

**PROMENA AKTIVNOSTI ENZIMA SDH U JETRI  
I BIOHEMIJSKIH PARAMETARA U KRVI PACOVA  
TRETIRANIH GENTAMICINOM**

\*

Nenad STOJILJKOVIĆ, Dragoljub JOVANOVIĆ, Mirjana RADENKOVIĆ,  
Slavimir VELJKOVIĆ, Milan ĆIRIĆ i Dragan RADOVANOVIĆ

*Institut za fiziologiju Medicinskog fakulteta u Nišu*

Ispitivana je promena enzimske aktivnosti sukcinat dehidrogenaze (SDH) u jetri, kao i promena biohemijskih parametara (sGOT, sGPT i bilirubina) u krvi pacova tretiranih Gentamicinom. U eksperimentalnoj grupi životinja tretiranih Gentamicinom (100 mg/kg TT/24 h) u toku 8 dana, nadeno je da je najjača aktivnost SDH bila prisutna u perivenularnoj zoni acinusa (+++), smanjena aktivnost ovog enzima nadena je u intermedijarnoj zoni (+), dok je aktivnost SDH u periportnoj zoni acinusa bila prisutna u tragu ( $\pm$ ). Kod kontrolne grupe životinja tretiranih fiziološkim rastvorom (1 ml/kg TT/24 h) aktivnost enzima SDH bila je najizraženija u perivenularnoj zoni acinusa (+++), dok je u intermedijarnoj i periportnoj zoni aktivnost ovog enzima bila očuvana ali nešto slabije (++). Rezultati komparativnog proučavanja enzimohistohemijskih i biohemijskih promena potvrđuju postojanje značajne korelacije između aplikacije Gentamicina i navedenih promena.

*Ključne reči:* Gentamicin, SDH, transaminaze, bilirubin

## Uvod

Jetra je jedinstven, a moglo bi se reći i savršen organ, čovečjeg organizma, ne samo zbog svoje anatomske lokalizacije već i mnogobrojnih funkcija koje omogućavaju normalnu homeostazu organizma. Delovanje različitih hepatotropnih i hepatotoksičkih supstanci (lekovi, toksične materije, virusi) dovode do mikromorfoloških, ultrastrukturnih i funkcionalnih promena i poremećaja jetre. Hepatocit je glavno mesto biotransformacijskih sistema koji svojim enzimima omogućavaju da se metaboliti ovih jedinjenja i supstancija izluče iz organizama ili ih učine manje toksičnim za organizam. Lekove metabolise poseban enzimski sistem u celijama jetre, koja je glavni organ za biotransformaciju lekova. Najveći značaj imaju mikrozomni enzimi jetre, dok manjim delom u biotransformaciji učestvuju enzimi lokalizovani u citoplazmi i mitohondrijama hepatocita. U metabolisanju nekih lekova mogu

se stvoriti i metaboliti takve toksičnosti da posleđično izazovu hepatotoksični efekat (*Kaplowitz i sar.*, 1988). Studijska ispitivanja poslednjih godina ukazuju na uzročnu povezanost kao i poremećajima njene enzimске aktivnosti (*Hill i sar.*, 1994). Hepatotoksičnost ovih supstanci je juterizovanim određivanjem različitih biohemijskih parametara u krvi i drugim savremenim metodama delovanju brojnih materija (tetraciklini, citostatici, antituberkulotici, alkohol itd.) (*Perišić*, 1988). Za razliku od navedenih materija malo je podataka o efektima aminoglikozidnih antibiotika na promenu funkcije jetre.

Eksperimentalna ispitivanja izvedena na životinjama, pretežno se odnose na istraživanja ototoksičnosti, vestibulotoksičnosti i nefrotoksičnosti Gentamicina (*Beimet i sar.*, 1982). Istraživanja su vršena i kod čoveka u smislu ispitivanja potencijalne toksičnosti. Neka ispitivanja toksičnosti Gentamicina pokazala su i njegov efekat koji se izražava prolaznom hiperbilirubinemijom i povišenim tel...

### **Cilj istraživanja**

Cilj našeg rada je da sagledamo promene enzimске aktivnosti sukcinat dehidrogenaze (SDH), kao i promene biohemijskih parametara u krvi (bilirubina i transaminaza) u pacova tretiranih Gentamicinom.

### **Materijal i metode**

Eksperiment je obuhvatio analizu 16 laboratorijskih belih pacova Wistar soja, oba pola, te... podeljene u dve eksperimentalne grupe, od kojih je jedna služila kao kontrolna. Ispitivanoj eksperimentalnoj grupi intraperitonealno je aplikovan Gentamicin, u dozi od 100 mg/kg TT/24 časa. Kontrolnoj grupi intraperitonealno je aplikovan fiziološki rastvor u dozi od 1 ml/kg TT/24 časa.

Za eksperimentalno ispitivanje enzimohistohemijskih promena, uzimani su sveži iseći jetre, a za biohemijske analize uzimana je krv iz aorte neposredno posle anesteziranja i vivisekcije životinja.

Za enzimohistohemijsko ispitivanje uzimani susveži iseći jetre koji su odmah zamrzavani u tečnom azotu. Nakon toga pravljani su serijski preseki tkiva jetre debljine 8 mikrometara na kriostatu WKF 1150, pri temperaturi od 20 stepeni. Gotovi preparati su bojani po Pearase-u (1972). Enzimohistohemijska metoda je korišćena za dokazivanje zonalne aktivnosti SDH (perivenularne, intermedij...

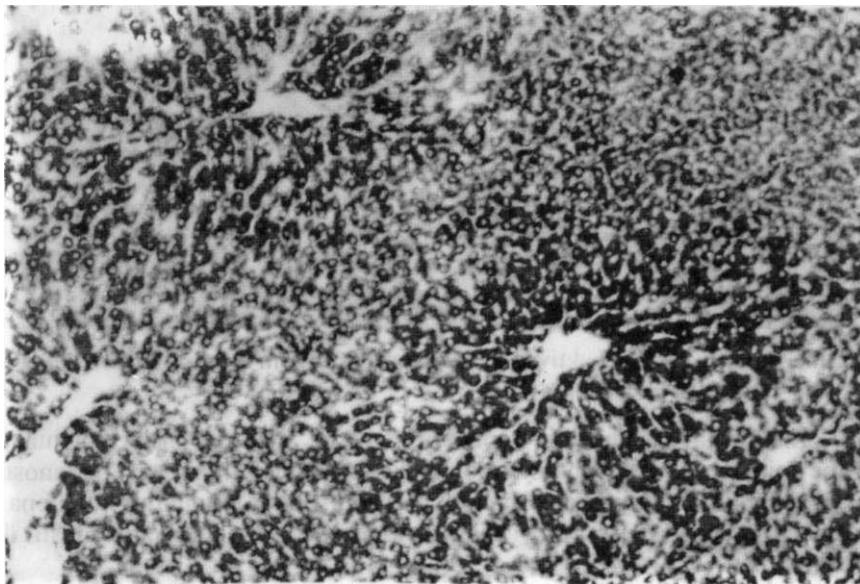
Za biohemijske analize iz krvi belih pacova (2 ml) određivane su serumske vrednosti: transaminaza (SGOT, SGPT) i bilirubina.

## Rezultati rada

### *1. Analiza enzimohistohemijskih i biohemijskih nyomena jetre kod kontrolne grupe životinja*

#### Aktivnost Sukcinat dehidrogenaze (SDH)

Evidentan je zonalni enzimski polimorfizam. Naime, najjača aktivnost je prisutna u perivenularnoj zoni acinusa (+++) i to difuzno u citoplazmi u vidu tamnoljubičastih malih granula. SDH aktivnost je prisutna i u ostalim zonama ali je slabija, tj. (++) svetloljubičaste boje (slika 1).



Slika 1. Markantan zonalni polimorfizam u citoplazmi hepatocita. Enzimohistohemijska reakcija x 100

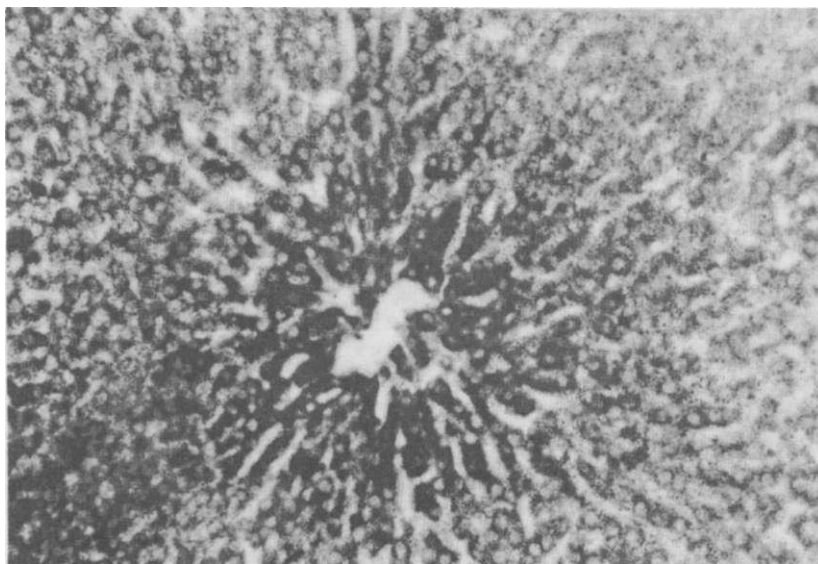
Aktivnost SDH je veoma intenzivna u hepatocitima perivenularne zone, mada je dosta izražena i u intermedijarnoj i periportalnoj zoni.

Analiza biohemijskih parametara u krvi kod kontrolne grupe pacova pokazuje normalne vrednosti transaminaza (SGOT  $29,5 \pm 7,4$  iu/L; SGPT  $31,7 \pm 6,9$  iu/L) i totalnog bilirubina ( $3,1 \pm 0,9$  mmol/L).

*2. Analiza enzimohistohemijskih i biohemijskih promena jetre kod eksperimentalne grupe životinja tretiranih Gentamicinom*

**Aktivnost Sukcinat dehidrogenaze (SDH)**

Najjača enzimaska aktivnost (+++) prisutna je u perivenularnoj zoni acinusa; smanjena aktivnost (+) nađena je u intermedijarnoj zoni, dok je zastupljenost SDH enzima



**Slika 2. Očuvana SDH aktivnost u perivenularnoj zoni acinusa. Enzimohistohemijska reakcija x 200**

Enzimaska aktivnost u hepatocitima kod životinja eksperimentalne grupe koje su tretirane Gentamicinom pokazuje različit intenzitet izraženosti. Aktivnost SDH je najjača u perivenularnoj zoni, dok je evidentno smanjena u intermedijarnoj i periportnoj zoni, a kreće se od slabe izraženosti do areaktivnosti.

Analiza biohemijskih parametara u krvi kod eksperimentalne grupe pacova tretiranih Gentamicinom pokazuje povišene vrednosti transaminaza (SGOT  $50,5 \pm 6,2$  iu/L; SGPT  $53,6 \pm 6,6$  iu/L) i totalnog bilirubina ( $13,6 \pm 2,1$  mmol/L), što je statistički značajno u odnosu na vrednosti istih parametara kod kontrolne grupe pacova ( $p < 0,001$ ).

### **Diskusija**

Intraperitonealna aplikacija Gentamicina, odrazila se na aktivnost SDH enzima u vidu enzimskog polimorfizma zonalnog karaktera. Ove promene

dovele su i do remećenja procesa sinteze enzima i strukturnih proteina. S obzirom da hepatociti za najvećem procentu (60%) lokalizovani u mitohondrijama (*Correia i sar.*, 1995), to je velika mogućnost da se pod dejstvom Gentamicina ovi enzimski sistemi oštete ili poremete, čime se u znatnoj meri remeti homeostatska uloga jetre u organizmu. SDH je mitohondrijalni enzim, koji je vezan za membrane mitohondrija. SDH je flavoprotein. U aerobnim celijama SDH sudeluje u ciklusu trikarbonskih kis. Usmerena je na očuvanje energije. SDH smanjuje svoju aktivnost uglavnom u perifernim zonama lobulusa, što dovodi do energetskeg deficita u hepatocitima pod dejstvom lek

U našem eksperimentalnom radu SDH aktivnost izrazito je smanjena kod grupe eksperimentalnih životinja koje su tretirane Gentamicinom. Veoma slaba aktivnost SDH evidentna u intermedijarnoj i periportnoj zoni gde je metabolička, enzimska i detoksikaciona funkcija hepatocita najintenzivnija.

SDH je metabolički enzim jetre. Prvi ga je opisao *Blakley* (1951). SDH nema opštu dijagnostičku primenu, jer je slabo osetljiva, što znači da se povećanje njene aktivnosti u serumu javlja tek nakon velikih oštećenja jetre. Za njeno određivanje u tkivu neophodno je da se odabere odgovarajući akceptor elektrona (*Berkeš*, 1975).

Promenjeni biohemijski parametri izražavaju se hiperenzinemijom umerenog intenziteta što ukazuje na moguće prisustvo morfološkog supstrata u vidu oštećenja, odnosno citolize i nekroze hepatocita i njihovih organela. Nalaz hiperbilirubinemije umerenog intenziteta ukazuje na prisustvo morfološkog supstrata i funk

## **Zaključak**

Na osnovu dobijenih rezultata iz eksperimentalne i kontrolne grupe životinja može se zaključiti o polimorfizam zonalnog karaktera. Ukupna SDH aktivnost je smanjena ali je intenzitet aktivnosti veoma slab u periportnoj i intermedijarnoj zoni u odnosu na perivenularnu zonu acinusa, odnosno tamo gde je metabolička, enzimska detoksikaciona funkcija hepatocita najintenzivnija. Izmenjeni biohemijski parametri su marker funkcionalnog oštećenja hepatocita i manifestuju se diskretnom hiperbilirubinemijom i povišenim nivoima ispitivanih enzima umerenog stepena.

Rezultati komparativnog proučavanja enzimohistohemijskih i biohemijskih promena potvrđuju postojanje značajne korelacije između aplika-

cije Gentamicina i navedenih promena. Kod verifikovanih bolesti jetre pri indikaciji aminoglikozida Gentamicina neophodno je imati u vidu i njegov neželjeni efekat na jetru.

#### Literatura

*Be/met. W. M., Elliot, W. C, Houghton, D. C. Gilbert, D. N., Defehr, J. and McCarron, D. A. (1982). Reduction of experimental gentamicin nephrotoxicity in rats by dietary calcium loading. Antimicrob. Agents Chemoter., 22, 508-512.*

*Berkeš, I. i Tomašević-Berkeš, P. (1975). Opšta i medicinska enzimologija. Medicinska knjiga. Beograd-Zagreb.*

*Correia, M. A. (1995). Drug Biotransformation, in: Katzung B. G. /ed/: Basic and Clinical Pharmacology. Prentice Hall International Inc. San Francisco, 48-59.*

*Hill, P. D., Plummer, J. L., Hasley, A. H. and Counins, M. J. (1994). Histopathology of drug-induced liver disease. In: Farrell G. C. /ed/: Drug Induced Liver Disease. Edinburgh. Churchill Livingstone. Edinburgh, 115-151.*

*Kaplowitz, M. (1988). Principles of drug metabolism and their contribution to understanding hepatotoxicity. Postgraduate Course of Current hepatology update on Science and Practice. AASLD. Chicago, 159-170.*

*Perišić, V. (1988). Jetra, u: Stefanović S: Specijalna klinička fiziologija. Medicinska knjiga. Beograd-Zagreb, 394-423.*

*Stojiljković, N. (2001). Komparativno mikromorfološko enzimohistohemijско i biohemijско ispitivanje jetre kod belih pacova tretiranih enalaprilom, verapamilom i gentamicinom. Magistarska teza. Medicinski fakultet. Niš.*

### CHANGEMENT DE L'ACTIVITE DES ENZYMES SDH DANS LE FOIE ET LES PARAMETRES DANS LE SANG DES RATS TRAITES PAR GENTAMYCINE

Nenad STOJILJKOVIĆ, Dragoljub JOVANOVIĆ, Mirjana RADENKOVIĆ,  
Slavimir VELJKOVIĆ, Milan ĆIRIĆ et Dragan RADOVANOVIĆ

*Institut pour la physiologic de la Faculte de Medecine de Niš*

Les auteurs ont examine le changement de l'activite d'enzyme SDH dans le foie, ainsi que les changements des parametres biochimiques (sGOT, sGPT et bilirubine) dans le sang des rats traites par gentamycine. Dans le groupe experimental des animaux traites par gentamycine (100 mg/kg TT/24 h) au cours de 8 jours, on a trouve que la plus forte activite de cet enzyme est trouve dans la zone intermediaire (+) tandis que l'activite SDH dans la zone periporte de l'acinus etait presente dans les traces (+). Chez le groupe de controle des animaux traites par la solution physiologique (1 ml/kg TT/24 h) l'activite des enzymes etait la plus expressive dans la zone perivenulaire de l'acinus (+++), tandis que la zone intermediaire et periporte l'activite de cet enzyme etait conservee dans l'etat plus faible (++) . Les resultats de l'etude