

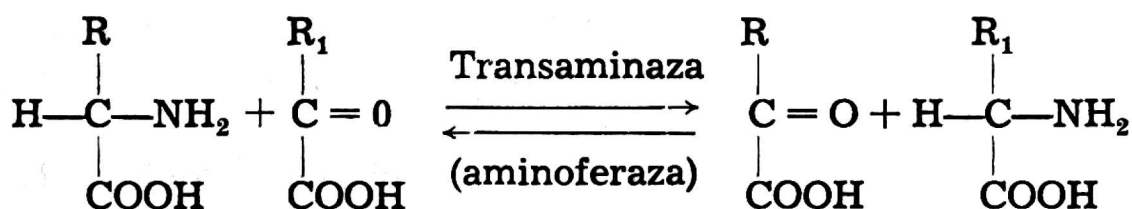
TRANSAMINAZY SUROWICY KRWI JAKO WSKAŹNIK WCZESNEGO WYKRYWANIA ZATRUĆ γ -HCH

HALINA BRONISZ, BOŻENA WYSOCKA

Zakład Chemii Toksykologicznej i Sądowej Akademii Medycznej w Warszawie

Zmiany aktywności enzymów surowicy krwi są szeroko wykorzystane w ostatnich latach w lecznictwie jako wskaźnik zmian patofizjologicznych. Szczególne zainteresowanie zwrócono na transaminazy (aminoferazy), które wykazują wysokie zmiany aktywności przy zaburzeniach patologicznych wątroby, serca i in.

Transaminazy są enzymami katalizującymi przenoszenie grupy aminowej z aminokwasów na ketokwasy z równoczesną syntezą drugiego aminokwasu i drugiego ketokwasu, co można przedstawić w następujący sposób:



Występowanie procesów transaminacji stwierdzono we wszystkich tkankach i narządach zwierząt. Najwięcej transaminaz zawierają: wątroba, serce, mózg, nerki i mięśnie szkieletowe. Transaminazy zawarte są w części płynnej komórki a nie są związane z ziarnistościami zarodki komórkowej. Dlatego w przypadku uszkodzenia komórki (zmian w przepuszczalności błony komórkowej) transaminazy bardzo szybko przechodzą do płynu tkankowego i do krwi. Transaminazy nie są jednak równomiernie rozmieszczone we krwi. Aktywność enzymu jest dziesięciokrotnie wyższa w krwinkach czerwonych niż w surowicy i osoczu. Najbardziej aktywnymi transaminazami w tkance zwierzęcej są:

- 1) transaminaza glutaminowo-szczawiowoocetowa (SGOT)
- 2) transaminaza glutaminowo-pirogronowa (SGPT)

GOT katalizuje odwracalną reakcję transaminazy między kwasem asparaginowym i α -ketoglutazarowym z jednej strony, i kwasem glutaminowym i kwasem szczawiowoocetowym z drugiej. SGPT katalizuje transaminacje

między alaniną i kwasem α -ketoglutarynowym z jednej strony i kwasem pirogronowym z drugiej.

Aktywność poszczególnych transaminaz nie jest jednakowa w różnych tkankach. SGOT występuje w dużych ilościach w sercu, wątrobie, mięśniach szkieletowych i nerce, a SGPT w dużych ilościach w wątrobie i nerce. Poziom waha się zależnie od rodzaju zwierzęcia.

Od czasu spostrzeżeń Wróblewskiego i La Due (19, 20) o zmianie aktywności SGOT przy diagnostyce zawałów serca podjęto szereg badań celem ustalenia poziomu tych enzymów w różnych stanach patologicznych, a przede wszystkim przy uszkodzeniach wątroby różnej etiologii. Zastosowanie czterochlorku węgla jako substancji powodującej specyficzne uszkodzenia wątroby, umożliwiło wielu badaczom wyrażenie zmian patologicznych wątroby w czułych wskaźnikach enzymatycznych. Badania Wróblewskiego, Molandera, La Due i in. (5, 7, 12, 13, 21, 22) wykazały, że przy uszkodzeniu komórek wątroby pod wpływem CCl_4 wysokość i czas trwania wzrostu aktywności SGOT są proporcjonalne do stopnia zatrucia. Przy silnym zatruciu aktywność może zwiększyć się nawet tysiąckrotnie. Następnie (18) zwrócono uwagę, że aktywność SGPT może być bardziej charakterystycznym wskaźnikiem uszkodzeń wątroby niż SGOT i może być specyficznym miernikiem uszkodzeń miększu wątroby.

Podobnie Balaż i wsp. (1) wykazali, że aktywność SGPT jest czułym wskaźnikiem zmian nekrotycznych komórek wątroby. Uważają oni, że oznaczenie SGPT jest bardzo przydatne jako „próba wątrobowa“ przy badaniu toksyczności na szczurach.

Od 1955—1956 r. w których pojawiły się pierwsze doniesienia o celowości oznaczania aktywności transaminaz przy zawałach serca i schorzeniach wątroby, ukazało się także wiele publikacji omawiających zmiany w poziomie enzymów, szczególnie transaminaz przy zatruciach różnymi związkami chemicznymi.

Wykazano znaczny i charakterystyczny wzrost aktywności SGOT przy chronicznych zatruciach alkoholem (2) i u ludzi narażonych na zatrucie ołowiem (17). Przy doświadczalnych zatruciach arsenem a zwłaszcza rtęcią (6) występuje wzrost SGOT i SGPT. Podobnie przy zatruciu benzenem (8) z jednoczesnym obniżeniem aktywności obu enzymów w wątrobie, sercu i tkance mięśniowej.

Przy zatruciach CCl_4 zarówno u ludzi (11) jak i w badaniach doświadczalnych u zwierząt następuje znaczny wzrost aktywności SGOT. Wykazano (3) też wielką przydatność metod enzymatycznych jako mierników narażenia na związki nitrowe i aminowe.

Hanke (9) badał aktywność kilku enzymów, wśród nich SGOT i SGPT u osób, które w związku z pracą zawodową lub w celach samo-

bójczych uległy zatruciu preparatami chemicznymi. Stwierdził, że w wyniku działania substancji chemicznych następował wzrost aktywności jednych i obniżenie aktywności innych enzymów. W wielu przypadkach zmiany enzymatyczne utrzymywały się jeszcze długo po ustąpieniu objawów chorobowych. Potwierdza to pogląd, że śledzenie poziomu enzymów u osób zatrutych substancjami chemicznymi może stanowić ważną cechę diagnostyczną do oceny stopnia uszkodzenia narządów.

Badania wpływu insektycydów na poziom enzymów w surowicy są stosunkowo nieliczne, poza szeroko stosowanym określaniem zmian aktywności esterazy cholinowej we krwi pod wpływem insektycydów fosforoorganicznych. W 1956 r. Nelson (14) stwierdził wzrost poziomu alkalicznej fosfatazy przy uszkodzeniu wątroby pod wpływem endriny. Badano (16) też wpływ paradwuchlorobenzenu na aktywność aldolazy, SGOT i SGPT, stwierdzając wysoki wzrost aktywności SGOT i mierny wzrost SGPT.

Ponieważ insektycydy chloroorganiczne należą do substancji hepatotoksycznych w Zakładzie naszym przystąpiono do badań zachowania się poziomu transaminaz w surowicy przy zatruciach tymi związkami. Wczesne objawy zatrucia insektycydami chloroorganicznymi nie są charakterystyczne i często prawidłowe rozpoznanie nie jest łatwe (np. zatrucia HCH u dzieci często są mylnie rozpoznawane jako udary słoneczne, żołądkowe schorzenia bakteryjne i inne). Przypuszczalnie badania enzymatyczne mogą być pomocne w ustaleniu stopnia zatrucia, i stanowić ważną cechę diagnostyczną w profilaktyce zatruc pozwalającą stwierdzić początkowe stany chorobowe przy których nie są widoczne jeszcze objawy kliniczne. Mogą one również przyczynić się do wyjaśnienia nieustalonego dotychczas mechanizmu działania toksycznego tych związków.

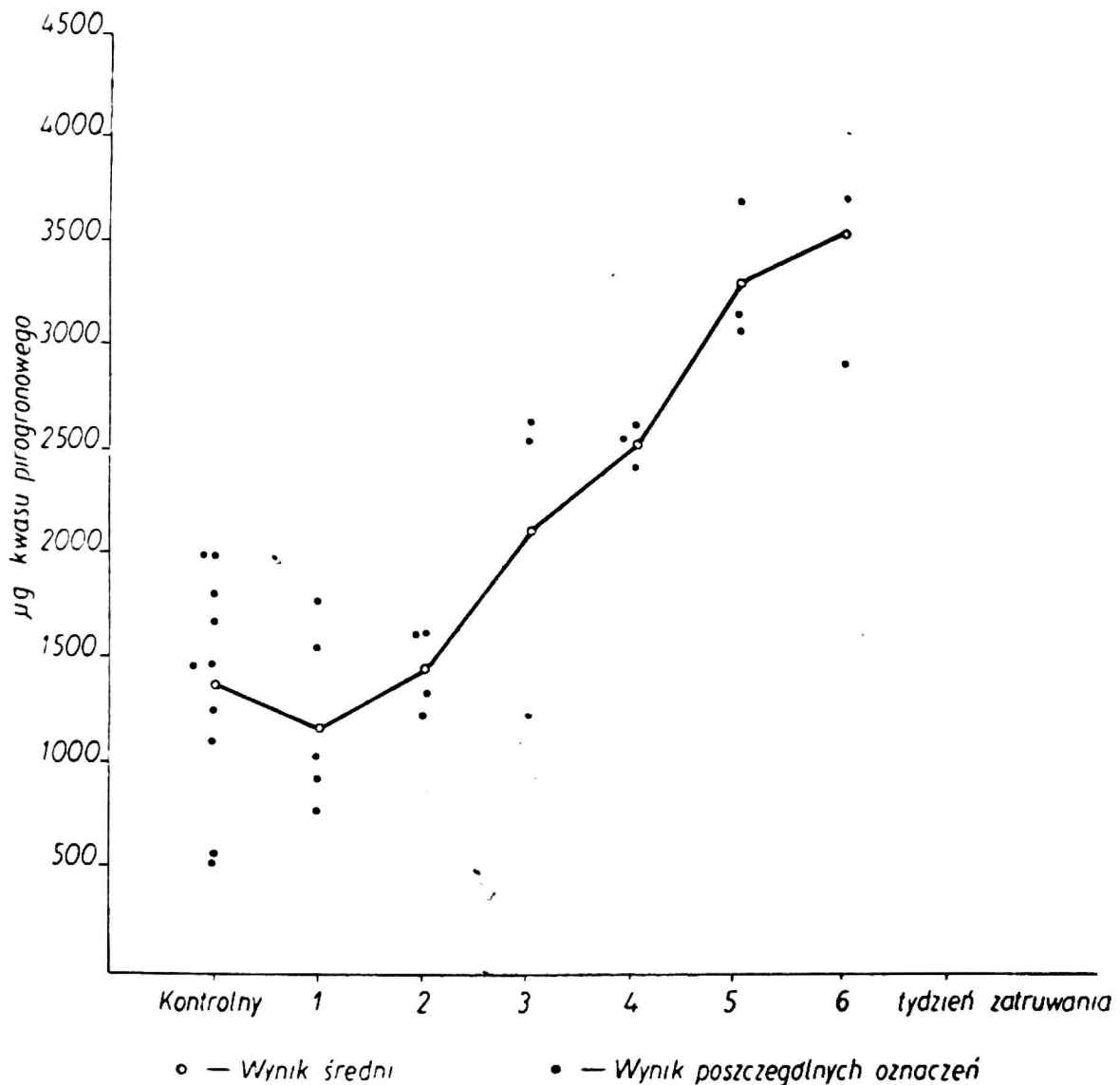
Wychodząc z tych założeń przystąpiono do badania zmian w aktywności SGOT i SGPT u szczurów zatrutowanych γ -izomerem sześciochlorocykloheksanu (γ -HCH).

C z ę ś ć d o ś w i a d c z a l n a

Do badań użyto samice białych szczurów w ilości 30 badanych i 12 kontrolnych, gdyż jak wykazali R ü c h a r z i wsp. (15) oraz M o l a n d e r i wsp. (12) wzrost aktywności transaminaz jest szybszy i większy u samic. Szczury otrzymywały dietę laboratoryjną *ad libitum*. γ -HCH (99,7% czystego izomeru) podawano 6 razy tygodniowo przez okres 6 tygodni w dawce 20 mg/kg w roztworze oleju arachidowego (około 0,5 ml roztworu na jednego szczura) na czczo sondą do żołądka. Szczury kontrolne otrzymywały 0,5 ml oleju arachidowego. Co tydzień 5 szczurów badanych i 2 kontrolne zabijano, wykrwawiano i oznaczano SGOT i SGPT. Oznaczenie przeprowadzano metodą kolorymetryczną podaną przez

Bruyeta i wsp. (4). Co tydzień począwszy od 3 tygodnia badań wykonywano badania histopatologiczne wątroby szczurów badanych i kontrolnych. Wycinki wątroby utrwalano w płynie Bouina, a skrawki barwiono hematoksyliną i eozyną.

Przeprowadzone badania wykazały, że aktywność SGOT u szczurów kontrolnych wynosiła średnio 5000 a aktywność SGPT średnio 1390. Natomiast u szczurów którym podawano γ -HCH aktywność SGOT była nieco niższa niż średnia aktywność u szczurów kontrolnych, zaś aktywność SGPT wzrastała przez cały okres badań (tabela 1 oraz wykres 1).



Wykres 1. Aktywność SGPT u szczurów kontrolnych i zatrutowanych γ HCH

Badania histopatologiczne wątroby po 3, 4, 5 tygodniu nie wykazywały różnic w porównaniu z obrazem wątroby szczurów kontrolnych. Dopiero po 6 tygodniach, gdy łącznie szczury otrzymały po 151,2 mg γ -HCH na 1 szczura stwierdzono obrzmienie komórek wątroby, zmiany pyknotyczne jąder i degenerację cytoplazmy z niewielkimi ogniskami martwicy.

Tabela 1

Okres badania	Łączna ilość γ -HCH podana w końcu każdego tygodnia w mg na jednego szczura	Aktywność		Wzrost aktywności SGPT w %
		SGOT*	SGPT*	
I tydzień	25,2	4380	1180	—
II tydzień	50,4	4675	1445	—
III tydzień	75,6	4950	2147	154
IV tydzień	100,8	3655	2535	184
V tydzień	126,0	2963	3333	239
VI tydzień	151,2	4763	3573	257
Poziom u szczurów kontrolnych	—	5000	1390	

* Aktywność wyrażona w mcg kwasu pirogronowego wytworzonego przez 1 ml surowicy w ciągu 20 min. w temp. 37°.

Horn i Amelung (10) uważają, że stosunek pomiędzy poziomem SGOT i SGPT jest stały. Stosunek ten przy podawaniu szczurom γ -HCH ulega znacznemu obniżeniu (tabela 2).

Tabela 2

Stosunek SGOT do SGPT u szczurów badanych i kontrolnych

	Aktywność		SGOT
	SGOT	SGPT	SGPT
Szczury kontrolne	5000	1390	3,6
Szczury badane po			
I tygodniu	4380	1180	3,6
II tygodniu	4675	1445	3,2
III tygodniu	4950	2147	2,3
IV tygodniu	3655	2535	1,4
VI tygodniu	4763	3573	1,3

Wnioski

Przeprowadzone badania wykazują, że przy podawaniu szczurom *per os* małych dawek γ -HCH występują zmiany aktywności transaminazy w surowicy krwi, charakteryzujące się wzrostem poziomu SGPT począwszy od 3 tygodnia zatruwania. Porównując ten wzrost SGPT z badaniami histopatologicznymi, które dopiero po 6 tygodniach wykazują uchwytne zmiany w mięszu wątroby, należy stwierdzić, że zmiany SGPT są czułą próbą pozwalającą wykazać szkodliwe działanie γ -HCH, gdy jeszcze nie nastąpiło uszkodzenie wątroby dające się stwierdzić badaniem mikroskopowym.

Znamienne jest również znaczne obniżenie się stosunku SGOT do SGPT, który u szczurów kontrolnych wynosi 3,6, natomiast u szczurów zatrutowanych γ -HCH ulega stopniowemu obniżeniu i po 6-tygodniowym zatrutowaniu wynosi 1,3. Wskazuje to, że przy zmianach nekrotycznych wątroby powstałych przy zatruciach HCH następuje wzrost aktywności SGPT.

LITERATURA

1. Balazs T., Murray T. K., McLaughlan J. M., Grice H. C.: *Toxicol. and appl. Pharmacology* 3, 71, 1961.
2. Bang N. U., Iversen K., Jaget F.: *J. A. M. A.* 168, 156, 1958.
3. Bomski H., Bomska H., Jaszke B., Kodura J., Kuligowska H., Makowski M.: VI Krajowa Konfer. Med. Pracy 1962, str. 64.
4. Bruyet P., Delanuay A., Meignen-Gauthier Ch.: *La Presse Medicale* 66, 2011, 1958.
5. Dinman B. D., Fox C. F., Frajola W. J., Rabar A.: *Arch. environment Health* 4, 168, 1962.
6. Fabroni F.: *Folia Med.* 45, 337, 1962.
7. Friend Ch., Wróblewski F., La Due J. S.: *J. exper. Med.* 102, 699, 1955.
8. Granati A., Scavo D., Sereno L., Giovannini C.: *Folia Med.* 44, 646, 1961.
9. Hanke J.: *Med. Pracy* 14, 223, 1963.
10. Horn H. D., Amelung D.: *Dtsch. Med. Wschr.* 82, 619—626, 1957.
11. Lachnit V., Pietschmann H., *Ind. Med. Surg.* 29, 523, 1960.
12. Molander D. W., Wróblewski F., La Due J. S.: *J. Lab. Clin. Med.* 46, 831, 1955.
13. Molander D. W., Payne M. A.: *J. A. M. A.* 163, 1461, 1957.
14. Nelson S. G., Bahler T. L., Hartwell W. V., Greenwood D. A., Harris L. E.: *J. Agr. Food Chem.* 6, 696, 1956.
15. Richarz G., Schoetensach W.: *Arch. f. exper. Pathologie u. Pharmacol.* 236, 64, 1959.
16. Totaro S.: *Folia Med.* 44, 586, 1961.
17. Waldman R. K., Borman E. K.: *A. M. A. Ind. Health* 19, 431, 1959.
18. Wróblewski F., La Due J. S.: *Ann. Intr. Med.* 45, 89, 1956.
19. Wróblewski F., La Due J. S.: *J. Lab. Clin. Med.* 44, 958, 1954.
20. Wróblewski F., La Due J. S.: *Ann. Int. Med.* 43, 345, 1955.
21. Wróblewski F.: *Trans. N. J. Academy of Sci.* 18, 444, 1956.
22. Wróblewski F., Jervis G., La Due J. S.: *Ann. Int. Med.* 45, 782, 1956.