

# Зовнішньосекреторна функція печінки щурів при дії корвітину

Т.В. Вовкун<sup>1</sup>, П.І. Янчук<sup>1</sup>, Л.Я. Штанова<sup>1</sup>, С.П. Весельський<sup>1</sup>,  
А.С. Шаламай<sup>2</sup>,

<sup>1</sup>Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, <sup>2</sup>ЗАТ НВЦ «Бориспільський ХФЗ»,  
e-mail: shtanova@ukr.net

*У гострих дослідях на щурах з канюльованою жовчною протокою вивчали вплив корвітину – водорозчинного аналога кверцетину, на жовчосекреторну функцію печінки. Внутрішньопортальне введення досліджуваної сполуки в дозах 2,5; 5 і 10 мг/кг зумовлювало вірогідне порівняно з контролем збільшення об'єму секретованої жовчі на 20,9, 31,2 і 20,4% відповідно. Методом тонкошарової хроматографії встановлено помірний стимулювальний вплив корвітину на процеси кон'югації жовчних кислот з таурином і гліцином, особливо при введенні його в дозі 5 мг/кг. Цей флавоноїд не впливав на концентрацію глікохолової кислоти, проте збільшував вміст глікохенодезоксихолової і глікодезоксихолової кислот у суміші в усіх дослідних групах тварин від 15 до 35,1%. Щодо вільних жовчних кислот, то концентрація холової кислоти, хенодезоксихолової і дезоксихолової кислот у суміші збільшувалася відносно контролю лише після введення 10 мг/кг препарату. В першому випадку – від 17,9 до 29,8%, у другому – від 25,0 до 65,4%. У дозі 5 мг/кг корвітин вірогідно збільшував коефіцієнт кон'югації холатів жовчі (максимально – на 23,2%), тоді як при 10 мг/кг препарату цей показник зменшувався (до 27%). Коефіцієнт гідроксилювання децю відрізнявся від контролю при дозі препарату 5 і 10 мг/кг: лише в одній пробі було виявлено його зменшення відносно контролю на 14,0%. Отже, корвітин модулює зовнішньосекреторну функцію печінки, зумовлюючи збільшення секреції жовчі та концентрацію в ній різних холатів, залежно від дози збільшуючи чи зменшуючи ефективність роботи поліферментних систем, які забезпечують процеси кон'югації жовчних кислот у щурів.*

*Ключові слова:* корвітин; печінка; жовч; секреція жовчі; жовчні кислоти; кон'югація і гідроксилювання холатів.

## ВСТУП

Печінка – найбільша залоза нашого організму, яка відіграє провідну роль у забезпеченні метаболічних процесів. Більшість синтетичних процесів у ній відбувається за інтенсифікації тканинного дихання. Однією з основних функцій печінки є утворення жовчі з холестерину. Синтез жовчних кислот є одним із шляхів перетворення і виведення останнього з організму [1]. Жовчні кислоти і їх солі визначають основні властивості жовчі як травного секрету, який виконує низку важливих функцій, зокрема, активує ферменти підшлункового і кишкового соків, головним

чином ліпазу, емульгує жири, прискорюючи, таким чином, їх перетравлювання, сприяє розчиненню жирних кислот, зумовлюючи краще їх всмоктування, посилює моторну функцію кишечника, активує секрецію підшлункової залози, гальмує розвиток мікробів, затримуючи процеси гниття в кишечнику [1]. Незважаючи на здатність печінки до регенерації, тривалий вплив шкідливих факторів навколишнього середовища, стресів, алкоголю, тютюну, синтетичних ліків тощо може загальмувати, а можливо й значно ослабити її захисні механізми. Останнім часом спостерігається зацікавлення вчених та кліні-

цистів щодо пошуку гепатопротекторних властивостей різних натуральних сполук, фармакологічні властивості яких поєднувалися б із відсутністю токсичності, шкідливої побічної дії на організм та були відносно недорогими. Основою багатьох трав'яних екстрактів та настоїв, що традиційно використовуються для профілактики і лікування захворювань печінки, є природний біофлавоноїд кверцетин. Результати досліджень, проведених *in vitro*, свідчать про різні його біологічні ефекти, зокрема протизапальний, антиоксидантний та судинорозширювальний [2]. Завдяки таким властивостям кверцетин успішно застосовується при хворобах печінки, покращуючи біомаркери тканини цього органу при ураженнях різного характеру [3, 4], а його екстракти, одержані з лікарських рослин, мають виражену гепатопротекторну й жовчогінну дію та впливають на склад жовчі [5, 6]. Як і більшість флавоноїдів, кверцетин має низьку біодоступність для організму, що обмежує вивчення особливостей його ефектів *in vivo*. Проте, саме такі умови дають змогу з'ясувати механізми дії сполуки на макроорганному рівні [7]. У своїх попередніх дослідженнях ми використали водорозчинний аналог кверцетину – корвітин і виявили, що він при внутрішньопортальному введенні істотно збільшує швидкість тканинного кровотоку в печінці щурів [8].

Метою цієї роботи було дослідити дію корвітину на зовнішньосекреторну функцію печінки, зокрема на швидкість секреції жовчі та співвідношення в ній різних холатів.

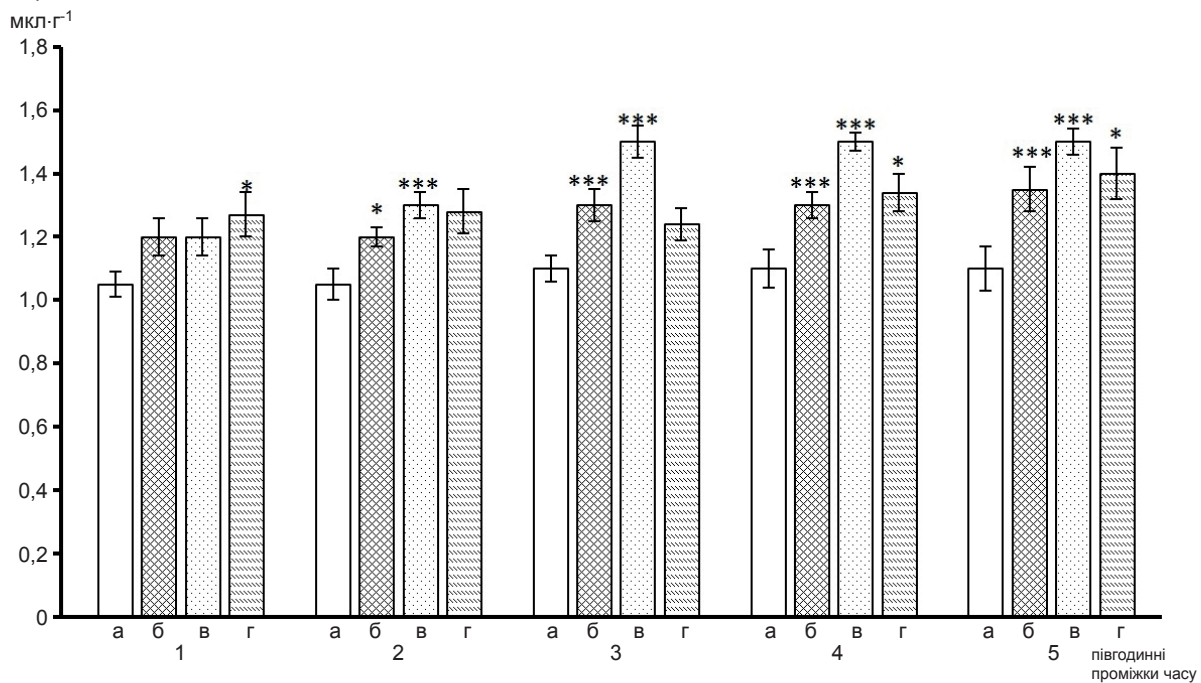
## МЕТОДИКА

Дослідження проводили в гострих дослідах на білих щурах-самцях масою 186-280 г згідно з існуючими міжнародними вимогами і нормами гуманного ставлення до тварин (Страсбург, 1986 р., Закон України від 21.02.2006 р., №3447-IV). Перед дослідом щури голодували впродовж 18 год. Їх наркотизували внутрішньоочеревинним введенням

тіопенталу натрію (60 мг/кг). Тварин розподілили на чотири групи: I – контрольна, II, III і IV – дослідні. Після лапаротомії у відпрепаровану жовчну протоку через надріз її стінки вводили канюлю, яку з'єднували з мікропіпеткою. Реєстрацію об'ємної швидкості секреції жовчі розпочинали через 0,5 год після канюлювання загальної жовчної протоки і визначали кожні 10 хв впродовж 3 год досліді. За одиницю, що характеризує секреторну функцію печінки, вважали швидкість секреції жовчі, яку розраховували за об'ємом жовчі, що секретувалася протягом 1 хв відносно 1 г маси тіла. Після 1-ї півгодинної проби жовчі щурам у ворітну вену болюсно вводили: в групі I – фізіологічний розчин (1 мл/кг), а в групах II, III і IV – відповідний об'єм розчину корвітину в дозах 2,5; 5 і 10 мг/кг. У зібраних впродовж досліді 5-ти зразках печінкового секрету визначали вміст жовчних кислот: кон'юговані таурохолеву (ТХК), таурохенодезоксихолеву і тауродезоксихолеву в суміші (ТХДХК і ТДХК), глікохолеву (ГХК), глікохенодезоксихолеву і глікодезоксихолеву в суміші (ГХДХК і ГДХК), а також вільні – холеву (ХК) та хенодезоксихолеву і дезоксихолеву в суміші (ХДХК і ДХК) [9]. Чутливість методу – 1-3 мкг органічного компонента в пробі. Концентрацію кожного із зазначених холатів порівнювали зі значеннями вмісту відповідної жовчної кислоти у такій самій півгодинній пробі контрольної групи. Фракції жовчних кислот ідентифікували за допомогою відповідних стандартних препаратів та флуоресценції в ультрафіолетовому діапазоні при активації сірчаною кислотою. Холати розділялися таким чином: таурокон'югати, а саме ТХК, суміш ТХДХ і ТДХК; глікокон'югати, а саме ГХК, суміш ГХДХК і ГДХК; вільні холати, а саме ХК, суміш ХДХК і ДХК. Для кількісного визначення вмісту жовчних кислот хроматограми попередньо обпирскували фарбниками: 15 мл льодяної оцтової кислоти, 1г фосфорномолібденової кислоти, 1 мл сірчаної кислоти 50%-го розчину трихлороцтової кислоти та

проявляли при 60-70°C впродовж 5 хв, а далі визначали вміст холатів на денситометрі ДО-1м ( $\lambda=620\text{nm}$ ). Чутливість методу – 0,25-0,35 мкг жовчної кислоти в пробі. Коефіцієнт кон'югації розраховували як співвідношення сумарних кон'югованих (сума концентрацій ТХК, ТХДХК і ТДХК, ГХК, ГХДХК і ГДХК) до сумарних вільних жовчних кислот (сума концентрацій ХК, ХДХК і ДХК). Коефіцієнт гідроксилювання представлено як співвідношення сумарних триоксихоланових (сума концентрацій ТХК, ГХК, ХК) до сумарних диоксихоланових (ТХДХК і ТДХК, ГХДХК і ГДХК, ХДХК і ДХК) жовчних кислот.

Статистичну обробку результатів проводили за пакетом програм STATISTICA 6.0 (Stat-Soft, США). Нормальність розподілу оцінювали за тестом Шапіро-Уїлка. Для оцінки значущих відмінностей між вибірками з нормальним розподілом результатів використовували критерій t Стьюдента для незалежних вибірок. Відмінності між групами вважали вірогідними при рівні значущості  $P<0,05$ .



Об'єм секретованої жовчі у щурів після внутрішньопортального введення корвітину; а – контроль (фізіологічний розчин); б, в, г – корвітин в дозі 2,5, 5,0 і 10 мг/кг відповідно. \*  $P<0,05$ ; \*\*  $P<0,01$ ; \*\*\*  $P<0,001$  порівняно з контролем

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Внутрішньопортальне введення корвітину в дозах 2,5; 5 і 10 мг/кг викликало збільшення об'ємної швидкості секреції жовчі у щурів порівняно з контролем. Так, при дозі препарату 2,5 мг/кг цей показник вірогідно збільшувався в 2-й півгодинній пробі на 14,3, в 3-й – на 21,5, в 4-й – на 18,2 і в 5-й – на 22,7%. Подвоєння дози корвітину викликало ще більш інтенсивну, ніж у попередній групі, секрецію жовчі: в 2-й 30-хвилинній пробі секрету було вірогідно більше, ніж в контролі, на 23,8, в 3-й – на 40,2, в 4-й – на 36,4 і в 5-й – також на 36,4%. При введенні щурам корвітину в дозі 10 мг/кг кількість виділеної жовчі щодо контролю збільшувалася в 1-й пробі на 21,0, в 4-й – на 21,8 і в 5-й – на 27,3%. Загалом за 2,5 год спостережень у щурів, яким ввели корвітин в дозах 2,5; 5 і 10 мг/кг, секрету було виділено на 20,9, 31,2 і 20,4% відповідно більше, ніж в контрольній групі (рисунок).

Кверцетин має слабку розчинність у воді, що утруднює вивчення його ефектів у

дослідах *in vivo*, в тому числі й на жовчосекреторну функцію печінки. Проте спиртовий екстракт *Azadirachta indica*, до складу якого він входить, майже удвічі збільшував об'єм виділеної жовчі у щурів [6]. Секреція останньої відбувається завдяки осмотично залежному надходженню води в жовчні каналікули, за яке відповідає активний транспорт осмотично активних речовин. До таких, у першу чергу, відносять жовчні кислоти [10]. Оскільки внаслідок оперативного втручання ентерогепатична їх циркуляція порушується, можна припустити активацію синтезу. Однак, у групі тварин, яким замість розчину корвітину вводили фізіологічний розчин (контроль), не виявили збільшення концентрації холатів упродовж досліджу, а навпаки, спостерігали вірогідну різницю у бік зменшення. Зокрема це стосувалося таких жовчних кислот, як ТХК, ТХДХК і ТДХК, ГХК, ГХДХК і ГДХК. Разом з тим жодного разу не було відмічено зменшення концентрацій жовчних кислот упродовж усього періоду спостереження в групах тварин, яким вводили корвітин (табл. 1).

Застосування різних доз корвітину неоднаково вплинуло не лише на об'єм секретованої жовчі, а й на вміст окремих холатів у декалітрі останньої. Стосовно вільних жовчних кислот, концентрація ХК і суміші ДХК і ХДХК суттєво збільшувалася щодо контролю після введення корвітину в дозі 10 мг/кг. Так, за 1-й 30-хвилинний відрізок часу після введення препарату концентрація ХК зростала на 29,8, за 2-й – на 26,8, за 3-й – на 19 і за 5-й – на 17,9%. Вміст суміші ДХК і ХДХК збільшувався в пробах з 1-ї по 5-ту на 61,2, 65,4, 52,5, 41,3 і 25% відповідно. Такий результат свідчить про суттєву активацію альтернативного шляху синтезу первинних жовчних кислот з холестерину.

Поміж кон'югованих таурохолатів концентрація ТХК збільшилася відносно контрольних значень у всіх групах, де застосовували корвітин (див. табл. 1). Зокрема, у щурів 1-ї групи (доза препарату 2,5 мг/кг) протягом перших 1,5 год експерименту змін не спосте-

рігали, і лише в 4-й і 5-й пробах концентрація ТХК вірогідно збільшилася на 12,3 і 14,3% відповідно. При застосуванні корвітину в дозі 5 мг/кг цей показник підвищувався в усіх відібраних зразках жовчі – від 1-ї до 5-ї, на 9,9, 12,6, 12,6, 15 та 17,4% відповідно. У щурів останньої групи, де корвітин вводили в дозі 10 мг/кг, концентрація ТХК збільшувалася на 10,8%, 10,1, 15 та 18,3% з 2-ї проби по 5-ту відповідно (див. табл. 1). Концентрація таурокон'югатів дигідроксихоланових жовчних кислот в суміші (ТХДХК і ТДХК), впродовж усього часу спостереження не зазнала вірогідних змін відносно контрольних значень при введенні корвітину в дозі 2,5 мг/кг. У групі тварин, які одержали 5 мг/кг препарату, збільшення відносно контролю концентрації цих таурохолатів на 16, 23,6, 22,4 та 22,7% відмічалось в досліджуваних біопробах з 2-ї по 5-ту включно. При дозі корвітину 10 мг/кг збільшення цього показника порівняно з контролем в 4-й та 5-й пробах досягало 20,7 та 18,7% відповідно (див. табл. 1).

Дані літератури стверджують, що інтенсивність кон'югації жовчних кислот з таурином визначається активністю роботи тауринової транспортної системи в перипортальних гепатоцитах [11]. Отже, на підставі одержаних результатів, можна говорити що корвітин посилює роботу транспортерів таурину та збільшує інтенсивність надходження цієї амінокислоти до гепатоцитів. Порівняння вмісту в жовчі ГХК у контрольних та дослідних тварин не виявило відмінностей між показниками, тоді як концентрація суміші ГХДХК і ГДХК у щурів усіх груп була більшою, ніж у контролі. Зокрема, в II групі таке збільшення показника на 15% відмічалось лише в 2-й пробі жовчі, в III групі концентрація ГХДХК і ГДХК зростала з 3-ї проби по 5-ту на 20,9, 35,1 і 28,5% відповідно. В IV групі тварин у 2-й і 3-й пробах жовчі також виявили вірогідно підвищену щодо контролю концентрацію суміші ГХДХК і ГДХК: на 16,7 і на 14,7% відповідно (див. табл. 1). Для оцінки функціонального стану печінки,

зокрема якості секретованої жовчі, важливе значення має співвідношення між окремими групами жовчних кислот, у т.ч. між сумарними кон'югованими з таурином і гліцином та сумарними вільними – так званий коефіцієнт кон'югації, а також співвідношення між

вмістом тригідроксихолатів (ХК і її кон'югати з таурином та гліцином) і вмістом дигідроксихолатів (ХДХК і ДХК та їх кон'югати з таурином і гліцином) в жовчі, або коефіцієнт гідроксилування. Останній відбиває інтенсивність процесів гідроксилування в печінці.

**Таблиця 1. Концентрація жовчних кислот (мг%) у жовчі щурів після внутрішньопортального введення корвітину (M±m)**

Схема досліджу	Номер проби	Тауро-холева	Таурохеноде-зоксихолева і таурозедексихолева	Гліко-холева	Глікохеноде-зоксихолева і глікодедексихолева	Холева	Хенодедексихолева і дезоксихолева
Контроль (n=8)		166,75±4,5	95,5±2,2	144,0±3,1	25,2±0,9	20,5±1,2	8,5±0,3
Корвітин в дозі							
2,5 мг/кг (n=6)	1	177,55±6,0	93,8±4,3	150,8±3,1	26,2±1,2	24,0±1,5	8,4±0,3
5 мг/кг (n=6)		183,3±4,5*	101,1±5,0	142,25±3,0	25,1±1,2	23,0±1,0	7,9±0,3
10 мг/кг (n=6)		174,7±4,3	91,7±4,7	133,1±8,6	25,4±1,7	26,6±1,0**	13,7±1,1***
Контроль		162,6±4,6	90,7±2,4	139,5±3,0	23,3±1,0	19,8±1,2	8,1±0,3
Корвітин в дозі							
2,5 мг/кг	2	180,1±7,7	95,9±5,0	148,9±3,2	26,8±0,9*	22,0±1,5	8,0±0,2
5 мг/кг		183,1±5,6*	105,2±5,1*	144,4±3,0	26,5±1,3	22,0±1,1	7,9±0,2
10 мг/кг		180,2±5,3*	100,6±7,0	137,3±7,8	27,2±1,2*	25,1±1,5*	13,4±0,9***
Контроль		159,3±4,5	90,7±2,4	147,3±9,75	22,25±0,9	18,9±1,0	7,8±0,3
Корвітин в дозі							
2,5 мг/кг	3	177,1±7,5	96,2±5,9	146,2±3,4	24,4±1,0	20,7±1,4	7,65±0,2
5 мг/кг		179,45±5,3*	106,7±5,5**	140,2±3,6	27,2±0,5**	19,7±1,1	7,6±0,3
10 мг/кг		175,45±4,8*	100,9±7,6	134,3±7,0	25,8±0,5*	22,5±1,2*	11,9±0,8***
Контроль		152,4±4,3	90,7±2,4	128,6±4,7	20,8±0,9	18,5±1,0	7,5±0,3
Корвітин в дозі							
2,5 мг/кг	4	171,1±6,75*	92,3±5,4	141,9±3,3	23,5±0,8	19,4±1,5	7,2±0,2
5 мг/кг		175,2±5,1**	102,1±5,5**	136,9±3,5	28,1±2,0**	18,8±0,7	7,2±0,29
10 мг/кг		175,3±5,7**	100,7±7,5*	125,35±8,1	22,5±0,6	21,3±0,9	10,6±0,7***
Контроль		146,35±4,0	90,7±2,4	124,6±4,9	20,0±0,9	17,9±1,1	7,6±0,3
Корвітин в дозі							
2,5 мг/кг	5	167,3±6,3*	88,8±5,2	139,0±3,1	22,1±0,5	18,0±1,7	6,9±0,2
5 мг/кг		171,8±4,9**	98,4±5,1**	131,9±3,5	25,7±1,3**	17,1±0,6	7,1±0,2
10 мг/кг		171,2±4,6**	95,2±7,0*	115,5±8,25	21,5±1,3	21,1±0,6*	9,5±0,7*

Примітка: тут і в табл. 2 і 3 \* P<0,05; \*\* P<0,01; \*\*\* P<0,001 порівняно з контролем

Як було встановлено, в жовчі щурів коефіцієнт кон'югації вірогідно збільшувався щодо контролю лише при застосуванні корвітину в дозі 5 мг/кг, тоді як при більшій дозі – 10 мг/кг цей показник зменшувався (див. табл. 2). Це свідчить про те, що залежно від дози,

досліджуваний препарат може по-різному впливати на ефективність роботи поліферментних систем, які забезпечують процеси кон'югації жовчних кислот у щурів.

У переважної більшості ссавців кон'югація вільних холатів з таурином і гліцином

є заключним етапом біосинтезу первинних жовчних кислот, а фізіологічне значення цього процесу полягає в тому, що він сприяє зменшенню токсичності і збільшенню розчинності холатів та прискоренню їх секреції з жовчю [12]. Видовою особливістю щурів є те, що в них близько 90% жовчних кислот перебуває в кон'югованому стані, а тауро-кон'югати переважають над глікокон'югатами [13]. Кон'юговані з таурином холати є більш полярними сполуками, ніж такі з гліцином [14]. В процесі кон'югації амінокислоти таурин та гліцин взаємодіють з КоА-ефіром відповідної жовчної кислоти. Каталізаторами цієї реакції є мікросомальна КоА-лігаза та цитозольна N-ацетилтрансфераза, які працюють із затратою енергії та за наявності НАД, АМФ,  $Mg^{2+}$ , КоА. Ефективність процесу захоплення жовчної кислоти гепатоцитом з крові синусоїда залежить від її структури. Інтенсивніше гепатоцит захоплює кон'югова-

ні і тригідроксихоланові, ніж некон'юговані і дигідроксихоланові жовчні кислоти [15]. Коефіцієнт кон'югації – це показник узгодженості функціонування систем метаболічних перетворень і транспорту холатів у гепатоцитах. Загалом, він характеризує сольобілізаційні властивості жовчі, а співвідношення вільних і кон'югованих фракцій холатів є одним із критеріїв оцінки її літогенності [16]. Оскільки від вмісту кон'югованих холатів залежить здатність жовчі емульгувати жири та сприяти їх всмоктуванню в кишечнику [17], можна стверджувати, що корвітин покращує ці її властивості. Кон'югація вільних холатів з таурином і гліцином забезпечує також більш високу міцелярну концентрацію холатів у порожнині кишечника, що, в свою чергу, сприяє поліпшенню абсорбції ліпідів і жиророзчинних вітамінів. Порушення біосинтезу жовчних кислот та їх кон'югації, наприклад, внаслідок вроджених метаболічних дефектів,

**Таблиця 2. Коефіцієнт кон'югації жовчних кислот при внутрішньопортальному введенні фізіологічного розчину (контроль) та корвітину щурам (M±m)**

Серія дослідів	Півгодинні проміжки часу	Концентрація жовчних кислот, мг%		Коефіцієнт кон'югації
		Сумарні кон'юговані	Сумарні вільні	
Контроль (n=8)	1	287,7±6,3	29,1±1,0	10,0±0,4
	2	277,5±7,1	27,8±1,0	10,0±0,7
	3	269,1±7,1	27,4±0,9	10,2±0,6
	4	259,3±6,0	26,0±0,9	10,0±0,5
	5	250,5±4,5	25,5±1,0	9,9±0,6
Корвітин в дозі 2,5 мг/кг (n=6)	1	299,35±9,5	32,4±1,7	9,4±0,6
	2	303,5±12,2	30,0±1,6	10,4±0,9
	3	297,8±12,7	28,3±1,6	10,8±1,0
	4	286,9±11,8*	26,6±1,6	10,8±1,1
	5	278,2±11,2*	25,0±1,8	11,25±1,3
5 мг/кг (n=6)	1	315,2±11,8*	30,85±1,1	10,3±0,4
	2	308,8±10,3*	29,8±1,1	10,55±0,7
	3	313,35±8,2**	27,3±1,0	11,6±0,6
	4	305,35±9,0***	25,95±0,65	11,8±0,5*
	5	295,8±8,7***	24,25±0,6	12,2±0,6**
10 мг/кг (n=6)	1	291,7±7,7	30,85±1,1	7,3±0,3***
	2	308,0±11,4*	29,5±1,1	8,1±0,4**
	3	302,2±9,7*	27,3±1,0	8,9±0,4*
	4	298,5±11,1**	26±0,7	9,4±0,3
	5	287,8±9,1**	24,25±0,6*	9,4±0,3

призводить до важких наслідків для здоров'я [18, 19]. Розлади процесів кон'югації холатів стають причиною малабсорбції жиророзчинних вітамінів і холестатичних уражень печінки [20] та вимагають подальших досліджень механізмів регуляції метаболічних перетворень холестерину й жовчних кислот. Одержані нами результати свідчать, що в дозі 5 мг/кг корвітин вірогідно посилює процеси біотрансформації останніх через кон'югацію, що є передумовою покращення солубілізувальних властивостей жовчі та посилення її колоїдостійкості. Енергія, потрібна для здійснення жовчної секреції, утворюється за рахунок тканинного дихання печінки і спряженого з ним окисного фосфорилування [21]. Раніше ми показали, що корвітин суттєво збільшує швидкість тканин-

ного кровотоку в печінці щурів [10], що може сприяти покращенню тканинного дихання органа, а отже й кращому енергетичному забезпеченню синтетичних та метаболічних процесів у гепатоцитах.

Як відомо, жовчні кислоти утворюються гепатоцитами з холестерину двома шляхами: нейтральним (ХК та ХДХК у рівних частинах) і кислим (переважно ХДХК) [22]. За співвідношенням цих складових жовчі визначають коефіцієнт гідроксилювання жовчних кислот – ще один показник гідрофобності їх пулу, а отже й ступеня емульгації жирів у дванадцятипалій кишці. Після внутрішньопортального введення корвітину в дозах 2,5 і 5 мг/кг сумарна концентрація тригідроксхолатів у щурів дещо збільшувалася щодо контролю (див. табл. 3). Зокрема, в II групі,

**Таблиця 3. Коефіцієнт гідроксилювання жовчних кислот у щурів після внутрішньопортального застосування фізіологічного розчину (контроль) та корвітину (M±m)**

Серія дослідів	30-хв проміжки часу	Концентрація жовчних кислот, мг%	Концентрація жовчних кислот, мг%	Коефіцієнт гідроксилювання
		Сумарні тригідроксхоланові	Сумарні дигідроксхоланові	
Контроль (n=8)	1	331,3±6,1	129,4±4,0	2,6±0,09
	2	321,9±5,8	122,9±4,25	2,6±0,09
	3	325,45±8,7	112,8±4,2	2,8±0,1
	4	299,4±6,1	111,8±2,1	2,7±0,1
	5	288,9±6,7	128,4±4,4	2,6±0,07
Корвітин в дозі 2,5 мг/кг (n=6)	1	352,4±7,8	128,4±4,4	2,6±0,06
	2	350,9±7,2**	137,6±5,4	2,6±0,09
	3	344,0±7,2	128,3±3,8	2,8±0,02
	4	332,35±7,4**	123,05±3,6	2,7±0,03
	5	324,3±6,6**	117,8±4,0	2,6±0,07
5 мг/кг (n=6)	1	349,1±8,2	131,4±8,0	2,5±0,1
	2	349,4±6,35**	125,7±9,4	2,7±0,2
	3	339,3±6,2	133,9±5,7**	2,4±0,1*
	4	330,8±6,0**	130,2±6,2**	2,4±0,1
	5	320,9±6,2**	124,0±5,9**	2,5±0,08
10 мг/кг (n=6)	1	334,4±11,6	117,0±5,3	2,6±0,08
	2	342,6±11,6	127,8±7,6	2,45±0,1
	3	327,8±10,1	126,7±7,6	2,4±0,1*
	4	322,1±13,3	123,2±7,9	2,4±0,1
	5	307,7±11,4	116,7±7,9	2,45±0,1

в 2-й півгодинній пробі жовчі концентрація сумарних дигідроксихолатів вірогідно перевищила контрольні значення всього на 9, в 3-й – на 11, в 5-й – на 12,2%. В III групі таке перевищення в пробах 2, 4 і 5 становило 8,5, 10,5, 11,1% відповідно. Концентрація ж сумарних дигідроксихоланових жовчних кислот відносно контролю вірогідно збільшувалася лише при дозі корвітину 5 мг/кг, в пробах 3, 4 і 5 на 18,7, 16,5, 9,7% відповідно. В результаті такого співвідношення між сумарними тригідроксихолановими і сумарними дигідроксихолановими жовчними кислотами коефіцієнт гідроксилювання в усіх дослідних групах мало відрізнявся від контролю: при дозі препарату 5 і 10 мг/кг всього в одній пробі було виявлено зменшення його на 14% (див. табл. 3).

Це може свідчити про незначну перевагу кислого шляху біосинтезу холатів під впливом корвітину у певні короткі відрізки часу продукції жовчі впродовж експерименту.

## ВИСНОВКИ

1. Корвітин збільшує об'єм секретованої жовчі та концентрацію в ній тауро- і глікокон'югатів холатів в усіх застосованих дозах, а вміст вільних жовчних кислот – лише в дозі 10 мг/кг.

2. При введенні корвітину в дозах 5 і 10 мг/кг на короткий період часу зменшується коефіцієнт гідроксилювання жовчних кислот, що вказує на зростання ефективності кислого шляху біосинтезу холатів в певні моменти дії препарату.

3. Досліджуваний флавоноїд залежно від дози може як посилювати, так і послаблювати ефективність роботи поліферментних систем, які забезпечують процеси кон'югації жовчних кислот у шурів.

4. Оптимальна доза корвітину для покращення стабільності колоїдної системи жовчі та її емульгуючих властивостей у щура не повинна перевищувати 5 мг/кг.

**Т.В. Вовкун, П.І. Янчук, Л.Я. Штанова, С.П. Весельський, А.С. Шаламай**

## ВНЕШЕСЕКРЕТОРНАЯ ФУНКЦИЯ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ КОРВИТИНА

В острых опытах на крысах с канюлированным желчным протоком изучали влияние корвитина – водорастворимого аналога кверцетина, на желчсекреторную функцию печени. Внутривенное введение исследуемого соединения в дозах 2,5; 5 и 10 мг/кг вызывало статистически значимое увеличение объема секретированной желчи на 20,9, 31,2 и 20,4% соответственно по сравнению с контролем. Методом тонкослойной хроматографии установлено умеренное стимулирующее влияние корвитина на процессы конъюгации желчных кислот с таурином и глицином, особенно при введении его в дозе 5 мг/кг. Этот флавоноид не влиял на концентрацию гликохолевой кислоты, однако увеличивал содержание гликохенодезоксихолевого и гликодезоксихолевого кислот в смеси во всех опытных группах животных от 15 до 35,1%. Что касается свободных желчных кислот, то концентрация холевой кислоты и смеси хенодезоксихолевого и дезоксихолевого кислот увеличивалась относительно контроля лишь после введения 10 мг/кг препарата. В первом случае – от 17,9 до 29,8%, во втором – от 25 до 65,4%. В дозе 5 мг/кг корвитин достоверно увеличивал коэффициент конъюгации холатов желчи (максимально на 23,2%), тогда как при 10 мг/кг препарата этот показатель уменьшался (до 27%). Коэффициент гидроксирования после применения корвитина во всех опытных группах мало отличался от контроля: при дозе препарата 5 и 10 мг/кг лишь в одной пробе было обнаружено его уменьшение на 14%. Таким образом, корвитин модулирует внешнесекреторную функцию печени, вызывая увеличение секреции желчи и концентрации различных холатов, в зависимости от дозы увеличивая или уменьшая эффективность работы полиферментных систем, обеспечивающих процессы конъюгации желчных кислот у крыс.

Ключевые слова: корвитин; печень; желчь; секреция желчи; желчные кислоты; конъюгация и гидроксирование холатов

**T.V. Vovkun<sup>1</sup>, P.I. Yanchuk<sup>1</sup>, L.Y. Shtanova<sup>1</sup>, S.P. Veselsky<sup>1</sup>, A.S. Shalamay<sup>2</sup>**

## EXOCRINE FUNCTION OF THE LIVER IN RATS WITH EXPOSURE TO CORVITIN

In acute experiments on rats with cannulated bile duct we studied the effect of Corvitin, water-soluble analogue of quercetin, on secretion of bile. Intraportal administration of the test compound at doses of 2,5; 5 and 10 mg/kg resulted in a significant increase in the volume of secreted bile by 20,9, 31,2 and 20,4%, respectively, as compared with the control.



Using the method of thin layer chromatography it was established the mild stimulating effect of Corvitin on the processes of bile acids conjugation with taurine and glycine, especially when administered at a dose of 5 mg/kg. This flavonoid did not affect the concentration of glycocholic acid, however increased the content of glycochenodeoxycholic and glycodeoxycholic acids in the mixture between 15 to 35,1%. Regarding free bile acids, the concentration of cholic acid, chenodeoxycholic and deoxycholic acids in the mixture was increased significantly relative to control only after Corvitin application at dose 10 mg/kg. In the first case – from 17,9 to 29,8%, in the second – from 25 to 65,4%. At the dose of 5 mg/kg, Corvitin significantly increased the ratio of bile cholates conjugation (maximum by 23,2%), whereas 10 mg/kg of the drug decreased this index by 27,0%. After administration of Corvitin, the hydroxylation ratio in all experimental groups differed little from the control: at the dose of 5 and 10 mg/kg this parameter decreased by 14%. Thus, Corvitin modulates exocrine function of the liver, causing an increase in bile secretion and concentration of different cholates, dose-dependently increasing or decreasing the effectiveness of multienzyme systems providing processes of bile acids conjugation in rats.

Key words: Corvitin; liver; bile; secretion of bile; bile acids; conjugation and hydroxylation of cholates.

<sup>1</sup>Taras Shevchenko National University of Kyiv;

<sup>2</sup>PJSC SIC "Borshchahivskiy CPP"

## REFERENCES

- Hofmann A. Bile Acids: Trying to Understand Their Chemistry and Biology with the Hope of Helping Patients. *Hepatology*. 2009;49:1403-18.
- Bischoff SC. Quercetin: potentials in the prevention and therapy of disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2008;11(6):733-40.
- Lin SY, Wang YY, Chen WY, Chuang YH, Pan PH, Chen CJ. Beneficial effect of quercetin on cholestatic liver injury. *J Nutr Biochem*. 2014;25(11):1183-95.
- Wang J, Miao M, Zhang Y, Liu R, Li X, Cui Y, Qu L. Quercetin ameliorates liver injury induced with Tripterygium glycosides by reducing oxidative stress and inflammation. *Can J Physiol Pharmacol*. 2015;93(6):427-33.
- Wang J, Zhang Y, Zhang Y, Cui Y, Liu J, Zhang B. Protective effect of *Lysimachia christinae* against acute alcohol-induced liver injury in mice. *BioScience Trends*. 2012;6(2):89-97.
- Ofem E, Ikpi DE, Essien NM. Increased bile flow rate and altered composition of bile induced by ethanolic leaf extract of *Azadirachta indica* (neem) in rats. *Nig J Exp and Clin Biosciences*. 2013;1(1):18-22.
- D'Archivio M, Filesi C, Vari R, Scaccocchio B, Masella R. Bioavailability of the polyphenols: Status and controversies. *Int J Mol Sci*. 2010;11:1321-42.
- Vinogradova E, Pasichnichenko O, Vovkun T, Yanchuk P. Influence of corvitin on liver blood flow and serotonin on contractile activity of portal vein. *Bull of Kyiv National Taras Shevchenko Univ*. 2012;15:30-32. [Ukrainian].
- Veselskiy SP, Lyaschenko PS, Kostenko SI, Stepanov ZA, Kurovska LF. Pat. 99031324 Ukraine, MBN A61V5/14. Method of preparation of bioliquid samples for determination of lipid substances. №33564A; applications 05/10/1999; publ. 15.02.2001; Bull. №1 [Ukrainian].
- Chiang JY. Bile acids: regulation of synthesis. *J Lipid Res*. 2009;50(10):1955-66.
- Ikeda S, Tachikawa M, Akanuma S. Involvement of  $\gamma$ -aminobutyric acid transporter 2 in the hepatic uptake of taurine in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2012;303:291-297.
- Reshetnyak VI. Physiological and molecular biochemical mechanisms of bile formation. *World J Gastroenterol*. 2013; 19(42):7341-60.
- Kakiyama G, Iida T, Yoshimoto A, Goto T, Mano N, Goto J, Nambara T, Hagey LR, Hofmann AF. Chemical synthesis of (22E)-3 $\alpha$ , 6 $\beta$ , 7 $\beta$ -trihydroxy-5 $\beta$ -chol-22-en-24-oic acid and its taurine and glycine conjugates: a major bile acid in the rat. *J Lipid Res*. 2004;45:567-73.
- Hofmann AF, Hagey LR. Key discoveries in bile acid chemistry and biology and their clinical applications: history of the last eight decades. *J Lipid Res*. 2014;55(8):1553-95.
- Meier PJ, Eckhardt U, Schroeder A, Hagenbuch B. Substrate specificity of sinusoidal bile acid and organic anion uptake systems in rat and human liver. *Hepatology*. 1997;26(6):1667-77.
- Sherlock W, Dooley J. Liver and biliary tract: A Practical Guide. M. GOETAR-Med, 2002;864 pp. [Russian].
- Hofmann AF, Mysels KJ. Bile acid solubility and precipitation in vitro and in vivo: the role of conjugation, pH, and Ca<sup>2+</sup> ions. *J Lipid Res*. 1992;33(5):617-26.
- Clayton PT. Disorders of bile acid synthesis. *J Inherit Metab Dis*. 2011;34(3):593-604.
- Setchell KD, Heubi JE, Shah S. Genetic defects in bile acid conjugation cause fat-soluble vitamin deficiency. *Gastroenterology*. 2013;144(5):945-55.
- Heubi JE, Setchell KD, Jha P. Treatment of bile acid amidation defects with glycocholic acid. *Hepatology*. 2015;61(1):268-74.
- El-Desoky AE, Delpy DT, Davidson BR, Seifalian AM. Assessment of hepatic ischaemia reperfusion injury by measuring intracellular tissue oxygenation using near infrared spectroscopy. *Liver*. 2001;21(1):37-44.
- Ferdinandusse S, Houten SM. Peroxisomes and bile acid biosynthesis. *Biochim Biophys Acta*. 2006;1763:1427-40.

Матеріал надійшов  
до редакції 10.12.2015