

УДК 612.35:612.36:612.015.81

ВПЛИВ ОПОЇДНИХ ПЕПТИДІВ НА ХОЛЕРЕЗ У ЩУРІВ З ПІДГОСТРИМ АЛКОГОЛЬНИМ УРАЖЕННЯМ ПЕЧІНКИ

Картіфузова Ж.В., Решетнік Є.М., Бондзик О.В., Весельський С.П., Макарчук М.Ю.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Надійшла до редакції 08.05.2008

При дослідженні жовчносекреторної функції у щурів з моделлю підгострого алкогольного ураження печінки в умовах гострої спроби та за допомогою хроматографічного визначення жовчнокислотного і ліпідного складу жовчі показано, що ендogenous опіодні пентапептиди лей-енкефалін і мет-енкефалін та синтетичний аналог лей-енкефаліну гексапептид даларгін частково змінюють ефекти етанолу на холесекрецію. Причому основна дія енкефалінів спрямована на вплив саме на хімічний склад жовчі, але істотно не змінює об'єму виділеного секрету, тоді як даларгін викликає збільшення середньої об'ємної швидкості жовчотоку. Отримані дані дозволяють припустити, що опіодні пептиди виявляють модулюючий вплив на жовчосекреторну функцію печінки при дії на неї алкоголю.

Ключові слова: опіодні пептиди, алкогольне ураження печінки, секреція жовчі.

ВСТУП

Основою жовчоутворення є численні метаболічні процеси, що забезпечують транспорт через синусоїдальну мембрану, синтез, біотрансформацію та внутрішньоклітинний транспорт і каналікулярну секрецію компонентів жовчі [1, 2]. На рівні перерахованих процесів може здійснюватися регуляція холесекреції. Серед ендogenous сполук, що регулюють як обмін речовин, так і жовчосекреторну функцію печінки, відзначаються й опіодні пептиди: ендogenous пентапептиди енкефаліни та їх синтетичні аналоги [3, 4, 5, 6]. Зокрема, показано, що лей-енкефалін та мет-енкефалін можуть істотно змінювати вміст у жовчі таких її органічних компонентів, як жовчні кислоти та ліпіди [3]. Також змінюється й експресія опіодних пептидів за умов холестази [7]. Однак, відомо, що для опіодних пептидів властива різноспрямованість їх фізіологічних ефектів залежно від дози, способу введення та стану фізіологічних структур організму, що зазнають дії пептиду [5]. Патологічними станами, до перебігу яких залучені ендogenous опіоди, є алкогольіндуковані захворювання, що досить часто супроводжуються порушеннями функцій печінки [8]. Разом з тим встановлено, що для всіх типів алкогольної хвороби печінки є характерним більш чи менш виражений каналіцевий холестаз. Патофізіологія даного процесу зводиться до декількох складових, серед яких: зменшення току жовчі, пригнічення активності Na^+, K^+ -АТФази

плазматичних мембран гепатоцитів, порушення щільності міжклітинних контактів, зміни в синусоїдальних мембранах пов'язані з підвищенням вмісту в них холестерину та порушенням співвідношення фосfolіпідів до холестерину у синусоїдальному домені плазматичної мембрани гепатоцитів. При холестазі відбувається руйнування мікротрубочок та збільшення кількості проміжних мікрофіламентів. Ці зміни цитоскелету призводять до зникнення мікрворсинок на апікальній (каналікулярній) поверхні гепатоцитів, зниження скоротливості каналікулярної частини плазматичної мембрани гепатоцитів, збільшення проникності міжклітинних щільних контактів спряженого зі зворотним током компонентів жовчі у синусоїди [9].

Деякі суперечливими виявились результати дослідження впливу алкоголю на метаболізм ліпідних фракцій в печінці щурів. Так, деякі автори підкреслюють, що під впливом етанолу в печінці знижується вміст холестеролу, але підвищується рівень триацилгліцеринів та фосфатидилетанол-аміну [10, 11]. А на думку інших під впливом алкоголю посилюється утворення холестеролу та жовчних кислот, у зв'язку з накопиченням надлишкової кількості ацетату та $\text{NAD}\cdot\text{H}_2$ [8]. Встановлено, що зростання вмісту ацетальдегіду в печінці щурів змінює її фосfolіпідний спектр, а в сироватці крові змінюється концентрація холестеролу, триацилгліцеридів та загальних фосfolіпідів [12]. У хворих на алкоголізм спостерігаються значні зміни у вмісті ліпідів,

особливо – триацилгліцеридів [8]. Але в той же час іншими авторами показано, що введення ацетальдегіду не впливає на вміст холестеролу та фосфоліпідів у плазмі крові щурів. Тому існує думка, згідно якої ацетальдегід лише частково обумовлює ефекти, характерні для етанолу [10].

Враховуючи вище сказане, дослідження впливу опіюїдних пептидів на жовчосекреторну функцію в умовах контрольованого змодельованого алкогольного ураження печінки становить як практичний, так і теоретичний інтерес. Застосовані нами методичні підходи дозволили вивчити як динаміку секреції жовчі, так і вміст в ній основних специфічних органічних складових, що значною мірою визначають властивості секрету: жовчних кислот, а також виявити зміни ліпідного складу жовчі за дослідних умов.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

У дослідях застосовувались ідентичні ендогенним опіюїдні пентапептиди лей-енкефалін і мет-енкефалін (Sigma, USA) та синтетичний опіюїдний гексапептид даларгін (“Биолек”, Харків) у дозі 10 мкг/кг маси тіла тварини, внутрішньочеревно у вигляді ін’єкцій розчину пептидів, етанол (40%), який вводився тваринам внутрішньошлунково у дозі 7 мл/кг маси тіла тварини. Досліди проведені на безпородних білих щурах (самцях) масою 150-230 г. Для дослідження алкогольного ураження печінки за методикою рекомендованою [13] тварини були поділені на 8 груп. Впродовж 7 діб контрольна група тварин (n=8) отримувала 7 мл/кг маси тіла тварини H₂O внутрішньошлунково та фізіологічний розчин у вигляді ін’єкцій внутрішньочеревно. Інша група тварин (n=8) отримувала етанол (40%) у дозі 7 мл/кг внутрішньошлунково та фізіологічний розчин внутрішньочеревно. Третя група щурів (n=9) впродовж тижня отримувала лей-енкефалін внутрішньочеревно у дозі 10 мкг/кг та H₂O у дозі 7 мл/кг внутрішньошлунково. Четверта група (n=9) впродовж такого ж часу отримувала етанол (40%) внутрішньошлунково у дозі 7 мл/кг маси тіла тварини та 10 мкг/кг лей-енкефаліну внутрішньочеревно. Тварини п’ятої та шостої груп за аналогічними схемами отримували воду і мет-енкефалін (10 мкг/кг) або етанол і мет-енкефалін (n=14). Сьома група щурів (n=8) отримувала даларгін внутрішньочеревно у дозі 10 мкг/кг та H₂O у дозі 7 мл/кг внутрішньошлунково. Восьма група тварин (n=8) впродовж такого ж часу отримувала етанол (40%) внутрішньошлунково у дозі 7мл/кг маси тіла тварини та ін’єкцію 10 мкг/кг даларгіну внутрішньочеревно.

Визначення об’ємної швидкості секреції жовчі проводили у гострих спробах (для наркотизації тварин використовували тіопентал натрію у дозі 50 мг/кг маси тіла тварини внутрішньочеревно). Інтенсивність секреції жовчі визначали кожні 10 хвилин впродовж 1,5 годин досліду. За одиницю, що характеризує секреторну функцію печінки, вважали середню об’ємну швидкість секреції жовчі, яку розраховували за об’ємом жовчі (мкл), що секретувалася протягом 1 хв по відношенню до 1 г печінки.

Визначення жовчних кислот проводили за допомогою тонкошарової хроматографічної методики удосконаленої в нашій [14]. Використаний у дослідженні метод визначення жовчних кислот дозволив виявити у жовчі щурів вільну холевую кислоту та її окремі тауро- і глікокон’югати, а у суміші три фракції дезоксихоланових кислот: таурохенодезоксихолеву і тауродезоксихолеву, глікохенодезоксихолеву і глікодезоксихолеву, хенодезоксихолеву і дезоксихолеву відповідно. Чутливість методу складала 0,25-0,35 мкг жовчної кислоти в пробі.

Кількісне і якісне визначення ліпідів жовчі проводили також методом тонкошарової хроматографії із застосуванням розробленого у нашій лабораторії мікроспособу підготовки проб до аналізу [14]. Застосована методика дозволила визначити вміст у жовчі щурів наступних фракцій ліпідів: фосфоліпіди, холестерин, вільні жирні кислоти, тригліцериди та ефіри холестерину. Чутливість методу – 1-3 мкг ліпідів у пробі.

Експериментальні дані були оброблені за допомогою пакету програм STATISTICA 5.0 (фірма Stat Soft, USA) з використанням критеріїв Ст’юдента і Мана-Уїтні при нормальному і ненормальному розподілі даних, відповідно. Вірогідними вважалися відмінності між даними при $p < 0,05$ [15].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Об’ємна швидкість секреції жовчі у щурів, на яких не діяли ніякими чинниками, коливалась протягом 1,5 годин досліджень в середньому в межах 1,18–1,28 мкл/г печінки·хв. Об’ємна швидкість секреції жовчі алкоголізованих тварин значимо не змінювалась у порівнянні з контролем і становила в середньому 1,14–1,29 мкл/г печінки·хв (Таблиця 1).

Застосування мет-енкефаліну не приводило до статистично значимих змін об’єму виділеної жовчі порівняно з контролем.

Впродовж майже всього часу досліду секреція жовчі при застосуванні лей-енкефаліну не змінювалась щодо контролю. Однак, наприкінці досліду об’ємна швидкість секреції жовчі у щурів,

які отримували лей-енкефалін з етанолом становила 1,55 мкл/г печінки·хв і була достовірно ($p < 0,05$) більшою від такої у тварин, що отримували лише етанол (1,14 мкл/г печінки·хв) (Таблиця 1).

Об'ємна швидкість секреції жовчі підсилювалась при використанні даларгіну у порівнянні з контролем, що не співпадає з літературними даними [3]. Слід відзначити також, що у порівнянні з лей-енкефаліном даларгін достовірно ($p < 0,05$) збільшує об'ємну швидкість секреції жовчі (Таблиця 1). Отже, за різних експериментальних умов синтетичний аналог лей-енкефаліну даларгін чинить більш виражений вплив на інтенсивність секреції жовчі, ніж сам лей-енкефалін. Можливо, як припускають й інші

дослідники, це пов'язано із взаємодією даларгіну з опіоїдними рецепторами не лише δ -типу, до яких максимальну спорідненість має лей-енкефалін [5]. Загалом, слід підкреслити, що порівняно з усіма іншими дослідженими препаратами даларгін виявляв максимальний холеретичний вплив. Це, як ми вже вказували, не співпадає з одними літературними даними [3, 13, 16] та підтверджує інші [4] і, можливо, пов'язано з опосередкованою дією даларгіну на клітини печінки у разі застосованого нами способу введення гексапептиду. Зазначимо, що у своїх дослідженнях вказані автори [3] застосовували одноразове внутрішньопортальне введення цього синтетичного гексапептиду у гострих спробах на щурах.

Таблиця 1.

Об'ємна швидкість секреції жовчі в щурів під впливом опіоїдних пептидів у нормі та при дії етанолу ($M \pm m$, мкл/г печінки·хв).

10-хв проби жовчі	Умови досліджу							
	контроль (вода)	етанол	вода+лей-енкефалін	вода+даларгін	етанол+лей-енкефалін	етанол+даларгін	вода+мет-енкефалін	етанол+мет-енкефалін
1	1,28±0,13	1,29±0,09	1,25±0,12	1,44 1,27 2,05	1,38 1,10 1,68	1,40±0,06	1,57±0,15	1,34±0,11
2	1,26±0,12	1,24±0,09	1,30±0,11	1,52±0,09	1,40±0,10	1,40±0,06	1,52±0,19	1,49±0,06
3	1,22±0,12	1,28±0,10	1,28±0,12	1,55±0,08*	1,43±0,09	1,40±0,07	1,54±0,23	1,43±0,05
4	1,26±0,12	1,23±0,12	1,19±0,11	1,45±0,10	1,35±0,10	1,30±0,05	1,51±0,22	1,33±0,09
5	1,18±0,11	1,19±0,11	1,14±0,12	1,45±0,08*	1,42±0,09	1,33±0,05	1,33±0,13	1,29±0,06
6	1,19±0,13	1,21±0,11	1,18±0,12	1,38* 1,30 1,90	1,40±0,08	1,31±0,05	1,54±0,20	1,37±0,06
7	1,23±0,13	1,14±0,13	1,17±0,12	1,43±0,08	1,38±0,09	1,26±0,04	1,46±0,16	1,36 1,27 1,37
8	1,22±0,14	1,21±0,12	1,19±0,11	1,38 1,20 2,00	1,42±0,10	1,32±0,06	1,39±0,16	1,34±0,06
9	1,20±0,13	1,14±0,13	1,18±0,11	1,38 1,20 1,89	1,55# 1,14 1,68	1,21±0,06	1,39±0,14	1,33±0,12

Примітки: * - $p < 0,05$ (порівняно до контролю), * - $p < 0,05$ (порівняно до серії з введенням лей-енкефаліну), # - $p < 0,05$ (порівняно до серії з введенням етанолу), курсивом позначено медіану й мінімальне та максимальне значення для вибірок з ненормальним розподілом.

Слід відзначити, що за відсутності значних змін об'єму виділеної під час гострої спроби жовчі за умов попереднього навантаження тварин застосованими речовинами, можливими є істотні зміни хімічного складу секрету, а, отже, його властивостей. Разом з тим, виявлений вплив лей-енкефаліну на холесекрецію за умов спільного тижневого навантаження організму щурів цим пептидом та етанолом може вказувати на складну взаємодію системи опіоїдних пептидів і етанолу при розвитку алкогольного ураження печінки. Виявлені нами зміни динаміки об'ємної швидкості секреції жовчі під впливом опіоїдних пептидів за різних станів організму тварин можуть бути пов'язані зі зміною внутрішньоклітинних метаболічних процесів у гепатоцитах, котрі лежать в основі жовчоутворення. Можна припустити, що

це торкається, як перебігу процесів активного вилучення жовчних кислот з синусоїдальної крові, їхньої біотрансформації і кон'югації з таурином та гліцином та гідроксилування, так і внутрішньоклітинного транспорту чи активного перенесення через каналікулярну мембрану зі зміною їх концентрації у первинних жовчних протоках, оскільки саме зазначені процеси складають основу формування жовчі [1, 2].

В контрольних дослідах концентрація жовчних кислот у пробах жовчі не змінюється (рис.1, рис.2, рис.3). Етанол пригнічує секрецію як кон'югованих, так і вільних жовчних кислот. Впродовж усього дослідження зниженою виявляються концентрації у пробах жовчі таурохолевої кислоти на 37-39,4% ($p < 0,001$) (рис.1a), таурохенодезоксихолевої й тауродездоксихолевої – на 35,7-44,6% ($p < 0,01$)

(рис.1б), глікохолевої – на 59-65,3% ($p<0,01$) (рис.2а), глікохенодезоксихолевої і глікодезоксихолевої – на 59-63,7% ($p<0,05$) (рис.2б), холевої кислоти – на 18,5-36,9% ($p<0,01$) (рис.3а). Вміст хенодезоксихолевої і дезоксихолевої в останній третій пробі жовчі менший від контрольних значень на 36,9% ($p<0,05$) (рис.3б).

При курсовому введенні лей-енкефаліну виявлено, що за таких умов змінюється лише концентрація у жовчі щурів вільних жовчних кислот. Так, спостерігається пригнічення секреції холевої кислоти на 52-64,5% ($p<0,01$) (рис.3а) та хенодезоксихолевої і дезоксихолевої кислот на 49,5-65,9% ($p<0,01$) (рис.3б) у порівнянні з контролем впродовж усього дослідження. Секреція інших жовчних кислот при введенні даного пептиду достовірно не змінюється (рис.1, рис.2). Зазначимо, що лей-енкефалін істотно зменшує концентрацію у жовчі вказаних жовчних кислот, ніж етанол. При застосуванні пентапептиду на фоні внутрішньошлункового введення етанолу у жовчі

тварин зростає концентрація кон'югованих жовчних кислот у порівнянні з показниками жовчі щурів, які підлягали лише дії етанолу. Але ці показники виявляються нижчими за такі, отримані у контрольній групі тварин. Так, концентрація таурохолевої кислоти при сумісному застосуванні лей-енкефаліну та етанолу зростає на 22,1-27,2% ($p<0,05$) у порівнянні з тваринами, що отримують тільки етанол, але у третій пробі жовчі вона є нижчою на 15,3% за контрольне значення ($p<0,05$) (рис.1а). Також збільшується ($p<0,05$) (рис.1б) концентрація таурохенодезоксихолевої і тауродезоксихолевої кислот у порівнянні з щурами, яким вводиться етанол, але у першій пробі жовчі вона виявляється нижчою на 26,5% ($p<0,05$) (рис.1 а) за показники контрольної групи тварин. Подібними до змін концентрації таурокон'югатів жовчних кислот виявляються і коливання вмісту їх глікокон'югатів у жовчі щурів при дії лей-енкефаліну на тлі етанолу.

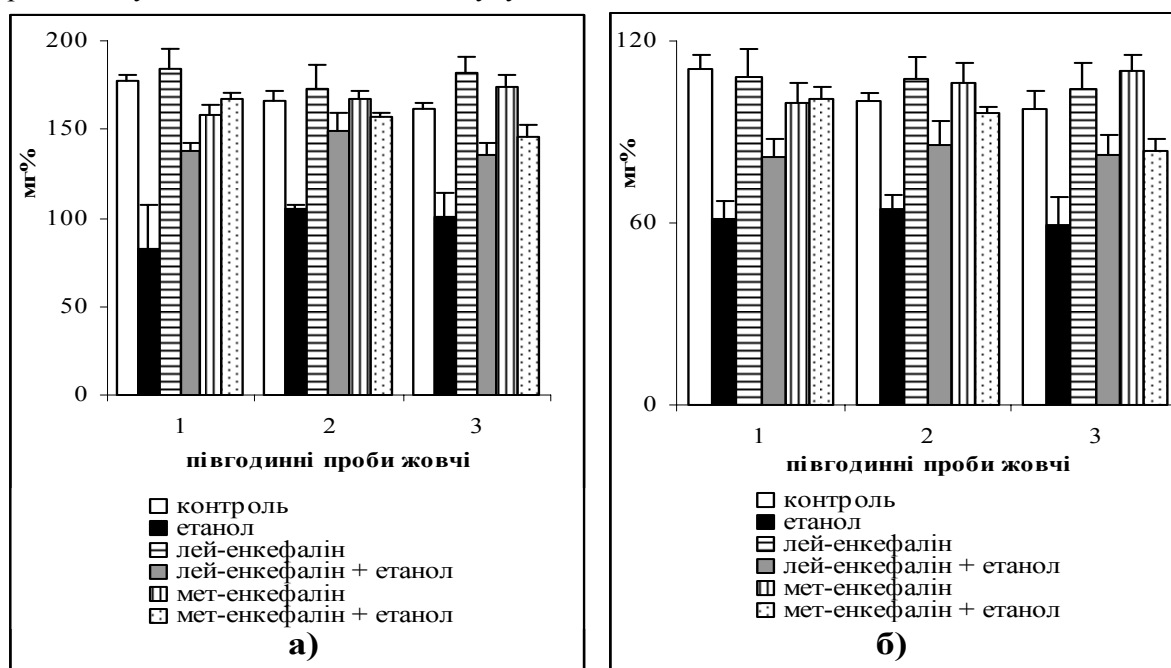


Рис.1. Концентрація таурокон'югатів жовчних кислот (таурохолева кислота – а), таурохенодезоксихолевої і тауродезоксихолевої кислот (б)) у жовчі щурів під впливом опіюїдних пептидів у нормі та при дії етанолу ($M\pm m$, мг%).

Концентрація глікохолевої кислоти підвищується на 23,8-41,2% ($p<0,05$) (рис.2а) у порівнянні з тваринами, що отримували етанол, але є нижчою на 23,5-35,2% ($p<0,05$) (рис.2а) за контрольні показники. Концентрація глікохенодезоксихолевої і глікодезоксихолевої кислот зростає на 24,2-31,6% ($p<0,05$) (рис.2б) у порівнянні з алкоголізованими тваринами, але лишається нижчою на 29,1-35,6% ($p<0,05$) (рис.2б) за контрольні значення. Через годину після

початку гострої спроби концентрація хенодезоксихолевої і дезоксихолевої кислот у жовчі щурів, які отримували пептид разом з етанолом підвищується на 30,5% відповідно у порівнянні з щурами, які отримують лише етанол ($p<0,05$) (рис.2б). Тільки концентрація холевої кислоти лишається нижчою від контрольних значень при тижневому введенні лей-енкефаліну, як разом із внутрішньо-

шлунковим введенням води, так і етанолу ($p < 0,05$) (рис.3 а).

Вище описані зміни концентрації жовчних кислот у жовчі щурів з моделлю підгострого алкогольного ураження печінки при введенні їм

лей-енкефаліну можуть бути пояснені виявленою збільшеною об'ємною швидкістю секреції жовчі при дії цього пептиду порівняно з тваринами, що отримували тільки етанол.

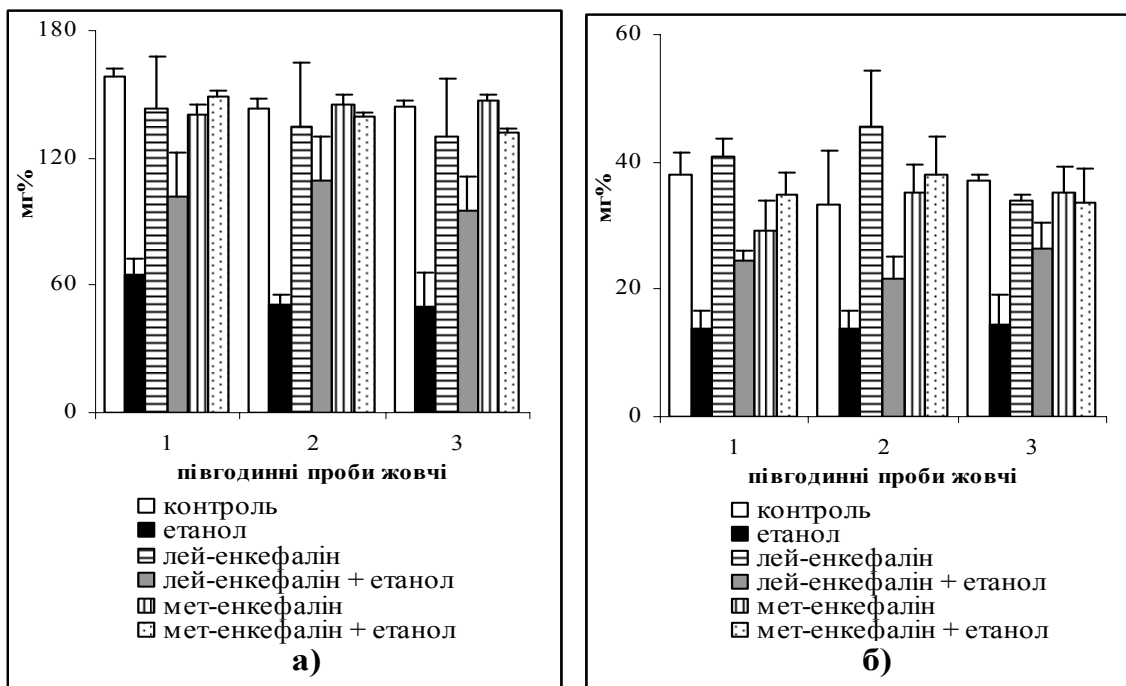


Рис.2. Концентрація глікокон'югатів жовчних кислот (глікохолева кислота – а), глікохенодезоксихолева і глікодезоксихолева кислоти – б)) у жовчі щурів під впливом опіоїдних пептидів у нормі та при дії етанолу ($M \pm m$, мг%).

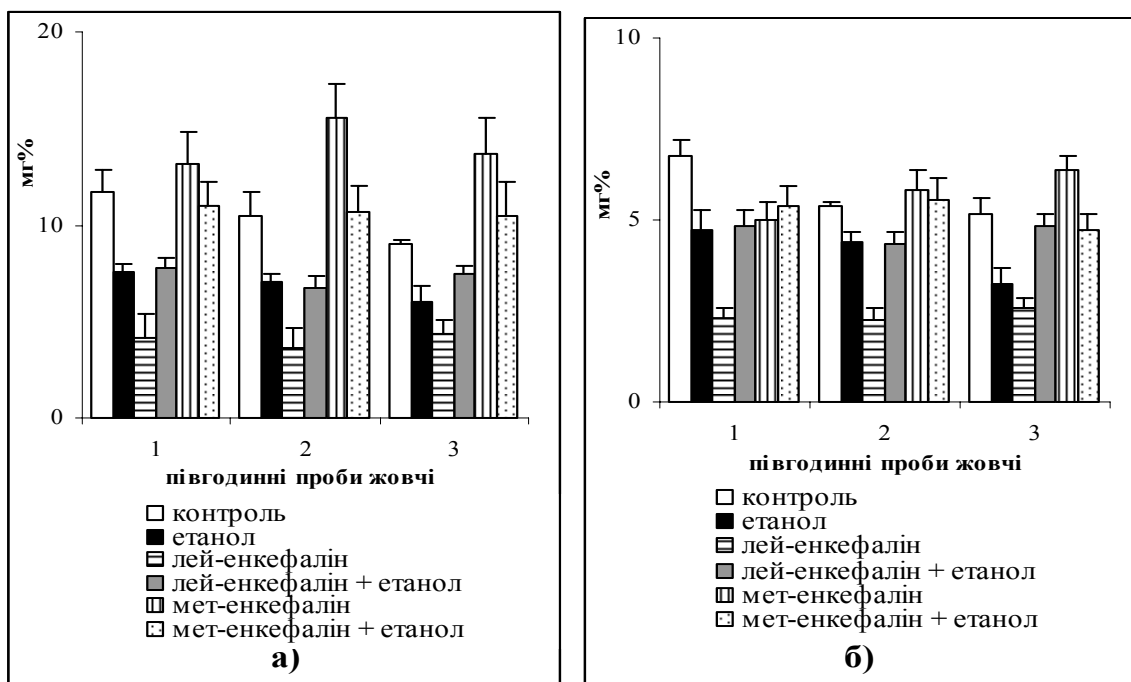


Рис.3. Концентрація вільних жовчних кислот (холева кислота – а), хенодезоксихолева і дезоксихолева кислоти – б)) у жовчі щурів під впливом опіоїдних пептидів у нормі та при дії етанолу ($M \pm m$, мг%).

Мет-енкефалін за умов тижневого внутрішньочеревного введення не викликає змін концентрації жовчних кислот у жовчі щурів. Однак, цей опіоїдний пептид значно підвищує концентрацію жовчних кислот у жовчі щурів у разі його спільного застосування з етанолом порівняно з тваринами, які отримували лише етанол. Так, концентрація таурохолевої кислоти при введенні мет-енкефаліну на тлі етанолу статистично достовірно зростає в першій ($p < 0,05$) (рис.1а), другій ($p < 0,001$) (рис.1а) і третій ($p < 0,05$) (рис.1а) пробах жовчі порівняно з показниками у алкоголізованих тварин і виявляється майже такою ж, як у жовчі щурів контрольної групи. У першій та другій півгодинних пробах жовчі тварин, що зазнавали сумісної дії мет-енкефаліну й етанолу концентрація таурохенодезоксихолевої і тауродезоксихолевої кислот більша від такої у жовчі щурів, яким вводили лише етанол ($p < 0,001$) (рис.1б) і близька до контрольних значень. А саме, у першій пробі жовчі контрольної групи цей показник становить $111,05 \pm 4,65$ мг%, а у тварин, які отримували етанол і мет-енкефалін – $100,60 \pm 4,30$ мг%, тоді, як у щурів яким лише вводився внутрішньощунково етанол – $61,50 \pm 5,77$ мг%. У пробах жовчі отриманої від тварин, що зазнавали спільної дії етанолу й мет-енкефаліну концентрація кон'югованих з гліцином жовчних кислот з високим ступенем вірогідності ($p < 0,001$ для змін концентрації глікохолевої кислоти, $p < 0,01$ – для глікохенодезоксихолевої і глікодезоксихолевої кислот) більша від такої у щурів, які отримували тільки етанол (рис.2).

Концентрація холевої кислоти статистично достовірно зростає у першій і другій пробах жовчі отриманої від тварин під впливом мет-енкефаліну й етанолу порівняно з тваринами яким вводився етанол ($p < 0,05$) (рис.3а). Лише в останній третій пробі жовчі щурів, які отримували пептид разом з етанолом, концентрація хенодезоксихолевої і дезоксихолевої кислот наближається до контрольних значень і, відповідно, підвищується у порівнянні з щурами, які отримують лише етанол ($p < 0,05$) (рис.3б).

Отже, мет-енкефалін, застосований окремо, не змінюючи вмісту жовчних кислот у жовчі щурів щодо контролю, здатен усувати пригнічуючий вплив етанолу на секрецію холатів, що виявляється у наближенні показників концентрації жовчних кислот у жовчі щурів, які отримували етанол і мет-енкефалін разом, до відповідних контрольних значень.

Жовчні кислоти є специфічними компонентами жовчі, що значною мірою визначають секрецію інших її органічних компонентів – ліпідів [1, 2]. Зміна співвідношення певних фракцій ліпідів і

жовчних кислот у жовчі часто стає причиною значних порушень властивостей жовчі та, як наслідок, низки захворювань гепатобіліарної системи [1, 9]. Ліпіди жовчі щурів, зміни вмісту яких у жовчі нами відслідковувалися це – холестерин і його ефіри, фосfolіпіди, вільні жирні кислоти, тригліцериди. За нашими даними у відсотковому відношенні серед загальних ліпідів жовчі щурів частка фосfolіпідів складає близько 39%, холестерину і його ефірів – майже 27%, вільних жирних кислот біля – 23%, тригліцеридів – 11%.

При внутрішньощунковому введенні етанолу спостерігається зниження вмісту всіх досліджуваних ліпідів у жовчі в порівнянні з контрольними показниками. Найсильніше зниження відмічається для тригліцеридів. Пригнічення секреція фосfolіпідів виявляється у статистично вірогідному зменшенні їх концентрації у третій півгодинній пробі жовчі до $44,48 \pm 1,86$ мг% порівняно з $73,25 \pm 0,95$ мг% у контролі ($p < 0,001$). Також у третій півгодинній пробі жовчі зменшується концентрація холестерину ($p < 0,05$) і вільних жирних кислот ($p < 0,01$). У всіх пробах жовчі зібраних впродовж гострої спроби виявлене значне, більш як у три рази, зменшення концентрації тригліцеридів ($p < 0,001$). Лише секреція ефірів холестерину за умов тижневого внутрішньощункового введення етанолу статистично достовірно не відрізняється від контрольних значень.

При введенні лей-енкефаліну, як свідчать літературні джерела, підсилюється секреція всіх досліджуваних ліпідів жовчі [3]. У наших дослідженнях при тижневому внутрішньочеревному введенні лей-енкефаліну виявлено статистично вірогідне підсилення секреції ефірів холестерину, що виявляється в збільшенні його концентрації у третій півгодинній пробі жовчі до $3,58 \pm 0,26$ мг% порівняно з $1,75 \pm 0,20$ мг% у контролі ($p < 0,05$). При сумісному застосуванні етанолу та пептиду зростає концентрація наступних досліджуваних ліпідів жовчі порівняно з показниками жовчі отриманої у тварин, що зазнавали дії тільки алкоголю. Секреція фосfolіпідів збільшується у третій півгодинній пробі на 21,1% ($p < 0,01$), тригліцеридів – на 60% ($p < 0,05$). Секреція холестерину та його ефірів не змінюється. Але показники концентрацій усіх ліпідів, окрім ефірів холестерину, у жовчі тварин, яким сумісно вводили етанол та опіоїдний пептид лей-енкефалін виявляються нижчими від значень контрольної групи.

Отже, введення лей-енкефаліну сприяє зміні у тварин, що отримували етанол якісних властивостей жовчі за її жовчнокислотним складом, збільшуючи в ній вміст як вільних, так і

кон'югованих жовчних кислот. Загалом, при внутрішньошлунковому введенні етанолу відбувається зниження вмісту як жовчних кислот, так і ліпідів у жовчі. Сумісне застосування пентапептиду лей-енкефаліну та етанолу призводить до підвищення вмісту основних компонентів жовчі у порівнянні з алкоголізованими тваринами, але їх концентрації не перевищують контрольні значення.

Мет-енкефалін не викликає змін у вмісті фосфоліпідів, холестерину і вільних жирних кислот у жовчі щурів. Але концентрація тригліцеридів у третій півгодинній пробі жовчі отриманій від щурів, які тиждень отримували пентапептид достовірно знижувалася ($p < 0,01$), так само як і концентрація ефірів холестерину ($p < 0,05$). Однак, як і у разі використання мет-енкефаліну при дії етанолу, пригнічуючий ефект останнього зменшується і показники концентрації ліпідів у жовчі наближаються до контрольних значень. А саме, при сумісному введенні етанолу й мет-енкефаліну концентрація фосфоліпідів у третій півгодинній пробі становить $50,48 \pm 1,19$ мг% порівняно з $44,48 \pm 1,86$ мг% при введенні самого етанолу ($p < 0,05$). Також збільшується порівняно з показниками тварин, що отримували лише етанол, у щурів до яких застосовували мет-енкефалін і етанол разом концентрація тригліцеридів ($p < 0,001$) і ефірів холестеролу ($p < 0,05$).

ВИСНОВКИ

Таким чином, зміни якісних властивостей жовчі за її жовчнокислотним та ліпідним складом викликані введенням тваринам етанолу певною мірою усуваються лей-енкефаліном чи мет-енкефаліном. Але середня об'ємна швидкість секреції жовчі щурів при цьому суттєво не змінюється. Синтетичний аналог лей-енкефаліну даларгін за ефектом на холесекрецію (показник – середня об'ємна швидкість секреції жовчі) у нормі (стимуляція) та при алкоголізації (відсутність ефекту) відрізняється від лей-енкефаліну. Тоді як, ендогенні опіюїдні пентапептиди лей-енкефалін і мет-енкефалін при тижневому внутрішньо-черевному введенні не виявляючи значного впливу на жовчосекреторну функцію печінки щурів, можуть істотно змінювати ефекти етанолу на жовчнокислотний та ліпідний склад жовчі.

Література

1. Boyer J.L., Nathanson M.H. Bile formation // Schiff's diseases of the liver /ed. E.R. Schiff, M.F. Sorrell, W.C. Maddrey. – Philadelphia, 1999. – P. 119-14.
2. Zsembery A., Thalhammer T., Graf J. Bile formation: a concerted action of membrane transporters in hepatocytes and cholangiocytes // News Physiol. Sci – 2000. – V. 15, February. – P. 6-11.
3. Масюк Т.В., Весельський С.П., Масюк А.І. Секреторна функція печінки при дії енкефалінів // Фізіологічний журнал – 1995 – Т.41. № 3-4. – С. 120 – 125.
4. Медведев М.А., Рудин І.В., Гараєва А.Ф. Роль опиоїдних рецепторів печені в регуляції желчеотделения // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2006. – Т.142, № 11. – С. 494-496.
5. Решетнік Є.М., Філінська О.М., Рибальченко Т.В. Фізіологічні та молекулярні механізми ефектів енкефалінів // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. – 2004. – Т. 62, вип. 9. – С. 28-38.
6. Рудин І.В., Медведев М.А. Опиоїдні пептиди модулюють секрецію основних детермінант желчеотока // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1997. – Т.123, № 5. – С. 498-500.
7. Bergasa N.V., Sabol S.L., Young III W.S., Kleiner D.E., Jones E.A. Cholestasis is associated with preproenkephalin mRNA expression in the adult rat liver // Am. J. Physiol. – 1995. – Vol. 268. – P. G346-G354
8. Шабанов П.Д., Калишевич С.Ю. Биология алкоголизма – С.-Пб., 1998. – 325 с.
9. Шерлок Ш., Дули Дж. Заболевания печени и желчных путей – М.: Медицина, 1999. – 220 с.
10. Селевич М.И., Лелевич В.В. Влияние острой алкогольной и ацетальдегидной интоксикации на метаболизм липидов в печени крыс // Архив психиатрии – 2001. – Т. 27, №4. – С. 153-158.
11. Amin A. Nanji Animals models of alcoholic liver disease - focus on the intragastric feeding model // Alcohol Research and Health - 2003.-Vol.27. - №4. - P.323-330.
12. Antony M. H., Contordi Lee Anne H. Pure alcoholic fatty liver and progression to cirrhosis of fibrosis // Lancet. – 1995. - № 89. – P. 1562-1563.
13. Методические рекомендации по экспериментальному изучению желчегонной, холеспазмолитической, холелитазной и гепатопротектарной активности новых лекарственных средств / С.М. Дроговоз, С.И. Сальникова, Н.П. Скакун, В.В. Слышков. – К.: ФКМЗ України, 1994. – 46 с.
14. Патент 99031324, Україна, МБН А61В5/14. Способ підготовки проб біоридин для визначення вмісту речовин ліпідної природи: Пат. 9901324 Україна, МБН А61В5/14/ С.П. Весельський, П.С.Лященко, С.І.Костенко, З.А.Горенко, Л.Ф.Куровська - № 33564А; Заявл. 05.10.1999; опубл. 15.02.2001; Бюл. №1.
15. Стентон Глац. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1999. – 459 с.
16. Bergasa N.V., Zhou J., Ravi J., Shi Q. The opioid peptide analog D-Ala2-Met-enkephalinamide decreases bile flow by a central mechanisms // Peptides. – 1999. – Vol. 20. – P. 979-986..

ВЛИЯНИЕ ОПИОИДНЫХ ПЕПТИДОВ НА ХОЛЕРЕЗ У КРЫС С ПОДОСТРЫМ АЛКОГОЛЬНЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ**Картифузова Ж.В., Решетник Е.Н., Бондзик Е.В., Весельский С.П., Макаrchук Н.Е.**

В исследовании желчсекреторной функции у крыс с моделью подострого алкогольного поражения печени в условиях острого опыта и с помощью хроматографического определения желчнокислотного и липидного состава желчи показано, что эндогенные опиоидные пентапептиды лей-энкефалин и мет-энкефалин и синтетический аналог лей-энкефалина гексапептид даларгин частично изменяют эффекты этанола на холесекрецию. Причем, основное действие энкефалинов выражается во влиянии именно на химический состав желчи, но существенно не изменяет объема выделенной желчи, в то время как даларгин вызывал увеличение средней объемной скорости желчеотделения. Полученные данные позволяют предположить, что опиоидные пептиды оказывают модулирующее влияние на желчсекреторную функцию печени при воздействии на неё алкоголя.

Ключевые слова: опиоидные пептиды, алкогольное поражение печени, секреция желчи.

THE OPIOID PEPTIDES EFFECTS ON BILE SECRETION IN RATS WITH ALCOHOL LIVER DAMAGE**Kartifuzova Zh.V., Reshetnik E.M., Bondzyk O.V., Veselsky S.P., Makarchuk M.U.**

In the acute experiments on the thiopental anesthetized rats with the cannulated common bile duct, using in follow silica thin-layer chromatography for bile biochemical compound determining was shown that endogenous opiod peptides leu-enkephalin and met-enkephalin and synthetic leu-enkephalin's analog dalargin particular changed ethanol influence on rat's bile secretion that had the alcoholic liver damage. The main effect of the enkephalines is consisted in changes of the bile biochemical compound without bile speed changing and dalargin increases bile flow. Obtained date allows to suppose that opioid peptides modulate liver's bile secretion function in a case of the alcoholic liver damage.

Key words: opioid peptides, alcohol liver damage, bile secretion.
