

Serum and Liver Glutamate Oxalacetate Transaminase in Hepatectomized Rats

It is known that serum glutamate oxalacetate transaminase (SGOT) elevation in epidemic hepatitis may persist for weeks^{1,2}. The majority of authors believe that disruption of liver cells is responsible for the increased SGOT levels^{1,3,4}. There are, however, cases in which SGOT elevation is present without any known necrotic process. Hauss *et al.*⁵, for instance, expressed the opinion that elevation of SGOT levels is the result of hypersecretion of injured liver cells. Another explanation for the lasting increase of SGOT activity during liver injury, may be the enzyme secretion which is associated with the regenerative process. We therefore attempted to decide whether, and to what extent, liver cell regeneration induced by hepatectomy could elicit increases of SGOT level.

Experiments were carried out with 51 adult albino rats (150–200 g). Subtotal hepatectomy was performed, according to HIGGINS and ANDERSON⁶. In 6 cases a ligature of the choledochus was attached to hepatectomy. Laparotomy alone, and laparotomy with a ligature of the choledochus, served as controls. SGOT activity was measured by DUBACH's method⁷, 5, 10, and 30 days after subtotal hepatectomy. At the start of the experiments, liver GOT activity was determined, using 1% (wet weight) saline suspensions prepared from the operated livers; this value was compared with the GOT activity at the end of the experiment.

The extent of regeneration was estimated with the index method of KOVÁCH⁸. According to his formula, if the original liver weights were attained in the course of regeneration, the index value would be 1.0; whereas if the

weight of regenerated liver surpasses the original weight, the index would be less than 1.0. Finally, if no regeneration takes place at all, the index value would be 2.0.

Results are presented in the Figure and Tables I and II. As early as 5 days after hepatectomy, a significant increase of SGOT occurred ($p < 0.01$), whilst the peak value was observed at the tenth postoperative day ($p < 0.05$). Thereafter, the SGOT activity tended to diminish, but some elevation persisted even at the 30th day ($p < 0.01$). The degree of regeneration paralleled these changes of enzyme activity. The average index value was 1.27 at the tenth day, i. e. the weight of the liver was nearly equal to the original 10 days after hepatectomy. At the 30th postoperative day, the liver weight was significantly greater than before the experiment (index value 0.63). In the liver (Table II), we found 22.7 GOT units/mg wet weight.

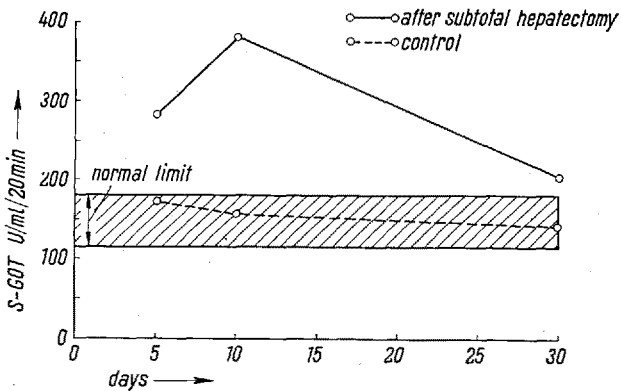


Table II

Group		No.	Liver GOT U/mg liver	S-GOT U/ml
1	Removed intact liver	6	22.7	—
2	Five days after sub- total hepatectomy*	6	49.9	355.1 ± 47.5**
3	Thirty days after sub- total hepatectomy	5	25.5	198.2 ± 5.36

* Ligation of the ductus choledochus was also carried out.
** Mean error.

Table I

Group		No.	Body weight gm	S-GOT U/ml	Extent of regeneration	Probability	
I	Five days after subtotal hepatectomy .	10	180.5	263.8 ± 14.3*	1.27 (1.19–1.40)	I/II	$p < 0.01$
II	Control: Five days after laparotomy . .	10	145.5	166.6 ± 9.46	— 1.12 (0.72–1.30)	II/VIII	$p < 0.05$
III	Ten days after subtotal hepatectomy .	5	161.0	371.8 ± 64.4	—	III/I	$p < 0.05$
IV	Control: Ten days after laparotomy . .	5	170.0	151.8 ± 20.8	0.63 (0.43–0.79)	III/IV	$p < 0.02$
V	Thirty days after subtotal hepatectomy	5	175.1	198.2 ± 5.36	—	V/III	$p < 0.01$
VI	Control	5	165.5	132.0 ± 4.79	1.41	V/VI	$p < 0.01$
VII	Five days after subtotal hepatectomy + ligation of ductus choledochus	6	189.1	355.1 ± 47.5	(2.21–1.63)	VII/I	$p < 0.05$
VIII	Control: Five days after ligation of ductus choledochus	5	151.0	210.0 ± 16.5	—	VII/VIII	$p < 0.05$

* Mean error.

This value became nearly twice as high 5 days after hepatectomy (49.9 units/mg wet liver tissue). Thereafter the GOT activity of the liver diminished and it reached almost normal values on the 30th postoperative day. Ligation of the choledochus was apt to cause some (further) increases in SGOT activity, both in normal and in hepatectomized rats. The underlying cause seemed to be reabsorption of transaminase from the bile.

On the basis of our observations, according to which transaminase content of the rat's liver and GOT activity of the serum reach double values and parallel the regeneration following subtotal hepatectomy, we suggest that newly formed cells of regenerating rat liver produce more GOT than normal liver cells. This factor seems to contribute to the prolonged elevation of SGOT in acute epidemic hepatitis, as well as to elevations reported in cirrhosis of the liver.

A. TISZAI and M. TÉNYI

1st Department of Medicine, University Medical School, Szeged (Hungary), July 1, 1959.

Zusammenfassung

Auf subtotale Hepatektomie (5. Tag) erfolgende Leberregeneration führt zu einer wesentlichen Erhöhung des SGOT-Wertes, mit Anstieg bis zum 10. Tag. Damit parallel verläuft auch die Transaminase-Aktivität der regenerierenden Leber.

Effets comparés de la β -propiolactone et du formol sur les propriétés inductrices de l'organisateur chez les amphibiens

Chez les amphibiens, l'organisateur constitué par la lèvre dorsale du blastopore, possède la propriété d'induire des structures neurales dans l'ectoblaste compétent. HOLTFRETER¹ a montré que l'organisateur conserve ses propriétés inductrices après des traitements physiques et chimiques variés. Nous avons par ailleurs montré que, chez *Triton alpestris*, le formol inactive les propriétés inductrices de l'organisateur². Ces résultats ont été étendus à d'autres espèces d'amphibiens. Les observations de YAMADA et TAKATA³, montrant que l'organisateur peut être inactivé par des enzymes protéolytiques telles que la trypsine et la chymotrypsine, favorisent l'idée d'une participation active des protéines au cours de l'induction embryonnaire. Le mode d'action du formol peut ainsi être examiné en fonction de ses réactions avec les protéines. Ces réactions⁴ peuvent être groupées en deux catégories:

1° Les réactions du formol avec des groupements chimiques déterminés tels que les groupes amines, amides, imines notamment. Cette énumération n'est nullement exhaustive. Les noyaux cycliques des acides aminés aromatiques réagissent également avec le formol. Les effets du formol sur l'histidine et le tryptophane ont été tout particulièrement étudiés⁵.

2° La formation de liaisons croisées unissant par des ponts méthylènes des molécules adjacentes. Il en résulte des phénomènes de polymérisation entraînant une augmentation de stabilité des molécules protéiques.

Afin de déterminer l'importance relative de ces deux groupes de phénomènes au cours de l'inactivation de l'organisateur par le formol, nous avons étudié les effets de la β -propiolactone sur les propriétés inductrices de

l'organisateur. La β -propiolactone

$$\begin{array}{c} \text{CH}_2 - \text{CH}_2 \\ | \quad \quad | \\ \text{O} - \text{CO} \end{array} \quad \text{ou}$$

propanolide est la lactone de l'acide β -hydroxypropionique. Cette substance présente une forte réactivité vis-à-vis des groupes amines. Comme le formol, elle est capable d'inactiver les toxines protéiques en les transformant en toxoïdes dépourvus de toxicité^{6,7}. Les toxoïdes obtenus avec la β -propiolactone flocculent avec l'antisérum. Au contraire, les toxoïdes préparés par l'action du formol présentent d'importantes modifications dans leur réactivité vis-à-vis de l'antisérum⁸. L'absence de liaisons croisées dans les toxines traitées par la β -propiolactone serait responsable de ces différences. Nous nous sommes donc proposés d'étudier et de comparer les effets de la β -propiolactone et du formol sur les propriétés inductrices de l'organisateur.

Les expériences sont faites sur l'amphibien *Ambystoma mexicanum*. Les organisateurs sont constitués par des lèvres blastopores prélevées sur de jeunes gastrulas. Après cicatrisation, les organisateurs sont mis pendant 24 h dans une solution contenant 4 g de β -propiolactone pour 100 cm³ d'alcool éthylique à 95°. Ils sont ensuite lavés pendant 3 h avec de l'alcool éthylique à 95° fréquemment renouvelé. Des organisateurs témoins sont traités par l'alcool éthylique à 95°. Quelques opérations sont faites avec des greffons fixés pendant 1 h dans l'alcool à 95° et traités pendant 2 h par une solution saturée de β -propiolactone dans le liquide de Holtfreter. Les organisateurs sont ensuite greffés dans le blastocèle de jeunes gastrulas. Les gastrulas opérées sont cultivées stérilement dans la solution de Holtfreter diluée au 1/10. Après 76 h les embryons sont examinés et fixés au liquide de Bouin, colorés *in toto* au carmin boracique, inclus à la paraffine et coupés à 10 μ . L'examen des coupes montre que les organisateurs traités par la β -propiolactone ont induit une volumineuse vésicule neurale dans 35 cas sur 40. Dans 5 cas les structures induites sont représentées par un épaissement ectodermique très volumineux. Les organisateurs traités par la β -propiolactone en milieu aqueux ont également induit une vésicule neurale. La β -propiolactone, dans les conditions expérimentales utilisées, ne supprime donc pas les propriétés inductrices de l'organisateur. La β -propiolactone diffère donc du formol qui inactive l'organisateur. Le formol possédant seul l'aptitude à former des liaisons croisées dans les molécules protéiques, il apparaît ainsi possible d'établir une relation entre cette propriété et l'inactivation du pouvoir inducteur. La formation de liaisons croisées en présence de formol entraîne en effet des modifications importantes dans la structure des protéines. Outre le blocage des groupes engagés dans la formation des liaisons, la structure physico-chimique des protéines est affectée profondément par des phénomènes de polymérisation entraînant

¹ J. HOLTFRETER, Arch. Entw. Mech. 128, 584 (1933).

² R. LALLIER, Exper. 6, 92 (1950).

³ T. YAMADA et K. TAKATA, Exp. Cell Res. Suppl. 3, 402 (1955).

⁴ H. FRAENKEL-CONRAT et H. S. OLCOTT, J. biol. Chem. 174, 827 (1948).

⁵ A. WADSWORTH et M. C. PANGBORN, J. biol. Chem. 116, 423 (1936).

⁶ M. RAYNAUD, J. BLASS et A. TURPIN, C. R. Acad. Sci., Paris 245, 862 (1957).

⁷ E. S. ORLANS et V. E. JONES, Nature (London) 182, 1216 (1958).

⁸ L. F. SCHUCHARDT, J. MUNOZ et W. F. VERWEY, J. Immunol. 80, 237 (1958).