

УДК 616.36—002—099—008.6—092.9:612.411:615.361

Б. В. Олейник

ВЛИЯНИЕ СПЛЕНИНА НА ОБМЕН И ЭКСКРЕЦИЮ БРОМСУЛЬФОФТАЛЕИНА И СЕКРЕЦИЮ ЖЕЛЧИ У КРЫС С ТОКСИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ

Ранее проведенные исследования показали, что экстракт селезенки спленин стимулирует желчеобразование у здоровых животных [5] и способствует восстановлению поглотительной и экскреторной функции печени у животных с экспериментальным гепатитом [4, 9]. Обнаруженные эффекты позволяют предположить, что спленин повышает функциональную активность печени и стимулирует ее репаративную регенерацию. В плане изучения механизма действия спленина представляло интерес исследовать влияние препарата на особенности восстановления некоторых функций печени при ее экспериментальном поражении.

Методика исследований

Опыты проведены на 59 крысах-самцах массой 200—250 г, которые были разделены на три группы. Первую составляли интактные животные. У крыс II и III групп с помощью CCl_4 вызывали острый токсический гепатит. Гепатотоксин вводили подкожно пять раз через день по 0,5 мл/100 г пополам с абрикосовым маслом. После затравки животным III группы на протяжении шести дней вводили внутримышечно спленин в дозе 0,25 мл/100 г массы тела. Вторая группа по аналогичной схеме получала голодания крыс наркотизировали внутривентральным введением барбитала (10 мг, 100 г) и фиксировали в спинном положении на станках с овальным отверстием (190×60 мм) в горизонтальной плоскости. Станки располагали на терморегулируемой подстилке, и ректальную температуру у животных на протяжении опыта поддерживали в пределах 37—38° С.

Продольным разрезом (1—2 см) в эпигастральной области вскрывали брюшную полость и в общий желчный проток вставляли полиэтиленовую трубку, внешний диаметр которой составлял 1 мм. Рану стягивали одним-двумя швами. Желчь собирали почасово на протяжении 4 ч в заранее взвешенные пробирки. Секреция в мг/мин на 100 г массы тела служила показателем интенсивности желчеотделения. Через 1 ч от начала сбора желчи крысам в бедренную вену вводили 5% раствор бромсульфоталеина (БСФ) из расчета 5 мг/100 г массы тела. Экскрецию красителя с желчью определяли на протяжении 2 ч; первый час разделяли на 30 мин периоды. Содержание БСФ в желчи определяли путем спектрофотометрии при 580 мкм, соотношение парных соединений красителя — по данным бумажной хроматографии [14]. Количество белка определяли по [20], гликогена — по [12], липидов — гравиметрическим методом [16], глутатиона (Г-SH) по [18].

Результаты исследований

Как видно из табл. 1, в печени животных контрольной группы, получавших после затравки CCl_4 растворитель спленина, содержание гликогена и белка было резко снижено при выраженной жировой инфильтрации органа и повышенном содержании в нем Г-SH. Секреция желчи составляла 79% объема интактных крыс ($p < 0,01$). Экскреция красителя с желчью за первые 30 мин наблюдения была снижена вдвое ($p < 0,001$), за вторую половину часа на 46%. На протяжении второго часа у контрольных крыс выделялось такое же количество БСФ, как и у интактных животных. Всего за 2 ч экскреторного процесса у крыс конт-

рольной группы выводилось с же у интактных животных. У здоров введенного БСФ метаболизирует парных соединений с глутатио (фракция В), цистеином (фракция В), цистеином (фракция В) в свободном состоянии (протяжении опыта несколько изм ных соединений красителя с Г-S цистеинилглицином и цистеином, снижается (табл. 2).

После затравки крыс CCl_4 , в рушается метаболизм красителя менения конъюгации красителя и ного процесса. Содержание пар цинном и цистеином в желчи уве свободного красителя и его конъю

Введение затравленным крыс лению функционального состояни уменьшилось ($p < 0,05$), а уровень центрация белка и Г-SH под влия ция желчи после лечения коли интактных животных ($p < 0,001$) скреторная функция печени. На с желчью выводилось столько же ных ($p < 0,1$), и несколько меньше ($p > 0,05$). За второй час с жел ством БСФ, как и у животных п ных спленином крыс с желчью в чем у интактных животных.

Однако терапевтическое действие в условиях наших исследований в печени при его транспорте и фракциями красителя оставались живыми.

Обсуждение

Функциональная активность при длительном исследовании [6] и состояния терморегуляции не оказывает непосредственного влияния [5] и в сочетании с общими нормальными величинами создает условия для нормальных процессов в печени и образования в данных условиях энтерогепатической циркуляции.

Данные наших наблюдений говорят о том, что печень является источником секрета с желчью внутривенного с желчью красителя и Г-SH, цистеинилглицином и ний БСФ является критерием этой функции печени [13]. К глутатионом облегчает экскрецию более быстрому поглощению с

рольной группы выводилось с желчью на 34,3% красителя меньше, чем у интактных животных. У здоровых крыс большая часть внутривенно введенного БСФ метаболизируется в печени и попадает в желчь в виде парных соединений с глутатионом (фракция А), цистенилглицином (фракция В), цистеином (фракция С), и меньшая его часть экскретируется в свободном состоянии (фракция D). Соотношение фракций на протяжении опыта несколько изменяется — уменьшается количество парных соединений красителя с Г-SH и увеличивается число комплексов с цистенилглицином и цистеином, процент свободного красителя при этом снижается (табл. 2).

После затравки крыс CCl_4 , наряду с угнетением экскреции БСФ, нарушается метаболизм красителя в печени. Наиболее выраженные изменения конъюгации красителя наблюдаются на втором часу экскреторного процесса. Содержание парных соединений БСФ с цистенилглицином и цистеином в желчи увеличивается при снижении концентрации свободного красителя и его конъюгатов с Г-SH.

Введение затравленным крысам спленина способствовало восстановлению функционального состояния печени; содержание липидов в печени уменьшилось ($p < 0,05$), а уровень гликогена увеличился ($p < 0,001$). Концентрация белка и Г-SH под влиянием спленина не изменялась. Секреция желчи после лечения количественно даже превышала показатели интактных животных ($p < 0,001$). Одновременно восстанавливалась и экскреторная функция печени. На протяжении первых 30 мин наблюдения с желчью выводилось столько же красителя, как и у интактных животных ($p < 0,1$), и несколько меньше на протяжении второго получаса ($p > 0,05$). За второй час с желчью экскретировалось такое же количество БСФ, как и у животных первых двух групп. Всего за 2 ч у леченных спленином крыс с желью выводилось лишь на 14,5% БСФ меньше, чем у интактных животных.

Однако терапевтическое действие спленина при токсическом гепатите в условиях наших исследований не сказывалось на метаболизме БСФ в печени при его транспорте из крови в желчь. Соотношения между фракциями красителя оставались такими же, как и в группе контрольных животных.

Обсуждение результатов исследований

Функциональная активность печени в условиях глубокой анестезии при длительном исследовании в остром опыте зависит от вида наркоза [6] и состояния терморегуляции [2]. Барбитал как снотворное средство не оказывает непосредственного влияния на механизмы желчеобразования [5] и в сочетании с обеспеченностью терморегуляции в пределах нормальных величин создает условия для стабильного течения физиологических процессов в печени опытных животных. Интенсивность желчеобразования в данных условиях постоянна и лишь в силу нарушения энтерогепатической циркуляции в течение опыта несколько снижается.

Данные наших наблюдений согласуются с результатами других авторов о том, что печень является основным органом поглощения и экскреции с желчью внутривенно введенного БСФ. Большинство выделяемого с желчью красителя представляет собой парные соединения с Г-SH, цистенилглицином и цистеином. Соотношение парных соединений БСФ является критерием для суждения о состоянии обезвреживающей функции печени [13]. Кроме того, комплексообразование БСФ с глутатионом облегчает экскрецию красителя в желчь, что способствует более быстрому поглощению его печенью [24].

Таблица 1

Некоторые показатели функции печени у крыс при токсическом гепатите после введения спленина

Группа животных	Статистические показатели	Скорость секретиции желчи, мг/мин/100 г	Экскреция бромсульфалена, мг/100 г			Глутатин, мг %	Липиды, %	Гликоген, мг %	Белок, %
			0—30 мин	30—60 мин	60—120 мин				
I Интактные	n	6,2±0,15	1,38±0,031	1,86±0,037	1,32±0,20	121,5±3,4	4,31±0,16	1542,20±214	14,11±0,63
II CCl ₄ +растворитель спленина	n	4,9±0,028	0,70±0,015	1,01±0,038	1,27±0,025	157,2±2,6	17,88±0,93	497,72±84,40	9,14±0,70
III CCl ₄ +спленин	p ₁	<0,001	<0,001	<0,001	>0,5	<0,01	<0,001	<0,001	<0,001
	n	6,9±0,20	1,21±0,015	1,44±0,15	1,24±0,14	151,3±5,1	14,04±1,35	1292±180,00	9,07±0,83
	p ₂	<0,001	<0,001	<0,001	>0,5	>0,5	<0,05	<0,001	>0,5

Примечание. p₁—достоверность различий между данными I и II групп, p₂—между данными II и III групп.

Таблица 2

Образование парных соединений бромсульфалена в печени крыс при токсическом гепатите после введения спленина

Группы животных	Статистические показатели	Фракции бромсульфалена											
		0—30 мин				30—60 мин				60—120 мин			
		A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
I Интактные	7	48,7±1,55	3,6±0,55	4,2±0,79	43,1±1,61	49,9±2,89	17,9±2,25	8,2±0,77	23,7±1,03	38,6±2,14	22,3±2,68	9,7±1,7	28,8±3,65
II CCl ₄ +растворитель спленина	7	47,9±1,61	9,8±1,25	11,5±1,71	30,8±2,29	32,0±4,0	31,7±4,4	17,0±5,3	18,9±2,1	17,0±2,83	58,1±3,4	12,2±0,95	12,5±2,19
III CCl ₄ +спленин	p ₁	>0,5	<0,001	<0,01	<0,01	<0,01	<0,02	>0,1	>0,05	<0,001	<0,001	>0,2	<0,01
	8	41,4±1,89	9,7±1,89	12,5±1,8	32,7±2,7	33,7±2,18	40,5±3,5	12,0±2,15	13,5±2,1	18,4±1,9	56,1±3,2	11,1±2,46	14,0±0,83
	p ₂	>0,1	>0,5	>0,5	>0,5	>0,1	>0,1	>0,5	>0,05	>0,5	>0,5	>0,5	>0,5

Уменьшение парных соединений при значительной продолжительности обусловлено истощением этого процесса. Снижение экскреции БСФ у крыс довольно трудно, так как с поглощением красителя клетками и последующей конъюгацией и последующей свободной форм.

Патоморфологические изменения кровотока через печень [3, 8] и после введения CCl₄, дают основную причину нарушения конъюгации или же экскреторного механизма.

Однако Классен и др. [19] при заправке крыс CCl₄ считают, что желчь. Другие авторы [21] предполагают, что нарушение процессов поглощения желчи. Последнее предположение торможение экскреции с пониженным поглощением его.

Одинаковое содержание в контрольной и опытной групп в условиях данного эксперимента зависит от его конъюгации с этанолом. Восстановление других механизмов БСФ — Г-SH при экспериментальном содержании Г-SH в печени. Прямое подтверждение этого белка в печени. Повышенное содержание БСФ обусловлено введением этанола.

Восстановление экскреторной функции с нормализацией интенсивности зависимости между этими факторами. Восстановление желчеобразования повышает скорости выделения спленина на нарушенном гепатите у крыс, вероятный механизм биохимических процессов.

1. Блюгер А. Ф., Шурмин Ф. В., Корткостероидов и половых гормонов. Материалы 2-й конференции по физиологии, 1971, № 4, с. 397—400.
2. Дрогозов С. М. Нарушение функции желчи при дистрофии печени. Физиол. журн., 1971, № 4, с. 397—400.
3. Ковальская К. С. Функциональное состояние лимфы при отравлении хлором и медью. 1971, № 11, с. 25—26.
4. Олейник Б. В. Спленин в восстановлении печени. Тез. докл. республ. научн. конф. 1971, № 11, с. 25—26.
5. Олейник Б. В., Лященко П. П. Спленин у собак. — Физиол. журн. 1971, № 11, с. 25—26.
6. Скарлош В. М. Влияние тиреоидной железы на обмен. — Фармакол. и токсикол.

Уменьшение парных соединений БСФ с Г-SH в желчи интактных крыс при значительной продолжительности эксперимента, вероятно, обусловлено истощением этого трипептида в печени [17].

Снижение экскреции БСФ у крыс с токсическим гепатитом обосновать довольно трудно, так как она зависит от скорости доставки и поглощения красителя клетками печени, транспорта через гепатоциты с возможной конъюгацией и последующего выведению с желчью его связанных и свободной форм.

Патоморфологические изменения в гепатоцитах [1, 7, 10], снижение кровотока через печень [3, 8] и угнетение желчеотделения, возникающие после введения CCl_4 , дают основания считать, что гепатотоксин вызывает нарушения большинства или же всех основных звеньев поглотительно-экскреторного механизма.

Однако Классен и др. [19] главной причиной задержки БСФ в крови при затравке крыс CCl_4 считают нарушение экскреции красителя в желчь. Другие авторы [21] придерживаются того мнения, что CCl_4 вызывает нарушение процессов поглощения и накопления БСФ печенью и значительно меньше влияет на процессы конъюгации и выведения его с желчью. Последнее предположение вероятнее, так как наиболее выраженное торможение экскреции красителя в желчь совпадает во времени с пониженным поглощением его печенью из крови [9].

Одинаковое содержание парных соединений БСФ — Г-SH в желчи контрольной и опытной групп животных свидетельствует о том, что в условиях данного эксперимента нормализация экскреции красителя не зависит от его конъюгации с этим трипептидом, а, вероятно, обусловлена восстановлением других механизмов. Угнетение комплексообразования БСФ — Г-SH при экспериментальном гепатите, несмотря на повышенное содержание Г-SH в печени, вероятно, связано со снижением активности фермента конъюгации — глутатион-S-арилтрансферазы [15]. Непрямым подтверждением этого предположения является низкий уровень белка в печени. Повышенное содержание Г-SH в печени затравленных крыс обусловлено введением значительных количеств CCl_4 [7, 23].

Восстановление экскреторной функции печени происходит параллельно с нормализацией интенсивности секреции желчи. Учитывая прямую зависимость между этими процессами [11], можно предположить, что восстановление желчеобразования под влиянием спленина способствует повышению скорости выведения БСФ из печени. Нормализующее влияние спленина на нарушенные функции печени при экспериментальном гепатите у крыс, вероятно, связано с его действием на сложный механизм биохимических процессов в гепатоцитах.

Л и т е р а т у р а

1. Блюгер А. Ф., Шурмин Ф. В., Шустер Я. Я. Морфологическое изучение влияния кортикостероидов и половых гормонов на экспериментальный гепатит белых крыс.— Материалы 2-й конференции патологоанатомов Латвии. Рига, 1962, с. 210—211.
2. Дрогвоз С. М. Нарушение интенсивности желчеотделения и химического состава желчи при дистрофии печени, вызванной четыреххлористым углеродом.— *Вопр. мед. химии*, 1971, № 4, с. 397—400.
3. Ковальская К. С. Функциональная связь между нарушением гемодинамики и оттоком лимфы при отравлении четыреххлористым углеродом.— *Бюлл. эксперим. биол. и мед.*, 1971, № 11, с. 25—26.
4. Олейник Б. В. Спленин в восстановлении экспериментального поражения печени.— Тез. докл. республ. научн. конф. «Механизм действия гормонов». К., 1975, с. 82—83.
5. Олейник Б. В., Лященко П. С. Вплив спленіну на секрецію жовчі та її хімічний склад у собак.— *Фізіол. журн. АН УРСР*, 1974, № 6, с. 673—677.
6. Скарлош В. М. Влияние тиопентала натрия на желчеобразовательную функцию печени.— *Фармакол. и токсикология*, 1974, № 6 с. 701—702.

