

УДК 612.12

Д. Н. ХУДАВЕРДЯН, Л. Р. НАЗАРЯН

ГИАЛУРОНИДАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ КРОВИ, ПЕЧЕНИ И МОЗГА ПАРАТИРЕОИДЭКТОМИРОВАННЫХ КРЫС

У паратиреоидэктомированных крыс установлено повышение активности гиалуронидазы в сыворотке крови, печени и головном мозге, которое в основном связано с уменьшением кальция в крови, оказывающего на активность фермента как непосредственное, так и опосредованное влияние.

Исследованиями нашей лаборатории [8] установлено, что у крыс с гипопаратиреозом происходит миграция органоспецифических ферментов в русло крови. Естественно, возникает вопрос, что же является причиной их проникновения в русло крови? По-видимому, немаловажную роль в этом играют те факторы, которыми определяется проницаемость клеток и тканей. В этом смысле большое значение имеют ионы кальция и система гиалуроновая кислота—гиалуронидаза.

Гиалуроновая кислота широко распространена в животном организме. Заполняя межклеточные пространства тканей, стенок кровеносных и лимфатических сосудов, она играет большую роль в регуляции тканевой проницаемости. Установлено, что на гиалуроновою кислоту действует целый комплекс ферментов под общим названием гиалуронидаза. Под действием гиалуронидазы происходит диссоциация гиалуроновою кислоты на составные части, что ведет к повышению проницаемости клеточных мембран и тканей [1—3, 9—12, 14, 18].

Исходя из вышеизложенного, нами была поставлена задача изучить у крыс в различные сроки после удаления околощитовидных желез (5—6, 9—11, 20—21-й дни) активность гиалуронидазы в сыворотке крови, печени и головном мозге.

Материал и методика

Работа выполнена на 104 крысах-самцах весом 100—150 г. Гипопаратиреоз вызывали путем электрокоагуляции околощитовидных желез. О степени его развития судили по понижению содержания кальция в сыворотке крови, определяемого фотометрически. Активность гиалуронида-

зы определялась по методу Мак Клин—Л. Г. Смирновой [9, 10] и выражалась в титре гиалуронидаза/мл.

Проведены 3 серии опытов. В первую серию были включены интактные и паратиреоидэктомированные животные. Для выяснения роли кальция и паратгормона в изменениях активности гиалуронидазы были поставлены две дополнительные серии экспериментов. В одной серии активность гиалуронидазы в сыворотке крови, головном мозге и печени паратиреоидэктомированных крыс (забитых на 9—11-й дни после операции, когда содержание кальция в крови составляло $4,1-5\text{ мг\%}$) определялась после добавления *in vitro* определенных количеств хлористого кальция и паратгормона. Хлористый кальций добавлялся из расчета 5, 10 и 20 $\text{мг\%}$, а паратиреоидин—0,01, 0,015, 0,02 ед. на мл гомогената.

В другой серии паратгормон и хлористый кальций вводились паратиреоидэктомированным животным начиная с 5—6-го дня после операции. Инъекции производились ежедневно в течение недели до забоя крыс. Паратгормон вводился подкожно в дозе 0,07 ед. на кг веса, а хлористый кальций—внутривенно из расчета 10 $\text{мг\%}$.

Статистическая обработка полученных результатов проведена по методу Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Результаты статистической обработки полученных данных представлены в таблице и на диаграмме.

Из таблицы видно, что на 5—6-й день после удаления околотитровидных желез титр гиалуронидазы в крови составляет $2\pm 0,02$ против $0,6\pm 0,016$ у интактных крыс. В дальнейшем активность гиалуронидазы в крови еще более повышается и через 9—11 дней после паратиреоидэктомии доходит до 5,2. Увеличение активности гиалуронидазы наблюдается и в печени, где титр гиалуронидазы на 5—6-й день равняется $3,3\pm 0,04$, намного превышая контрольный уровень (0,52). Как и в крови, активность фермента в печени на 9—11-й день после операции увеличивается до 5,2. В последующие сроки (20—21-й день) наблюдений гиалуронидазная активность в крови и печени подопытных крыс не менялась.

Более значительные сдвиги обнаружены при изучении мозговой ткани. С помощью нашей методики у интактных крыс в головном мозге гиалуронидазная активность не выявлена. Через 5—6 дней после операции титр гиалуронидазы также равнялся 0. Но уже на 9—11-й дни наблюдается резко выраженная активность гиалуронидазы ($4,3\pm 0,26$).

Полученные результаты показывают, что у крыс с экспериментальным гипопаратиреозом происходит активация гиалуронидазы. Чем это объясняется? Влияет ли на активность фермента уменьшение количества кальция и паратгормона, т. е. являются ли они парализаторами гиа-

лурунидазы или нет? Ответ на это могли дать последующие серии экспериментов с добавлением к субстратам кальция и паратгормона.

Как видно из таблицы и диаграммы, в пробах с добавлением хлористого кальция наблюдалось некоторое снижение активности гиалуронидазы, не зависящее от добавляемых количеств кальция. Так, в сыворотке крови животных с гипопаратиреозом титр гиалуронидазы снизился с 5,2 до $4,3 \pm 0,36$. Подобная картина имела место в печеночной и мозговой тканях (таблица). Добавление же *in vitro* паратгормона не оказало никакого влияния на гиалуронидазную активность.

Таблица

Показатели гиалуронидазной активности крови, мозга и печени крыс в различные сроки после удаления околощитовидных желез, дополнительного введения и добавления к субстратам хлористого кальция и паратгормона ($M \pm m$)

Суб- страт	Норма	Паратиреопривные крысы (n=10)						
		5-6-й дни	9-11-й дни	20-21-й дни	добавле- ние Ca^{++}	добавление гормона	введение Ca^{++}	введение гормона
Кровь	$0,6 \pm 0,016$	$2 \pm 0,02$ $P < 0,001$	5,2	5,2	$4,3 \pm 0,4$ $P < 0,01$	5,2	$1,7 \pm 0,2$ $P < 0,001$	$1 \pm 0,06$ $P < 0,01$
Печень	0,52	$3,3 \pm 0,04$ $P < 0,001$	5,2	5,2	$2,1 \pm 0,2$ $P < 0,001$	5,2	$1,1 \pm 0,16$ $P < 0,001$	0,9
Мозг	—	—	$4,3 \pm 0,26$ $P < 0,001$	$4,3 \pm 0,06$ $P < 0,001$	$3,5 \pm 0,4$ $P < 0,02$	5,2	$1,1 \pm 0,2$ $P < 0,001$	$1,1 \pm 0,06$ $P < 0,001$

Полученные результаты говорят о том, что паратгормон, как таковой, не действует на активность гиалуронидазы, в то время как кальций играет определенную роль в проявлении активности. В связи с этим можно предположить, что в норме кальций подавляет активность гиалуронидазы. Для решения вопроса о возможности и опосредованного влияния кальция и паратгормона на активность фермента нами были проведены эксперименты по их введению паратиреоидэктомизированным животным.

Внутривенное введение кальция животным с выраженными явлениями гипопаратиреоза приводит к снижению активности гиалуронидазы. Так, в сыворотке крови титр гиалуронидазы с 5,2 понижается до $1,7 \pm 0,2$. Подавление активности фермента наблюдается в печени и в мозге (таблица и рисунок). Необходимо отметить, что после введения хлористого кальция паратиреоидэктомизированным крысам снижение активности гиалуронидазы происходит в большей степени, чем при его добавлении к субстрату в условиях *in vitro*. Если добавление паратгормона в опытах *in vitro* не влияло на гиалуронидазную активность, то непосредственное введение его в организм крыс с гипопаратиреозом приводило к резкому понижению титра гиалуронидазы во всех изученных субстратах (в крови $1 \pm 0,06$, в печени 0,9, в мозге $1,1 \pm 0,06$).

Исходя из вышеизложенного, можно прийти к выводу, что паратгормон не оказывает непосредственного влияния на активность фермента.

Понижение же активности гиалуронидазы после введения гормона обусловлено, на наш взгляд, наряду с другими возможными механизмами и нормализацией количества кальция.

Итак, повышение активности гиалуронидазы при гипопаратиреозе можно объяснить в основном уменьшением количества кальция в крови. Более выраженные эффекты введения хлористого кальция и паратиреоидина указывают на то, что повышение активности гиалуронидазы в организме паратиреоидэктомированных животных обусловлено не только



Рис.

непосредственным влиянием кальция. По-видимому, в целостном организме имеются и другие регулирующие механизмы гиалуронидазной активности. Известно, в частности, что ферментативная система гиалуроновая кислота—гиалуронидаза находится под регулирующим влиянием нервной системы [1, 4, 5, 17], функциональное состояние которой при гипопаратиреозе резко нарушается [8, 16]. По данным Х. С. Коштыянца [6], такие медиаторы нервного возбуждения, как гистамин и ацетилхолин, играют большую роль в функционировании системы гиалуроновая кислота—гиалуронидаза. Они активируют действие гиалуронидазы на гиалуроновую кислоту, снимают специфическое тормозящее действие гепарина на гиалуронидазу. Поэтому не исключено, что обнаруженное при гипопаратиреозе поражение печеночной паренхимы [7, 15] с возможным

нарушением синтеза гепарина может, в свою очередь, привести к повышению активности гиалуронидазы.

Резюмируя полученные данные, можно допустить, что одним из факторов, обуславливающих повышение проницаемости тканей при гипопаратиреозе, является нарушение деятельности системы гиалуроновая кислота—гиалуронидаза, характеризующееся повышением активности последней.

ЦНИИ Ереванского гос.
медицинского института

Поступила 26/VI 1979 г.

Դ. Ն. ԽՈՒԴԱՎԵՐԴՅԱՆ, Լ. Ռ. ՆԱԶԱՐՅԱՆ

ԱՐՅԱՆ, ԼՅԱՐԴԻ ԵՎ ՈՒՂԵՂԻ ՀԻԱԼՈՒՌՈՆԻԴԱԶԱՅԻՆ
ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ ՀԱՐՎԱՀԱՆԱԳԵՂՁԵՐԻ ԹԵՐՅՈՒՆԿՑԻԱ
ՈՒՆԵՑՈՂ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ՄՈՏ

Ներկա աշխատանքում 104 արու առնետների մոտ էլեկտրակազույցա-
ցիայի ճանապարհով կատարվել է հարվահանագեղձերի հեռացում և այդ
դեղձերի թերֆունկցիայի պայմաններում որոշվել է հիալուոնիդազայի ակ-
տիվությունը արյան շիճուկում, լյարդի և ուղեղի հյուսվածքներում:

Կատարվել են 3 փորձաշարեր.

1-ին փորձաշարում որոշվել է հիալուոնիդազայի ակտիվությունը ին-
տակա և գեղձերի թերֆունկցիա ունեցող առնետների մոտ: 2-րդ փորձաշա-
րում ֆերմենտի ակտիվությունը որոշվել է նախորոք վերը նշված հիմնանյու-
թերին Ca-ի պարատ հորմոնի որոշակի քանակ ավելացնելուց հետո, իսկ 3-րդ
փորձաշարում ֆերմենտի ակտիվությունը որոշվել է Ca-ը և պարատ հոր-
մոնը մեկ շաբաթ տևողությամբ պարաթիրեոպրիվ առնետների օրգանիզմ
ներարկելուց հետո:

Հետազոտություններից պարզվել է, որ հիպոպարաթիրեոզի պայմաննե-
րում 5—6 օրից սկսած մինչև 20—21 օրերը բարձրանում է հիալուոնիդա-
զայի ակտիվությունը բոլոր հիմնանյութերում: Պարատ հորմոնի ավելացու-
մը in vitro պայմաններում ոչ մի ազդեցություն չի ունեցել ֆերմենտի ալ-
տիվության վրա, իսկ in vivo պայմաններում նրա ներարկումը նշանակալի
չափով իջեցրել է ֆերմենտի ակտիվությունը: Ca-ը նշանակալի կերպով
իջեցրել է ֆերմենտի ակտիվությունը թե in vivo և թե in vitro պայմանների
ազդեցության դեպքում:

D. N. KHOUDAVERDIAN, L. R. NAZARIAN

HYALURONIDASE ACTIVITY OF BLOOD, LIVER AND BRAIN
OF PARATHYROIDECTOMIZED RATS

It has been established increase of the activity of hyaluronidase in
the blood serum, liver and brain in parathyroidectomized rats, which is
connected mainly with decrease of calcium in the blood.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Белов Г. Ф. Очерки по сосудистой проницаемости. М., 1956.
2. Гейман Е. Я. Успехи совр. биологии, 1947, 23, 3, 323.
3. Ируссалимская Л. А. Дисс. канд. М., 1963.
4. Каханович П. П. Нервная регуляция дыхания и кровообращения. М., 1951.
5. Козлов В. А., Эберт Л. Механизмы патологических реакций. Л., 1950.
6. Коштова Х. С. Белковые тела, обмен веществ и нервная регуляция. М., 1951.
7. Межлумян Л. М., Худавердян Д. Н. Ж. экспер. и клин. мед. АН АрмССР, 1977, 17, 29.
8. Попова А. С. Автореф. дисс. канд. М., 1971.
9. Смирнова Л. Г. Успехи современной биологии, 1957, 6, 22.
10. Смирнова Л. Г. Успехи современной биохимии, 1947, 1, 301.
11. Степанян Е. П., Меркурьева Р. В. Терапевт. архив, 1962, 3, 11.
12. Степанян Е. П. Проблемы гематологии и переливания крови, 1968, 11, 24.
13. Степанян Е. П. Клиника и терапия лучевой болезни. М., 1957, 41.
14. Степанян Е. П. Мед. радиология, 1957, 3, 19.
15. Худавердян Д. Н., Зильфян А. В., Довлатян Р. А. Труды Ереванского мед. института, т. 2. Ереван, 1977, 68.
16. Худавердян Д. Н. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1977, 6, 654.
17. Черниговский Г. А. Нервная регуляция дыхания и кровообращения. М., 1951.
18. Potter Van R., Auerbuch W. H. J. Lab. Invest., 1956, 82.