

витаминов поло-
ельной функции

УДК 616.316.002:615.355

А. Ф. Коваленко, А. П. Левицкий

ВЛИЯНИЕ ЛЕЧЕБНЫХ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ПОДЧЕЛЮСТНЫХ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТРАВМАТИЧЕСКОМ СУБМАКСИЛЛИТЕ

Из большого числа ферментов, предложенных для медицинских целей, наибольшее признание получили протеолитические ферменты, а также их ингибиторы и ряд антимикробных ферментов. При заболевании слюнных желез ферментные препараты не нашли достаточного применения. Имеются лишь единичные сообщения об использовании химотрипсина для промывания протоков слюнных желез [2] и ингибиторов трипсина для лечения неэпидемического паротита [6].

Мы изучали состояние подчелюстных желез при развитии экспериментального субмаксилита в процессе лечения его различными ферментными препаратами.

Методика исследований

Исследования проведены на 184 крысях линии Вистар обоего пола массой 150—180 г. В I серии (82 крысы) сравнивали три лечебных ферментных препарата (трипсин, ингибитор трипсина и РНКаза), вводимых местно — в область подчелюстных слюнных желез или дистанционно — в мышцу бедра. Экспериментальный субмаксиллит вызывали посредством травматизации подчелюстных желез. У крыс под эфирным наркозом делали срединный разрез кожи, отступя 0,5 см от подбородка, длиной 1,5—2 см. Выделяли обе подчелюстные железы из фасциального ложа и захватывали специальным пинцетом, у которого минимальный зазор между браншами составляет 0,5—0,8 мм, что обеспечивает равномерное сдавливание железы. Каждую железу сдавливали три раза по 6 с. Ложе железы засыпали смесью стрептоцида с пенициллином и рану зашивали. Патологические явления в подчелюстных железах наблюдались спустя 12—14 ч и характеризовались резкой отечностью, множественными кровоизлияниями в паренхиму, очагами некроза, обильным фибринозным выпотом. К седьмому дню развивался фиброз железы.

Ферментные препараты вводили на 0,85 % NaCl дважды в сутки (сразу после травматизации желез и спустя 10—12 ч); крысям контрольной группы (с экспериментальным субмаксиллитом) вводили 0,85 % раствор NaCl без ферментов (местно и внутримышечно). Через 24 ч крысы забивали, выделяли подчелюстные железы и взвешивали на торционных весах. Гомогенаты слюнных желез готовили из расчета 20 мг сырого веса желез на 1 мл физиологического раствора. После центрифugирования при 2000 g в течение 15 мин при 4°C для исследования использовали надосадочную жидкость. Определяли активность калликреиноподобного фермента по расщеплению БАЭЭ (бензоил-аргинин этиловый эфир), активность щелочных протеиназ по расщеплению казеина при pH 7,6, активность катепсинов — по расщеплению гемоглобина при pH 3,5, активность щелочной и кислой фосфатаз по расщеплению парнитрофенилфосфата при pH 10,5 и 4,8 соответственно. Активность всех ферментов определяли по ранее описанным методам [3] и выражали в соответствии с рекомендациями Международного биохимического союза [1] в катаалах. За 1 катал (кат) принимали каталическую активность, способную осуществлять реакцию со скоростью 1 моль/с в условиях, оптимальных для данного фермента. Рассчитывали активность (в мккат/кг или в нккат/кг сырого веса) и удельную активность (в мккат/кг белка). Концентрацию белка определяли методом Лоури.

Во II серии (102 крысы) исследовали лечебное действие ферментных препаратов в динамике развития экспериментального субмаксилита. Для исследования возможности гнойных осложнений ферменты вводили на растворе антибиотиков дважды в сутки в течение семи дней. Раствор антибиотиков содержал 500 тыс. ед. бензил-пенициллина, 0,5 г стрептомицина сульфата, 0,5 г мономицина в 250 мл дистиллированной воды. Трипсин вводили в мышцу бедра по 0,25 мг на крысу дважды в сутки. В качестве ингибитора трипсина был использован контрикал (ГДР), который вводили местно в область подчелюстных желез дважды в сутки в дозе 1000 Ед на крысу. Комплекс антибиотиков — лизоцим (5 мг/мл), РНКазу (1 мг/мл) и ДНКазу (1 мг/мл), растворенных в растворе антибиотиков, вводили внутримышечно дважды в день по 0,5 мл. Крысям контрольной группы (с экспериментальным субмаксиллитом) вводили

раствор антибиотиков без ферментов (по 0,5 мл местно и внутримышечно). Животных забивали на первые, третий и седьмые сутки заболевания, выделяли подчелюстные железы и в их гомогенате определяли концентрацию белка и активность трех важнейших секрециируемых ферментов подчелюстной железы: калликреиноподобной протеиназы, щелочной и кислой фосфатазы. Результаты экспериментов обрабатывали вариационно-статистическим методом [4].

Результаты исследований и их обсуждение

В таблице показано изменение веса подчелюстной железы крыс при различных способах введения указанных ферментных препаратов. Из представленных данных видно, что через сутки после воспроизведения субмаксиллита в 1,5 раза увеличивается абсолютная (мг) и относительная (мг/кг) масса подчелюстной железы. Внутримышечное введение

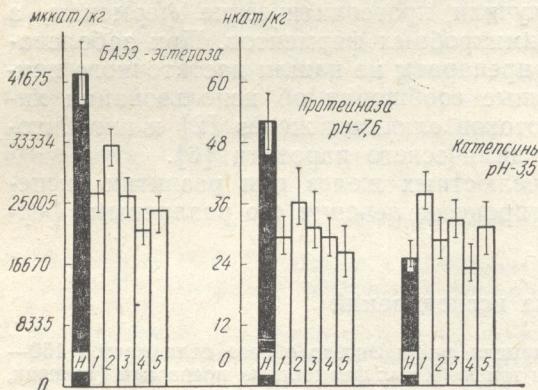


Рис. 1. Влияние различных ферментных препаратов на активность протеолитических ферментов подчелюстной слюнной железы крысы при травматическом субмаксиллите.

Черные столбики — норма, белые — субмаксиллит. 1 — леченые, 2 — трипсин внутримышечно, 3 — контрикал внутримышечно, 4 — контрикал местно, 5 — RNKaza внутримышечно.

ние трипсина и местное введение контрикала вызывают достоверное снижение массы подчелюстной железы до такой степени, что она практически не отличается от соответствующего показателя у интактных животных. В то же время местное введение трипсина и дистантное введение контрикала, так же как и любые введения RNKазы, не оказывают существенного эффекта на массу воспаленной слюнной железы.

Если считать, что увеличение массы подчелюстной железы при экспериментальном субмаксиллите происходит за счет отека (о чем свидетельствуют данные гистологического исследования), то уменьшение массы воспаленной железы надо рассматривать как благоприятное лечебное воздействие.

Из представленных данных видно, что лечебное действие трипсина и его ингибитора определяется, прежде всего, способом их введения: противоотечное действие протеиназы выявляется при дистантном введении, а ингибитора — при местном.

На рис. 1 показано, что при экспериментальном субмаксиллите достоверно снижается активность калликреиноподобного ферmenta (БАЭЭ-эстеразы и протеиназы рН 7,6), тогда как активность катепсинов рН 3,5 достоверно возрастает. Внутримышечное введение трипсина достоверно повышает активность БАЭЭ-эстеразы, хотя и не восстанавливает ее к норме. Внутримышечное введение контрикала или RNKазы не изменяет активность БАЭЭ-эстеразы. Местное введение ингибитора несколько снижает активность калликреиноподобного ферmenta. Активность протеиназы рН 7,6 мало изменяется при введении ферментных препаратов. Напротив, активность катепсинов рН 3,5, повышенная при субмаксиллите, снижается при введении всех препаратов, особенно при местном введении контрикала.

При экспериментальном субмаксиллите в ткани подчелюстной железы резко, в три-четыре раза, снижается активность щелочной и кислой фосфатаз. Внутримышечные инъекции трипсина и местное введение

Влияние лечебных

ние ингибитора фаз подчелюстной железы RNKазы

Как видно из приведенных данных, введение

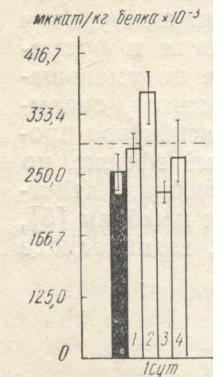


Рис. 2. Влияние различных ферментных препаратов на удельную активность протеолитических ферментов подчелюстной слюнной железы крысы при травматическом субмаксиллите.

Рис. 3. Влияние различных ферментных препаратов на удельную активность протеолитических ферментов подчелюстной слюнной железы крысы при травматическом субмаксиллите.

тивность этого ферmenta. Дистантное введение ингибитора восстанавливает ее к норме.

Влияние различных ферментных препаратов на удельную активность протеолитических ферментов подчелюстной слюнной железы крысы при травматическом субмаксиллите.

Вводимый препарат	0,85 % NaCl
Трипсин	0,85 % NaCl
Контрикал	0,85 % NaCl
RNKaza	0,85 % NaCl

шечно). Животных или подчелюстные ность трех важнейших подобной протеина- работывали вариа-

железы крыс при препараторов. Из воспроизведения (мг) и относи- мышечное введе-

ние различных фер- паратов на актив- нических ферментов слюнной железы травматическом суб- максилите.

— норма, белые — суб- не леченые, 2 — трип- син, 3 — контрикал вну- контрикал местно, 4 — внутримышечно.

вают достоверное ни, что она практика у интактных и дистантное введение БАЭЭ, не оказывает слюнной железы. Железы при эк- отека (о чём сви-), то уменьшение благоприятное ле-

действие трипсина бом их введения: дистантном введе-

субмаксилите доб-ного фермента ктивность катепси- введение трипсина тя и не восстанов- жала или РНКазы ведение ингибитора фермента. Актив- дении ферментных б, повышенная при- ятков, особенно при подчелюстной же- щелочной и кис- а и местное введен-

ние ингибитора протеаз достоверно повышают активность обеих фосфатаз подчелюстной слюнной железы, хотя и не восстанавливают ее к контролльному уровню. Дистантное введение ингибитора, а также инъекции РНКазы не изменяют существенно активность фосфатаз.

Как видно из рис. 2, развитие субмаксилита сопровождается резким прогрессирующим снижением активности калликреиноподобного фермента. Введение антибиотиков достоверно увеличивает удельную ак-

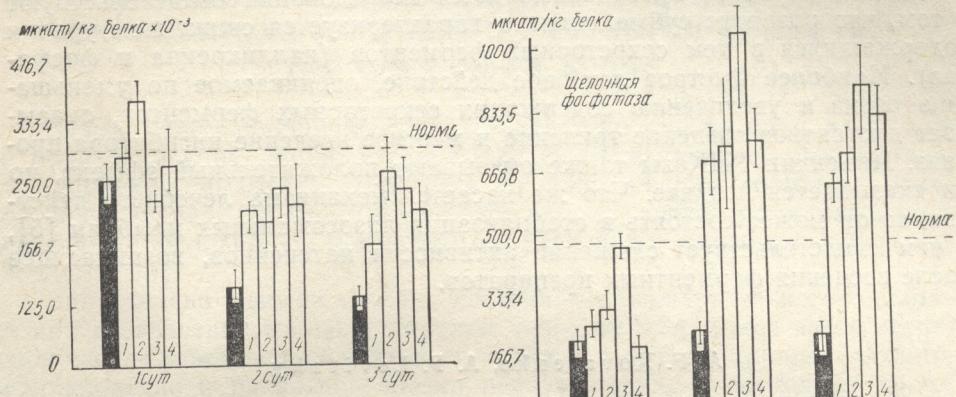


Рис. 2. Влияние ферментных препаратов на удельную активность БАЭЭ-эстеразы подчелюстной слюнной железы крыс при травматическом субмаксилите.

1 — антибиотики, 2 — трипсин+антбиотики внутримышечно, 3 — контрикал+антбиотики местно, 4 — РНКаза+антбиотики внутримышечно.

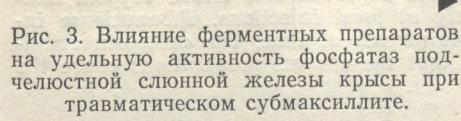


Рис. 3. Влияние ферментных препаратов на удельную активность фосфатаз подчелюстной слюнной железы крысы при травматическом субмаксилите.

Условные обозначения см. рис. 2.

тивность этого фермента, хотя и не восстанавливает ее к норме. Дистантное введение трипсина или местное введение контрикала восстанавливает БАЭЭ-эстеразную активность в значительно большей степени.

Влияние различных способов введения ферментных препаратов на массу подчелюстной железы крысы при экспериментальном травматическом субмаксилите (интактные 153 мг и 997 мг/кг соответственно)

Вводимый препар- ат	Суточная доза	Масса железы через 24 ч			
		местное введение		внутримышечное введение	
		мг	мг/кг	мг	мг/кг
0,85 % NaCl	1,0 мл	219±8	1201±32	225±14	1207±55
Трипсин	0,5 мг	229±10	1256±39	182±9	998±42
	p	>0,3	>0,2	<0,05	<0,01
Контикал	1000 ед	167±4	928±1	208±6	1124±54
	p	<0,001	<0,001	>0,3	>0,2
РНКаза	5 мг	215±12	1198±58	208±13	1145±62
	p	>0,7	>0,9	>0,4	>0,4

Развитие травматического субмаксиллита характеризуется резким снижением удельной активности щелочной и кислой фосфатаз, наблюдаемым уже с первого дня заболевания (рис. 3). Введение одних антибиотиков или в комбинации с ферментами увеличивает удельную активность обеих фосфатаз. Особенно эффективно местное введение контрикала: удельная активность фосфатаз становится даже выше соответствующего показателя у интактных крыс.

Таким образом, проведенные нами исследования свидетельствуют о том, что развитие субмаксиллита характеризуется снижением уровня содержащихся в нем секреторных ферментов (калликреина и фосфатаз). Наиболее быстрое лечебное действие, оцениваемое по уменьшению отека и увеличению содержания секреторных ферментов, оказывает дистантное введение трипсина и местное введение ингибитора протеаз. Инъекции РНКазы также оказывают положительный эффект, но он оказывается позднее. Что же касается механизма лечебного действия, то он может состоять в стабилизации лизосомальных мембран [5], о чем свидетельствует снижение активности катепсинов, возникающее после введения ферментных препаратов.

A. F. Kovalenko, A. P. Levitsky

EFFECT OF THERAPEUTIC ENZYME PREPARATIONS ON THE
ACTIVITY OF ENZYMES OF RAT SUBMAXILLARY SALIVARY GLAND
UNDER EXPERIMENTAL TRAUMATIC SUBMAXILLITIS

Summary

Experimental submaxillitis was caused by trauma of rat submaxillary glands. Development of this disease was accompanied by an increase in the glands weight due to the oedema, and the lowering of the activity of secretory enzymes (kallikrein, alkaline and acid phosphatases). Trypsin (0.25 mg) intramuscular injections caused a decrease in the submaxillary gland weight and an increase in the secretory enzyme activity. But trypsin injections in the submaxillary region produce no favourable effect. Trypsin inhibitor caused a favourable therapeutic effect only at local injections. Ribonuclease injections manifested their treating effect in remote periods of time. The cathepsin activity was lowered by these drugs. It is concluded that the enzyme preparations cause the stabilization of lysosomal membranes.

Department of Surgical Stomatology
Medical Institute, Odessa;
Laboratory of Biochemistry,
Institute of Stomatology, Odessa

Список литературы

- Браунштейн А. Е. Номенклатура ферментов. М.: Наука, 1979. 380 с.
- Клементов А. В. Болезни слюнных желез. Л.: Медицина, 1975. 110 с.
- Левицкий А. П. Пищеварительные ферменты слюнных желез: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Одесса, 1974. 53 с.
- Монцевич-Эринген Е. В. Упрощенные математико-статистические методы в медицинской исследовательской работе.— Патол. физиология и эксперим. терапия, 1964, № 4, с. 71—78.
- Покровский А. А., Тутельян В. А. Лизосомы. М.: Наука, 1976. 312 с.
- Сакович А. А. Материалы к лечению неэпидемических паротитов (экспериментальные и клинические исследования): Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Л., 1976. 16 с.

Кафедра хирургической стоматологии
Одесского медицинского института;
лаборатория биохимии
Одесского института стоматологии

Поступила в редакцию
19.III 1980 г.

УДК 612.331

ВЛИЯНИЕ
УСКОРИ

Рядом р.
то рода уско
передвижени
нов пищеваре
действия про
[8, 11, 12, 20]

Значител
та при возде
чающихся в
возникновени
показано, что
ятельности ж
нами [2, 17]
зорбтивной а

Мы иссл
активность и
прямолинейн

Исследован
ных собаках с
ферментативн
деляли в покое,
переменных уско
качелей в течени

Активность
соке определяли
[15], амилолити

При провод
оболочки кишки
в полость изолир
пробы без повре
опыта для оцен
личных воздейст
в абсолютном аи
дин-парафин. Ср
стояния слизисто
срезе ворсинки и
микрометра. Сос
синке подсчитыва

Влияние
следования п
проведенные в
в покое секре
ства на плотн

Воздейств
разнонаправле
ка: у одной с