різким підвищенням активності досліджуваних ферментів у сироватці крові та зниженням її в печінці. Найбільш виразна зміна активності обох ферментів спостерігалась на третю добу, коли активність ОКТ і СДГ в сироватці крові посилювалась від-

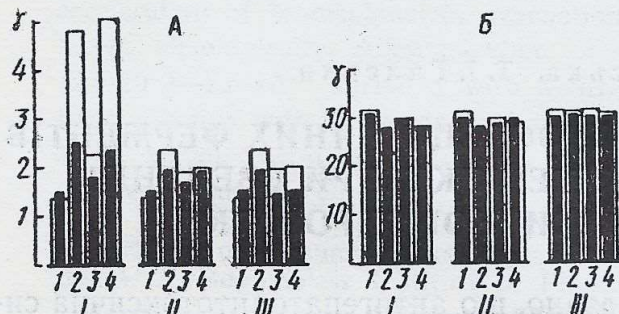
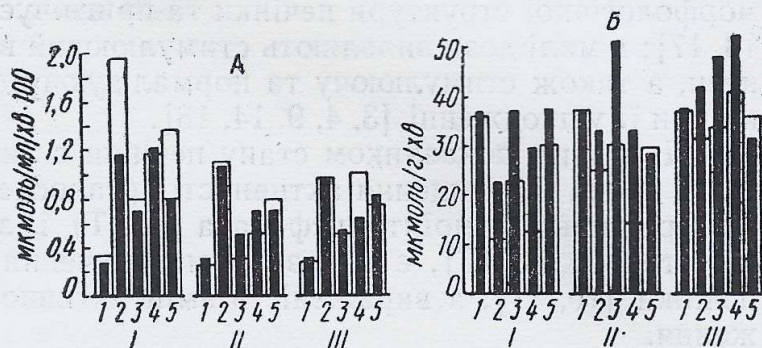


Рис. 1. Зміни активності ОКТ в сироватці крові (А) і печінці (Б) після застосування малих доз АГЦС та НКС на фоні введення CCl_4 .

Білі стовпці — ОКТ після триразового введення CCl_4 , чорні — ОКТ після семиразового введення CCl_4 . 1 — норма, 2 — CCl_4 , 3 — CCl_4 + АГЦС, 4 — CCl_4 + НКС. I — третя доба, II — сьома доба, III — 12 доба.

Рис. 2. Зміни активності СДГ в сироватці крові (А) та печінці (Б) після застосування малих доз АГЦС, НКС та АМЦС на фоні введення CCl_4 .

Білі стовпці — СДГ після триразового введення CCl_4 , чорні — СДГ після семиразового введення CCl_4 . 1 — норма, 2 — CCl_4 , 3 — CCl_4 + АГЦС, 4 — CCl_4 + НКС, 5 — CCl_4 + АМЦС. I — третя доба, II — сьома доба, III — 14 доба.



повідно в три, п'ять та шість раз у порівнянні з вихідним рівнем. Підвищення активності ферментів спостерігалось на сьому та 14 добу. В печінці значне зниження активності ферментів відзначалось на третю добу, але на 14 день активність ферментів не відрізнялась від норми.

У тварин, яким застосовували малі дози АГЦС, активність ОКТ в сироватці крові збільшувалась значно меншою мірою і короткочасно (третя доба) або перебувала в межах величин, які визначаються в контрольній групі (7, 14 доба). В сироватці крові різниця в активності ОКТ між контрольною групою та групою тварин з ураженням печінки без застосування АГЦС становила (в гаммах аміачного азоту) 3,45, між контрольною групою та тваринами, яким застосовували АГЦС — 0,88. Активність СДГ в сироватці крові у всі строки досліджень при введенні тваринам АГЦС була значно меншою, ніж у тварин, яким не застосовували сироватку. Різниця між показниками активності СДГ у шурів контрольної групи і другої групи (тварини, яким вводили тільки CCl_4) становила (в мікромолях/мл/хв·100) на 3, 7 і 14 добу відповідно 1,63, 0,82, 0,66; у тварин контрольної групи і тварин, які одержували АГЦС — відповідно 0,46; 0,02; 0,22. Активність СДГ в сироватці крові на третю добу дорівнювала в контрольній групі $0,32 \pm 0,068$, у другій групі — $1,95 \pm 0,241$, у третій групі (тварини, які одержували АГЦС) — $0,78 \pm 0,216$, в четвертій і п'ятій групах (тварини, які одержували відповідно НКС та АМЦС) — $1,15 \pm 0,292$ та $1,36 \pm 0,152$.

Контрольні сироватки НКС і АМЦС також виявляють деяку позитивну дію на активність ферментів, зменшують патологічні зміни, спостережувані при ураженні печінки чотирихлористим вуглецем. Але їх дія була менш виразна, ніж дія АГЦС. Так, на сьому добу активність ОКТ

в сироватці крові щурів, яким вводили НКС, становила $1,98 \pm 0,123$ гамма в порівнянні з $1,84 \pm 0,100$ гамма у тварин, які одержували АГЦС (у контрольних щурів — $1,35 \pm 0,235$; у щурів, які одержували тільки CCl_4 — $2,33 \pm 0,112$). Але на третю добу активність ОКТ у щурів, яким вводили НКС, була такою ж високою ($5,06 \pm 0,424$), як і у тварин, які одержували тільки CCl_4 ($4,81 \pm 0,297$), тоді як у щурів, які одержували АГЦС, активність ферменту в цей строк була значно нижчою ($2,24 \pm 0,276$). Активність СДГ в сироватці крові тварин після введення НКС та АМЦС на третю добу становила відповідно $1,15 \pm 0,292$ і $1,36 \pm 0,152$ мкмоль у порівнянні з $0,78 \pm 0,216$ мкмоль у тварин, які одержували АГЦС.

В печінці на третю добу після триразового введення CCl_4 спостерігається зниження активності ОКТ на 30% у порівнянні з нормою ($21,92 \pm 1,744$; у контролі — $31,36 \pm 1,918$ гамма та СДГ на 67% ($12,11 \pm 0,817$; у контролі — $36,4 \pm 3,76$ мкмоль).

При застосуванні малих доз АГЦС спостерігалось менш виражене і більш короткочасне зниження активності СДГ в печінці ($23,1 \pm 0,816$ на третю добу). Вже на сьому добу активність ферменту достовірно не відрізняється від норми. Ми не спостерігали істотних змін активності ОКТ в печінці при ураженні її триразовим введенням CCl_4 у тварин, які одержували малі дози як АГЦС так і НКС. На активність СДГ в печінці НКС спричиняє іншу дію, ніж АГЦС. Так, активність СДГ в печінці щурів, яким вводили НКС, на третю добу така низька, як після введення одного CCl_4 ($14,7 \pm 0,853$ мкмоль), а на сьомий день навіть нижча, ніж у тварин II групи в цей строк. Малі дози АМЦС, як і АГЦС, перешкоджають зменшенню активності СДГ в печінці у всі досліджувані строки.

Після семиразового введення CCl_4 активність ОКТ і СДГ в сироватці крові також збільшується, але меншою мірою, ніж після триразового введення його. Так, активність ОКТ в сироватці крові на третю добу дорівнювала $2,43 \pm 0,220$ гамма (в нормі — $1,49 \pm 0,106$) або 163% від норми, а на 12 добу перебувала в межах нормальних величин. Активність СДГ в сироватці крові на третю добу дорівнювала $1,14 \pm 0,165$ мкмоль при нормі $0,29 \pm 0,074$, потім незначно зменшувалась в пізніші строки.

У щурів, яким вводили АГЦС, активність досліджуваних ферментів у сироватці крові була значно нижчою як на третю добу (ОКТ — $1,76 \pm 1,125$; СДГ — $0,70 \pm 0,153$), так і в більш пізні строки, в порівнянні з тваринами, які одержували тільки CCl_4 .

Після введення малих доз НКС на третю добу спостерігалось таке саме збільшення активності СДГ в сироватці крові, як у щурів другої групи ($123 \pm 0,077$), але пізніше відновлення активності ферменту відбувалося швидше, ніж у тварин, які одержували тільки CCl_4 . Активність ОКТ в сироватці крові на протязі всіх строків дослідження у тварин цієї групи змінюється так само, як у тварин, яким вводили лише CCl_4 (на третю добу — $2,35 \pm 0,172$).

АМЦС меншою мірою перешкоджає збільшенню активності СДГ в сироватці крові, ніж АГЦС. У щурів цієї групи активність ферменту на третю добу дорівнює $0,78 \pm 0,0160$ мкмоль і майже не змінюється на протязі всього часу досліджень у порівнянні з третьою добою.

В печінці на третю добу після введення CCl_4 спостерігається зниження активності СДГ до $27,4 \pm 1,83$ у порівнянні з нормою, яка дорівнює $37,1 \pm 3,73$ мкмоль. Активність ферменту швидко відновлюється і на сьому добу достовірно не відрізняється від норми. Активність ОКТ в печінці знижується меншою мірою, ніж СДГ на третю добу ($27,3 \pm 0,415$ гамма при нормі $30,73 \pm 1,354$). На сьому і 14 добу активність ОКТ перебуває в межах нормальних величин.

В печінці щурів, які одержували АГЦС, ми не спостерігали зниження активності ОКТ і СДГ на протязі всього часу досліджень. Активність СДГ на сьому і 14 добу навіть дещо підвищується.

Після введення НКС на третю добу в печінці спостерігається зниження активності ферментів у порівнянні з нормою (ОКТ — до 88,7% від норми, СДГ — до 79,8%). Потім активність ферментів відновлюється (на сьомий день), а на 14 добу активність СДГ навіть перевищує норму ($52,6 \pm 2,948$).

Інша контрольна група щурів, які одержували АМЦС, за характером змін активності СДГ в печінці відрізняється від усіх інших груп. Так, на третю добу активність ферменту не змінюється в порівнянні з нормою, однак на сьомий день спостерігається статистично достовірне зниження її ($28,0 \pm 1,99$). На 14 добу активність СДГ дещо збільшується в порівнянні з попереднім строком ($30,9 \pm 3,13$).

Отже, одержані дані показали, що при ураженні печінки триразовим введенням чотирохлористого вуглецю має місце значне збільшення активності органоспецифічних ферментів ОКТ і СДГ в сироватці крові та зменшення її в тканині печінки. Після семиразового введення СС14 зміни активності ферментів виражені меншою мірою.

Малі дози АГЦС, застосовані у тварин при ураженні печінки чотирохлористим вуглецем, сприяють менш вираженому і більш короткочасному підвищенню активності ОКТ і СДГ в сироватці крові та короткочасному підвищенню активності ОКТ і СДГ в сироватці крові та зниженню її в печінці, тобто спричиняють нормалізуючий вплив на активність цих ферментів, що свідчить про позитивну дію на відновлення функції печінки.

Нормальна кроляча і антиміоцитотоксична сироватки на активність досліджуваних ферментів виявляють менш виражений нормалізуючий вплив. Наші дані про дію НКС на активність ферментів у печінці та сироватці крові узгоджуються з відомостями ряду авторів про дію нормальної гетерогенної сироватки на структуру і функцію печінки [6, 9, 12]. Зміни, які відбуваються в структурно-функціональній організації печінки під впливом нормальної кролячої сироватки, можна пояснити дією гетерогенного білка та наявністю в нативній сироватці нормальних антитіл.

Ефект дії антиміоцитотоксичної сироватки переважно визначається наявністю в ній деякої кількості імунних антитіл по відношенню до негомологічних органів, у тому числі по відношенню до печінки, а також дією гетерогенного білка.

Л і т е р а т у р а

1. Алексеева І. М. Зміни білкового складу та активності трансаміна сироватки крові і печінки щурів під впливом великих доз антигепатоцитотоксичної сироватки та АЦС.— Фізіол. журн. АН УРСР, 1968, 14, 6, 774.
2. Алексеева І. Н. Влияние антигепатоцитотоксической сыворотки на экскреторную функцию печени.— Патол. физиол. и экспер. терапия, 1973, 2, 72.
3. Алексеева І. М. Зміни вмісту білка і активності трансаміназ у печінці і сироватці крові щурів при введенні малих доз антигепатоцитотоксичної сироватки на фоні гострого ураження печінки чотирохлористим вуглецем.— Укр. біохім. журн., 1973, 3, 45, 254.
4. Алексеева І. Н., Галенко Т. І. Восстановление функций печени, нарушенных действием четыреххлористого углерода, путем применения малых доз антигепатоцитотоксической сыворотки (АГЦС).— В сб.: Тез. IV Укр. респ. конфер. патофизиол., Ивано-Франковск, 1972, 5.
5. Ахметкалиев С. Г. и др. Влияние гепато- и нефроцитотоксической сыворотки на почки.— В сб.: Матер. X научн. сессии. Алма-атинский мед. ин-т, Алма-Ата, 1972, 28.

6. Барштейн Ю. А. Патологическая морфология органов и тканей белых мышей при введении нормальной кроличьей сыворотки. В кн.: Вопросы иммунологии, К., 1968, 3, 33.
7. Благман Г. Ф. Цитотоксические изменения в органах и их значение.—Клин. мед., 1940, 18, 12, 95.
8. Бикоріз А. І., Кулик Г. І. Хронічне ураження печінки гепатоцитотоксичними сироватками.—Фізіол. журн. АН УРСР, 1964, 10, 2, 271.
9. Галенко Т. І. Зміна активності сироваткової холінестерази у щурів в умовах застосування чотирьохлористого вуглецю та деяких цитотоксичних сироваток.—Фізіол. журн. АН УРСР, 1974, 5, 616.
10. Гетте З. П. О значении определения активности сорбитдегидрогеназы при инфекционном гепатите.—Лаб. дело, 1964, 2, 70.
11. Громашевська Л. Л., Демченко В. М., Миронова О. М. Ферменти печінки та методика їх визначення. Укр. біохім. журн., 1967, 3, 39, 262.
12. Евсеева А. И. О механизме действия на печень и опухоль Герена крыс гепатоцитотоксич. сыворотки и сыворотки против трансплантата этой опухоли. Автореф. дисс., К., 1970, 10.
13. Кулик Г. И., Быкорез А. И. Влияние гепатоцитотоксич. сыворотки на содержание сульфгидрильных групп в ткани и сыворотке крови крыс.—В кн.: Цитотоксичны в соврем. медицине, К., 1966, 3, 69.
14. Кузнецова Н. И., Гуртовенко В. М. Влияние гепатотоксической сыворотки на активность алкогольдегидрогеназы печени крыс в норме и при длительной интоксикации алкоголем.—Патол. физиол. и эксперим. терапия, 1975, 1, 73.
15. Ойвин И. А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований.—Патол. физиол. и эксперим. терапия, 1960, 4, 76.
16. Пырков Л. М. и др. Быстрое определение активности сорбитдегидрогеназы в сыворотке крови.—Лаб. дело, 1971, 1, 30.
17. Родионов Г. А., Король С. А. Гистоморфология печени здоровых белых крыс разного возраста при применении гепатоцитотоксической митохондриевой сыворотки.—В кн.: Механизмы старения, К., 1963, 105.
18. Родионов Г. А., Король С. А. Некоторые данные о влиянии гепатоцитотоксической митохондриевой сыворотки на репаративную регенерацию печени у белых крыс.—В сб.: Цитотоксины в соврем. медицине, К., 1966, 3, 47.
19. Подильчак М. Д. Клиническая энзимология, К., 1967, 97.

Відділ імунології цитотоксичних сироваток
Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця
АН УРСР, Київ

Надійшла до редакції
2.III 1976 р.

L. L. GROMASHEVSKAJA, T. I. GALENKO
STUDIES IN ACTIVITY OF ORGANOSPECIFIC ENZYMES
IN ANIMALS WITH LIVER AFFECTION WHEN
ADMINISTERING ANTIHEPATOCYTOTOXIC SERUM

Summary

It is shown that the activity of organospecific enzymes: ornithine-carbamoyl transferase (OCT) and sorbitol dehydrogenase (SDH) increases considerably in blood serum and decreases in the liver tissue when the liver is affected with carbon tetrachloride. The antihepatocytotoxic serum (AHCS) in small doses against a background of the liver affection with carbon tetrachloride contributes to a less developed and more short-time increase in the activity of the enzymes in blood serum and to its decrease in the liver tissue. This may evidence for a favourable effect of AHCS on restoration of the liver function.

Normal rabbit and antimyocytotoxic sera also have a certain normalizing effect on the activity of OCT and SDH but to a considerably less extent than AHCS.

Department of Immunology and Cytotoxic Sera,
the A. A. Bogomolets Institute of Physiology,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev