

КИЇВСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

На правах рукопису

МАСЮК Тетяна Володимирівна

СЕКРЕТОРНА ФУНКЦІЯ ПЕЧІНКИ ПРИ ДІЇ ЕНКЕФАЛІНІВ

03.00.13 - фізіологія людини і тварин

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ-1996

575



00754256 (Т)

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у Науковому
Київському університеті

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор
Рибальченко В.К.

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук
Алексєєва І.М.

доктор біологічних наук, професор
Косенко А.Ф.

Провідна організація: Інститут ендокринології та обміну
речовин ім. В.П.Комісаренка
АМН України

Захист відбудеться "18" березня 1996 р. о 14 год.
на засіданні спеціалізованої вченої ради Д.01.01.10 при Ки-
ївському університеті імені Тараса Шевченка (пр. Глушкова,
2, НДІ фізіології).

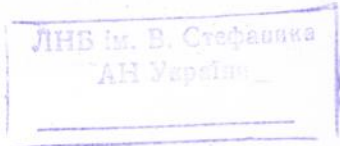
З дисертацією можна ознайомитись у науковій бібліотеці
Київського університету імені Тараса Шевченка (252033, Ки-
їв-33, вул.Володимирська, 58)

Автореферат розісланий "15" лютого 1996 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
кандидат біологічних наук

Гушинець

Г.П.Гушинець



ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність проблеми. Значна кількість регуляторних пептидів нервової і ендокринної систем бере участь у нейрогуморальній регуляції жовчоутворювальної функції (Magnusson, 1984; Лященко, 1988; Buanes et al., 1988; Nyberg et al., 1989; Масюк, 1991). Перелік таких пептидів постійно збільшується. Очевидно, до них слід віднести і енкефаліни - ендогенні опіоїдні пентапептиди. Після відкриття енкефалінів тривалий час вважали, що основним місцем їх дії є центральна нервова система. Однак згодом було встановлено, що енкефаліни здатні регулювати функціональний стан багатьох органів і систем: серцево-судинної, травної, видільної, ендокринної, імунної (Snyder, 1980; Solomon, 1980; Konturek, 1981; Булаєв, 1982; Смагин и соавт., 1983; Васильєва и соавт., 1984; Климов, 1986; Слепушкин и соавт., 1988; Корнева, 1989; Чипенс и соавт., 1990; Громов, 1992). Ймовірно, печінка також є тим органом, нейрогуморальна регуляція функціональної активності якого здійснюється за участю енкефалінів. Проте, експериментальні докази впливу енкефалінів на печінку є поодинокими. Встановлено, що енкефалінам і їх синтетичним аналогам притаманні гепатопротективні властивості і здатність впливати на метаболічні процеси у гепатоцитах (Золоєв, 1986, 1988; Кузин и соавт., 1988; Короткіна и соавт., 1990, 1992). Отримані дані (Laasberg et al., 1980), які свідчать, що концентрація енкефалінів є найбільшою у ворітній вені, порівняно з іншими судинами кровоносної системи. На плазматичних мембранах гепатоцитів виявлені специфічні опіоїдні рецептори, з якими можуть взаємодіяти енкефаліни (Самовилова и соавт.; 1985, 1986; Виноградов и соавт., 1987). Секреторна функція печінки - одна з найважливіших її функцій, яка регулюється багатьма регуляторними пептидами, при дії енкефалінів не вивчалася, хоча відомо, що енкефаліни відіграють важливу роль у регуляції секреторних функцій, зокрема, секреторної функції шлунка (Konturek, 1980, 1981; Алейник и соавт., 1986; Курзанов и соавт., 1986; Климов, Варашкова, 1991; Ахмедов, 1993) і ексокринної функції підшлункової за-

лози (Konturek et al., 1978; Климов, 1986; Timmers et al., 1986; Курзанов и соавт., 1988; Лукьянов, Иваников, 1986; Климов, Фокина, 1987; Виногадов и соавт., 1988). Вищевикладене обумовило мету і основні завдання дисертаційної роботи.

Мета роботи - дослідити секреторну функцію печінки при дії енкефалінів.

Основні завдання роботи:

- визначити інтенсивність секреції жовчі у щурів при дії лей- і мет-енкефалінів та синтетичного аналога лей-енкефаліну даларгіну;

- дослідити секрецію жовчних кислот при дії лей- і мет-енкефалінів та даларгіну;

- дослідити секрецію білків жовчі при дії лей- і мет-енкефалінів та даларгіну;

- дослідити секрецію ліпідів жовчі при дії лей- і мет-енкефалінів та даларгіну;

- з'ясувати можливі механізми дії енкефалінів на секреторну функцію печінки.

Наукова новизна роботи. Вперше вивчена секреторна функція печінки при дії опіоїдних пептидів - лей- і мет-енкефалінів та синтетичного аналога лей-енкефаліну даларгіну. Встановлено, що лей- і мет-енкефаліни та даларгін переважно пригнічують секреторну функцію печінки. При цьому змінюється секреція основних органічних компонентів жовчі - жовчних кислот, білків і ліпідів. Зміни секреції органічних компонентів жовчі при дії енкефалінів не завжди співпадають за спрямованістю і у часі із змінами інтенсивності секреції жовчі, що свідчить про регуляцію жовчоутворювальної функції на рівні метаболічних процесів. Проаналізовані можливі механізми регуляції секреторної функції печінки енкефалінами. Регуляція секреції жовчі енкефалінами здійснюється не опосередковано, а в результаті безпосередньої дії енкефалінів на клітини печінки.

Теоретичне і практичне значення роботи. Встановлені закономірності змін секреторної активності печінки при дії енкефалінів розширюють існуючі уявлення про роль опіоїдних пептидів в організмі. На підставі результатів досліджень обґрунтовані доповнення до гіпотез щодо механізмів регуляції

жовчоутворення. Дані про вплив даларгіну на секреторну функцію печінки становлять практичний інтерес у зв'язку з його широким застосуванням в лікувальній практиці, зокрема, в гастроентерології. Результати дисертаційної роботи використовуються у навчальному процесі у Київському університеті імені Тараса Шевченка та Медичному інституті Української асоціації народної медицини.

Основні положення, що виносяться на захист:

1. Енкефаліни - ендогенні опіоїдні пентапептиди - регулюють секреторну функцію печінки, переважно її пригнічуючи.

2. Динаміка змін секреції органічних компонентів жовчі - кон'югованих і некон'югованих жовчних кислот, білків, фосфоліпідів, холестерину і його ефірів, неетерифікованих жирних кислот, тригліцеридів - при дії енкефалінів є свідченням того, що вони регулюють секрецію жовчі на рівні внутрішньоклітинних метаболічних процесів, які складають основу механізмів жовчоутворення.

3. Регуляція секреторної функції печінки енкефалінами здійснюється не опосередковано, а в результаті їх безпосередньої дії на гепатоцити.

Апробація роботи: Матеріали дисертації були викладені і обговорені на: XV Всесоюзній конференції "Фізіологія пищеварення и всасывания" (Краснодар, 1990); Всесоюзному симпозиумі "Физиологическое и клиническое значение регуляторных пептидов" (Горький, 1990); науковій конференції, присвяченій 150-річчю кафедри фізіології людини і тварин Київського університету (Київ, 1992); I з'їзді Українського біофізичного товариства (Київ, 1994); XIV з'їзді Українського фізіологічного товариства (Київ, 1994); Першому Українському конгресі гастроентерологів (Дніпропетровськ, 1995); науковій конференції, присвяченій 100-річчю кафедри фізіології Львівського медичного інституту (Львів, 1995).

Обсяг і структура дисертації: Дисертація викладена на 213 сторінках машинопису і складається із вступу, огляду літератури, розділу, в якому описані матеріали і методи досліджень, двох розділів власних досліджень, обговорення результатів досліджень, висновків і списку цитованої літерату-

ри, що налічує 352 роботи, з яких 159 - українською і російською мовами і 193 англійською. Робота ілюстрована 43 рисунками і 2 таблицями.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 17 наукових праць.

Особистий внесок дисертанта полягає у формулюванні мети і основних завдань роботи, проведенні експериментальних досліджень, обробці, аналізі і узагальненні одержаних результатів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Досліди проведені на 276 білих щурах (самцях) лінії Вістар масою 180-230 г у гострих спробах. Під час досліду тварини знаходились під тіопенталовим наркозом (5 мг/100 г). Перед дослідом тварини голодували протягом доби, доступ до води був вільним.

Лей- і мет-енкефаліни (Інститут органічного синтезу АН Латвії), даларгін ("Биолек" ХФ А/О "Октамед", Харків) і субстанцію Р (Reanal, Угорщина) інфузували внутрішньопортально у дозах 0,1, 1,0 і 10,0 мкг на 100 г маси тіла.

У тварин розтинали черевну порожнину і у відпрепаровану загальну жовчну протоку вводили тонку металеву голку, з'єднану поліетиленовою трубкою з мікропіпеткою. Інтенсивність секреції жовчі визначали через кожні 15 хв впродовж 4,5 годин досліду і розраховували в мкл/г печінки/хв.

Жовчні кислоти визначали методом тонкошарової хроматографії на пластинках "Silufol" (Весельский и соавт., 1990). Вміст білків у жовчі визначали за Лоурі. Електрофорез білків жовчі проводили у системі градієнтного (7,5%-20%) поліакріламідного гелю за (Остерман, 1981). Ліпіди жовчі визначали за (Ростовцев, Резник, 1982; Петровский и соавт., 1986). Секрецію жовчних кислот, білків і ліпідів розраховували у мкг/г печінки/хв. Продукцію супероксидного аніону нейтрофілами крові людини, що знаходяться у стані спокою, визначали за (Muller et al., 1989).

Статистичну обробку даних проводили з використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Секреція жовчі при дії енкефалінів. Інтенсивність секреції жовчі у щурів, на яких не діяли ніякими чинниками (перша контрольна група), коливалась протягом 5 годин досліду у межах $1,42 \pm 0,08$ - $1,56 \pm 0,10$ мкл/г печінки/хв. У щурів, яким внутрішньопортально інфузували фізіологічний розчин із розрахунку 1 мл на 100 г маси тіла (друга контрольна група), коливання секреції жовчі були таким ж, як і у тварин першої контрольної групи. Отже, протягом шести годин після канюлювання загальної жовчної протоки інтенсивність секреції жовчі у щурів залишається практично незмінною, що підтверджується даними інших дослідників (Kakis, Yousef, 1978; Fleck, Barth, 1990).

Лей-енкефалін у дозі 0,1 мкг/100 г пригнічував секрецію жовчі під час інфузії з $1,57 \pm 0,09$ до $1,28 \pm 0,10$ (-18,5%, $P < 0,05$), а впродовж досліду - до $1,06 \pm 0,08$ (-32,5%, $P < 0,001$) мкл/г печінки/хв. При дії лей-енкефаліну у дозі 1,0 мкг/100 г секреція жовчі максимально підсилювалась з $1,64 \pm 0,08$ до $2,10 \pm 0,10$ (+28,0%, $P < 0,001$) мкл/г печінки/хв, а при дії у дозі 10,0 мкг/100 г вона пригнічувалась під час інфузії - з $1,40 \pm 0,09$ до $1,14 \pm 0,10$ (-18,6%, $P < 0,05$) мкл/г печінки/хв.

Мет-енкефалін у дозі 0,1 мкг/100 г не впливав на секрецію жовчі, а у дозі 1,0 мкг/100 г пригнічував її впродовж досліду з $1,31 \pm 0,08$ до $0,86 \pm 0,08$ (-34,4%, $P < 0,01$) мкл/г печінки/хв. При дії у дозі 10,0 мкг/100 г мет-енкефалін викликав як підсилення, так і пригнічення секреції жовчі, відповідно, з $1,62 \pm 0,08$ до $2,39 \pm 0,10$ (+47,5%, $P < 0,001$) і з $1,35 \pm 0,07$ до $0,88 \pm 0,10$ (-34,8%, $P < 0,001$) мкл/г печінки/хв.

Даларгін у дозах 0,1 і 1,0 мкг/100 г пригнічував секрецію жовчі, відповідно, з $1,45 \pm 0,09$ до $1,01 \pm 0,07$ (-30,3%, $P < 0,01$) і з $1,43 \pm 0,08$ до $1,11 \pm 0,08$ (-22,4%, $P < 0,02$) мкл/г печінки/хв впродовж досліду. При дії даларгіну у дозі 10,0 мкг/100 г секреція жовчі знижувалась тільки під час інфузії пептиду з $1,45 \pm 0,08$ до $1,13 \pm 0,07$ (-22,1%, $P < 0,01$) мкл/г печінки/хв.

Секреція жовчних кислот при дії енкефалінів. Методичні можливості дозволили нам визначити у жовчі щурів із вільних жовчних кислот - окремо холеву (ХК) і у суміші - хенодезоксихолеву і дезоксихолеву (ХДХК+ДХК); із кон'югованих - окремо таурохолеву (ТХК) і глікохолеву (ГХК), у суміші: таурохенодезоксихолеву і тауродезоксихолеву (ТХДХК+ТДХК), глікохенодезоксихолеву і глікодезоксихолеву (ГХДХК+ГХДХК). У відсотковому співвідношенні частка вільних жовчних кислот у жовчі щурів контрольної групи становить ~ 9%. Частка таурокон'югатів складає 56% від загального вмісту жовчних кислот, частка глікокон'югатів - 35%. Із кон'югованих жовчних кислот у жовчі щурів у найбільшій кількості міститься таурохолева кислота - 48%, із вільних - холева (66%).

У щурів двох контрольних груп впродовж дослідів секреція ТХК і ТХДХК+ТДХК знижувалась в середньому на 25,9% і 22,3%, а секреція глікокон'югатів і вільних жовчних кислот не змінювалась.

Лей-енкефалін у дозі 0,1 мкг/100 г пригнічував секрецію жовчних кислот протягом дослідів. Секреція ТХК знижувалась з $4,62 \pm 0,23$ до $2,65 \pm 0,14$ мкг/г печінки/хв (-42,6%, $P < 0,001$, або в 1,6 рази більше, ніж у контролі), ТХДХК+ТДХК - з $1,53 \pm 0,10$ до $0,85 \pm 0,07$ (-44,4%, $P < 0,001$, або в 2 рази більше, ніж у контролі), ГХК - з $3,90 \pm 0,20$ до $2,28 \pm 0,14$ (-41,5%, $P < 0,001$), ГХДХК+ГДХК - з $0,71 \pm 0,05$ до $0,40 \pm 0,02$ (-43,7%, $P < 0,001$), ХК - з $1,06 \pm 0,08$ до $0,65 \pm 0,03$ (-38,7%, $P < 0,001$), ХДХК+ДХК - з $0,35 \pm 0,03$ до $0,18 \pm 0,03$ (-48,6%, $P < 0,001$) мкг/г печінки/хв.

При дії лей-енкефаліну у дозі 1,0 мкг/100 г змінювалась секреція лише ТХДХК+ТДХК і ХДХК+ДХК. Секреція ТХДХК+ТДХК збільшувалась з $1,46 \pm 0,09$ до $1,67 \pm 0,12$ мкг/г печінки/хв (+14,4%, $P < 0,05$, або в 1,6 рази більше, ніж у контролі). Секреція ХДХК+ДХК пригнічувалась з $0,44 \pm 0,03$ до $0,35 \pm 0,02$ мкг/г печінки/хв (-20,5%, $P < 0,05$).

Лей-енкефалін у дозі 10,0 мкг/100 г пригнічував секрецію ГХК з $3,26 \pm 0,21$ до $2,54 \pm 0,15$ (-22,1%, $P < 0,02$), ГХДХК+ГДХК - з $0,66 \pm 0,04$ до $0,46 \pm 0,02$ (-30,3%, $P < 0,01$), ХК - з $1,03 \pm 0,06$ до $0,80 \pm 0,06$ (-22,3%, $P < 0,05$), ХДХК+ДХК - з $0,35 \pm 0,03$ до $0,23 \pm 0,03$ (-34,3%, $P < 0,02$) мкг/г печінки/хв.

При дії мет-енкефаліну у дозі 0,1 мкг/100 г секреція жовчних кислот не змінювалась і пригнічувалась при його дії у дозі 1,0 мкг/100 г: ТХДХК+ТДХК - в $0,97 \pm 0,06$ до $0,57 \pm 0,04$ мкг/г печінки/хв (-41,2%, $P < 0,001$, або в 1,8 рази більше, ніж у контролі), ГХК - в $3,25 \pm 0,19$ до $1,78 \pm 0,09$ (-45,2%, $P < 0,001$), ГХДХК+ГДХК - в $0,44 \pm 0,03$ до $0,25 \pm 0,02$ (-43,2%, $P < 0,001$), ХК - в $0,67 \pm 0,05$ до $0,39 \pm 0,02$ (-41,8%, $P < 0,001$), ХДХК+ДХК - в $0,30 \pm 0,02$ до $0,16 \pm 0,02$ (-46,7%, $P < 0,001$) мкг/г печінки/хв.

У щурів, для яких було характерним підсилення секреції жовчі, при дії мет-енкефаліну у дозі 10,0 мкг/100 г підсилювалась секреція ТХК в $4,57 \pm 0,28$ до $7,67 \pm 0,40$ мкг/г печінки/хв (+67,8%, $P < 0,001$, або була в 3,6 рази більшою, ніж у контролі), ТХДХК+ТДХК - в $1,30 \pm 0,08$ до $2,01 \pm 0,09$ мкг/г печінки/хв (+54,6%, $P < 0,001$, або була в 3,6 рази більшою щодо контролю), ХК - в $0,89 \pm 0,06$ до $1,39 \pm 0,08$ (+56,2%, $P < 0,001$) мкг/г печінки/хв. Змін у секреції інших жовчних кислот не спостерігали.

У тварин, для яких було характерним пригнічення секреції жовчі, при дії мет-енкефаліну у дозі 10,0 мкг/100 г пригнічувалась секреція: ГХК - в $3,46 \pm 0,18$ до $1,84 \pm 0,11$ (-46,8%, $P < 0,001$), ГХДХК+ГДХК - в $0,51 \pm 0,03$ до $0,28 \pm 0,02$ (-45,1%, $P < 0,001$), ХК - в $0,74 \pm 0,05$ до $0,55 \pm 0,03$ (-25,7%, $P < 0,01$), ХДХК+ДХК - в $0,30 \pm 0,02$ до $0,16 \pm 0,01$ (-46,6%, $P < 0,001$) мкг/г печінки/хв.

Даларгін у дозі 0,1 мкг/100 г пригнічував секрецію жовчних кислот: ТХК - в $4,01 \pm 0,24$ до $2,42 \pm 0,16$ мкг/г печінки/хв (-39,7%, $P < 0,001$, або в 1,5 рази більше, ніж у контролі), ТХДХК+ТДХК - в $1,17 \pm 0,07$ до $0,74 \pm 0,03$ мкг/г печінки/хв (-36,8%, $P < 0,001$, або в 1,7 рази більше, ніж у контролі), ГХК - в $2,87 \pm 0,16$ до $1,95 \pm 0,14$ (-32,1%, $P < 0,01$), ГХДХК+ГДХК - в $0,35 \pm 0,02$ до $0,24 \pm 0,03$ (-31,4%, $P < 0,02$), ХК - в $0,55 \pm 0,03$ до $0,43 \pm 0,02$ (-21,8%, $P < 0,01$), ХДХК+ДХК - в $0,26 \pm 0,02$ до $0,21 \pm 0,01$ (-19,2%, $P < 0,05$) мкг/г печінки/хв.

При дії даларгіну у дозі 1,0 мкг/100 г пригнічувалась секреція ГХК - в $2,78 \pm 0,19$ до $1,69 \pm 0,11$ (-29,5%, $P < 0,001$), ХК - в $0,55 \pm 0,03$ до $0,42 \pm 0,02$ (-23,6%, $P < 0,01$) мкг/г печінки/хв.

Даларгін у дозі 10,0 мкг/100 г пригнічував секрецію ГХДХК+ГДХК з $0,36 \pm 0,03$ до $0,26 \pm 0,02$ мкг/г печінки/хв ($-27,8\%$, $P < 0,02$).

Секреція білків при дії енкефалінів. Жовч шурів містить кілька десятків різних класів білків, серед яких основними є альбуміни і імуноглобуліни, мембранні і лізосомальні ферменти клітин печінки, специфічний білок - секреторний компонент (LaRusso, 1984; Масюк, 1989).

Вихідний рівень секреції білків у шурів контрольних груп становив у середньому $4,34 \pm 0,22$ і $4,02 \pm 0,21$ мкг/г печінки/хв і коливався впродовж трьох годин досліду, відповідно, у межах $3,73$ - $4,16$ і $4,00$ - $4,28$ мкг/г печінки/хв.

Секреція білків не змінювалась при дії лей- і мет-енкефалінів у дозі 0,1 мкг/100 г та при дії даларгіну у дозах 1,0 і 10,0 мкг/100 г. При дії лей-енкефаліну у дозах 1,0 і 10,0 мкг/100 г вона посилювалась, відповідно, з $4,41 \pm 0,27$ до $7,12 \pm 0,35$ ($+61,4\%$, $P < 0,001$) і з $3,64 \pm 0,18$ до $5,09 \pm 0,26$ ($+39,8\%$, $P < 0,001$) мкг/г печінки/хв.

При дії мет-енкефаліну у дозі 1,0 мкг/100 г секреція білків пригнічувалась - з $4,05 \pm 0,21$ до $2,79 \pm 0,14$ мкг/г печінки/хв ($-31,1\%$, $P < 0,001$). У тварин, для яких було характерним підсилення секреції жовчі, при дії пептиду у дозі 10,0 мкг/100 г секреція білків посилювалась з $4,70 \pm 0,24$ до $7,17 \pm 0,39$ мкг/г печінки/хв ($+52,6\%$, $P < 0,001$), а у тварин, для яких було характерним пригнічення секреції жовчі, - пригнічувалась з $3,93 \pm 0,20$ до $2,73 \pm 0,14$ мкг/г печінки/хв ($-30,5\%$, $P < 0,001$).

При дії даларгіну у дозі 0,1 мкг/100 г секреція білків пригнічувалась з $4,05 \pm 0,20$ до $2,63 \pm 0,16$ мкг/г печінки/хв, ($-35,1\%$, $P < 0,001$).

Якісний склад білків жовчі шурів, яким інфузували фізіологічний розчин, протягом досліду не змінювався. Під час інфузії мет-енкефаліну у дозі 1,0 мкг/100 г із складу білків зникала фракція 1 (секреторний компонент), зменшувався вміст фракцій 5 (невизначені білки), 10 (важкий ланцюг IgA) і 11 (важкий ланцюг гаптоглобіну), збільшувався вміст фракції 6 (невизначені білки). Впродовж третьої години знову визнача-

лася фракція 1, збільшувався вміст фракцій 4 (невизначені білки) і 5, а на час закінчення дослідів збільшувався вміст фракції 10. Протягом першої години після закінчення інфузії пептиду у дозі 10,0 мкг/100 г склад білків змінювався за рахунок зменшення фракції 5. Впродовж третьої-четвертої годин істотно зменшувалася вміст фракцій 5, 6, 8 (альбумін) і 10.

Секреція ліпідів при дії енкефалінів. Ліпідами жовчі є фосфоліпіди, холестерин і його ефіри, вільні жирні кислоти, тригліцериди. За нашими даними у відсотковому відношенні частка фосфоліпідів складає 39%, холестерину і його ефірів - 27%, вільних жирних кислот - 23%, тригліцеридів - 11%. У щурів контрольних груп секреція ліпідів не змінювалась впродовж дослідів.

Лей-енкефалін у дозі 0,1 мкг/100 г пригнічував секрецію фосфоліпідів з $1,08 \pm 0,05$ до $0,82 \pm 0,04$ (-24,1%, $P < 0,001$) і холестерину - з $0,62 \pm 0,03$ до $0,49 \pm 0,03$ (-21,0%, $P < 0,01$) мкг/г печінки/хв. Секреція ефірів холестерину, вільних жирних кислот і тригліцеридів не змінювалась.

При дії лей-енкефаліну у дозі 1,0 мкг/100 г підсилювалась секреція фосфоліпідів з $1,04 \pm 0,05$ до $1,40 \pm 0,08$ (+34,6%, $P < 0,01$), холестерину - з $0,63 \pm 0,03$ до $0,87 \pm 0,06$ (+38,1%, $P < 0,01$), ефірів холестерину - з $0,21 \pm 0,02$ до $0,33 \pm 0,02$ (+57,1%, $P < 0,001$), вільних жирних кислот - з $0,63 \pm 0,03$ до $0,90 \pm 0,07$ (+42,9%, $P < 0,01$) і тригліцеридів - з $0,31 \pm 0,02$ до $0,43 \pm 0,03$ (+38,7%, $P < 0,01$) мкг/г печінки/хв.

Лей-енкефалін у дозі 10,0 мкг/100 г пригнічував тільки секрецію холестерину з $0,59 \pm 0,03$ до $0,43 \pm 0,02$ мкг/г печінки/хв (-27,1%, $P < 0,001$).

При дії мет-енкефаліну у дозі 1,0 мкг/100 г амін у секретії ліпідів не спостерігали.

Мет-енкефалін у дозі 1,0 мкг/100 г пригнічував секрецію фосфоліпідів з $0,97 \pm 0,06$ до $0,64 \pm 0,04$ (-34,0%, $P < 0,001$), холестерину - з $0,47 \pm 0,02$ до $0,33 \pm 0,02$ (-29,8%, $P < 0,001$), ефірів холестерину - з $0,16 \pm 0,01$ до $0,11 \pm 0,02$ (-31,3%, $P < 0,02$), вільних жирних кислот - з $0,48 \pm 0,02$ до $0,33 \pm 0,02$ (-31,3%, $P < 0,001$), тригліцеридів - з $0,23 \pm 0,02$ до $0,17 \pm 0,01$ (-26,1%, $P < 0,02$) мкг/г печінки/хв.

У щурів, для яких було характерним підсилення секретії

жовчі, при дії мет-енкефаліну у дозі 10,0 мкг/100 г підсилювалась секреція фосфоліпідів з $1,11 \pm 0,06$ до $1,64 \pm 0,08$ (+47,7%, $P < 0,001$), холестерину - з $0,62 \pm 0,03$ до $0,92 \pm 0,05$ (+48,4%, $P < 0,001$), ефірів холестерину - з $0,18 \pm 0,01$ до $0,30 \pm 0,02$ (+66,7%, $P < 0,001$), вільних жирних кислот - з $0,63 \pm 0,03$ до $0,96 \pm 0,05$ (+52,4%, $P < 0,001$), тригліцеридів - з $0,30 \pm 0,02$ до $0,51 \pm 0,04$ (+70,0%, $P < 0,001$) мкг/г печінки/хв.

При дії мет-енкефаліну у дозі 10,0 мкг/100 г у тварин, для яких було характерним пригнічення секреції жовчі, пригнічувалась секреція фосфоліпідів з $0,93 \pm 0,04$ до $0,65 \pm 0,04$ (-30,1%, $P < 0,001$), холестерину - з $0,52 \pm 0,03$ до $0,36 \pm 0,03$ (-30,8%, $P < 0,01$), ефірів холестерину - з $0,15 \pm 0,01$ до $0,10 \pm 0,01$ (-33,3%, $P < 0,01$), вільних жирних кислот - з $0,52 \pm 0,03$ до $0,36 \pm 0,03$ (-30,8%, $P < 0,01$), тригліцеридів - з $0,25 \pm 0,01$ до $0,19 \pm 0,02$ (-24,0%, $P < 0,02$) мкг/г печінки/хв.

Даларгін у дозі 0,1 мкг/100 г пригнічував секрецію фосфоліпідів з $0,90 \pm 0,05$ до $0,60 \pm 0,04$ (-33,3%, $P < 0,001$), холестерину - з $0,46 \pm 0,03$ до $0,30 \pm 0,03$ (-34,8%, $P < 0,001$), вільних жирних кислот - з $0,59 \pm 0,04$ до $0,42 \pm 0,02$ (-28,8%, $P < 0,01$), тригліцеридів - з $0,26 \pm 0,02$ до $0,19 \pm 0,01$ (-26,9%, $P < 0,01$) мкг/г печінки/хв.

При дії даларгіну у дозі 1,0 мкг/100 г пригнічувалась секреція фосфоліпідів з $0,93 \pm 0,05$ до $0,78 \pm 0,04$ мкг/г печінки/хв (-16,1%, $P < 0,05$), холестерину - з $0,48 \pm 0,02$ до $0,40 \pm 0,03$ мкг/г печінки/хв (-16,7%, $P < 0,05$) і вільних жирних кислот - з $0,54 \pm 0,03$ до $0,45 \pm 0,02$ (-16,7%, $P < 0,02$) мкг/г печінки/хв.

Даларгін у дозі 10,0 мкг/100 г посилював тільки секрецію тригліцеридів з $0,26 \pm 0,02$ до $0,33 \pm 0,02$ мкг/г печінки/хв (+26,9%, $P < 0,05$).

Механізми регуляції секреторної функції печінки енкефалінами. Можна передбачити, що регуляція енкефалінами секреції жовчі відбувається в результаті їх безпосередньої взаємодії з опіоїдними рецепторами або опосередкованої дії, можливо, через "регуляторний каскад" пептидів. Щоб визначити, чи реалізують енкефаліни свій вплив на секрецію жовчі через "регуляторний каскад" пептидів, ми змодельовали такий каскад. В моделі оцінювали вплив регуляторних пептидів, які вивіль-

няються при дії енкефалінів, на секрецію жовчі.

Встановлено, що енкефаліни стимулюють вивільнення АКТП, ваопресину, ВІП, глюкагону, інсуліну, тиротропіну і пригнічують вивільнення соматостатину і субстанції Р. Також встановлено, що АКТП, ваопресин, ВІП, глюкагон, інсулін і тиротропін підсилюють, а соматостатин пригнічує секрецію жовчі. Оскільки енкефаліни, за нашими даними, пригнічують секреторну функцію печінки, можна зробити висновок, що ці регуляторні пептиди не беруть участі в механізмах холеретичної дії енкефалінів. Якщо припустити, що енкефаліни реалізують свій вплив на секрецію жовчі через субстанцію Р, вивільнення якої енкефаліни пригнічують, то секреція жовчі при дії цього пептиду має підсилватися. За нашими даними секреція жовчі при дії субстанції Р у дозах 0,1, 1,0 і 10,0 мкг/100 г знижувалась впродовж досліду, відповідно, з $1,48 \pm 0,09$ до $1,13 \pm 0,07$ (-23,6%, $P < 0,02$), з $1,42 \pm 0,08$ до $1,16 \pm 0,10$ (-18,3%, $P < 0,05$) і з $1,23 \pm 0,06$ до $0,98 \pm 0,06$ (-20,3%, $P < 0,02$) мкл/г печінки/хв. У тварин іншої групи субстанція Р у дозі 10,0 мкг/100 г підсилювала секрецію жовчі з $1,64 \pm 0,09$ до $1,84 \pm 0,11$ мкл/г печінки/хв (+19,5%, $P < 0,05$). Отже, субстанція Р, як і енкефаліни, переважно пригнічує секреторну функцію печінки, і, виходячи з нашої моделі, не бере участі в механізмах реалізації дії енкефалінів на жовчоутворювальну функцію.

Найбільш вірогідно, що ефекти енкефалінів, які ми спостерігали, пов'язані з їх безпосередньою взаємодією з опіоїдними рецепторами, що є на клітинах печінки. В результаті такої взаємодії активуються внутрішньоклітинні ефektorні системи передачі регуляторного сигналу і, як наслідок, змінюються метаболічні процеси в клітині, у тому числі і ті, що складають основу молекулярних і клітинних механізмів секреції жовчі. Щоб перевірити, чи можуть енкефаліни при безпосередній взаємодії з незбудливою клітиною викликати зміни в ній метаболічних процесів, ми дослідили дію енкефалінів на продукцію супероксидного аніону нейтрофілами крові людини, які знаходяться у стані спокою. За нашими даними, лей- і мет-енкефаліни та даларгін у концентрації 10^{-9} - 10^{-6} М пригнічували продукцію супероксидного аніону нейтрофілами крові

людини на 15%-22%, що свідчить про їх здатність безпосередньо взаємодіяти з клітиною і регулювати її метаболічну активність.

Узагальнюючи одержані дані, ми дійшли висновку, що взаємозв'язок між секрецією жовчі і секрецією її основних органічних компонентів при дії лей- і мет-енкефалінів та даларгіну є досить складним. Так, інтенсивність секреції жовчі під час інфузії лей-енкефаліну у дозі 0,1 мкг/100 г не змінювалась, тоді як секреція таурохолатів у цей проміжок часу пригнічувалась. Протягом першої-другої годин по закінченню інфузії пептиду підсилювалась секреція жовчі, білків і ліпідів, а секреція жовчних кислот не змінювалась. Впродовж третьої години досліджу підсилювалась секреція жовчі і секреція всіх її органічних компонентів. Під час інфузії лей-енкефаліну у дозі 10,0 мкг/100 г знижувалась секреція жовчі і жовчних кислот. Протягом трьох годин після закінчення інфузії пептиду секреція жовчі не змінювалась, хоча у цей проміжок часу спостерігалися зміни секреції її основних органічних компонентів - знижувалась секреція жовчних кислот і ліпідів і підсилювалась секреція білків. Під час інфузії мет-енкефаліну у дозі 1,0 мкг/100 г пригнічувалась секреція жовчі і жовчних кислот, а секреція білків і ліпідів не змінювалась.

Під час інфузії даларгіну у дозі 1,0 мкг/100 г секреція жовчі пригнічувалась, хоча змін у секреції її органічних компонентів не було. Впродовж трьох наступних годин пригнічувалась секреція жовчі, жовчних кислот і ліпідів, а секреція білків не змінювалась. Даларгін у дозі 10,0 мкг/100 г пригнічував секрецію жовчі під час інфузії. Змін у секреції основних органічних компонентів жовчі у цей проміжок часу не було. Протягом другої-третьої годин досліджу секреція жовчі не змінювалась, хоча спостерігалось пригнічення секреції жовчних кислот.

Лей-енкефалін і його синтетичний аналог даларгін за холеретичними властивостями відрізняються. Так, у дозі 0,1 мкг/100 г вони пригнічували секрецію жовчі впродовж досліджу. При дії даларгіну секреція жовчних кислот, білків і ліпідів пригнічувалась протягом всього досліджу, а при дії лей-енке-

фаліну знизь задалась секреція жовчних кислот і ліпідів, тоді як секреція білків не змінювалась. У дозі 1,0 мкг/100 г лей-енкефалін підсилював секрецію жовчі, білків і ліпідів впродовж трьох годин по закінченню його інфузії. Секреція жовчних кислот, крім ТХДЖК+ТДЖК (пригнічувалась під час інфузії) і ХДЖК+ДЖК (знижувалась протягом третьої години досліді) не змінювалась. Даларгін, навпаки, пригнічував секрецію жовчі, жовчних кислот і ліпідів у цей же проміжок часу, тоді як секреція білків не змінювалась.

Отже, пояснити зміни інтенсивності секреції жовчі при дії енкефалінів аміною секреції якогось одного із її осмотично-активних компонентів (жовчних кислот чи білків) неможливо. Тому одержані дані ми схильні віднести на користь існуючих уявлень, що регуляція жовчоутворювальної функції відбувається на рівні внутрішньоклітинних метаболічних процесів, які складають основу механізмів утворення жовчі. Основне значення мають метаболічні процеси в гепатоцитах, що забезпечують надходження у жовчні каналікули всіх органічних і неорганічних компонентів жовчі, в тому числі, можливо, і води. Наявність специфічних молекулярних комплексів у плазматичній мембрані, що забезпечують трансмембранне перенесення молекул води, показана для ряду клітин, зокрема, епітеліальних клітин жовчних протоків (Sabolic, Brown, 1995). Можливо, вони є і на плазматичній мембрані гепатоцитів. Осмотичні властивості органічних компонентів жовчі якщо і відіграють певну роль у механізмах її секреції, то не вирішальну.

ВИСНОВКИ

1. Ендогенні опіоїдні пентапептиди лей- і мет-енкефаліни виявляють регуляторну, переважно пригнічуючу, дію на секреторну функцію печінки у щурів. Синтетичний аналог лей-енкефаліну даларгін має виключно гіпохолеретичні властивості.

2. Зміни інтенсивності секреції жовчі при дії лей- і мет-енкефалінів та даларгіну супроводжуються змінами секреції вільних і кон'югованих жовчних кислот, білків, фосфоліпідів, холестерину і його ефірів, неетерифікованих жирних кислот, тригліцеридів, які за спрямованістю і у часі не

завжди співпадають із змінами інтенсивності секреції жовчі. Це означає, що регуляція секреторної функції печінки енкефалінами здійснюється на рівні внутрішньоклітинних метаболічних процесів, які забезпечують перетворення і надходження у жовчні каналікули органічних компонентів жовчі.

3. Зміни секреторної активності печінки при дії лей- і мет-енкефалінів пов'язані з метаболічними перетвореннями в гепатоцитах основних органічних компонентів жовчі, в результаті яких секреція глікохолатів і вільних жовчних кислот переважно пригнічується, а секреція таурохолатів і білків підсилюється. Секреція фосфоліпідів і холестерину при дії енкефалінів як підсилюється, так і пригнічується, секреція ефірів холестерину, вільних жирних кислот і тригліцеридів в окремих випадках не змінюється. При дії мет-енкефаліну впродовж дослідів відбуваються динамічні зміни у секреції білків жовчі, а саме, альбуміну, IgA, секреторного компоненту і деяких невизначених білків.

4. Синтетичний аналог лей-енкефаліну даларгін за холеретичними властивостями дещо відрізняється від природних енкефалінів. При його дії секреція глікохолатів, вільних жовчних кислот і переважної більшості ліпідів пригнічується, а секреція таурохолатів і білків не змінюється або також пригнічується. В окремих випадках при дії даларгіну підсилюється секреція лише тригліцеридів.

5. Пригнічення продукції супероксидного аніону нейтрофілами крові людини, які знаходяться у стані спокою, при дії лей- і мет-енкефалінів та даларгіну свідчить, що досліджувані опіодні пептиди регулюють метаболічну активність клітин, безпосередньо взаємодіючи з ними.

6. Враховуючи гіпохолеретичні властивості енкефалінів та дані з літературних джерел про їх гальмівну дію на секреторну функцію шлунка і екзокринну функцію підшлункової залози, можна стверджувати, що лей- і мет-енкефаліни є ендогенними регуляторами, що пригнічують секреторні процеси в органах травної системи.

ПЕРЕДІЙ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Масюк Т.В., Весельський С.П., Масюк А.І. Секреторна функція печінки при дії енкефалінів // Фізіол. журн. - 1995. - Т. 41. - № 3-4. - С. 3-8.

2. Масюк Т.В., Весельський С.П., Рыбальченко В.К., Масюк А.И. Желчеотделительная функция при действии энкефалинов // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1995. - Т. 120, № 10. - С. 354-357.

3. Масюк Т.В., Долгова О.М., Масюк А.І. Холеретична дія інсуліну за умов пригнічення транскрипції в гепатоцитах // Вісник Київського університету. "Проблеми регуляції фізіологічних функцій". - 1994. - Вип. 1. - С. 52-55.

4. Масюк А.И., Долгова Е.Н., Масюк Т.В. Роль белков желчи в регуляции секреторной функции печени // Физиол. журн. им. И.М.Сеченова. - 1992. - Т. 78, № 10. - С. 86-93.

5. Слободян М.М., Масюк А.И., Масюк (Канівець) Т.В. Изменение желчеотока и белкового состава желчи крыс при действии субстанции Р // Проблемы физиологии гипоталамуса. - 1990. - № 24. - С. 8-11.

6. Слободян М.М., Масюк (Канівець) Т.В. Масюк А.И. Изменение белкового состава желчи крыс при гипохолерезе, вызванном действием субстанции Р // XV Всесоюз. конфер. "Физиология пищеварения и всасывания". - Краснодар, 1990. - С. 252.

7. Масюк А.И., Рыбальченко В.К., Островская Г.В., Масюк (Канівець) Т.В., Могилевич Б.Р. О взаимодействии вазопрессина и субстанции Р с плазматической мембраной гепатоцитов и его роли в механизмах гормональной регуляции секреции желчи // Симпозиум "Физиологическое и клиническое значение регуляторных пептидов". - Горький, 1990. - С. 120.

8. Масюк А.И., Слободян М.М., Масюк (Канівець) Т.В., Карпезо Н.О., Рыбальченко В.К. Про можливі механізми регуляції функціонального стану печінки пептидними гормонами // Розвиток фізіології в УРСР за 1986-1990 р.р. - Київ, 1990. - Т. 2. - С. 19.

9. Масюк Т.В., Тукаев С.В., Масюк А.И. Секреторная функция печени крыс при действии лей-енкефалина // Актуальні

проблеми фізіології. - Київ, 1992. - С. 51.

10. Масюк Т.В., Тукаев С.В. Желчеотделительная функция при действии энкефалинов // Развитие идей акад. В.Х. Василенко в современной гастроэнтерологии. - Москва, 1993. - Т.1. - С. 239.

11. Масюк Т.В., Карпезо Н.О., Масюк А.І. Секреторна функція печінки при дії енкефалінів (біофізичний аспект) // І з'їзд Українського біофізичного товариства. - Київ, 1994. - С. 158-159.

12. Масюк Т.В., Карпезо Н.О., Рибальченко В.К., Масюк А.І. Холеретична дія енкефалінів // XIV з'їзд Українського фізіологічного товариства. - Київ, 1994. - С. 167.

13. Масюк Т.В. Действие даларгина на секреторную функцию печени // Перспективные проблемы в гастроэнтерологии. - Москва, 1994. - Т. 2. - С. 87.

14. Масюк Т.В., Долгова Е.Н., Масюк А.И. Ритмические изменения интенсивности секреции желчи при действии гормонов и желчных кислот // Биоритмы пищеварительной системы и гомеостаз. - Томск, 1994. - С. 212-214.

15. Масюк Т.В. Регулирующее влияние энкефалинов на желчеотделительную функцию // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 1995. - Т.5, N 3, прилож. N 1. - С. 151.

16. Масюк Т.В. Пригнічення секреції жовчі при дії даларгіну // Перший Український конгрес гастроентерологів. - Дніпропетровськ, 1995. - С. 129.

17. Масюк Т.В. Секреторна функція печінки при дії лей-енкефаліну і його синтетичного аналога даларгіну // Експериментальна та клінічна фізіологія. - Львів, 1995. С. 219-220.

Masyuk T.V. The liver secretory function at the enkephalines action. Thesis for Cand. of Sci. (Biology) degree on speciality 03.00.13 - the Human and Animal Physiology - The Taras Shevchenko Kyiv University, Kyiv, 1996

The results of research of the liver secretory function at the leu- and met-enkephalines, and dalargin, the synthetic analogue of the leu-enkephalin, action are presented in the manuscript and 17 publications.

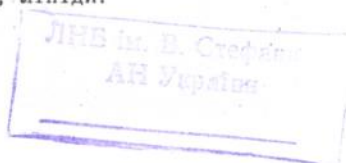
The bile flow, bile acids, proteins and lipids decrease at the enkephalines infusion into the portal vein has been shown.

The character of bile flow, bile acids, proteins, lipid dynamics is found different. It means, that the bile secretion changes at the enkephalines action are the result of enkephalines influences on the metabolic processes in the hepatocytes.

Масюк Т.В. Секреторная функция печени при действии энкефалинов. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.13 - физиология человека и животных, Киевский университет имени Тараса Шевченко, Киев, 1996.

Защищается рукопись и 17 научных работ, содержащих результаты исследований секреторной функции печени при действии лей- и мет-энкефалинов, и синтетического аналога лей-энкефалина даларгина. В острых опытах на белых крысах показано, что энкефалины при их внутривенной инфузии угнетают секрецию желчи и ее основных органических компонентов - желчных кислот, белков и липидов. Изменение интенсивности секреции желчи и секреции ее органических компонентов не всегда совпадают по направленности и во времени, что свидетельствует о регуляции энкефалинами секреторной функции печени на уровне внутриклеточных метаболических процессов. Регуляция секреции желчи энкефалинами осуществляется в результате их непосредственного действия на клетки печени.

Ключові слова: енкефаліни, даларгін, печінка, секреція жовчі, жовчні кислоти, білки жовчі, ліпіди.



АВ 34.027
АВ 34.027

Підп. до друку *09.02.96* Формат $60 \times 84 \frac{1}{16}$ Папір
друк. № *2* Друк офсетний. Умовн. друк. арк. *1,0*
Умовн. фарбо-відб. *1,0* Облік-вид. арк. *1,0*
Тираж *100* Зам. № *6-523*.

Фірма «ВІПОЛ».
252151, Київ, вул. Волинська, 60.