

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 растворитель спленина. На следующий день по окончании введения препаратов и 18 ч голодания крыс наркотизировали внутривенным 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 бромсульфофталеина (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 желчью у интактных животных. У здоровых животных введенного БСФ метаболизируют парных соединений с глутатионом (фракция В), цистеином (фракция С) в свободном состоянии (в течение продолжения опыта несколько изменений соотношения парных соединений красителя с Г-SH, цистеинилглицином и цистеином, снижается (табл. 2).

После затравки крыс  $CCl_4$  нарушается метаболизм красителя и изменяется конъюгация красителя и глутатиона процесса. Содержание парных соединений с глутатионом и цистеином в желчи увеличивается, уменьшается содержание свободного красителя и его конъюгатов.

Введение затравленным крысам спленина функционального состояния печени уменьшилось ( $p < 0,05$ ), а уровень концентрации белка и Г-SH под влиянием желчи после лечения колики интактных животных ( $p < 0,001$ ) экскреторная функция печени. На протяжении 2 ч с желчью выводилось столько же БСФ ( $p < 0,1$ ), и несколько меньше ( $p > 0,05$ ). За второй час с желчью выводилось БСФ, как и у животных с спленином крыс с желчью выводилось больше, чем у интактных животных.

Однако терапевтическое действие в условиях наших исследований в печени при его транспорте в желчь фракциями красителя оставались интактными животными.

### Обсуждение

Функциональная активность печени 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 подтверждают о том, что печень является источником секрета с желчью внутривенного введения красителя и Г-SH, цистеинилглицином и парных соединений БСФ является критерием функциональной функции печени [13]. К глутатионом облегчает экскрецию красителя более быстрому поглощению с

ральной 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), цистеинилглицином (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 цистеинилглицином 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 цистеинилглицином 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, цистеинилглицином 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	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	4,31±0,16	1542,20±214	14,11±0,63
II CCl <sub>4</sub> +растворитель спленина	n	4,9±0,028	0,70±0,015	1,01±0,038	1,27±0,025	157,2±2,6	497,72±84,40	9,14±0,70
III CCl <sub>4</sub> +спленин	p <sub>1</sub>	<0,001	<0,001	<0,001	>0,5	<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	1292±180,00	9,07±0,83
	p <sub>2</sub>	<0,001	<0,001	<0,001	>0,5	<0,05	<0,001	>0,5

Примечание. p<sub>1</sub>—достоверность различий между данными I и II групп, p<sub>2</sub>—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±3,65	9,7±1,7	28,8±3,65
II CCl <sub>4</sub> +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±0,83	58,1±3,44	12,2±0,95	12,5±2,19
III CCl <sub>4</sub> +спленин	p <sub>1</sub>	>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 <sub>2</sub>	>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 для этого необходимо поглощение красителя клетками с последующей конъюгацией и последующим выделением в свободной форме.

Патоморфологические изменения кровотока через печень [3, 8] и после введения CCl<sub>4</sub> дают основание предполагать нарушение большинства или же экскреторного механизма.

Однако Клаassen и др. [19] при заправке крыс CCl<sub>4</sub> считают, что нарушение процессов поглощения желчи. Другие авторы [21] предполагают, что нарушение процессов поглощения желчи. Последнее предположение о торможении экскреции с пониженным поглощением ее.

Одинаковое содержание парных соединений в контрольной и опытной группах в условиях данного эксперимента зависит от его конъюгации с этанолом. Восстановление других механизмов экскреции БСФ — Г-SH при экспериментальном содержании Г-SH в печени является прямым подтверждением этого.

Повышенное содержание парных соединений обусловлено введением эфирных масел. Восстановление экскреторной функции печени в значительной степени зависит от нормализации и восстановления желчеобразования. Влияние спленина на нарушение гепатита у крыс, вероятно, обусловлено биохимическими процессами.

1. Блюгер А. Ф., Шурмин Ф. В., Корткостероидов и половых гормонов. Материалы 2-й конференции по физиологии и биохимии печени. — Физиол. журн., 1971, № 4, с. 397-400.
2. Дрогозов С. М. Нарушение функции печени при дистрофии печени. — Физиол. журн., 1971, № 4, с. 397-400.
3. Ковальская К. С. Функциональное состояние лимфы при отравлении эфирными маслами. — Физиол. журн., 1971, № 11, с. 25-26.
4. Олейник Б. В. Спленин в восстановлении печени. Тез. докл. республиканской научной конференции. — Физиол. журн., 1971, № 11, с. 25-26.
5. Олейник Б. В., Лященко П. В. Спленин у собак. — Физиол. журн., 1971, № 11, с. 25-26.
6. Скарлош В. М. Влияние тиапидина на экскрецию бромсульфалена. — 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. Дроговоз 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.

7. Фишер А.— Физиология и эксперим. патология печени. Будапешт, 1961, 216 с.
8. Ханин М. Н., Манкус Т. Г. Вопросы патогенеза и коррекция печеночного кровообращения при хронич. гепатите и циррозе печени.— Патол. физиол., 1973, № 6, с. 6—11.
9. Шевченко А. В., Олейник Б. В. Влияние спленина на очищение крови от бромсульфоталей при экспериментальном токсическом гепатите.— Вопросы эндокринологии и обмена веществ, К., 1970, № 1, с. 75—77.
10. Шуст И. В. Гистохимическая характеристика деструктивных и репаративных процессов в печени при некоторых гормональных вмешательствах.— Автореф. докт. дис. Львов, 1967, 32 с.
11. Boyer J. L., Scheig R. L., Klatskin G. The effect of sodium taurocholate on the hepatic metabolism of sulfobromophthalein sodium. The role of bile flow.— J. Clin. Invest., 1970, 49, p. 206—215.
12. Carrol N. V., Longley R. W., Roe J. H. The determination of glycogen in liver and muscle by use of antrone reagent.— J. Biol. Chem., 1956, 220, p. 583—593.
13. Clodi P. H., Schnack H., Wewalka F. Die Aminosauerstoffscheidung mit der Galle nach Bromsulphophthalein.— Klin. Wschr., 1959, 37, S. 1195—1196.
14. Combes B. The importance of conjugation with glutathione for sulfobromophthalein sodium (BSP) transfer from blood to bile.— J. Clin. Invest., 1965, 44, p. 1214—1223.
15. Datta D. V., Singh S., Chhuttani P. N. Role of liver in the release of plasma bromsulphophthalein—glutathione conjugating enzyme in acute hepatocellular injury.— Indian J. Med. Res., 1973, 61, p. 1351—1359.
16. Folch J., Lee M., Stanley G. H. Simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues.— J. Biol. Chem. 1957, 226, p. 497—509.
17. Grisk A., Behrend U. Einfluss des Leberfunktionszustandes auf die Konjugation von Bromsulphophthalein.— Acta biol. et med. german., 1966, 16, S. 31—42.
18. Grunert R. R., Phillips P. H. A modification of the nitroprusside method of analysis for glutathione.— Arch. biochem. and biophys., 1951, 30, p. 217—225.
19. Klaassen K. D., Plaa G. L. Effect of carbon tetrachloride on the metabolism, storage and excretion of sulfobromophthalein.— Toxicol. and Appl. Pharmacol., 1968, 12, p. 132—139.
20. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with folin phenol reagent.— J. Biol. Chem., 1951, 103, p. 265—275.
21. Maggio M., Fujimoto I. M. Effect of carbon tetrachloride on distribution of sulfobromophthalein in plasma and liver of mice.— Toxicol. and Appl. Pharmacol., 1966, 9, p. 209—218.
22. Roberts R. J., Klaassen K. D., Plaa G. L. Maximum biliary excretion on bilirubin and sulfobromophthalein during anaesthesia—induced alteration in rectal temperature. Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med., 1967, 125, N 1, p. 313—316.
23. Shaker M., Soliman M. K. Distribution of glutathione in the blood and internal organs of mice under physiol. and toxic. conditions. Indian J. Exptl. Biol., 1966, 4, p. 176—178.
24. Whelan G., Hoch J., Combes B. Biliary excretion of conjugated sulfobromophthalein sodium in rats fed a protein-free diet.— Proc. Soc. Exptl. Biol., 1969, 132, p. 704—707.

Киевский институт эндокринологии  
и обмена веществ

Поступила в редакцию  
6.IX 1976 г.

B. V. Olejnik

#### EFFECT OF SPLENIN ON METABOLISM AND EXCRETION OF BROMSULPHOPHTHALEIN ON BILIARY SECRETION IN RATS WITH TOXIC HEPATITIS

##### Summary

In female rats with toxic hepatitis induced by five-fold administration of  $\text{CCl}_4$  (5 ml/kg) every other day the biliary secretion is 21% lowered, excretion of bromsulphophthalein into bile is 47% decreased and its conjugation with glutathione, cysteinylglycine and cystein is disturbed. The content of protein and glycogen in the liver lowers, the concentration of lipids being considerably higher. Splenin (intramuscular injection in a dose of 2.5 ml/kg for 6 days) favours a normalization of certain indexes of the liver functional state. It re-establishes secretory and excretory function of the liver, decreases the content of lipids and increases considerably the level of glycogen. Metabolism of bromsulphophthalein and content of protein in the liver under the effect of splenin are not changed. No dependence is also established between the level of glutathione in the liver and rats of bromsulphophthalein excretion into bile.

УДК 612.453.018—06:612.014.46:613.731:616—001

А. В. I

#### ВЛИЯНИЕ СТ НА СТАНОВЛЕНИЕ КОРЫ НАДПОЧЕ

На протяжении жизни организмов воздействию, которые вызывают развитие неспецифического нарушения гомеостаза, важная роль принадлежит гипоталамическому комплексу, активация которого осуществляется андрогенами, но и андрогенная ее у самок отрицательная регуляция половой системы ее функции [8, 13, 14]. Этим моментом защиты, очевидно, имеет дупликация развития неполноценности [5, 12] продемонстрирована андрогенов корой надпочечников.

Данные литературы после значительной частоты нарушения с расстройством нейрогуморальной неблагоприятных факторов на

Учитывая, с одной стороны, участие в половом и физическом развитии, а с другой — участие в половом и физическом развитии, как сказывается на надпочечниках у самок

#### Метод

Работа выполнена на бесполом половозрелых (40—45 дней) и полостероидов (17-КС) изучали по фракции, что позволяет обнаружить на хроматограмме андростерон (ДГА), андростерон (11-ОКС 17-КС).

Для определения влияния разгрузки на функцию коры надпочечников формалиновая интоксикация, гипоталамическим плаванием по 5 ч на физическую нагрузку подобной интоксикации вызывали охлаждением клеток по 3 ч на протяжении трехдневных в указанных условиях, мы наблюдали стрессовые изменения [11]. Параллельно исследовали статистически.