

Влияние даларгина на желчеотделительную функцию печени

Рудин И.В.

Influence of dalargin on secretory function of liver

Rudin I.V.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

© Рудин И.В.

В остром опыте на белых крысах изучено влияние периферического и центрального введения даларгина (агонист μ - и δ -опиоидных рецепторов) на скорость секреции и состав секретируемой желчи при интактной и денервированной печени. Показано, что даларгин в значительной степени изменяет состав желчи при обоих способах введения и что эффекты периферической и центральной стимуляции опиоидных рецепторов даларгином на желчеотделение носят разнонаправленный характер. Наличие интактной иннервации печени является условием проявления эффекта центральной стимуляции опиоидных рецепторов даларгином на желчеотделение.

Ключевые слова: опиоидные пептиды, даларгин, налоксон, секреция желчи.

Influence of intraperitoneal and intracerebroventricular dalargin (μ and δ opioid agonist) on bile secretion and composition was studied in white rats with intact and denervated liver. Dalargin was demonstrated to alter bile composition significantly both intraperitoneally and intracerebroventricularly and effects were opposite. Intact liver innervation is a must for intracerebroventricular dalargin to have its effect on bile secretion.

Key words: opioid peptides, dalargin, naloxone, secretion of bile.

УДК 616.36–008.6:615.244

Введение

Группа опиоидных нейропептидов является обширным и в последние годы активно изучаемым классом регуляторных пептидов. Опиоидные пептиды участвуют в регуляции нервной, иммунной, сердечно-сосудистой, эндокринной, выделительной, дыхательной систем, являются компонентом антиноцицептивной системы, регулируют все виды обмена и поведения [4, 11, 13, 17, 19–23]. Широко представленные как в нервной системе, так и непосредственно в желудочно-кишечном тракте [12] опиоидные пептиды также оказывают протективное действие на слизистую желудка [7], регулируют секреторную функцию поджелудочной железы [16], изменяют интенсивность метаболизма в печени [3] и оказывают гепатопротекторный эффект при острых повреждениях печени [24]. Ранее было показано [9], что опиоидные пептиды влияют на секрецию в желчь детерминант желчотока.

Механизмы опиоидергической регуляции во многом остаются неясными, однако существует предположение о том, что эффекты стимуляции перифериче-

ских и центральных опиоидных рецепторов на функционирование органов и систем могут быть различными [8].

Цель данной работы — установить роль центральных и периферических опиоидных рецепторов в регуляции секреции желчи и ее компонентов, а также выяснить пути реализации эффектов, вызываемых их стимуляцией.

Материал и методы

Эксперименты проводились в остром опыте на беспородных белых крысах-самцах ($n = 220$) массой 180–220 г. В эксперимент животные включались после 12-часового голодания в условиях свободного доступа к воде.

Под нембуталовым наркозом желчь для исследования собиралась путем канюлирования общего желчного протока. Сбор желчи осуществлялся с интервалом в 1 ч в течение 3 ч от начала эксперимента. В экспериментах с периферическим введением даларгин (агонист μ - и δ -опиоидных рецепторов) и антагонист

налуксон вводили внутривенно в дозе 10 мкг и 1 мг на 1 кг массы животного соответственно.

В экспериментах с центральным введением даларгина использовали стереотаксический метод введения канюли с применением стереотаксического аппарата СЭЖ-5 (НПО «Конструктор», Украина). Введение канюли из нержавеющей стали осуществляли в правый латеральный желудочек мозга по следующим координатам от брегмы: AP — 1,5 мм, L — +2 мм, V — 3,5 мм. Верификация положения канюли осуществлялась введением раствора метиленового синего. Даларгин применяли в дозе 10 мкг, налуксон — в дозе 200 мкг. Объем раствора составлял 8 мкл, при совместном применении препаратов вводили по 4 мкл каждого из них.

Денервацию печени проводили путем аппликации раствора фенола на поверхность сосудов печени, общего желчного протока и печеночных связок [15]. Даларгин и налуксон вводили через 30 мин после аппликации фенола. Контрольная и экспериментальные группы содержали по 20 животных.

Определяли количество секретированной желчи в каждом временном промежутке, а также содержание в желчи желчных кислот и холестерина [6], билирубина [1], фосфолипидов по липидному фосфору [2, 5].

Результаты исследований обрабатывались с расчетом критерия Стьюдента для независимых выборок, рассчитывали среднее M и среднее квадратическое отклонение m ($M \pm m$). Различия считались достоверными при $p < 0,05$. Проверка нормальности распределения проводилась по тесту Колмогорова—Смирнова.

Результаты исследования

В группе контрольных животных с периферическим введением физиологического раствора отмечалось повышение скорости желчеотока от первого к третьему часу эксперимента на 36% ($p < 0,05$).

Периферическое введение даларгина приводило к недостоверному повышению скорости желчеотока на протяжении 2 ч эксперимента. Периферическое введение налуксона хотя и не приводило к достоверным изменениям в скорости секреции желчи, однако достоверно устраняло тенденцию к повышению желчеотделения, вызываемую даларгинем ($p < 0,05$).

Периферическое введение даларгина усиливало секрецию желчных кислот к первому часу исследования на 50% ($p < 0,001$). Введение налуксона способствовало

еще более выраженному увеличению секреции желчных кислот в течение первого часа эксперимента — на 53% ($p < 0,001$). Предварительное введение налуксона устраняло эффект даларгина на секрецию желчных кислот в желчь (рис. 1).

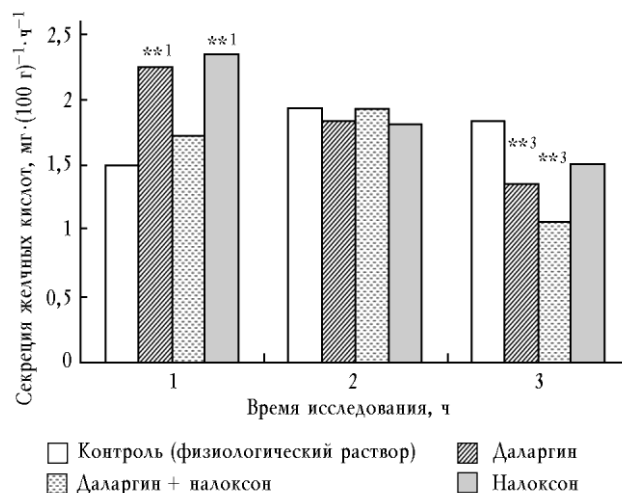


Рис. 1. Изменение секреции желчных кислот в желчь крыс под влиянием периферического введения даларгина: ** — изменения достоверны по отношению к соответствующему часу контроля, **¹ — $p < 0,001$, **³ — $p < 0,05$

Секреция холестерина в желчь при периферическом введении даларгина возрастала в первые 2 ч эксперимента ($p < 0,05$), предварительное введение налуксона полностью устраняло это повышение (рис. 2).

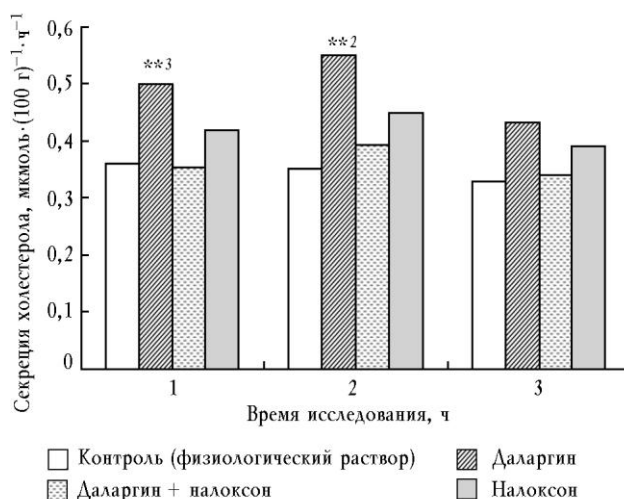


Рис. 2. Изменение секреции холестерина в желчь крыс под влиянием периферического введения даларгина: ** — изменения достоверны по отношению к соответствующему часу контроля, **² — $p < 0,005$, **³ — $p < 0,05$

Секреция фосфолипидов и билирубина под влиянием периферического введения даларгина не изменялась ни в один из исследованных временных промежутков. Ни налоксон при изолированном применении, ни его комбинация с даларгинем достоверно не изменяли содержания в желчи этих компонентов.

В контрольной группе с центральным введением физиологического раствора скорость желчетока повышалась от первого к третьему часу эксперимента ($p < 0,001$). Введение даларгина, налоксона и их совместное применение не изменяло этой тенденции, однако значения достоверно не отличались от контрольных.

Секреция желчных кислот при центральном введении даларгина достоверно снижалась на протяжении времени всего эксперимента — в первый час на 40% ($p < 0,001$), во второй час — на 50% ($p < 0,001$), в третий час — на 27% ($p < 0,005$). Предварительное введение налоксона полностью устраняло данный эффект. Изолированное применение налоксона приводило к значительному повышению секреции желчных кислот в желчь: в первый час — на 59% ($p < 0,001$), во второй час — на 36% ($p < 0,001$), в третий час на 16% ($p < 0,05$) (рис. 3).

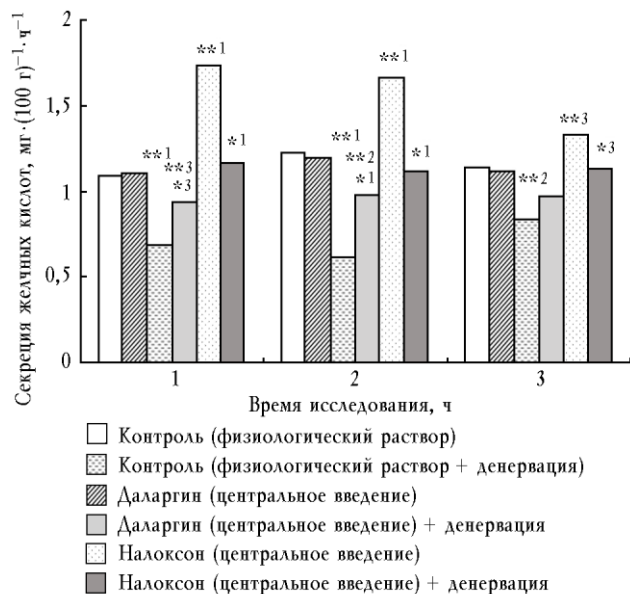


Рис. 3. Изменение секреции желчных кислот у крыс под влиянием внутрижелудочкового введения даларгина и налоксона при интактной и денервированной печени: ** — изменения достоверны по отношению к соответствующему контролю, **¹ — $p < 0,001$, **² — $p < 0,005$, **³ — $p < 0,05$; * — изменения достоверны по отношению к соответствующему часу без денервации, *¹ — $p < 0,001$, *³ — $p < 0,05$

Сходные изменения наблюдались и по показателям секреции холестерина: секреция достоверно снижалась в первый час на 24,0% ($p < 0,001$), во второй час — на 22,5% ($p < 0,02$), в третий час — на 25,4% ($p < 0,001$). Предварительная блокада опиоидных рецепторов налоксоном полностью устраняла эти изменения. Так же, как и в случае с секрецией желчных кислот, изолированное применение налоксона приводило к высоко достоверному повышению секреции холестерина на протяжении всех 3 ч исследования ($p < 0,001$) (рис. 4).

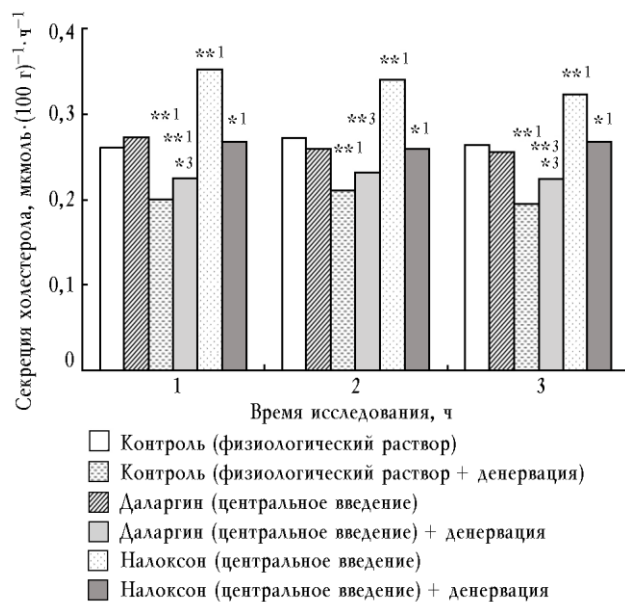


Рис. 4. Изменение секреции холестерина у крыс под влиянием внутрижелудочкового введения даларгина и налоксона при интактной и денервированной печени: ** — изменения достоверны по отношению к соответствующему контролю, **¹ — $p < 0,001$, **² — $p < 0,005$, **³ — $p < 0,05$; * — изменения достоверны по отношению к соответствующему часу без денервации, *¹ — $p < 0,001$, *³ — $p < 0,05$

Секреция фосфолипидов под влиянием центрального введения даларгина достоверно снижалась к первому, второму и третьему часу эксперимента на 35,30% ($p < 0,005$), 27,80% ($p < 0,005$) и 29,43% ($p < 0,005$) соответственно, и это снижение устранялось предварительным введением налоксона. Изолированное применение налоксона не изменяло секрецию фосфолипидов.

Секреция билирубина под влиянием центрального введения даларгина снижалась на протяжении 2 ч эксперимента: к первому часу — на 26,3% ($p < 0,001$) и ко второму часу — на 15,8% ($p < 0,001$). Предварительное введение налоксона полностью устраняло

этот эффект. Изолированное применение налоксона не приводило к изменению секреции в желчь билирубина.

Денервация печени не приводила к достоверным изменениям в скорости желчеотока, а также в концентрации и секреции компонентов желчи, однако частично устраняла эффект центрального введения даларгина в отношении желчных кислот в течение первых 2 ч исследования ($p < 0,001$), величины секреции были при этом одновременно достоверно ниже контроля (см. рис. 3). Секреция в желчь холестерина под влиянием стимуляции центральных опиоидных рецепторов даларгином на фоне денервированной печени претерпевала сходные изменения. Секреция холестерина к первому часу была достоверно ниже контроля ($p < 0,001$), однако при этом достоверно выше по отношению к группе с центральным введением даларгина на фоне интактной печеночной иннервации ($p < 0,02$). Такое же изменение секреции наблюдается и к третьему часу (см. рис. 4). Секреция фосфолипидов при центральной стимуляции опиоидных рецепторов даларгином на фоне денервированной печени хотя и была выше, чем в группе с применением даларгина при интактной печени, но достоверно от показателей этой группы не отличалась. Секреция билирубина при центральном введении даларгина на фоне денервированной печени в первый час эксперимента была достоверно ниже контрольных величин ($p < 0,05$), но выше величины секреции билирубина по отношению к группе с применением даларгина на фоне сохраненной печеночной иннервации.

Повышение секреции желчных кислот и холестерина в желчь, вызываемое внутрижелудочковым введением налоксона, полностью устранялось денервацией печени на протяжении всего времени эксперимента.

Обсуждение

Полученные результаты дают основание полагать, что и периферические, и центральные опиоидные рецепторы играют значительную роль в регуляции желчеотделительной функции печени и секреции в состав желчи ее основных компонентов.

Обращает на себя внимание тот факт, что стимуляция периферических опиоидных рецепторов даларгином и блокада опиоидных рецепторов налоксоном при его периферическом введении вызывает однона-

правленный эффект на повышение секреции желчных кислот в желчь, что может быть связано с антагонистическими эффектами стимуляции периферических и центральных опиоидных рецепторов [8]. В экспериментах с центральным введением даларгина показано, что эффекты на желчеотделение при стимуляции периферических и центральных опиоидных рецепторов действительно различаются и имеют разнонаправленный характер. При этом блокада опиоидных рецепторов налоксоном вызывает однонаправленный с периферическим применением эффект на повышение секреции желчных кислот. Однонаправленность эффекта периферической и центральной блокады опиоидных рецепторов обусловлена тем, что, являясь неопиоидным аналогом, налоксон легко проникает через гематоэнцефалический барьер и оказывает одинаковый эффект при любом пути введения, блокируя центральные опиоидные рецепторы. Повышение секреции желчных кислот при воздействии антагониста опиоидных рецепторов налоксона может свидетельствовать о том, что секреция желчи находится под тоническим контролем центральной опиоидергической регуляции, которая снижает секрецию в составе желчи отдельных ее компонентов.

Эксперименты со стимуляцией центральных опиоидных рецепторов на фоне денервированной печени показали, что для проявления регуляторного эффекта центрального отдела опиоидергической системы необходимо сохранение интактной иннервации печени. Интересным является тот факт, что в большинстве случаев денервация не устраняет полностью эффект центральной стимуляции опиоидных рецепторов, хотя значительно и достоверно его уменьшает. Вероятно, стимуляция центральных опиоидных рецепторов даларгином оказывает эффект на желчеотделительную функцию печени двумя путями: непосредственно — путем передачи сигнала по нервным волокнам вегетативной нервной системы — и опосредованно, вызывая центральную респираторную депрессию [14, 18], которая ведет к гипоксии тканей и таким образом может снижать активность ферментативных и транспортных систем гепатоцита. Прямой эффект может реализоваться через опиоидергические нервные пути. В работе N.V. Bergasa и соавт. [10] было высказано предположение о том, что в волокнах вегетативной нервной системы, иннервирующих печень, существуют опиоидергические механизмы передачи сигнала, которые в данном случае

могут быть вовлечены в реализацию эффектов на желчеотделение, вызываемых центральным введением даларгина.

Таким образом, в настоящей работе продемонстрирован антагонизм центральных и периферических опиоидных рецепторов в отношении желчеотделительной функции печени. Показано, что для проявления эффектов центральной стимуляции и блокады опиоидных рецепторов необходимо сохранение интактной иннервации органа. Высказано предположение о том, что центральные опиоидные рецепторы оказывают влияние на желчеотделительную функцию печени с помощью двух механизмов: непосредственно — путем передачи сигнала по нервным волокнам вегетативной нервной системы — и опосредованно, вызывая центральную респираторную депрессию.

Литература

1. Акинчиц М.А., Павловская Н.А. Модификация метода определения билирубина в сыворотке крови // Лаб. дело. 1988. № 12. С. 727—730.
2. Ганиткевич Я.В., Карбач Я.И. Исследование желчи: Биохимические и биофизические методы. Киев: Наукова думка, 1985. 136 с.
3. Золотов Г.К., Боброва И.В., Хабарова Н.И., Абиссова Н.А. Некоторые механизмы участия опиоидных пептидов в регуляции углеводного обмена // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1992. № 113 (3). С. 257—259.
4. Мартынова Е.Р., Медведев О.С. Влияние опиоидных пептидов на регионарную гемодинамику у бодрствующих крыс // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1988. № 106 (8). С. 136—139.
5. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике. М.: Медицина, 1987. 407 с.
6. Мирошник В.П., Громашевская Л.Л., Касаткина М.И., Козачек Г.А. Определение содержания желчных кислот и холестерина в желчи // Лаб. дело. 1978. № 3. С. 149—153.
7. Полонский В.М., Коробов Н.В. Противоязвенное действие и периферическая опиоидная активность продуктов деградации даларгина // Бюл. ВКНЦ АМН СССР. 1986. № 9 (2). С. 83—86.
8. Полонский В.М., Ярыгин К.Н., Кривошеев О.Г. и др. Место приложения (центральное или периферическое) противоязвенного действия синтетического аналога эндогенных опиоидов даларгина в экспериментальной модели цистеаминовых дуоденальных язв у крыс // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1987. № 103 (4). С. 433—434.
9. Рудин И.В., Медведев М.А. Опиоидные пептиды модулируют секрецию основных детерминант желчного сока // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1997. № 123 (5). С. 498—500.
10. Bergasa N.V., Zhou J., Ravi J., Shi Q. The opioid peptide analog D-Ala2-Met-enkephalinamide decreases bile flow by a central mechanism // Peptides. 1999. № 20 (8). P. 979—986.
11. Borlongan C.V., Wang Y., Su T.P. Delta opioid peptide (D-Ala2, D-Leu5) enkephalin: linking hibernation and neuroprotection // Front. Biosci. 2004. № 9. P. 3392—3398.
12. Chaturvedi K. Opioid peptides, opioid receptors and mechanism of down regulation // Indian. J. Exp. Biol. 2003. № 41 (1). P. 5—13.
13. Eager K.R., Robinson B.J., Galletly D.C., Miller J.H. Endogenous opioid modulation of hypercapnic-stimulated respiration in the rat // Respir. Physiol. 1994. № 96 (1). P. 13—24.
14. Hashiguchi Y., Molina P.E., Dorton S. et al. Central opiate mu-receptor-mediated suppression of tissue protein synthesis // Am. J. Physiol. 1997. № 273 (3 Pt. 2). P. 920—927.
15. Latt W.W., Carroll A.M. Evaluation of topical phenol as a means of producing autonomic denervation of the liver // Can. J. Physiol. Pharmacol. 1984. № 62 (7). P. 849—853.
16. Li J.P., Kae Yol Lee, Ta-Min Chang, Chey W.Y. MEK inhibits secretin release and pancreatic secretion: roles of secretin-releasing peptide and somatostatin // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 2001. № 280 (5). P. G890—G896.
17. Ossipov M.H., Lai J., King T. et al. Antinociceptive and nociceptive actions of opioids // J. Neurobiol. 2004. № 61 (1). P. 126—148.
18. Pasternak G.W. Review: pharmacological mechanisms of opioid analgesics // Clin. Neuropharmacol. 1993. № 16. P. 1—18.
19. Sacerdote P., Limiroli E., Gaspari L. Experimental evidence for immunomodulatory effects of opioids // Adv. Exp. Med. Biol. 2003. № 521. P. 106—116.
20. Smith E.M. Opioid peptides in immune cells // Adv. Exp. Med. Biol. 2003. № 521. P. 51—68.
21. Stein C. Opioid receptors on peripheral sensory neurons // Adv. Exp. Med. Biol. 2003. № 521. P. 69—76.
22. Von Zastrow M. Opioid receptor regulation // Neuromolecular Med. 2004. № 5 (1). P. 51—58.
23. Wood J.D., Galligan J.J. Function of opioids in the enteric nervous system // Neurogastroenterol. Motil. 2004. № 16 (2). P. 17—28.
24. Yamanouchi K., Yanaga K., Okudaira S. et al. [D-Ala2, D-Leu5] enkephalin (DADLE) protects liver against ischemia-reperfusion injury in the rat // J. Surg. Res. 2003. № 114 (1). P. 72—77.

Поступила в редакцию 05.09.2005 г.