

DETERMINATION OF CELL VIABILITY AND FUNCTIONAL ACTIVITY OF ENDOCRIN CELLS OF THE PANCREAS OF THE HUMAN FETUS

It is shown that before cultivation and transplantation the viability and functional activity of endocrinal cells must be investigated. The necessary information can be obtained by means of multilayer chamber of the cover glass.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акмаева И. Г., Рябкина А. Е., Каболова З. А. Пробл. эндокрин., 1976, 22, 2, стр. 80.
2. Кабак Я. М. Практикум по эндокринологии. М., 1968.
3. Карапетян А. Е., Алексанян М. Г. Цитология, 1969, 11, 4, стр. 530.
4. Пирс Э. Гистохимия. М., 1962.
5. Поликар А., Бесси М. Элементы патологии клетки. М., 1970.
6. Резников А. Г. Методы определения гормонов. Киев, 1980.

УДК 616,37—002,1:616.15

А. Л. ПАПОВЯН, Э. Г. БАГДАСАРЯН, П. А. КАЗАРЯН

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ ИЗОФЕРМЕНТНОГО СОСТАВА ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В КРОВИ И ТКАНЯХ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПАНКРЕАТИТЕ

Установлены специфические особенности изменения изоферментного спектра лактатдегидрогеназы в различных органах (печень, почки, сердце, поджелудочная железа) собак при экспериментальном хроническом панкреатите, а также в плазме крови больных, страдающих хроническим панкреатитом.

Панкреатит является полиэтиологическим и полипатогенетическим заболеванием, сопровождающимся патологическими изменениями не только в самой железе, но и в ряде органов и тканей. Клинические наблюдения свидетельствуют о том, что одним из частых и нередко смертельных осложнений острого панкреатита является печеночно-почечная недостаточность [4, 7]. Нередко отмечают также нарушения функции сердечно-сосудистой системы [8, 10 и др.]. Интересно отметить, что при хроническом панкреатите, в частности при обострениях, может иметь место вторичное вовлечение в патологический процесс печени, почек и сердечной мышцы [1, 2, 5].

В последние годы все больше внимания уделяется изучению молекулярных разновидностей ферментов, являющихся специфическими регуляторами химических реакций в организме. Известно также, что характер распределения изоферментов в определенной мере обусловлен состоянием биохимических процессов, и изоферментный спектр претерпевает ряд изменений при различных патологических состояниях.

Исследованиями П. А. Казаряна и соавт. [3] при остром экспериментальном панкреатите установлено заметное снижение содержания некоторых фракций лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в тканях и повышение их в крови. По мнению авторов, подобные сдвиги объясняются прежде всего выбросом печеночного фермента, в частности ЛДГ₅, в кровь вследствие поражения паренхимы печени. В связи с этим определенный интерес представляет выявление изменений изоферментного состава ЛДГ в более поздние сроки изучаемого заболевания, в частности в стадии развития хронического панкреатита, что дает возможность выявления характера воспалительного процесса в поджелудочной железе.

Материал и методы

Исследования проводились на 14 непородистых собаках массой 17—22 кг. Общая активность и изоферментный спектр ЛДГ изучались при хроническом панкреатите (спустя год после отечно-геморрагического панкреатита, вызванного орошением хлорэтилом обеих поверхностей поджелудочной железы). Наряду с этим производилась перевязка головного панкреатического протока. Контролем служили ложнооперированные животные. Кроме того, изучался изоферментный состав ЛДГ в крови у 15 больных хроническим панкреатитом в стадии обострения заболевания. В качестве контрольных данных служили результаты исследования крови 10 практически здоровых лиц (доноров) в возрасте 22—55 лет.

Изоферменты ЛДГ получали методом диск-электрофореза в полиакриламидном геле с использованием прибора фирмы «Реанал» (Венгрия). Метод основан на приготовлении колонок из двух гелей разной плотности: верхнего—крупнопористого и нижнего—мелкопористого. На границе раздела гелей происходит концентрирование зоны. В процессе работы взамен крупнопористого геля использовали 40% сахарозу, а взамен мелкопористого—5,5% раствор полиакриламидного геля (к 11 мл 7,5% раствора полиакриламидного геля добавляли 4 мл дистиллированной воды).

7,5% гель готовили следующим образом [9]:

- а) 1,0 раствор HCl—48 мл, трис—36,6 г, N, N, N, N'—тетраметилэтилендиамин—0,23 мл. Объем доводили дистиллированной водой до 100 мл, pH 8,9;
 - б) 99% акриламид—28 г, N, N'—метилен-бис-акриламид—0,735 г, дистиллированная вода—100 мл;
 - в) персульфат аммония—0,140 г и дистиллированная вода—100 мл.
- Затем полученные растворы смешивали в следующих объемах: 1а:2б:4в:1 дистиллированная вода.

В качестве электродного буфера использовали трис-глициновый (трис—1,2 г, глицин—5,76 г на 2 л, pH 8,3) [11]. Для индикации в качестве метки использовали 0,001% раствор бромфенолового синего [12]. Длительность электрофореза—1 час 50 мин. Инкубационная смесь состояла из: 1 мл 1,0 М раствора лактата натрия, 1 мл 0,005 М раствора MgCl₂, 2,5 мл 0,1 М раствора фосфатного буфера (pH 7,4), 2,5 мл нит-

росинего тетразолия (1 мг/мл) [14]. Инкубацию проводили при 37°C в течение 1 часа.

Сканирование окрашенных формазановых колец геля проводили с помощью разработанного нами спектрального денситометра при длине волны 560 нм. Общую активность ЛДГ определяли спектрофотометрически при 340 мкм [6]. Количество белка определяли по методу Lowry и соавт. [13]. В связи с тем, что при изученных состояниях наблюдаются значительные изменения в содержании общего белка, активность изученных ферментов выражали не на мг белка, а на г свежей ткани.

Результаты и обсуждение

Данные, представленные в табл. 1, свидетельствуют о значительном изменении изоферментного спектра ЛДГ в различных тканях при хроническом панкреатите.

В ткани печени подопытных животных наблюдается резкое возрастание анодных фракций (особенно ЛДГ₁) и достоверное снижение ЛДГ₃ и ЛДГ₄. В поджелудочной железе при этом отмечается заметное уменьшение ЛДГ₃ и тенденция к увеличению ЛДГ₁ и ЛДГ₅. Эти изменения наблюдались в основном на фоне сниженной общей активности ЛДГ как в печени, так и в поджелудочной железе.

В почечной ткани при хроническом панкреатите отмечается тенденция к увеличению ЛДГ₂ и достоверное увеличение ЛДГ₁. Содержание ЛДГ₃ значительно снижается, а общая активность фермента при этом колеблется в пределах нормы.

В ткани сердца подопытных животных отмечается тенденция к увеличению анодных и снижению катодных фракций, а содержание ЛДГ₃ уменьшается почти на 40%. Отмечено значительное снижение общей активности ЛДГ в миокарде по сравнению с аналогичными данными у доноров.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют об изменении изоферментного спектра ЛДГ при экспериментальном хроническом панкреатите, причем сдвиги наблюдаются не только в самой поджелудочной железе, но и в других тканях (печень, почки, миокард). Выявленные сдвиги представляют определенный интерес не только в вопросах диагностики, но и в плане решения вопроса о том, насколько отмеченные изменения в тканях отражают сдвиги, происходящие в крови при изучаемой патологии поджелудочной железы.

Результаты исследований, представленные в табл. 2, свидетельствуют о значительном повышении суммарной активности ЛДГ в крови у больных хроническим панкреатитом, по сравнению с донорами. При этом наблюдается резкое увеличение содержания фракции ЛДГ₃. Умеренное повышение активности ЛДГ₅ выявлено у 5 больных из 15, у остальных показатель активности этого изофермента колебался в пределах нормы.

На основании установленного при экспериментальном хроническом панкреатите заметного снижения содержания ЛДГ₃ в тканях печени, почек, миокарда и поджелудочной железы можно предположить, что

Таблица 1

Общая активность (в $\mu\text{к.мо.л/г}$ свежей ткани) и изоферментный спектр (в % от суммы) ЛДГ в различных тканях собак при хроническом панкреатите (через год после воспроизведения заболевания, $n=5-7$)

Фракция и общая активность	Печень		Почки		Сердце		Панкреас	
	ложнооперированные	панкреатит	ложнооперированные	панкреатит	ложнооперированные	панкреатит	ложнооперированные	панкреатит
ЛДГ ₁	$5,58 \pm 0,7$	$18,78 \pm 3,2$ $P < 0,01$	$21,38 \pm 1,56$	$28,83 \pm 1,8$ $P < 0,02$	$27,30 \pm 1,8$	$32,32 \pm 1,7$ $P > 0,05$	$17,8 \pm 0,4$	$25,78 \pm 2,5$ $P > 0,2$
ЛДГ ₂	$19,6 \pm 1,2$	$28,16 \pm 2,0$ $P < 0,01$	$19,40 \pm 0,5$	$23,66 \pm 3,1$ $P > 0,2$	$34,29 \pm 1,8$	$37,17 \pm 1,0$ $P > 0,1$	$31,2 \pm 1,7$	$29,61 \pm 3,1$ $P > 0,5$
ЛДГ ₃	$28,52 \pm 1,5$	$20,11 \pm 3,2$ $P < 0,05$	$24,38 \pm 0,8$	$16,24 \pm 4,0$ $P < 0,05$	$27,42 \pm 1,9$	$17,86 \pm 1,6$ $P < 0,01$	$32,5 \pm 1,8$	$23,65 \pm 2,1$ $P < 0,05$
ЛДГ ₄	$20,34 \pm 2,0$	$12,78 \pm 0,3$ $P < 0,01$	$29,12 \pm 2,9$	$22,56 \pm 2,9$ $P > 0,1$	$12,02 \pm 2,6$	$6,89 \pm 2,8$ $P > 0,05$	$18,2 \pm 3,3$	$17,14 \pm 2,3$ $P > 0,5$
ЛДГ ₅	$25,91 \pm 2,2$	$19,74 \pm 5,1$ $P > 0,2$	$5,83 \pm 2,2$	$8,69 \pm 8,0$ $P > 0,5$	$5,61 \pm 0,05$	$3,16 \pm 2,0$ $P > 0,5$	$0,63 \pm 0,03$	$1,45 \pm 0,6$ $P > 0,5$
Общая активность	$43,95 \pm 1,1$	$33,88 \pm 0,7$ $P < 0,001$	$51,52 \pm 0,8$	$52,43 \pm 0,6$ $P > 0,5$	$49,45 \pm 1,1$	$40,64 \pm 1,4$ $P < 0,001$	$31,4 \pm 0,1$	$11,11 \pm 0,4$ $P < 0,001$

Таблица 2

Общая активность (в $\mu\text{моль/мл}$) и изоферментный спектр [(в % от суммы) ЛДГ в сыворотке крови больных хроническим панкреатитом (n=15)]

Общая активность		Ф р а к ц и и									
		ЛДГ ₁		ЛДГ ₂		ЛДГ ₃		ЛДГ ₄		ЛДГ ₅	
контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
$0,17 \pm 0,01$	$0,30 \pm 0,02$ $P < 0,001$	$35,17 \pm 2,41$	$29,35 \pm 3,26$ $P > 0,1$	$44,70 \pm 2,80$	$39,25 \pm 2,31$ $P > 0,1$	$13,61 \pm 2,91$	$23,79 \pm 2,65$ $P < 0,02$	$8,98 \pm 4,54$	$8,25 \pm 1,65$ $P > 0,5$	следы	$7,64 \pm 2,52$ $P < 0,001$

увеличение содержания фракций ЛДГ₃ в крови больных хроническим панкреатитом связано с выходом указанного изофермента из перечисленных тканей в кровь. По-видимому, поступление ЛДГ₃ в кровь (также как и ЛДГ₅) обусловлено деструкцией клеток и увеличением клеточной проницаемости при хроническом панкреатите.

Биохимический отдел ЦНИЛ, кафедра терапии
Ереванского института усовершенствования врачей

Поступила 25/VI 1982 г.

Ա. Լ. ՊԱՊՈՎՅԱՆ, Է. Գ. ԲԱԴԴԱՍՅԱՆ, Պ. Ա. ԴԱԶԱՐՅԱՆ

ԼԱԿՏԱՏԻԿԶԻԴՐՈԳԵՆԱԶԱՅԻ ԻՋՈՖԵՐՄԵՆՏԱՅԻՆ ԿԱԶՄԻ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ
ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ՏԱՐԲԵՐ ՀՅՈՒՄԱԼԱԾՔՆԵՐՈՒՄ ԵՎ ԱՐՅԱՆ
ՄԵՋ ԽՐՈՆԻԿԱԿԱՆ ՊԱՆԿՐԵԱՏԻՏԻ ԺԱՄԱՆԱԿ

Ուսումնասիրվել է լակտատդեհիդրոգենազայի ընդհանուր ակտիվության և իզոֆերմենտային կազմի փոփոխությունները շների տարբեր օրգաններում (լյարդ, սիրտ, ենթաստամոքսային գեղձ, երիկամներ) փորձարարական խրոնիկական պանկրեատիտի ժամանակ, ինչպես նաև այդ հիվանդությամբ տառապող մարդկանց արյան մեջ:

Հետազոտությունների արդյունքները վկայում են, որ արյան մեջ լակտատդեհիդրոգենազայի ընդհանուր ակտիվության և նրա երրորդ իզոֆերմենտի մակարդակների բարձրացումը, հավանաբար կապված է խրոնիկական պանկրեատիտի ժամանակ բջջային թաղանթների քայքայման և նրանց թափանցելիության մեծացման հետ:

A. L. PAPOVIAN, E. G. BAGHDASSAKIAN, P. A. GHAZARIAN

PECULIARITIES OF THE LACTATE DEHYDROGENASE ISOENZYMATIC CONTENT IN THE BLOOD AND TISSUES IN CHRONIC PANCREATITIS

The isoenzymatic spectrum of lactate dehydrogenase has been studied in chronic pancreatitis. The specific peculiarities of the change of the spectrum are established in different organs (liver, kidney, heart, pancreas) of dogs with experimental chronic pancreatitis, as well as in the blood plasma of patients with this pathology.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Голубченко О. К. Тер. архив, 1971, 4, стр. 45.
2. Заславская Г. А., Нечаев Е. Н. В кн.: Гастроэнтерология, в. 3. Киев, 1971, стр. 126.
3. Казарян П. А., Гарибян Г. Г., Пипоян А. Л. Сб. рефератов НИР и ОКР, 1979, 36, стр. 5.
4. Карташевский С. Н., Жаренкова В. Д. Острый панкреатит. Л., 1974.
5. Качура Г. А. В кн.: Современные проблемы гастроэнтерологии, в. I. Киев, 1969, стр. 26.
6. Кочетов Г. А. Практическое руководство по энзимологии. М., 1971.
7. Кузин М. И., Сорокина М. И., Добровольский В. И. и др. Клин. мед., 1976, т. 54, 4, стр. 124.
8. Маждраков Г. М. Болезни поджелудочной железы. София, 1961.

9. Мовсесян С. Г., Мовсесян Н. О. В кн.: *Вопр. биохимии мозга*, т. 10. Ереван, 1975, стр. 76.
10. Филин В. И. Острый панкреатит. Л., 1973.
11. Davis B. J. *Ann. New-York Acad. Sci.*, 1964, 121, 404.
12. Dietz A. A., Lubrano T. *Analyt Biochem.*, 1967, 20, 246.
13. Lowry O. H., Rosebrough N. J. et al. *J. Biol. Chem.*, 1951, 19, 265.
14. Markert G. L., Moller F. *Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash)*, 1961, 45, 753.

УДК 616.447:577,15

Р. С. БАБЛОЯН, К. С. МИКИРТУМОВА

АКТИВНОСТЬ ГЛУТАМИНАЗЫ В МОЗГЕ, ПЕЧЕНИ И ПОЧКАХ КРЫС ПРИ ГИПОПАРАТИРЕОЗЕ

Исследовалась активность глутаминазы в мозге, печени и почках интактных и паратиреопривных крыс на 8-й день после удаления околощитовидных желез. Опыты показали, что при гипопаратиреозе глутаминазная активность в мозге, печени и почках крыс проявляется по-разному. Активность фермента в почках повышается, в печени несколько понижается, а в мозге не подвергается изменению.

Глутаминназа, выполняя важную функцию в азотистом обмене организма, меняет свою активность под действием определенных низкомолекулярных физиологических соединений различной природы и некоторых гормонов. Так, например, тиреоидные гормоны являются сильным аллостерическим эффектором для глутаминазы мозга и почек крыс. Активность фермента в почках меняется в зависимости от функционального состояния щитовидной железы: при гипотиреозе понижается, а при гипертиреозе — повышается [4, 5].

При недостаточности функции околощитовидных желез резко понижается количество паратгормона в крови, вследствие чего в организме паратиреопривных животных происходят сдвиги в содержании кальция, фосфата, цитрата, цАМФ и др. [7, 10, 11], а также наблюдается изменение активности некоторых ферментов [2].

Мы задались целью изучить активность глутаминазы в различных органах крыс при экспериментальном гипопаратиреозе.

Материал и методы

Подопытными животными служили белые крысы (самцы) массой 110–130 г. Гипопаратиреоз вызывали коагуляцией околощитовидных желез. О недостаточности функции околощитовидных желез судили по пониженному уровню кальция в крови.

Паратиреопривных крыс декапитировали на 8-й день после удаления околощитовидных желез. У подопытных и контрольных (интактных) крыс быстро извлекали мозг, печень и почки, готовили гомогенат на трис-НСI буфере (рН 8,5) из расчета 1:9 в гомогенизаторе модели Даунса. Все операции проводили на холоде. Глутаминазную активность определяли по ранее описанной методике [4].