

УДК 616.611—002—089.843:577.155.34

М. М. Петрунь, Л. Я. Мигаль, Г. М. Дранник

ЗМІНИ АКТИВНОСТІ АРГІНАЗИ КРОВІ ПРИ АЛОТРАНСПЛАНТАЦІЇ НИРКИ І ЗАСТОСУВАННІ АНТИЛІМФОЦИТАРНОГО ГЛОБУЛІНУ ЯК ІМУНОДЕПРЕСАНТА

В літературі є багато відомостей щодо стану та структури печінки при захворюваннях нирок, проте вони значною мірою суперечливі. Одні дослідники пояснюють одержані зміни виключно ураженням печінки [1, 3, 5, 8, 10], інші вказують, що при ниркових захворюваннях печінка ще довгий час зберігає компенсаторні можливості [6, 11, 14 16].

Виходячи з того, що пересадка нирок за останні роки досягла значних успіхів, вийшла з рамок експерименту і стала дійовим методом лікування хворих на термінальну ниркову недостатність (ХНН), вивчення стану печінки життєво необхідне для своєчасного виявлення порушень її функції як до трансплантації, так і після пересадки. Як відомо, весь арсенал медикаментозних засобів, направлених на зниження трансплантаційного імунітету, має гепатотропну токсичну дію [12, 15].

Ферментативні методи діагностики дають можливість дослідникові вивчати суть патологічних змін у печінці на більш глибокому рівні. Особливу цінність становить вивчення активності так званих «індикаторних» гепатоспецифічних ферментів, до яких належить і аргіназа (*L*-аргінін: амідіногідролаза, КФ 3.5.3.1), що каталізує гідролітичне утворення орнітину та сечовини з аргініну.

Ми вивчали активність аргінази в плазмі крові собак, у яких відтворювали експериментальний гломерулонефрит з ХНН і на його фоні здійснювали пересадку нирки.

Методика досліджень

Досліди проведені на восьми собаках вагою 15—25 кг. Індукція гломерулонефриту здійснювалась сумісним застосуванням методів Мацугі [20] та Хеймана [18]. Про ступінь ниркової недостатності судили за вмістом сечовини та креатиніну в крові. Крім того, розвиток гломерулонефриту стверджено даними гістологічного аналізу, проведеного в лабораторії патоморфології Київського інституту урології. Пересадку нирки здійснювали на судини ший за методом Шпуга [13]. Власні нирки собак перед операцією видаляли. Як імунодепресант використовували антилімфолейкоцитарний глобулін (АЛГ), виділений з антилімфоцитарної сироватки шляхом висолювання сірчаноокислим амонієм. Сироватку одержували імунізацією кіз лімфоцитами собак. Серологічний аналіз АЛГ проводили з допомогою тесту лімфоцитотоксичності, реакції зв'язування комплекменту (РЗК) з антигенами, виділеними з різних органів собак, та реакції гемоаглютинації. Одержаний нами АЛГ мав антипечінкову (титр 1 : 15+ + + + в РЗК) та антиеритроцитарну (титр 1 : 64) специфічність. Для повного знищення відповідних антитіл нами була проведена неодноразова адсорбція АЛГ тканиною печінки та еритроцитами собак. Введення АЛГ піддослідним тваринам починали за три—п'ять днів до операції й продовжували щоденно на протязі двох тижнів після пересадки з наступним зменшенням ін'єкцій відповідно стану собак. АЛГ вводили внутрішньо (20—30 мг/кг).

Активність аргінази визначали в плазмі крові собак методом Йер Крішна Мурті в модифікації Мансурової та Калеткіної [7] з деякими нашими видозмінами, суть яких полягала в тому, що ферментативну реакцію припиняли не кип'ятінням у водяній

бані, а додаванням 4 мл 10% трихлороцтової кислоти. 1 мл надосадової рідини після 15 хв центрифугування при 3000 об/хв відбирали для визначення в ньому кількості аргініну з допомогою реакції Сакачугі в модифікації Фарбіджевського з спіавт. [17]. Активність аргінази виражали в мкМолях аргініну, що розщепився при 37° С на протязі 1 год під впливом ферменту, що містився в 1 мл плазми крові. Одержані дані обробляли методом варіаційної статистики за Ойвіним [9].

Результати досліджень та їх обговорення

Активність аргінази здорових собак становить $1,05 \pm 0,15$ мкМ. Під час розвитку патологічних змін у нирках активність аргінази поступово підвищується і при ХНН досягає $2,44 \pm 0,075$ мкМ гідролізованого аргі-

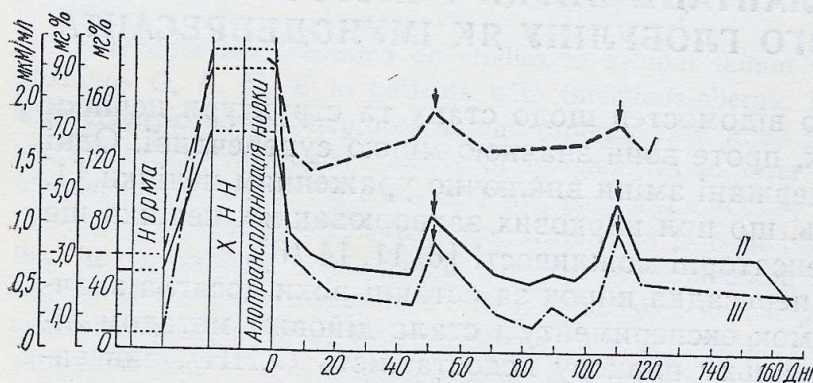


Рис. 1. Динаміка змін аргіназної активності (I), вмісту сечовини (II) та креатиніну (III) в плазмі крові собаки № 3 із збереженою функцією трансплантованої нирки.

Стрілкою вказано день, коли було посилено імунодепресію. По горизонталі — дні після алотрансплантації нирки.

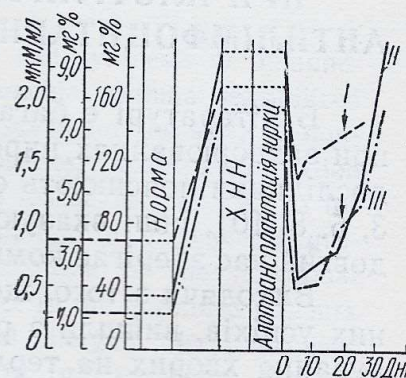


Рис. 2. Динаміка змін аргіназної активності (I), вмісту сечовини (II) та креатиніну (III) в плазмі крові собаки № 7, у якого імунодепресія не припинила кризи відторгнення трансплантованої нирки.

Стрілкою вказано день, коли було посилено імунодепресію. По горизонталі — дні після алотрансплантації нирки.

ніну ($p < 0,001$). Ці дані узгоджуються з клінічними спостереженнями Козиря [5], який у хворих на термінальну ХНН виявив статистично вірогідне підвищення активності сироваткової аргінази. Наші дослідження показали, що АЛГ подовжує життя пересадженої нирки до $30,7 \pm 1,7$ діб замість $8,5 \pm 1,4$ діб у контролі. Собак, яким була проведена алотрансплантація нирки, поділили на дві групи залежно від того, які причини призвели до припинення функціонування трансплантату: до I групи віднесли чотирьох собак, у яких збереглася функція трансплантату; до II групи — собак, які мали загинути у зв'язку з виникненням кризи відторгнення нирки. У всіх собак після алотрансплантації нирки вміст сечовини в сироватці крові знижувався в середньому на 30—50%. Знижувалась також активність аргінази ($1,5 \pm 0,065$ мкМ аргініну). У наступні тижні після пересадки у тварин як I групи (рис. 1), так і II групи (рис. 2) при розвитку кризи відторгнення активність аргінази різко підвищувалась. У тому випадку, коли кризу відторгнення вдавалося усунути призначенням підвищених доз АЛГ (собаки I групи), активність аргінази зменшувалась паралельно поліпшенню функції алотрансплантату. В тому разі, коли підсилення імунодепресії було неефективним (собаки II групи), активність аргінази продовжувала підвищуватись, а тварини гинули, оскільки пересаджена нирка не функціонувала.

Відзначене підвищення активності аргінази можна було б пояснити тим фактом, що при введенні великих доз імунодепресантів гинуть багаті на аргінін червоні кров'яні тільця [19]. Проте, як було вказано ра-

ніше, одержаний нами препарат АЛГ тестували на предмет вмісту в ньому антиеритроцитарних антитіл і в разі їх наявності глобулін адсорбувався еритроцитами собак. Отже пояснювати таку виражену гіперферментемію тільки цим механізмом не має ніякої підстави. Оскільки основна кількість аргінази міститься в клітинах печінки, причому переважно в ядрах [21], одержане нами підвищення активності ферменту при пересадці нирки може свідчити про глибоке пошкодження гепатоцитів.

Існує думка, що посилення активності печінкових ферментів у крові залежить від застосування при трансплантації токсичних для печінки імунодепресантів. Так, на думку Ярмолинського [15], «пік» змін печінкових проб доводиться саме на період відторгнення трансплантату, тобто на той період, коли ступінь імунодепресії найвищий. Однак та обставина, що в наших дослідах як імунодепресант використовувався АЛГ, активність якого щодо печінкової тканини не виявлена (серологічний контроль в реакції зв'язування комплементу з печінковим антигеном), дає можливість припустити більш складний механізм ушкодження клітин печінки при розвитку відторгнення алотрансплантату.

Отже, ми виключали вплив імунодепресанту на печінку та еритроцити, проте активність ферменту продовжувала підвищуватись. Більш того, вона зростала ще до збільшення імунодепресії. До речі, те, що у одних тварин після посилення імунодепресії активність аргінази впала, а у інших, навпаки, підвищилась, ще раз свідчить проти токсичного впливу АЛГ на печінку та еритроцити.

Наведені дані дають підставу гадати, що гіперферментемія аргінази в основному залежить від ступеня ушкодження клітин печінки та нирки за рахунок імунних факторів. Не можна не рахуватися з тим, що одним з таких факторів може бути вплив гуморальних протиниркових антитіл, які беруть безпосередню участь в реалізації кризи відторгнення алотрансплантату, на тканину печінки за рахунок наявності у печінці та нирках перехреснореагуючих антигенів. Це, в свою чергу, може привести до підвищення проникності і ушкодження цілісності мембран клітин печінки з наступним виходом ферменту в кров. Оскільки дані літератури свідчать про наявність аргіназної активності також і в тканині нирок, особливо у корковому її шарі [2, 21], підвищення ферментативної активності в крові під час реакції відторгнення можна також пов'язати з розвитком тих деструктивних змін, які з'являються у трансплантованій нирці і можуть бути причиною виходу ферменту з клітин нирки в кров. Це узгоджується з даними Бикової та ін. [2], які показали, що при розвитку морфологічної картини відторгнення у ниркових трансплантатах відзначається дифузний характер зниження активності багатьох ферментів. Однак, якщо мати на увазі, що аргіназа міститься в нирках все-таки в незначній кількості, повністю пояснити появу високої активності ферменту в плазмі тільки за рахунок «ниркової аргінази», з нашої точки зору, не можна.

Очевидно, така виражена гіперферментемія зумовлена в основному не стільки ушкодженням нирок, скільки супутним процесом у печінці. Отже слід гадати, що в патогенезі гіперферментемії аргінази при алотрансплантації нирки має місце не один фактор, а сукупність усіх згаданих механізмів.

Л і т е р а т у р а

1. Азгамов Р. А., Гинзбург В. С., Кривцова М. А., Васнецова К. В. О функции печени при нефротуберкулезе.— Тер. архив, 1972, 4, 108—111.
2. Бикова Н. А., Перов Ю. Л., Дробышева В. Я., Кирпатовский И. Д. Гистоферментативная активность почки собаки в норме и при трансплантации.— Архив патологии, 1969, 6, 23—32.

3. Гиоргадзе Н. В. Материалы о функциональном взаимоотношении печени и почек при хроническом пиелонефрите у детей. Автореф. канд. дис., Львов, 1973.
 4. Івашкевич О. А. Протеолітична й аргіназна активність у нирках собак.— Укр. біохім. журн., 1973, 45, 3, 334—337.
 5. Козырь В. И. Состояние печени у больных с терминальной хронической почечной недостаточностью и в период лечения их программным гемодиализом. Автореф. канд. дис. Киев, 1973.
 6. Ладинская Л. М. Состояние печени при диффузном гломерулонефрите у детей. Автореф. канд. дис., Ленинград, 1973.
 7. Мансурова И. Д., Калеткина Л. Г. Микрометод определения активности аргиназы в сыворотке крови.— Лабор. дело, 1969, 4, 219—221.
 8. Никула Т. Д., Пыриг Л. А. Аминный азот крови и мочи в сопоставлении с функциональным состоянием печени при нефропатиях.— Врачебное дело, 1970, 2, 54—57.
 9. Ойвин И. Д. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований.— Патол. физиол. и exper. терапия, 1960, 4, 76—85.
 10. Пыриг Л. А. Показатели функционального состояния печени при хронической почечной недостаточности.— Врачебное дело, 1969, 7, 66—70.
 11. Тареев Е. М. Нефриты, М., «Медицина», 1958.
 12. Томилина Н. А., Львицина Г. М. Побочные явления иммунодепрессии после аллотрансплантации почки и некоторые данные о механизме инфекционных осложнений.— Вестник АМН СССР, 1973, 8, 64—66.
 13. Шпуга Г. М. Сосудистый шов и пересадка почки.— Эксперимент. хирургия, 1956, 1, 19—26.
 14. Шулутко Б. И. Изменения печени при хронических заболеваниях почек.— Тер. архив, 1972, 2, 59—61.
 15. Ярмолинский И. С., Горайнов В. А., Михеева Е. В., Аксельрод И. И. Поражение печени у больных после аллотрансплантации почки.— Сов. мед., 1969, 8, 25—29.
 16. Evans D. B., Millard P. R., Herbertson B. M. Hepatic Dysfunction associated with renal transplantation.— Lancet, 1968, v. 7575, 929—934.
 17. Farbiszewski R., Worowski K., Rzezaycki W. The application of a modified Sakaguchi's method for quantitative estimation of protein — bound arginine.— Chem. anal. (PRL), 1972, v. 17, 1, 133—137.
 18. Heymann W., Haekel D. B., Harword S., Wilson S. J. F., Hunter G. L. P. Production of nephrotic syndrome in rats by Freund's adjuvants and rat kidney suspensions.— Proc. Exptl. Biol. (NY), 1959, v. 100, 660—669.
 19. Jergovic I. A simple method for serum arginase determination.— Clin. chim. acta, 1970, v. 30, 3, 765—774.
 20. Masugi M. Über die experimentale glomerulonephritis durch das spezifische anti-nierenserum. Ein beitrage zur pathogenese der diffuser glomerulonephritis.— Beitr. Path. Anat., 1934, v. 92, 429—442.
 21. Porembska Z., Baranczyk A., Jachimowicz J. Arginase isoenzymes in liver and kidney of some mammals.— Acta biochimica polon., 1971, v. 18, 1, 77—85.
- Лабораторії біохімії та патологічної фізіології
Київського інституту урології та нефрології

Надійшла до редакції
25.XII 1975 р.

N. M. PETRUN', L. A. MIGAL', G. N. DRANNIK

CHANGES IN BLOOD ARGINASE ACTIVITY WITH RENAL TRANSPLANTATION AND APPLICATION OF ANTILYMPHOCYTIC GLOBULIN AS IMMUNODEPRESSANT

Summary

Arginase activity was determined in plasma of 8 dogs with experimental glomerulonephritis after and before renal transplantation against a background of immunosuppressive treatment by antilymphocytic globulin (ALG).

The arginase activity was noted to increase during the progress of chronic renal insufficiency and during the allograft rejection. Administration of ALG in the augmented dosage caused a decrease in the activity.

Development of the irreversible crisis rejection was accompanied by an increase in the arginase activity in spite of amplification of immunosuppressive treatment.

Pathogenesis of arginase hyperenzymemiae is complex and might be bound with failure in permeability and intact state of the hepatic cells membranes under effect of humoral antirenal antibodies which take part in realization of graft rejection.