

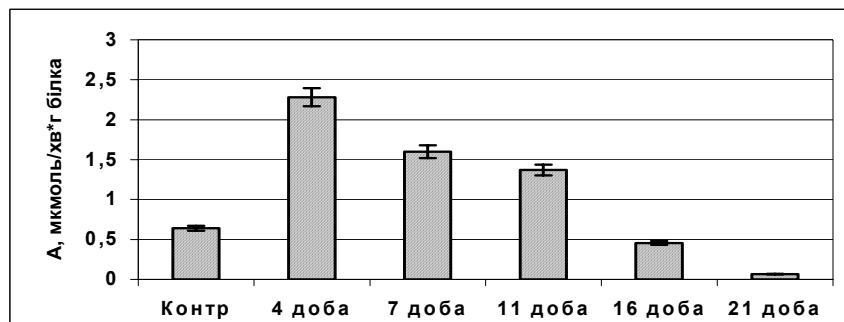


Рис. 1. Активність алкогольдегідрогенази в гомогенаті клітин печінки щурів при експериментальній алкогольній інтоксикації

Відомо, що реакція, яка каталізується цим ферментом: $\text{етанол} + \text{НАД}^+ \leftrightarrow \text{ацетальдегід} + \text{НАДН} + \text{H}^+$ характеризується положенням рівноваги, що при концентраціях етанолу, близьких до фізіологічних, зміщена вліво. Це відображає детоксикуючу дію алкогольдегідрогенази по відношенню до ацетальдегіду, що постійно утворюється при багатьох метаболічних процесах.

При хронічній алкогольній інтоксикації при дозах, що не викликають значного сп'яніння, рівновага реакції зміщується вправо. АДГ I і IV стають генераторами ацетальдегіду, який поступово накопичується у організмі. Пошкоджуючи ряд ензимів, надмолекулярних утворень, мембран і т.п., ацетальдегід індукує різноманітні патологічні процеси. До них відносяться, зокрема, модифікація аміно-, SH-, імідазольних груп амінокислот різних білків з утворенням ацетальдегідних аддуктів. Таким чином, ацетальдегід виступає в ролі потужного модифікатора білків, змінюючи їх просторові характеристики [2].

Відомо, що інгібіторами алкогольдегідрогенази є сполуки, що зв'язують цинк або взаємодіють з SH – групами. Подібну дію показано для 8-оксигіоліну, фенантроліну, етилендіамінтетраоцтової кислоти, біпіридину, 4-метилпіразолу, меркаптоетанолу [7,8] Тому поступове зниження активності досліджуваного ферменту, що було показано нами на 7-16 добу експерименту, можливо відбувається внаслідок зазначеної деградації клітинних структур через накопичення вмісту проміжного продукту метаболізму етанолу – ацетальдегіду, що здатен модифікувати SH – групи алкогольдегідрогенази.

Окрім цього, згідно літературних даних, накопичення ацетальдегідних аддуктів лежить в основі утворення аутоантитіл до АДГ I при тривалому споживанні етанолу. Було показано, що в дослідях на щурах невисокі, але достовірні титри аутоантитіл до АДГ виявляються

після 4–6-го тижня алкоголізації. Можливо, модифікована ацетальдегідом АДГ сприймається імунною системою як гетерогенний антиген. Таким чином, встановлене нами різке зниження активності досліджуваного ферменту на 21 день, можливо, відбувається внаслідок утворення аутоантитіл.

Висновок. При хронічній алкогольній інтоксикації активність алкогольдегідрогенази печінки щурів спершу різко зростала на 4 добу. У подальшому відбувалось зниження активності досліджуваного ферменту до контрольних значень на 7-16 добу. На 21 добу активність алкогольдегідрогенази була нижчою від контрольних значень. Встановлене нами зниження активності алкогольдегідрогенази можливо відбувається внаслідок деградації клітинних структур за рахунок дії ацетальдегіду та подальшого утворення аутоантитіл до досліджуваного ферменту.

1. Ашмарин И.П. АДГ млекопитающих – объект молекулярной медицины. - Успехи биологической химии. – т. 43. – 2003. – С. 3–18.
2. Зимин Ю.В., Сяткин С.П., Березов Т.Т. Надмолекулярная регуляция активности некоторых оксидоредуктаз клетки в норме и патологии. - Вопросы медицинской химии. – 2001. – № 3. 3. Лінський І.В., Мінко О.І., Первомайський Е.Б., Дьяченко Л.І., Мінко О.О. Прогнозування епідемії залежності від психоактивних речовин в Україні засобами популяційної екології // Новини української психіатрії. – Київ, Харків, 2006.
4. Пхакадзе Г.А., Коноплицкая К.Л., Познякова Т.Н. и др. // Укр. биохим. журн. – 1987. – Т. 59. – № 4. – С. 25–29. 5. Халілов М.Х., Закірходжаєв Ш.А. К характеристике некоторых патохимических сдвигов в крови, тканях печени и головного мозга при экспериментальной алкогольной интоксикации // Материалы тезисов 5-й научной конференции. – Москва, 1993. – С. 38–41. 6. Nakajima M., Kato J., Kohgo Y. et al (1993) Alcohol and alcoholism, 28 (SIB), 105–108. 7. Schindler J.F., Berst K.B., Plapp B.V. Inhibition of human alcohol dehydrogenases by formamides. - J. Med. Chem. – 1998. – 41. – P. 1696–1701. 8. Xie P., Parsons S.H., Speckhard D.C., Bosron W.F., Hurley T.D. X-ray structure of human class IV sigmoidal alcohol dehydrogenase. Structural basis for substrate specificity. J. Biol. Chem. – v. 272. – 1997. – P. 18558–18563.

Надійшла до редколегії 17.11.06

УДК 612.35+591.132.5

Л. Латищенко, асп., Є. Решетнік, канд. біол. наук,
С. Весельський, д-р біол. наук, М. Макачук, д-р біол. наук

ВПЛИВ СТАДОЛУ ТА НАЛОКСОНУ НА ЖОВЧОУТВОРЕННЯ ТА ХІМІЧНИЙ СКЛАД ЖОВЧІ У ЩУРІВ

В гострих спробах на щурах вивчали зовнішньосекреторну функцію печінки та зміни її органічних складових. При дії антагоністів опіоїдних рецепторів стадолу та налоксону у дозі 10 мг на 100 г маси тіла тварини практично не змінюється об'єм секретованої жовчі, однак спостерігається збільшення вмісту окремих її жовчних кислот під впливом стадолу та налоксону, котрі здатні по різному діяти на внутрішньоклітинні процеси метаболізму та транспорту органічних компонентів жовчі.

We studied a liver bile secretion function and changes of a bile organic contents in acute experiment on the rats. Stadol antagonists of opiod receptors and naloxon at the doses 10 mkg per 100 g of body weight did not change the speed of bile secretion. Though, we have researched increasing content some bile acids under doing stadol and nalaxon, which influence indifference for intracellular processes of organic bile components metabolism and transport.

Вступ. Жовчосекреторна функція печінки тварин тонко регулюється нейрогуморальною системою організму,

завдячуючи численним ефективним чинникам різної природи, в тому числі опіоїдним пептидам. Встановлено,

© Латищенко Л., Решетнік Є., Весельський С., Макачук М., 2007

що ліганди опіоїдних рецепторів пептидної і алкалоїдної природи, а саме енкефаліни і їх синтетичні аналоги, β -ендорфін, морфін впливають на інтенсивність секреції жовчі печінкою щурів [4, 7]. Автори припускають, що їх ефекти реалізується через зв'язування з опіоїдними рецепторами. Встановлено 5 типів опіоїдних рецепторів: δ , μ , κ , σ і ϵ . Було також запропоновано існування підтипів опіоїдних рецепторів [10], але існує не багато даних які б це підтверджували. Окрім того ні для одного типу опіоїдних рецепторів не описано повністю специфічного агоніста чи антагоніста. Всі опіоїдні агоністи/антагоністи тою чи іншою мірою можуть взаємодіяти з різноманітними типами опіоїдних рецепторів, при цьому для кожного їх типу описані найбільш типові агоністи/антагоністи [2].

З метою дослідження ролі взаємодії енкефалінів та їх аналогів з опіоїдними рецепторами для реалізації ефектів опіоїдних пептидів на жовчосекреторну функцію печінки ми провели дослідження з блокадою опіоїдних рецепторів стадолом та налоксоном.

Стадол (буторфанолу тартрат, морадол) – синтетичний анальгетик для парентерального застосування, який широко використовується в різних галузях клінічної медицини був синтезований в 1971 р. і зареєстрований в 1978 р. в США і Канаді під назвою стадол [1]. За хімічного будовою це 17-циклобутилетиметил-3,14-дигідроксиморфінан тартрат. Анальгетичний ефект стадолу реалізується за рахунок його взаємодії з каппа-опіоїдними рецепторами і значно меншою мірою через зв'язування з дельта- та міу-типами опіоїдних рецепторів [6].

Антагоніст опіоїдних рецепторів, налоксон (налоксону гідрохлорид), частіше всього застосовується в анестезіології та при шоківих станах. Вперше він був синтезований ще в 1960 році. Цей препарат досить легко проникає у мозок, тривалість його дії залежить від введеної дози і коливається від 1 до 4 годин. Механізм дії налоксону також залежить від його дози: в малих дозах ефекти препарату пов'язані з блокадою опіоїдних рецепторів, а у великих він діє як антагоніст кальцієвих каналів і здатний відновлювати знижений рівень внутрішньоклітинного кальцію. Крім того є данні про наявність у налоксону протизапальних та антиоксидантних властивостей. Впливаючи на наднирники, налоксон розгальмовує секрецію катехоламінів, яка пригнічується опіоїдними пептидами [2].

Незважаючи на широке застосування препаратів у клінічній практиці, дані про їх вплив на секреторну функцію печінки мало відомі. Встановлено, що стадол має антагоніст-агоністичні властивості стосовно опіоїдних рецепторів [1], а налоксон є конкурентним антагоністом опіоїдних рецепторів [2]. Ми зробили припущення, що стадол та налоксон, блокуючи різні підтипи опіоїдних рецепторів, можуть приводити до змін відповіді печінки на дію енкефалінів та поставили за мету з'ясувати ці порівняти ці зміни.

Об'єкт і методи досліджень. Експерименти проведено на білих щурах-самцях масою 180–220 г. Блокатори опіоїдних рецепторів інфузували внутрішньопортально протягом 30 хвилин: стадол або налоксон вводили у

дозі 10 мкг на 100 г маси тіла тварини. Для дослідження секреторної функції печінки тваринам, що перебували під тіопенталовим наркозом (5 мг на 100 г маси тіла тварини, внутрішньочеревно), проводили лапаротомію з наступним канюлюванням загальної жовчної протоки. У зібраній жовчі методом тонкошарової хроматографії визначали кількісний і якісний вміст жовчних кислот [5]. Отриманий цифровий матеріал обробляли статистично з застосуванням t-критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення. Для з'ясування вище вказаного припущення ми вивчали як діють на секрецію жовчі стадол та налоксон. З цією метою ми дослідили динаміку секреції жовчі та спектр основних її органічних компонентів – жовчних кислот після внутрішньопортальної інфузії препаратів.

Стадол у дозі 10 мкг на 100 г маси тіла тварини ($n=9$) не змінює порівняно з вихідним рівнем об'ємної швидкості секреції жовчі протягом трьох годин після інфузії, яка коливалась у межах $1,56\text{--}1,65\text{ мкл}\cdot\text{г}^{-1}\text{печінки}\cdot\text{хв}^{-1}$.

Налоксон у дозі 10 мкг на 100 г маси тіла тварини ($n=6$) також практично не змінює порівняно з вихідним рівнем об'ємної швидкості секреції жовчі, яка коливалась у межах $1,99\text{--}2,25\text{ мкл}\cdot\text{г}^{-1}\text{печінки}\cdot\text{хв}^{-1}$.

Тобто, інтенсивність секреції жовчі в присутності стадолу та налоксону за динамікою була подібною до такої в контрольній групі тварин за умов інфузії фізіологічного розчину. Однак, загальний об'єм жовчі виділеної за одиницю часу печінкою під впливом налоксону був більшим ніж під дією стадолу і за весь дослід на 36% перевищив рівень холерезу порівняно з останнім.

У той самий час під впливом антагоністів опіоїдних пептидів спостерігаються істотні зміни в секреції жовчних кислот порівняно з вихідним рівнем їх секреції.

Жовчні кислоти є основними осмотично активними органічними компонентами жовчі, які виконують функцію ендогенних регуляторів жовчосекреторних процесів [3, 8]. Вони є специфічним продуктом діяльності гепатоцитів, і утворюються в результаті багатьох метаболічних реакцій перетворення холестерину [8]. Більша частина жовчних кислот зв'язується з таурином або гліцином, утворюючи тауро- і глікокон'югати. Кон'юговані жовчні кислоти більш водорозчинні, а тому легше секретуються з жовчю. За даними літератури у жовчі щурів таурококон'югати складають 54,6%, глікококон'югати 34,9%, а вільні жовчні кислоти 10,5% від загального їх пулу. Холева і таурохолева кислоти в загальному пулі жовчних кислот у щурів складають 6,0% і 43,6% відповідно [3].

Як вказувалося раніше [6] введення стадолу піддослідним щурам викликає збільшення секреції із жовчю таурохолевої, таурохоленедезоксихолевої й тауродезоксихолевої кислот, на 22,1% і 28,8% ($P<0,05$), відповідно, а глікохолевої кислоти на 18,1% ($P<0,05$) впродовж третьої години після завершення інфузії. Рівень секреції із жовчю піддослідних тварин холевой кислоти зростає впродовж другої – третьої дослідних годин на 17,0% ($P<0,05$) (табл. 1).

Таблиця 1. Інтенсивність секреції жовчних кислот (мкг/г печінки/хв, $M\pm m$) після внутрішньопортальної інфузії стадолу в дозі 10мкг на 100г маси тіла ($n=9$)

Час досліду, хв	Жовчні кислоти					
	Таурохолева	Таурохоленедезоксихолева і тауродезокси-холева	Глікохолева	Глікохоленедезоксихолева і гліко-дезоксихолева	Холева	Хенодезоксихолева і дезокси-холева
30	$2,80\pm 0,11$	$2,24\pm 0,11$	$1,95\pm 0,05$	$0,16\pm 0,02$	$0,44\pm 0,03$	$0,12\pm 0,01$
60 інфузія	$2,64\pm 0,15$	$1,97\pm 0,04$	$1,83\pm 0,04$	$0,15\pm 0,02$	$0,42\pm 0,03$	$0,11\pm 0,001$
90 хв.	$2,92\pm 0,15$	$2,26\pm 0,07$	$2,03\pm 0,05$	$0,18\pm 0,01$	$0,46\pm 0,03$	$0,13\pm 0,004$
120 хв.	$2,95\pm 0,22$	$2,28\pm 0,15$	$2,05\pm 0,10$	$0,19\pm 0,02$	$0,46\pm 0,03$	$0,13\pm 0,01$
150 хв.	$3,02\pm 0,29$	$2,40\pm 0,17$	$2,08\pm 0,20$	$0,18\pm 0,01$	$0,50\pm 0,02$	$0,14\pm 0,02$
180 хв.	$3,05\pm 0,31$	$2,43\pm 0,20$	$2,10\pm 0,21$	$0,18\pm 0,01$	$0,51\pm 0,02^*$	$0,14\pm 0,02$
210 хв.	$3,31\pm 0,25^*$	$2,71\pm 0,13^*$	$2,22\pm 0,17$	$0,17\pm 0,01$	$0,49\pm 0,01$	$0,14\pm 0,01$
240 хв.	$3,42\pm 0,21^*$	$2,89\pm 0,20^*$	$2,30\pm 0,14^*$	$0,19\pm 0,02$	$0,51\pm 0,02^*$	$0,14\pm 0,01$

Примітка. * – $P<0,05$.

Відставлений у часу ефект стадолу, можливо, пов'язаний з пролонгованим впливом препарату обумовленим тривалим часом його розпаду [1].

Таким чином, у застосованій нами дозі 10 мкг на 100 г маси тіла тварини стадолу хоча і не змінював істотно швидкість секреції жовчі, але впливав на секрецію її органічних компонентів – жовчних кислот. Ефекти стадолу на жовчосекреторну функцію, вірогідно, пов'язані з його дією як блокатора опіоїдних рецепторів. За даними літератури стадолу впливає переважно як агоніст на каппа-опіоїдні рецептори та як антагоніст на дельта- і міу-рецептори [1]. Така взаємодія веде до перебудови метаболічних процесів в клітинах печінки шурів і про-

явилася в незначній активації поліферментних комплексів, забезпечуючи процеси кон'югації жовчних кислот з таурином і гліцином, про що свідчить підвищена секреція тауро- та холевої кислоти, що вказує на підсилення біосинтезу жовчних кислот нейтральним шляхом [9].

Зовсім по-іншому на обмін жовчних кислот в печінці шурів впливав налоксон, котрий зумовив незначне зменшення секреції тауро- і глікокон'югатів із жовчю. При цьому під дією даного препарату спостерігалось істотне зростання секреції вільних хенодезоксихолевої та дезоксихолевої кислот до 25% ($P < 0,05$) впродовж досліджу (табл. 2).

Таблиця 2. Інтенсивність секреції жовчних кислот (мкг/хв, $M \pm m$) після внутрішньопортальної інфузії налоксону в дозі 10 мкг на 100 г маси тіла тварини ($n=6$)

Час досліджу, хв	Жовчні кислоти					
	Таурохолева	Таурохенодезоксисолева і тауродезокси-холева	Глікохолева	Глікохенодезоксисолева і гліко-дезоксисолева	Холева	Хенодезоксисолева і дезокси-холева
30	3,56 $\pm$ 0,17	2,36 $\pm$ 0,33	3,43 $\pm$ 0,11	0,36 $\pm$ 0,09	0,18 $\pm$ 0,04	0,12 $\pm$ 0,03
60 інфузія	3,38 $\pm$ 0,18	2,30 $\pm$ 0,48	3,51 $\pm$ 0,24	0,31 $\pm$ 0,12	0,18 $\pm$ 0,04	0,15 $\pm$ 0,04
90	3,36 $\pm$ 0,12	2,17 $\pm$ 0,36	3,37 $\pm$ 0,18	0,32 $\pm$ 0,09	0,17 $\pm$ 0,02	0,15 $\pm$ 0,03
120	3,31 $\pm$ 0,12	2,24 $\pm$ 0,38	3,15 $\pm$ 0,15	0,29 $\pm$ 0,09	0,19 $\pm$ 0,04	0,15 $\pm$ 0,03
150	3,19 $\pm$ 0,17	2,17 $\pm$ 0,30	3,01 $\pm$ 0,20	0,24 $\pm$ 0,10	0,17 $\pm$ 0,04	0,15 $\pm$ 0,02*
180	3,15 $\pm$ 0,12	2,19 $\pm$ 0,35	3,13 $\pm$ 0,12	0,25 $\pm$ 0,10	0,18 $\pm$ 0,03	0,16 $\pm$ 0,02*

Примітка. * – $P < 0,05$.

Застосований нами блокатор опіоїдних рецепторів налоксон теж практично не змінював швидкість секреції жовчі впродовж досліджу, хоча об'єм секретованої жовчі був більшим ніж при введенні стадолу чи у контрольних досліджах. За даними літератури налоксон – прямий антагоніст морфіну, має спорідненість до всіх трьох підтипів опіоїдних рецепторів, але найбільш ефективно він зв'язується з μ -рецепторами. Встановлена здатність налоксону змінювати частоту серцевих скорочень, активність дихального центру. Такі ефекти нагадують дію морфіну в схожих умовах експерименту. Цей ефект був слабший в порівнянні з дією "класичних" опіоїдних агоністів, але сама його присутність дозволила авторам говорити про часткову антагоністичну активність налоксону [2]. У наших дослідженнях виявлено, що взаємодія налоксону з відповідними рецепторами клітин печінки при внутрішньопортальному введенні сприяла значному підсиленню біосинтезу вільних диоксисоланових жовчних кислот, яке тісно пов'язане зі зміною активності ферментів дихального ланцюга мітохондрій [9].

Отже, внутрішньопортальна інфузія стадолу та налоксону веде до змін в секреції певних жовчних кислот з жовчю, що вказує на те, що як стадол так і налоксон здатні по різному діяти на внутрішньоклітинні процеси метаболізму та транспорту органічних компонентів жовчі. Виявлено також дещо відставлений в часі вплив стадолу при зв'язуванні його з опіатними структурами після внутрішньовенного введення препарату, а основний ефект стадолу надійно усувається застосуванням прямого антагоніста опіатних рецепторів налоксону [1]. Слід відзначити, що антагоністичний вплив стадолу на дельта- і міу-рецептори та налоксону на опіоїдні рецептори всіх типів унеможливило гіпохолеретичну дію ендогенних енкефалінів, присутніх в організмі піддослідних тварин, що збігається з отриманими нами результатами досліджень. Зміни секреції органічних компонентів жовчі при внутрішньопортальному введенні стадолу та незначні зміни вмісту жовчних кислот піс-

ля введення налоксону можна пояснити їх активуючою або блокуючою дією на різні типи опіоїдних рецепторів.

Висновки. Отримані нами дані вказують на те, що взаємодія стадолу та налоксону з різними рецепторними системами гепатоцитів супроводжується відповідними змінами в обміні речовин у клітинах печінки і разом з тим змінює хід процесів в різних ланках метаболізму тісно пов'язаних із жовчоутворенням, що відобразилось у змінах біосинтезу окремих груп жовчних кислот. Виявлені ефекти стадолу і налоксону на функціональний стан печінки слід враховувати при застосуванні цих препаратів у лікувальній практиці.

1. Авруцкий М.Я., Смольников П.В., Ширяев В.С. // Стадол – альтернатива наркотических анальгетиков. – 1994. – 120 с. 2. Головки А.И., Головки С.И., Леонтьева Л.В., Романенко О.И., Конопкин Д.А. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2003. – Т. 66. – С. 71–78. 3. Долгова О.М. Секреторная функция печени при действии жовчних кислот: Автореф. дис. канд. біол. наук. – К., 1997. – 17 с. 4. Масюк Т.В., Весельский С.П., Масюк А.І. // Физиологический журнал. – 1995. – Т. 41, № 3–4. – С. 3–8. 5. 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. 6. Решетнік С.М., Долгова О.М., Весельський С.П., Рибальченко В.К. Вплив стадолу на інтенсивність секреції жовчі печінкою шурів та спектр жовчних кислот та ліпідів жовчі // Вісник КНУ імені Тараса Шевченка. – 2002. – Випуск 37. – С. 100–102. 7. 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. – V 20. – P. 979–986. 8. 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. 119–146. 9. Hofmann A.F., Schteingart C.D., Hagey L.R. Species differences in bile acid metabolism // Bile acids in liver diseases. – Dordrecht, Boston, London, 1995. – P. 3–30. 10. Traynor J., Elliot J. δ -opioid receptor subtypes and crosstalk with μ -receptors // Trends in Pharmacological Sciences. – 1993. – V. 14. – P. 84–85.

Надійшла до редколегії 22.03.07