

Вплив рентгенпроміння на тканинну ліпазу*.

Г. А. Черкес та А. О. Натансон.

Кафедра біохемії (зав. — проф. Л. Е. Розенфельд) та кафедра біології (зав. — проф. С. А. Нікітін) Одеського медичного інституту (директор — П. І. Шашко)

Питанню про вплив різних фізичних та хемічних агентів на активність ліпаз різного походження присвячено чимало досліджень. Вивчали, головне, вплив різних агентів на ліполітичну силу фермента *in vitro* — у тканинній кашці, у травному соку або на очищених препаратах фермента.

Дослідження Wiltstätter'a¹ та його школи показали, що чутливість ліпаз до різних агентів не тільки визначається характером самого фермента, а залежить ще від супутних домішок. Приміром, ліпаза шлункового соку, активна при R_n 4-5, після старанної очистки від домішок стає активна при R_n 7,1 — 7,9, характерною для ліпази панкреатичного соку.

Табл. 1. Активність ліпази у нормальних тканинах.

Table 1. Activité de la lipase dans les tissus normaux.

№№ тварин № de l'animal	Печінка Foie	Нирки Reins	Селезінка Rate	Серце Coeur
1	1,04	0,50	0,24	0,21
2	0,84	0,39	0,24	0,19
3	0,79	0,65	0,38	0,32
4	1,05	0,55	0,21	0,21
5	0,75	1,13	0,18	0,12
6	0,86	0,35	0,29	0,14
7	0,64	0,28	0,31	0,27
8	1,02	0,61	0,28	0,25
9	0,86	0,50	—	—
10	0,71	0,42	0,25	0,16
11	0,53	0,50	0,13	0,25
12	0,74	0,45	0,28	0,14
В середньому	0,82	0,44	0,25	0,2
En moyenne				

Ми вивчали ліполітичні функції різних тканин при впливі на них рентгенпроміння *in vivo*. Як потужний біологічний агент, це проміння може впливати і безпосередньо на самий фермент і на відповідний

* Відповідно до поданих тут дробових цифр див. літературу наприкінці статті.

субстрат. Зміна кожного з цих факторів може відбитись на жировому обміні.

Табл. 2. Опромінення 50% HED.

Table 2. Exposition à 50% HED.

№№ тварин № de l'animal	Печінка Foie	Нирки Reins	Селезінка Rate	Серце Coeur
15	1,63	0,72	0,47	0,44
16	1,74	0,83	0,55	0,28
17	1,59	0,86	0,33	0,32
18	0,85	0,68	0,50	0,24
19	1,62	—	0,28	0,34

Опромінення 100% HED.

Exposition à 100% HED.

20	1,02	0,66	0,46	0,26
21	1,23	0,65	0,40	0,45
22	1,29	0,64	0,45	0,33
23	1,00	0,60	0,25	0,38

Опромінення 175% HED.

Exposition à 175% HED.

24	1,52	0,86	0,62	0,37
25	1,02	0,77	0,51	0,27
26	—	1,33	0,40	0,36
27	1,16	0,63	0,46	0,24
28	1,42	0,77	0,43	0,56
29	1,41	0,72	0,56	0,22
30	1,26	—	0,36	0,21
31	1,35	0,76	0,31	0,21
32	1,30	0,86	0,30	0,33

Дослідження школи акад. Надсона²⁻³ і дані Бузні-Нікітіна⁴ доводять, що порушення жирового обміну є один із перших і ранніх виявів рентгенопромінення. Відзначена лабільність жирового обміну, як і взагалі хемізм ранніх тканинних реакцій при діянні рентгенпромінення, становить питання, ще неостаточно розв'язане.

У нашій першій праці⁵ про ранні зміни глутатіону в печінці при рентгенопроміненні ми вели досліди в такому порядку:

- 1) Вивчення ліполітичної сили неопромінених тканин.
- 2) Вивчення ліполітичної сили тканин при опроміненні in vivo: а) безпосередньо після опромінення, б) через 48 годин (так звана післядія).
- 3) Вивчення ліполітичної сили тканин in vitro.

Методика визначення ліпази тканин.

Зважений на торзійній вазі шматочок органу розтирали в ступці кварцовим піском. Із наважки готували 1% водний розчин. До 1 куб. см такої водної емульсії, вміщеної в невеличку Ерленмеєрівську колбу або в широку пробірку, додавали 1 куб. см 1% розчину монобутирину*.

Табл. 3. Активність тканинної ліпази через 48 год. після опромінення (доза 175% HED).

Table 3. Activité de la lipase des tissus 48 heures après l'exposition aux rayons X (dose 175% HED).*

№№ тварин № de l'animal	Печінка Foie	Нирки Reins	Селезінка Rate	Серце Coeur
36	1,46	0,7	0,29	0,20
34	0,75	0,86	0,13	0,20
35	1,01	0,63	0,35	0,24
37	1,11	0,50	0,28	0,24
В середньому En moyenne	1,10	0,67	0,26	0,22

Табл. 4. Зведені дані.

Table 4. Résultats comparés.

Органи Organes	Норма Norme	50% HED	100% HED	175% HED
Печінка Foie	0,82	1,49	1,18	1,3
Нирки Reins	0,44	0,77	0,65	0,84
Селезінка Rate	0,25	0,43	0,45	0,47
Серце Coeur	0,2	0,32	0,33	0,31

Для кожного органу одночасно ставили 3 проби: одну з них — контрольну — негайно кип'ятили. Всі колби вміщували на 24 години в термостат при 37°, а після того кип'ятили дві експериментальні колби, щоб урвати діяння ферментів. Після охолодження титрували звільнені жирні кислоти N/50 розчином натрій-гідроксиду при індикаторі фенол фталейну із мікробюретки. Різниця між кількістю кубічних сантиметрів їдкою лугу, витраченої на титрування досліду та контролю, визначає ліполітичну силу даного органу, взяту в кількості 0,01 г.

* Розчин монобутирину готували так: до 10 куб. см в 10 разів розведеної фосфатної бутерної суміші P_n = додавали 0,1 куб. см монобутирину. Розчин старанно збовтували.

Дозування рентгенпроміння, як видно з поданих тут таблиць, взято в інтервалі 50 — 175%.

Досліди проведено на щурах (самцях) завважки від 90 до 120 г, що перебували на протязі досліду на однаковому харчовому режимі (хліб, ячмінь, молоко, буряк). З допомогою локалізатора опромінювано черевну порожнину у місті проекції печінки.

Табл. 5. Опромінення *in vitro*.
Table 5. Exposition aux rayons X *in vitro*.

Норма Norme	Печінка Foie	Нирки Reins	Селезінка Rate	Серце Coeur
Без опромінення Sans exposition	1,12	0,56	0,34	0,2
Після опромінення 175% HED Après exposition à 175% HED	1,18	0,55	0,49	0,24
Без опромінення 175% HED Sans exposition à 175% HED	0,96	0,53	0,33	—
Після опромінення 175% HED Après exposition à 175% HED	0,90	0,60	0,29	—
Без опромінення Sans exposition	1,0	0,55	0,49	0,24
Після опромінення 175% HED Après exposition à 175% HED	0,94	0,58	0,41	—

Умови опромінення: апарат Stabilivolt фільтр 4 мм AID 23. п.А. 4,0. KW 180, доза 50 — 175% HED. При опроміненні *in vitro* органи із свіжо вбитої тварини поділяли на дві частини: одна половина була за контроль, а другу опромінювано в чашках Петрі. Щоб запобігти висиханню, органи покривали вологим фільтрувальним папером, змоченим фізіологічним розчином. При опроміненні *in vitro* тварину вбивали через 3 хвил. після опромінення способом декапітації, негайно витягали в неї печінку, нирки, селезінку й серце і визначали активність ліпази відповідного органу.

Аналіз експериментальних даних.

Насамперед, як видно з табл. 1, треба відзначити, що активність ліпаз різних органів неоднакова.

Найактивнішає ліпаза печінки, далі, порядком меншої активності, ідуть нирки, селезінка, серце. Brodley зазначає, що печінка містить більше ліпази, ніж інші органи.

Дані табл. 2, 3, 4 ясно показують підвищення ліполітичної активності тканини при опроміненні. Треба ще відзначити, що не всі досліджені тканини однаково реагують на опромінення: найбільше реагує печінка, за нею йдуть нирки, селезінка, серце. Можна сказати, що ліпаза печінки, нирки, селезінки дає збільшення майже на 100%, а серця — тільки до 50% Доза (в наших дослідах від 50 до 175% HED) не має вирішального значення в процесі активації ліпази.

Вивчаючи пептидози у сироватці, Mertz⁷ спостерігав аналогічне явище.

Цілковиту протилежність до дослідів *in vivo* становлять досліді, проведені *in vitro*.

Дослід і контроль, як видно з табл. 5, дають результати, що наближаються один до одного.

Вищі показники і в досліді і в контролі залежать, мабуть, від процесів аутолізу, пов'язаних (за умовами опромінення) з 1 $\frac{1}{2}$ -добовим зберіганням органів при кімнатній температурі.

Останні дані, які виявляють нечутливість ліпаз до рентгенпроміння *in vitro*, відповідають даним Т. Б. Варшавської, С. Н. Леданова та Е. Я. Стеркіна⁸ щодо клітинних протеїз; вони відповідають також дослідженням Надсона та Штерн⁹ щодо амілази, даним Richter'a, Gerhartz'a, Lackeman'a¹⁰ та інших щодо сичужного фермента, зимази, пепсину, панкреатину; нарешті, вони відповідають нашим (Натанзон, Черкес) даним щодо глютагіону печінки. Протилежні результати добули Mertz⁷ на сироваткових пептидозах та Deutsch¹¹ щодо каталізи крові.

Це ще раз підкреслює, що ферменти чутливі при опроміненні *in vivo*, не чутливі вони при опроміненні поза організмом. Зміни ліполітичної сили тканин належать до так званих ранніх тканинних реакцій, бо їх можна виявити негайно після опромінення.

Різний ступінь чутливості тканинних ліпаз до діяння променистої енергії можна порівняти до описаного Rona¹² специфічного відношення ліпаз до отрут атоксилу й хініну.

Не розв'язуючи наперед питання про єдину природу тканинних ліпаз, можна припустити, що зміни, які постають у тканинах при опроміненні, пов'язані із змінами у так званих супутних факторах (у розумінні Вільштеттера). Цим і можна пояснити різний ступінь чутливості різних тканинних ліпаз.

Цікаво відзначити тут дані Утевського та Меерзон¹³, які показали, що чутливість органних ліпаз до специфічних отрут — атоксилу та хініну — залежить від супутних речовин і властивостей самого ферменту.

Нікітін та Бузні¹⁴, простеживши морфологічні ранні зміни в тканинах, відзначають насамперед зміни в печінці, нирках з наступною фіксацією продуктів жирової декомпенсації в клітинах RE. Гістологічні спостереження на тканинних культурах Нікітіна виявили збільшене утворення в опромінених тканинах жирних кислот.

Збільшенню кількості продуктів жирового розпаду в тканинах відповідає збільшення їх у крові — явище далеко не індиферентне для організму (Martin)¹⁵.

Описані вище зміни жирового обміну в тканинах вивчені чисто морфологічно і все ще потребують відповідного обґрунтування.

З цього погляду наша робота робить спробу підвести біохімічну базу під зазначені морфологічні зміни.

Висновки.

1. Опромінення тканин *in vivo* спричиняє підвищення ліполітичного індексу тканин.
2. Опромінення *in vitro* такої зміни не спричиняє.
3. Різниця між опроміненням *in vivo* та *in vitro* свідчить за те, що підвищення ліполітичної активності тканин є одна із ланок загальної реакції організму на опромінення.
4. Ліполітична активність окремих тканин і в нормі і після опромінення — різна. Найбільше підвищення дає ліпаза печінки.

5. Зміни тканинних ліпаз належать до так званих ранніх тканинних реакцій і пов'язані з ранніми морфологічними змінами в тканинах.

Література.

1. *Wilstätter, Haurowitz und Memmen.*—H. S. Zeitschr. Physiol. chem. 140. 203. 1924.
2. *Акад. Надсон.*—Экспериментальное изменение наследственных свойств микроорганизмов. Вид. Академії наук СРСР. 1935, стор. 5—14.
3. *Надсон-Рохлина*—Вестник рентг. та радиол. 1934, Вип. 1—2, стор. 9—21.
4. *Бузни-Никитин*—Труды рентгенологического и онкологического института в Одессе. т. II, 1934.
5. *Надсон-Черкес*—Труды кафедры биологии Одесского мединститута, 1935. Укр.-медвидав (у друку).
6. Цит за „Ферментами“ Опенгаймера та Куна, 1933, стор. 273.
7. *Mertz—Strahlentherapie.* Bd. XXII. 112. 301—318.
8. *Варшавская—Леданов—Стеркин.*—Вестник рентгенологии. 1935, в. 1. стор. 17—24.
9. *Надсон-Шперн.*—Вестник рентгенологии и радиологии. 1934, вип. 1—2.
10. Цит за „Ферментами животного и растительного царства“ Смородинцева. 1922.
11. *Deutsch—Strahlentherapie.* Bd. 48. H 1 S. 114.
12. *Rona й Mitarb—Bioch. Ztsch.* 134, 155, 118; 141, 222; 146, 144 (1924).
13. *Утевський та Меерзон*—Експериментальна медицина № 7-8, стор. 5—17.
14. *С. А. Никитин*—Труды Одесского рентгенологического и онкологического института, вип. 3 (у друку).
15. *Martin—Presse medic.* № 19, 1935, p. 361, 363.

Воздействие рентгеновских лучей на тканевую липазу.

Г. А. Черкес и А. О. Натансон.

Кафедра биохимии (зав. — проф. Л. Е. Розенфельд) и кафедра биологии (зав. — проф. С. А. Никитин) Одесского мединститута
(директор — П. И. Шашко).

Вопросу о влиянии различных физических и химических факторов на активность липаз разного происхождения посвящено немало исследований. В них изучалось, главным образом, влияние различных агентов на липолитическую силу фермента *in vitro* — в тканевой кашице, в пищеварительном соке или на очищенных препаратах фермента.

Мы занялись изучением липолитических функций различных тканей при воздействии на них рентгеновских лучей *in vivo*. Рентгеновские лучи, являясь мощным биологическим агентом, могут оказывать воздействие как непосредственно на самый фермент, так и на соответствующий субстрат. Изменение каждого из этих факторов может найти свое отражение в течении жирового обмена.

Исследования школы академика Надсона² и данные Бузни-Никитина⁴ с несомненностью показывают, что нарушение жирового обмена является одним из первых и ранних проявлений облучения рентгеновскими лучами. Отмеченная лабильность жирового обмена, как и вообще химизм ранних тканевых реакций при воздействии рентгеновских лучей нуждается еще в истолковании. Изучение чувствительности различных тканевых липаз к действию рентгеновских лучей представляет поэтому значительный интерес.

В первую очередь, как это видно из табл. 1 (см. украинский текст), необходимо отметить, что активность липазы различных органов неодинакова. Наиболее активной является липаза печени, затем — в убывающем порядке — почки, селезенка, сердце. *Brandleу* также указывает, что печень содержит больше липазы, чем другие органы.

Цифры, приводимые на таблицах 2, 3, 4 (см. украинский текст), ясно показывают повышение липолитической активности ткани при облучении. Следует указать, что не все исследуемые ткани в одинаковой мере отвечают на облучение. Наиболее остро реагирует печень, а за ней следуют почки, селезенка, сердце. В переводе на процентное соотношение, можно сказать, что липаза печени, почки, селезенки дает увеличение почти на 100%, сердца — до 50%.

Затем необходимо подчеркнуть, что величина дозировки (в наших опытах от 50 до 175%) не имеет решающего значения в процессе активации липазы. Изучая пептидозы в сыворотке, Mertz⁷ наблюдал аналогичное явление.

Полную противоположность опытам *in vivo* представляют опыты, проведенные *in vitro*.

Опыт и контроль, как видно из табл. 5, дают близко совпадающие результаты. Более высокие цифры как в опыте, так и контроле зависят, по видимому, от процессов аутолиза, связанных (по условиям облучения) с полуторасуточным хранением органов при комнатной температуре. Подчеркиваем, что совпадение цифр опыта и контроля исключает иное толкование.

Последние данные, утверждающие нечувствительность липаз к рентгеновским лучам *in vitro*, находятся в соответствии с данными Т. Б. Варшавской, С. Н. Леданова и Э. Я. Стеркина⁸ в отношении клеточных протеаз; они также совпадают с исследованиями Надсона и Штерн⁹ для амилазы, с данными Richter'a, Gerhartz'a, Lockeman'a¹⁰ и других в отношении сичужного фермента, зимазы, пепсина, панкреатина, наконец, с нашими (Натансон, Черкес) исследованиями в отношении глютамина печени. Противоположные результаты получил Mertz⁷ на сывороточных пептидозах и Deutsch для катализы крови. Эти обстоятельства лишний раз подчеркивают, что ферменты чувствительны при облучении *in vivo*, не чувствительны при облучении вне организма. Здесь же следует отметить, что изменения липолитической силы тканей относятся к числу так называемых ранних тканевых реакций, так как они могут быть обнаружены тотчас же после облучения.

Разная степень чувствительности тканевых липаз к действию лучистой энергии может быть сравнима с описанным Rona¹² специфическим отношением липаз к ядам атоксилу и хинину. Не предпринимая вопроса о единой природе тканевых липаз, можно предположить, что изменения, наступающие в тканях при облучении, связаны с изменениями в так называемых „сопутствующих факторах“ (в смысле Вильштеттера); этим может быть обусловлена разная степень чувствительности различных тканевых липаз.

Интересно отметить тут данные Утевского и Меерзона¹³, показавших, что поведение органных липаз, в смысле их чувствительности к специфическим ядам — атоксилу и хинину, зависит от сопутствующих веществ и свойства самого фермента, варьирует в зависимости от сопровождающих примесей.

Увеличение количества продуктов жирового распада в тканях соответствует увеличению их содержания в крови — явление далеко не безразличное для организма (Martin).

Описанные выше изменения жирового обмена в тканях изучены чисто морфологически и все еще не получили достаточного обоснования. С этой точки зрения наша работа делает попытку подвести биохимически баланс под указанные морфологические изменения.

Выводы.

1. Облучение тканей *in vivo* вызывает повышение липолитического индекса тканей.
2. Облучение *in vitro* указанного изменения не дает.
3. Разница между облучением *in vivo* и *in vitro* указывает, что повышение липолитической активности тканей является одним из звеньев общей реакции организма на облучение.
4. Липолитическая активность отдельных тканей различна как в норме, так и после облучения. Наиболее значительное повышение дает липаза печени.
5. Изменения тканевых липаз относятся к так называемым ранним тканевым реакциям и связаны с ранними морфологическими изменениями в тканях.

Action des rayons X sur la lipase des tissus.

G. A. Tscherkès et A. O. Nathansohn.

Chaire de Biochimie (Chef — Prof. L. E. Rosenfeld) et Chaire de Biologie (Chef — Prof. S. A. Nikitine) de l'Institut de Médecine d'Odessa (Directeur — P. I. Chachko).

Un grand nombre de recherches ont été consacrées à l'influence de différents facteurs physiques et chimiques sur l'activité des lipases de différentes origines. Elles ont porté en grande partie sur l'étude de l'influence de différents agents sur le pouvoir lipolytique du ferment „*in vitro*“ dans la bouillie de tissu, le suc digestif ou des préparations épurées de ferment.

Nous avons étudié les fonctions lipolytiques de différents tissus *in vivo*, soumis à l'action des rayons X. Ces derniers, en étant un puissant agent biologique, peuvent agir sur le ferment lui-même, comme sur le substrat correspondant. La modification de chacun de ces deux facteurs peut avoir une répercussion sur le cours du métabolisme des graisses.

Les recherches de l'école de l'académicien Nadson et celles de Bouzny-Nikitine démontrent que les troubles du métabolisme des graisses sont un des premiers résultats de l'action des rayons X. La labilité du métabolisme des graisses, comme le chimisme des réactions tissulaires précoces, en général, ont besoin d'être interprétés. C'est pourquoi l'étude de la sensibilité des différentes lipases des tissus envers l'action des rayons X a un intérêt tout particulier.

En premier lieu, comme on peut le voir de la table 1 (voir le texte ukrainien), les lipases des différents organes ont une activité différente. La lipase du foie est la plus active; ensuite viennent — par ordre descendant — celles du rein, de la rate et du coeur. Brandley note également que le foie contient plus de lipase que les autres organes.

Les chiffres des tables 2, 3, 4 (voir le texte ukrainien) montrent clairement une augmentation de l'activité lipolytique du tissu sous l'influence des rayons X. Il faut noter, que tous les tissus ne réagissent pas au même degré à l'action des rayons X. Le foie réagit le plus vivement, ensuite viennent le rein, la rate, le coeur. Les trois premiers organes donnent une augmentation presque de 100%, le coeur — jusqu'à 50%.

Ensuite il faut noter que la dose (dans nos expériences de 50 à 175%) n'a pas une importance décisive pour l'activation de la lipase. Mertz, en étudiant les peptides dans le sérum, a pu observer un phénomène analogue.

Les expériences *in vitro* présentent un tableau diamétralement opposé aux expériences *in vivo*.

Les expériences et le contrôle donnent, comme on le voit dans la table 5, des résultats qui coïncident presque. Les chiffres les plus considé-

rables pour l'expérience comme pour le contrôle, dépendent, selon toute évidence, des phénomènes d'autolyse, provoqués dans les conditions de l'exposition aux rayons X, par la conservation des organes à la température ordinaire pendant une période de 36 heures. Nous insistons que la coïncidence des chiffres d'expérience et de ceux du contrôle exclut toute autre interprétation.

Ces derniers résultats, qui montrent l'insensibilité des lipases *in vitro* envers les rayons X, correspondent aux résultats obtenus par T. B. Warschawskaja, S. N. Lédanov et E. J. Sterkine pour des protéases cellulaires; ils correspondent également aux résultats des recherches de Nadson et Stern, relatives à l'amylase et à ceux de Richter, Gerhartz, Lockeman¹⁰ et autres, relatives au ferment de présure, à la zymase, à la pepsine, à la pancréatine et, enfin, avec nos recherches (Natansohn, Tscherkès) sur le glutathion du foie. Des résultats contraires ont été obtenus par Mertz⁷ pour le peptidose du sérum et par Deutsch pour la catalyse du sang. Tout ceci prouve une fois de plus que les ferments sont sensibles à l'action des rayons X *in vivo* et ne le sont pas en dehors de l'organisme. Il faut noter ici, que les changements du pouvoir lipolytique des tissus appartiennent aux réactions tissulaires précoces, car ils peuvent être découverts immédiatement après l'exposition aux rayons X.

Les différents degrés de sensibilité des lipases des tissus envers les rayons peuvent être comparés à la réaction spécifique (décrite par Rona) de celles-ci sur les poisons comme l'atoxyl et la quinine. Sans affirmer l'identité de la nature des lipases des tissus, on peut, cependant, admettre que les modifications provoquées dans les tissus par les rayons X sont liées aux modifications qui ont lieu dans ce qu'on appelle les „facteurs concomitants“ (dans le sens que Wilstätter donne à ce terme). Ceci peut expliquer le différent degré de sensibilité des différentes lipases.

Il est intéressant de noter ici les résultats, obtenus par Outevsky et Meersohn¹³ qui ont montré que la sensibilité des lipases d'organes envers les poisons spécifiques, comme la quinine et l'atoxyl, dépendent des matières concomitantes et des propriétés du ferment lui-même, et varient suivant les différents mélanges qui les accompagnent. L'augmentation de la quantité des produits de désagrégation adipeuse des tissus correspond à l'augmentation de leur taux dans le sang — phénomène qui n'est pas indifférent pour l'organisme. Ces modifications du métabolisme des graisses dans les tissus n'ont été étudiés que morphologiquement et ne sont pas encore suffisamment fondées. A ce point de vue nos recherches tendent à donner une base biochimique à ces modifications morphologiques.

Conclusions.

1. L'exposition des tissus *in vivo* à l'action des rayons X provoque une augmentation de l'indice lipolytique des tissus.
2. Cette exposition *in vitro* ne produit pas le même effet.
3. La différence entre les résultats de l'action des rayons X *in vivo* et *in vitro* montre que l'augmentation de l'activité lipolytique des tissus fait partie de la réaction générale de l'organisme aux rayons X.
4. L'activité lipolytique des différents tissus est différente à l'état normal, comme après l'exposition aux rayons X. La lipase du foie donne la plus grande augmentation.
5. Les modifications des lipases des tissus appartiennent aux réactions tissulaires précoces et sont liées aux modifications morphologiques précoces dans les tissus.