

ЗМІНИ НАПРУЖЕННЯ КИСНЮ В ПЕЧІНЦІ ТА ЇЇ ЖОВЧОСЕКРЕТОРНОЇ ФУНКЦІЇ, ЗУМОВЛЕНІ ПОПЕРЕДНИКОМ СІРКОВОДНЮ L-ЦИСТЕЇНОМ

Специфічною функцією печінки є секреція жовчі, синтез і транспорт окремих органічних компонентів якої безпосередньо пов'язані з рівнем активності тканинного дихання в залозі. Його модулятором може бути амінокислота L-цистеїн – попередник газового трансмітера сірководню (H_2S), здатного впливати на постачання кисню до печінки з кров'ю та на обмінні процеси в ній. Тому метою роботи було дослідити вплив L-цистеїну на рівень напруження кисню в паренхімі печінки та з'ясувати зв'язок цього показника з динамікою змін концентрацій жовчних кислот і ліпідів у жовчі щурів. В результаті нашого дослідження встановлено, що внутрішньопортальне введення L-цистеїну у дозі 20 мг/кг зумовлює посилення ряду кисеньзалежних біосинтетичних процесів у печінці, таких як синтез таурохолевої кислоти та суміші тауродезоксихолевої і таурохенодезоксихолевої кислот, з одночасним окисненням вільних жирних кислот та тригліцеридів. При цьому відбувається падіння рівня напруження O_2 в паренхімі печінки.

Ключові слова: печінка, жовч, напруження кисню, L-цистеїн, жовчні кислоти, ліпіди жовчі.

Постановка проблеми. Аналіз останніх досліджень і публікацій. Печінка – поліфункціональний орган, більшість синтетичних процесів у якій відбувається за зростання інтенсивності тканинного дихання. Відомо, що умовно незамінна сірковмісна амінокислота L-цистеїн є попередником газового трансмітера сірководню (H_2S), який здатний впливати на кисневий гомеостаз у печінці [1, 2, 3]. Разом з тим, така специфічна функція печінки як секреція жовчі включає ряд кисеньзалежних процесів, а саме синтез і транспорт її окремих органічних компонентів безпосередньо пов'язаних з рівнем забезпечення даного органу киснем та його споживанням [4]. Раніше нами була показана здатність сірководню підвищувати рівень кровопостачання печінки, а, отже, і збільшувати надходження до неї кисню [5]. Тому метою роботи було дослідити вплив L-цистеїну на напруження кисню в тканині печінки та з'ясувати зв'язок цього показника з динамікою змін концентрацій жовчних кислот і ліпідів у жовчі щурів.

Матеріали та методи

Дослідження проведені *in vivo* в умовах гострого експерименту на 19 лабораторних щурах масою 250–300 г, наркотизованих тіопенталом натрію (70 мг/кг) або уретаном (1 г/кг). Напруження кисню (pO_2) в паренхімі печінки щурів реєстрували за допомогою полярографа LP-9 (Чехословаччина) у хроноамперометричному режимі при фіксованій напрузі – 0,6 В, використовуючи 2–3 покритих склом платинових (індикаторних) електроди, розташованих у різних ділянках печінки. Як індіферентний використовували стандартний каломельний електрод від рН-метра. Калібрували електроди за методикою Березовського [6]. Всі показники записували на реєстраторі Н071.6М.

Концентрації жовчних кислот (таурохолевої кислоти та суміші тауродезоксихолевої і таурохенодезоксихолевої кислот) і ліпідів жовчі (вільних жирних кислот та тригліцеридів) визначали методом тонкошарової хроматографії [7]. Проби жовчі для біохімічних досліджень збирали протягом 3-х годин гострого досліду. Після відбору першої півгодинної проби (вихідний рівень) тваринам дослідної групи

внутрішньопортально болюсно вводили L-цистеїн (Sigma, USA) у дозі 20 мг/кг, а шурам контрольної групи – фізіологічний розчин (ПАТ “Галичфарм”, Україна) із розрахунку 1 мл/кг, і продовжували збирати наступні 5 півгодинних проб жовчі. Кількісне визначення окремих органічних компонентів жовчі здійснювали за допомогою вітчизняного денситометра ДО-1М ($\lambda=620$ нм) за калібрувальними кривими. Їх концентрацію у пробах жовчі розраховували у мг%.

Статистичну обробку даних проводили з використанням пакету STATISTICA 7.0 (Stat-Soft, USA). Вірогідними вважалися відмінності при $p<0,05$.

Результати та обговорення

Вихідний рівень напруження кисню в паренхімі печінки піддослідних щурів становив в середньому $46,2\pm 2,3$ мм рт.ст. Внутрішньопортальне введення L-цистеїну у дозі 20 мг/кг зумовило максимальне падіння pO_2 в печінці на 46,8% ($p<0,01$) порівняно з вихідним рівнем на 65 хвилині досліду (Рис.1). Цікаво, що ці результати, на перший погляд, не узгоджуються з отриманими нами раніше даними про зростання кровопостачання печінки при дії L-цистеїну [5, 8], що мало б призвести і до підвищення рівня напруження кисню в її паренхімі. Тому варто припустити, що отримані результати можуть свідчити про активацію процесів, пов'язаних з інтенсифікацією споживання кисню залозою, що й призвело до зниження рівня pO_2 в ній. Дане припущення ми перевіряли на другому етапі дослідження з використанням тонкошарової хроматографії для аналізу динаміки змін концентрацій окремих складових жовчі щурів, метаболізм яких пов'язаний з перебігом кисеньзалежних процесів.

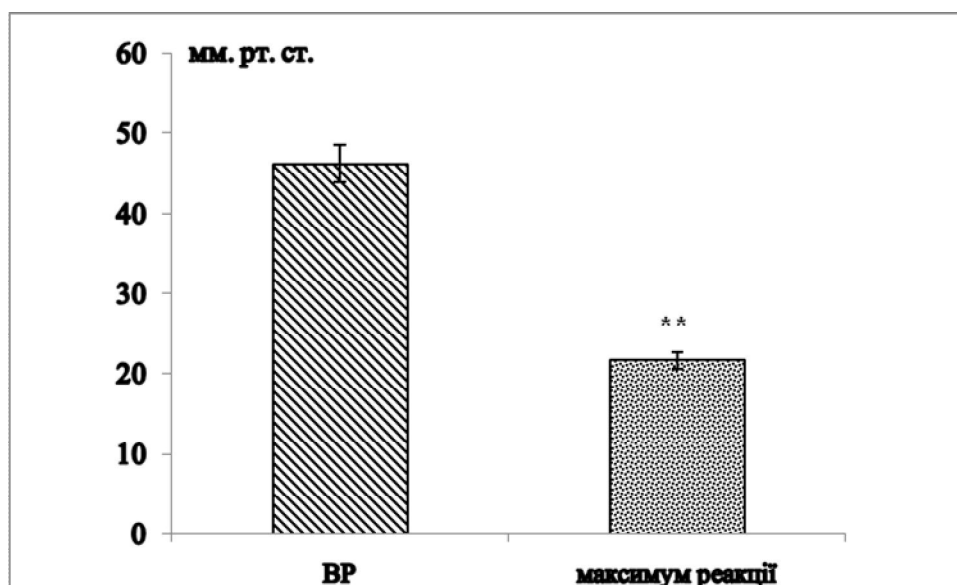


Рис. 1. Вплив внутрішньопортального введення L-цистеїну (20 мг/кг) на напруження кисню (pO_2) в паренхімі печінки (мм рт. ст.); $M\pm SD$, $n=5$.

У тварин контрольної групи спостерігалось зменшення концентрацій таурокон'югатів. Максимум реакції виникав у останній півгодинній пробі жовчі, а саме: вміст таурохолевої кислоти знизився на 9,8 % ($p<0,05$) порівняно з вихідним рівнем (176,6 [171,2; 190,9] мг%), а концентрація суміші тауродезоксихолевої і таурохенодезоксихолевої кислот зменшилась на 16,1 % ($p<0,05$) відносно вихідного рівня (105,5 [102,8; 108,2] мг%) (Табл.1). Концентрації вільних жирних кислот і тригліцеридів статистично достовірно не змінювалися порівняно з їх вихідними

рівнями. Спостережуване зменшення вмісту жовчних кислот у печінковому секреті щурів контрольної групи впродовж проведення експерименту, ймовірно, пов'язане з перериванням ентерогепатичної циркуляції і зменшенням кількості їх надходження з кров'ю до печінки.

Таблиця 1

Динаміка змін окремих фракцій органічних компонентів (мг%) у жовчі щурів при внутрішньопортальному введенні L-цистеїну у дозі 20 мг/кг (n=14), Me [25 %; 75 %]

№ проби	Окремі фракції органічних компонентів жовчі			
	Таурохолева кислота	Тауродезокси-холева і таурохенодезоксихолева кислоти	Вільні жирні кислоти	Тригліцериди
Контроль				
1	176,6[171,2;190,9]	105,5[102,8;108,2]	12,7 [11,6; 12,8]	2,1 [2,0; 2,1]
2	174,9[170,3;189,3]	106,9[101,9;111,6]	12,8 [11,9; 13,3]	2,2 [1,9; 2,3]
3	172,1[168,6;187,5]#	103,3[95,0;105,5]	12,0 [11,9; 14,1]	2,0 [2,0; 2,1]
4	172,7[164,0;185,7]#	98,0[93,7;101,9]#	12,8 [12,6; 12,8]	2,1 [2,1; 2,1]
5	166,3[161,3;177,6]#	93,4[92,0;99,0]#	14,0 [11,9; 14,2]	1,9 [1,8; 1,9]
6	159,3[151,4;172,1]#	88,5[86,7;92,0]#	13,4 [12,4; 14,2]	1,8 [1,8; 1,9]
L-цистеїн				
1	173,0[147,9;181,1]	81,2[66,9;92,0]**	14,6 [14,6; 15,5]	2,7 [2,3; 2,9]
2	178,5[163,9;191,0]#	92,0[74,0;95,7]*#	15,5 [13,7; 15,5]	2,6 [2,5; 2,9]
3	182,0[171,2;198,3]#	95,7[77,7;108,2]#	14,6 [14,2; 15,1]	2,8 [2,7; 2,8]
4	185,7[169,5;204,5]#	88,5[74,0;110,9]#	13,7 [13,3; 13,7]	2,5 [2,4; 2,5]
5	181,1[164,0;198,5]#	81,2[69,6;107,3]#	12,3 [11,9; 12,4]#	2,2 [2,1; 2,3]#
6	177,6[161,3;191,0]#	72,2[65,0;103,7]	12,4 [11,1; 12,8]#	2,4 [2,2; 2,4]#

Примітки: * p<0,05; ** p<0,01 відносно контролю; # p<0,05 відносно вихідного рівня показника.

Внутрішньопортальне ведення щурам дослідної групи L-цистеїну (20 мг/кг) зумовлювало вірогідне зменшення концентрації суміші тауродезоксихолевої і таурохенодезоксихолевої кислот порівняно з контролем лише у першій півгодинній пробі жовчі на 23,0 % (p<0,01) та у другій – на 13,9 % (p<0,05). Зважаючи на те, що контрольна і дослідна групи сформовані окремо, у кожній по 7 щурів, спостережувані зміни можуть бути свідченням варіабельності вихідних значень досліджуваних показників у різних тварин. Тому більш доцільним у даному випадку було порівнювати значення змін конкретного показника після введення досліджуваної речовини з вихідним його рівнем у даній групі тварин. Таке порівняння було проведено на наступному етапі дослідження.

При введенні L-цистеїну в жовчі дослідної групи щурів відносно вихідного рівня найбільше зростав вміст таурокон'югатів, зокрема, концентрації таурохолевої кислоти на 7,3% (p<0,05; при вихідному рівні 173,0 [147,9; 181,1] мг%) у пробі №4 та суміші тауродезоксихолевої і таурохенодезоксихолевої кислот у третій півгодинній пробі на 17,9% (p<0,05; вихідний рівень становив 81,2 [66,9; 92,0] мг%) (Табл.1). Разом з тим, відбувалось найістотніше зменшення вмісту в печінковому секреті вільних жирних кислот та тригліцеридів (p<0,05) у п'ятій півгодинній пробі на 12,3% і 18,5% при вихідних рівнях 14,6 [14,6; 15,5] мг% та 2,7 [2,3; 2,9] мг% відповідно.

Підсумовуючи варто зазначити, що процес кон'югації вільних жовчних кислот з амінокислотами є заключним етапом їхнього біосинтезу, який відбувається з використанням енергії АТФ і залежить від здатності клітин печінки споживати кисень [9; 10; 11]. Тому можна припустити, що зниження рівня рО₂ в залозі свідчить про активацію

кисеньзалежних процесів в ній, на що вказує підвищення рівня концентрації таурохолевої кислоти та суміші тауродезоксихолевої і таурохенодесоксихолевої кислот. Крім того, кон'юговані жовчні кислоти є більш розчинними, ніж вільні, тому зростання вмісту таурокон'югатів у жовчі після введення L-цистеїну сприяє зменшенню літогенності жовчі, стабілізуючи її колоїдний стан. Також спостерігалось посилення енергозалежних катаболічних процесів таких як окиснення вільних жирних кислот та тригліцеридів, про що свідчить зменшення їх вмісту в жовчі щурів після введення L-цистеїну.

Висновки

Таким чином, результати нашого дослідження свідчать про те, що внутрішньопортальне введення L-цистеїну зумовлює посилення ряду кисеньзалежних біосинтетичних процесів у печінці, таких як синтез таурохолевої кислоти та суміші тауродезоксихолевої і таурохенодесоксихолевої кислот, з одночасним окисненням вільних жирних кислот та тригліцеридів. При цьому відбувається падіння рівня напруження кисню в паренхімі печінки.

Література

1. Haouzi P. Cardiogenic shock induced reduction in cellular O₂ delivery as a hallmark of acute H₂S intoxication. / P. Haouzi, T. Sonobe // *Clinical toxicology (Philadelphia, Pa)*. – 2015. – Vol. 53(4). – P. 416-417.
2. Abou-Hamdan A. Oxidation of H₂S in mammalian cells and mitochondria. / A. Abou-Hamdan, H. Guedouari-Bounihi, V. Lenoir [et al.] // *Methods Enzymol*. – 2015. – Vol.554. – P. 201-28.
3. Norris E. J. The liver as a central regulator of hydrogen sulfide. / E.J. Norris, C.R. Culberson, S. Narasimhan, [et al.] // *Shock*. – 2011. – Vol. 36 (3). - P. 242-50.
4. Li Y. Traditional Chinese medicine for lipid metabolism disorders. / Y. Li, X. Wang, Z. Shen // *Am J Transl Res*. – 2017. – Vol. 9(5). - P. 2038-2049.
5. Янчук П. І. Роль сірководню у регуляції кровообігу в печінці / Янчук П. І., Слободяник Л. О. // *Фізіологічний журнал*. – 2015. – Т. 61, №3. – С. 28-34.
6. Березовский В. А. Методы и аппаратура для исследования кислородного обеспечения тканей. Методические рекомендации / В. А. Березовский., С. Г. Енокян – Алма-Ата, 1985. – 26 с.
7. А.с. 4411066/14 СССР, МБИ G 01 N33/50. Способ определения желчных кислот в биологических гидкостях / С. П. Весельский, П. С. Лященко, И. А. Лукьяненко (СССР). – № 1624322; заявл.25.01.1988; опубл.30.01.1991, Бюл. №4.
8. Слободяник Л. О. Участь сірководню у регуляції тканинного кровотоку в печінці щурів / Л. О. Слободяник, П. І. Янчук // *Вісник Черкаського університету. Сер.: Біологічні науки*. – 2014. – Вип. 36. – С. 103-107.
9. Marschall H. U. Conjugation of bile acids. / H. U. Marschall, H. Matern, J. Sjovall [et al.] // *Bile acids – Cholestasis – Gallstones. Advances in Basic and Clinical Bile Acid Research / Edited by H. From*. – Dordrecht / Boston / London, 1995. – P. 13 – 22.
10. Pellicoro A. Human and rat bile acid-CoA:amino acid N- acyltransferase are liver-specific peroxisomal enzymes: implications for intracellular bile salt transport / A. Pellicoro, F. A. van den Heuvel, M. Geuken [et al.] // *Hepatology*. – 2007. – Vol. 45(2). – P. 340–348
11. Hofmann A. F. Bile acids: chemistry, pathochemistry, biology, pathobiology, and therapeutics. / A. F. Hofmann, L.R. Hagey // *Cell Mol Life Sci*. – 2008. – Vol. 65 (16). – P. 2461 – 2483.

References

1. Haouzi, P., Sonobe, T., (2015). Cardiogenic shock induced reduction in cellular O₂ delivery as a hallmark of acute H₂S intoxication. *Clinical toxicology (Philadelphia, Pa)*, 53(4), 416-417.
2. Abou-Hamdan, A., Guedouari-Bounihi, H., Lenoir, V. (2015). Oxidation of H₂S in mammalian cells and mitochondria. *Methods Enzymol*, 554, 201-28.
3. Norris, E.J., Culberson, C.R., Narasimhan, S. (2011). The liver as a central regulator of hydrogen sulfide. *Shock*, 36 (3), 242-50.
4. Li, Y., Wang, X., Shen, Z. (2017). Traditional Chinese medicine for lipid metabolism disorders. *Am J Transl Res.*, 9(5), 2038-2049.
5. Yanchuk P.I., Slobodanyk L.A. (2015) The role of hydrogen sulfide in regulation of circulation blood liver. *Fiziol. Zh.*, 61(3), 28-34.
6. Berezovskiy, V.A. (1985). Methods and equipment for the study of oxygen supply of tissues. Guidelines. Alma-Ata, 26 (in Rus.)

