

УДК 616.453—008.6—06 : 616.447

Д. Н. ХУДАВЕРДЯН, Л. М. МЕЖЛУМЯН, М. А. МЕЛИКЯН,  
 Р. А. ДОВЛАТЯН, Л. Г. ХАЧАТРЯН

## ВЛИЯНИЕ $\alpha$ -ТОКОФЕРОЛА И ТИОСУЛЬФАТА НАТРИЯ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ГИПОПАРАТИРЕОЗЕ

Изучалось регулирующее влияние антиоксидантов на морфофункциональное состояние печени при гипопаратиреозе. Показано, что при гипопаратиреозе понижается активность органоспецифических ферментов печени—урокиназазы и гистидазы при одновременном повышении их в крови. Введение животным тиосульфата натрия или  $\alpha$ -токоферола в определенных дозах нормализует отмеченные нарушения.

За последние годы реакциям переокисления липидов придается все большее значение как фактору, играющему важную роль в патогенезе целого ряда заболеваний. Установлено, что избыточная липидная пероксидация повреждает мембраны клеток, вследствие чего нарушаются их проницаемость и нормальная жизнедеятельность, что приводит к развитию патологического процесса.

Наблюдаемые при гипофункции околотитовидных желез нарушения обмена кальция, процессов липидной пероксидации, системы гиалуроновая кислота—гиалуронидаза, транспортных систем клетки, скорости протеолитических реакций и др. [5, 7, 9, 11, 17] свидетельствуют о повышении при данной патологии проницаемости клеточных мембран. Это подтверждается также выраженными морфогистохимическими и гистоэнзиматическими сдвигами в печени паратиреопривных крыс [5, 6, 15]. В связи с изложенным возникла необходимость патогенетически обоснованной корреляции указанных нарушений.

Учитывая сильное антиоксидантное действие  $\alpha$ -токоферола, ингибирование им процессов липидной пероксидации, а также противотоксическое действие и антипротеазную активность тиосульфата натрия [1, 10, 13], мы использовали их как агенты, нормализующие структуру и функцию мембран.

### Материал и методы

Опыты проведены на 100 белых крысах-самцах массой 100—140 г. Гипопаратиреоз вызывали по методике, описанной ранее [6, 7]. Исследования проводились на четырех группах животных. В первую, контрольную, группу были включены интактные крысы; во вторую—паратиреопривные; в третью—животные, которым с 4-го дня после удаления околотитовидных желез (ОЩЖ) на фоне понижения кальция в

крови в течение 8 дней ежедневно внутривенно вводили 30% водный раствор тиосульфата натрия в дозе 150 мг на 100 г массы; в четвертую группу—крысы, которым в те же сроки внутривенно вводили  $\alpha$ -токоферол на Твин-80 в дозе 1 и 2 мг/кг массы. Такая дозировка была выбрана на основании данных об эффективном действии  $\alpha$ -токоферола при патологиях, характеризующихся аналогичными сдвигами [1, 2]. На 12-й день после удаления ОЩЖ часть животных декапитировали и изучали активность гистидазы и уроканиназы в печени и крови. Активность ферментов определяли спектрофотометрическим методом Тайбора и Меллера в модификации С. Ф. Мардашева и В. А. Буробина [4] и выражали в *мкмоль* разложившейся (для уроканиназы) и образовавшейся (для гистидазы) уроканиновой кислоты при одночасовой инкубации при 37°С в расчете 1 г ткани на 100 г массы животного. Активность ферментов в крови выражали в условных единицах в расчете на 1 мл сыворотки крови.

Морфогистохимические исследования проводились в ранние (12-й день) и поздние (30-й день) сроки лечения паратиреопривных крыс  $\alpha$ -токоферолом и тиосульфатом натрия. Кусочки печени фиксировали в 10% нейтральном формалине, жидкости Карнуа и заливали в парафин. Препараты окрашивали гематоксилин-эозином, по Шабадашу на гликоген (амилаза), по Браше на РНК (РНК-аза), суданом черным В на липиды и на аминокруппы по методу Иасума-Итчикава.

### Результаты и обсуждение

Наши предыдущие исследования свидетельствуют о существенном нарушении при гипопаратиреозе морфофункционального состояния печени и повышении проницаемости мембран гепатоцитов [5—7, 15, 17]. Наличие определенной связи между содержанием  $\alpha$ -токоферола и функциональным состоянием биомембран свидетельствует, что снижение его содержания может привести к повреждению клеточных мембран с нарушением их функциональной активности.

По нашим данным, у животных с гипопаратиреозом происходит снижение содержания эндогенного  $\alpha$ -токоферола в мозге, печени и крови во все сроки эксперимента, наиболее выраженное на 12-й день и составлявшее 16,4; 24,1 и 11,7% соответственно [6]. Полученные данные явились основанием к применению  $\alpha$ -токоферола для стабилизации мембран при гипопаратиреозе. Одновременно применяли тиосульфат натрия как средство с выраженным противотоксическим, антипротеазным действием. Результаты исследования представлены в таблице. После введения животным с гипопаратиреозом  $\alpha$ -токоферола в дозе 1 и 2 мг/кг массы активность ферментов подвергается неодинаковым сдвигам. Так, если под влиянием  $\alpha$ -токоферола в дозе 1 мг/кг массы активность гистидазы и уроканиназы в печени увеличивается на 70,9 и 34,6%, то при дозе 2 мг/кг массы она снижается на 19,6 и 45,4% соответственно.

В отличие от  $\alpha$ -токоферола действие тиосульфата натрия на активность ферментов менее выражено. Сравнение данных, полученных у

животных с гипопаратиреозом до и после их лечения тиосульфатом натрия, показало, что у крыс, получивших тиосульфат натрия, гистидазная активность в печени и крови почти не меняется, в то время как урокиназная активность несколько повышается в печени (на 12%) и снижается в крови (на 83%).

Активность гистидазы и урокиназы в крови и печени паратиреопривных крыс после лечения  $\alpha$ -токоферолом и тиосульфатом натрия

Группы животных	ПЕЧЕНЬ (мкмоль /г/ час на 100 г)				КРОВЬ (усл. ед.)	
	гистидаза	% изм. по сравн. с гипопаратиреозом	урокиназа	% изм. по сравн. с гипопаратиреозом	гистидаза	урокиназа
Контроль	9,36±1,11 n=6		12,7±0,95 n=6		0	0
Гипопаратиреоз	3,68±0,7 P<0,01 n=6	-60,7	10,25±0,32 P>0,05 n=6	-19,29	5,0±0,32 n=6	4,54±1,21 n=6
Гипопаратиреоз+ $\alpha$ -токоферол в дозе 1 мг/кг	6,29±1,28 P>0,05 n=8	+70,92	13,8±1,33 P<0,05 n=7	+34,63	0,19±0,003 n=8	0,31±0,006 n=7
Гипопаратиреоз+ $\alpha$ -токоферол в дозе 2 мг/кг	2,69±0,4 P<0,01 n=8	-19,6	6,6±0,6 P<0,01 n=8	-45,4	5,12±0,96 n=8	2,12±0,52 n=7
Гипопаратиреоз+тиосульфат натрия	3,81±0,3 P>0,05 n=8	+3,53	11,58±0,3 P>0,05 n=8	+12	4,94±0,81 n=8	0,78±0,68 n=8

Таким образом,  $\alpha$ -токоферол в дозе 1 мг/кг массы животного оказывает в целом нормализующее действие на активность ферментов печени и крови крыс с гипопаратиреозом, а тиосульфат натрия в расчете 150 мг/кг массы положительно влияет на активность урокиназы. При этом дозировка  $\alpha$ -токоферола имеет большое значение. Дозу  $\alpha$ -токоферола следует определять исходя из реакций, которые непосредственно связаны с антиоксидантной системой, а именно с процессами липидной пероксидации. Хотя активность урокиназы и гистидазы лишь косвенно зависят от антиоксидантной системы, тем не менее изменение их активности информирует о функциональном состоянии печени, что необходимо учитывать при введении  $\alpha$ -токоферола.

Как показали морфогистохимические исследования, на 12-й день после введения как  $\alpha$ -токоферола, так и тиосульфата натрия не отмечалось нормализации структуры органа, однако процессы внутриклеточной дистрофии, по сравнению с контролем, носили менее распространенный характер, а содержание РНК, NH<sub>2</sub>-групп белка и гликогена заметно возрастало. В поздние сроки (30-й день) после введения тиосульфата натрия и  $\alpha$ -токоферола восстанавливалось дольчатое строение и радиарная направленность гепатоцитов (рис. 1а), наблюдалась тенденция к восстановлению углеводного и белкового обмена. Цитоплазм

ма печеночных клеток была насыщена гликогеном в виде мелких интенсивно PAS-положительных зерен (рис. 1б). Возрастало также содержание РНК, что выражалось в усилении пиронинофилии цитоплазмы и ядершек. В отличие от контрольных животных в печени подопытных крыс на месте некротизированных участков разрасталась нежнволоконнистая соединительная ткань. Следует отметить, что в поздние сроки эксперимента при применении тиосульфата натрия и  $\alpha$ -токоферола сохранялись признаки гиперемии и дистрофии отдельных гепатоцитов. Периваскулярные инфильтраты состояли исключительно из малых лимфоцитов и носили ограниченный характер (рис. 1в). Отдельные лимфоциты обнаруживались в непосредственной близости от печеночных клеток, преимущественно в очагах распада.

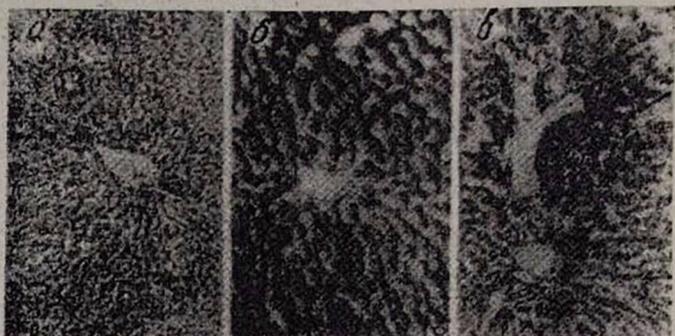


Рис. Печень паратиреопривных крыс на 30-е сутки после лечения  $\alpha$ -токоферолом и тиосульфатом натрия. а) Упорядочение радиарной ориентации гепатоцитов печеночной дольки. Гематоксилин-эозин, об.  $\times 7$ , ок.  $\times 10$ . б) Заметное увеличение содержания гликогена в гепатоцитах. PAS-реакция, об.  $\times 40$ , ок.  $\times 10$ . в) Периваскулярная круглоклеточная инфильтрация в регисне триад. Гематоксилин-эозин, об.  $\times 20$ , ок.  $\times 10$ .

Таким образом,  $\alpha$ -токоферол и тиосульфат натрия в вышеприведенных дозах начиная с 12-го дня эксперимента приводят к постепенному восстановлению архитектоники печени и нормализации углеводного и белкового обмена. Развившиеся очажки нежно-сетчатого склероза не сопровождались деформацией органа. Обнаружение в очагах распавшихся печеночных клеток лимфоцитов допускает возможность вовлечения в патологический процесс иммунных реакций.

Анализ полученных данных показывает, что тиосульфат натрия и  $\alpha$ -токоферол тормозят прогрессирование патологического процесса в печени животных с гипопаратиреозом. Исходя из этого, в комплексную терапию гипопаратиреоза мы рекомендуем включить  $\alpha$ -токоферол в дозе 1 мг/кг и тиосульфат натрия—150 мг на 100 г массы под контролем определения активности гистидазы и уроганиназы в крови.

**α-ՏՈԿՈՓԵՐՈՒԻ ԵՎ ՆԱՏՐԻՈՒՄԻ ԹԻՈՍՈՒԼՖԱՏԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ  
ԱՌՆՆՏՆԵՐԻ ԼՅԱՐԴԻ ՄՈՐՖՈՖՈՒՆԿՈՆԿՑԻՈՆԱԼ ՎԻՃԱԿԻ ՎՐԱ  
ՓՈՐՉԱՐԱՐԱԿԱՆ ԹԵՐԱՐՎԱԶԱՆԱԳԵՂՉՈՒԹՅԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ**

Բացահայտվել է, որ հարվահանազեղծի թերֆունկցիայի ժամանակ օրգանոսպեցիֆիկ ֆերմենտների՝ հիստիդազի և ուտեկանինազի ակտիվությունը լյարդում իջել է, իսկ արյան մեջ բարձրացել: Վերջինս վկայում է հեպատոցիտների վնասման մասին, որը հաստատվել է նաև հիստոքիմիական հետազոտություններով:

Նատրիումի թիոսուլֆատի և α-տոկոֆերոլի ներարկումները բերել են վերոհիշյալ ֆերմենտների ակտիվության կարգավորման և լյարդի բջջակերտվածքի վերականգնման:

Հիմնավորվում է նատրիումի թիոսուլֆատ և α-տոկոֆերոլի կիրառման հնարավորությունը թերհարվահանազեղծության կոմպլեքսային բուժման մեջ, հսկելով արյան մեջ հիստիդազի և ուտեկանինազի ակտիվությունը:

D. N. KHUDAVERDIAN, L. M. MEZHLOUMIAN, M. A. MELIKIAN,  
R. A. DOVLATIAN, L. G. KHACHATRIAN

**EFFECT OF α-TOCOPHEROL AND TIOSULPHATE NA ON THE  
MORPHOFUNCTIONAL STATE OF THE RATS' LIVER IN  
HYPOPARATHYROSIS**

The regulating effect of antioxidants on the morphofunctional state of the liver in hypoparathyroidism has been studied. It is shown, that in hypoparathyrosis the activity of organospecific ferments of the liver—hydridase and urokinase decreases with its parallel increase in the blood. The administration of tiosulfate Na or α-tocopherol in definite doses normalizes these disorders.

**Л И Т Е Р А Т У Р А**

1. Агаджанов М. И. Биол. ж. Армении, 1978, 31, 2, с. 128.
2. Агаджанов М. И., Мелик-Агаян Е. А., Межлумян Л. М., Мхитарян В. Г. Тез. докл. II Всесоюз. симпозиума: Структура, биосинтез и превращение липидов в организме животного и человека. М., 1975, с. 121.
3. Аристархова С. А., Бурлакова Е. Б., Храпова Е. Г. Биоантиокислители. М., 1975.
4. Мардашев С. Р., Буробин В. А. Вопросы мед. химии, 1962, 3, с. 320.
5. Межлумян Л. М. Ж. exper. и клин. мед. АН Арм ССР, 1977, 17, 5, с. 29.
6. Межлумян Л. М. Ж. exper. и клин. мед. АН Арм ССР, 1979, 19, 3, с. 42.
7. Межлумян Л. М. Ж. exper. и клин. мед. АН Арм ССР, 1980, 20, 4, с. 406.
8. Меликян М. А. В кн.: Физиология и патология околотитовидных желез. Ереван, 1983, с. 100.
9. Мхелян Э. Э. Труды Ереванского медицинского института, т. 2. Ереван, 1980, с. 115.
10. Мхитарян В. Г., Агаджанов М. И., Межлумян Л. М. Ж. exper. и клин. мед. АН Арм ССР, 1977, 17, 2, с. 16.
11. Овсепян Р. С. Ж. exper. и клин. мед. АН Арм ССР, 1977, 17, 4, с. 47.
12. Симаворян П. С., Канаян А. С. Мат. науч. сессии, посвящ. XXV съезду КПСС. Ереван, 1976.
13. Таболин В. А., Буробин В. А., Смирнова Т. А. Лаб. дело, 1977, 1, с. 28.
14. Тринус Ф. П. Фармакологический справочник. Киев, 1976.

15. Худавердян Д. Н., Зильфян А. В., Меликян М. А. Труды Ереванского медицинского института, т. 2. Ереван, 1977, с. 98.
16. Худавердян Д. Н., Межлумян Л. М. Труды Ереванского медицинского института, т. 2. Ереван, 1977, с. 91.
17. Худавердян Д. Н., Назарян Л. Р. Ж. экспер. и клин. мед АН Арм ССР, 1979, 19, 4, с.27.

УДК 616.453—068.6—06 : 577.186

М. А. СИМОНЯН, Д. М. ГЕВОРКЯН, В. Г. МХИТАРЯН

## ВЛИЯНИЕ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ НА УРОВЕНЬ ЭНДОГЕННОЙ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ И ЛИПОПЕРЕКИСЕЙ В ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ГИПОГЛИКЕМИИ

При гипогликемии, вызванной двукратным введением intactным крысам инсулина, наблюдалось подавление перекисного окисления липидов (ПОЛ) и увеличение активности эндогенной  $\text{Cu}$ ,  $\text{Zn}$ -супероксиддисмутазы ( $\text{Cu}$ ,  $\text{Zn}$ -СОД) в печени животных. На фоне гипогликемии введение  $\text{Cu}$ ,  $\text{Zn}$ -СОД способствовало еще большему понижению уровня ПОЛ, что приводило к повышению процента гибели животных.

Известно, что при увеличении концентрации глюкозы повышается содержание генерированных при расщеплении перекиси водорода супероксидных анионов  $\text{O}_2^-$  *in vitro* [8]. С другой стороны, при гипергликемии в организме повышается уровень  $\text{O}_2^-$  [19] и липидных перекисей [6], в результате этого падает активность антиоксидантных ферментов—супероксиддисмутазы (СОД), каталазы [2, 5, 15, 16], глутатионпероксидазы [11],  $\text{Na}$ ,  $\text{K}$ -АТФ-азы [12]. На этом фоне экзогенная СОД проявляет протективный эффект [6, 13].

Задачей данной работы явилось изучение влияния экзогенной  $\text{Cu}$ ,  $\text{Zn}$ -СОД на уровень ПОЛ, определяемый по содержанию малонового диальдегида (МДА), и активности  $\text{Cu}$ ,  $\text{Zn}$ -СОД в печени крыс в состоянии гипогликемии.

### Материал и методы

Гипогликемию у белых беспородных крыс массой 180—200 г моделировали двукратным внутрибрюшинным введением инсулина в дозе 20 МЕ/кг массы животного.

Экзогенную  $\text{Cu}$ ,  $\text{Zn}$ -СОД, выделенную из печени быка и очищенную по методу Н. А. Григорян и соавт. [3], вводили крысам внутрибрюшинно в первый день спустя 5 часов после введения инсулина и на второй день через час после введения гормона. Контрольные животные вместо СОД получали 0,9%  $\text{NaCl}$  аналогичным образом. Крыс декапитировали спустя 3 часа после вторичного введения инсулина. Животные были распределены на три группы (по 20 в каждой): I—получавшие  $\text{NaCl}$  (контроль), II—инсулин и III—инсулин и СОД (2 мг/кг).

$\text{Cu}$ ,  $\text{Zn}$ -СОД из печени крыс выделяли и очищали по методу М. А. Симоняна и соавт. [7], используя при этом свежеперегранный ацетон, спирт и хлороформ. Белок очищали методом ионообменной хроматографии на ДЭ-42 целлюлозе и гель-фильтрации на сефадексе G-75. Содержание СОД определяли по характерным ее спектрам путем сравне-