

Л.С. Співак, М.Ю. Макарчук, Т.П. Лященко, С.П. Весельський

Вплив природних тахікінінів на жовчоутворення у щурів

В острых опытах на крысах изучено влияние эндогенных тахикининов млекопитающих субстанции Р, нейрокининов А и В на желчеобразовательную функцию печени крыс и химический состав желчи. Показано, что примененные тахикинины существенно изменяют как уровень холереза, так и соотношение в желчи органических компонентов. Пептиды семейства тахикининов усиливают солюбилизирующие способности желчи, т. е. уменьшают ее литогенность, что имеет важное значение при лечении функциональных нарушений гепатобилиарной системы.

ВСТУП

Серед таких життєво важливих функцій печінки, як синтетична, депонуюча, дезінтоксикаційна, обміну речовин і терморегуляції, важливе місце належить жовчосекреторній функції. Утворення жовчі в печінці відбувається постійно і регулюється багатьма чинниками нервової та гуморальної систем: нейромедіаторами, стероїдними і тиреоїдними гормонами, амінами [2, 3]. Важлива роль у цій регуляції належить біологічно активним пептидам, одні з яких підвищують інтенсивність секреції жовчі, інші пригнічують, змінюючи при цьому певним чином її хімічний склад. Серед численних факторів пептидної природи, вплив яких на жовчоутворення доведений експериментально, помітне місце посідають тахікініни – найбільша родина біологічно активних пептидів, виявлених у ссавців, амфібій, риб і безхребетних тварин. До класичних тахікінінів ссавців відносять субстанцію Р, нейрокініни А і В, а також хемокінін І [7]. За сучасними уявленнями тахікініни відіграють важливу роль у регуляції жовчоутворення, проте механізми їх дії та зміни хімічного складу

жовчі під впливом цих регуляторів залишаються мало вивченими.

Слід відмітити, що останні досягнення експериментального вивчення процесів жовчоутворення і жовчовиділення, з'ясування процесів, що лежать в основі секреції літогенної жовчі, створюють значну наукову базу для розробки ефективних методів та засобів корекції вмісту холерезу та якісного складу жовчі. Можливе застосування препаратів пептидних регуляторів у практичній гепатології відкриває перспективу профілактики жовчнокам'яної хвороби і дозволить знизити кількість оперативних втручань.

Мета нашої роботи – дослідити вплив основних представників родини тахікінінів субстанції Р, нейрокінінів А та В на рівень жовчоутворення у щурів та якісний склад жовчі.

МЕТОДИКА

Гострі досліди, проведені на білих щурах масою 180–250 г, перед якими тварини голодували 18 год без обмеження доступу до води. Щурів наркотизували тіотенталом (5 мг/100 г, внутрішньоочеревинно), розти-

нали черевну стінку і у відпрепаровану жовчну протоку вводили тонку металеву канюлю, з'єднану поліетиленовою трубкою з мікропіпеткою, у яку збирали жовч. Інтенсивність секреції жовчі визначали впродовж 3 год. Уся зібрана жовч включала 6 півгодинних порцій. Перша порція була вихідним фоном, а п'ять наступних – після введення біологічно активних речовин. Об'ємну швидкість секреції жовчі розраховували в мікролітрах на 1 г маси тіла тварини. За допомогою методу тонкошарової хроматографії в отриманій жовчі визначали кількісний і якісний вміст жовчних кислот (таурохолевої, суміші таурохенодезоксихолевої та тауродезоксихолевої, глікохолевої, суміші глікохенодезоксихолевої та глікодезоксихолевої, холевої, суміші хенодезоксихолевої та дезоксихолевої) [5] і ліпідної фракції (фосфоліпідів, холестеролу, його ефірів, вільних жирних кислот, тригліцеридів) [6].

У дослідах використовували такі пептидні препарати: субстанцію Р, нейрокініни А та В ("Sigma", США). Усі регуляторні пептиди вводили в черевну порожнину в дозі 1,0 мкг/ 100 г. Досліди із введенням тваринам 0,3 мл фізіологічного розчину в черевну порожнину були контрольними.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою пакету комп'ютерних програм Statistica з урахуванням критерію t Стьюдента. Достовірними вважалися відмінності при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження показали, що регуляторні пептиди родини тахікінінів субстанція Р, нейрокініни А та В змінювали жовчоутворювальну функцію печінки у щурів. Якщо у тварин контрольної групи об'ємна швидкість холесекреції з перебігом досліду поступово знижувалася, то після введення щурам субстанції Р і нейрокініну А цей показник істотно підви-

щувався, починаючи з першої півгодини досліду. Гіперхолесекреція, викликана застосованими нами пептидними регуляторами, супроводжувалася значними змінами хімічного складу жовчі.

На практиці солюбілізуючі властивості жовчі оцінюють за співвідношенням вмісту в ній сумарних жовчних кислот і холестеролу (холато-холестероловий коефіцієнт).

Біохімічний аналіз жовчі, отриманої після введення субстанції Р, нейрокініну А та В, показав, що вміст сумарних жовчних кислот у секреті збільшується порівняно з контролем. Найбільш виражено це спостерігається при дії речовини Р. На фоні таких змін вмісту сумарних холатів у отриманій жовчі спостерігається значне збільшення абсолютного вмісту холестеролу (табл. 1), тобто підвищується рівень насичення секрету останнім.

Оцінюючи зміни холато-холестеролового коефіцієнта жовчі у контрольних тварин і за умов дії застосованих нами пептидів, знаходимо, що це співвідношення практично не змінюється при дії речовини Р, дещо зменшується при дії нейрокініну А та істотно зменшується при дії нейрокініну В. Таке зменшення при дії нейрокінінів А та В відбувається внаслідок збільшення вмісту холестеролу в секреті, що заслуговує на увагу практикуючих гепатологів.

Як відомо, за фізіологічних умов холестерол солюбілізується міцелами та везикулами, котрі є досить стійкими утвореннями і відіграють основну роль у транспорті холестеролу в жовчі. Внаслідок змін фізико-хімічних показників жовчі постійно здійснюється перехід везикул у міцели і навпаки.

У результаті біохімічного дисбалансу жовчі жовчні кислоти і фосфоліпиди, що містяться в змішаних міцелах, до певного моменту здатні солюбілізувати холестерол та інші нерозчинні у воді сполуки. Проте настає момент, коли змішані міцели перестають бути тим буфером, який стримує подальше збільшення концентрації холесте-

Таблиця 1. Зміни холато-холестеролового коефіцієнта жовчі (мг%) у щурів при дії тахікінінів (M±m; n=40)

Складові жовчі	№ проби	Контроль	Субстанція Р	Нейрокінін А	Нейрокінін В
Сумарні жовчні кислоти	1	208,8±12,4	239,4±25,0	189,9±15,8	226,1±24,6
	2	192,2±10,5	265,8±27,7	215,6±16,6	198,8±23,2
	3	186,0±11,0	264,9±26,8	215,9±13,7	182,4±21,7
	4	175,4±13,5	276,3±26,0	212,5±14,9	184,4±17,1
	5	155,9±9,8	277,9±24,5	199,8±12,6	189,8±20,9
Холестерол	1	13,7±0,3	15,4±0,5	15,3±0,8	19,2±1,7
	2	12,8±0,7	16,8±0,5*	16,2±2,5	17,7±1,2*
	3	11,9±0,2	17,4±0,6***	18,6±0,8***	17,7±1,4*
	4	13,0±0,5	19,2±0,7***	10,6±3,3	16,8±1,4
	5	12,8±0,6	19,9±0,8***	17,6±0,4***	17,1±2,2
Холато-холестероловий коефіцієнт	1	15,2	15,5	12,4	11,8
	2	15,0	15,8	13,3	11,2
	3	15,6	15,2	11,6	10,3
	4	13,5	14,3	20,0	11,0
	5	12,2	14,0	11,4	11,1

* P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001 щодо контролю (тут і в табл. 2).

ролу. Тоді транспортну та солюбілізуючу роль беруть на себе уніламельярні фосфоліпідні везикули, котрі виникають спонтанно. Однак такі перенасичені холестеролом везикули втрачають свою стабільність у жовчі, що призводить до їх агрегації та агломерації [1].

Експериментально встановлено, що при високому співвідношенні холестерол/

фосфоліпідів (ХС/ФЛ>1) жовч містить багато везикул, при низькому (ХС/ФЛ<1) – змішаних міцел [4].

Ми дослідили, як змінюється співвідношення холестерол/фосфоліпідів впродовж досліду у жовчі контрольних тварин та у жовчі тварин, яким вводили субстанцію Р, нейрокініни А та В. Виявилось, що у контрольних тварин співвідношення холестерол/

Таблиця 2. Зміни співвідношення холестеролу і фосфоліпідів у жовчі (мг%) щурів при дії тахікінінів (M±m; n=40)

Складові жовчі	№ проби	Контроль	Субстанція Р	Нейрокінін А	Нейрокінін В
Фосфоліпідів	1	23,4±0,4	24,0±0,6	34,3±3,4*	43,8±4,9*
	2	22,0±0,6	27,6±0,6***	33,6±1,9***	38,1±3,4**
	3	20,4±0,7	29,8±0,8***	38,3±5,3*	39,1±3,8**
	4	18,3±0,4	28,6±1,1***	23,3±5,7	38,0±3,8**
	5	17,3±0,9	32,7±1,7***	36,4±5,3**	38,1±5,8*
Холестерол	1	13,7±0,3	15,4±0,5	15,3±0,8	19,2±1,7
	2	12,8±0,7	16,8±0,5*	16,2±2,5	17,7±1,2*
	3	11,9±0,2	17,4±0,6***	18,6±0,8***	17,7±1,4*
	4	13,0±0,5	19,2±0,7***	10,6±3,3	16,8±1,4
	5	12,8±0,6	19,9±0,8***	17,6±0,4***	17,1±2,2
Холестерол/фосфоліпідів	1	0,59	0,64	0,45	0,44
	2	0,58	0,61	0,48	0,46
	3	0,58	0,58	0,49	0,45
	4	0,71	0,67	0,46	0,44
	5	0,74	0,61	0,49	0,45

фосфоліпіди впродовж усього досліджу було майже однаковим (0,58), лише в кінці експерименту дещо збільшувалось, але все ж було меншим за одиницю, що не суперечить даним літератури. Цікаво, що після введення субстанції Р цей показник дещо збільшувався порівняно з контролем, а при дії нейрокінінів А та В він був істотно нижчим, ніж у жовчі контрольних тварин (табл. 2). Отже, в контролі та за умов введення тахікінінів співвідношення холестерол/фосфоліпіди дещо змінюється, проте у жодному з випадків не перевищує одиницю, що свідчить про відсутність літогенних властивостей жовчі, що виділяється.

Таким чином, слід констатувати, що регуляторні пептиди родини тахікінінів ендogenous походження субстанція Р і нейрокінінів А і В холеретично впливають на печінку шурів, підвищуючи об'ємну швидкість жовчоутворення та істотно змінюючи абсолютний вміст у жовчі органічних компонентів, зокрема жовчних кислот, холестеролу та фосфоліпідів. За умов введення тахікінінів знижується холато-холестероловий коефіцієнт жовчі та співвідношення холестерол/фосфоліпіди, завдяки чому холестерол у складі жовчі підтримується у розчиненому стані, що має важливе значення для оцінки літогенних властивостей жовчі.

**L.S.Spivak, M.Y.Makarchuk,
T.P.Lyaschenko, S.P.Veselsky**

THE INFLUENCE OF NATURAL TACHYKININS ON THE BILE PRODUCTION IN RATS

We studied the changes of biligenesis and bile chemical

composition under the influence of endogenous mammalian tachykinins in the acute experiments on the rats with biliary duct cannulated. We have shown that substance P, neurokinin A and neurokinin B changed volume of bile secretion and this liver reaction was accompanied by the essential changes of the bile chemical composition. Above mentioned peptides strengthen solubilisation abilities of the bile that diminishes its lithogenicity. The later is an important factor in the medical treatment of functional disturbances of the hepatobiliary system.

Kyiv National University named after Taras Shevchenko

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ильченко А.А., Вихрова Т.В., Орлова Ю.Н., Сильвестрова С.Ю. Билярный сладж: от патогенеза к лечению: Метод. рекомендации №4. – М., 2004. – 31 с.
2. Масюк А.И. Гормональная регуляция желчеотделения: феноменология, возможные молекулярные механизмы // Успехи совр. биологии. – 1991. – 3, вып. 1. – С. 48–58.
3. Саратиков А.С., Скакун Н.П. Желчеобразование и желчегонные средства. – Томск: Изд-во Томс. ун-та, 1991. – 260 с.
4. Флеркермайер В. Холестатические заболевания печени: Практическое руководство: Пер. с нем. – Dr. Falk Pharma GmbH, 2004. – 96 с.
5. А.с. 4411066/14 СССР, МБИ G 01 N 33/50. Способ определения желчных кислот в биологической жидкости / С.П. Весельский, П.С. Лященко, И.А. Лукьяненко (СССР). – №1624322. – Опубл. 30.01.1991. Бюл. №4.
6. Пат. 99031324 Україна, МБИ А61 В5/14. Спосіб підготовки проб біорідин для визначення вмісту речовин ліпідної природи / С.П. Весельський, П.С. Лященко, С.І. Костенко, З.А. Горенко, Л.Ф. Куровська. – №33564А. – Опубл. 15.02.2001. Бюл. №1.
7. Zhang Y., Lu L., Furlonger C., Wu G.E., Paige C.J., Hemokinin is a hematopoietic-specific tachykinin that regulates B lymphopoiesis // Nat. Immunol. – 2000. – №1. – P. 392–397.