

**УДК: 616-001.4-089-032:611-013.395**

## **ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ ТРАНСАМИНАЗ И СОДЕРЖАНИЕ БЕЛКА ПРИ АЛЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ И СФОРМИРОВАННЫХ МЫШЕЧНЫХ ТКАНЕЙ**

*Кулибаба Е.В., Разумнова А.Ю., Петров С.А.*

*Одесский национальный университет им. И.И. Мечникова, Одесса, Украина  
E-mail: Lenuka.87@mail.ru*

В статье представлены результаты исследования активности трансаминаз и динамика изменения содержания белка в мышечных тканях при аллотрансплантации гомологичных эмбриональных тканей. Установлено, что трансплантация эмбриональной мышечной ткани к взрослой особи не приводит к изменениям трансаминазной системы в мышечных тканях.

**Ключевые слова:** аллотрансплантация, трансаминазы, белок, мышечные ткани.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Эмбриональным тканям присущи характерные морфологические и биохимические особенности. Они состоят, в основном, из бластных и стволовых клеток, которым присуща низкая антигенность и высокий пролиферативный и энергетический потенциал [1]. Современными исследованиями в области экспериментальной и клинической медицины созданы серьёзные предпосылки для трансплантации эмбриональной ткани и клеток с целью стимуляции и восстановления утраченных функций тканей [2]. Установлено положительное влияние эмбриональных трансплантантов на репарационные процессы в тканях, в связи с улучшением энергообеспечения [3]. Аминотрансферазы – ферменты, катализирующие реакцию переноса аминокислотной группы (NH<sub>2</sub>-группы) вместе с протоном (ионом водорода) и парой электронов от аминокислот или аминов к кетокислотам или другим соединениям, содержащим в составе своей молекулы карбонильную группу (СО-группу). Биологическая роль аминотрансфераз чрезвычайно велика, т.к. они участвуют в трансаминировании – процессе, имеющем важнейшее значение для энергетического обмена и азотистого обмена. В связи с указанным мы исследовали активность трансаминаз и динамику изменения содержания белка в мышечных тканях при аллотрансплантации гомологичных эмбриональных тканей.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Исследования выполнены на 72 половозрелых крысах, самцах, массой 180-300 г. В работе соблюдены требования Европейской конвенции о защите животных, которые используются в экспериментальных целях. Хирургическое вмешательство проводили в стерильных условиях. Операционное поле обрабатывалось раствором

йодобака. Для получения эмбрионов использованы самки со сроком беременности 3-4 недели. У эмбрионов была взята брюшная мышечная ткань, которая подшивалась к гомологичной ткани взрослой крысы. Такая же процедура проводилась и с бедренной мышечной тканью. Трансплантация однопомётной ткани осуществлялась также. В этом случае донором служила особь взрослой крысы, взятая из одного помёта. При ложной операции осуществлялось хирургическое вмешательство без подсадки тканей. Операционную рану зашивали наглухо, простым узловым швом. Накладывалась асептическая повязка [4]. Животных выводили из эксперимента, путём пропускания электрического тока через продолговатый мозг.

Активность АЛТ и АСТ определяли с помощью метода Райтмана. Принцип метода определения АЛТ основан на аминировании 2-оксоглутаровой кислоты L-аланином, которое происходит под действием аланинаминотрансферазы. При этом образуется L-глутаминовая и пировиноградная кислоты. Определение базируется на измерении оптической плотности 2,4-динитрофенилгидразинов 2-оксоглутаровой и пировиноградной кислот в щелочной среде. Принцип метода определения АСТ заключается в аминировании 2-оксоглутаровой кислоты L-аспарагиновой кислотой, под действием аспаратаминотрансферазы. При этом образуется L-глутаминовая и щавелевоуксусная кислоты, последняя декарбоксилируется с образованием пировиноградной кислоты. Определение базируется на измерении оптической плотности 2,4-динитрофенилгидразинов 2-оксоглутаровой и пировиноградной кислот в щелочной среде [5-7].

Белок определяли по методу Лоури [8].

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Прежде всего мы решили определить количество белка в динамике у ложнооперированных животных. Как видно из табл.1, в бедренной мышечной ткани к 7-ым суткам после операции количество белка увеличивалось в 2 раза относительно контроля. В брюшной мышечной ткани показатели содержания белка также превышали контрольные значения в 2,5 раза к 7-ым суткам.

**Таблица 1**  
**Содержание белка у крыс при ложной операции (мг белка/г ткани)**

	Бедренная мышца	Брюшная мышца
Контроль	3,9±0,1	3,3±0,2
1 сутки	5,7±0,8*	6,4±0,6*
3 сутки	6,7±0,7*	6,6±0,6*
7 сутки	8,6±0,2*	8,9±0,5*

*Примечание:* \*Р-достоверно по отношению к контролю.

В табл. 2 представлены результаты определения содержания белка при подсадке ткани, взятой у животного из одного помёта, которые свидетельствуют об увеличении содержания белка во все сроки. К 7-ым суткам после трансплантации во всех исследуемых мышечных тканях этот показатель в 2-2,5 раза превышал контрольные значения. Сравнивая содержание белка между бедренной мышечной тканью донора и акцептора можно отметить достоверное превышение исследуемых

показателей в бедренной мышечной ткани акцептора. В брюшной мышечной ткани такая картина наблюдалась на 1,3 сутки после трансплантации.

Таким образом, подсадка мышечных тканей у однопомётных крыс и при ложной операции приводит к увеличению содержания белка относительно контроля.

Такая картина связана с усилением репарационных процессов после хирургического вмешательства, что приводит к усилению биосинтеза белка.

**Таблица 2**

**Содержание белка в тканях крыс при подсадке ткани, взятой у животных из одного помёта (мг белка/ г ткани)**

	Бедренная мышца акцептора	Бедренная мышца донора	Брюшная мышца акцептора	Брюшная мышца донора
Контроль	3,9±0,1	3,9±0,1	3,3±0,2	3,3±0,2
1 сутки	7,8±0,5*	5,7±0,4*, **	7,6±0,7*	4,9±0,3*, **
3 сутки	9,1±0,2*	6,7±0,4*, **	9,3±0,3*	6,4±0,7*, **
7 сутки	8,6±0,08*	6,5±0,9*, **	8,7±0,2*	7,2±0,4*

Примечание:

\*P<sub>1</sub>-достоверно по отношению к контролю,

\*\*P<sub>2</sub>-достоверность между мышечной тканью донора и акцептора.

При трансплантации эмбриональной мышечной ткани (табл.3) установлено достоверное увеличение содержания белка к 7-ым суткам эксперимента в бедренной мышце донора и в брюшной мышце акцептора. В бедренной мышце акцептора такое увеличение исследуемого показателя происходило к 3-им суткам исследования. В брюшной мышце донора достоверных изменений относительно контроля не происходило. Сравнивая содержание белка между бедренной и брюшной мышцами акцептора и донора можно отметить, что в исследуемых тканях донора его существенно меньше после трансплантации на 1-ые сутки эксперимента. На 3-и и 7-ые сутки достоверных изменений отмечено не было.

**Таблица 3**

**Содержание белка в тканях крыс при подсадке эмбриональной ткани (мг белка/ г ткани)**

	Бедренная мышца акцептора	Бедренная мышца донора	Брюшная мышца акцептора	Брюшная мышца донора
Контроль	3,9±0,1	1,8±0,2**	3,3±0,2	2,0±0,1**
1 сутки	3,8±0,1	1,7±0,3**	3,7±0,1	1,8±0,2**
3 сутки	4,4±0,1*	3,2±0,8	3,0±0,8	2,3±0,3
7 сутки	4,1±0,1	4,5±0,4*	4,9±0,3*	3,5±0,8

Примечание:

\*P<sub>1</sub>-достоверно по отношению к контролю,

\*\*P<sub>2</sub>-достоверность между мышечной тканью акцептора и донора.

Получив вышеуказанные результаты, мы решили выяснить, за счёт чего происходят такие изменения. Возможно, они реализуются за счёт пополнения фонда аминокислот в тканях, происходящие в реакциях трансаминирования.

Исследования активности АЛТ (табл.4) в исследуемых тканях показали, что при ложной операции достоверных изменений отмечено не было.

**Таблица 4**

**Активность АЛТ при ложной операции (мкмоль/ ч×мг ткани)**

	Бедренная мышца	Брюшная мышца
Контроль	0,22±0,05	0,18±0,05
1 сутки	0,17±0,05	0,15±0,05
3 сутки	0,17±0,05	0,13±0,05
7 сутки	0,21±0,05	0,17±0,05

Как видно из данных табл. 5 при подсадке мышечных тканей, взятых у однопомётных крыс наблюдалось достоверное снижение показателей к 7-ым суткам эксперимента в бедренной и брюшной мышечных тканях донора. Сравнивая изучаемые показатели между донором и акцептором можно отметить, что в бедренной мышце донора во все исследуемые сроки активность АЛТ была достоверно меньше по сравнению с бедренной мышцей акцептора. В брюшной мышце донора такая картина наблюдалась на 3-7 сутки после трансплантации.

**Таблица 5**

**Активность АЛТ в тканях крыс при подсадке ткани, взятой у животных из одного помёта (мкмоль/ ч×мг ткани)**

	Бедренная мышца акцептора	Бедренная мышца донора	Брюшная мышца акцептора	Брюшная мышца донора
Контроль	0,22±0,05	0,22±0,05	0,18±0,05	0,18±0,05
1 сутки		0,08±0,01*,**	0,12±0,05	0,07±0,01
3 сутки	0,25±0,05	0,04±0,01*,**	0,16±0,05	0,04±0,01*,**
7 сутки	0,21±0,05	0,03±0,01*,**	0,13±0,04	0,02±0,005*,**

Примечание:

\*P<sub>1</sub>-достоверно по отношению к контролю,

\*\*P<sub>2</sub>-достоверность между мышечной тканью донора и акцептора.

Иная картина наблюдалась при подсадке эмбриональных тканей. Из табл.6 видно, что в брюшной мышце донора к 7-ым суткам эксперимента активность АЛТ достоверно снижалась относительно контроля. Сравнивая активность фермента в бедренной мышечной ткани акцептора и донора можно отметить, что во все исследуемые сроки активность АЛТ была достоверно выше в бедренной мышечной ткани акцептора. Аналогичная ситуация обнаружена и в брюшной мышечной ткани акцептора.

Таблица 6

Активность АЛТ в тканях крыс при подсадке эмбриональной ткани  
(мкмоль/ ч×мг ткани)

	Бедренная мышца акцептора	Бедренная мышца донора	Брюшная мышца акцептора	Брюшная мышца донора
Контроль	**0,22±0,05	0,05±0,01	**0,18±0,05	0,08±0,01
1 сутки	**0,23±0,05	0,05±0,01	**0,17±0,05	0,05±0,01
3 сутки	**0,24±0,05	0,06±0,01	**0,19±0,05	0,05±0,01
7 сутки	**0,23±0,05	0,07±0,01	**0,15±0,05	0,03±0,01*

Примечание:

\*P<sub>1</sub>-достоверно по отношению к контролю,

\*\*P<sub>2</sub>-достоверность между мышечной тканью донора и акцептора.

Из табл. 7 и 8 видно, что ни ложная операция, ни подсадка однопомётной ткани не приводит к достоверным изменениям исследуемых показателей.

Таблица 7

Активность АСТ при ложной операции (мкмоль/ ч×мг ткани)

	Бедренная мышца	Брюшная мышца
Контроль	0,17±0,05	0,15±0,05
1 сутки	0,14±0,05	0,08±0,01
3 сутки	0,09±0,02	0,11±0,05
7 сутки	0,16±0,05	0,14±0,05

Таблица 8

Активность АСТ в тканях крыс при подсадке ткани, взятой у животных из одного помёта (мкмоль/ ч×мг ткани)

	Бедренная мышца акцептора	Бедренная мышца донора	Брюшная мышца акцептора	Брюшная мышца донора
Контроль	0,17±0,05	0,17±0,05	0,15±0,05	0,15±0,05
1 сутки	0,14±0,05	0,11±0,04	0,12±0,05	0,09±0,01
3 сутки	0,16±0,05	0,08±0,01	0,14±0,05	0,08±0,01
7 сутки	0,13±0,05	0,08±0,01	0,12±0,05	0,06±0,005

Подсадка эмбриональной ткани (табл. 9) не оказывает влияния на активность АСТ в исследуемых тканях донора и акцептора.

Таблица 9

Активность АСТ в тканях крыс при подсадке эмбриональной ткани  
(мкмоль/ ч×мг ткани)

	Бедренная мышца акцептора	Бедренная мышца донора	Брюшная мышца акцептора	Брюшная мышца донора
Контроль	0,17±0,05	0,10±0,05	0,15±0,05	0,08±0,01
1 сутки	0,15±0,05	0,08±0,01	0,15±0,05	0,08±0,01
3 сутки	0,17±0,05	0,10±0,04	0,17±0,05	0,09±0,01
7 сутки	0,17±0,05	0,10±0,05	0,15±0,05	0,07±0,01

## ВЫВОДЫ

1. Подсадка мышечных тканей однопомётных крыс также как и при ложной операции приводит к увеличению содержания белка в изучаемых тканях относительно контроля.
2. Трансплантация эмбриональной мышечной ткани приводит к увеличению содержания белка во всех исследуемых тканях во все сроки исследования.
3. Трансплантация эмбриональной мышечной ткани к взрослой особи не приводит к изменениям трансаминазной системы в мышечных тканях.
4. Очевидно, нарастание содержания белка в мышечных тканях после аллотрансплантации связано с интенсификацией биосинтеза белка за счёт имеющегося фонда свободных аминокислот.

## Список литературы

1. Костный мозг как источник получения мезенхимальных клеток для восстановительной терапии повреждённых органов / В.И. Шумаков, Н.А. Онищенко, Н.Е. Крашенинников [и др.]. – Вест. трансплант. и искусств. орг. – 2002. – №4. – С. 3–6.
2. Александрова М.А. Поведение трансплантированных эмбриональных клеток. / М.А. Александрова, Е.В. Лосева, И.В. Ермакова // Онтогенез. – 1993. – Т.24, №5. – С. 43–50.
3. Мазур О.Е. Порівняльна характеристика процесів енергообміну та біосинтезу деяких ембріональних тканин і клітин / О.Е. Мазур // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2000. – №4. – С. 44–47.
4. Буянов В.М. Хирургический шов / В.М. Буянов, В.Н. Егиев, О.А. Удотов [учебное пособие] – Санкт-Петербург, 2001. – С. 112.
5. Reitman S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases / S. Reitman, S. Frankel // Am.J.Clin.Pathol – 1957. – P. 28, 56.
6. Tietz N.W. Clinical guide to laboratory tests, 2nd ed. Saunders Co / N.W. Tietz // Textbook Of Clinical Chemistry – 1991. – P. 20–21.
7. Friedman R.B. Effects of disease on clinical laboratory tests / R.B. Friedman, D.S. Young // 3rd Edition, AACCC Press.-Washington – 1997. – P. 21.
8. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.H. Lowry, N.I. Rosenbrough, A.Z. Fan [et. al]. // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193 – P. 265–275.

**Кулибаба О.В. Вивчення активності трансаміназ і вмісту білка при алотрансплантації ембріональних і сформованих м'язових тканин / О.В. Кулибаба, А.Ю. Разумнова, С.А. Петров // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2012. – Т. 25 (64), № 3. – С. 103-108.**

У статті представлені результати дослідження активності трансаміназ і динаміка зміни вмісту білка в м'язових тканинах при алотрансплантації гомологічних ембріональних тканин. Встановлено, що трансплантація ембріональної м'язової тканини до дорослої особи не призводить до змін трансаминазної системи в м'язових тканинах.

**Ключові слова:** алотрансплантація, трансамінazi, білок, м'язові тканини.

**Kulibaba E.V. Study of transaminase activity and protein content in allotransplantation embryonic and formed muscle tissue / E.V. Kulibaba, A.Y. Razumnova, S.A. Petrov // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2012. – Vol. 25 (64), No 3. – P. 103-108.**

The article presents the results of research activity of enzymes and of changes in protein content in muscle tissue at allotransplantation homologous embryonic tissues. Found that transplantation of embryonic muscle tissue to the adult individual does not change transaminaznoy system in muscle tissues.

**Keywords:** allotransplantation, transaminase, protein, muscle tissue.

*Поступила в редакцію 29.09.2012 г.*