

Б. С. КАСАВИНА, В. П. ТОРБЕНКО

ДЕЙСТВИЕ ОСТЕОЛАТИРОГЕНА СЕМИКАРБАЗИДА НА СРЕДЫ И ТКАНИ ГЛАЗА

(Представлено академиком А. И. Опариным 20 III 1973)

В последнее время отмечается все более возрастающий интерес к остеолатиризму, заболеванию, известному ранее как редкая форма алиментарной интоксикации животных, возникающей при употреблении в пищу больших количеств семян некоторых видов бобовых растений, в частности семян чины. Сейчас остеолатиризм рассматривается как важнейший метод экспериментального исследования соединительной ткани. Под влиянием остеолатирогенов (известно более 20 искусственных соединений, обладающих латирогенными свойствами) развивается системное поражение соединительной ткани, что дает возможность выявить детали молекулярной структуры и обмена важнейших биополимеров.

Значительная литература посвящена изучению действия латирогенов на различные звенья метаболизма важнейших компонентов кожи, костной и хрящевой тканей — гликозаминогликанов и коллагена (¹⁻³). В то же время известны лишь единичные исследования, посвященные влиянию латирогенов на ткани глаза (^{4, 5}). Наряду с этим заслуживают внимания результаты работ, в которых показано сильное катарактогенное действие N₂-фенил-β-гидразин-пропионитрила. Достаточно было употребить в пищу этот латироген в течение трех дней, чтобы вызвать катаракту у животных (⁶).

В настоящей работе была поставлена задача показать, насколько экспериментальный остеолатиризм при общем поражении соединительной ткани влияет на среды и ткани глаза.

С этой целью было проведено определение гликозаминогликанов в наиболее характерных соединительных тканях — костной ткани, роговице и склере; кроме того определяли глюкоз- и галактозаминосодержащие сахара по общепринятым методикам (^{7, 8}), активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и ее изоферментов костной ткани, сыворотки крови, камерной влаги, стекловидного тела — по модифицированной нами методике (^{9, 10}).

Для воспроизведения остеолатиризма был использован 2% водный раствор солянокислого семикарбазида, нейтрализованный 10% раствором NaOH до pH 5,0–6,0. Раствор, приготовленный ex tempore, вводили подкожно, ежедневно (кроме выходных), начиная с 0,5 мл и увеличивая дозу на 0,1 мл каждый четвертый день, доведя объем вводимого раствора до 1 мл.

Большое распространение в экспериментах по остеолатиризму получил β-аминопропионитрил, тогда как семикарбазид применялся лишь в единичных работах и только на крысах. В данной работе использован семикарбазид, как вещество, способное вызвать остеолатиризм у кроликов*.

Было поставлено четыре серии опытов на 78 молодых кроликах породы шиншилла, весом 500–600 г. Первая серия — контрольная, во 2-ю, 3-ю и 4-ю серии входили животные, которым было сделано 5, 10, и 20 инъекций соответственно. За время опыта животные теряли от 15 до 20% первоначального веса, выживаемость составляла 44%.

Данные табл. 1 показывают, что под влиянием семикарбазида происходят некоторые изменения в содержании аминокислот в роговице и склере

* Методика воспроизведения остеолатиризма у кроликов с применением семикарбазида (аминомочевины) разработана Л. И. Слуцким и Л. Э. Домбровска. Выражаем глубокую благодарность авторам, любезно поделившимся своим опытом.

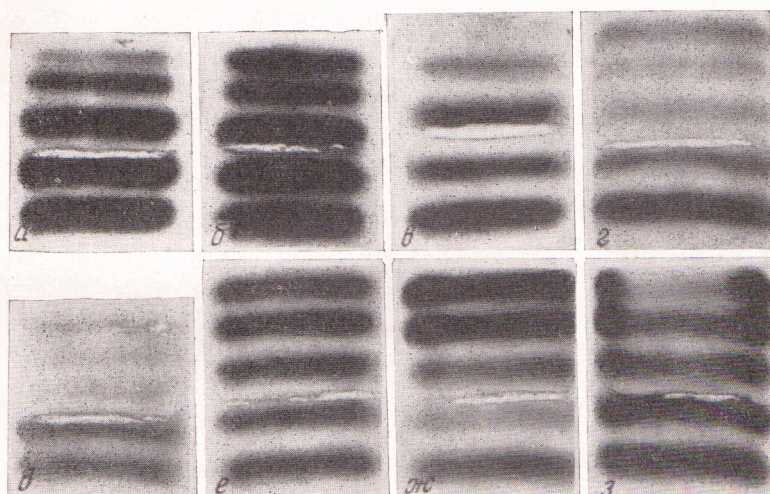


Рис. 1. Зимограммы ЛДГ в норме костная ткань (а), сыворотка крови (в), камерная влага (д), стекловидное тело (ж) и после введения сепикарбазида (б, г, е, з соответственно); х — место нанесения испытуемого образца. Фракции 1-5 расположены снизу вверх

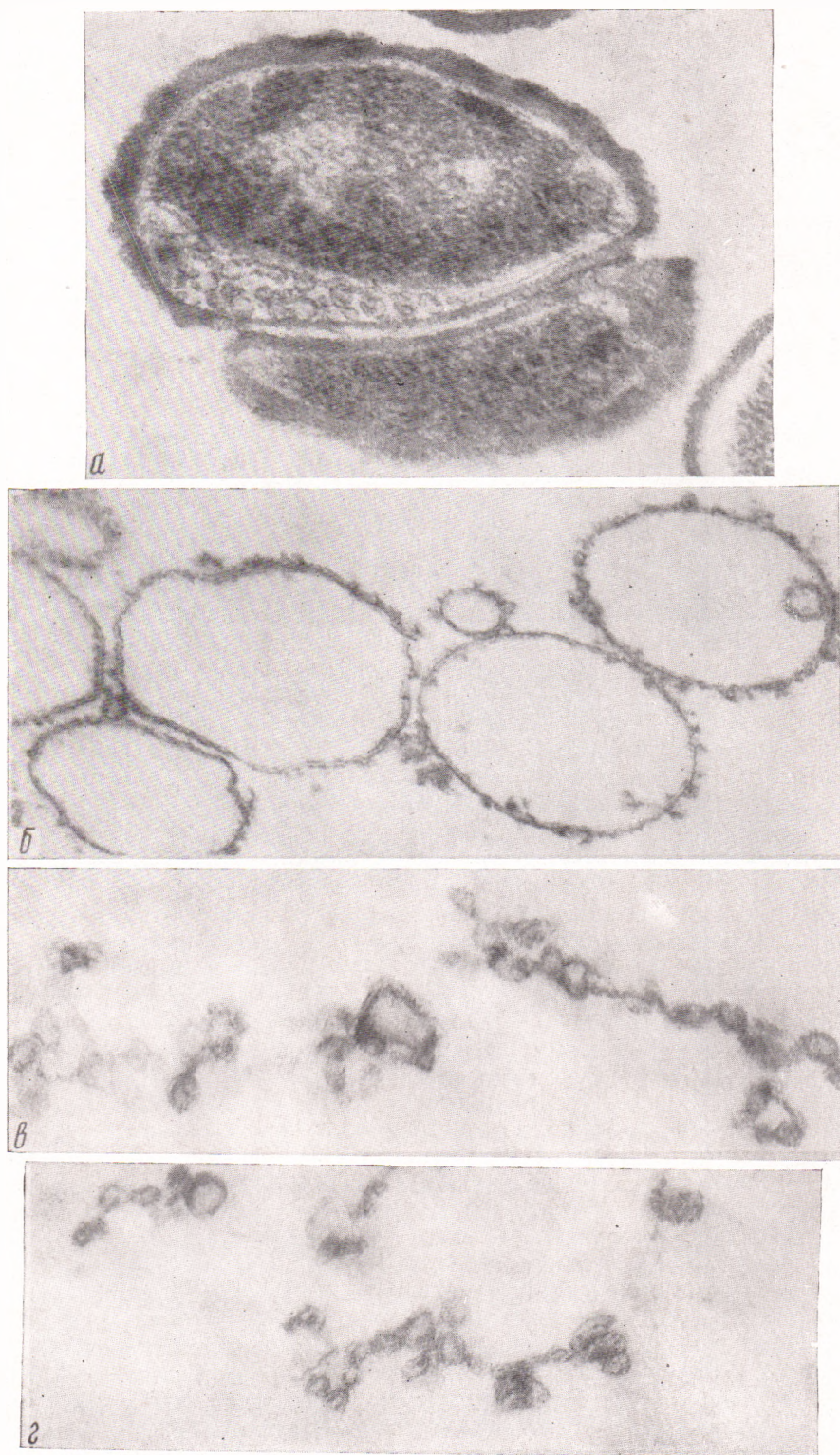


Рис. 1. Электронная микроскопия клеток и фракций мембран *M. lysodeikticus*. *a* — клетки, обработанные 1 *M* сахарозой; 90 000 $\times$, *б* — фракция цитоплазматических мембран; 110 000 $\times$, *в*, *г* — фракции мезосомальных мембран; 100 000 $\times$

ре после 10 и 20 инъекций латирогена, главным образом за счет галактозаминосодержащих сахаров. Это подтверждается результатами исследований, показавших уменьшение гексозаминов в роговице, а также угнетение сульфатации мукополисахаридов (¹¹⁻¹³). В костной ткани латирогенных животных не было обнаружено сколько-нибудь значительных изменений в

Таблица 1

Содержание аминсахаров в роговице и склере кроликов, получивших семикарбазид

Показатель	Контроль	10 инъекций	20 инъекций
Гексозамины, мг-%	1626 511	1569 499	1434 453
Глюкозамин, отн. ед.	65,7 33,8	73,5 44,6	58,6 —
Галактозамин, отн. ед.	34,3 66,2	26,5 55,4	41,4 —
Глюкозамин/Галактозамин	1,9 0,5	2,7 0,8	1,4 —

Примечание. Цифры над чертой — данные для роговицы, под чертой — для склеры.

содержании гликозаминогликанов, что совпадает с работами одних авторов (^{14, 15}) и противоречит данным других исследователей, наблюдавших уменьшение содержания гликозаминогликанов (^{16, 17}), и результатам работ, в которых показано увеличение количества этих биополимеров (^{18, 19}).

Неоднозначность данных литературы, возможно, связана с тем, что авторы применяли разные латирогены; в то же время известно, что их действие зависит от химической структуры. Большое влияние на результаты исследований также оказывает вид животных, их возраст, характер исследуемой ткани. У крыс остеолатироз развивается легче, чем у кроликов и собак. Имеются данные о различной направленности изменений содержания гексозаминов в хряще и костях латирогенных животных (²⁰).

Значительно более выраженное влияние семикарбазида было нами выявлено на ферментативную активность ЛДГ и ее изоферментный спектр. Общая активность ЛДГ костной ткани после 20 инъекций семикарбазида увеличилась более чем в два раза. В норме она составляла 761 ед. *, у латирогенных животных 1751 ед. В сыворотке крови латирогенных животных активность ЛДГ достигала 210 ед. при норме 139 ед. Результаты исследований изоферментов ЛДГ, представленные в табл. 2, показывают, что под влиянием семикарбазида происходят изменения изоферментов ЛДГ исследуемых тканей. Так, в костной ткани происходит сдвиг изоферментного спектра в сторону увеличения доли ЛДГ₄ (Н₄М₃) и ЛДГ₅ (М₄). В крови и влаге отмечены аналогичные изменения, но в крови они проявляются позднее, чем в костной ткани и влаге. В стекловидном теле сдвиг молекулярных форм ЛДГ происходит в сторону ЛДГ₁ (Н₄), ЛДГ₂ (Н₃М₁) и ЛДГ₃ (Н₂М₂). Сказанное хорошо иллюстрируют зимограммы, представленные на рис. 1. Для более тонкого понимания процессов, происходящих в исследованных тканях под влиянием семикарбазида, мы произвели расчет в полученном изоферментном спектре ЛДГ относительного содержания составляющих их субъединиц — Н и М (табл. 3). Анализ полученных результатов показал, что в костной ткани и сыворотке крови уже после 5 инъекций семикарбазида наблюдается увеличение относительного содержания М-субъединиц на фоне выраженного преобладания Н-субъединиц, что указывает на сдвиг метаболизма в

* Цифры общей активности ЛДГ выражены в $\text{мУ} = 0,001 \text{ У}$; У — количество $\mu\text{моль}$ пировиноградной кислоты, превращенной в 1 мл испытуемого образца за 1 мин.

Таблица 2

Влияние семикарбазида на изоферменты лактатдегидрогеназы костной ткани, сыворотки крови и жидких сред глаза

Серия опы- тов	Число живот- ных	Число инъ- екций	ЛДГ ₁	ЛДГ ₂	ЛДГ ₃	ЛДГ ₄	ЛДГ ₅	ЛДГ ₁	ЛДГ ₂	ЛДГ ₃	ЛДГ ₄	ЛДГ ₅
			Кость					Сыворотка крови				
1	10	Конт- роль	35,5±2,4	32,8±0,9	24,2±1,16	4,8±0,44	2,6±0,36	52,1±0,62	17,6±0,54	7,4±1,8	7,6±0,23	14,8±0,92
2	11	5	35,0±0,26	26,6±0,65	18,6±0,65	10,4±1,6	9,5±0,01	43,6±6,3	23,3±1,8	13,4±0,9	9,7±0,55	10,3±0,7
			$p > 0,05$	$p < 0,001$	$p < 0,01$	$p < 0,02$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p > 0,05$	$p < 0,001$	$p > 0,05$	$p < 0,001$
3	8	10	35,0±1,45	28,9±3,34	16,9±1,74	9,9±0,61	8,9±0,76	33,4±0,48	12,9±1,6	12,7±0,08	15,5±1,8	25,5±0,92
			$p > 0,05$	$p < 0,02$	$p < 0,01$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,02$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$
			Стекловидное тело					Камерная влага				
1	10	Конт- роль	14,9±1,02	11,2±1,7	14,3±1,35	28,8±1,47	31,1±2,46	27,2±1,85	28,6±0,79	14,5±2,0	14,0±1,08	15,7±0,65
2	11	5	20,3±1,00	14,8±1,07	17,1±1,64	24,7±1,63	22,8±2,59	21,7±0,64	15,8±1,25	16,7±2,02	23,2±2,13	22,6±0,3
			$p < 0,001$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,02$	$p < 0,02$	$p < 0,01$	$p > 0,05$	$p < 0,01$	$p < 0,001$
3	8	10	21,9±1,02	13,6±1,71	17,1±1,35	24,8±1,47	22,9±2,46	19,8±1,29	21,1±2,1	14,2±2,23	21,8±1,6	22,1±2,03
			$p < 0,001$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,01$	$p > 0,05$	$p < 0,001$	$p < 0,02$

Примечание. Здесь и в табл. 3 активность изоферментов ЛДГ выражена в процентах по отношению к сумме экстинкций всех фракций.

Таблица 3

Влияние семикарбазида на относительное содержание М-п Н-субъединиц ЛДГ в костной ткани, сыворотке крови и жидких средах глаза кроликов

Число инъекций	ΣН	ΣМ	ΣН : ΣМ	ΣН	ΣМ	ΣН : ΣМ
	Кость			Сыворотка крови		
Контроль	73,4	26,5	2,9	71,5	28,6	2,5
5	67,7	33,03	2,05	71,1	29,9	2,38
10	68,4	32,0	2,14	54,7	46,6	1,17
20	68,2	32,3	2,12	60,2	41,0	1,47
	Камерная влага			Стекловидное тело		
Контроль	60,0	40,7	1,48	40,1	62,6	0,64
5	49,9	52,2	0,95	48,9	53,6	0,91
10	50,8	51,8	0,98	49,0	53,3	0,92
20	47,1	55,0	0,86	—	55,0	0,86

этих тканях в сторону анаэробного пути окисления глюкозы. В жидких средах глаза (влага, стекловидное тело) также наблюдается значительное изменение соотношения суммы Н и М субъединиц. Во влаге в норме установлено преобладание Н-субъединиц. Под влиянием семикарбазида происходит сдвиг окислительных процессов в сторону преобладания анаэробного метаболизма. В стекловидном теле выявлена обратная зависимость: на фоне превалирования М-субъединиц происходит нарастание Н-субъединиц. Установленное повышение активности ЛДГ в исследованных жидкостях и тканях происходит, очевидно, вследствие токсического влияния семикарбазида, вызывающего нарушение проницаемости клеточных мембран, в результате чего часть протоплазматической ЛДГ выходит в межклеточное пространство и сыворотку крови. Сдвиг изоферментного состава ЛДГ свидетельствует о нарушении окислительных процессов под влиянием семикарбазида и нарастании доли анаэробного расщепления глюкозы. В пользу такого предположения могут служить данные об инактивации цитохромоксидазы под влиянием латирогенов (²¹, ²²).

Таким образом, введение семикарбазида при незначительном влиянии на гликозаминогликаны оказывало выраженное действие на активность ЛДГ и распределение ее молекулярных форм. Параллелизм изменений в костной ткани, поражения которой наиболее характерны при остеолатиризме и тканях глаза, свидетельствует об общем воздействии семикарбазида на соединительную ткань. Эти данные могут пролить свет для большего понимания патологических состояний органа зрения.

Научно-исследовательский институт
глазных болезней им. Гельмгольца
Москва

Поступило
19 III 1973

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Т. Я. Балаба, А. С. Гладких, Ортопед., травматол. и протезир., 9, 85 (1969).
- ² Т. Я. Балаба, А. С. Гладких, там же, 11, 77 (1970).
- ³ Л. И. Случкий, Л. Э. Домбровская, Остеолатиризм, Рига, 1972.
- ⁴ G. W. Barber, Arch. Ophthalmol., 87, 1, 72 (1972).
- ⁵ H. Selye, Rev. Canad. Biol., 16, 1, 3 (1957).
- ⁶ D. W. Dasler, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 135, 1 (1970).
- ⁷ C. J. Randle, W. T. Morgan, Biochem. J., 61, 4, 586 (1955).
- ⁸ S. Gardell, Acta chem. scand., 7, 207 (1953).
- ⁹ H. U. Bergmeier, Methods of Enzymatic Analysis, N. Y., 1965, p. 736.
- ¹⁰ Ю. А. Юрков, В. В. Алатырцев, Лаб. дело, № 12, 705 (1966).
- ¹¹ R. Praus, H. Brettschneider et al., Ceskoslov. ofthalmol., 21, 244 (1965).
- ¹² S. Yamashita, Acta Soc. ophthalmol. Japan, 76, 8, 587 (1972).
- ¹³ J. Brettschneider, R. Praus, Ophthalmol. Res., 1, 31 (1970).
- ¹⁴ C. J. Levene, J. Kranzler, S. Franco-Browder, Biochem. J., 101, 435 (1966).
- ¹⁵ M. J. Karnovsky, M. L. Karnovsky, J. Exp. Med., 113, 381 (1961).
- ¹⁶ A. Pedrini-Mille, V. Pedrini, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 119, 322 (1965).
- ¹⁷ Sakando Hashimoto, Yokohama Med. Biol., 16, 179 (1965).
- ¹⁸ J. J. Aleo, J. L. Orbison, W. B. Hawkins, Lab. Invest., 17, 425 (1967).
- ¹⁹ D. E. Flieder, B. C. Schneider, J. Dent. Res., 45, 45 (1966).
- ²⁰ E. Serntson, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 123, 588 (1966).
- ²¹ D. J. Smith, J. L. Orbison, ibid., 117, 822 (1964).
- ²² J. J. Clemmons, E. B. Jackson, J. Exp. Med., 115, 555 (1962).