

КИЇВСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені ТАРАСА ШЕВЧЕНКА  
НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ

На правах рукопису

ДОЛГОВА Олена Миколаївна · *ДЕН*

СЕКРЕТОРНА ФУНКЦІЯ ПЕЧІНКИ ПРИ ДІЇ ЖОВЧНИХ  
КИСЛОТ

03.00.13 - фізіологія людини і тварин

АВТОРЕФЕРАТ  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата біологічних наук

Київ-1997



Робота виконана у Науково-дослідному інституті фізіології  
Київського університету імені Тараса Шевченка

Науковий керівник: доктор біологічних наук  
Масюк А.І.

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук  
Алекссєва І.М.

доктор біологічних наук  
Лященко П.С.

Провідна організація: Національний медичний університет  
ім. О.О. Богомольця

Захист відбудеться "21" *квітня* 1997 р. о 14 год. на  
засіданні спеціалізованої вченої ради Д.01.01.10 при Київському  
університеті імені Тараса Шевченка за адресою 252022, Київ-22,  
проспект Глушкова, 2, НДІ фізіології, кімн.503.

Відгуки на автореферат дисертації надсилати за адресою:  
252033, Київ-33, вул. Володимирська, 64.

З дисертацією можна ознайомитися у науковій бібліотеці  
Київського університету імені Тараса Шевченка за адресою:  
Київ-33, вул. Володимирська, 58.

Автореферат розісланий "20" *березня* 1997 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради  
кандидат біологічних наук *Гушч* Г.П. Гушчєнєв

AB 37.78

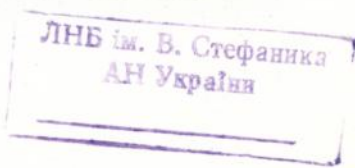
## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність проблеми. Регуляція секреторної функції печінки здійснюється за участю значної кількості ендогенних регуляторів різної молекулярної природи, до яких належать і жовчні кислоти.

За існуючими уявленнями (Nathanson, Boyer, 1991; Erlinger, 1992; Boyer, 1996), жовчні кислоти, будучи осмотично-активними речовинами, обумовлюють транспатоцелюлярне надходження води із крові у жовчні каналікули, тобто інтенсивність секреції первинної (каналікулярної) жовчі. Однак, як свідчать експериментальні дані, не лише осмотичні властивості жовчних кислот відіграють важливу роль у механізмах секреції жовчі, оскільки, по-перше, різні жовчні кислоти істотно відрізняються між собою за фізико-хімічними (осмотичними) властивостями, проте виявляють схожі холеретичні властивості (Ганиткевич, 1980, 1984; Есипенко и соавт., 1983; Strange, 1984; Саратиков, Скакун, 1991); по-друге, жовчні кислоти, які знаходяться у складі везикул, за здатністю підтримувати осмотичний градієнт між жовчю і кров'ю відрізняються від жовчних кислот, які знаходяться у жовчі у вільному стані (Coleman, 1987; Coleman, Rahman, 1992); по-третє, наявна асинхронність у змінах інтенсивності секреції жовчі і жовчних кислот при дії на печінку різних фізіологічно-активних речовин, зокрема, регуляторних пептидів (Лященко и соавт., 1992, 1993; Лященко, 1993; Масюк і співавт., 1995).

Викладене вище дозволяє припустити, що жовчні кислоти є ендогенними регуляторами певних внутрішньоклітинних метаболічних процесів, активація або пригнічення яких приводить до змін інтенсивності секреції жовчі.

Дія жовчних кислот на печінку реалізується на різних рівнях внутрішньоклітинної регуляції метаболічних процесів (Beuers et al., 1995, 1996; Boyer, 1996; Poupon et al., 1996). Серед



них важливе значення мають внутрішньоядерні молекулярні процеси, зокрема, транскрипція, оскільки саме на цьому рівні здійснюється регуляторний вплив на гепатоцити різноманітних фізіологічно-активних речовин, в тому числі, гормонів, нейромедіаторів, регуляторних пептидів, продуктів метаболізму органічних сполук тощо. Встановлено, що жовчні кислоти теж здатні регулювати транскрипційну активність різних генів клітин печінки, зокрема, холестерин 7 $\alpha$ -гідроксилази і стерин 27-гідроксилази (Chiang et al., 1995; Stravitz et al., 1995; Vlahcevic, 1995; Vlahcevic et al., 1996).

Відомо також, що дія жовчних кислот на деякі метаболічні процеси в гепатоцитах, зокрема, на біосинтез ендогенних жовчних кислот, залежить від іонів гідрокарбонату (Davis et al., 1988; Duane et al., 1988). Останні відіграють важливу роль в механізмах секреції жовчі (Scharshmidt, van Dyke, 1983; Meier et al., 1987; Boyer, Soroka, 1995). Можливо, збільшення або зменшення їх концентрації в клітинах печінки є тим важливим фактором, який обумовлює характер холеретичних ефектів жовчних кислот.

Проте, цілеспрямованих експериментальних досліджень, які б свідчили про регуляцію секреції жовчі жовчними кислотами на рівні метаболічних процесів в гепатоцитах, до початку нашої роботи не було. і тепер з цього питання є лише окремі публікації (Beuers et al., 1996).

Викладене вище обумовило мету і основні завдання дисертаційної роботи.

**Мета роботи** - визначити можливість регуляції секреторної функції печінки жовчними кислотами на рівні метаболічних процесів в гепатоцитах.

**Основні завдання роботи:**

- дослідити вплив різних за фізико-хімічними і фізіологічними властивостями жовчних кислот, а саме, холевої,

таурохолевої і урсодезоксихолевої за умов їх одноразової короткочасної внутрішньопортальної інфузії на інтенсивність секреції жовчі у щурів;

- вивчити вплив зазначених жовчних кислот на секрецію ендогенних жовчних кислот, ліпідів і білків;

- з'ясувати вплив екзогенних жовчних кислот на секрецію жовчі, ендогенних жовчних кислот, ліпідів і білків за наявності іонів гідрокарбонату;

- дослідити РНК-полімеразну активність ізольованих ядер клітин печінки при дії жовчних кислот.

Наукова новизна роботи. Вперше вивчена секреторна функція печінки при короткочасній одноразовій дії різних за фізико-хімічними властивостями жовчних кислот - холевої, таурохолевої і урсодезоксихолевої. Встановлено, що жовчні кислоти за умов їх внутрішньопортальної інфузії можуть як підсилювати, так і пригнічувати секрецію жовчі. Холеретичні/холестатичні ефекти жовчних кислот обумовлені їх фізико-хімічними властивостями, особливостями метаболічного перетворення в клітинах печінки, характером дії на внутрішньоклітинні регуляторні механізми.

Теоретичне і практичне значення роботи. Встановлені закономірності змін секреторної активності печінки при дії жовчних кислот розширюють існуючі уявлення про механізми регуляції секреції жовчі. Важливе теоретичне значення має висновок, що жовчні кислоти є ендогенними регуляторами функціональної активності клітин печінки і їх роль в механізмах регуляції секреції жовчі не обмежується осмотичними ефектами, а полягає у регуляції внутрішньоклітинних метаболічних процесів, які є основою механізмів секреції жовчі.

Практичний інтерес становлять дані про регуляцію секреторної функції печінки урсодезоксихолевою кислотою, препарати якої (урсофальк) широко використовуються в

клінічній практиці при лікуванні захворювань гепато-біліарної системи.

Основні положення, які вносяться на захист:

1. Роль жовчних кислот в механізмах регуляції секреторної функції печінки не обмежується їх осмотичними ефектами, а полягає у регуляції внутрішньоклітинних метаболічних процесів, які є основою механізмів секреції жовчі.

2. Холеретичні/холестатичні ефекти жовчних кислот обумовлені характером їх дії на метаболічні процеси, які забезпечують секрецію ендогенних жовчних кислот, ліпідів і білків, метаболічне перетворення екзогенних жовчних кислот в клітинах печінки.

3. Жовчні кислоти регулюють РНК-полімеразну активність ядер гепатоцитів, що свідчить про можливість реалізації їх холеретичних/холестатичних ефектів на рівні транскрипції.

Апробація роботи: Матеріали дисертації були викладені і обговорені на: XIV Всесоюзній конференції "Фізіологія травлення і всмоктування" (Тернопіль, 1986); XV з'їзді Всесоюзного фізіологічного товариства (Кишинів, 1987); Всесоюзній конференції "Секреція травних залоз в нормі і патології" (Андижан, 1988); XIV з'їзді Українського фізіологічного товариства (Київ, 1994); Першому Українському конгресі гастроентерологів (Дніпропетровськ, 1995); науковій конференції, присвяченій 100-річчю кафедри фізіології Львівського медичного університету (Львів, 1995); XIV Міжнародному конгресі з жовчних кислот (Фрайбург, 1996).

Обсяг і структура дисертації: Дисертація викладена на 159 сторінках машинопису і складається із вступу, огляду літератури, розділу, в якому описані матеріали і методи досліджень, двох розділів власних досліджень, обговорення результатів досліджень, висновків і списку цитованої літератури, що налічує

221 робота, з яких 35 - українською і російською мовами і 186 англійською. Робота ілюстрована 32 рисунками і 10 таблицями.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 15 наукових праць.

Особистий внесок дисертанта полягає у формулюванні мети і основних завдань роботи, проведенні експериментальних досліджень, обробці, аналізі і узагальненні одержаних результатів.

## ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проведені на 198 білих щурах (самцях) лінії Вістар масою 180-230 г у гострих спробах під тіопенталовим наркозом (5 мг/100 г). Перед дослідом тварини голодували протягом доби, доступ до води був вільним. У тварин розтинали черевну порожнину і у відпрепаровану загальну жовчну протоку вводили тонку металеву голку, з'єднану поліетиленою трубкою з мікропіпеткою. Інтенсивність секреції жовчі визначали через кожні 15 хв впродовж 4,5 годин досліду і розраховували в мкл/г печінки/хв.

Холеву, таурохолеву і урсодезоксихолеву кислоти інфузували внутрішньопортально у дозі 10 мкМ, актиноміцини Д у дозі 5 мкг на 100 г маси тіла. Швидкість інфузії - 50 мкл/хв, тривалість - 30 хвилин.

Жовчні кислоти визначали методом тонкошарової хроматографії на пластинках "Silufol" (Весельский и соавт., 1990). Вміст білків у жовчі визначали за Лоурі. Електрофорез білків жовчі здійснювали у 10% поліакріламідному гелі з 0,1% додецилсульфату натрію (Остерман, 1981). Ліпіди жовчі визначали за (Петровский и соавт., 1986). Секрецію жовчних кислот, білків і ліпідів розраховували у мкг/г печінки/хв.

Ізольовані ядра гепатоцитів отримували шляхом центрифугування гомогенатів печінки у 2,2 М розчині цукрози. РНК-полімеразну активність ізольованих ядер гепатоцитів визначали за (Марзлаф, Хуан, 1987). Холеву і таурохолеву кислоти додавали у середовище інкубації у концентраціях  $2,5 \times 10^{-9}$  -  $2,5 \times 10^{-6}$  М.

Загальну АТФазну активність клітин печінки визначали за методом, описаним (Масюк и соавт., 1989). Активність  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФази розраховували за різницею значень загальної АТФазної активності у середовищі з  $10^{-4}$  М овабаїном і без нього.

Статистичну обробку даних проводили з використанням критерію t Стьюдента.

### *Результати досліджень та їх обговорення*

Секреторна функція печінки при дії холевої і таурохолевої кислот. Інтенсивність секреції жовчі у тварин контрольної групи, яким внутрішньопортально впродовж 30 хв інфузували фізіологічний розчин із розрахунку 1мл на 100 г маси тіла, становила у середньому  $1,55 \pm 0,09$  мкл/г печінки/хв і практично не змінювалась впродовж п'яти годин досліду.

Холева кислота зменшувала секрецію жовчі під час інфузії з  $1,72 \pm 0,07$  до  $1,38 \pm 0,06$  мкл/г печінки/хв або на 19,8% ( $P < 0,01$ ).

Під час інфузії холевої кислоти її секреція збільшувалась з  $0,34 \pm 0,02$  до  $0,49 \pm 0,03$  мкг/г печінки/хв або на 44,1% ( $P < 0,001$ ), а впродовж третьої години після інфузії зменшувалась на 26,6% ( $P < 0,02$ ).

Секреція хенодезоксихолевої і дезоксихолевої кислот під час інфузії холевої кислоти збільшувалась з  $0,14 \pm 0,01$  до  $0,27 \pm 0,02$  мкг/г печінки/хв або на 92,9% ( $P < 0,001$ ), а потім зменшувалась до контрольного рівня.

Секреція таурохолевої кислоти збільшувалась під час інфузії холевої кислоти з  $2,70 \pm 0,18$  до  $3,84 \pm 0,2$  мкг/г печінки/хв або на 42,2% ( $P < 0,001$ ), поверталась до контрольного рівня

впродовж двох годин після інфузії, а впродовж третьої години - збільшувалась на 43,5% ( $P < 0,001$ ).

Секреція таурохенодезоксихолевої і тауродезоксихолевої кислот збільшувалась під час інфузії холевої кислоти з  $0,74 \pm 0,05$  до  $0,86 \pm 0,05$  мкг/г печінки/хв або на 16,2% ( $P < 0,05$ ), протягом першої години після інфузії зменшувалась на 22,9% ( $P < 0,02$ ) і поверталась до контрольних величин впродовж другої години досліджу.

Секреція глікохолевої кислоти збільшувалась під час інфузії холевої кислоти з  $1,86 \pm 0,13$  до  $3,16 \pm 0,2$  мкг/г печінки/хв або на 69,6% ( $P < 0,001$ ), а протягом другої години після інфузії перевищувала контроль на 18,9% ( $P < 0,05$ ).

Секреція гліксенодезоксихолевої і глікодезоксихолевої кислот збільшувалась під час інфузії холевої кислоти з  $0,22 \pm 0,01$  до  $0,50 \pm 0,03$  мкг/г печінки/хв або на 127% ( $P < 0,001$ ), протягом першої години після інфузії зменшувалась до контрольного рівня, а впродовж другої години збільшувалась на 54,8% ( $P < 0,001$ ).

Таким чином, при дії холевої кислоти за умов її внутрішньоопортальної інфузії секреція як вільних, так і кон'югованих жовчних кислот збільшувалась. Особливості секреції вільних і кон'югованих жовчних кислот впродовж досліджу свідчать, що холева кислота при дії на клітини печінки викликає зміни у метаболізмі ендогенних жовчних кислот і сама підлягає метаболічним перетворенням.

Зміни у секреції фосфоліпідів і вільних жирних кислот відбувалися під час інфузії холевої кислоти. Секреція фосфоліпідів зменшувалась з  $1,13 \pm 0,08$  до  $0,83 \pm 0,04$  мкг/г печінки/хв або на 26,6% ( $P < 0,001$ ), а секреція вільних жирних кислот - з  $0,66 \pm 0,03$  до  $0,51 \pm 0,02$  мкг/г печінки/хв або на 22,7% ( $P < 0,001$ ).

Зменшення секреції холестерину з  $0,56 \pm 0,03$  до  $0,46 \pm 0,02$  мкг/г печінки/хв або на 17,9% ( $P < 0,01$ ) відбувалось під час інфузії холевої кислоти і в перші 15 хв після інфузії.

Секреція ефірів холестерину, навпаки, збільшувалась з  $0,17 \pm 0,02$  до  $0,21 \pm 0,01$  мкг/г печінки/хв або на 23,5% ( $P < 0,05$ ) через 120 хв після інфузії холевої кислоти.

Секреція тригліцеридів в цих дослідах не змінювалась.

При дії холевої кислоти якісний склад білків жовчі не змінювався, але змінювався відносний вміст білків окремих фракцій, а саме, білки з молекулярною масою 80 кД, 75 кД, 57 кД (важкий ланцюг IgA) і 20 кД (легкий ланцюг IgA). Відносний вміст білків з молекулярною масою 75 кД збільшувався, а відносний вміст білків з молекулярною масою 80 кД, 57 кД і 20 кД, навпаки, зменшувався. Крім того, на електрофореграмах білків жовчі через 60 хв після інфузії холевої кислоти з'являлася фракція низькомолекулярних білків ( $< 8$  кД), які відсутні на контрольних електрофореграмах. Ці білки є, можливо, продуктом деградації білків більшої молекулярної маси, або їх поява пов'язана з впливом холевої кислоти на секрецію у жовч низькомолекулярних білків.

Таурохолева кислота також зменшувала секрецію жовчі, причому більш виражено, ніж холева кислота. Інтенсивність секреції жовчі зменшувалась під час інфузії таурохолевої кислоти з  $1,57 \pm 0,07$  до  $1,18 \pm 0,06$  мкг/г печінки/хв або на 24,8% ( $P < 0,01$ ).

При дії таурохолевої кислоти змінювався відносний вміст тих же білкових фракцій, що і при дії холевої кислоти. Відносний вміст фракції білків з молекулярною масою 80 кД зменшувався, а відносний вміст білків з молекулярною масою 75 кД збільшувався. Зменшувався і відносний вміст білків фракції, які за молекулярною масою відповідають IgA.

Секреторна функція печінки при дії урсодезоксихолевої кислоти. Урсодезоксихолева кислота збільшувала секрецію жовчі з  $1,62 \pm 0,09$  до  $1,93 \pm 0,08$  мкг/г печінки/хв або на 19,1% ( $P < 0,05$ ), через 120 хвилин після інфузії.

Секреція вільних жовчних кислот зменшувалась протягом двох годин після інфузії урсодезоксихолевої кислоти. Так,

секреція холової кислоти зменшувалась з  $0,66 \pm 0,03$  до  $0,43 \pm 0,04$  мкг/г печінки/хв другої години або на 34,9% ( $P < 0,01$ ). Секреція хенодезоксиколевої і дезоксиколевої кислот в цей період досліджу зменшувалась з  $0,34 \pm 0,03$  до  $0,16 \pm 0,02$  мкг/г печінки/хв або на 52,9% ( $P < 0,01$ ).

Секреція таурохолевої кислоти зменшувалась під час інфузії урсодезоксиколевої кислоти з  $2,70 \pm 0,18$  до  $2,10 \pm 0,13$  мкг/г печінки/хв або на 22,9% ( $P < 0,01$ ), а протягом першої години після інфузії - на 45,6% ( $P < 0,001$ ).

Секреція таурохенодезоксиколевої і тауродезоксиколевої кислот під час інфузії урсодезоксиколевої кислоти зменшувалась з  $0,74 \pm 0,05$  до  $0,62 \pm 0,04$  мкг/г печінки/хв або на 16,2%, а протягом двох годин після інфузії - з  $1,12 \pm 0,05$  до  $0,71 \pm 0,04$  мкг/г печінки/хв або на 36,6% ( $P < 0,01$ ).

Секреція глікохолевої кислоти зменшувалась впродовж двох годин досліджу з  $3,04 \pm 0,18$  до  $1,73 \pm 0,13$  мкг/г печінки/хв або на 43,1% ( $P < 0,001$ ).

Секреція глікохенодезоксиколевої і глікодезоксиколевої кислот зменшувалась з  $0,42 \pm 0,03$  до  $0,20 \pm 0,02$  мкг/г печінки/хв або на 52,4% ( $P < 0,001$ ), протягом двох годин після інфузії урсодезоксиколевої кислоти.

Секреція фосфоліпідів, вільних жирних кислот і тригліцеридів під час інфузії і протягом першої години після інфузії урсодезоксиколевої кислоти не змінювалась. Впродовж другої години після інфузії урсодезоксиколевої кислоти секреція фосфоліпідів збільшувалась з  $1,09 \pm 0,07$  до  $1,38 \pm 0,07$  мкг/г печінки/хв або на 26,6% ( $P < 0,01$ ). Секреція вільних жирних кислот в цей період досліджу збільшувалась з  $0,58 \pm 0,05$  до  $0,70 \pm 0,05$  мкг/г печінки/хв або на 20,7% ( $P < 0,02$ ), а секреція тригліцеридів була вищою за вихідний рівень на 34,4% ( $P < 0,01$ ).

Під час інфузії урсодезоксиколевої кислоти секреція холестерину зменшувалась з  $0,50 \pm 0,03$  до  $0,40 \pm 0,03$  мкг/г печінки/хв або на 18% ( $P < 0,05$ ) і на 20% ( $P < 0,05$ ) протягом першої години після інфузії. Впродовж другої години секреція

холестерину збільшувалась до вихідного рівня, а секреція його сферів не змінювалась.

При дії урсодезоксихолевої кислоти змінювався відносний вміст 8 білкових фракцій з 18. Відносний вміст фракцій білків, які за молекулярною масою відповідають IgA, і білків з молекулярною масою 36 кД зменшувався під час інфузії урсодезоксихолевої кислоти, а високомолекулярних білків (90-120 кД) і білків з молекулярною масою 75 кД - збільшувався через 120 хв після інфузії.

Отже, загальним проявом дії холевої, таурохолевої і урсодезоксихолевої кислот на секрецію білків жовчі є односпрямовані зміни секреції білків з молекулярною масою 80 кД, 75 кД, 57 кД і 20 кД. Є і певні особливості у регуляції секреції білків жовчі жовчаними кислотами. Так, холева кислота, на відміну від таурохолевої і урсодезоксихолевої, збільшує секрецію білків з молекулярною масою близько 50 кД, а таурохолева, на відміну від холевої і урсодезоксихолевої кислот, зменшує секрецію білків з молекулярною масою 44,5 кД і 40 кД (гаптоглобін, важкий ланцюг).

Урсодезоксихолева кислота, на відміну від холевої і таурохолевої, впливає на секрецію низькомолекулярних білків (9-12 кД, легкий ланцюг гаптоглобіну). Отже, короточасні і тривалі односпрямовані зміни білків окремих фракцій і характерні зміни секреції білків, притаманні лише для певної жовчної кислоти, свідчать про специфічну дію жовчних кислот на клітини печінки.

Таким чином, різні жовчні кислоти, уведені внутрішньопортально, по-різному впливають на секрецію жовчі, жовчних кислот, ліпідів і білків. Холева і таурохолева кислоти зменшували секрецію жовчі, а урсодезоксихолева кислота, навпаки, її збільшувала. Холева, таурохолева і урсодезоксихолева кислоти по-різному впливають на надходження у жовч ендогенних жовчних кислот, ліпідів і білків.

Той факт, що після 30-ти хвилинної інфузії холової, таурохолевої і урсодезоксихолевої кислот відбуваються і зберігаються тривалий час зміни інтенсивності секреції жовчі, жовчних кислот, ліпідів і білків, дає підставу для висновку, що жовчні кислоти, уведені одноразово внутрішньопортально, діють не лише як осмотичноактивні речовини, а як специфічні регулятори метаболічних процесів в клітинах печінки.

Секреторна функція печінки при дії жовчних кислот за наявності іонів гідрокарбонату. Встановлено (Davis et al., 1988), що характер регуляторного впливу екзогенних жовчних кислот на біосинтез ендогенних жовчних залежить від наявності іонів гідрокарбонату. Регуляторний вплив холової і таурохолевої кислот на секреторну функцію печінки також залежить від наявності іонів гідрокарбонату.

Холева кислота за наявності іонів гідрокарбонату збільшувала секрецію жовчі протягом 120 хв після інфузії з  $1,46 \pm 0,08$  до  $1,74 \pm 0,09$  мкл/г печінки/хв або на 19,2% ( $P < 0,05$ ), а таурохолева кислота - з  $1,41 \pm 0,10$  до  $1,61 \pm 0,08$  мкл/г печінки/хв або на 14,2% ( $P < 0,05$ ) через 90 хв після інфузії.

Таким чином, холова і таурохолева кислоти, діючи на клітини печінки, можуть як підсилювати, так і пригнічувати секрецію жовчі. Функціональна активність печінки у цих випадках залежить від наявності іонів гідрокарбонату, а отже, від метаболічного стану гепатоцитів, оскільки збільшення іонів гідрокарбонату в клітинах печінки є результатом перебігу певних метаболічних процесів.

Під час інфузії холової кислоти за наявності іонів гідрокарбонату її секреція зменшувалась з  $0,56 \pm 0,04$  до  $0,36 \pm 0,03$  мкг/г печінки/хв або на 35,7% ( $P < 0,02$ ), а протягом другої години - на 15,6% ( $P < 0,05$ ).

Секреція хенодезоксихолевої і дезоксихолевої кислот під час інфузії холевої кислоти за наявності іонів гідрокарбонату збільшувалась з  $0,14 \pm 0,01$  до  $0,27 \pm 0,02$  мкг/г печінки/хв або на 92,9% ( $P < 0,001$ ), а потім впродовж трьох годин - зменшувалась на 23,6% ( $P < 0,05$ ).

Секреція таурохолевої кислоти збільшувалась під час інфузії холевої кислоти за наявності іонів гідрокарбонату з  $2,70 \pm 0,18$  до  $4,10 \pm 0,21$  мкг/г печінки/хв або на 51,9% ( $P < 0,001$ ) і перевищувала контрольний рівень впродовж трьох годин досліджу на 38,2% ( $P < 0,01$ ).

Секреція таурохенодезоксихолевої і тауродезоксихолевої кислот збільшувалась з  $0,74 \pm 0,05$  до  $1,09 \pm 0,06$  мкг/г печінки/хв або на 47,3% ( $P < 0,001$ ) лише під час інфузії холевої кислоти.

При дії холевої кислоти за наявності іонів гідрокарбонату секреція глікохолевої, глікохенодезоксихолевої і глікодезоксихолевої кислот була вищою за відповідний контроль впродовж всього досліджу.

Порівнявши ці дані з результатами дослідів з інфузією холевої кислоти у фізіологічному розчині, ми виявили низку характерних особливостей, а саме: секреція холевої кислоти протягом першої години після інфузії холевої кислоти з іонами гідрокарбонату не змінюється, тоді як за умов її інфузії у фізіологічному розчині вона збільшується. Протягом другої і третьої годин після інфузії холевої кислоти з іонами гідрокарбонату істотно збільшується секреція глікохолатів, тоді як за умов інфузії холевої кислоти у фізіологічному розчині змін у секретії глікохолатів не було.

При дії холевої кислоти за наявності іонів гідрокарбонату секреція фосфоліпідів, тригліцеридів і холестерину не змінювалась впродовж досліджу, а секретії вільних жирних кислот збільшувалась через 60 хв після інфузії з  $0,64 \pm 0,05$  до  $0,80 \pm 0,04$  мкг/г печінки/хв або на 25,9% ( $P < 0,05$ ) і залишалась на такому рівні до кінця досліджу. Секреція ефірів холестерину збільшувалась під час інфузії з  $0,16 \pm 0,08$  до  $0,19 \pm 0,01$  мкг/г

печінки/хв або на 18,8% ( $P < 0,02$ ), через 15 хв після інфузії - до  $0,20 \pm 0,01$  мкг/г печінки/хв або на 25,0% ( $P < 0,01$ ); збільшувалась на такому рівні впродовж 45 хв. Протягом другої години після інфузії вона поверталась до контрольного рівня.

При дії таурохолевої кислоти за наявності іонів гідрокарбонату збільшувався відносний вміст специфічного білка жовчі шурів - секреторного компоненту (85 кД) і білків з молекулярною масою 75 кД. Відносний вміст білків з молекулярною масою 80 кД та білків з молекулярною масою, яка відповідає IgA, зменшувався.

Характерні короткочасні і тривалі зміни секреції жовчних кислот, ліпідів і білків при дії холевої і таурохолевої кислот за наявності іонів гідрокарбонату свідчать, що жовчні кислоти є ендогенними регуляторами внутрішньоклітинних метаболічних процесів, активація або пригнічення яких приводить, зокрема, до змін інтенсивності секреції жовчі. Цей висновок підтверджується даними про залежність ефектів таурохолевої кислоти на активність  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази від наявності іонів гідрокарбонату.

Через 15 хв після початку інфузії таурохолевої кислоти у фізіологічному розчині активність  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази зменшувалась на 28,9%, а через 90 хв після інфузії - не відрізнялась від контролю. При дії таурохолевої кислоти за наявності іонів гідрокарбонату активність  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази не змінювалась ні через 15 хв, ні через 90 хв після інфузії. Отже, збільшення іонів гідрокарбонату в клітинах печінки є тим важливим фактором, який обумовлює характер холеретичної дії жовчних кислот.

Холеретична дія таурохолевої кислоти за умов пригнічення транскрипції в клітинах печінки. Дія жовчних кислот на печінку може реалізуватися на різних рівнях внутрішньоклітинної регуляції метаболічних процесів. Серед останніх важливе значення мають внутрішньоядерні молекулярні процеси, зокрема, транскрипція, оскільки саме на цьому рівні

здійснюється регуляторний вплив на гепатоцити різноманітних фізіологічно-активних речовин.

Для того, щоб визначити, чи може здійснюватися регуляція секреції жовчі жовчаними кислотами на рівні транскрипції, ми дослідили дію таурохолевої кислоти на секреторну функцію печінки у щурів, транскрипційна активність гепатоцитів яких була пригнічена ектиноміцином Д. При дії актиноміцину Д у дозі 5 мкг на 100 г маси тіла секреція жовчі зменшувалась через 30 хв після інфузії з  $1,29 \pm 0,10$  до  $0,65 \pm 0,06$  мкл/г печінки/хв або на 49,6% ( $P < 0,001$ ), а протягом двох наступних годин - до  $0,51 \pm 0,04$  мкл/г печінки/хв, тобто на 60,5% ( $P < 0,001$ ).

На фоні пригнічення транскрипції актиноміцином Д холеретична дія таурохолевої кислоти, яку інфузували у розчині, що містить іони гідрокарбонату, не виявлялась. Ці дані свідчать, що холеретична дія таурохолевої кислоти здійснюється, принаймні частково, на рівні транскрипції. Для того, щоб отримати безпосередні докази дії жовчних кислот на транскрипційну активність клітин печінки ми визначали РНК-полімеразну активність ізольованих ядер клітин печінки при дії холевої і таурохолевої кислот.

Таурохолева кислота у концентрації  $2,5 \times 10^{-9}$  -  $2,5 \times 10^{-6}$  М збільшувала транскрипційну активність ізольованих ядер клітин печінки на 47,6-71,4%. Холева кислота у концентрації  $2,5 \times 10^{-7}$  -  $2,5 \times 10^{-6}$  М, навпаки, її зменшувала на 32,8%. При дії холевої кислоти в концентрації  $2,5 \times 10^{-8}$  М РНК-полімеразна активність ізольованих ядер знижувалась на 15,4%. В меншій концентрації ( $2,5 \times 10^{-9}$  М) холева кислота не впливала на РНК-синтезуючу активність ізольованих ядер гепатоцитів.

Жовчні кислоти як вільні, так і кон'юговані утворюють у клітинах печінки комплекси з білками, ліпідами, неорганічними іонами, зокрема з  $\text{Ca}^{2+}$ . Утворення таких комплексів має змінювати властивості жовчних кислот як ендогенних регуляторів метаболічних процесів.

При додаванні в інкубаційне середовище  $\text{Ca}^{2+}$  у концентраціях  $10^{-7}$ - $10^{-5}$  М пригнічуючий ефект холевої кислоти на транскрипцію був менш виражений і становив 9,9%-26,3%. РНК-полімеразна активність ізольованих ядер гепатоцитів при дії таурохолевої кислоти у концентрації  $2,5 \times 10^{-7}$  М і  $\text{Ca}^{2+}$  у концентраціях  $10^{-7}$ - $10^{-5}$  М підсилювалась на 34,3% - 54,6%.

Результати цих досліджень свідчать, що холева кислота може виявляти властивості інгібітора транскрипції, а таурохолева - активатора. У комплексі з  $\text{Ca}^{2+}$  жовчні кислоти зберігають ці властивості, хоча вони є менш вираженими. Підсумовуючи одержані дані, ми дійшли висновку, що холеретична і холестатична дія жовчних кислот може здійснюватись на рівні регуляції транскрипційної активності гепатоцитів. Отже, не лише осмотичні властивості жовчних кислот мають важливе значення у механізмах утворення жовчі, а і їх метаболічні ефекти, тобто здатність регулювати метаболічні процеси в клітинах печінки, в тому числі на рівні молекулярних регуляторних механізмів клітини, зокрема, транскрипції.

Таким чином, результати наших досліджень свідчать, що при дії жовчних кислот на клітини печінки їх основна роль полягає не у збільшенні осмотично-залежного надходження води у жовчні каналікули, а у регуляції метаболічних процесів, які складають основу механізмів жовчоутворення. Про регуляторний вплив екзогенних жовчних кислот на метаболічні процеси в гепатоцитах свідчать одержані дані про метаболічні перетворення екзогенних жовчних кислот, зміни у синтезі, трансгепатоцеллюлярному транспорті, секреції жовчних кислот, ліпідів і білків, транскрипційної активності ізольованих ядер гепатоцитів. Безпосереднім доказом того, що холеретичні чи холестатичні ефекти уведених внутрішньопортально жовчних кислот пов'язані із зміною метаболічних процесів в клітинах печінки, є дані про особливості секреції жовчних кислот, ліпідів і білків при дії жовчних кислот за різних умов експерименту, а

саме при інфузії жовчних кислот у фізіологічному розчині і у розчині, який містив іони гідрокарбонату.

## ВИСНОВКИ

1. Роль жовчих кислот як ендогенних регуляторів функціональної активності клітин печінки в механізмах секреції жовчі не обмежується осмотичними ефектами, оскільки зміни інтенсивності секреції жовчі при дії холевої, таурохолевої і урсодезоксихолевої кислот супроводжуються змінами секреції вільних і кон'югованих жовчних кислот, ліпідів і білків, які за спрямованістю і у часі не завжди співпадають.

2. Жовчні кислоти, діючи на клітини печінки, можуть як підсилювати, так і пригнічувати секрецію жовчі. Холеретичні/холестатичні ефекти жовчних кислот обумовлені їх фізико-хімічними властивостями, особливостями метаболічного перетворення в гепатоцитах, характером дії на внутрішньоклітинні регуляторні механізми.

3. Характер дії жовчних кислот на секреторну активність печінки залежить від іонів гідрокарбонату. За наявності іонів гідрокарбонату таурохолева і холева кислоти стимулюють секрецію жовчі, за їх відсутності - пригнічують. Зміни інтенсивності секреції жовчі супроводжуються при цьому характерними змінами секреції жовчних кислот, ліпідів і білків, активності  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФази клітин печінки.

4. Холеретична чи холестатична дія жовчних кислот пов'язана з їх впливом на синтетичні і, переважно, транспортні процеси в гепатоцитах, які обумовлюють надходження у жовч жовчних кислот, ліпідів і білків.

5. Жовчні кислоти здатні регулювати функціональну активність клітин печінки на рівні транскрипції. При дії на ізольовані ядра печінки таурохолева кислота підсилює їх

транскрипційну активність, а холева кислота, назпаки, пригнічує. Ці ефекти жовчних кислот залежать від іонів Са.

## ПЕРЕЛІК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Долгова Е.Н., Масюк А.И. Исследование желчеотделительной функции печени при блокаде биосинтеза белка в гепатоцитах // XIV Всес. конф. по физиологии пищеварения и всасывания. - Тернополь - Львов, 1986. - С. 111-112.

2. Масюк А.И., Долгова Е.Н. Желчеотделительная функция печени в условиях блокады белкового синтеза // XV съезд Всес. физиол. общ-ва им. И.П.Павлова. Ленинград, 1987. - Т.2. - С. 473.

3. Масюк А.И., Долгова Е.Н. Белки желчи как возможные регуляторы желчеотделительной функции печени // Секретция пищеварительных желез в норме и патологии. - Андижан, 1988. - С. 150.

4. Масюк А.И., Островская Г.В., Долгова Е.Н. Активність  $Na^+, K^+$ -АТФазы плазматических мембран гепатоцитов при нарушении желчеотделительной функции печени ингибиторами синтеза белка // Физиологический журн. - 1989. - N. 35, N 1. - С. 40-44.

5. Масюк А.И., Долгова Е.Н. Особенности изменения удельной радиоактивности белков желчи и субклеточных фракций гепатоцитов при введении ингибиторов синтеза белка // Молекулярная генетика и биофизика. - 1990. - N 15. - С. 32-37.

6. Масюк А.И., Долгова Е.Н., Масюк Т.В. Роль белков желчи в регуляции секреторной функции печени // Физиол. журн. им. И.М.Сеченова. - 1992. - Т. 78, N 10. - С. 88-93.

7. Масюк А.І., Долгова О.М., Масюк Т.В., Слободян М.М. Особливості холеретичної дії жовчних кислот // XIV з'їзд Українського фізіол. т-ва. - Київ, 1994. - С. 166.

8. Масюк А.И., Долгова Е.Н. О механизмах холеретического действия желчных кислот // Перспективные проблемы в гастроэнтерологии. - Москва, 1994. - Т. 2. - С. 88.

9. Масюк Т.В., Долгова Е.Н., Масюк А.И. Ритмические изменения интенсивности секреции желчи при действии гормонов и желчных кислот // Биоритмы пищеварительной системы и гомеостаз. - Томск, 1994. - С. 212-214.

10. Долгова Е.Н., Капралов А.А., Масюк А.И. Активация транскрипции - один из механизмов холеретического (холестатического) действия желчных кислот // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 1995. - Т.5, N 3, приложение N 1. - С. 80.

11. Долгова О.М., Масюк А.І. Метаболічна обумовленість прояву холеретичних/холестатичних властивостей жовчних кислот // Експерим. та клін. фізіол.: Львів, 1995.- С. 143-145.

12. Долгова О.М., Масюк А.І. Холестатичні ефекти урсофальку // Перший Український конгрес гастроентерологів. Дніпропетровськ. - 1995. - С. 134.

13. Masyuk A., Dolgova E. Inhibition of protein synthesis in hepatocytes and the molecular basis of intrahepatic cholestasis //Third International Congress of the WHMA, Pecs, Hungary. - 1996. - P. 13.

14. Masyuk A., Kapralov A., Dolgova E. Regulation of RNA polymerase activity in rat liver nuclei by bile acids // XIV International Bile Acids Meeting. Bile Acids in Hepatobiliary Diseases - Basic Research and Clinical Application. Freiburg (Germany), 1996. - P. 59.

15. Масюк А.І., О.О.Капралов, О.М.Долгова. Секрешя жоачі та транскрипційна активність ядер клітин печінки шурів при дії жовчних кислот // Фізіол. журн. - 1997. - Т. 43, N 1-2. - С. 101-109.

Долгова Е.Н. Секреторная функция печени при действии желчных кислот.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.13 - физиология человека и животных. Киевский университет имени Тараса Шевченко, Киев, 1997.

Защищается рукопись и 15 научных работ, содержащих результаты исследований секреторной функции печени при действии холевой, таурохолевой и урсодезоксихолевой кислот. Показано, что желчные кислоты при их внутривенной инфузии изменяют секрецию желчи и ее основных органических компонентов - желчных кислот, белков и липидов, РНК-полимеразную активность изолированных ядер клеток печени. Изменения интенсивности секреции желчи и ее органических компонентов при действии желчных кислот не всегда совпадают по направленности и во времени, что свидетельствует о регуляции желчными кислотами секреторной функции печени на уровне внутриклеточных метаболических процессов, в том числе транскрипции.

Dolgova E.N. The liver secretory function at the bile acids action. Thesis for Cand. of Sci. (Biology) degree on speciality 03.00.13 - the Human and Animal Physiology - Taras Shevchenko Kiyv University, Kiyv, 1997

The results of research of the liver secretory function at the cholic, taurocholic, ursodesoxycholic acids action are presented in the manuscript and 15 publications.

The bile flow, bile acids, proteins and lipids secretion, RNA-polymerase activity changes at the bile acids infusion into the portal vein has been shown. The character of bile flow, bile acids, proteins, lipid secretion RNA-polymerase activity changes is found different. It means, that the changes in the liver secretory function at the bile acids action are the result of the bile acids influences on the metabolic processes in the hepatocytes in the transcriptional level.

**Ключові слова:** печінка, секрція жовчі, жовчні кислоти,  
білки, ліпіди, транскрипція.

---

Підписано до друку 13.03.97. Формат 60x84/16. Папір друкарський.  
Офсетний друк. Ум.фарбовідб.б. Ум.друк.арк. 1,16. Обл.-вид.арк. 1,25.  
Тираж 100 прим. Замовлення №71-1. Ціна . Вид. № 33/IV.

---

Видавництво КМУЦА.

252058. Київ-58, проспект Космонавта Комарова, 1.

435414

AB 37.178

