

# Вікові особливості впливу бомбезину на жовчосекреторну функцію печінки

О.Ф. Мороз<sup>1</sup>, С.П. Весельський<sup>2</sup>, Т.П. Лященко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка;

<sup>2</sup> Інститут високих технологій Київського національного університету імені Тараса Шевченка;  
e-mail: olesia.moroz@knu.ua

*Жовчосекреторну функцію з бомбезиновим навантаженням (1 мкг/100 г маси тіла, внутрішньоопортально) досліджували на 30 нелінійних білих щурах-самцях трьох вікових груп: ювенільній (130–175 г), зрілій (200–250 г) і старій (більше ніж 300 г) в умовах гострого експерименту. Вивчали зміни об'ємної швидкості жовчоутворення та вмісту холатів у жовчі методом тонкошарової хроматографії з наступною денситометрією. Дія бомбезину спричиняла зростання рівня холерезу у ювенільних та зрілих особин, практично не впливаючи на нього у старих тварин. На фоні зростання концентрації вільних жовчних кислот у зрілих та молодих тварин спостерігали її зменшення у жовчі старих щурів. Регулятор стимулював секрецію таурохолевої та глікохолевої кислот у зрілих та старих тварин, не впливаючи при цьому на секрецію діоксихоланових таурокон'югатів. Секреція діоксихоланових кислот, зв'язаних з гліцином, найсильніше стимулювалася пептидом у зрілих тварин, а у старих щурів вміст цих кислот був меншим за контроль. Вплив бомбезину був меншим на секрецію жовчних кислот у старих тварин, а у ювенільних щурів різноспрямованим. У ювенільних тварин він посилював синтез вільних холатів, а у старих особин, не впливаючи на синтез de novo, пригнічував їх кон'югацію з амінокислотами, про що свідчать значення коефіцієнта кон'югації. Аналіз коефіцієнта гідроксилування показав, що у разі введення бомбезину активувався класичний шлях синтезу жовчних кислот у ювенільних щурів та пригнічувався у старих тварин. Отримані результати свідчать про неоднаковий вплив пептиду на співвідношення жовчних кислот у жовчі щурів різного віку, що може спричинити зміни емульгуючих та солюбілізаційних властивостей жовчі при станах, які супроводжуються віковими пошкодженнями стінки кишечника з порушенням виділення бомбезину як гормону чи нейромедіатора.*

*Ключові слова:* жовчні кислоти; холерез; бомбезин; кон'югація; гліцин; таурин; вік.

## ВСТУП

Жовчні кислоти є специфічними компонентами жовчі, які утворюються паренхіматозними клітинами печінки з холестерину, синтезуються в гепатоцитах та секретуються за допомогою активного транспорту в каналікули й жовчні шляхи і, потрапляючи у тонкий кишечник, емульгують жирні компоненти їжі, полегшуючи їх перетравлення панкреатичною ліпазою [1]. В останні роки біосинтез жовчних кислот гепатоцитами став об'єктом наукового інтересу не лише з точки зору їх специфічної функції у травній системі, а також завдяки здатності

впливати на інтенсивність обміну речовин через TGR5-цАМФ-опосередковану активацію трийодтироніну у бурій жировій тканині [2]. Стимулюючи секрецію глюкагонподібного пептиду 1 (GLP-1) ендокринними клітинами L-типу кишкового епітелію, жовчні кислоти можуть бути перспективними у терапії діабету 2-го типу [3]. Беручи до уваги встановлений факт регуляції жовчними кислотами експресії генів у багатьох тканинах через три типи нуклеарних рецепторів [4, 5], дослідження механізмів регуляції їх синтезу, біотрансформації та секреції залишається актуальним.

Бомбезин та бомбезинподібні пептиди є ендогенними фізіологічно активними спо-

© О.Ф. Мороз, С.П. Весельський, Т.П. Лященко

луками і виявлені у багатьох видів ссавців та людини [6]. Нині відомо, що споріднені до бомбезину пептиди є у різних тканинах організму, зокрема у структурах центральної нервової системи, нирках, підслизовому плетиві шлунково-кишкового тракту нервових елементах підшлункової залози, ентерохромафінних клітинах кишечника [7, 8]. Виділяючись у тканинах травного тракту вони можуть зменшувати оксидативний стрес та ендотоксемію печінки та кишечника [9], істотно змінювати секреторну активність, наприклад стимулюючи секрецію шлункового соку [10] та соку підшлункової залози [11]. Дані наших попередніх досліджень [12] показали, що пептиди, споріднені з бомбезином, є ендогенними регуляторами жовчосекреторної функції печінки. Але вікові особливості впливу бомбезину, як і більшості пептидних регуляторів, на холерез як такий та якісний склад жовчі залишаються недостатньо дослідженими.

Враховуючи те, що вікові порушення діяльності печінки можуть бути пов'язані з розладами нейрогуморальної регуляції діяльності залози [13], а експресія бомбезинових рецепторів має виражену вікову залежність [14, 15], метою нашої роботи стало з'ясування дії бомбезину на рівень холерезу та секрецію жовчних кислот із жовчю залежно від віку тварин.

## МЕТОДИКА

Жовчосекреторну функцію під впливом бомбезину досліджували на 30 нелінійних білих щурах самцях трьох вікових груп: ювенільній (130–175 г, відповідає віку 2–3 міс), зрілій (200–250 г, відповідає віку 8–10 міс) і старій (330–370 г, відповідає віку 18–24 міс) в умовах гострого експерименту [16]. По 5 щурів кожного віку становили контрольну групу, по 5 – дослідну. Роботу виконували з дотриманням вимог Європейської конвенції із захисту хребетних тварин та Закону України № 3447 IV «Про захист тварин від жорстокого поводження».

За добу до початку експерименту щури знаходились в умовах харчової депривації, доступ до води був вільним. Після їх наркотизації внутрішньоочеревинним введенням тіопенталу натрію (5 мг/100 г) та проведеної лапаротомії із відпрепарованої жовчної протоки через тонку пластикову канюлю, що фіксувалася до протоки, збирали жовч. В окремих пробах, що складалося з жовчі, виділеної за 30 хв, визначали об'ємну швидкість холесекреції у мікролітрах на грам маси тіла за хвилину, а також концентрацію та вміст жовчних кислот з допомогою методу тонкошарової хроматографії. Жовчні кислоти розподілялися таким чином: таурхолева (ТХК) – тауроходезоксизолева (ТХДХК) і тауродезоксизолева (ТДХК) – глікохолева (ГХК) – глікоходезоксизолева (ГХДХК) і глікодезоксизолева (ГДХК) – холева (ХК) – хенодезоксизолева (ХДХК) і дезоксизолева кислоти (ДХК) [17].

Тваринам кожної дослідної групи через 30 хв після початку експерименту внутрішньопортально вводили бомбезин («Sigma», США) в дозі 1 мкг/100 г. Контрольним групам через 30 хв після початку експерименту вводили внутрішньопортально 0,9%-й розчин NaCl у об'ємі 0,1 мл/100 г. Далі впродовж 2,5 год визначали об'єм секретованої жовчі, концентрацію та дебіт жовчних кислот у кожній 30-хвилинній пробі. Дебіт жовчних кислот (абсолютний вміст у міліграмах на грам маси тіла) розраховували множенням концентрації жовчних кислот, отриманої окремо для кожної жовчної кислоти, на об'єм секретованої жовчі у відповідній пробі. Сумарний за дослідний вміст жовчних кислот розраховували як суму дебітів певної фракції холатів. Коефіцієнти кон'югації та гідроксилювання розраховували для кожної проби.

Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали за допомогою пакетів прикладних програм STATISTICA 10.0 («Stat Soft», США) та Origin 8.5 («OriginLab», США). Вибірки перевіряли на нормальність тестом Шапіро-Уїлка. Оскільки всі результати

виявилися нормально розподіленими, для встановлення значущості змін використовували Т-тест для незалежних змінних (з попереднім тестом Левена на рівність дисперсій) при порівнянні значень вікових груп між собою та парний Т-тест для порівняння контролю і показників після застосування бомбезину. Статистично значущими вважали зміни між контролем і дослідом при  $P < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У контрольних експериментах рівень холесекреції у щурів різних вікових груп змінювався односпрямовано (рис. 1). Після початкового зниження, викликаного вилученням з пробами певної кількості жовчних кислот як основних саморегуляторів утворення жовчі, об'ємна швидкість жовчоутворення стабілізувалася за рахунок компенсаторних властивостей гепатобіліарної системи дослідних тварин. Особливо це було виражено у зрілих тварин, у яких, ймовірно, зазначені властивості є більш досконалішими.

У наших дослідях спостерігалася стимулююча дія бомбезину на об'ємну швидкість холесекреції. Зокрема, у ювенільних тварин

більш інтенсивно зростав рівень холерезу, а у старих тварин він підвищився порівняно із контрольною групою мінімально. Проте вищезазначені зміни не мали статистичної значущості. Але треба звернути увагу на кут кривих змін рівня холерезу у щурів різного віку за дії бомбезину. Якщо у зрілих і старих тварин крива практично рівна, то у щурів ювенільного віку вона має тенденцію до зниження, що свідчить про недосконалість та швидке виснаження механізмів пристосування до втрати жовчі з перебігом досліду.

У зрілих тварин спостерігається збільшення концентрації вільної ХК відносно контролю, але впродовж експерименту і у контрольних, і в дослідних зразках вона знижувалася. Аналогічні, проте більш виражені зміни, спостерігали й у ювенільних тварин: концентрація у дослідних зразках перевищувала контроль на 69,9–88,4% ( $P < 0,05$ ). У старих тварин в окремих зразках вона була дещо більшою порівняно із дослідом без пептидного навантаження, проте, на відміну від контрольних проб, з перебігом експерименту знижувалася. Після застосування бомбезину концентрація віль-

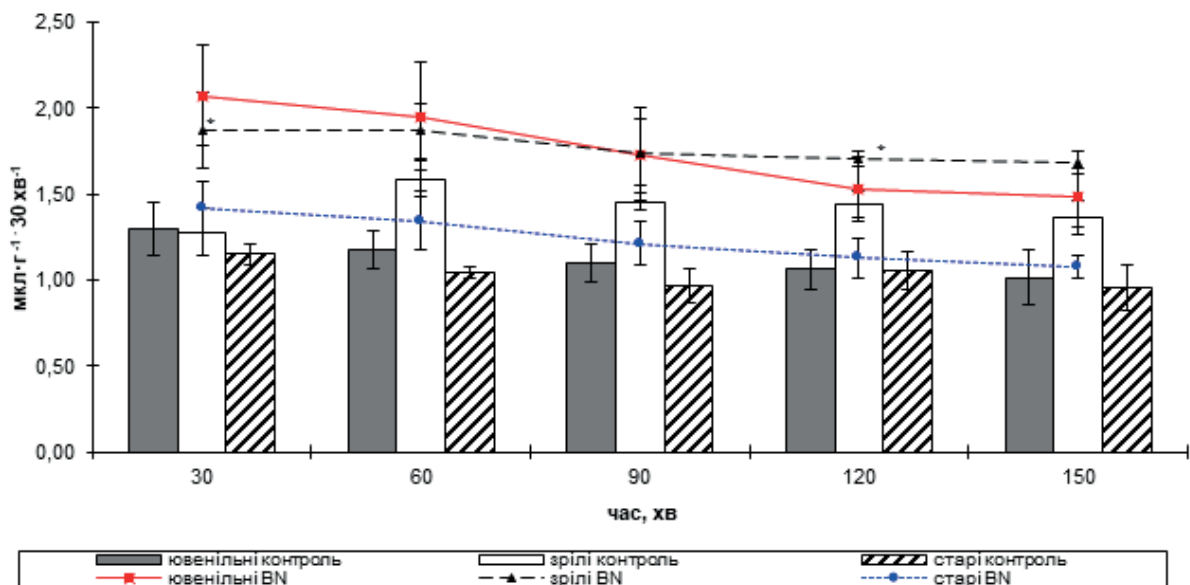


Рис. 1. Вплив бомбезину (BN) на рівень об'ємної швидкості секреції жовчі у щурів різного віку; \* статистично значущі зміни відносно контролю

них діоксихолатів змінювалась аналогічно у групах ювенільних та зрілих тварин, а у старих щурів спостерігали зниження цього показника порівняно з контролем, тобто впродовж експерименту не було типової для контролю позитивної динаміки.

Концентрація ТХК не змінювалась у ювенільних тварин під дією бомбезину, проте у зрілих та старих тварин вона була вищою за контроль у 3 та 5, і 4 та 5 пробах відповідно (на 7,9–14,4 та 14,7–17,0%;  $P < 0,05$ ). У зрілих та старих тварин концентрація діоксихоланових таурокон'югатів вірогідно не змінювалась у відповідь на введення пептиду, при цьому у ювенільних тварин спостерігали тенденцію до її зниження. Зміни концентрації ГХК при застосуванні бомбезину у ювенільних щурів мали позитивний характер, перевищуючи контроль в середині досліду (27,3%;  $P < 0,05$ ). Аналогічні зміни спостерігалися у змінах концентрації ГХК у групі зрілих тварин впродовж усього експерименту (до 27,5%;  $P < 0,01$ ). У старих тварин цей показник був меншим від контролю на 54,4–66,0% ( $P < 0,001$ ). Неоднозначно змінювалась концентрація ГХДХК і ГДХК у жовчі щурів різних вікових груп під впливом бомбезину. Так, у ювенільних і старих тварин спостерігалася тенденція до її зменшення, що зафіксовано у 4 та 1 пробах (56,5 та 47,0% відповідно;  $P < 0,05$ ). У всіх пробах зрілих тварин спостерігалася підвищена у 3 рази ( $P < 0,001$ ) концентрація цієї фракції. Отже, у ювенільних та зрілих тварин дія бомбезину збільшує як інтенсивність холесекреції, так і концентрацію практично всіх фракцій жовчних кислот, тобто впливає на біосинтез та секрецію останніх. При цьому у старих тварин такої односпрямованості ефектів пептиду не спостерігалось.

Більш інформативним з точки зору оцінки біохімічного складу жовчі є вивчення дебіту органічних компонентів жовчі, оскільки при зменшенні рівня холерезу на тлі підвищення концентрації їх абсолютний вміст може залишатися незмінним чи змінюватися

протиляжним чином. За дії бомбезину дебіт різних фракцій жовчних кислот змінювався неоднаково. Нейропептид спричинював значне збільшення дебіту ХК на 252,4% у ювенільних тварин, деяке зростання у пробах зрілих тварин та зниження на 74% у зразках старих щурів (рис. 2, а). Абсолютний вміст вільних діоксихолатів змінювався аналогічним чином (див. рис. 2, б).

Сумарний дебіт таурохолевої кислоти у тварин ювенільної групи та зрілих особин (див. рис. 2, в) зростав у відповідь на введення пептиду, однак ці зміни не були статистично значущими ( $P = 0,22$  та  $0,08$  відповідно). У жовчі старих щурів вміст ТХК зменшився від  $9,53 \pm 1,13$  до  $9,1 \pm 1,07$  мг/г порівняно з контролем, при чому дія бомбезину була значно слабшою щодо значень у зрілих тварин ( $P = 0,02$ ). Вміст ТХДХК і ГДХК у жовчі ювенільних тварин був дещо вищим від контролю, у зрілих перевищував його на 31% на фоні недостовірного зменшення цього показника у старих тварин (див. рис. 2, г). Дебіт ГХК у ювенільних та зрілих тварин також був вищим від контролю (див. рис. 2, д), а у старих тварин зменшувався на 67% ( $P = 0,05$ ). Вміст діоксихолатів, кон'югованих з гліцином (див. рис. 2, е), не змінювався у ювенільних тварин під дією пептиду, виявляв тенденцію до зниження у старих тварин, а у зрілих особин перевищував контрольні значення майже втричі ( $P = 0,05$ ).

При порівнянні ефекту пептиду між різними віковими групами, беручи за контроль вміст жовчних кислот у зрілих тварин, встановлено, що вплив бомбезину був меншим на секрецію ХК, вільних діоксихолатів, ТХК, тауродіоксихолатів, ГХК та глікодіоксихолатів на 72,4, 45, 40, 35, 70 та 48% відповідно у старих тварин ( $P < 0,05$ ), а його дія у ювенільних тварин була неоднозначною. Так, за загальною тенденцією до збільшення дебіту жовчних кислот, у них достовірно збільшувався вміст діоксихоланових глікокон'югатів на 122% ( $P = 0,03$ ) при зменшенні вмісту вільної ХК на 39,1% ( $P = 0,02$ ).

Для глибшої оцінки впливу бомбезину на жовчоутворювальні процеси у печінці та характеристики фізико-хімічних властивостей жовчі на основі концентрації холатів було розраховано коефіцієнти кон'югації та гідроксилювання й проаналізовано вікові зміни цих співвідношень. Так, коефіцієнт кон'югації дає змогу оцінити інтенсивність зв'язування холатів з амінокислотами таурином та гліцином, яке забезпечує здатність до розчинності жовчних кислот, а також має важливе значення для стабільності жовчі як колоїдного розчину і визначає її здатність до емульгації жирів у тонкому кишечнику для подальшого розщеплення їх ліпазами підшлункового та кишкового соків. Крім того, кон'югація холатів запобігає їх передчасній

абсорбції в проксимальному відділі тонкої кишки, що забезпечує концентрацію жовчних кислот, необхідну для міцелярної фази перетравлення і всмоктування жирів [13]. При застосуванні бомбезину у ювенільних тварин цей показник виявився на 40,6–47,4% ( $P < 0,05$ ) меншим за контрольне значення завдяки збільшенню фракції вільних холатів (табл. 1). У зрілих тварин не виявлено змін цього показника, а для зразків старих щурів він став на 24,7–36,7% ( $P < 0,05$ ) меншим у першій половині досліду внаслідок зниження концентрації кон'югованих кислот.

Отже, у ювенільних тварин бомбезин не впливав на інтенсивність кон'югації жовчних кислот, стимулюючи їх синтез, тоді як у старих щурів пригнічував зв'язування

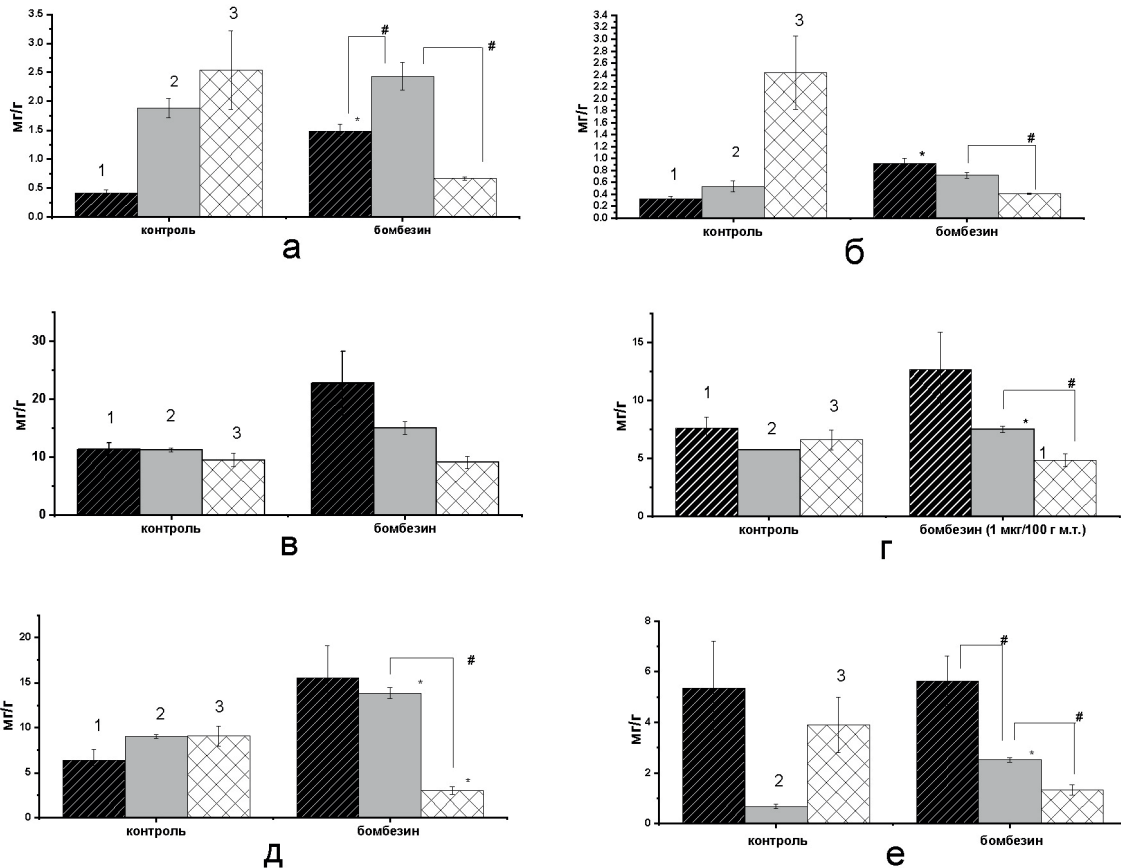


Рис. 2. Зміни сумарного за час експерименту абсолютного вмісту (дебіту) фракцій жовчних кислот у щурів різних вікових груп у відповідь на внутрішньопортальне введення бомбезину: а – холевої кислоти, б – хенодезоксизолевої і дезоксизолевої, в – таурохолева кислота, г – діоксихоланові таурокон'югати, д – глікохолева кислота, е – глікодіоксихолати; 1 – ювенільні тварини, 2 – зрілі, 3 – старі. \* – порівняно з контролем, # – зміни між значеннями вікових груп

Таблиця 1. Коефіцієнт кон'югації жовчних кислот у жовчі щурів різного віку після застосування бомбезину

Показники	Час, хв	Ювенільні тварини		Зрілі тварини		Старі тварини	
		контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Сумарні кон'юговані холати, мг%	30	594,0±87,5	520,8±46,2	403,7±11,40	459,7±9,83*	440,2±13,1	317,5±12,7***
	60	584,3±86,8	545,6±38,7	393,4±13,37	453,9±12,36*	427,8±9,5	335,7±16,8**
	90	560,6±70,1	525,7±25,0	377,6±11,50	441,5±11,29**	410,8±11,0	343,1±33,1*
	120	494,4±49,6	465,8±37,6	362,4±10,93	428,7±10,19**	395,9±10,0	325,8±17,9**
	150	476,0±43,0	458,8±40,9	337,0±10,69	413,8±9,64**	383,8±10,9	310,3±16,4**
Сумарні вільні холати, мг%	30	13,8±2,3	21,5±3,0*	37,30±2,17	41,0±7,10	16,4±0,6	18,2±2,0
	60	13,7±2,4	26,0±4,1*	35,53±2,06	39,5±5,31	17,5±1,4	22,1±2,1
	90	15,1±2,3	25,0±4,5*	33,30±2,00	36,4±6,00	18,8±1,5	20,9±0,9
	120	12,7±1,7	21,2±2,3*	30,87±2,24	33,2±5,17	20,7±2,5	19,6±1,9
	150	11,2±1,4	21,2±3,4*	30,97±3,42	31,1±5,40	21,1±2,0	18,1±1,1
Коефіцієнт кон'югації (Σ кон'юговані/ Σ вільні )	30	43,5±2,0	25,8±6,1*	10,9±0,8	11,8±1,8	26,9±0,5	18,1±3,0*
	60	43,3±2,7	22,8±5,7*	11,2±0,9	11,8±1,2	24,7±1,6	15,7±2,3*
	90	37,6±3,6	22,5±4,5*	11,5±1,0	12,6±1,6	22,0±1,3	16,6±2,1*
	120	39,6±3,8	22,8±4,3*	11,9±1,1	13,4±1,7	19,6±1,9	17,1±2,4
	150	42,8±2,2	23,3±5,8*	11,1±1,2	14,0±2,1	18,5±1,3	17,4±1,9

Примітка: тут і в табл. 2 \*P < 0,05; \*\*P < 0,01; \*\*\*P < 0,001 щодо контролю.

вільних холатів із таурином та гліцином, не впливаючи на концентрацію некон'югованих фракцій. Це може бути наслідком як вікових гістологічних змін у печінці, так і певних змін нейрогуморальної регуляції діяльності залози [18]. Вихід у жовч глікодіоксихолатів під дією бомбезину, навпаки, був більшим у зрілих тварин, аніж у ювенільних, що вказує на поступове переважання кон'югації холатів з гліцином, яке спостерігається з віком [19].

Аналіз вікових змін коефіцієнта гідроксилювання (табл.2) проводили для оцінки активності різних шляхів біосинтезу жовчних кислот – нейтрального (класичного), продуктами якого в людини є ЖК та ХДХК у приблизно однаковому співвідношенні та кислого (альтернативного), який забезпечує утворення в основному ХДХК [19]. Після застосування бомбезину у ювенільних тварин він перевищував контрольні значення на 32,8–62,5% (P < 0,05), зміни відбулися завдяки збільшенню концентрації триоксихолатів на фоні зменшення такої діоксихолатів. Коефіцієнт гідроксилювання жовчі зрілих

тварин практично не змінювався у відповідь на введений пептид, за винятком першої години експерименту, коли він був меншим за контроль на 19,5% (P < 0,05) завдяки зростанню концентрацій обох груп жовчних кислот. У старих тварин, починаючи із другої півгодинної проби, коефіцієнт гідроксилювання був меншим за контроль на 11,7–15,9% (P < 0,05), що стало наслідком істотного зменшення концентрації триоксихолатів та менш вираженого зниження цього показника для діокси-форм жовчних кислот на фоні дії пептиду.

Таким чином, у ювенільних тварин дія бомбезину посилює гідроксилювання холатів та, ймовірно, активує класичний шлях їх біосинтезу. Натомість, у старих особин пептид, можливо, інгібує цей шлях синтезу, пригнічуючи здебільшого утворення триоксихолатів. Такий характер впливу бомбезину можна пояснити більшою щільністю бомбезинових рецепторів у печінці ювенільних тварин, оскільки відомо, що їх експресія істотно вища у ранньому періоді життя [15].

Таблиця 2. Коефіцієнт гідроксилювання жовчних кислот у жовчі щурів різного віку після застосування бомбезину

Показники	Час, хв	Ювенільні тварини		Зрілі тварини		Старі тварини	
		Контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Сумарні триоксихолати, мг%	30	360,1±43,1	365,2±28,9	333,7 ±7,47	363,9 ±9,58*	310,8±4,7	222,6±7,6***
	60	350,1±38,7	379,8±22,5	326,4 ±8,19	364,8 ±9,30*	302,6±5,2	233,6±11,8**
	90	330,7±28,8	369,2±19,3	312,3 ±6,86	356,2 ±11,11*	295,9±4,0	239,2±23,6*
	120	285,0±13,5	334,5±21,7*	300,4 ±6,54	349,6 ±9,97**	288,4±4,8	229,8±9,2**
	150	278,6±11,3	327,6±24,3*	282,9 ±7,58	337,4 ±8,86**	283,8±5,1	218,1±8,9***
Сумарні діоксихолати, мг %	30	247,6±46,5	177,1±15,3	107,3 ±3,60	136,8 ±7,36*	145,8±9,0	113,1±3,6*
	60	247,9±50,8	191,8±12,7	102,6 ±4,31	128,5 ±8,04*	142,6±6,3	124,2±3,1*
	90	245,0±43,1	181,5±9,5	98,5 ±4,66	121,7 ±5,66*	133,7±8,7	124,7±9,5
	120	222,2±39,2	152,5±15,6	92,9 ±4,22	112,3 ±5,48*	128,3±7,8	115,5±7,1
	150	208,7±34,9	152,5±16,7	85,0 ±4,01	107,5 ±6,59*	121,0±8,1	110,3±7,3
Коефіцієнт гідроксилювання (Σ триоксихолати/ Σ діоксихолати)	30	1,5±0,1	2,1±0,0**	3,1 ±0,07	2,7 ±0,08**	2,1±0,1	1,97±0,04
	60	1,5±0,2	2,0±0,0*	3,2 ±0,08	2,9 ±0,10*	2,1±0,1	1,88±0,06*
	90	1,4±0,2	2,0±0,1*	3,2 ±0,14	2,9 ±0,05	2,2±0,1	1,91±0,09*
	120	1,4±0,2	2,2±0,1*	3,2 ±0,11	3,1 ±0,07	2,3±0,1	1,99±0,05*
	150	1,4±0,2	2,2±0,2*	3,3 ±0,09	3,2 ±0,12	2,4±0,1	1,99±0,08*

Розмірковуючи про ймовірні механізми реалізації дослідженого впливу бомбезину на секрецію жовчі, слід враховувати можливу участь у них інших фізіологічно активних речовин, вивільнення яких стимулюється пептидом, тобто каскадний характер. Зокрема, цілком можливим є залучення холецистокініну, глюোকортикоїдів, вазопресину, які також виявляють холеретичні властивості, а також соматостатину, що міг опосередковувати гальмівні впливи досліджуваного пептиду. Окрім того, відомо, що в структурах як центральної, так і периферичної нервової систем разом з бомбезином спільно існують та вивільнюються численні нейротрансмітери або нейромодулятори, зокрема ацетилхолін [20].

## ВИСНОВКИ

Дія бомбезину істотно збільшує об'ємну швидкість холесекреції у ювенільних і зрілих тварин, що супроводжується підвищенням вмісту у секретованій жовчі цих вікових груп вільних жовчних кислот, їх тауро- та

глікокон'югатів на фоні істотного зменшення дебіту зазначених органічних компонентів у жовчі старих тварин. Зміни коефіцієнта кон'югації свідчать про негативний вплив пептиду на емульгуючі та солюбілізуючі властивості жовчі щурів, що проявляється у пригніченні їх кон'югації у старих тварин та стимуляції синтезу вільних холатів печінкою щурів ювенільної групи. Аналізуючи співвідношення триокси- та діоксихоланових кислот у жовчі щурів різних вікових груп зазначимо, що дія бомбезину здебільшого позначається на нейтральному (класичному) шляху синтезу холатів, у ювенільному віці його стимулюючи, а у старих тварин – пригнічуючи.

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.*

О.Ф. Мороз, С.П. Весельский, Т.П. Лященко

**ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ БОМБЕЗИНА НА ЖЕЛЧЕСЕКРЕТОРНУЮ ФУНКЦИЮ ПЕЧЕНИ**

Желчсекреторную функцию при бомбезиновой нагрузке (1 мкг/100 г массы тела, внутривенно) исследовали на 30 нелинейных белых крысах-самцах трех возрастных групп: ювенильной (130–175 г), зрелой (200–250 г) и старой (более 300 г) в условиях острого эксперимента. Изучали изменения объемной скорости образования желчи и количество холатов в желчи методом тонкослойной хроматографии с последующей денситометрией. Действие бомбезина вызывало увеличение уровня холереза у ювенильных и зрелых животных, практически не влияя на него у старых крыс. На фоне увеличения концентраций свободных желчных кислот в секрете зрелых и молодых животных наблюдали уменьшение их в желчи старых крыс. Регулятор стимулировал секрецию таурохолевой и гликохолевой кислот у зрелых и старых животных, при этом эффекта на секрецию диоксихолановых тауроконъюгатов не наблюдалось. Секреция диоксихолановых кислот, связанных с глицином, сильнее стимулировалась пептидом у зрелых животных, а у старых крыс содержание этих кислот под действием бомбезина было ниже контроля. Влияние бомбезина проявлялось меньше на секрецию желчных кислот у старых животных, а у ювенильных крыс оно было разнонаправленным. У ювенильных животных усиливался синтез свободных холатов, а у старых крыс, без воздействия на синтез *de novo*, тормозилась их конъюгация с аминокислотами. Анализ коэффициента гидроксирования показал, что при применении бомбезина активируется классический путь синтеза желчных кислот у ювенильных крыс и тормозится у старых животных. Полученные результаты свидетельствуют о разном действии пептида на соотношение желчных кислот в желчи крыс разного возраста, что может быть причиной изменений эмульгирующих и солюбилизационных свойств желчи при состояниях, которые сопровождают возрастные патологии стенки кишечника с нарушением секреции бомбезина как гормона или нейромедиатора. Ключевые слова: желчные кислоты; холерез; бомбезин; конъюгация; глицин; таурин; возраст.

O.F. Moroz<sup>1</sup>, S.P. Veselsky<sup>2</sup>, T.P. Lyaschenko<sup>1</sup>**AGE RELATED FEATURES OF THE BOMBESIN EFFECT ON HEPATIC BILE FORMATION**<sup>1</sup>ESC "Institute of Biology and Medicine" of Taras Shevchenko National University of Kyiv;<sup>2</sup>Institute of High technologies of Taras Shevchenko National University of Kyiv

Hepatic bile formation under bombesin action (1 μg/100 g

body weight, intraperitoneally) was examined in acute experiments on 30 male rats of three age categories: juvenile (body weight 130-175 g), adult (200-250 g) and elder (more than 300 g). Changes in the bile flow rate were recorded and the amount of various bile acids (BA) was detected using thin layer chromatography/densitometry. Bombesin caused the increase of the bile flow rate in juvenile and adult rats without any effect on it in old animals. The concentration of free bile acids increased in juvenile and adult rats and decreased in old animals. This peptide stimulated secretion of taurocholic and glycocholic acids in adult and aged rats but had no effect on the secretion of tauroconjugated dihydroxycholates. Secretion of dihydroxy bile salts conjugated with glycine was more potently enhanced by bombesin in adult rats but in the elder group this parameter dropped below the control. Bombesin had a lower effect on the BA secretion in aged rats but its influence on the juvenile animals was bidirectional. In this group the peptide stimulates free bile salts formation and, without affecting *de novo* synthesis, inhibits BA conjugation with amino acids in aged group. Bombesin activated classic pathway of BA biosynthesis in juvenile rats and suppressed it in aged animals. The data obtained demonstrate that different effect of bombesin on bile acids content in rats of different age could change biliary lipid-solubilizing capacity under age related damage of the gut with impairment of normal bombesin release.

Key words: bile acids; bile flow; bombesin; conjugation; glycine; taurine; age.

**REFERENCES**

1. Marin JJ, Macias RI, Briz O, Banales JM, Monte MJ. Bile acids in physiology, pathology and pharmacology. *Current Drug Metab.* 2015;17(1):4-29.
2. Thomas C, Pellicciari R, Pruzanski M, Auwerx J, Schoonjans K. Targeting bile-acid signalling for metabolic diseases. *Nat Rev Drug Discov.* 2008;7(8):678-93.
3. Knop FK. Bile-induced secretion of glucagon-like peptide-1: pathophysiological implications in type 2 diabetes? *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2010; 299(1):E10-E3.
4. de Aguiar Vallim TQ, Tarling EJ, Edwards PA. Pleiotropic roles of bile acids in metabolism. *Cell Metab.* 2013 May 7;17(5):657-69.
5. Khurana S, Raufman JP, Pallone TL. Bile acids regulate cardiovascular function. *Clin Transl Sci.* 2011;4(3):210-18.
6. Jensen R, Battey J, Spindel E, Benya RV. Mammalian bombesin receptors: nomenclature, distribution, pharmacology, signaling, and functions in normal and disease states. *Pharmacol Rev.* 2008;60(1):1-42.
7. Yeğen BÇ. Bombesin-like peptides: candidates as diagnostic and therapeutic tools. *Current Pharmaceutical Design.* 2003;9:1013-22.
8. Ramos-Álvarez I, Moreno P, Mantey SA, Nakamura T, Nuche-Berenguer B, Moody TW, Coy DH, Jensen RT. Insights into bombesin receptors and ligands: Highlighting recent advances. *Peptides.* 2015 Oct;72:128-44.
9. Alexandris IH, Assimakopoulos SF, Vagianos CE, et



- al. Oxidative state in intestine and liver after partial hepatectomy in rats. Effect of bombesin and neurotensin. Clin Biochem. 2004;37(5):350-6.
10. Ishikawa T, Yang H, Tache Y. Microinjection of bombesin into the ventrolateral reticular formation inhibits peripherally stimulated gastric acid secretion through spinal pathways in rats. Brain Res. 2001;918(1-2):1-9.
11. Ashton N, Argent BE, Green R. Effect of vasoactive intestinal peptide, bombesin and substance P on fluid secretion by isolated rat pancreatic ducts. J Physiol. 1990;427(1):471-82.
12. Moroz O, Lyaschenko T, Veselsky S, et al. Bombesin-like peptides change secreted bile volume and the output of bile acids into the rat bile. J Physiol Sci. 2009;59(1):388.
13. Fuchs M. Bile Acid Regulation of Hepatic Physiology: III Regulation of bile acid synthesis: past progress and future challenges. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2003;284:551-7.
14. Lin S, Emanuel RL, Dewald D, Torday J, Asokanathan N, Wada K, Wada E, Sunday M. Bombesin-like peptide receptor gene expression, regulation and function in fetal murine lung. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2004;286:L165-L73.
15. Ohki-Hamazaki H, Iwabuchi M, Maekawa F. Development and function of bombesin-like peptides and their receptors. Int J Dev Biol. 2005;49:293-300.
16. Zapadniuk IA, Zapadniuk WI. Laboratory animals. Breeding, maintenance, use in the experiment. Kiev, 1983: p.246-56.
17. Veselsky SP, Lyaschenko PS, Lukianenko IA. С.А. № 1624322 МКИ В 25 J15/00 Method for determination of bile acids in biological fluids. СССР, declared. 25.01.1988; publ. 30.01.91, Bull. № 4.
18. Annoni G, Galiano N. Effect of Aging on the Liver and Pancreas. In: Pilotto A, Malfertheiner P, Holt PR (eds). Aging and the Gastrointestinal Tract. Vol 32. Basel Karger: Interdiscipl. Top Gerontol.; 2003.
19. Kiriyaama Y, Nochi H. The Biosynthesis, Signaling, and Neurological Functions of Bile Acids. Biomolecules. 2019 Jun 15;9(6):232.
20. Schubert ML, Jong MJ, Makhlof GM. Bombesin/GRP-stimulated somatostatin secretion is mediated by gastrin in the antrum and intrinsic neurons in the fundus. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 1991;261(5):885-9.

*Матеріал надійшов  
до редакції 27.07.2020*