

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. Hrůza 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.

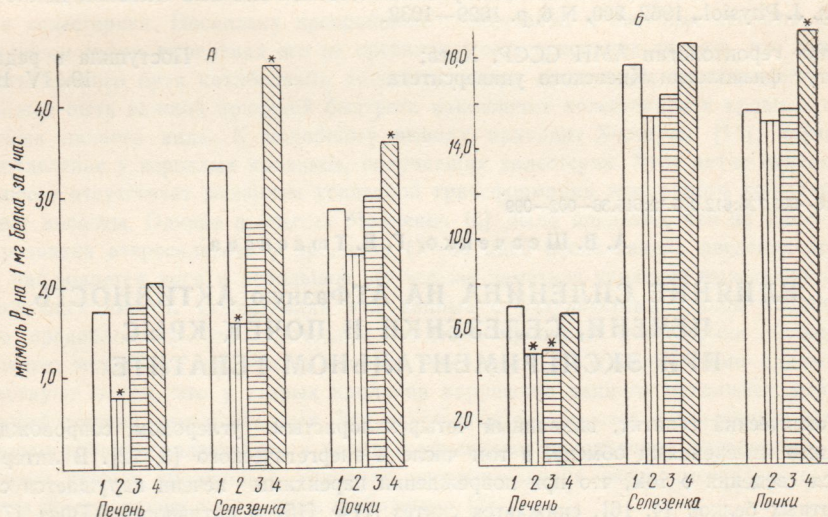
Действие спленина изучали в двух сериях опытов. I — исследовали влияние спленина на АТФазы печени, селезенки и почек у интактных животных, II — при введении  $CCl_4$  (животным первой группы вводили растворитель  $CCl_4$ , второй —  $CCl_4$ , третьей — спленин после введения  $CCl_4$ , четвертой — спленин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

сением в реакционную смесь ферментных препаратов (0,3—0,4 мг белка). Общий объем пробы составлял 1 мл. Реакцию останавливали добавлением ТХУ до конечной концентрации 6 %.  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  АТФазную активность рассчитывали, вычитая из общей АТФазной активности  $\text{Mg}^{2+}$  зависимую, которую определяли в присутствии  $10^{-4}$  моль строфантина К. Удельную активность ферментов выражали в микромолях неорганического фосфора на 1 мг белка за 1 ч. Количество неорганического фосфора и белок определяли колориметрическими методами [11, 13]. В исследованиях использовали трис и АТФ фирмы «Reanal» (Венгрия). Натриевую соль АТФ переводили в трис-АТФ.

## Результаты исследований и их обсуждение

Результаты исследований, представленные в таблице, показали что введение спленина интактным животным достоверно повышает активность  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  АТФазы только в селезенке, а  $\text{Mg}^{2+}$  АТФазы только в почках крыс. Активность  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  АТФазы увеличилась в селезенке на 77 %, а  $\text{Mg}^{2+}$  АТФазы почек в полтора раза по сравнению с контрольными животными.



Влияние спленина на активность  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  АТФазы (А) и  $\text{Mg}^{2+}$  АТФазы (Б) печени, селезенки и почек крыс при интоксикации  $\text{CCl}_4$ .

1 — контрольные животные, 2 — интоксикация  $\text{CCl}_4$ , 3 — действие спленина на фоне интоксикации  $\text{CCl}_4$ , 4 — действие спленина, \*разница по отношению к контролю достоверна ( $p < 0,05$ ).

Полученные результаты II серии опытов (см. рисунок) свидетельствуют о том, что при экспериментальном гепатите, вызванном четыреххлористым углеродом, угнетается активность  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  АТФазы печени и селезенки на 54 и 50 % соответственно, и  $\text{Mg}^{2+}$  АТФазы печени на 30 %. Угнетение активности этих ферментов в печени крыс при введении им  $\text{CCl}_4$  наблюдали и другие исследователи [12]. Как известно, первичным местом действия  $\text{CCl}_4$  является эндоплазматический ретикулум печеночных клеток. Причиной снижения активности ферментов в этом случае являются продукты расщепления  $\text{CCl}_4$ , образующиеся при этом свободные радикалы являются наиболее активными соединениями, которые действуют на функциональные группы белков мембран и ферментов, нарушая их функцию. По мнению некоторых авторов [1],  $\text{CCl}_4$  способствует образованию перекиси ненасыщенных жирных кислот, которые могут принимать участие в механизме торможения активности  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  АТФазы и  $\text{Mg}^{2+}$  АТФазы [8].

Мы не обнаружили достоверного снижения активности исследуемых ферментов в почках крыс при введении  $\text{CCl}_4$ , хотя, по данным литературы [6],  $\text{CCl}_4$  действует на мембранные структуры клеток почек, способствуя нарастанию в них гипоксин и глю-

боких сдвигов метаболизма, приводящих к снижению активности ферментов, в том числе и АТФаз.

Из литературы известно, что введение спленина при экспериментальном гепатите, вызванном  $\text{CCl}_4$ , усиливает детоксикационную функцию печени [9, 10], поэтому нами было проведено исследование его влияния на активность АТФаз при экспериментальном гепатите. Введение спленина на фоне интоксикации  $\text{CCl}_4$  вызывает активацию  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  АТФазы в печени и селезенке крыс. Активность фермента в этих органах достигает уровня контрольных показателей. Сравнивая животных этой группы с теми, которым вводили только  $\text{CCl}_4$ , можно отметить, что введение спленина вызывает повышение активности  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  АТФазы печени более, чем в два раза, а селезенки в 1,7 раза, тогда как на активность  $\text{Mg}^{2+}$  АТФазы спленин не оказывает действия. Восстановление к норме активности  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  АТФазы под влиянием спленина можно объяснить тем, что он усиливает регенерацию поврежденных клеток.

Влияние спленина на активность АТФаз печени, селезенки и почек крыс  
(мкмоль  $\text{P}_n$  на 1 мг белка за 1 ч)

| Исследуемые группы | К-во животных | Статистический показатель | $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -АТФаза |           |       | $\text{Mg}^{2+}$ -АТФаза |           |        |
|--------------------|---------------|---------------------------|--------------------------------------|-----------|-------|--------------------------|-----------|--------|
|                    |               |                           | Печень                               | Селезенка | Почки | Печень                   | Селезенка | Почки  |
| Контроль           | 8             | <i>M</i>                  | 1,75                                 | 2,10      | 4,03  | 7,01                     | 20,44     | 15,06  |
|                    |               | $\pm m$                   | 0,27                                 | 0,23      | 0,30  | 0,49                     | 0,61      | 0,60   |
| Спленин            | 8             | <i>M</i>                  | 2,05                                 | 3,71      | 4,70  | 7,87                     | 21,99     | 23,07  |
|                    |               | $\pm m$                   | 0,18                                 | 0,21      | 0,29  | 0,12                     | 0,93      | 1,65   |
|                    |               | <i>p</i>                  | >0,5                                 | <0,001    | >0,5  | >0,5                     | >0,5      | <0,001 |

Контролем служили животные, которым вводили физиологический раствор.

Проведенное нами исследование с предварительным введением спленина перед интоксикацией животных  $\text{CCl}_4$  показало, что активность  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  АТФазы увеличивается в селезенке и почках крыс по сравнению с контрольной группой животных на 33 и 27 % соответственно, в печени увеличение активности этого фермента было недостоверным. На  $\text{Mg}^{2+}$  АТФазу предварительное введение спленина не оказывает влияния, за исключением почек, где активность этого фермента увеличивается на 18 % по сравнению с животными контрольной группы.

Таким образом можно отметить, что спленин в условиях токсического поражения печени  $\text{CCl}_4$  в большей мере действует на  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  АТФазу, восстанавливая ее до контрольных величин, чем на  $\text{Mg}^{2+}$  АТФазу. Поэтому возможным механизмом приложения действия спленина в этих условиях является восстановление ионного транспорта.

### Список литературы

1. Бободжанова М. Б. Влияние этанола и  $\text{CCl}_4$  на содержание цитохрома Р-450 в остром и хроническом эксперименте.— В кн.: Экспериментальная патология печени. Душанбе, 1976, с. 139—147.
2. Головцев Ю. Н. Влияние спленина на некоторые показатели обмена веществ у больных атеросклерозом.— Терапевт. арх., 1969, № 9, с. 66—70.
3. Губский Ю. И., Сильченко В. П., Покрасен Н. М. Влияние полициклических углеводородов на ультраструктуру и ферментативные свойства гепатоцитов крыс при отравлении четыреххлористым углеродом.— ДАН УРСР, Сер. Б, 1977, № 1, с. 66—69.
4. Губский Ю. И. Вплив олівоміцину на пошкодження мембранних структур печінки і нирок щурів при гострому отруєнні чотирьохлористим вуглецем.— ДАН УРСР, Сер. Б, 1978, № 1, с. 54—57.
5. Зержебловська В. М., Благодзевич А. А. Зміна деяких показників білкової функції печінки під впливом спленіну.— Фізіол. журн., 1964, 10, № 1, с. 121—122.

6. Киселева А. Ф. Влияние  $\text{CCl}_4$  на активность окислительно-восстановительных и фосфатазных ферментов в почках белых крыс.— Гигиена труда и профзаболевания, 1969, № 7, с. 47—49.
7. Мансурова И. Д. Аденозинтрифосфатаза.— В кн.: Обменные процессы при диффузных поражениях печени. Душанбе, 1967, с. 89—94.
8. Мирсалихова Н. М., Юкельсон Л. Я., Зиямухамедов Р. Участие ионов  $\text{Ca}$  и жирных кислот в торможении  $\text{Mg}^{2+}$ - и  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФаз «прямым» гемолизом и фосфолипазой А яда кобры.— Укр. біохім. журн., 1975, 47, № 1, с. 61—64.
9. Олейник Б. В. Влияние спленина на обмен и экскрецию бромсульфоталейна и секрцию желчи у крыс с токсическим гепатитом.— Фізіол. журн., 1978, 24, № 1, с. 52—56.
10. Шевченко А. В., Олейник Б. В. Влияние спленина на очищение крови от бромсульфоталейна при экспериментальном токсическом гепатите.— Вопр. эндокрин. и обмена веществ. Киев, 1970, вып. 1, с. 75—77.
11. Fiske C. H., Subbarow J. The colorimetric determination of phosphorus.— J. Biol. Chem., 1925, 66, p. 375—400.
12. Kamath S. A., Rubin E. Effects of carbon tetrachloride and phenobarbital on plasma membranes Enzymes and phospholipid transfer.— Lab. Invest., 1974, 30, № 4, p. 494—499.
13. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Rendall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent.— J. Biol. Chem., 1951, 193, p. 265—275.
14. Rufejer U., Frimmer M. Inhibition by polyhalogenated hydrocarbons (PHHC) of ATPases in plasma membranes of parenchymal liver cells. Naunyn — Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 1976, 293, N 2, p. 187—190.
15. Slater T. F. Necrogenic action of carbon tetrachloride in the rat a speculative mechanism based on activation.— Nature, 1966, 209, p. 36—40.
16. Ugario G., Koch R. R. Reversibility of liver damage in rats rendered resistant to carbon tetrachloride by prior carbon tetrachloride administration bearing on the Lipoperoxidation hypothesis.— Exp. and Molec. Pathol., 1973, 18, N 3, p. 281—289.

Лаборатория экспериментальной  
фармакотерапии Киевского института  
эндокринологии и обмена веществ

Поступила в редакцию  
13. III 1979 г.