

УДК 573.3

ХАРАКТЕРИСТИКА СПІВВІДНОШЕННЯ ЖОВЧНИХ КИСЛОТ В ЖОВЧІ СОБАК ТА ЩУРІВ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ПРОСТАГЛАНДИНУ $F_{2\alpha}$

Можеїтова О.А., Нурищенко Н.Є., Горенко З.А., Карбовська Л.С., Лященко Т.П.

*НДІ фізіології імені академіка Петра Богача Київського національного університету
імені Тараса Шевченка
e-mail: agata30@ukr.net*

Надійшла до редакції 19.09.2009

В умовах хронічних дослідів на собаках і гострих спробах на щурах досліджено вплив простагландину $F_{2\alpha}$ на жовчоутворювальну функцію печінки. Показано, що простагландин $F_{2\alpha}$ в гострих дослідів на щурах стимулює процеси кон'югації жовчних кислот як з таурином, так і з гліцином при зменшенні концентрації вільних жовчних кислот в секреті, а також змінює інтенсивність процесів гідроксилювання в гепатоцитах. В умовах хронічних дослідів на собаках простагландин $F_{2\alpha}$ суттєво збільшує концентрацію вільних жовчних кислот в жовчі, що призводить до зменшення коефіцієнта кон'югації. Коефіцієнт гідроксилювання зменшується щодо контрольних значень внаслідок більш суттєвого зростання концентрації диоксихоланових жовчних кислот.

Ключевые слова: простагландин $F_{2\alpha}$, жовчні кислоти, коефіцієнт кон'югації, коефіцієнт гідроксилювання.

ВСТУП

Простагландини – це універсальні біологічні регулятори, котрі задіяні в чисельних фізіологічних функціях як на системному, міжорганному, так і на тканинному, а також на між- та внутрішньоклітинному рівнях, в тому числі в регуляції експресії певних генів, а печінка, в свою чергу, є місцем синтезу і деградації всіх ейкозаноїдів [1, 11,4]. Дані джерел літератури свідчать, що мРНК простаноїдних рецепторів експресується в усіх паренхіматозних і не паренхіматозних клітинах печінки, де EP, EP рецептори розташовані з певною зональністю [8]. Так, велика кількість рецепторів простагландину $F_{2\alpha}$ виявляється в перипортальних зонах печінкової часточки порівняно з перивенозними зонами. Відмітимо, що перипортальні зони надзвичайно важливі для здійснення процесів біліарної екскреції органічних аніонів і жовчних кислот [9]. За даними літератури при застосуванні синтетичних аналогів простагландину $F_{2\alpha}$ спостерігаються різноспрямовані ефекти на жовчосекреторну функцію печінки. Так, було показано, при інфузії простагландину $F_{2\alpha}$ у ворітну вену зростає рівень холерезу та секреція хлоридів і бікарбонатів [10]. Результати досліджень Weidenbach et al.(1996р.) демонструють зменшення як об'єму секреції жовчі, так і вмісту в ній жовчних кислот після внутрішньопортального застосування простагландину $F_{2\alpha}$ [12]. Отже натепер в літературних джерелах немає єдиної думки щодо дії ейкозаноїду

на окремі ланки жовчоутворення. Тому метою нашої роботи було дослідити вплив простагландину $F_{2\alpha}$ на спектр жовчних кислот в жовчі собак та щурів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Хронічні дослідів проводились на беспородних собаках обох статей масою 12-19 кг з вживленою У-подібною комбінованою холецистодуоденальною фістульною трубкою при двічі перев'язаній і перерізаній загальній жовчній протоці [2]. Спроби проводились на голодних (18-20 годин після останньої годівлі) собаках, в один і той же час доби – з 10 до 14 години, що запобігало можливим похибкам в оцінці отриманих результатів, пов'язаних із впливом добового обмінного ритму на холерез. Простагландин $F_{2\alpha}$ (ензапрост-Ф; ХІНОІН Будапешт, Угорщина) вводився внутрішньодуоденально в дозі 1 мкг/кг маси тіла в 5 мл H_2O dest (рН 7,39). Впродовж дослідів збирали шість півгодинних проб. Контролем слугували дослідів з внутрішньодуоденальним введенням відповідного об'єму та рН дистильованої води.

Гострі спроби проводилися на самцях білих лабораторних щурів масою 180-220 г. Перед дослідом тварини голодували протягом доби з вільним доступом до води. Після наркотизації тіопенталом (5 мг/100 г маси тіла, КМП ВАТ, Україна) тваринам проводили лапаротомію і у

відпрепаровану загальну жовчну протоку вводили пластикову канюлю для збору жовчі. Тваринам контрольної групи (n=6) у ворітну вену через катетер вводили фізіологічний розчин з розрахунку 0,1 мл на 100 г маси тіла тварини. Експериментальній групі тварин (n=6) внутрішньопортально в тому ж об'ємі фізіологічного розчину вводили простагландин $F_{2\alpha}$ в дозі 1 мкг на 100 г маси тіла тварини.

Експерименти були проведені відповідно до існуючих міжнародних вимог і норм гуманного відношення до тварин. (Страсбург, 1986 р.; Закон України від 21.02.2006р. № 3447- IV).

В кожній відібраній пробі жовчі за допомогою тонкошарової хроматографії визначали концентрацію окремих жовчних кислот [3].

Коефіцієнт кон'югації розраховували як співвідношення сумарних кон'югованих (сума концентрацій таурохолевої, таурохенодезоксихолевої і тауродезоксихолевої кислот, глікохолевої та глікохенодезоксихолевої і глікодезоксихолевої кислот) до сумарних вільних жовчних кислот (сума концентрацій холевої, хенодезоксихолевої та дезоксихолевої кислот). Коефіцієнт гідроксилювання вираховувався як співвідношення сумарних триоксихоланових кислот (сума концентрацій таурохолевої, глікохолевої та холевої кислот) до сумарних диоксихоланових (сума концентрацій таурохенодезоксихолевої і тауродезоксихолевої, глікохенодезоксихолевої і глікодезоксихолевої, хенодезоксихолевої та дезоксихолевої кислот) жовчних кислот.

Для оцінки значущості відмінностей між виборками з розподілом, що наближається до нормального, котре оцінювалось за тестом Шапіро-Уїлка, використовувався t-критерій Стьюдента. Критичний рівень значущості при перевірці статистичної гіпотези приймався рівним 0,05.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Важливим показником функціонального стану печінки є співвідношення триокси- та диоксихоланових кислот в жовчі, яке відображає інтенсивність процесів гідроксилювання в печінці. Співвідношення гліко- і таурокон'югованих жовчних кислот залежить від виду тварин, статі, віку, характеру харчування, гормонального стану. У більшості ссавців спостерігається збільшений вміст глікохолатів у жовчі, оскільки у хребетних тварин гліцин синтезується в організмі, в той час як таурин є умовно незамінною амінокислотою, ендогенний синтез її незначний, а надходження з їжею обмежено. На противагу цьому у щурів кількість таурокон'югатів переважає над

глікокон'югатами, що є їх видовою особливістю. У собак глікокон'югати в жовчі відсутні взагалі, оскільки у них в ході еволюції редукувалась ферментна ланка, котра поєднує жовчні кислоти з гліцином. Таким чином, результати отримані в гострих спробах та за умов хронічного дослідження різних видах тварин відображають найбільш об'єктивну картину впливу будь-якого регулятора, зокрема простагландину $F_{2\alpha}$, на жовчосекреторну функцію печінки.

Вплив простагландину $F_{2\alpha}$ на жовчоутворювальну функцію печінки у собак

Результати наших досліджень показали, що у жовчі собак під впливом простагландину змінювалась концентрація жовчних кислот (Таб.1). Так, концентрація сумарних таурохоланових кислот в усіх півгодинних пробах жовчі збільшувалась щодо контролю, маючи такі статистично значущі відмінності: в першій пробі на 21% ($p<0,001$), в другій на 24% ($p<0,001$), в третій та четвертій на 9% в кожній ($p<0,001$; $p<0,05$), в п'ятій на 7% ($p<0,01$), в шостій на 15% ($p<0,001$). Концентрація вільних жовчних кислот при застосуванні регулятора також збільшувалась, досягаючи статистично значущих відмінностей в 1-й (на 62%, $p<0,001$), 2-й (на 62%, $p<0,001$) та 3-й (на 31%, $p<0,05$) пробах жовчі щодо контролю. Такі зміни концентрації компонентів жовчі призводять до зменшення коефіцієнту кон'югації у наших спробах за рахунок збільшення частки вільних жовчних кислот в секреті.

Порівняльний аналіз даних контролю і спроб із застосуванням простагландину $F_{2\alpha}$ показав збільшення концентрації як триоксихоланових, так і диоксихоланових кислот в секреті (Таб. 2).

Достовірно значущі відмінності вмісту триоксихоланових кислот були отримані в 1-й та 2-й (в кожній на 20%, $p<0,001$), в 3-й (на 8%, $p<0,01$), в 4-й (на 6%, $p<0,05$) та 6-й (на 10%, $p<0,01$) пробах. Концентрація диоксихоланових кислот збільшувалась в першій пробі на 36% ($p<0,001$), в другій на 44% ($p<0,001$), в третій на 17% ($p<0,01$), в четвертій на 15% ($p<0,05$), в шостій на 19% ($p<0,05$) щодо контрольних значень. Такі зміни показників концентрації зумовили зменшення коефіцієнта гідроксилювання, що відбулось за рахунок збільшення міліграм відсоткового вмісту диоксихоланових кислот в секреті.

Отже, отримані нами дані свідчать, що за умов хронічного дослідження під впливом простагландину $F_{2\alpha}$ суттєво збільшується концентрація вільних жовчних кислот в секреті, та інтенсифікуються процеси кон'югації жовчних кислот з таурином, а також змінюється інтенсивність процесів гідроксилювання в гепатоцитах.

Таблиця 1

Зміни коефіцієнта кон'югації та концентрації жовчних кислот в жовчі собак за умов дії простагландину F_{2α} (1 мкг на 100 г маси тіла)

(*n=12; M±m; * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001 щодо контролю*)

	№ проби	Серія дослідів	
		Контроль	Простагландин F _{2α}
Концентрація сумарних кон'югованих жовчних кислот, мг%	1	2436,5±95,7	2971,9±84,6 ***
	2	2389,4±76,9	2970,8±58,7 ***
	3	2545,6±48,9	2790,9±52,5 ***
	4	2424,7±50,1	2643,9±64,8 *
	5	2366,1±39,8	2541,7±43,9 **
	6	2120,9±58,7	2455,04±53,2 ***
Концентрація сумарних вільних жовчних кислот, мг%	1	196,8±8,1	320,01±16,8 ***
	2	204,5±6,9	333,1±17,8 ***
	3	218,7±8,5	287,9±23,3 *
	4	219,6±9,4	248,5±21,3
	5	231,7±9,9	217,6±19,5
	6	216,9±9,1	187,5±17,2
Коефіцієнт кон'югації	1	12,4	9,3
	2	11,7	8,9
	3	11,6	9,7
	4	11,04	10,6
	5	10,2	11,7
	6	9,8	13,1

Таблиця 2

Зміни коефіцієнта гідроксилювання та концентрації жовчних кислот в жовчі собак за умов дії простагландину F_{2α} (1 мкг на 100 г маси тіла)

(*n=12; M±m; * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001 щодо контролю*)

	№ проби	Серія дослідів	
		Контроль	Простагландин F _{2α}
Концентрація триоксихоланових жовчних кислот, мг%	1	1874,8±44,8	2253,6±55,9 ***
	2	1865,6±40,7	2248,8±44,8***
	3	1972,71±31,5	2146,4±33,1**
	4	1910,63±31,4	2038,7±40,6*
	5	1892,02±16,3	1976,4±38,4
	6	1719,26±40,9	1901,3±37,1**
Концентрація диоксихоланових жовчних кислот, мг%	1	759,7±47,4	1038,3±40,1***
	2	728,32±35,5	1055,1±33,4***
	3	793,3±30,4	933,4±30,7**
	4	737,2±30,5	853,7±30,3*
	5	709,6±28,6	782,9±25,1
	6	621,89±27,7	741,4±30,4*
Коефіцієнт гідроксилювання	1	2,5	2,2
	2	2,6	2,1
	3	2,5	2,3
	4	2,6	2,4
	5	2,7	2,5
	6	2,8	2,6

Таблиця 4

Зміни коефіцієнта кон'югації та концентрації жовчних кислот в жовчі щурів при дії простагландину F_{2α}
(1 мкг на 100 г маси тіла)

(n=12; M±m; * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001 щодо контролю)

	№ проби	Серія дослідів	
		Контроль	Простагландин F _{2α}
Концентрація сумарних кон'югованих жовчних кислот, мг%	1	419,1±2,02	427,3±3,5
	2	410,1±2,4	439,1±4,3 **
	3	394,7±3,5	443,1±7,1 **
	4	379,2±2,8	439,3±6,9 ***
	5	370,3±2,8	431,1±2,1***
Концентрація сумарних вільних жовчних кислот, мг%	1	31,3±0,8	22,3±2,5 *
	2	34,1±2,1	18,3±1,8 **
	3	30,9±2,2	14,2±1,1 **
	4	27,4±2,3	10,7±0,6 **
	5	27,5±1,3	11,1±1,1 ***
Коефіцієнт кон'югації	1	13,4	19,2
	2	12,0	23,9
	3	12,8	31,3
	4	13,8	40,9
	5	13,5	38,8

Таблиця 4.

Зміни коефіцієнта гідроксилювання та концентрації жовчних кислот в жовчі щурів за умов дії простагландину F_{2α}
(1 мкг на 100 г маси тіла)

(n=12; M±m; * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001 щодо контролю)

	№ проби	Серія дослідів	
		Контроль	Простагландин F _{2α}
Концентрація сумарних триоксихоланових жовчних кислот, мг%	1	297,5±2,9	319,3±1,9
	2	318,3±4,1	321,1±0,2
	3	307,7±3,3	314,1±3,6
	4	296,6±4,01	304,8±2,6
	5	290,3±4,6	301,1±2,3
Концентрація сумарних диоксихоланових жовчних кислот, мг%	1	127,8±5,7	130,3±1,1
	2	125,8±4,5	136,3±2,5
	3	117,9±4,7	142,8±4,8 *
	4	109,7±4,6	145,2±4,9 **
	5	107,5±3,6	141,1±3,01 ***
Коефіцієнт гідроксилювання	1	2,3	2,5
	2	2,5	2,4
	3	2,6	2,2
	4	2,7	2,1
	5	2,7	2,1

Зміни хімічного складу жовчі у щурів при дії простагландину F_{2α}

Як показали результати наших досліджень після внутрішньопортального введення регулятора в жовчі щурів збільшувалась концентрація сумарних кон'югованих жовчних кислот (Таб.3). Статистично значущими ці зміни були в 2-й (на 7%, p<0,01), в 3-й (на 12%, p<0,01), 4-й (на 15%,

p<0,001) та 5-й (на 16%, p<0,001) пробах щодо контролю.

При цьому, відразу після введення простагландину F_{2α} концентрація таурохолатів була дещо меншою за таку глікохолатів, а в 4-й та 5-й пробах незначно перевищувала показники останньої. Зміни коефіцієнту кон'югації

відбувались за рахунок зниження щодо контрольних значень концентрації вільних жовчних кислот в першій (на 29%, $p < 0,05$) другій (на 47%, $p < 0,01$), третій (на 55%, $p < 0,01$), четвертій (на 61%, $p < 0,01$) та п'ятій (на 60%, $p < 0,001$) пробах після введення речовини. Отже, під впливом простагландину F_{2α} коефіцієнт кон'югації збільшувався за рахунок зниження концентрації вільних жовчних кислот.

Показники концентрації сумарних триоксихоланових жовчних кислот впродовж дослідів збільшувались незначно, проте статистично значущими ці зміни не були (Таб.4).

Після застосування простагландину також збільшувався вміст сумарних диоксихоланових кислот, досягаючи статистично значущих відмінностей щодо контролю в 3-й (на 21%, $p < 0,05$), 4-й (на 32%, $p < 0,01$) та 5-й (на 31%, $p < 0,001$) пробах. Таким чином, коефіцієнт гідроксилування зменшувався впродовж дослідів, що відбулось за рахунок збільшення вмісту сумарних диоксихоланових кислот в жовчі.

Отже, в гострих спробах на щурах нами отримані дані, котрі свідчать, що простагландин F_{2α} стимулює процеси кон'югації як з таурином, так і з гліцином, зменшує вміст вільних жовчних кислот в секреті та впливає на інтенсивність процесів гідроксилування в печінці.

За даними літератури у щурів за умов інфузії простагландину F_{2α} у ворітну вену було отримано зниження концентрації жовчних кислот в жовчі [5,6]. Іншими авторами [12] після п'яти хвилинної інфузії простагландину F_{2α} у v. portae були отримані аналогічні результати (зниження рівня холерезу, концентрації жовчних кислот в секреті). Однак, ці дані є малоінформативними, оскільки цими дослідниками визначалися не всі компоненти жовчі. Використання нами методу тонкошарової хроматографії дозволяє розділити концентрацію гліко- і таурохолати, триокси- та диоксихоланові жовчні кислоти в секреті та порівняти зміни їх концентрацій, а отже зробити більш обґрунтовані висновки щодо впливу простагландину F_{2α} на холерез. В гострих дослідів на щурах ми спостерігали суттєве зниження концентрації вільних жовчних кислот, однак така кон'югованих в жовчі зростала. Наприкінці дослідів частка таурохолатів в жовчі була більшою за таку глікохолатів. Під впливом простагландину F_{2α} також статистично значущо зростала концентрація диоксихолатів. Такі зміни показників концентрації жовчних кислот свідчать про стабілізацію колоїдної стійкості жовчі, оскільки збільшення співвідношення триоксихолати/диоксихолати та зменшення вмісту кон'югованих жовчних кислот є показниками збільшення літогенності жовчі.

За умов 20 хвилинної інфузії простагландину F_{2α} в яремну вену собакам Kaminski et al. (1980 р.) отримали збільшення вмісту жовчних кислот в секреті [10]. В наших спробах в жовчі собак значно зростав рівень вільних жовчних кислот та посилювались процеси кон'югації останніх з таурином. Частка триоксихоланових кислот в жовчі собак зменшувалась, порівняно з такою диоксихоланових.

Натепер відомо, що простагландин F_{2α} реалізує свої ефекти як через власні FP рецептори так і через альтернативні EP1 та EP2 рецептори [7]. Тому цілком ймовірно припустити, що розбіжність в отриманих нами даних може залежати не тільки від виду тварин та шляху введення речовини, але й від типу залучених до відповіді рецепторів. Таким чином, простагландин F_{2α} може по-різному впливати на жовчосекреторну функцію печінки, збільшуючи або зменшуючи секрецію диоксихоланових та триоксихоланових жовчних кислот, стимулюючи або пригнічуючи процеси кон'югації жовчних кислот з амінокислотами.

Література

1. Варфоломеев С.Д. Простагландины – новый тип биологических регуляторов // Соровский обозревательный журнал. – 1996, № 1. - С.40-47.
2. Лященко П.С. К методике исследования внешнесекреторной функции печени у собак. Физиол. журн. СССР. – 1975. - Т.61 (12). – С. 1891-1893.
3. Способ определения желчных кислот в биологической жидкости: А.с. 4411066/14 СССР, МБИ G 01 N 33/50 / С.П.Весельский, П.С.Лященко, И.А.Лукьяненко (СССР). - № 1624322; Заявлено 25.01.1988; Опубл.30.01.1991, Бюл.№
4. Хворостинка ВМ., Колесникова О.В., Цивенко О.Т. Порівняльний вміст простагландинів, стероїдних гормонів і показників ліпідного обміну у хворих на хронічний гепатит та цироз печінки // Сучасна гастроентерологія. – 2004, № 5. – С.37-40.
5. Beckh K., Kneip S., Arnold R. Direct regulation of bile secretion by prostaglandins in perfused rat liver // J. Hepatol. – 1994. – Vol.19(5). – P.1208-1213.
6. Bedrick A.D., Wells M.A., Ford D.L., Koldovsky O. Intact biliary excretion of gastricacally administered prostaglandin F2 alpha in rats: developmental differences // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 1987. – Vol.253. – P.787-792.
7. Carina L. Bos, Dick J. Richel, Tita Ritsema, Maikel P. Peppelenbosch, Henri H. Versteeg. Prostanoids and prostanoid receptors in signal transduction // Internation J. Biochemistry & Cell Biology. – 2004. – Vol.36. – P.1187-1205.
8. Fennekohl A., Puschel G., Jungermann K., Schieferdecker H. Differential expression of prostanoid receptors in hepatocytes, Kupffer cells, sinusoidal endothelial cells and stellate cells of rat liver // J. Hepatol. – 1999. - Vol.30. - P.38-47.

9. *Gumucio J.J., Balabaud C., Miller D.L., DeMason L.J., Appelman H.D., Stoecker T.J., Franzblau D.R.* Bile secretion and liver cell heterogeneity in the rat // *J Lab Clin Med.* – 1978. – Vol.91(2). – P.350-362.
10. *Kaminski D.L., Deshpande Y.G.* Evaluation of the role of the F prostaglandins in canine bile flow // *J Prostaglandins.* – 1980. – Vol.20 (2). – P.373-382.
11. *Kmiec Z.* Cooperation of liver cells in health and disease // *Adv. Anat. Embryol. Cell Biol.* – 2001. – Vol.161. – P.149-151.
12. *Weidenbach H., Scheibner J., Stange E., Adler G., Beckh K.* Reduction of bile secretion by prostaglandins in the rat in vivo // *Life Science.* – 1996. – Vol.58. – P.1531-1538.

ХАРАКТЕРИСТИКА СООТНОШЕНИЯ ЖЕЛЧНЫХ КИСЛОТ В ЖЕЛЧИ СОБАК И КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ ПРОСТАГЛАНДИНА F_{2α}

Можеїтова А.А., Нурищенко Н.Э., Горенко З.А., Карбовская Л.С., Лященко Т.П.

В условиях хронических опытов на собаках и острых опытов на крысах исследовали влияние простагландина F_{2α} на желчеобразовательную функцию печени. Показано, что простагландин F_{2α} в острых опытах на крысах стимулирует процессы конъюгации желчных кислот как с таурином, так и с глицином при уменьшении концентрации свободных желчных кислот в секрете, а также изменяет интенсивность процессов гидроксилирования в гепатоцитах. В условиях хронических опытов на собаках простагландин F_{2α} существенно увеличивает концентрацию свободных желчных кислот в желчи, что приводит к уменьшению коэффициента конъюгации. Коэффициент гидроксилирования уменьшается по сравнению с контролем в следствие более существенного возрастания концентрации диоксихолановых желчных кислот.

Ключевые слова: простагландин F_{2α}, желчные кислоты, коэффициент конъюгации, коэффициент гидроксилирования.

DESCRIPTION OF THE CORRELATION BILE ACIDS AFFECTED BY PROSTAGLANDIN F_{2α}

Mozheitova O.A., Nuryschenko N.E., Gorenko Z.A., Karbovska L.S., Lyaschenko T.P.

In the chronic experiments on dogs and in acute experiments on rats the role of prostaglandin F_{2α} in bile formation was studied. In rats prostaglandin F_{2α} was shown to stimulate bile acids conjugation both with taurine and glycine while reduce free bile acids concentration and also to change the hydroxylation processes in hepatocytes. In dogs prostaglandin F_{2α} significantly increases concentration of free bile acids that leads to the decrease of conjugation ratio. Hydroxylation ratio is down regulated comparable to the control probes because of more intensive elevation of dihydroxycholates concentration.

Key words: prostaglandin F_{2α}, bile acids, conjugation ratio, hydroxylation ratio
