

УДК 612.35:612.36:612.015.81

© Є.М. Решетник, 2012.

ВПЛИВ БЛОКАДИ ОПОЇДНИХ РЕЦЕПТОРІВ НА СПІВВІДНОШЕННЯ ХОЛАТІВ У ЖОВЧІ ЩУРІВ ІЗ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ АЛКОГОЛЬНИМ ГЕПАТИТОМ

Є.М. Решетник*Київський національний університет імені Тараса Шевченка, відділ загальної фізіології НДІ фізіології імені академіка Петра Богача Навчально-наукового центру "Інститут біології" (зав. – проф. М.Ю. Макаруч), м. Київ.*

EFFECT OF OPIOID RECEPTOR BLOCKADE ON THE RELATION CHOLATES IN BILE OF RATS FROM EXPERIMENTAL ALCOHOLIC HEPATITIS

SUMMARY

E.M. Reshetnik

It is shown that ethanol decreases the synthesis of bile acids, in particular, inhibited the hydroxylation of bile acids. The use of naloxone in experimental alcoholic hepatitis in rats causes inhibition of hydroxylation and conjugation of bile acids.

ВЛИЯНИЕ БЛОКАДЫ ОПИОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА СООТНОШЕНИЕ ХОЛАТОВ В ЖЕЛЧИ КРЫС ИЗ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ АЛКОГОЛЬНЫМ ГЕПАТИТОМ

РЕЗЮМЕ

Е.Н. Решетник

Показано, что при воздействии этанола уменьшается синтез желчных кислот, в частности угнетается гидроксирование желчных кислот. Применение налоксона в условиях экспериментального алкогольного гепатита у крыс вызывает угнетение гидроксирования и конъюгации желчных кислот.

Ключові слова: алкогольне ураження печінки, налоксон, кон'югація жовчних кислот, гідроксилування жовчних кислот.

Залучення опіоїдних структур до розвитку алкогольної залежності та пов'язаних з нею порушень функцій організму підтверджується низкою наукових досліджень [7-9]. Такий взаємозв'язок обумовлює використання блокаторів опіоїдних рецепторів у лікуванні алкогольної патології [7, 10]. Встановлено також, що ендogenous опіоїдні пентапептиди – енкефаліни запобігають викликаному етанолом зменшенню концентрації холатів у жовчі та стимулюють пригнічені етанолом процеси гідроксилування і кон'югації жовчних кислот у гепатоцитах [2, 5]. Метою цієї роботи стало виявлення ефектів неспецифічного блокатора опіоїдних рецепторів налоксону на гідроксилування та кон'югацію жовчних кислот у печінці щурів із експериментальним алкогольним гепатитом.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Досліди проведені на безпородних білих щурах (самця) масою 170-230 г. У дослідях застосовано неспецифічний блокатор опіоїдних рецепторів налоксон (Sigma, USA) і етанол ("Фармація", Україна). Експериментальний алкогольний гепатит у щурів моделювали за рекомендованою методикою [3]. Тварини контрольної групи впродовж 7 діб отримували внутрішньощлунково воду (7 мл/кг маси тіла тварини) та внутрішньочеревні ін'єкції фізіологічного розчину (100 мкл/кг маси тіла тварини). Для моделювання експериментального алкогольного гепатиту щурам впродовж тижня натще

внутрішньощлунково вводили етанол (40%-й розчин) у дозі 7 мл/кг, а також робили внутрішньочеревні ін'єкції фізіологічного розчину. Налоксон застосовували внутрішньочеревно (100 мкг/кг маси тіла тварини у 100 мкл фізіологічного розчину) впродовж тижня одночасно із внутрішньощлунковим введенням H₂O або етанолу у вищезазначених дозах.

Півгодинні проби жовчі збирали протягом 1,5 годин через канюльовану жовчну протоку у гострих дослідах. Для наркотизації тварин використовували тіопентал натрію у дозі 50 мг/кг маси тіла тварини введений внутрішньочеревно. В зібраних пробах жовчі визначали за допомогою тонкошарової хроматографії концентрацію жовчних кислот [4]. Коефіцієнт кон'югації жовчних кислот розраховували як співвідношення сумарної концентрації кон'югованих холатів до вільних. Інтенсивність процесів гідроксилування жовчних кислот оцінювали, розраховавши співвідношення сумарної концентрації тригідроксихоланових жовчних кислот до дигідроксихоланових.

Експериментальні дані статистично обробляли за допомогою пакету програм STATISTICA 5.0 (фірма Stat Soft, USA) з використанням критеріїв Ст'юдента при нормальному розподілі. Вірогідними вважалися відмінності між даними при $p < 0,05$ [1].

При роботі дотримувалися вимог Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують із експериментальною та науковою метою (Страсбург, 1986).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У тварин з експериментальним алкогольним гепатитом спостерігалось пригнічення гідроксилування жовчних кислот у гепатоцитах, що відображалось у зниженні коефіцієнту гідроксилування на 12,45 – 14,59 % ($p < 0,05$) (Таблиця 1). Тижневе навантаження налоксоном, навпаки, викликало збільшення коефіцієнту гідроксилування, а отже при блокаді опіоїдних рецепторів

стимулювалася біотрансформація дигідроксихоланових кислот до тригідроксихоланових (Таблиця 1). Однак, введення налоксона щурам одночасно із моделюванням у них алкогольного гепатиту не сприяло посиленню гідроксилування холатів, відповідно коефіцієнт гідроксилування виявлявся на 12,02 – 23,38 % ($p < 0,05$) нижчим від контрольних значень (таблиця 1).

Таблиця 1

Співвідношення тригідроксихоланових кислот до дигідроксихоланових ($M \pm Std.Dev.$) у жовчі щурів при блокаді опіоїдних рецепторів налоксоном в умовах експериментального алкогольного гепатиту

Проби жовчі (час досліду)	Експериментальна модель та застосовані речовини			
	Контроль (вода, фізіологічний розчин)	Алкогольне навантаження (етанол, фізіологічний розчин)	Блокада опіоїдних рецепторів (вода, налоксон)	Блокада опіоїдних рецепторів при алкогольному навантаженні (етанол, налоксон)
1 (30 хв)	2,31±0,17	2,32±0,53	2,54±0,28	1,77±0,35*
2 (60 хв)	2,33±0,14	1,99±0,24*	2,60±0,19*	2,06±0,26
3 (90 хв)	2,33±0,10	2,04±0,20*	2,53±0,28	2,05±0,22*

Примітки: *- $p < 0,05$, – щодо контролю.

Оскільки гідроксилування дигідроксихоланових жовчних кислот відображає певною мірою синтетичні процеси в гепатоцитах можна стверджувати, що налоксон в умовах експериментального алкогольного гепатиту сприяє алкогольіндукованому пригніченню утворення жовчних кислот в гепатоцитах.

Кон'югація жовчних кислот із таурином і гліцином у клітинах печінки щурів при експериментальному

алкогольному гепатиті істотно не змінювалася порівняно із контролем (таблиця 2). Не виявлено статистично значимих змін коефіцієнта кон'югації і при тижневому введенні щурам налоксона. Але при застосуванні блокатора опіоїдних рецепторів в умовах експериментального алкогольного гепатиту відмічалось зменшення коефіцієнта кон'югації, що може вказувати на пригнічення процесів зв'язування вільних холатів із таурином і гліцином (таблиця 2).

Таблиця 2

Коефіцієнт кон'югації жовчних кислот ($M \pm Std.Dev.$) жовчі щурів при блокаді опіоїдних рецепторів налоксоном в умовах експериментального алкогольного гепатиту

Проби жовчі	Експериментальна модель та застосовані речовини			
	Контроль (вода, фізіологічний розчин)	Алкогольне навантаження (етанол, фізіологічний розчин)	Блокада опіоїдних рецепторів (вода, налоксон)	Блокада опіоїдних рецепторів при алкогольному навантаженні (етанол, налоксон)
1 (30хв)	22,34±4,83	20,73±4,83	17,53±3,24	16,55±2,46*
2 (60хв)	22,14±2,13	20,49±2,13	22,89±4,93	19,40±2,93
3 (90хв)	22,79±5,07	23,99±5,07	34,35±9,32	21,82±3,63

Примітки: *- $p < 0,05$, – щодо контролю.

Зменшення інтенсивності кон'югації жовчних кислот веде до погіршення їх розчинності (зокрема, при низьких рН), може спровокувати преципітацію холатів іонами кальцію та викликати їх надмірне проникнення через клітинні мембрани [6]. Окрім того пригнічення процесів кон'югації із такими високополярними сполуками як таурин і гліцин вказує також на послаблення одного із способів біологічної трансформації інших ендо- і екзогенних сполук. А

отже може бути свідченням порушення дезінтоксикаційної функції печінки під впливом налоксона в умовах експериментального алкогольного гепатиту. Слід відзначити також, що згідно даних [11] у щурів із експериментальним цирозом печінки блокада опіоїдних рецепторів значно слабше зменшувала посилене споживання етанолу порівняно із тваринами, які не мали вказаної патології печінки. Вище вказане ставить під сумнів доцільність

використання налоксону при лікуванні алкогольної залежності, яка супроводжується захворюваннями печінки.

ВИСНОВОК

Застосування неспецифічного блокатора опіоїдних рецепторів налоксону при моделюванні експериментального алкогольного гепатиту викликає пригнічення процесів гідроксилювання та кон'югації жовчних кислот у клітинах печінки щурів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гойко О.В. Практичне використання пакета STATISTIKA для аналізу медико-біологічних даних: Навч. посіб. / О.В. Гойко. – Київ: Київська медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, 2004. – 76 с.

2. Картіфузова Ж.В. Вплив опіоїдних 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. // Фізика живого. – 2008. – Т.16, №1. – С.120-127.

3. Методические рекомендации по экспериментальному изучению желчегонной, холеспазмолитической, холелитазной и гепатопротектарной активности новых лекарственных средств / С.М. Дроговоз, С.И. Сальникова, Н.П. Скаун, В.В. Слышков. – К.: ФКМЗ Украины, 1994. – 46с.

4. Патент 99031324, Україна, МБН А61В5/14. Спосіб підготовки проб біорідин для визначення вмісту речовин ліпідної природи: Пат. 99031324 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.

5. Решетнік Є. М. Зміни характеристик жовчі при дії енкефалінів в умовах експериментального алкогольного гепатиту // Загальна патологія і патологічна фізіологія. – 2010. – Т.5, №3. – С.100-104.

6. Яковенко Э.П. Нарушение механизмов желчеобразования и методы их коррекции // Сучасна гастроентерологія. – 2003. – №4. – С.8-15.

7. Ciccocioppo R. Effect of Selective Blockade of m_1 or μ Opioid Receptors on Reinstatement of Alcohol-Seeking Behavior by Drug-Associated Stimuli in Rats / Ciccocioppo R., Martin-Fardon R., Weiss F. // Neuropsychopharmacology. – V. 27, Issue 3. – P.391–399.

8. Gremel C.M. Blockade of opioid receptors in anterior cingulate cortex disrupts ethanol-seeking behavior in mice / Gremel C.M., Young E.A., Cunningham C. L. // Behav Brain Res. – 2011. – V.219, №2. – P.358-62.

9. Pastor R. The Role of Opioid Receptor Subtypes in the Development of Behavioral Sensitization to Ethanol / Pastor R., Aragon C. M. G. // Neuropsychopharmacology. – 2006. – V.31. – P.1489–1499.

10. Sincler J.D. Evidence about the use of naltrexone and for different ways of using it in the treatment of alcoholism // Alcohol & Alcoholism. – 2001. – V.36, №1. – P.2-10.

11. Stasiak A. High voluntary alcohol consumption, in experimental liver cirrhosis, is hardly responsive to opioid antagonist treatment / Stasiak A., Fogel W. A. // Journal of Physiology and Pharmacology. – 2008. – V.59, №1. – P.101-114.