

АКТИВНІСТЬ ДЕГІДРОГЕНАЗ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПРИ АМАНІТА-ФАЛЛОЇДИНОВОМУ ГЕПАТИТІ

Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського

АКТИВНІСТЬ ДЕГІДРОГЕНАЗ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПРИ АМАНІТА-ФАЛЛОЇДИНОВОМУ ГЕПАТИТІ – Проведено аналіз спільної дії глюкокортикоїдів, ліпоєвої кислоти і кокарбоксілази на активність дегідрогеназ печінки щурів з аманіта-фаллоїдиновим гепатитом. Встановлено, що ці препарати активують ферменти циклу лимонної кислоти і ланцюга переносу електронів, стимулюючи тим самим енергозабезпечення клітин печінки.

АКТИВНОСТЬ ДЕГИДРОГЕНАЗ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ АМАНИТА-ФАЛЛОИДИНОВОМ ГЕПАТИТЕ – Проведен анализ совместного действия глюкокортикоидов, липоевой кислоты и кокарбоксілазы на активность дегидрогеназ печени крыс, отравленных экстрактом бледной поганки. Выявлено, что эти препараты активизируют ферменты цикла лимонной кислоты и цепи переноса электронов, стимулируя тем самым энергообеспечение клеток печени.

ACTIVITY OF DEHYDROGENASES OF A RATS LIVER AT AMANITA-PHALLOIDES HEPATITIS – The analysis of combined action of glucocorticoids, lipoic acid and cocarboxylase on activity of dehydrogenases of a rats liver, poisoned by Amanita phalloides extract, is lead. It is revealed, that these drugs activate enzymes of a cycle of a citric acid and electron transport chains, stimulating thus provision of energy of cells of a liver.

Ключові слова: біла поганка, дегідрогенази печінки, щурі, лікування.

Ключевые слова: бледная поганка, дегидрогеназы печени, крысы, лечение.

Key words: Amanita phalloides, dehydrogenases of a liver, rats, treatment.

Токсичність шапинкового гриба типу білої поганки (БП) зумовлена наявністю в ній 2 груп пептидів – аманітинів і фаллоїдинів. У 100 г свіжої БП міститься 10 мг фаллоїдину, 8 мг альфа-аманітину, 5 мг бета-аманітину, 0,5 мг гамма-аманітину і сліди фаллоїну. Смертельна доза тільки альфа-аманітину складає 0,1 мг/кг маси тіла [2]. Отрута БП спричиняє важке ураження печінки з розвитком гепатаргії і високою летальністю. Відсутність антидотної терапії спонукає використовувати патогенетичні і симптоматичні засоби, серед яких рутинними є глюкокортикоїди, ліпоєва кислота і кокарбоксілаза [6, 14-16].

Метою роботи було вивчити ефективність сумісної дії цих препаратів на активність ферментів печінки щурів з токсичним гепатитом.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Токсичний гепатит моделювали на безпородних щурах-самцях масою 160-200 г внутрішньоочеревинним введенням екстракту БП у дозі ЛД₅₀. Лікувальні препарати вводили парентерально у добовій дозі (мг/кг): преднізолон – 5, ліпоєва кислота – 50, кокарбоксілаза – 20; початок лікування – через 3 год після отруєння, потім через 12 год у перші 3 доби досліду і в половинній дозі один раз на добу – на 4-5 дні досліду. Тварин декапітували під легким ефірним наркозом через 6 і 24 год, на 3, 7 і 20 добу після отруєння. У тканині печінки гістохімічно визначали локалізацію і активність

дегідрогеназ, які характеризують активність різних етапів метаболізму глюкози: лактат (ЛДГ), ліпоамід (ЛАДГ), ізоцитратдегідрогенази (ІЦДГ), НАДН і НАДФН. Кількісну оцінку проводили на цитофотометрі однохвильовим плаг-методом при довжині хвилі (585 ± 5) нм, діаметр зонда на препараті 3 мкм [1, 9].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ При гістохімічному вивченні активності дегідрогеназ в епітеліальних клітинах печінки відмічена висока активність досліджуваних ферментів, яка на фоні дифузної забарвленої у голубий колір цитоплазми проявляється випаданням дрібних круглястої форми темно-синіх гранул диформазау. Дрібні гранули диформазау, які характеризують активність ЛДГ, в цитоплазмі гепатоцитів інтактних щурів розподілені більш-менш рівномірно по всій дольці, з деяким підсиленням навколо центральних вен. Активність ЛДГ помітно зменшувалась вже через 6 год після введення щурам отрути БП, але найбільше зниження ферментативної активності виявлено через 24 год від початку дослідження – середня оптична густина зрізу печінки складала 5,5 % рівня інтактних щурів ($p < 0,001$) (табл. 1).

В печінці отруєних і лікованих щурів активність ЛДГ у 3-4 рази перевищувала таку в нелікованих тварин, хоча оптична густина препаратів протягом перших 3 діб від початку дослідження була суттєво нижчою, ніж в інтактних тварин, з мінімальною активністю через 24 год. Відмічено більш рівномірний розподіл у печінковій дольці гепатоцитів з помірною активністю, причому центральні дольки мали більше число гранул диформазау ніж периферійні, і які в усі строки спостереження були дуже дрібними.

Розподіл гранул диформазау і оптична густина препаратів на активність інших досліджуваних ферментів нагадувала картину досліджень ЛДГ. При порівнянні з інтактними тваринами оптична густина гепатоцитів отруєних щурів через 24 год (на висоті інтоксикації) складала в середньому для ЛАДГ – 8 %, ІЦДГ – 19 %, НАДН – 12 %, НАДФН – 16 % (у всіх випадках $p < 0,001$). До 20 доби від початку дослідження нормалізувалася активність тільки ЛАДГ.

Терапевтична ефективність сумісної дії глюкокортикоїдів, ліпоєвої кислоти і кокарбоксілази визначається її молекулярним механізмом дії на системи і органи організму, передусім на органи-мішені. Як для отрути БП, так і для компонентів лікувального комплексу такою мішенню є печінка, але механізм їх дії є різнонаправленим. На відміну від отрути БП, глюкокортикоїди стимулюють біосинтез білка [3], підвищують детоксикуючу функцію печінки і активність ДНК-залежної РНК-полімерази [12], прискорюють регенерацію гепатоцитів.

Ефективність високих доз ліпоєвої кислоти і кокарбоксілази при отруєнні БП зумовлена їх коферментними функціями в поліферментних піруват- і оксиглутаратдегідрогеназних комплексах, які здійснюють декарбоксілювання пірувату і альфа-кетокислот. Ліпоєва кислота в поєднанні з кокарбоксілазою представлена у вигляді активного комплексу ліпотіамініпрофосфатази, причому безпосереднім чинником у цьому комплексі є ліпоєва кислота [4, 10]. Використання даних коферментів попереджує накопичення продуктів обміну піровиноградної кислоти, зменшує тяжкість деструктивних змін і прискорює відновні процеси в печінці [8, 11]. Очевидно, підвищення активності окисно-відновних ферментів при використанні комплексної терапії зумовлено не тільки зменшенням глюкокортикоїдами інгібуючого впливу аманітинів на активність ДНК-залежної РНК-полімерази, але і конкуренцією між ліпоєвою кислотою і фаллоїдинами за активний центр фермента, з яким останні утворюють високотоксичні сполуки [5].

ВИСНОВКИ 1. Отрута БП понижує активність ферментів циклу лимонної кислоти і ланцюга переносу електронів, порушуючи тим самим енергозабезпечення гепатоцитів. **2.** Спільне застосування глюкокортикоїдів, ліпоевої кислоти і кокарбоксилази стимулює активність окисно-відновних ферментів печінки.

1. Агроскин Л.С., Папаян Г.В. Цитофотометрия. Аппаратура и методы анализа клеток по светопоглощению. – Л.: Наука, Ленингр. отд., 1977. – 295 с.
2. Бойчук Б.Р. Отруєння грибами. – Тернопіль: Укрмедкнига, 1997. – 200 с.
3. Деркачев Э.Ф., Кондрашева М.Н., Маевский Е.И. Прорастание до митохондриального уровня нитей кортикостероидной регуляции. В кн.: Регуляция энергетического обмена и физиологическое состояние организма. – М., 1978. – С. 116-122.
4. Ивков В.Г. Липоевая (тиоктовая) кислота и ее значение в гепатологии // Сов. мед. – 1969. – № 10. – С. 122-128.
5. Каменецкая Т.И. Биохимические изменения у больных, возникающие при отравлении бледной поганкой // Врач. дело. – 1976. – № 4. – С. 121-123.
6. Куйбіда О.І., Байболюк І.П., Клим А.А. та ін. Інтенсивна терапія і екстракорпоральні методи детоксикації при гострих екзогенних отруєннях // II Українська науково-практична конференція “Актуальні питання невідкладної допомоги”: Тези доп. – Одеса, 1994. – С. 87-88.
7. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. – М.: Мир, 1969. – 645 с.
8. Лужников Е.А., Дагаев В.Н., Фирсов Н.Н. Основы реаниматологии при острых отравлениях. – М.: Медицина, 1977. – 374 с.
9. Оленев С.П., Шкляева Л.Д. Сравнительное изучение активности дегидрогеназ и диафораз: обоснование метода // Арх. анат. – 1978. – вып. 12. – С. 59-65.
10. Тоцкий В.Н., Ольшанецкая В.А., Розанов А.Я. и др. Влияние коферментов пируватдегидрогеназы на окисление пирувата и поглощение НАД митохондриями печени в норме и после гравитационной перегрузки белых крыс // Вопр. мед. химии. – 1974. – вып. 3. – С. 290-294.
11. Шафиев Э.К., Эйцен Э.Ф., Мироджоб Г.К. Сравнительное изучение влияния кислорода и кокарбоксилазы на регенераторную активность печени при экспериментальном токсическом гепатите // Арх. патол. – 1973. – вып. 11. – С. 58-62.
12. Beato M., Schmid W., Braendle W et al. Partial purification of a cortisol // Steroids. – 1970. – v. 16. – P. 207.
13. Hruby K. Knollenblatterpilzvergiftung // Intensivmedizin. – 1987. – 24, № 6. – P. 269-277.
14. Mikos B., Biro E. Gyilkosgaloca-mergezesek gyermek-intenziv osztalyunk 15 éves beteganyagaban // Orv. Hetil. – 1993. – 134, № 17. – P. 907-910.

15. Nagy I., Pogatsa-Murray G., Zalanyi S. Jr. et al. Amanita poisoning during the second trimester of pregnancy. A case report and review of the literature // Clin. Investig. – 1994. – 72, № 10. – P. 794-798.

16. Piering W.F., Bratanow N. Role of the clinical laboratory in guiding treatment of Amanita virosa mushroom poisoning: report of two cases // Clin. Chem. – 1990. – 36, № 3. – P. 571-574.

Таблиця 1. Показники активності дегідрогеназ печінки щурів (умовні одиниці оптичної густини), отруєних екстрактом білої поганки, на висоті інтоксикації (ЛД50; n = 6; M ± m)

Фермент	Група тварин			
	Інтактні	З'руєні	Отруєні і ліковані	Інтактні, ліковані
Лактат-ДГ	0,45 ± 0,08	0,02 ± 0,01 *	0,27 ± 0,01 ~	0,78 ± 0,02 ~
Ліпоаміа-ДГ	0,57 ± 0,06	0,04 ± 0,01 *	0,09 ± 0,02 *	0,30 ± 0,01 *
Ізоцитрат-ДГ	0,57 ± 0,08	0,11 ± 0,02 *	0,68 ± 0,04	0,75 ± 0,02 *
НАДН-ДГ	0,70 ± 0,01	0,08 ± 0,01 *	0,72 ± 0,02	0,37 ± 0,02 ~
НАДФН-ДГ	0,50 ± 0,08	0,00 ± 0,01 *	0,86 ± 0,02 ^	0,71 ± 0,02 ^