

УДК 612.35—616.36—577.352.3

Б. Е. Есипенко, Л. И. Жалило, А. П. Костромина, О. Д. Синельник

МЕХАНИЗМ ЖЕЛЧЕГОННОГО ДЕЙСТВИЯ ЖЕЛЧНЫХ КИСЛОТ

Известно, что желчные кислоты стимулируют секрецию желчи. Линейная корреляция между скоростью желчеотделения и секретцией желчных кислот показана в экспериментах на животных [5, 6, 11] и при клинических обследованиях у человека [11, 12]. Эти данные в значительной мере способствовали утверждению гипотезы [14] об осмотической природе желчегонного действия желчных кислот. Согласно этим представлениям, транспорт желчных кислот в просвет канальцев создает осмотический градиент для фильтрации воды и неорганических ионов.

Однако выдвинутой гипотезе противоречит ряд экспериментальных фактов. Так, отмечено отсутствие синхронности в холеретическом действии дегидрохолевой кислоты и ее появлении в желчи [13]. Зарегистрирован достаточно интенсивный ток желчи в опытах на изолированной печени при отсутствии или минимальной секреции желчных кислот. Обнаружено [6, 9, 10], что после перерыва энтерогепатического кругооборота и уменьшения запаса желчных кислот у кроликов и крыс секреция желчи снижается, но в меньшей мере, чем секреция желчных кислот.

В связи с этим возникло предположение о том, что желчегонное действие желчных кислот обусловлено стимуляцией работы насоса неорганических ионов мембран гепатоцитов [13].

Задачей настоящей работы явилось выяснение роли желчных кислот в ионном механизме желчеотделения, постулируемом в последнее время рядом исследователей [1, 8].

Методика исследований

Исследования проводили на целостном организме, изолированной перфузируемой печени, инкубируемых срезах печени и субфракциях плазматических мембран гепатоцитов. В опытах использовались кролики породы шиншилла массой 1,8—2,0 кг и белые крысы массой 180—200 г.

Кроликов содержали в условиях свободного пищевого режима и 24 ч голодания перед опытом при 5 сут нагрузках водопроводной водой в дозе 10 % к массе тела. Под нембуталовым наркозом (50 мг/кг массы тела) у них определяли скорость желчеотделения, а в собираемой желчи — концентрацию натрия и желчных кислот.

Инфузию разведенной физиологическим раствором (1:1) крысиной желчи, содержащей 2,0—7,2 желчных кислот, осуществляли в воротную вену крысам с постоянной скоростью в течение 30 мин.

Изолированную печень крысы перфузировали по [2] в течение 1 ч раствором, не включавшим желчные кислоты, затем еще 1 ч раствором, содержащим 3 мг холевой кислоты в 100 мл. Пробы желчи отбирали и анализировали через каждые 30 мин.

Срезы ткани печени инкубировали 90 мин на холоду (0 °C), затем 40 мин при 38 °C в Krebs — Рингер — фосфатном буфере, содержащем 5—30 мг холевой кислоты в 100 мл или без нее. Определяли содержание натрия, калия и воды в клетках печени, интенсивность переноса натрия через клеточные мембраны.

Субфракции плазматических мембран с преобладанием каналикулярных и синусоидальных получены по [15] в нашей модификации [3]. Активность Na^+ , K^+ АТФазы определяли по количеству неорганического фосфата, выделяемого в результате гидролиза АТФ. Среда инкубации — АТФ: MgCl_2 (1:1), 120 ммоль NaCl , 50 ммоль трис- HCl , 10 ммоль KCl , pH 7,8. В опытах в среду инкубации добавляли холевую кислоту 10 мг/100 мл.

Концентрацию натрия и калия определяли методом фотометрии в пламени на фотометре Цейс-Иена.

Желчные кислоты определяли по [4] на спектрофотометре СФ-4. Статобработка полученных в экспериментах данных произведена по И. А. Ойвину.

Результаты

У кроликов, содержащихся в свободном пищевом режиме, была отмечена желчеотделения и секреция животных, находившихся в свободном пищевом режиме, желчеотделения повышала интенсивность секреции желчи (табл. 1).

Зависимость скорости желчеотделения от интенсивности секреции желчных кислот и экскреции натрия. По вертикали — скорость желчеотделения, по горизонтали — секреция желчных кислот и экскреция натрия (II) с желчью.

После 5 сут нагрузок скорость желчеотделения и секреция животных, находившихся на этих условиях у кроликов после нагрузки повышалась, а секреция желчи снижалась.

Желчеотделение у кроликов

Показатели	Среднее
	24 ч голодания
Скорость желчеотока, мл/кг·мин	4,33
Натрий желчи, ммоль/л	155,4
Натрий желчи, ммоль/кг·мин	0,67
Желчные кислоты, мг/100 мл	838
Желчные кислоты, мг/кг·мин	3430

Полученные данные показывают, что существует зависимость между этими показателями. В то же время во всех случаях были однонаправленными. Между этими показателями описываемая уравнением.

Скорость желчеотделения желчных кислот в опытах желчи и с перфузией изолированной холевую кислоту пень изменения этих показателей.

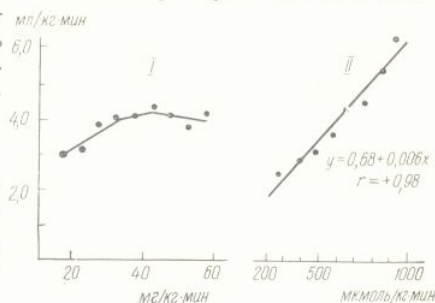
Во время внутрипортальной высылась на 27 %, экскреция желчных кислот — на 27 %.

При перфузии изолированной кислотой скорость желчеотделения составила $758,5 \pm 58,5$ до (1707 ± 123) .

Результаты исследований и их обсуждение

У кроликов, содержащихся на различных питьевых и пищевых режимах, была отмечена разнонаправленность изменений скорости желчеотделения и секреции желчных кислот. При суточном голодании животных, находившихся на свободном питьевом режиме, скорость желчеотделения повышалась, интенсивность секреции желчных кислот снижалась (табл. 1).

Зависимость скорости желчеотделения у кроликов от интенсивности секреции желчных кислот и экскреции натрия с желчью. По вертикали — скорость желчеотделения, по горизонтали — секреция желчных кислот (I) и экскреция натрия (II) с желчью.



После 5 сут нагрузок кроликов водой в дозе 10 % к массе тела скорость желчеотделения и секреция желчных кислот была выше, чем у животных, находившихся на свободном питьевом режиме. Однако и в этих условиях у кроликов после суточного голодания скорость желчеотделения повышалась, а секреция желчных кислот с желчью — снижалась.

Таблица 1
Желчеотделение у кроликов при различных питьевых режимах

Показатели	Свободный питьевой режим		Нагрузка водой (10% к массе)	
	24 ч голодания	Свободный пищевой режим	24 ч голодание	Свободный пищевой режим
Скорость желчеотока, мл/кг·мин	4,33±0,13	3,57±0,12	4,90±0,16	4,30±0,29
Натрий желчи, ммоль/л	155,4±4,8	151,5±2,3	148,7±2,4	152,5±2,9
Натрий желчи, ммоль/кг·мин	0,67±0,05	0,56±0,02	0,74±0,03	0,64±0,09
Желчные кислоты, мг/100 мл	838±71	1166±67	447±127	1070±107
Желчные кислоты, мг/кг·мин	3430±282	4249±301	3995±190	5153±398

Полученные данные позволили заключить, что характер взаимосвязи между этими показателями не является линейным (см. рисунок, I). В то же время во всех случаях изменения скорости секреции желчи были однонаправленными с изменениями экскреции с желчью натрия. Между этими показателями найдена функциональная зависимость, описываемая уравнением прямолинейной регрессии (см. рисунок, II).

Скорость желчеотделения, экскреция натрия с желчью и секреция желчных кислот в опытах с инфузией в воротную вену крыс крысиной желчи и с перфузией изолированной печени крыс растворами, содержащими холевую кислоту, изменялись однонаправленно. Однако степень изменения этих показателей была различной.

Во время внутрипортальной инфузии скорость желчеотделения повысилась на 27 %, экскреция натрия — на 24,7 %, интенсивность выделения желчных кислот — на 50,3 % (табл. 2).

При перфузии изолированной печени крысы растворами с холевой кислотой скорость желчеотделения увеличилась за первые 30 мин с 758,5±58,5 до (1707±123,8) мкл/мг·мин, экскреция натрия с жел-

чью — с $106,5 \pm 9,3$ до $(233,9 \pm 17,3)$ мкмоль/кг·мин, или на 125,1 и 123,0 %, соответственно. Через 1 ч перфузии эти показатели превышали исходные значения соответственно на 28,5 и 23,4 %. Секретция желчных кислот с желчью в этих опытах повысилась за первые 30 мин в 21,5 раза, а через 1 ч была выше исходного уровня в 9,8 раза.

Таблица 2
Содержание воды, натрия и калия в клетках печени крыс
при инкубации срезов ткани в средах с различной концентрацией
желчных кислот

Условия инкубации	Вода, мл/кг	Натрий, ммоль/кг	Калий, ммоль/кг
Интактная ткань	$526,6 \pm 2,6$	$16,7 \pm 2,5$	$82,5 \pm 1,2$
0 °C	$723,9 \pm 8,3$	$71,7 \pm 4,5$	$15,2 \pm 0,8$
38 °C	$559,6 \pm 19,8$	$44,1 \pm 2,3$	$51,2 \pm 3,3$
38 °C + 5—10 мг/100 мл	$553,4 \pm 15,5$	$40,7 \pm 3,3$	$58,4 \pm 2,7$
0 °C	$716,2 \pm 8,9$	$78,0 \pm 2,8$	$14,7 \pm 0,5$
38 °C	$547,4 \pm 16,9$	$46,1 \pm 2,1$	$55,2 \pm 3,0$
38 °C + 15—20 мг/100 мл	$573,1 \pm 17,2$	$50,9 \pm 2,7$	$59,8 \pm 2,6$
0 °C	$725,5 \pm 7,9$	$73,8 \pm 4,2$	$15,3 \pm 0,7$
38 °C	$561 \pm 18,7$	$44,7 \pm 2,0$	$54,7 \pm 4,0$
38 °C + 30—50 мг/100 мл	$555,9 \pm 23,3$	$44,3 \pm 4,0$	$56,6 \pm 3,6$

Как видно из приведенных данных, изменения скорости желчеотделения и секреции желчных кислот могут существенно отличаться по интенсивности. Количество желчи, выделенное на 1 ммоль желчной кислоты, значительно варьирует у животных разных видов [9], и, как показали наши исследования, даже у одного конкретного животного.

В то же время, согласно полученным данным, экскреция 1 ммоль натрия сопровождается выделением желчи в количестве, существенно не отличающемся при определении *in vivo* и *in vitro* у разных животных. Оно составляло у крыс в опытах с инфузией 7,7—7,9 мл, в опытах с изолированной печенью — 7,1—7,4 мл, у кроликов — 6,4—6,7 мл.

Результаты наших исследований позволили заключить, что уровень секреции желчных кислот в каналцы не является фактором, непосредственно определяющим ту или иную интенсивность секреции желчи. Вместе с тем полученные данные указывают на стимулирующее влияние желчных кислот крови на экскрецию натрия с желчью.

Опыты с инкубацией срезов ткани печени позволили конкретизировать механизм действия желчных кислот на скорость желчеотделения.

Как видно из данных, представленных в табл. 2, смена температурной инкубации на тепловую приводила к уменьшению содержания натрия в клетках за 40 мин., т. е. в условиях тепловой инкубации из клеток в среду транспортируется 27,6 ммоль/кг тк. натрия за 40 мин. После введения в среду инкубации желчных кислот крысиной желчи в дозе 5—10 мг в 100 мл, перенос натрия был интенсивнее на 3,4 ммоль/кг ткани за 40 мин, чем в контроле. Одновременно клетки теряли больше воды и в них транспортировалось больше калия.

Следует отметить, что перенос из клеток 1 ммоль натрия в опытах с инкубацией срезов ткани печени сопровождался уменьшением содержания в клетках воды на 7,7 мл, т. е. при транспорте натрия и воды из клеток поддерживалось то же соотношение, что и при экскреции с желчью.

Инкубация срезов ткани печени в средах с различной концентрацией желчных кислот показала, что последние могут не только стимулировать, но и ингибировать перенос натрия через мембраны. Сти-

муляция транспорта натри- ных кислот в 100 мл среды угнетался, а калия — стимуляция желчных кислот не оказывала влияния на воду в клетках печени.

Активность АТФаз
(мкмоль Р_н/мг белка)

Показатель

Общая АТФаза
синусоидальных мемб
каналикулярных мемб
Na⁺, K⁺ АТФаза
синусоидальных мемб
каналикулярных мемб

Таким образом, инкубация об изменении ин- теграны гепатоцитов под влиянием. Непосредственное оп- ружающее ионы натрия че- залю наличие ее как в с- бранах гепатоцитов [3, 15] лот в среде.

Наличие холевой кис- плазматических мембран ной степени стимулирова- кулярных мембран. Акти- бран увеличивалась на 2- чение активности АТФаз Na⁺, K⁺ АТФазы. Об этом- активности Na⁺, K⁺ АТФ- наликулярных — на 74 %

Таким образом, жел- результатом повышения и- патоцитов и, как следств- натрия через каналикуляр- каналикулы, т. е. скорости

Полученные результа- т
яснения механизма желч- основание считать необос- висимую и независимую- существует единый механ- которого является трансп-

Желчные кислоты, мощный корректирующий- другими факторами внут- секреции желчи.

муляция транспорта натрия и калия наблюдалась при 5—10 мг желчных кислот в 100 мл среды инкубации. При 15—20 мг перенос натрия угнетался, а калия — стимулировался, более высокие концентрации желчных кислот не оказывали влияния на транспорт ионов и содержание воды в клетках печени.

Таблица 3
Активность АТФаз плазматических мембран гепатоцитов
(мкмоль P_n /мг белка в 1 мин) при воздействии холевой кислоты
(10 мг/100 мл)

Показатель	Контроль	Холевая кислота
Общая АТФаза		
синусоидальных мембран	25,50±2,1	31,76±6,9
каналикулярных мембран	49,39±5,7	88,44±17,6
Na^+ , K^+ АТФаза		
синусоидальных мембран	6,76±0,8	8,84±2,4
каналикулярных мембран	8,63±1,4	15,03±2,5

Таким образом, инкубация срезов ткани печени позволила сделать вывод об изменении интенсивности переноса ионов натрия через мембраны гепатоцитов под влиянием желчных кислот.

Непосредственное определение активности фермента, транспортирующего ионы натрия через мембраны — Na^+ , K^+ АТФазы —, показало наличие ее как в синусоидальных, так и каналикулярных мембранах гепатоцитов [3, 15] и зависимость от содержания желчных кислот в среде.

Наличие холевой кислоты в дозе 10 мг/100 мл в среде инкубации плазматических мембран повышало активность общей АТФазы и в разной степени стимулировало общую АТФазу синусоидальных и каналикулярных мембран. Активность общей АТФазы синусоидальных мембран увеличивалась на 24, каналикулярных — на 78 %. Причем увеличение активности АТФаз происходило за счет увеличения активности Na^+ , K^+ АТФазы. Об этом свидетельствует соответствующее увеличение активности Na^+ , K^+ АТФазы синусоидальных мембран на 30 %, а каналикулярных — на 74 % (табл. 3).

Таким образом, желчегонное действие желчных кислот является результатом повышения активности транспортной Na^+ , K^+ АТФазы гепатоцитов и, как следствие, увеличения интенсивности переноса ионов натрия через каналикулярные мембраны и фильтрации воды в желчные каналикулы, т. е. скорости желчеотделения.

Полученные результаты имеют принципиальное значение для объяснения механизма желчеотделительной функции в целом. Они дают основание считать необоснованным деление желчной секреции на зависимую и независимую от желчных кислот. С нашей точки зрения существует единый механизм образования желчи, движущим фактором которого является транспорт натрия из крови в желчные каналикулы.

Желчные кислоты, таким образом, следует рассматривать как мощный корректирующий фактор желчеотделения, который наряду с другими факторами внутренней среды организма влияет на скорость секреции желчи.

B. E. Esipenko, L. I. Zhalilo, A. P. Kostromina, O. D. Sinelnik

MECHANISM OF THE CHOLERETIC EFFECT
OF THE CHOLIC ACIDS

Summary

In chronic and acute experiments on the intact body, isolated perfused liver, incubated sections of liver tissue and subfractions of plasmatic hepatocyte membranes it is established that the biliar acids increase the Na^+ , K^+ , ATPase activity in hepatocyte membranes. It leads to the increase of Na transport intensity through the canalicular membranes and water transport through the biliar canaliculi by the osmotic gradient, i. e. an increase of bile secretion rate.

Institute of Physiology of the
T. G. Shevchenko State University, Kiev

Список литературы

1. Есипенко Б. Е. О регуляции водной части секретов пищеварительных желез.— В кн.: Физиология и патология пищеварения: Тез. докл. Всесоюз. конф. Одесса, 1967, с. 52.
2. Есипенко Б. Е., Нацик В. И., Синельник О. Д., Чайковская Л. А. Методика бескровной перфузии изолированной печени крыс.— Физиол. журн., 1981, 27, № 6, с. 841—843.
3. Жалило Л. И. Влияние ионов натрия на активность аденозинтрифосфатаз клеток печени.— В кн.: Физиология и патология гепатобилиарной системы: Тез. докл. Всесоюз. симпозиум. Томск, 1980, с. 3—4.
4. Мирошниченко В. П., Громашёвская Л. Л., Касаткина М. Г., Козачек Г. Д. Определение содержания желчных кислот и холестерина в желчи.— Лаб. дело, 1978, № 3, с. 149—153.
5. Berthelot P., Erlinger S., Dhumeau D. et al. Effect of inhibitors of sodium transport on bile formation in the rabbit.— Amer. J. Physiol., 1970, 219, N 2, p. 416—422.
6. Boyer J. L. Canalicular bile formation in the isolated perfused rat liver.— Amer. J. Physiol., 1971, 221, N 4, p. 1156—1163.
7. Boyer J. L. New concepts of mechanisms of hepatocyte bile formation.— Physiol. Rev., 1980, 60, N 2, p. 303—326.
8. Erlinger S. Les mechanism de la secretion biliaire.— Rev. Int. Hepatol., 1968, 18, N 1, p. 1—39.
9. Erlinger S., Dhumeau D. Mechanisms and control of secretion of bile water and electrolytes.— Gastroenterology, 1974, 66, N 2, p. 281—304.
10. Light H. G., Witmer C., Vars H. M. Interruption of the enterohepatic circulation and its effects on rat bile.— Amer. J. Physiol., 1959, 197, N 5, p. 1330—1332.
11. Preisig R. H., Cooper H. L., Wheeler H. O. The relationship between taurocholate secretion rate and bile production in the unanesthetized dog during cholinergic blockade and during secretion administration.— J. Clin. Invest., 1962, 41, N 4, p. 1152—1162.
12. Schersten T., Nilson S., Cahlin E. et al. Relation ship between the biliary excretion of bile acids and the excretion of water, lecithin and cholesterol in man.— Europ. J. Clin. Invest., 1971, 1, N 4, p. 242—247.
13. Soloway R. D., Hofman A. Z., Thomas P. J. et al. Triketocholanoic (dehydrocholic) acid. Hepatic metabolism and effect on bile flow and biliary lipid secretion in man.— J. Clin. Invest., 1973, 52, N 3, p. 715—724.
14. Sperber I. Secretion of organic anions in the formation of urin and bile.— Pharmacol. Rev., 1959, 11, N 1, p. 109—134.
15. Todo G., Oka H., Oda F., Ikeda J. Subfraction of rat liver plasma membrane. Uneven distribution of plasma membrane boyad enzymes on the liver cell surface.— Biochim. biophys. acta., 1975, 413, N 1, p. 52—64.

Институт физиологии
Киевского университета

Поступила 29.03.83

РЕНТГЕНОЛОГИЯ
ЖЕЛЧНОГО ПУЗЫРЯ

В последние годы в надпеченочной кишке с дренирующими опера [2, 10, 12]. Большинство шательства отвечают па то же время имеют ряд классическими резекция: ся к широкому примене: нежелательных последс: них органов, в том числ: единого мнения о влия: состояние печени и жел: стволовая ваготомия пр: выделительной функци: цесса желчевыделения. перерезки блуждающих: нием фистул. Рентгено: тельной системы после в: [4, 13]. Между тем, рент: венная холеграфия, явля: морфологии и функции: ке, обеспечивает возмо: влияния ваготомии на ж: наполнения желчного пу:

Рентгенологической: леграфии посвящены м: зарубежных авторов [5-: пузырь у собак заполня: закономерностям, что и: после внутривенного вве: изображение внепеченоч: зыря в виде контрастно: ки и через 30—60 мин п: ся на дно пузыря, обр: пузыря — контрастная ж: чи. К 90—120—180 мин: могонизация тени пузыря:

В отечественной ли: закономерно появляющи: ки и трехслойность отра: желчного пузыря. Иной: стости отсутствует либо: ся как признак наруше: патологии.

Мы изучали влияни: деление и характер на: холеграфии в эксперимен: