

И. М. Кожура, Л. К. Финагин

ВОЗРАСТНЫЕ РАЗЛИЧИЯ ЖЕЛЧЕОТДЕЛИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ КРОЛИКОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ

Желчные кислоты являются одним из основных продуктов катаболизма и выведения холестерина из организма. Давно описано повышение выведения желчных кислот в ответ на избыточное поступление холестерина с кормом у крыс [15] и собак [9]. У кроликов подобная реакция организма выражена в значительно меньшей степени [5] или, как предполагают [11], вовсе отсутствует. Возрастные особенности желчеотделения изучали, в основном, в опытах на крысах [7, 10, 12—14] и птицах [1, 3]. При этом показано, что снижение с возрастом желчеотделительной функции печени выявляется чаще всего при сравнении неполовозрелых или только достигших половой зрелости животных со взрослыми. На более поздних этапах онтогенеза образование и выведение желчных кислот существенно не изменяется или проявляет тенденцию к дальнейшему снижению. Большой интерес представляет изучение желчеотделительной функции у кроликов, поскольку этот вид животных характеризуется низкой устойчивостью к атерогенному влиянию экзогенного холестерина.

Мы изучали желчеотделительную функцию печени у половозрелых молодых и старых кроликов в норме и при экспериментальном атеросклерозе.

Методика исследований

Опыты проведены на 29 кроликах-самках, породы шиншилла двух возрастных групп: молодых — 3—7 мес и старых — 4—4,5 лет. 9 молодых (I группа) и 7 старых (II группа) кроликов получали обычный лабораторный рацион и служили контролем. 6 молодых (III группа) и 7 старых (IV группа) животных получали ежедневно в течение 60 дней дополнительно к рациону 0,1 г/кг холестерина в виде 10 % суспензии в подсолнечном масле. Кроликам под нембуталовым наркозом вставляли в желчный проток со стороны просвета двенадцатиперстной кишки полиэтиленовую канюлю, фиксировали ее и собирали часовые порции желчи в течение 4 ч. В каждой порции желчи определяли содержание холестерина и общих желчных кислот. Для этого 0,5 мл желчи смешивали с 5 мл этилового спирта, оставляли на ночь, центрифугировали при 3000 об/мин. Аликвотную часть надосадочной жидкости использовали для осаждения β -стеролов спиртовым раствором дигитонина и для реакции с хлорным железом в присутствии серной кислоты. Общие желчные кислоты определяли с помощью реакции Петтенкофа [4]. У всех животных определяли содержание холестерина в сыворотке крови [8]. Полученные цифровые данные обработаны статистически [6].

Результаты исследований и их обсуждение

В табл. 1 приведены результаты определения объема часовых порций желчи и количества в них холестерина и желчных кислот у молодых и старых кроликов в норме (контроль). Из этих данных вытекает, что у молодых и старых кроликов наиболее активное желчеотделение наблюдается в начале эксперимента и постепенно снижается в последующие часы наблюдения. Хотя объем отделяемой желчи и содержание в ней холестерина при естественном старении кроликов существенно не изменяются, количество выводимых с желчью желчных кислот в расчете на единицу веса кролика или веса печени у старых кроликов заметно снижено по сравнению с молодыми. Содержание холестерина в сыворотке крови молодых (60 ± 6 мг %) и старых кроликов (64 ± 7 мг %) существенно не отличалось ($p > 0,05$).

Введение кроликам холестерина приводило к значительному нарастанию его уровня в крови и сопровождалось изменениями желчеотделения. Степень этих изменений зависит от возраста животных, что хорошо иллюстрируют данные, полученные при пересчете изучаемых показателей на единицу веса кролика или единицу веса ткани

Таблица 1
Объем отделяемой желчи и содержание в ней холестерина и желчных кислот у молодых и старых кроликов в норме ($M \pm m$)

Исследуемые показатели	I группа Молодые ($n=9$)				II группа Старые ($n=7$)		
	Объем желчи (мл)	Холестерин (мл)	Желчные кислоты (мг)	Объем желчи (мл)	Холестерин (мг)	Желчные кислоты (мг)	
Часы наблюдений							
1	17,4±0,9	6,3±0,6	28,5±1,6	23,4±2,5	9,0±1,5	26,1±2,9	
2	14,2±0,5	4,8±0,4	25,9±1,1	16,7±1,9	7,2±1,3	18,5±1,4	
3	10,8±0,5	3,4±0,5	18,6±1,0	14,4±2,2	5,7±0,9	18,9±2,8	
4	9,5±0,3	3,5±0,6	17,8±0,9	12,0±2,9	4,5±0,4	14,6±2,3	
Общее количество (за 4 ч)	51,9±1,4	18,0±1,4	90,9±2,6	66,5±7,2	26,4±4,1	78,2±6,8	
в расчете на кг веса кролика	18,3±1,0	6,5±0,7	33,0±2,8	15,9±2,3	6,4±1,1	18,8±2,0	$p < 0,01$
в расчете на 100 г ткани печени	57,5±1,5	20,4±1,6	102,8±3,6	70,6±10,4	28,7±5,4	82,7±8,8	$p < 0,05$
Общий холестерин сыворотки крови (мг %)		60,1±6,0			64,4±7,2		
Вес кроликов (кг)		2,8±0,2			4,2±0,1		
Вес печени (г)		88,8±1,4			$p < 0,01$		
					96,6±1,8		$p < 0,01$

Таблица 2
Объем отделяемой желчи и содержание в ней холестерина и желчных кислот у молодых и старых кроликов при экспериментальном атеросклерозе

Изучаемые показатели	III группа			IV группа		
	Молодые (n=6)			Старые (n=7)		
	Объем желчи (мл)	Холестерин (мг)	Желчные кислоты (мг)	Объем желчи (мл)	Холестерин (мг)	Желчные кислоты
Часы наблюдений						
1	26,0±1,3 $p_1 < 0,01$	9,3±1,7	38,4±8,3	18,7±1,2	7,2±0,2	14,8±0,7 $p_2 < 0,01$
2	21,1±1,1 $p_1 < 0,01$	8,9±0,60 $p_1 < 0,01$	27,7±3,2	12,4±1,1	5,7±1,2	9,5±1,3 $p_2 < 0,01$
3	16,9±0,6	7,0±0,80 $p_1 < 0,01$	22,7±2,4	9,4±0,5 $p_1 < 0,05$	4,2±0,30 $p_1 < 0,1$	7,4±1,3 $p_2 < 0,01$
4	13,3±1,7	6,6±1,6	25,6±4,1	7,2±0,8 $p_1 < 0,1$	3,2±0,5	5,0±0,9 $p_2 < 0,01$
Общее количество (за 4 ч)	77,3±3,5 $p_1 < 0,01$	31,8±3,2 $p_1 < 0,01$	114,3±15,3	47,7±4,3 $p_1 < 0,05$	20,3±2,0 $p_2 < 0,05$	36,8±4,1 $p_1 < 0,01$
в расчете на кг веса кролика	23,9±1,5 $p_1 < 0,05$	10,1±1,4 $p_1 < 0,05$	35,0±5,7	12,5±1,5 $p_2 < 0,01$	5,96±1,5 $p_2 < 0,05$	9,0±1,6 $p_1 < 0,01$
в расчете на 100 г ткани печени	72,5±4,2 $p_1 < 0,01$	30,5±4,3 $p_1 < 0,05$	92,0±11,4	45,0±4,4 $p_1 < 0,05$	21,5±2,3 $p_2 < 0,05$	33,0±4,2 $p_1 < 0,01$
Общий холестерин сыворотки крови (мг %)		398,3±42,4			582,1±56,0	
Вес кроликов (кг)		3,2±0,2 $p_1 < 0,1$			3,7±0,2	
Вес печени (г)		108,2±0,8 $p_1 < 0,01$			102,1±5,8	

Обозначения. p_1 —достоверность различий при сравнении с нормальными кроликами того же возраста; p_2 —достоверность возрастных различий при атеросклерозе; n—число животных.

печени (табл. 1, 2). Так, у молодых животных (III группа) объем отделяемой желчи и содержание в ней холестерина повышались, а количество выводимых желчных кислот существенно не изменялось по сравнению с соответствующим возрастным контролем (I группа). У старых подопытных животных (IV группа) наблюдалось снижение объема секретируемой желчи и содержания в ней холестерина и желчных кислот по сравнению с нормой (II группа). В связи с этим возрастные различия в желчеотделении у животных с экспериментальным атеросклерозом выражены более четко, чем в норме: у молодых подопытных кроликов повышен объем секретируемой желчи, увеличено количество выводимых с ней холестерина и желчных кислот по сравнению со старыми животными, которых содержали в аналогичных условиях эксперимента (табл. 1, 2). В соответствии с этим уровень холестерина в крови старых кроликов, получавших холестерин, был выше (582 ± 56 мг %), чем у молодых (398 ± 42 мг %, $p < 0,05$). Введение кроликам холестерина вызывало гипертрофию печени, более выраженную у молодых животных.

Полученные данные свидетельствуют о том, что у кроликов не происходит усиленного выведения с желчью желчных кислот в ответ на избыточное поступление с кормов холестерина. Поскольку превращение холестерина в желчные кислоты является основным путем выведения его из организма, есть основания считать, что неэффективность данного пути катаболизма холестерина при длительном введении его кроликам может быть важной причиной быстрого накопления холестерина в крови и тканях животных данного вида. К подобному выводу приходит Хелстрем [11], изучавший желчеотделение у взрослых кроликов, получавших холестерин. Этот автор считает, что у кроликов отсутствует механизм усиленной трансформации экзогенного холестерина в желчные кислоты. Однако в опытах Марцевич [5] было показано, что на ранних стадиях развития атеросклероза у кроликов (7—30 дней после начала введения холестерина) наблюдается хотя и небольшое, но все же заметное усиление выведения с желчью желчных кислот. Сопоставляя эти данные с результатами наших наблюдений, можно предположить, что длительное введение кроликам холестерина приводит к нарушению механизма защиты, о котором идет речь. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что у старых кроликов нарушение данного механизма выражено в большей степени, чем у молодых. Эти результаты согласуются с описанным нами повышенным уровнем холестерина в крови и усиленным накоплением холестерина в ткани печени старых кроликов в условиях воспроизведения экспериментального атеросклероза по сравнению с молодыми животными [2].

В заключение можно сказать, что состояние желчеотделительной функции печени, вероятно, в значительной степени определяет, наряду с другими факторами, устойчивость к атерогенному влиянию холестерина, связанную с возрастом и видом животных. Это необходимо учитывать при поисках средств и способов профилактики и лечения атеросклеротического процесса.

Список литературы

1. Аубакиров А. К. Влияние витамина В₁₅ на жириполидный обмен у петухов различного возраста при экспериментальном атеросклерозе: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Караганда, 1971. 21 с.
2. Горев Н. Н., Кожура И. М., Костюк Л. В., Ступина А. С., Черкасский Л. П. Экспериментальный атеросклероз и возраст. М.: Медицина, 1972. 208 с.
3. Кожура И. М., Шевчук В. М., Лященко П. С. Желчеотделительная функция печени у птиц разного возраста при экспериментальном атеросклерозе.— Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1976, № 9, с. 1038—1041.
4. Кульберг Л. М., Маларевская М. Е. Микрофотометрический метод определения желчных кислот в биологических жидкостях.— Врач. дело, 1951, № 9, с. 809—812.
5. Марцевич М. С. Особенности выделения холестерина кишечником у животных с различной видовой резистентностью к экзогенному холестерину.— Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1973, № 10, с. 43—47.
6. Монцевичюте-Эрингене Е. В. Упрощенные математико-статистические методы в медицинской исследовательской работе.— Патол. физиология и эксперим. терапия, 1964, № 4, с. 71—78.

7. Финагин Л. К., Кожура И. М., Заика М. У. Холестерин крови и желчеотделительная функция печени крыс разного возраста в норме и при содержании их на атерогенном рационе.— Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1978, № 2, с. 155—157.
8. Abell L. L., Levi B. B., Brodie B. B., Kendall F. E. A simplified method for the estimation of total cholesterol in serum and demonstration of its specificity.— J. Biol. Chem., 1952, 195, p. 357—366.
9. Abell L. L., Mosbach E. H., Kendall F. E. Cholesterol metabolism in the dog.— J. Biol. Chem., 1956, 220, p. 527—536.
10. Bener W. T., Casazza K. K., Lin G. Y. Effect of age and sex on rat bile acid metabolism.— Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 1971, 138, N 2, p. 645—650.
11. Hellström K. On the bile acid and neutral steroid in man and rabbits following cholesterol feeding.— Acta physiol. scand., 1965, 63, N 1, p. 21—35.
12. Hřůza Z., Zbuzkova V. Decrease of excretion of cholesterol during aging.— Exp. Geront., 1973, 8, N 1, p. 29—37.
13. Yamamoto M., Yamamura Y. Changes of cholesterol metabolism in the ageing rats.— Atherosclerosis, 1971, 13, p. 365—374.
14. Kroker R., Anwer M. S., Hegner D. The age dependence of bile acid metabolism in rats.— Aktuell Gerontol., 1977, 7, N 10, p. 539—545.
15. Wilson J. D. Relation between dietary cholesterol and bile acid excretion in the rat.— Am. J. Physiol., 1962, 200, N 6, p. 1029—1032.

Институт геронтологии АМН СССР, Киев;
Институт физиологии Киевского университета

Поступила в редакцию
19. IV 1979 г.

УДК 616—003.725:612.015.12:616.36—002—099

А. В. Шевченко, Г. В. Тюленева

ВЛИЯНИЕ СПЛЕНИНА НА АТФазную АКТИВНОСТЬ ПЕЧЕНИ, СЕЛЕЗЕНКИ И ПОЧЕК КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГЕПАТИТЕ

Токсический гепатит, вызванный четыреххлористым углеродом, сопровождается глубокими изменениями обмена, в том числе и энергетического [3, 12]. В литературе имеются сведения о том, что при повреждении паренхимы печени нарушается синтез ферментных белков [4, 16], снижается синтез АТФ [15] и активность АТФаз [7, 14]. В этих условиях представляло интерес изучить активность АТФазных систем печени и других паренхиматозных органов и влияние на них биологически активного препарата селезенки — спленина — который, как известно, оказывает многостороннее влияние на обменные процессы в организме и, в частности, обладает способностью усиливать антитоксическую функцию печени [2, 5, 10].

Мы изучали влияние спленина *in vivo* на Mg^{2+} зависимую, Na^+K^+ активируемую аденозинтрифосфатазную активность печени, селезенки и почек крыс в норме и при экспериментальном гепатите, вызванном CCl_4 .

Методика исследований

Опыты проведены на 60 крысах-самцах линии Вистар весом 200—250 г. Экспериментальный гепатит воспроизводили пятикратным подкожным введением через день CCl_4 (растворенного на косточковом масле 1:1) из расчета 0,5 мл/100 г. Концентрированный спленин, разведенный на физиологическом растворе 1:9 вводили ежедневно в течение шести дней внутримышечно по 0,25 мл/100 г.

Действие спленина изучали в двух сериях опытов. I — исследовали влияние спленина на АТФазы печени, селезенки и почек у интактных животных, II — при введении CCl_4 (животным первой группы вводили растворитель CCl_4 , второй — CCl_4 , третьей — спленин после введения CCl_4 , четвертой — спленин перед введением CCl_4).

Исследовались 6 % гомогенаты печени, селезенки и почек крыс, приготовленные а 1 мМ растворе ЭДТА (рН 7,4). Для определения активности АТФаз пробы инкубировали при 37 °C в течение 20 мин в среде следующего состава (в ммоль): трис-АТФ — 4, NaCl — 200, KCl — 40, $MgCl_2$ — 4, трис-HCl — 80 (рН 7,4). Реакцию начинали вне-