

УДК 612.35+591.132.5:612.822.2

Т.В.Масюк, С.П.Весельський, А.І.Масюк

Секреторна функція печінки при дії енкефалінів

В острых опытах на наркотизированных самцах белых крыс исследована желчеотделительная функция при действии лей- и мет-енкефалинов. Установлено, что энкефалины преимущественно угнетают секрецию желчи как во время их внутрипортальной инфузии, так и в течении 4 ч после окончания инфузии. Изменение интенсивности желчеотделения в ряде случаев совпадает с изменениями интенсивности секреции желчных кислот. Обсуждаются возможные механизмы регуляции секреторной функции печени энкефалинами.

Вступ

Значна кількість регуляторних пептидів центральної нервової та гастродуоденальної ендокринної систем беруть участь у регуляції жовчоутворювальної функції [10]. Є підстави вважати, що до даних пептидів відносяться і енкефаліни. Після відкриття енкефалінів тривалий час існувала думка, що основним місцем їх дії є центральна нервова система. Однак, згодом було встановлено, що енкефаліни здатні регулювати діяльність багатьох вісцеральних органів і систем: серцево-судинної, травної, видільної тощо [3, 6, 7, 12, 16—19]. Склалося враження [13], що енкефаліни відіграють в організмі людини і тварин майже універсальну роль, регулюючи багато фізіологічних функцій. Можна передбачити, що печінка також є тим вісцеральним органом, регуляція функціональної активності якого здійснюється за участю енкефалінів. Проте, нині експериментальні докази впливу енкефалінів на печінку є поодинокими. Встановлено, що енкефаліни та їх синтетичні аналоги виявляють гепатопротекторні властивості і впливають на метаболічні процеси у гепатоцитах [4, 5, 8, 9, 13]. Отримано дані [16], які свідчать, що концентрація енкефалінів найбільша у воротній вені печінки, порівняно з іншими судинами кровоносної системи. На плазматичних мембранах гепатоцитів виявлено специфічні рецептори, з якими можуть взаємодіяти енкефаліни [2].

Оскільки проблема регуляції енкефалінами функціонального стану гепато-біліарної системи тільки набуває експериментального розвитку, метою нашої роботи було дослідження секреторної функції печінки при дії цих регуляторних пептидів.

Методика

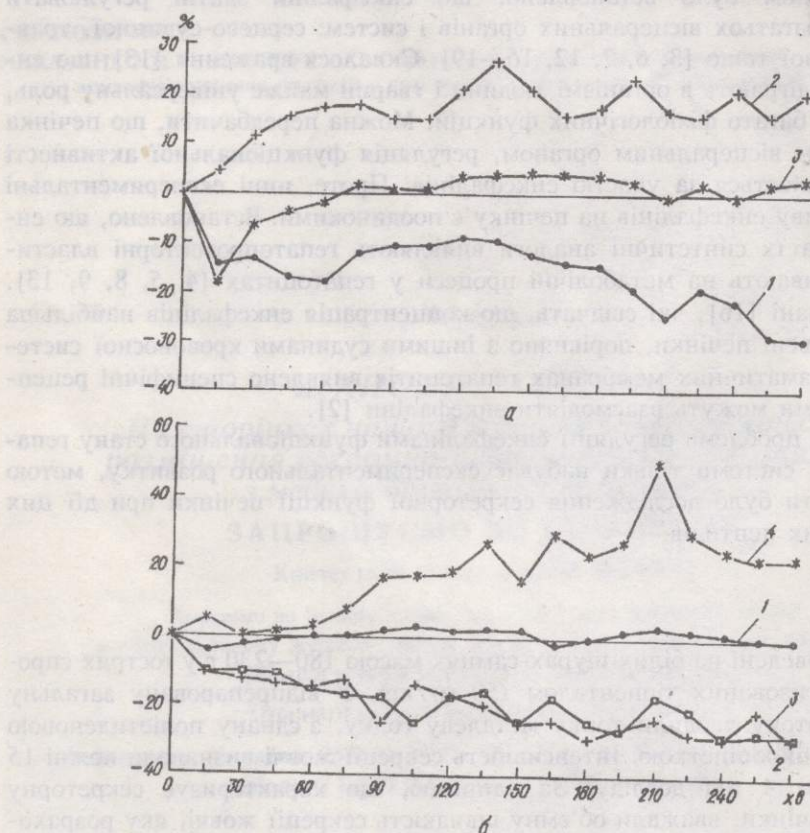
Досліди проведені на білих щурах-самцях масою 180—230 г у гострих спробах, наркотизованих тіопенталом (50 мг/кг). У відпрепаровану загальну жовчну протоку вводили тонку металеву голку, з'єднану поліетиленовою трубкою з мікропіпеткою. Інтенсивність секреції жовчі визначали кожні 15 хв протягом 4 год досліду. За одиницю, що характеризує секреторну функцію печінки, вважали об'ємну швидкість секреції жовчі, яку розраховували за кількістю жовчі, що секретувалася протягом 1 хв по відношенню до 1 г печінки. Величини, що характеризують інтенсивність секреції жовчі

при дії енкефалінів, ми співставляли із вихідним рівнем секреції жовчі (контроль). Вихідний рівень секреції жовчі визначали протягом 60 хв після канюлювання загальної жовчної протоки.

Лей- та мет-енкефаліни (Інститут органічного синтезу АН Латвії) інфузували внутрішньопортально у дозах 0,1, 1,0 і 10,0 мкг/100 г. Швидкість інфузії була 50 мкл/хв, час інфузії — 30 хв. Секрецію жовчних кислот та їх якісний склад визначали за розробленою нами методикою [2].

Результати та їх обговорення

Лей-енкефалін у дозі 0,1 мкг/100 г пригнічував секрецію жовчі (мал. 1) уже в перші 15 хв від початку інфузії. Інтенсивність секреції жовчі знижувалася при цьому з $1,57 \pm 0,07$ до $(1,34 \pm 0,09)$ мкл/г печінки/хв, або на 14,6 % ($P < 0,05$). Максимальне зниження секреції жовчі відбувалося через 60 хв після початку інфузії лей-енкефаліну — до $(1,29 \pm 0,10)$ мкл/г печінки/хв, або на 17,8 % ($P < 0,05$). Через 120 хв від початку інфузії пептиду об'ємна швидкість секреції жовчі становила $(1,43 \pm 0,12)$ мкл/г печінки/хв, а потім знову зменшувалися до $(1,11 \pm 0,08)$ мкл/г печінки/хв, або на 29,3 % порівняно з контролем ($P < 0,001$). Лей-енкефалін у більшій дозі (1,0 мкг/100 г) підсилював секрецію жовчі (див. мал. 1). Максимального значення вона досягала через 135 хв після початку інфузії пептиду, збільшуючись до $(1,75 \pm 0,12)$ мкл/г печінки/хв, або на 26,8 % ($P < 0,05$) відносно контролю ($1,38$ мкл/г печінки/хв $\pm 0,09$ мкл/г печінки/хв). Лей-



Мал. 1. Зміни інтенсивності секреції жовчі (% відносно вихідного рівня) при дії лей- (а) та мет-енкефалінів (б) у різних дозах: 1 — 0,1 мкг/100 г; 2 — 1,0 мкг/100 г; 3, 4 — 10,0 мкг/100 г (різнонаправлені зміни інтенсивності секреції жовчі при дії мет-енкефаліну).

енкефалін у дозі 10,0 мкг/100 г пригнічував секрецію жовчі лише під час інфузії — з $1,52 \pm 0,09$ до $(1,25 \pm 0,10)$ мкл/г печінки/хв, або на 17,8 % ($P < 0,05$).

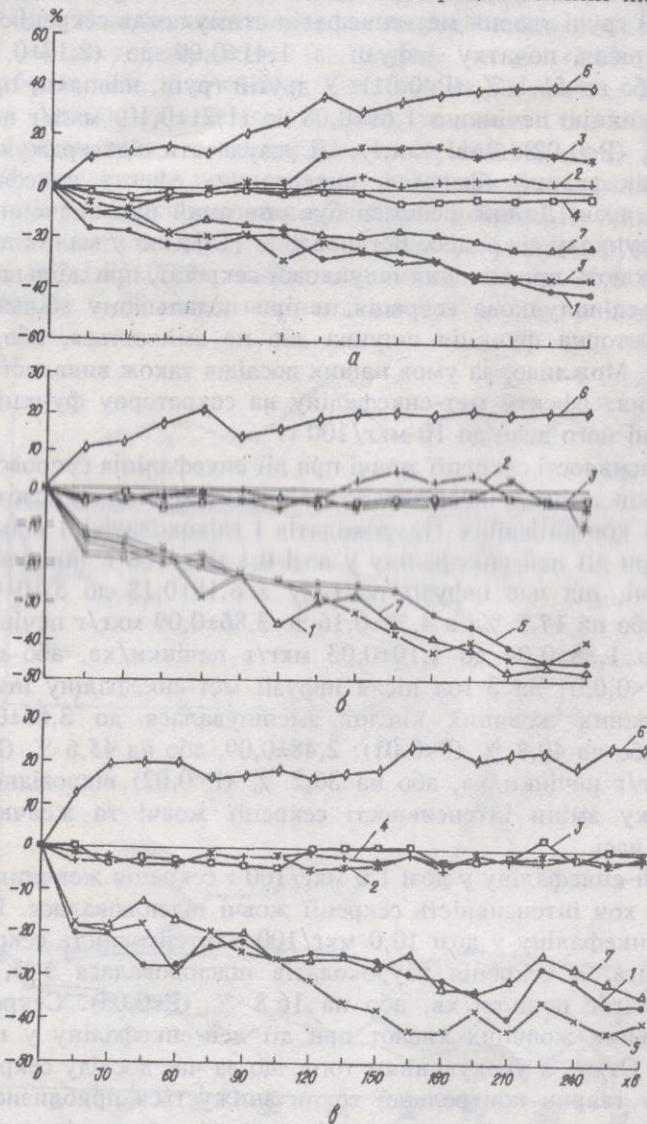
Мет-енкефалін у дозі 0,1 мкг/100 г не впливав на секрецію жовчі (див. мал. 1), а у дозі 1,0 мкг/100 г зменшував інтенсивність секреції жовчі протягом усього досліджу. Секреція жовчі знижувалася під час інфузії мет-енкефаліну з $1,66 \pm 0,09$ до $(1,46 \pm 0,10)$ мкл/г печінки/хв, або на 12,1 % ($P < 0,05$). Через 90 хв від початку інфузії пептиду інтенсивність секреції жовчі зменшувалася до $(1,25 \pm 0,11)$ мкл/г печінки/хв, або на 24,7 % ($P < 0,05$). Далі секреція жовчі дещо підсилювалася (до $1,44$ мкл/г печінки/хв $\pm 0,08$ мкл/г печінки/хв), а потім знову зменшувалася до $(1,18 \pm 0,08)$ мкл/г печінки/хв, або на 28,9 % ($P < 0,02$). Мет-енкефалін у дозі 10,0 мкг/100 г викликав як підсилення, так і пригнічення секреції жовчі. У одній групі тварин мет-енкефалін стимулював секрецію жовчі через 210 хв після початку інфузії з $1,41 \pm 0,09$ до $(2,13 \pm 0,11)$ мкл/г печінки/хв, або на 51,1 % ($P < 0,01$). У другій групі, навпаки, пригнічував секреторну функцію печінки з $1,69 \pm 0,08$ до $(1,21 \pm 0,10)$ мкл/г печінки/хв, або на 28,4 % ($P < 0,02$) (див. мал.1). Ці результати підтверджують, на нашу думку, так званий «феномен вислизання» ефекту енкефалінів при збільшенні їх дози. Даний феномен був описаний при вивченні дії енкефалінів на шлункову секрецію. Встановлено [14], що у малих дозах енкефаліни викликають пригнічення шлункової секреції, при збільшенні їх дози підсилюється шлункова секреція, а при подальшому збільшенні дози пептидів секреторна функція шлунка або не змінюється, або, навпаки, пригнічується. Можливо, за умов наших дослідів також виявляється «феномен вислизання» ефекту мет-енкефаліну на секреторну функцію печінки при збільшенні його дози до 10 мкг/100 г.

Зміна інтенсивності секреції жовчі при дії енкефалінів супроводжувалась у ряді випадків зміною інтенсивності секреції жовчних кислот (мал. 2). Так, секреція кон'югованих (таурохолатів і глікохолатів) і вільних жовчних кислот при дії лей-енкефаліну у дозі 0,1 мкг/100 г знижувалась, як і секреція жовчі, під час інфузії пептиду з $6,18 \pm 0,18$ до $5,10 \pm 0,15$ мкг/г печінки/хв, або на 17,5 %; з $4,58 \pm 0,16$ до $3,86 \pm 0,09$ мкг/г печінки/хв, або на 15,7; % з $1,38 \pm 0,04$ до $1,10 \pm 0,03$ мкг/г печінки/хв, або на 20,3 % відповідно ($P < 0,05$). За 3 год після інфузії мет-енкефаліну інтенсивність секреції названих жовчних кислот зменшувалася до $3,66 \pm 0,08$ мкг/г печінки/хв, або на 40,8 % ($P < 0,01$); $2,48 \pm 0,09$, або на 45,6 % ($P < 0,01$); та $0,88 \pm 0,04$ мкг/г печінки/хв, або на 36,2 % ($P < 0,02$) відповідно. Отже, у цьому випадку зміни інтенсивності секреції жовчі та жовчних кислот співпадали у часі.

При дії лей-енкефаліну у дозі 1,0 мкг/100 г секреція жовчних кислот не змінювалася, хоч інтенсивність секреції жовчі підсилювалася. І, навпаки, при дії лей-енкефаліну у дозі 10,0 мкг/100 г інтенсивність секреції жовчі не змінювалася, а секреція таурохолатів підсилювалася з $5,72 \pm 0,12$ до $(6,68 \pm 0,50)$ мкг/г печінки/хв, або на 16,8 % ($P < 0,05$). Секреція глікохолатів і вільних жовчних кислот при дії лей-енкефаліну у цій дозі не змінювалася. Отже, з урахуванням того, що за час дослідів секреція жовчних кислот у тварин контрольної групи знижується приблизно на 20 % [12], підвищення секреції таурохолатів при дії лей-енкефаліну у даному випадку було досить значним.

Мет-енкефалін у дозі 0,1 мкг/100 г не впливав на секрецію жовчних кислот і жовчі. При дії мет-енкефаліну (див. мал. 2) у дозі 1,0 мкг/100 г

інтенсивність секреції жовчних кислот як і жовчі, зменшувалася з $6,02 \pm 0,12$ до $(3,94 \pm 0,09)$ мкг/г печінки/хв, або на 34,5 % ($P < 0,02$); глікохолатів — з $4,66 \pm 0,08$ до $(2,54 \pm 0,07)$ мкг/г печінки/хв, або на 45,5 % ($P < 0,01$); вільних жовчних кислот — з $1,22 \pm 0,05$ до $(0,70 \pm 0,04)$ мкг/г печінки/хв, або на 42,6 % ($P < 0,01$). При дії мет-енкефаліну у дозі 10,0 мкг/100 г секреція жовчних кислот збільшувалася, якщо підсилювалася секреція жовчі, і зменшувалася, якщо секреція жовчі пригнічувалася. Так, секреція таурохолатів збільшувалася на 41,6 % — з $5,10 \pm 0,11$ до $(7,22 \pm 0,18)$ мкг/г печінки/хв ($P < 0,01$), або зменшувалася на 22,8 % — з $6,14 \pm 0,14$ до $(4,74 \pm 0,09)$ мкг/г печінки/хв ($P < 0,01$); секреція глікохолатів збільшувалася на 20,8 % — з $4,14 \pm 0,11$ до $(5,00 \pm 0,12)$ мкг/г печінки/хв ($P < 0,05$), або зменшувалася на 48,0 % — з $5,00 \pm 0,10$ до $(2,60 \pm 0,11)$ мкг/г печінки/хв ($P < 0,01$); секреція вільних жовчних кислот



Мал. 2. Зміни секреції (% відносно вихідного рівня) кон'югованих (а — таурохолатів, б — глікохолатів) і вільних (в) жовчних кислот при дії лей-енкефаліну: 1 — 0,1 мкг/100 г, 2 — 1,0 мкг/100 г, 3 — 10,0 мкг/100 г і мет-енкефаліну: 4 — 0,1 мкг/100 г, 5 — 1,0 мкг/100 г, 6, 7 — 10,0 мкг/100 г (різнопонаправлені зміни секреції жовчних кислот).

збільш
($P < 0,0$
печінк

Отр
гіпохол
кових
вказув
брані п
кефалі
фалін
мкг/10
яке сп
випадк
Оскільки
захніж
клітин
оскільки
таних,
ханізм
печінки
клітин
відпові
процесі
ворення
ляторно
ципу»
інші ро
свідчан
ханізм
печінку

Таки
ної фун
них кис
кислот
внутріш
торної
наші ре
ендоген
функцій
торної с
підшлун

T.V.Masyu

THE BILE

Leu- and I
found that
of the bile

Research I
Ministry of

увалася з
($P < 0,02$);
на 45,5 %
(0,04) мкг/г
ну у дозі
підсилю-
чі пригні-
% — з
увалася на
; секреція
(12) мкг/г
0±0,10 до
их кислот

збільшувалася на 24,1 % — з $1,08 \pm 0,06$ до $(1,34 \pm 0,07)$ мкг/г печінки/хв ($P < 0,05$), або зменшувалася на 33,3 % — з $1,32 \pm 0,08$ до $(0,88 \pm 0,04)$ мкг/г печінки/хв ($P < 0,05$).

Отримані результати свідчать, що енкефаліни виявляють переважно гіпохOLERETИЧНІ властивості. Той факт, що лей- та мет-енкефаліни в однакових дозах по-різному впливають на секреторну функцію печінки може вказувати на те, що опіоїдні рецептори, які знайдено на плазматичній мембрані гепатоцитів, є більш спорідненими до лей-енкефаліну, ніж до мет-енкефаліну. Підтвердженням цього можуть бути результати, де лей-енкефалін у дозі 0,1 мкг/100 г і мет-енкефалін у дозі на порядок більший (1,0 мкг/100 г) викликають подібне збільшення інтенсивності секреції жовчі, яке співпадає за значенням і часом (див. мал. 1). Співпадають у даному випадку і зміни інтенсивності секреції жовчних кислот (див. мал. 2). Оскільки лей-енкефалін виявляє гіпохOLERETИЧНІ властивості у менших дозах ніж мет-енкефалін, можна припустити, що на плазматичній мембрані клітин печінки, крім визначених сігма-рецепторів [3] є і дельта-рецептори, оскільки відомо [14], що лей-енкефалін має більшу спорідненість до останніх, ніж мет-енкефалін. Теоретично можна передбачити кілька механізмів, за рахунок яких відбувається регуляція секреторної функції печінки енкефалінами. Перший — енкефаліни безпосередньо діють на клітини печінки через специфічні опіоїдні рецептори. Активація відповідних рецепторів викликає зміни внутрішньоклітинних метаболічних процесів, у тому числі процесів, що складають основу механізмів жовчоутворення [11]. Другим можливим механізмом може бути включення «регуляторного каскаду» пептидів [1], або спрацьовування «камертонного принципу» [7, 8]. Тобто, на секрецію жовчі впливають не самі енкефаліни, а інші регуляторні пептиди або гормони. На користь цього припущення свідчать дані [3, 6] про досить тривалі ефекти енкефалінів. Третій механізм може бути пов'язаний з опосередкованою дією енкефалінів на печінку через симпатичну нервову систему.

Таким чином, енкефаліни беруть участь у регуляції жовчоутворювальної функції, змінюючи у більшості випадків інтенсивність секреції жовчних кислот. Однак, оскільки зміни інтенсивності секреції жовчі та жовчних кислот не завжди співпадають за часом, слід гадати, що існують інші внутрішньоклітинні механізми, на рівні яких здійснюється регуляція секреторної функції печінки енкефалінами. Враховуючи літературні дані та наші результати [7, 8], можна висловити припущення, що енкефаліни є ендогенними регуляторами, що зумовлюють пригнічення секреторних функцій, оскільки при їх дії спостерігається пригнічення не тільки секреторної функції печінки, а і шлункової секреції [7] та екзокринної функції підшлункової залози [6].

T.V.Masyuk, S.P.Veselsky, A.I.Masyuk

THE BILE SECRETION REGULATION BY ENKEPHALINES

Leu- and Met-enkephalines have been studied for their effects on bile secretion in rats. It has been found that enkephalines decrease the bile flow rate and the bile acid secretion. Possible mechanisms of the bile secretion regulation by enkephalines are discussed.

Research Institute of Physiology of Taras Shevchenko University,
Ministry of Education of Ukraine, Kiev

атів, 6 —
00 г, 2 —
мкг/100 г,

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ашмарин И.П. Гипотеза о существовании новой высшей категории в иерархии регуляторных пептидов // Нейрохимия. — 1987. — 6, № 1. — С. 23—28.
2. Виноградов В.А., Самовилова Н.Н., Нагорная Л.В. Сигма-рецепторы висцеральных органов и поиск их лигандов // Проблемы нейрогуморальной регуляции деятельности висцеральных систем. — Л., 1987. — С. 23—24.
3. Громов Л.А. Нейропептиды. — К.: Здоров'я, 1992. — 248 с.
4. Золотов Г.К. Влияние энкефалинов на некоторые механизмы эндокринной регуляции содержания гликогена в печени // Проблемы эндокринологии. — 1986. — 32, № 2. — С. 58—60.
5. Золотов Г.К., Коваленко Н.Я., Мацевский Д.Д. Влияние синтетического аналога лей-энкефалина далагина на метаболизм и кровоснабжение печени в условиях острой кровопотери у крыс // Патол. физиология и эксперим. терапия. — 1988. — № 3. — С. 48—52.
6. Климов П.К. Физиологическое значение пептидов мозга для деятельности пищеварительной системы. — Л.: Наука, 1986. — 256 с.
7. Климов П.К., Баращикова Г.М. Физиология желудка: механизмы регуляции. — Л.: Наука, 1991. — 256 с.
8. Короткина Р.Н., Фомченков Е.П., Бабкина Н.В. и др. Антиоксидантное действие далагина на печень в условиях острого холестаза в эксперименте // Патол. физиология и эксперим. терапия. — 1990. — № 4. — С. 42—44.
9. Кузин М.И., Карелин А.А., Короткина Р.Н. и др. Изучение в эксперименте гепатопротекторного действия транскраниальной чрезкожной электростимуляции и синтетического аналога лей-энкефалина далагина // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1988. — 106, № 9. — С. 266—268.
10. Масюк А.И. Гормональная регуляция желчеотделения: феноменология, возможные молекулярные механизмы // Успехи соврем. биологии. — 1991. — 111, № 1. — С. 48—58.
11. Масюк А.И., Весельский С.П., Масюк Т.В. Жовчні кислоти за умов пригнічення біосинтезу білка в гепатоцитах // Мол. генетика і біофізика. — 1992. — № 17. — С. 105—108.
12. Слепушкин В.Д., Золотов Г.К., Виноградов В.А., Титов М.И. Нейропептиды. Их роль в физиологии и патологии. — Томск: Из-во Томск. ун-та, 1986. — 180 с.
13. Смагин В.Г., Виноградов В.А., Булгаков С.А. Лиганды опиатных рецепторов. — М.: Наука, 1983. — 272 с.
14. Шлозников Б.М., Короткина Р.Н., Бабкина Н.В. и др. Влияние далагина на некоторые показатели перекисного окисления липидов печени в эксперименте // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1990. — 110, № 12. — С. 609—610.
15. А.с. № 1624227. — Способ определения желчных кислот в биологических жидкостях / Весельский С.П., Лященко П.С., Лукьяненко И.А. — Опубл. 30.01.1991, Бюл. № 4.
16. Laasberg L.H., Johnson E.E., Hedley-Whyte J. Effect of morphine and naloxone on Leu-enkephalin — like immunoreactivity in dogs // J. Pharmacol. and Exp. Ther. — 1980. — 212. — P. 496—502.
17. Konturek S.J. Action of enkephalins on the digestive system // Gut. Hormones. Edinburg. — 1981. — P. 432—440.
18. Snyder S.H. Brain peptides as neurotransmitters // Science. — 1980. — 209. — P. 976—983.
19. Solomon T.E. Endogenous opiates and gastric acid secretion // Gastroenterology. — 1980. — 78. — P. 411—413.

Наук.-дослід. ін-т фізіології
Київ. ун-ту ім. Тараса Шевченка
М-ва освіти України, Київ

Матеріал надійшов
до редакції 03.05.94