УДК 616.36:616.44

Л. М. МЕЖЛУМЯН, Д. Н. ХУДАВЕРДЯН

НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО
СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ
ГИПОПАРАТИРЕОЗЕ

Проведены исследования активности гистидазы, уроканиназы, а также процесса липидной пероксидации в печени и крови крыс при экспериментальном гипопаратиреозе. Обнаружено понижение уровня кальция в сыворотке крови и активности гистидазы и уроканиназы в печени с одновременным повышением активности ферментов в крови. Одновременно нарушается процесс липидной пероксидации в печени. В опытах *in vitro* показана возможность прямого влияния паратгормона на активность изучаемых ферментов. Обнаруженные изменения свидетельствуют о нарушении функционального состояния печени при гипопаратиреозе.

Исследованиями ряда авторов [5, 11—13] показана функциональная связь между печенью и околощитовидными железами, особенно ярко проявляющаяся при паратиреоидной недостаточности. Однако имеющиеся клинико-экспериментальные данные носят в основном описательный характер и не позволяют судить о функциональном состоянии печени при дисфункции околощитовидных желез. Между тем изучение функционального состояния печени при гипопаратиреозе представило бы значительный интерес в плане выяснения механизмов, лежащих в основе обменных расстройств, характерных при указанной патологии. Для выявления характера и степени поражения печени мы изучали активность ферментов, расщепляющих гистидин-гистидазы и уроканиназы, которые, будучи органоспецифическими ферментами, находятся в печени и могут мигрировать в кровь лишь при ее поражениях. Работами ряда авторов [1—4, 6, 8] показана зависимость между тяжестью поражения печеночной паренхимы и уроканиназой, гистидазой активностью сыворотки крови.

В ряде работ отечественных и зарубежных авторов показана возможность гормональной регуляции активности вышеназванных ферментов. Так, по данным Нода с соавтор. [15], при длительном подкожном введении крысам тироксина отмечается понижение активности гистидазы в печени. Аналогичные данные получены К. Н. Мясоедовой [9], установившей понижение активности гистидазы при гипертиреозе и повышение — при тиреоидэктомии. По ее данным, гистидазная активность печени крыс обратно пропорциональна величине вводимого тиреоидного гормона и не зависит от гормонов коры надпочечников. Фигельсон [14], изучая эстрогенную регуляцию гистидазной активности в печени, показал понижение ее активности у оварэктомированных животных, восста-

навливающейся после введения 17-эстрадиола и не изменяющееся после инъекции прогестерона. В. Г. Мхитарян с соавт. [7] в эксперименте и в крови больных сахарным диабетом обнаружили высокую уроканиназную и гистидазную активность. Инсулин, введенный крысам с аллоксановым диабетом, обнаруживал тенденцию к восстановлению активности исследуемых ферментов в печени и крови. Вышеуказанные литературные данные свидетельствуют о важной роли гормонов в сохранении структурной целостности и проницаемости гистогематических барьеров печени. Исходя из этого, для выявления функционального состояния печени паратиреоидэктомированных крыс мы определяли активность ферментов одновременно в сыворотке крови и в гомогенате печени в различные сроки после удаления околощитовидных желез (2-, 4-, 8-, 12-, 30-й дни).

Работа выполнена на 88 белых крысах-самцах весом 100—150 г. Гипопаратиреоз вызывали путем электрокоагуляции околощитовидных желез. О степени развившейся паратиреоидной недостаточности судили по понижению содержания общего кальция в сыворотке крови, определяемого фотометрически. Активность ферментов в гомогенатах печени и в сыворотке крови определяли спектрофотометрическим методом Тейбора и Мелера [16] в модификации С. Р. Мардашева и В. А. Буробина [8]. Уроканиназную и гистидазную активность в крови выражали в условных единицах разложившейся (для уроканиназы) и образовавшейся (для гистидазы) уроканиновой кислоты $\times 10^2$ при одночасовой инкубации в расчете на 1 мл сыворотки крови, а для печени — в мкмоль/г/час на 100 г веса животных.

Результаты статистической обработки полученных данных представлены в таблице. Как видно из таблицы, у интактных животных активность гистидазы и уроканиназы в печени составляла соответственно $10,2 \pm 0,6$ и $13,3 \pm 0,66$ мкмоль/г/час на 100 г веса животного при их нулевой активности в крови, что согласуется с литературными данными. У подопытных крыс на вторые сутки после операции гистидазная активность печени превышает контрольные величины на 3,6%, а уроканиназная снижается на 4,6% с повышением их активности в крови до 0,34 и 0,26 ед. соответственно. Значительные сдвиги в активности исследуемых ферментов наблюдаются в поздние сроки исследования. Так, уже на 4-й день после удаления околощитовидных желез гистидазная активность в печени снижается на 51,8%, а уроканиназная на 13,6% с их усиленным перемещением из печени в кровь, где активность гистидазы составляет 1,08, а уроканиназы 0,94 ед. При ознакомлении с таблицей нетрудно заметить, что с удлинением сроков исследования происходит дальнейшее снижение активности ферментов в печени и их значительное повышение в крови, что свидетельствует о прогрессирующем поражении печени. На 8- и 12-е сутки гистидазная активность печени ниже контроля соответственно на 53,5 и 69,7%, а уроканиназная — на 43,6 и 45,6%. В крови в указанные сроки активность гистидазы составила соответственно 1,16 и 1,9 ед., в то время как уроканиназная активность крови

Таблица

Содержание кальция, липидных перекисей и активность уруканиназы и гистидазы в печени и крови крыс при гипопаратиреозе

Сроки после операции (в днях)	Содержание кальция в крови в мг ^о /%	Содержание липидных перекисей в печени в ед.	% изменения	Печень в мкмоль/г/час на 100 г веса животного				Кровь (в условных ед.)	
				гистидаза	% изменения	уруканиназа	% изменения	гистидаза	уруканиназа
Контроль	8,5±0,29 n=9	10018±276 n=16		10,2±0,6 n=12		13,3±0,66 n=12		0	0
2-й	5,48±0,29 n=6 P<0,001	7400±741,0 n=6 P<0,02	-26,2	10,58±0,7 n=6	+3,6	12,7±0,8 n=6	-4,6	0,34±0,15	0,26±0,15
4-й	5,8±0,8 n=5 P<0,05	1143,8±722 n=6 P<0,02	+14,3	4,92±0,8 n=6 P<0,01	-51,8	11,5±1,3 n=6	-13,6	1,08±0,4	0,94±0,3
8-й	4,97±0,77 n=5 P<0,01	13350±806 n=6 P<0,01	+35,5	4,75±0,4 n=6 P<0,001	-53,5	7,5±1,4 n=6 P<0,01	-43,6	1,16±0,7	0,74±0,19
12-й	4,16±0,6 n=5 P<0,01	11035±385 n=6 P>0,05	+10,35	3,1±0,46 n=6 P<0,001	-69,7	7,1±0,24 n=6 P<0,001	-45,6	1,9±0,36	1,6±0,44
30-й	4,1±0,4 n=6 P<0,001	6833±709 n=6 P<0,01	-31,8	4,44±0,58 n=6 P<0,001	-43,5	7,5±0,9 n=6 P<0,01	-43,6	0,25±0,08	0,37±0,2

на 8-е сутки, равняясь 0,94 ед., несколько превалировала над активностью, определяемой на 12-е сутки (0,74 ед). На 30-й день исследования активность гистидазы и уроканиназы в печени по сравнению с контролем понизилась соответственно на 43,5 и 43,6%, а в крови составила 0,25 и 0,37 ед.

Любопытно, что через месяц после операции с понижением активности ферментов в печени понижается их активность и в крови. Таким образом, если гистидазная активность, начиная с 4-го дня исследований, обнаруживает постоянную, все нарастающую тенденцию к снижению в печени и увеличению в крови, уроканиназная активность, уменьшаясь в печени, не обнаруживает перманентного нарастания в крови. Такое неодинаковое перемещение изучаемых органоспецифических ферментов из печени в русло крови связано, вероятно, с размерами их молекул, различной локализацией, прочностью связи этих ферментов с мембранами. При сопоставлении полученных нами данных с литературными представляется интересным более значительное изменение активности гистидазы по сравнению с активностью уроканиназы как в печени, так и в крови, выявленное нами. Обнаруженное на 2-й день повышение активности гистидазы на 3,6% находит свое подтверждение в исследованиях В. Е. Стефанович [11] и указывает на некоторое усиление синтетических процессов в печени в ранние сроки после удаления околощитовидных желез. Хотя установленное В. В. Савичем [10], М. С. Кахана [5] и другими авторами нарушение процессов дезаминирования аминокислот при гипопаратиреозе не вскрывает механизмов, лежащих в основе выявленных фактов, сопоставление их с нашими данными позволяет допустить, что в основе обнаруженных нарушений лежит изменение активности ферментных систем, ответственных за распад аминокислот, в частности гистидазы и уроканиназы.

Таким образом, при гипопаратиреозе происходит поражение печеночной паренхимы, которое, со временем усиливаясь, приводит к резкому понижению активности органоспецифических ферментов печени — гистидазы и уроканиназы и их повышению в крови. Это предположение находит свое подтверждение в морфогистохимических исследованиях печени, проведенных в нашей лаборатории.

Каковы же причины, приводящие к перемещению исследуемых органоспецифических ферментов печени в русло крови? Как было отмечено выше, неодинаковое перемещение гистидазы и уроканиназы в русло крови может быть связано с размерами их молекул, прочностью связи с мембранами и различной локализацией. Однако сам факт перемещения, являясь в конечном итоге следствием, не может объяснить причинную обусловленность обнаруженных фактов. Для ответа на поставленный вопрос, на наш взгляд, прежде всего следует обратить внимание на состояние тех процессов, фактов, которые имеют непосредственное отношение к проницаемости клеточных мембран, тканей. К числу же факторов, которые могут в той или иной мере оказывать влияние на проницаемость клеточных структур тканей, следует отнести в первую очередь

липидные перекиси, которые, разрушая биоантиоксиданты, усиливают пероксидацию фосфолипидов, вызывая тем самым их деструкцию. Немаловажное значение отводится также кальцию и системе гиалуроновая кислота—гиалуронидаза. Исходя из этого, нами проведены исследования по изучению состояния липидной пероксидации при гипопаратиреозе. Уровень липидной пероксидации определяли по интенсивности окраски малонового диальдегида с тиобарбитуровой кислотой и по формуле

абсорбция при 535 НМ·100

г сырой ткани

Липидные перекиси в незначительном количестве содержатся в органах и тканях здоровых животных и принимают участие в нормальном функционировании клеток. В наших исследованиях на 2-й день после удаления околощитовидных желез в печени крыс отмечалось уменьшение содержания липидных перекисей на 26,2%, в то время как на 4-, 8-, 12-й дни уровень их соответственно возрос на 14,3, 35,5, 10,35%. К 30-му дню исследования содержание липидных перекисей по сравнению с контролем снизилось на 31,8%. Обнаруженные волнообразные изменения в содержании перекисей в печени, возможно, обусловлены как изменениями в содержании тканевых естественных антиоксидантов, так и компенсаторно защитными механизмами организма, приводящими, по всей вероятности, к перераспределению и перемещению антиоксидантов из соответствующих депо в печень с предотвращением дальнейшего усиления липидной пероксидации. Видимо, этим следует объяснить уменьшение количества липидных перекисей в печени крыс на 30-й день после операции, которое, будучи компенсаторным эффектом, относительно стабилизирует мембранную проницаемость, тем самым приводя к понижению активности ферментов в крови при пониженной их активности в печени. Как было отмечено выше, в процессах проницаемости клеточных мембран немаловажную роль отводят уровню кальция в крови и активности гиалуронидазы. В наших опытах почти во всех исследуемых пробах отмечено снижение содержания общего кальция в сыворотке крови по средним данным до 4,1—5,8 мг% (против контрольных 8,5 мг%). Предварительные данные, полученные в нашей лаборатории при изучении гиалуронидазной активности, показали ее повышение в печени и крови, выявляющееся с 5-го дня и нарастающее во времени.

Таким образом, при гипопаратиреозе происходит существенное нарушение проницаемости клеточных мембран, в основе которого лежат нарушения процессов липидной пероксидации, обмена кальция и системы гиалуроновая кислота—гиалуронидаза.

Как было отмечено выше, на 30-й день исследования наряду с уменьшением активности ферментов в крови отмечается низкий уровень их активности в печени, хотя, если исходить из вышеприведенных соображений, активность ферментов в печени должна быть повышенной. Эти данные позволяют допустить, что при гипопаратиреозе (наряду с по-

вреждением печеночной паренхимы) нарушается также активность самих изучаемых ферментов. Исходя из этих соображений, представилось интересным изучить активность ферментов при непосредственном воздействии на них паратгормона и кальция в условиях *in vitro*, что позволило бы решить вопрос о возможности непосредственного влияния паратгормона на активность ферментов и показать, что эффекты гипопаратиреоза могут быть опосредованы не только изменениями в содержании кальция и фосфора. Исследования показали, что при инкубации гомогенатов печени с различными концентрациями кальция (5, 10, 20, 30 мг%) происходит понижение активности ферментов лишь при высоких концентрациях кальция (20—30 мг%), в то время как при низких концентрациях (5—10 мг%) заметных изменений в активности гистидазы и урокиназы не отмечается. Значительный интерес представляют опыты с применением паратгормона. Установлено, что, начиная с концентрации 0,01 ед. гормона на мл гомогената и более, происходит значительное снижение активности исследуемых ферментов, указывающее на непосредственное влияние паратгормона на активность гистидазы и урокиназы.

Резюмируя полученные данные, можно прийти к заключению, что при гипопаратиреозе происходит: а) понижение активности гистидазы и урокиназы в печени с их миграцией в русло крови; б) волнообразное изменение процессов липидной перекисидации, характеризующееся понижением количества липидных перекисей на 2- и 30-й дни исследования и повышением на 4-, 8-, 12-й дни.

Обобщая результаты проведенных исследований, можно заключить, что при гипопаратиреозе происходит существенное нарушение функционального состояния печени, характеризующееся изменением активности гистидазы и урокиназы в печени и в крови, повышением проницаемости клеточных мембран и тканей, в основе которых, по всей видимости, лежит нарушение процессов липидной перекисидации.

Центральная научно-исследовательская
лаборатория Ереванского медицинского института

Поступила 23/II 1977 г.

Լ. Մ. ՄԵՃԼՈՒՄՅԱՆ, Գ. Ն. ԽՈՒԴԱՎԵՐԴՅԱՆ

ՓՈՐՁՆԱԿԱՆ ՀԻՊՈՊԱՐԱԹԻՐԵՈԶԻ ԺԱՄԱՆԱԿ ԼՅԱՐԴԻ
ՖՈՒՆԿՑԻՈՆԱԿ ԿԻՃԱԿԸ ԲՆՈՒԹԱԳՐՈՂ ՈՐՈՇ ՅՈՒՑԱՆԻՇՆԵՐ

Ա մ փ ո փ ու մ

Սպիտակ առնետների լյարդում և արյան շիճուկում ուսումնասիրվել է հիստիդազայի և ուռուկանինազայի ակտիվությունը: Նույն փորձի պայմաններում հետազոտվել է նաև լիպիդային պերօքսիդացման պրոցեսը:

Բացահայտվել է, որ փորձնական հիպոպարաթիրեոզի ժամանակ զգալի չափով իջնում է հիստիդազայի ու ուռուկանինազայի ակտիվությունը լյարդում:

որը հավանաբար արդյունք է նրա, որ լյարդից ֆերմենտները միգրացիայի են ենթարկվում դեպի արյուն: Այդ իսկ պատճառով, արյան մեջ հայտնաբերվել է հիստիդազան և ուռոկանինազան: Միաժամանակ դիտվել է լիպիդային պերօքսիդացման պրոցեսների խանգարում լյարդում և կալցիումի քանակի անընդհատ իջեցում արյան մեջ: *In vitro* փորձերում դիտվել է պարատ հորմոնի անմիջական ազդեցությունը նշված ֆերմենտների ակտիվության վրա: Հայտնաբերված փոփոխությունները վկայում են այն մասին, որ հիպոպարաթիրեոզի ժամանակ խանգարվում է լյարդի ֆունկցիոնալ վիճակը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Блинова Т. В. Вопросы мед. химии, 1968, 3, стр. 307.
2. Блинова Т. В. В кн.: Биохимия микробов и иммунохимия. Горький, 1966, стр. 118.
3. Буробин В. А. и Леонова Н. А. Вопросы мед. химии, 1963, 3, стр. 322.
4. Горкина З. А. и Блинова Т. В. В кн.: Биохимия микробов и иммунохимия. Горький, 1966, стр. 117.
5. Кахана М. С. Патофизиология эндокринной системы. М., 1968.
6. Мансурова И. Д. Биохимия печени при болезни Боткина и боткинских циррозах. Душамбе, 1946, стр. 40.
7. Мхитарян В. Г., Межлумян Л. М. Журнал exper. и клинич. мед. АН АрмССР, 1974, XIV, 6, стр. 36.
8. Мардашев С. Р. и Буробин В. А. Вопросы мед. химии, 1962, 3, стр. 320.
9. Мясоедова К. Н. Биохимия, 1966, 1, стр. 182.
10. Савич В. В. Сборник, посвященный 25-летию научной деятельности проф. Н. Н. Аничкова. М., 1935, стр. 300.
11. Стефанович В. Е. Архив биологических наук, 1928, 28, 3, стр. 291.
12. Синельников Е. И., Кратинов А. Т. Русск. физиол. журнал, 1922, в. 5—6, стр. 296.
13. Сперанская Е. Н. Труды Института физиологии им. Павлова, т. 3. М.—Л., 1954 стр. 547.
14. Feigelson M. J. Biol. chem., 1968, 243, 5088.
15. Noda K., Kusaka Y., Yoshida A. Agr. Biol. chem., 1967, 31, 217.
16. Tabor H. and Meeler. Meth. Enzymol., 1955, 2, 288.