

on and atropine treatment decreased cytochrome P₄₅₀ content and aniline hydroxylase activity. Prozerine and acetylcholine induced an opposite effect.

It is considered that these different changes in the microsomal enzyme activities with variations in the vegetative nervous system state have proved the nervous control of these processes.

Central Research Laboratory of Medical Institute,
Ministry of Public Health of the Uzbek SSR, Tashkent

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Арчаков А. И., Карузина И. Н., Тверитинов В. Н., Кокарева И. С. Гидроксильрование производных анилина и аминокантипирина (1-фенил-2,3-диметиламинопиразолон-5) в эндоплазматическом ретикулуле печени // Биохимия. — 1975. — 40, № 1. — С. 32—39.
2. Васильев В. Ю., Гуляев Н. Н., Северин Е. С. Циклический аденозин-монофосфат — биологическая роль и механизм действия // Журн. Всесоюз. хим. о-ва им. Менделеева. — 1975. — 20, № 3. — С. 306—322.
3. Говырин В. А. Трофическая функция симпатических нервов сердца и скелетных мышц. — Л.: Наука, 1967. — 100 с.
4. Голиков С. Н., Долго-Сабуров В. Б., Елаев Н. Р., Кулешов В. И. Холинергическая регуляция биохимических систем клетки. — М.: Медицина, 1985. — 224 с.
5. Зайко Н. Н. Развитие учения о нервной трофике // Патол. физиология. — 1978. — № 2. — С. 3—11.
6. Ильин В. С. Эволюционный аспект изучения биохимических основ нервной трофики // Журн. эволюц. биохимии. — 1970. — VI, № 2. — С. 148—161.
7. Ильин В. С., Емельянец А. М., Комаров Г. П. и др. Биохимические основы нервной трофики и ее нарушения в скелетной мышце // Там же. — 1972. — VIII, № 3. — С. 240—251.
8. Парфенова Н. С. Влияние двусторонней поддиафрагмальной ваготомии на активность некоторых ферментов энергетического обмена в печени // Бюл. эксперим. биологии. — 1976. — № 7. — С. 814—815.
9. Koop D. R. Hydroxylation of p-nitrophenol by rabbit ethanolinducible cytochrome P₄₅₀ isozyme 3a // Mol. Pharmacol. — 1986. — 29. — P. 399—404.
10. Lowry O. H., Rosenbrough N. I., Farr A. L., Rondall R. I. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — 193, N 1. — P. 265—275.
11. Masel P. Experiments illustrating drug metabolism in vitro // Fundamentals of drug metabolism and drug disposition. — Baltimore: Williams and Wilkins, 1971. — P. 546—590.
12. Omura T., Sato R. The carbon-monoxide binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature // J. Biol. Chem. — 1964. — 219, N 7. — P. 2370—2378.

Центр. науч. лаборатория Ташкент. мед. ин-та
М-ва здравоохранения УзССР

Материал поступил
в редакцию 20.02.90

УДК 612.35+577.175.53

А. И. Масюк, Е. Н. Долгова

Возможный механизм регуляции желчеотделительной функции печени гидрокортизоном

Наряду с основными метаболическими эффектами глюкокортикоидов в печени — активацией различных ферментных систем, усилением глюконеогенеза, синтеза РНК и белков, наблюдается выраженное влияние гормонов на желчеотделительную функцию [4, 5, 11]. В клетках печени, в отличие от других органов и тканей, глюкокортикоиды, как правило, оказывают стимулирующее влияние на многие процессы [3, 7]. Не является исключением и секреция желчи. По данным ряда авторов [4, 5, 11], введение глюкокортикоидов вызывает у животных усиление желчеотделения, сопровождающееся изменением качественного состава желчи. Механизмы регуляции желчеотделительной функции печени глюкокортикоидами не известны.

© А. И. МАСЮК, Е. Н. ДОЛГОВА, 1990.

В соответствии с современными представлениями о молекулярных механизмах действия глюкокортикоидов реализация их эффектов в большинстве случаев опосредуется усилением транскрипции и трансляции [3, 7]. Иными словами, механизмы гормональной регуляции функционального состояния клеток печени очень часто сводятся к гормональной индукции генетически детерминированного биосинтеза белка. Исходя из этого, можно предположить, что регуляция глюкокортикоидами желчеотделительной функции печени, так же как и регуляция других ее функций, опосредуется усилением транскрипции и трансляции.

Цель нашей работы заключается в экспериментальной проверке этого предположения. Исследовали влияние гидрокортизона на желчеотделительную функцию печени крыс в норме и при введении специфических ингибиторов транскрипции (синтеза РНК) — актиномицина Д, и трансляции (синтеза белка) — циклогексимида и пуромицина.

Методика

Исследования выполнены на крысах-самцах линии Вистар массой 180—220 г. О характере желчеотделения судили по объемной скорости желчотока (мкл желчи·г⁻¹ печени·мин⁻¹), определяемой сбором 15-минутных порций желчи после канюлирования общего желчного протока. Исследования проводили в остром опыте под тиопенталовым наркозом (50 мг/кг).

В первой серии опытов гидрокортизон-ацетат (фирма «Gedeon Richter», Венгрия; 12,5, 25 и 50 мг/кг) вводили подкожно. Во второй серии опытов актиномицин Д, циклогексимид и пуромицин (5, 20 и 20 мкг/100 г соответственно) вводили в воротную вену крыс методом инфузии. Скорость инфузии 0,05 мл/мин, время — 30 мин. Сразу после окончания инфузии ингибиторов транскрипции и трансляции животным вводили гидрокортизон (50 мг/кг). Во всех случаях исследования начинали после определения исходного значения скорости желчотока. Продолжительность опыта, начиная с момента канюлирования общего желчного протока, составляла 4,5 ч. Первую 15-минутную порцию желчи отбрасывали. Исходное значение скорости желчотока рассчитывали на основании результатов сбора желчи в течение последующих 45 мин.

Результаты и их обсуждение

Как и в предыдущих наших исследованиях [2, 6], об изменении желчеотделения судили по разнице между объемной скоростью желчотока, характеризующей исходную секрецию желчи, и ее значением в определенный момент наблюдений после соответствующего воздействия. Регистрация скорости желчотока у животных контрольной группы показала, что в течение 4—5 ч опыта интенсивность секреции желчи практически не изменяется [2]. Так как исходное значение скорости желчотока у разных групп животных может варьировать в достаточно широких пределах, при проведении каждой серии опытов мы подбирали животных с относительно близкой исходной секрецией желчи. Всего было подобрано 6 групп животных с исходным значением скорости желчотока, составляющим $0,98 \pm 0,08$ ($n=3$), $1,14 \pm 0,08$ ($n=8$), $1,16 \pm 0,10$ ($n=5$), $1,23 \pm 0,07$ ($n=5$), $1,26 \pm 0,09$ ($n=11$), $1,30 \pm 0,08$ ($n=7$) мкл·г⁻¹·мин⁻¹.

Результаты исследований (рис. 1) показали, что подкожное введение гидрокортизона (50 мг/кг) оказывает стимулирующее влияние на желчеотделительную функцию печени. Усиление секреции желчи отмечено уже в первые 15 мин после введения гормона. Скорость желчотока при этом увеличивалась от $1,23 \pm 0,07$ до $1,49$ мкл·г⁻¹·мин⁻¹ $\pm 0,09$ мкл $\times$ г⁻¹·мин⁻¹, или на 21 % ($P < 0,05$). Через 30 мин после введения гидрокортизона объемная скорость желчотока увеличивалась до $1,54$ мкл $\times$ г⁻¹·мин⁻¹ $\pm 0,08$ мкл·г⁻¹·мин⁻¹, или на 25 % ($P < 0,02$). В течение последующих 30 мин скорость желчотока сохранялась примерно такой же — $(1,50 \pm 0,10)$ мкл·г⁻¹·мин⁻¹ ($P < 0,05$), а затем начинала постепенно снижаться. К исходному значению она возвращалась через 2 ч после введения гормона.

Таким образом, однократное введение гидрокортизона вызывает у крыс быстрое обратимое усиление желчеотделительной функции печени. Продолжительность наблюдаемого эффекта составляет 2 ч. В меньших дозах (см. рис. 1) гидрокортизон либо не влияет на желчеотделительную функцию печени (12,5 мг/кг), либо оказывает незначительное стимулирующее влияние на скорость желчеотока (25 мг/кг). Полученные нами результаты, свидетельствующие о стимулирующем влиянии гидрокортизона на секрецию желчи, согласуются с дан-

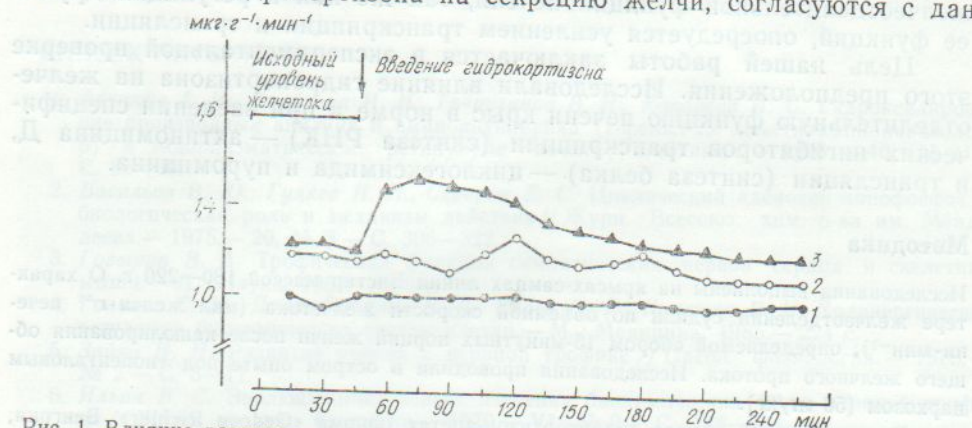


Рис. 1. Влияние различных доз гидрокортизона на динамику объемной скорости желчеотока (мкл·г⁻¹·мин⁻¹) у крыс: 1 — 12,5 мг/кг; 2 — 25 мг/кг; 3 — 50 мг/кг.

ными исследований других авторов, изучавших влияние этого гормона на различные метаболические процессы в клетках печени. Установлено, что метаболические эффекты гидрокортизона, в том числе усиление транскрипции и трансляции, также проявляются в печени крыс уже в первые 10—30 мин после введения гормона [8, 9].

Принято считать, что гормональная регуляция какой-либо физиологической функции клетки опосредуется усилением транскрипции или трансляции, если ингибиторы ДНК-зависимого синтеза РНК или синтеза белка препятствуют развитию изменений, возникающих в клетке в ответ на действие гормона. Если же ингибиторы транскрипции и трансляции не влияют на развитие соответствующих изменений, то делается заключение, что гормональная регуляция изучаемой функции осуществляется посредством механизмов, не связанных с индукцией биосинтеза белка [7].

Применительно к задаче нашего исследования эти представления дают основание ожидать, что, если регуляция желчеотделительной функции печени глюкокортикоидами осуществляется через механизмы гормональной индукции, то при их нарушении ингибиторами транскрипции и трансляции мы не будем наблюдать тех изменений объемной скорости желчеотока, которые обычно вызываются введением гидрокортизона. И, напротив, проявление этих изменений при введении гидрокортизона в присутствии ингибиторов транскрипции и трансляции будет свидетельствовать о том, что регуляция желчеотделения в данном случае осуществляется без участия механизмов гормональной индукции биосинтеза белка в гепатоцитах.

Ранее нами показано [2], что инфузия актиномицина Д, пуромицина и циклогексимида приводит к характерным изменениям желчеотделения у крыс. При введении каждого из них скорость желчеотока снижалась, причем это снижение наблюдалось уже в период инфузии, т. е. в течение первых 30 мин опыта. В данном исследовании инфузия ингибиторов транскрипции и трансляции в большинстве случаев также приводила к достоверному угнетению желчеотделительной функции печени. Количество отделяемой желчи во время инфузии актиномицина Д, циклогексимида и пуромицина уменьшалось на 20 % ($P < 0,05$), 9 % ($P > 0,1$) и 35 % ($P < 0,01$) соответственно (рис. 2).

Результаты, свидетельствующие о влиянии гидрокортизона на желчеотделительную функцию печени крыс при нарушении механизмов гормональной индукции биосинтеза белка, представлены на рис. 2. Они указывают на то, что предварительное введение ингибиторов транскрипции и трансляции существенно изменяет характер функционального ответа клеток печени на введение гидрокортизона.

Сравнение кривых, представленных на рис. 1 и рис. 2, показывает, что нарушение транскрипции или трансляции в клетках печени специ-

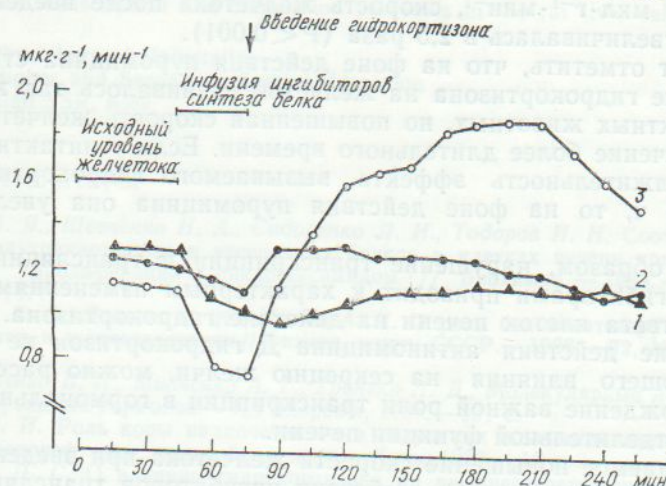


Рис. 2. Динамика объемной скорости желчеотока ($\text{мкл} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$) у крыс после введения гидрокортизона (50 мг/кг) на фоне действия специфических ингибиторов синтеза белка:

1 — актиномицин Д, 2 — циклогексимид, 3 — пуромицин.

фическими ингибиторами приводит к характерным для каждого случая изменениям скорости желчеотока в ответ на действие гидрокортизона. Так, если у интактных животных введение гидрокортизона приводило к повышению скорости желчеотока уже в первые 15 мин, то при нарушении транскрипции актиномицином Д введение гидрокортизона не вызывало повышения скорости желчеотока. Следует отметить еще одну характерную особенность влияния гидрокортизона на желчеотделительную функцию печени на фоне действия актиномицина Д. Как показано нами ранее [2], уже во время инфузии актиномицина Д, пуромицина и циклогексимида происходит снижение скорости желчеотока, которое сохраняется в течение последующих 3—4 ч опыта. Введение гидрокортизона сразу после окончания инфузии актиномицина Д приводило к тому, что снижение скорости желчеотока прекращалось, и ток желчи стабилизировался (см. рис. 2).

Введение гидрокортизона на фоне действия циклогексимида также стабилизировало скорость желчеотока, предотвращая ее дальнейшее понижение, которое наблюдалось обычно при инфузии этого ингибитора синтеза белка [2]. Характерной особенностью влияния гидрокортизона на желчеотделительную функцию печени при нарушении трансляции циклогексимидом является повышение скорости желчеотока, которое сравнимо с изменениями, вызываемыми гидрокортизоном у интактных животных. Так, через 45 мин после введения гидрокортизона на фоне действия циклогексимида объемная скорость желчеотока повышалась от $(1,12 \pm 0,07)$ до $(1,34 \pm 0,07) \text{ мкл} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$, или на 20 % ($P < 0,05$).

Особый интерес в этой серии опытов представляют результаты, полученные при исследовании влияния гидрокортизона на желчеотделительную функцию печени крыс, которым предварительно вводили пуромицин (см. рис. 2). Инфузия пуромицина, как показано нами ранее [2], вызывает быстрое и значительное снижение скорости желчеотока. Введение гидрокортизона сразу после окончания инфузии пуромицина

приводило в течение первых 15 мин к восстановлению скорости желчеотока до исходного значения. Далее скорость желчеотока продолжала увеличиваться и через 90 мин после введения гидрокортизона достигала максимума — $(1,87 \pm 0,20)$ мкл·г⁻¹·мин⁻¹, превышая исходное значение $(1,14 \text{ мкл} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1} \pm 0,08 \text{ мкл} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1})$ на 64 % ($P < 0,01$). Большая скорость желчеотока сохранялась в течение последующих 60 мин, а затем начинала постепенно снижаться. По сравнению со скоростью желчеотока, наблюдавшейся после инфузии пурамицина — $(0,74 \pm 0,04)$ мкл·г⁻¹·мин⁻¹, скорость желчеотока после введения гидрокортизона увеличивалась в 2,5 раза ($P < 0,001$).

Следует отметить, что на фоне действия пурамицина стимулирующее влияние гидрокортизона на желчеоток развивалось так же быстро, как у интактных животных, но повышенная скорость желчеотока сохранялась в течение более длительного времени. Если у интактных животных продолжительность эффекта, вызываемого гидрокортизоном, составляла 2 ч, то на фоне действия пурамицина она увеличивалась до 3 ч.

Таким образом, нарушение транскрипции и трансляции специфическими ингибиторами приводит к характерным изменениям функционального ответа клеток печени на действие гидрокортизона. Тот факт, что на фоне действия актиномицина Д гидрокортизон не оказывает стимулирующего влияния на секрецию желчи, можно рассматривать как подтверждение важной роли транскрипции в гормональной регуляции желчеотделительной функции печени.

Наблюдаемое повышение скорости желчеотока при введении животным гидрокортизона на фоне действия ингибиторов трансляции — циклогексимида и пурамицина требует специального объяснения. Если исходить из того, что желчеотделительная функция печени в своей основе является цепью последовательных и взаимосвязанных метаболических процессов, то логично допустить, что при попадании пурамицина или циклогексимида в клетки печени может нарушаться синтез ферментных и регуляторных белков, а следовательно, и вся цепь метаболических превращений, имеющих отношение к желчеотделению [2, 6]. В результате секреция желчи снижается. Однако известно, что транскрипция в клетках печени крыс при блокаде трансляции специфическими ингибиторами, в частности, циклогексимидом, не только не угнетается, а напротив, усиливается [1, 10]. Это приводит к накоплению в гепатоцитах мРНК для ферментных и других белков, в том числе, по-видимому, и для белков, обеспечивающих клеточные и молекулярные механизмы секреции желчи. Так как нарушение трансляции циклогексимидом и пурамицином является обратимым, введение гидрокортизона может при определенных условиях стимулировать трансляцию накопившейся мРНК, что в итоге приведет к усилению секреции желчи.

Молекулярные механизмы блокады биосинтеза белка пурамицином и циклогексимидом различны и в упрощенном виде могут быть сведены к освобождению незавершенных полипептидов с рибосом в первом случае и к их прочному связыванию с рибосомами — во втором. Иными словами, возможность трансляции мРНК в клетках печени при введении гидрокортизона на фоне действия пурамицина и циклогексимида различна. Это проявляется и в физиологическом ответе гепатоцитов на действие гидрокортизона, в данном случае, — в интенсивности секреции желчи.

Таким образом, результаты проведенных исследований показывают, что регуляция гидрокортизоном желчеотделительной функции печени, так же как и регуляция других ее функций, осуществляется с участием механизмов гормональной индукции генетически детерминированного биосинтеза белка.

A. I. Masyuk, E. N. Dolgova

A POSSIBLE MECHANISM OF THE BILE SECRETION REGULATION BY HYDROCORTISONE

Hydrocortisone has been studied for its effect on the bile secretion in rat under normal conditions and malfunction of hormonal induction mechanisms due to specific inhibitors of protein synthesis by actinomycin D, cycloheximide and pyromycin. The character of changes in bile flow rate, observed as a response to hydrocortisone injection, depends on the intensity of transcription and translation processes in the rat liver cells.

Institute of Physiology of University,
Ministry of Higher and Secondary Special Education
of the Ukrainian SSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бойков П. Я., Шевченко Н. А., Сидоренко Л. И., Тодоров И. Н. Соотношение биосинтеза внутриклеточных и экспортных белков в клетках печени крыс в процессе индукции пролиферации циклогексимидом // Биохимия. — 1984. — 49, № 9. — С. 1470—1477.
2. Есипенко Б. Е., Долгова Е. Н., Масюк А. И. О роли белоксинтезирующей системы гепатоцитов в желчеотделении // Физиол. журн. СССР. — 1986. — 72, № 4. — С. 528—532.
3. Комиссаренко В. П., Минченко А. Г., Тронько Н. Д., Молекулярные механизмы действия стероидных гормонов. — К.: Здоров'я, 1986. — 191 с.
4. Лесюк И. И. Роль коры надпочечников в регуляции желчеотделительной функции печени: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Киев, 1970. — 16 с.
5. Лященко П. С. О влиянии гидрокортизона на внешнесекреторную функцию печени // Пробл. физиол. гипоталамуса. — 1972. — 6. — С. 89—93.
6. Масюк А. И., Островская Г. В., Долгова Е. Н. Активность Na, K-АТФазы плазматических мембран гепатоцитов при нарушении желчеотделительной функции печени ингибиторами синтеза белка // Физиол. журн. — 1989. — 35, № 1. — С. 40—44.
7. Мертвецов Н. А. Гормональная регуляция экспрессии генов. — М.: Наука, 1986. — 207 с.
8. Минченко А. Г. Биосинтез митохондриальных белков у адrenaлэктомированных крыс: влияние гидрокортизона // Пробл. эндокринологии. — 1987. — 33, № 6. — С. 51—55.
9. Минченко А. Г. Зависимое от времени стимулирующее действие гидрокортизона на биосинтез митохондриальных РНК в печени крыс // Там же. — 1989. — 37, № 5. — С. 72—77.
10. Тодоров И. Н., Галкин А. П. Об особенностях биосинтеза РНК в клетках печени крыс в условиях продолжительного подавления биосинтеза белка циклогексимидом // Мол. биология. — 1975. — 2. — С. 81—104.
11. Miner P. B., Sutherland E., Simon F. R. Regulation of hepatic sodium plus potassium-activated adenosine triphosphatase activity by glucocorticoids in the rat // Gastroenterology. — 1980. — 79, N 2. — P. 212—221.

Науч.-исслед. ин-т физиологии Киев. ун-та
М-ва высш. и сред. спец. образования УССР

Материал поступил
в редакцию 25.06.88

УДК 577.161.2

А. В. Паранич, Л. А. Чайкина

Влияние алиментарных факторов на образование первичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов

Как известно, увеличение интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) происходит при обогащении рациона ненасыщенными жирными кислотами (НЖК), дефиците витамина Е, а также при избытке антиоксидантов, в частности, витаминов: С, Е, А. Так, например, опти-

© А. В. ПАРАНИЧ, Л. А. ЧАЙКИНА, 1990.