

УДК 612.18 : 612.35

Салах Атамнах, О.В. Бондзик, Л.О. Слободяник,
С.П. Весельський, Є.М. Решетнік, П.І. Янчук**ВПЛИВ ГІСТАМІНУ НА ЕКСКРЕЦІЮ БІЛІРУБІНУ ПЕЧІНКОЮ ЩУРІВ**

У гострих дослідях на щурах-самцях з канюльованою жовчною протокою, які знаходилися під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг), досліджено вплив гістаміну (8 мкг /кг) (при його одноразовому внутрішньопортальному введенні) на екскрецію білірубину печінкою в умовах блокади H_1 гістамінових рецепторів тавегілом (25 мг/кг). Прямим спектрофотометричним методом визначали сумарну концентрацію пігментів (білірубину) у жовчі щурів. Виявлено, що в жовчі щурів, які отримали внутрішньопортальну ін'єкцію гістаміну, в другій півгодинній пробі (60-а хвилина гострого досліду) концентрація білірубину зменшувалася на 7,2%, порівняно із вихідним рівнем (першою півгодинною порцією жовчі, зібраною до введення гістаміну). Однак, у наступній порції жовчі (90-а хвилина гострого досліду) концентрація білірубину виявилася більшою від вихідного рівня на 12,1%. У разі внутрішньопортального введення гістаміну щурам, яким попередньо заблокували гістамінові H_1 -рецептори, концентрація білірубину у жовчі збільшується: в другій півгодинній порції жовчі (60-а хвилина гострого досліду) – на 21,4%, а в третій пробі (90-а хвилина гострого досліду) – на 31,7%. Таким чином, гістамін, при одноразовому внутрішньопортальному введенні, має складний вплив на утворення і екскрецію із жовчю білірубину. Припускаємо, що відсутність пригнічуючого впливу гістаміну на концентрацію загального білірубину в жовчі в умовах блокади H_1 гістамінових рецепторів вказує на залучення рецепторів різних типів до реалізації регуляторної дії гістаміну на метаболічні перетворення й екскрецію білірубину із жовчю.

Ключові слова: печінка, гістамін, H_1 гістамінові рецептори, тавегіл, жовч, білірубін

Постановка проблеми. Аналіз останніх досліджень і публікацій. Гістамін є регулятором із широким спектром біологічної дії, що відомий, перш за все, як так званий "посередник негайної гіперчутливості" [1, 9, 6]. Маючи значну фізіологічну активність, вільний гістамін, зокрема, впливає на тонус кровеносних судин печінки [3]. Відзначається також роль цього моноаміну в розвитку патології печінки при імунізації та в перебігу викликаних ліпополісахаридами уражень цього органу, що супроводжуються змінами рівня аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази, загального білірубину сироватки крові [7, 9, 10]. Привертає увагу дослідників участь гістаміну в регуляції обміну речовин, зокрема при захворюваннях печінки [11].

Біологічні ефекти гістаміну реалізуються за умови його взаємодії із відповідними G-білок-сполученими рецепторами, яких нараховується декілька типів, як то H_1 , H_2 , H_3 , H_4 , H_5 -рецептори [1, 3, 11]. Численність ефектів гістаміну пов'язана із різноманіттям гістамінових рецепторів. Враховуючи присутність кількох типів гістамінових рецепторів у печінці, слід очікувати впливу гістаміну на перебіг різних метаболічних процесів у ній. Однією із життєво важливих функцій печінки є метаболічне перетворення гему та екскреція продуктів його обміну із жовчю. Білірубін є одним з основних кінцевих метаболітів процесу розщеплення гемоглобіну. У пігментному обміні активну участь беруть наявні в печінці клітини Купфера. У цих клітинах, а також в гепатоцитах, білірубін зазнає складних перетворень і переміщень, включаючи його транслокацію через внутрішньоклітинні структури та кон'югацію з іншими органічними та неорганічними сполуками (в основному з глюкуроновою кислотою, яка переводить його у водорозчинну форму). Важливим є те, що по рівню похідних білірубину та білівердину в жовчі людини та тварин можна судити про ефективність виконання печінкою екскреторної функції [8].

Мета статті - дослідити дію гістаміну на екскрецію білірубину печінкою щурів.

Методика

Досліди проведені на 19 білих щурах (самцях) масою 180-230 г. Жовч отримували у гострих спробах впродовж 1,5 годин експерименту (три півгодинні проби). Під час гострого дослідження тварини знаходились під тіопенталовим наркозом (50 мг / кг маси тіла тварини), введений внутрішньоочередно. Після лапаротомії у відпрепаровану жовчну протоку через надріз вводили пластикову канюлю, котра з'єднувалась із мікропіпеткою. Впродовж 30 хвилин після канюлювання жовчної протоки визначали вихідний рівень жовчовиділення шляхом збору трьох 10-хвилинних порцій жовчі. Показники отримані при біохімічному аналізі першої півгодинної проби жовчі характеризували вихідний (контрольний) рівень досліджуваного метаболіту (білірубіну) в кожній експериментальній групі. Саме із цими показниками вихідного рівня порівнювали надалі значення концентрації білірубіну у жовчі наступних двох півгодинних проб, отриманих вже після внутрішньопортального введення використаних у досліді сполук. Тваринам першої експериментальної групи, одразу після збору першої півгодинної порції жовчі, внутрішньопортально вводили гістамін (8мкг на кг маси тіла тварини, розчинений у 200 мкл фізіологічного розчину). Тварини другої експериментальної групи (після збору першої півгодинної проби жовчі) отримували внутрішньопортальну ін'єкцію гістаміну в умовах блокади H1 рецепторів тавегілом (25 мг на кг маси тіла тварини, розчинений у 200 мкл фізіологічного розчину, внутрішньопортально, за 10 хвилин до введення гістаміну). Контрольній групі тварин аналогічним способом вводили відповідний об'єм фізіологічного розчину (200 мкл).

Визначення концентрації білірубіну проводили у кожній з півгодинних проб жовчі щурів спектрофотометрично. Такий методичний підхід є одним із надійних способів кількісної оцінки рівня білірубіну в біорідинах. Спектрофотометричні методи визначення кількості білірубіну та його похідних оснований на тому, що ці пігменти дають характерну абсорбційну смугу поглинання світла при 450-460 нм [4]. Для проведення спектрофотометричного визначення вмісту білірубіну в жовчі щурів в суху пробірку з позначкою на 35 мл мікропіпеткою відмірювали 0,05 мл жовчі, у місці її стікання по стінці пробірки додавали 1,5 мл кофеїнового реактиву (5,0 чистого кофеїну, 7,5 г бензоату натрію, 12,5 г ацетату натрію розчиняли в 600-700 мл дистильованої води в мірній колбі на 1л при легкому нагріванні, охолоджували до кімнатної температури і доводили дистильованою водою до мітки), 1 мл свіжо приготованої діазосуміші [10 мл діазореактиву I (в мірній колбі на 1 л розчиняли 5 г сульфанілової кислоти в 300-400 мл дистильованої води, додавали 15 мл концентрованої соляної кислоти, доводили до мітки дистильованою водою) і 0,25 мл діазореактиву II (0,5 г нітрату натрію розчиняли в 100 мл дистильованої води)] і доводили об'єм суміші дистильованою водою до 3,5 мл. Суміш перемішували скляною паличкою і за 10 хв фотометрували у порівнянні з дистильованою водою при 540 нм в кюветі з товщиною поглинаючого шару 5мм. Концентрацію білірубіну визначали за раніше збудованим калібрувальним графіком [2, 5].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили із використанням стандартизованих методів варіаційної статистики (STATISTICA 6.0) з врахуванням критерію t-Стюдента. Нормальність розподілу даних оцінювали за допомогою тесту Шапіро – Уїлка.

Результати та їх обговорення

Виявлено, що після внутрішньопортального введення гістаміну загальний об'єм виділеної печінкою щурів жовчі зменшився порівняно з вихідним рівнем її секреції. При введенні гістаміну в умовах блокади H1-гістамінових рецепторів кількість жовчі,

виділеної печінкою щурів за кожні 10 хвилин експерименту також зменшувалася впродовж 90 хвилин гострого дослідження.

Концентрація білірубину в жовчі щурів контрольної групи (внутрішньопортально введено фізіологічний розчин) зменшувалася в обох півгодинних пробах жовчі (зібраних на 60-й і 90-й хвилини гострого дослідження, відповідно), порівняно із першою порцією, отриманою за тридцять хвилин до введення фізіологічного розчину (Таблиця 1). Виявилось, що в жовчі щурів, які отримали внутрішньопортальну ін'єкцію гістаміну, в другій півгодинній пробі (60-а хвилина гострого дослідження) концентрація білірубину зменшувалася на 7,2%, порівняно з вихідним рівнем (першою півгодинною порцією жовчі, зібраною до введення гістаміну) (Таблиця 1). Однак, у наступній порції жовчі (90-а хвилина гострого дослідження) концентрація білірубину виявилася більшою від вихідного рівня на 12,1% (Таблиця 1). У разі внутрішньопортального введення гістаміну щурам, яким попередньо заблокували гістамінові Н1 рецептори, концентрація білірубину у жовчі збільшувалась: в другій півгодинній порції жовчі (60-а хвилина гострого дослідження) – на 21,4%, а в третій пробі жовчі (90-а хвилина гострого дослідження) – на 31,7% (Таблиця 1).

Таблиця 1

Концентрація білірубину в жовчі щурів-самців (мг%) після внутрішньопортального введення фізіологічного розчину (n=6), гістаміну (8 мкг/кг) (n=6) і гістаміну (8 мкг / кг) в умовах блокади Н1 гістамінових рецепторів тавегілом (25 мг/кг) (n=7), M ± SD.

№ проби жовчі	Час дослідження, хв	Введені речовини		
		Фізіологічний розчин	Гістамін	Тавегіл і гістамін
1	30	14,80±1,94	14,20±1,88	13,16±2,50
2	60	13,17±2,52**	13,18±1,75*	15,97±2,33***
3	90	12,72±2,12***	15,92±1,94**	17,33±1,03**

Примітки: *** p<0,001, ** p<0,01, * p<0,05 порівняно з вихідним рівнем (перша півгодинна порція жовчі).

Регулююча дія біологічно-активних речовин (у тому числі й гістаміну) на обмін пігментів в організмі може реалізовуватись через різні ланки перетворення гемоглобіну в білірубін чи білівердин. Як бачимо із отриманих нами показників (Таблиця 1), гістамін виявляє неоднозначну дію на вміст білірубину в жовчі щурів. Перший, "швидкий" ефект, спостерігається вже впродовж перших 30 хвилин після введення гістаміну і виявляється у зменшенні концентрації пігментів у жовчі (Таблиця 1).

Однак, надалі, у наступній півгодинній порції жовчі, концентрація загального білірубину зростає. Таким чином, "пригнічуючий" вплив гістаміну впродовж тридцяти хвилин змінювався на протилежний. Регуляторні ефекти гістаміну можуть реалізуватись через різні типи гістамінових рецепторів. У нашому дослідженні застосовано тавегіл – блокатор Н1 рецепторів. У разі попереднього введення тавегілу, застосування гістаміну вже не викликало зменшення концентрації загального білірубину в жовчі щурів, а навпаки, концентрація пігментів жовчі значно збільшувалася порівняно із вихідним рівнем. Отримані результати дозволяють зробити припущення про реалізацію впливу гістаміну на пігментний обмін та екскрецію білірубину із жовчю за участю різних типів гістамінових рецепторів. Ймовірніше за все, через Н1 рецептори гістамін виявляє таку дію на перебіг обміну та транспортні процеси в тканині печінки, які ведуть до зменшення концентрації загального білірубину в жовчі. Збільшення концентрації загального білірубину в жовчі щурів, зафіксоване через 60 хвилин після введення гістаміну та при його дії в умовах блокади Н1 рецепторів

тавегілом вказують на залучення інших механізмів (інших типів рецепторів) до реалізації регуляторних ефектів гістаміну на пігментний обмін у тканині печінки та її екскреторну функцію.

Висновки

1. Гістамін, при одноразовому внутрішньопортальному введенні, виявляє складний вплив на утворення і екскрецію із жовчю білірубину. А саме, впродовж перших тридцяти хвилин після введення гістамін викликає зменшення концентрації загального білірубину в жовчі, а надалі веде до зростання вмісту білірубину у жовчі щурів.

2. Відсутність пригнічуючого впливу гістаміну на концентрацію загального білірубину в жовчі в умовах блокади H1 гістамінових рецепторів вказує на залучення рецепторів різних типів до реалізації регуляторної дії гістаміну на метаболічні перетворення й екскрецію білірубину із жовчю.

Література

1. Бішко О. Гістамін і блокатори гістамінових рецепторів. Структурні та функціональні аспекти (Histamine and histamine receptors blockators. Structural and functional aspects) // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2012. – Випуск 60. – С. 40-57.
2. Ганиткевич Я.В. Исследование желчи. Биохимические и биофизические методы (Bile investigation. Biochemical and biophysical methods) / Я.В. Ганиткевич, Я.И. Карбач. – К.: Вища школа. – 1985. – 136 с.
3. Комаренко В.І. Дослідження ролі H1-рецепторів у реакціях ворітних судин печінки щурів на гістамін / Комаренко В.І., Терехов А.А., Воробьова А. П., Янчук П.І // Вісник Черкаського університету. - 2008. – Вип. 128. – С.54-58.
4. Комаров Ф.И. Биохимические исследования в клинике / Ф. И. Комаров, Б. Ф. Коровкин, В. В. Меньшиков. – Л.: Медицина. – 1976. – 384с.
5. Прокопенко І.В. До методик визначення та отримання у-фракції білірубину крові / І.В. Прокопенко, З.М. Рудих, Я.М. Сусак [та ін.] // Лабораторна діагностика. – 2002. – № 4. – С. 45–48.
6. Hu W. W. Role of histamine and its receptors in cerebral ischemia / Hu W. W., Chen Z. // ACS Chem Neurosci. – 2012. – V 3 (4). – P. 238-247.
7. Masaki T. The role of histamine H1 receptor and H2 receptor in LPS-induced liver injury / Masaki T., Chiba S., Tatsukawa H. et al // The FASEB Journal. – 2005. – V 19. – P. 1245-1252.
8. Paumgartner G. Medical treatment of cholestatic liver diseases: From pathobiology to pharmacological targets / Paumgartner G. // Gastroenterology. – 2006. – № 12 (28). – P. 4445–4451.
9. Tripathi T. Hepatotoxicity Due to Histamine Trifluoro-Methyl Toluidide, Amthamine, R-(-)-6-Methyl Histamine and Clobenpropit (H1R-H4R-Agonists, Respectively) in Rabbit Experimental Model / Tripathi T., Khan A. A., Shahid M. et al // American Medical Journal. – 2010. – V 1(1). – P. 1-7.
10. Tripathi T. Role of histamine H2 receptor agonist and antagonist on liver function impairment in immunized rabbits / Tripathi T., Shahid M., Khan A. A. et al // International Journal of Medicine and Medical Sciences. – 2010. – V 2 (12). – P.395-401.
11. Wang K.-Y. Histamine Regulation in Glucose and Lipid Metabolism via Histamine Receptors Model for Nonalcoholic Steatohepatitis in Mice / Wang K.-Y., Tanimoto A., Yamada S. et al // Am J Pathol. – 2010. – V 117, № 2. – P. 713-723.

Аннотация. Салах Атамнах, Бондзик О.В., Слободяник Л.О., Весельський С.П., Решетник Е.М., Янчук П.И. Влияние гистамина на экскрецию билирубина печенью крыс. В острых опытах на крысах-самцах с канюлированным желчным протоком, которые находились под тиопенталовым наркозом (50 мг / кг), исследовано влияние гистамина (8 мкг / кг) (при его однократном внутриворотальном введении) на экскрецию билирубина печенью в условиях блокады H1 гистаминовых рецепторов тавегилом (25 мг / кг). Прямым спектрофотометрическим методом определяли суммарную концентрацию пигментов (билирубина) в желчи крыс. Обнаружено, что в желчи крыс, получивших внутриворотальную инъекцию гистамина, во второй полчасовой пробе (60-я минута острого опыта) концентрация билирубина уменьшалась на 7,2% по сравнению с исходным уровнем (первой полчасовой порцией желчи, собранной до введения гистамина). Однако, в следующей порции

желчи (90-я минута острого опыта) концентрация билирубина оказалась больше исходного уровня на 12,1%. При внутриворотальном введении гистамина крысам, которым предварительно заблокировали гистаминовые H1 рецепторы, концентрация билирубина в желчи увеличивалась: во второй получасовой порции желчи (60-я минута острого опыта) - на 21,4%, а в третьей пробе желчи (90-я минута острого опыта) - на 31,7%. Таким образом, гистамин, при однократном внутриворотальном введении, имеет сложное влияние на образование и выведение с желчью билирубина. Предполагаем, что отсутствие угнетающего влияния гистамина на концентрацию общего билирубина в желчи в условиях блокады H1 рецепторов указывает на вовлечение рецепторов разных типов в реализацию регуляторного действия гистамина на метаболические превращения и экскрецию билирубина с желчью.

Ключевые слова: печень, гистамин, H1 гистаминовые рецепторы, тавегил, желчь, билирубин

Summary. Salah Atamnah, Bondzik O.V., Slobodyanik L.O., Veselskiy S.P., Reshetnik E.M., Yanchuk P.I. *Influencing of histamine on excretion bilirubin by the liver of rats. In acute experiments on male rats with cannulated bile ducts, which were under tiopentalovym anesthesia (50 mg / kg), the effect of histamine (8 mkg / kg) (in portal vein single administration) for excretion of bilirubin in the liver blockade of histamine H1 receptors clemastine (25 mg / kg). The total concentration of pigment (bilirubin) were determined in bile of rats with direct spectrophotometric method. It was found that in the bile of rats that received an intraportal injection of histamine in the second half-hour test (60 minutes acute experiment) the concentration of bilirubin decreased by 7.2% compared to baseline (first half-hour portion of the bile collected before the introduction of histamine). However, the next portion of the bile (90th minute acute experiment) the concentration of bilirubin was greater from baseline by 12.1%. If intraportal administration of histamine to rats that previously blocked the histamine H1 receptor, the concentration of bilirubin in the bile increases: in the second half-hour portion of the bile (60th minute acute experiment) - by 21.4%, while the third sample of bile (90 minutes acute experiment) - by 31.7%. Thus, histamine has a complex effect on the bile bilirubin formation and excretion. We assume that no depressing effect on the histamine concentration of total bilirubin in the bile in the blockade of histamine H1 receptors indicates the involvement of different types of receptors to implementing the regulatory action of histamine on metabolic conversion and excretion of bilirubin from bile.*

Key words: liver, histamine, H1 histamine receptors, tavegil (clemastine), bile, bilirubin

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Одержано редакцією	20.12.2012
Прийнято до публікації	9.01.2013