

УДК [612.357.1+577.117.2]:57.05

**ОСОБЛИВОСТІ БІОСИНТЕЗУ ЖОВЧНИХ КИСЛОТ У ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ПРИ НАВАНТАЖЕННІ ЇХ ОРГАНІЗМУ ТАУРИНОМ**

*Н.М. Данченко, В.М. Бабан, Е.М. Решетнік,  
С.П. Весельський, Б.О. Цудзевич*

*Київський національний університет імені Тараса  
Шевченка ННЦ «Інститут біології»*

*ninadanc@gmail.com*

Исследовано влияние низких доз таурина на процессы образования желчи и эффективность процессов конъюгации желчных кислот в тканях печени крыс. Установлено, что при однократном введении таурина уровень секреции гликохолевой и смеси гликохенодезоксихолевой и гликодезоксихолевой кислот у крыс опытной группы по сравнению с контрольной достоверно не изменился. Трехкратное введение этой аминокислоты подопытным крысам обусловило снижение секреции смеси гликохенодезоксихолевой и гликодезоксихолевой кислот в их желчи, что свидетельствует о значительном снижении эффективности работы полиферментных систем, обеспечивающих конъюгацию желчных кислот с глицином.

*Таурокоњуговані та гликокоњуговані желчні кислоти, таурин, желчеобразование*

## **ВСТУП**

У складі печінкового секрету більшості тварин та людини знайдено кон'югати таурину з жовчними кислотами. Можна припустити, що таурин здатний впливати не тільки на хімічний склад жовчі, а й регулювати інтенсивність жовчоутворення, оскільки він модулює активність холестерол-7 $\alpha$ -гідролази, одного з ключових ферментів синтезу жовчних кислот [1, 2].

Окрім того, таурин як сульфуровмісна амінокислота може здійснювати осморегуляторні, цитопротекторні, нейромедіаторні функції [3, 4], брати певну участь в регуляції прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в тканинах печінки [5–11], а як субстрат процесу кон'югації з жовчними кислотами, може бути і лімітуючим фактором

перебігу метаболічних процесів, що забезпечують жовчоутворення в печінці тварин та людини [6, 12]. Враховуючи зазначене, метою роботи було дослідити вплив низьких доз таурину на жовчовидільну функцію та ефективність процесів кон'югації та гідроксилування в тканинах печінки щурів.

### **МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ**

Досліди проведені на білих щурах – самцях масою 180–220 г, які перед дослідом були позбавлені їжі на 18–20 годин з вільним доступом до води. Під час досліду тварини знаходились під тіопенталовим наркозом (5 мг/100 г маси тіла), введеним внутрішньочеревинно. Для дослідження зовнішньосекреторної функції печінки щурів після лапаротомії у відпрепаровану жовчну протоку через надріз її стінки вводили тонку пластикову конюлю з приєднаною поліетиленовою трубкою, котра з'єднувалась з мікропіпеткою. Зібрану жовч аналізували на вміст вільних та кон'югованих жовчних кислот за допомогою тонкошарової хроматографії [13]. Екстракцію жовчних кислот із жовчі здійснювали сумішшю ацетон / етанол в об'ємному співвідношенні 3:1 при температурі 4°C. Жовчні кислоти розділяли на пластинках Silufol із сілікагелевою основою в системі розчинників, яка включала амілацетат, бутанол, толуол, оцтову кислоту і воду в об'ємному співвідношенні 3 : 1 : 1 : 3 : 1. Виявлення та кількісна оцінка окремих груп жовчних кислот на хроматограмах проводилась за допомогою денситометрії у відображеному світлі ( $\lambda = 620$  нм) на приладі ДО – 1м (Ізюмський приладобудівний завод, Україна) після фарбування їх модифікованим фосфорномолібденовим барвником та попередньою побудовою відповідних калібрувальних кривих для окремих фракцій жовчних кислот.

Отримані біохімічні показники по концентрації жовчних кислот у жовчі щурів були використані для розрахунку коефіцієнтів кон'югації, гідроксилування та співвідношення глікокон'югатів і таурокон'югатів, що

характеризують особливості перебігу певних фізіолого-біохімічних процесів у тканинах печінки [14].

Таурин у дозі 3 мг на 100 г маси тіла тварини, розчинений у дистильованій воді (1мл) вводили через зонд у стравохід одноразово й курсом (трьохкратно впродовж трьох днів). Контролем слугували шури, які отримували перорально лише воду в такий самий спосіб.

Статистична обробка результатів проводилась за допомогою пакету програм Statistica 6.0 (Stat-Soft, 2001). Для оцінки нормальності розподілу даних використовували тест Шапіто-Вілка. Для оцінки значущих відмінностей між вибірками з нормальним розподілом даних використовувався t-критерій Ст'юдента. Відмінності між контролем та дослідом вважались вірогідними при  $p \leq 0,05$ .

## **РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ**

Проведені експерименти не виявили достовірних змін об'ємної швидкості секреції жовчі при одноразовому введенні таурину напередодні досліджень жовчосекреторної функції печінки у піддослідних шурів. Уведення таурину впродовж трьох днів також не впливає на швидкість секреції жовчі порівняно з контрольними тваринами, яким одночасно вводили зондом відповідну кількість дистильованої води.

Однак, проведений за допомогою тонкошарової хроматографії аналіз наявного спектру в жовчі вільних та кон'югованих жовчних кислот показав суттєві відмінності, як у якісному, так і в кількісному складі даних органічних складових залежно від режиму навантаження організму шурів таурином. Зокрема, у піддослідних шурів спостерігалось посилення секреції печінкою із жовчу таурокон'югатів жовчних кислот порівняно з відповідним контролем (табл. 1). Так, рівень секреції таурохолевої кислоти (ТХК) збільшився майже однаково, на 53,3–53,8% ( $p \leq 0,05$ ) як при одноразовому, так і при курсовому введенні таурину. В той час, ефективність біосинтезу тауродигідроксихоланових кислот в печінці піддослідних шурів суттєво відрізнялась при різних режимах навантаження таурином. При одноразовому введенні таурину рівень

секреції суміші таурохенодезоксихолевої (ТХДХК) і тауродезоксихолевої (ТДХК) кислот зріс лише на 37,9 % ( $p \leq 0,05$ ), а при курсовому призначенні амінокислоти – на 57,3 % ( $p \leq 0,05$ ).

Таблиця 1 – Вплив таурину на секрецію жовчних кислот, мкг/(г·хв.) ( $M \pm m; n = 6$ )

Table 1 – Effect of taurine on bile acid secretion, mkg/(g·min) ( $M \pm m; n = 6$ )

Жовчні кислоти	Режим навантаження			
	Одноразове		Трьохкратне	
	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід
ТХК	3,45 ± 0,12	5,28 ± 0,90**	2,49 ± 0,02	3,83 ± 0,19**
ТХДХК + ТДХК	3,17 ± 0,15	4,37 ± 0,16*	2,20 ± 0,01	3,46 ± 0,17**
ГХК	2,81 ± 0,21	3,04 ± 0,33	2,89 ± 0,15	1,08 ± 0,05*
ГХДХК + ГДХК	0,28 ± 0,01	0,22 ± 0,03	0,29 ± 0,01	0,09 ± 0,01*
ХК	0,33 ± 0,01	0,28 ± 0,01	0,23 ± 0,01	0,3 ± 0,01*
ХДХК + ДХК	0,16 ± 0,01	0,05 ± 0,01**	0,11 ± 0,004	0,02 ± 0,01*

Примітка. Різниця статистично значуща (\* – на рівні  $p < 0,05$  та \*\* – на рівні  $p < 0,01$ ) щодо показників контрольної групи.

Очевидно, що екзогенний таурин, уведений *per os*, сприяв підсиленню роботи поліферментних систем у клітинах печінки щурів, що забезпечують кон'югацію його з холевою (ХК), хенодезоксихолевою (ХДХК) і дезоксихолевою (ДХК) жовчними кислотами, про що свідчить достовірне зростання рівня таурокон'югованих похідних цих кислот. Біологічна доцільність кон'югації жовчних кислот полягає в тому, що тауро- і глікокон'югати жовчних кислот більш водорозчинні й виявляють менш ушкоджувальну дію на клітини печінки й жовчовивідних шляхів.

Слід відмітити, що рівень секреції глікохолевої (ГХК) та суміші глікохенодезоксихолевої (ГХДХК) і глікодезоксихолевої (ГДХК) кислот при одноразовому введенні таурину вірогідно не змінився порівняно з контрольними величинами. Водночас трикратне введення цієї амінокислоти піддослідним щурам явно знизило ефективність роботи поліферментних систем в гепатоцитах, що забезпечують кон'югацію жовчних кислот з гліцином (табл. 1). Про це свідчить на 61,4 % ( $p \leq 0,01$ ) зниження секреції суміші глікохенодезоксихолевої і глікодезоксихолевої кислот у жовчі піддослідних щурів. Вільні жовчні кислоти, такі як холева, хенодезоксихолева та дезоксихолева, в разі курсового введення таурину визначались у низці експериментів у слідових кількостях. Це в певній мірі може бути наслідком підвищеного їх використання в процесах кон'югації з таурином [15–18].

Аналіз змін коефіцієнтів кон'югації та гідроксилування жовчних кислот (табл. 2) при навантаженні організму щурів таурином вказує на суттєві перебудови в перебігу метаболічних процесів, котрі забезпечують жовчоутворення в печінці тварин. Зокрема зростання коефіцієнта кон'югації більш, ніж удвічі було забезпечено значним посиленням біосинтезу таурокон'югованих жовчних кислот. В той час незначне збільшення коефіцієнту гідроксилування свідчить про більшу вираженість в біосинтезі даних метаболітів за участю мітохондріальних ферментів. Такий комплексний вплив таурину на процеси жовчоутворення відкриває напрямок у використанні інших субстратів для відпрацювання оптимальних умов при коригуванні чи підвищенні колоїдостійкості жовчі тварин та людини.

Таблиця 2 – Співвідношення жовчних кислот та коефіцієнти їх кон'югації і гідроксилування за різних режимів навантаження організму щурів таурином

Table 2 – Ratio of bile acids and their coefficients conjugation and hydroxylation at various load conditions in organism of rats by taurine

Досліджені показники	Режим навантаження			
	Одноразове		Трьохкратне	
	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід
Коефіцієнт кон'югації (КК)				
Кон'юговані ЖК (мг%)	425,9	472,8	399,8	523,0
Вільні ЖК (мг%)	21,8	18,2	23,6	9,2
КК	19,5	25,9	16,9	56,8
Коефіцієнт гідроксилування (КГ)				
Тригідроксихоланові ЖК (мг%)	321,5	361,1	308,0	379,2
Дигідроксихоланові ЖК (мг%)	142,4	136,2	133,4	146,0
КГ	2,3	2,7	2,3	2,6
Співвідношення гліко- до таурокон'югатів жовчних кислот (КС)				
Глікокон'юговані ЖК (мг%)	165,9	178,2	144,2	107,4
Таурокон'юговані ЖК (мг%)	260,0	294,6	255,6	375,6
КС	0,64	0,75	0,56	0,34

У подальших дослідженнях встановлений комплексний вплив таурину на процеси жовчоутворення відкриває можливий напрямок у використанні інших субстратів для відпрацювання оптимальних умов при коригуванні колоїдності жовчі тварин та людини, що вкрай важливо при лікування жовчокам'яної хвороби в людей.

## ВИСНОВКИ

1. Значна інтенсифікація роботи поліферментних систем, які забезпечують кон'югацію жовчних кислот з таурином, певною мірою загальмувало кон'югацію цих кислот з гліцином, що наочно виявилось в разі тривалого

навантаження організму тварин даним препаратом.

2. Навантаження організму щурів дослідженою дозою таурину зумовило суттєві зміни співвідношення гліко- і тауропохідних жовчних кислот та, частково, коефіцієнту гідроксилування, що є наслідком змін процесів в інших ланках обміну речовин. Отже, таурин бере активну участь в регуляції широкого спектру фізіологічних та біохімічних процесів, тісно пов'язаних з особливостями відтворення печінкою жовчосекреторної функції.

### ЛІТЕРАТУРА:

1. Murakami S. *Improvement in cholesterol metabolism in mice given chronic treatment of taurine and fed a high-fat diet* / S. Murakami, V. Kondo-Ohta, K. Tomisawa // *Life Sci.* – 1999. – Vol. 64. – P. 83–91.

2. Недосугова Л.В. *Место дибикора в комплексной терапии сахарного диабета* // *Фарматека.* – 2008. – №17. – С. 22–23.

*Nedosugova L.V. Mesto dibikora v kompleksnoy terapii sakharnogo diabeta* // *Farmateka.* – 2008. – №17. – С. 22–23.

3. *Maturo J. Insulin-like activity of taurine* / J. Maturo, E.C. Kulakowsky // *Advances in Experimental Medicine and Biology.* – New York, 1987. – Vol. 217. – P. 217–226.

4. *Аметов А.С. Роль таурина в эксперименте и в клинике сахарного диабета* / А.С. Аметов, И.И. Кочергина, Е.П. Елизарова // *Consilium medicum.* – 2013. – Т. 15, № 4. – С. 49–53.

*Ametov A.S. Rol taurina v eksperimente i v klinike sakharnogo diabeta* / A.S. Ametov, I. Kochergina, E.P. Elizarova // *Consilium medicum.* – 2013. – Т. 15, № 4. – С. 49–53.

5. *Hansen S.H. The important role of taurine in oxidative metabolism* / S.H. Hansen, M.L. Andersen, H. Birkedal et al. // *Adv. Exp. Med. Biol.* – New York, 2006. – Vol. 583. – P. 129–35.

6. *Ворохобина Н.В. Применение Дибикора® у больных сахарным диабетом 2-го типа и метаболическим синдромом* / Н.В. Ворохобина, А.В. Кузнецова // *Русский медицинский журнал.* – 2010, № 30. – С. 1816–1819.

Vorokhobina N.V. *Primenenie Dibikora u bolnykh sakharnym diabetom 2-go tipa i metabolicheskim sindromom* / N.V. Vorokhobina, A.V. Kyznetsova // *Russkiy meditsinskiy zhurnal.* – 2010. – № 30. – S. 1816–1819.

7. Mankovskaya I. *Mechanisms of taurine antihypoxic and antioxidant action* / I.N. Mankovskaya, N.V. Serebrouskaya, R.I. Swanson et al. // *High Altit. Med. And Biol.* – 2000. – Vol. 2. – P. 105–110.

8. Das J. *Acetaminophen induced acute liver failure via oxidative stress and JNK activation: protective role of taurine by the suppression of cytochrome P450 2E1* / J. Das, J. Ghosh, P. Manna, P.C. Sil // *Free Radic. Res.* – 2010. – 44(3). – P. 340–355.

9. Емельянов В.В. *Серусодержащие антиоксиданты в терапии сахарного диабета и его осложнений* / В.В. Емельянов // *Фармация и общественное здоровье: матер, ежегод. конф. Екатеринбург, 2009.* – С.70–76.

Emelyanov V.V. *Seruserzhashchie antioksidanty v terapii sakharnogo diabeta i ego oslozhneniy* / V.V. Emelyanov // *Farmatsiya i obshchestvennoe zdorove: mater, ezhegod. konf. Ekaterinburg, 2009.* – S.70–76.

10. Gavrovskaya L.K. *Effect of taurine and thioctamide on carbohydrate metabolism and the antioxidant system in rats with experimental diabetes* / L.K. Gavrovskaya, O.V. Ryzhova, A.F. Safonova // *Eksp. Klin. Farmacol.* – 2008. – 71, № 3. – P. 34–35.

11. Звягинцева Т.В. *Корекція таурином стану ЦНС, надниркових залоз та фагоцитарної активності при експериментальному стресі* / Т.В. Звягинцева, Л.Т. Киричок, Г.С. Кратенко // *Фармакологія та лікар. токсикологія.* – 2008. – № 56 (67). – С. 58–63.

Zvyagintseva T.V. *Korektsiya taurinom stanu TSNS, nadnirkovykh zaloz ta fagotsitarnoy aktyvnosti pri eksperimentalnomu stresu* / T.V. Zvyagintseva, L.T. Kirichok, G.S. Kratenko // *Farmakologiya ta likar. toksykologiya.* – 2008. – № 56 (67). – S. 58–63.

12. Журавльова Л.В. *Дисхолія у хворих на цукровий діабет 2-го типу з ожирінням та без нього* /

Журавльова Л.В., Моїсеєнко Т.А. // Сучасна гастроентерологія. – 2013. – № 1 (69). – С.47–54.

Zhyravleva L.V. Diskholiya u khvorykh na tsukrovyy diabet 2-go tipu z ozhirinnyam ta bez nego / L.V. Zhyravleva, T.A. Moiseenko // Sychasna gastroenterologiya. – 2013. – № 1 (69). – С.47-54.

13. А.С. № 624322 СССР. Способ определения желчных кислот в биологических жидкостях / С.П. Весельский, П.С. Лященко, И.А. Лукьяненко; опубл. 30.01.1991, Бюл. № 4.

A.s. 624322 SSSR. Spособ opredeleniya zhelchnykh kislot v biologicheskikh zhidkostyakh / S.P. Veselskiy, P.S. Lyashchenko, I.A. Lukyanenko; opubl. 30.01.1991, Byul. № 4.

14. Саратиков А.С. Желчеобразование и желчегонные средства / А.С. Саратиков, Н.П. Скакун // Томск: Изд-во Том. ун-та, 1991. – 261 с.

Saratikov A.S., Skakun N.P. ZHelcheobrazovanie i ZHelchegonnye sredstva / Pod red M.A. Medvedeva. 2-e izd., pererab. i dop. Томск: Izd-vo Том. un-ta, 1991. – 261 s.

15. Podda M. Effects of ursodeoxycholic acid and taurine on serum liver enzymes and bile acids in chronic hepatitis / M. Podda, C. Ghezzi, P.M Battezzati et al. // Gastroenterology. – 1990. – 98 (4). – P. 1044–1050.

16. Hardison W.G. Hepatic taurine concentration and dietary taurine as regulators of bile acid conjugation with taurine / W.G. Hardison // Gastroenterology. – 1978. – 75 (1). – P. 71–75.

17. Sharma K.R. Review on bile acid analysis / K.R. Sharma // Int. J. Pharm. Biomed. Sci. – 2012. – Vol. 3 (2). – P. 28–34.

18. de Aguiar Vallim T. Pleiotropic Roles of Bile Acids in Metabolism / Thomas Q. de Aguiar Vallim, Elizabeth J. Tarling, Peter A. Edwards // Cell Metabolism. – 2013. – Vol. 17(5). – P. 657–669.

## **FEATURES BIOSYNTHESIS BILE ACIDS IN RAT LIVER DURING LOADING THEIR BODY TAURINE**

*N.M. Danchenko, V.M. Baban, E.M. Reshetnik, S.P. Veselskiy,  
B.A. Tsudzevych*

*Kyiv National Taras Shevchenko University*

*NSC "Institute of Biology"*

*ninadanc@gamil.com*

As part of the hepatic secretion of most animals and humans found taurine conjugates of bile acids. We can assume that taurine is able to influence not only on the chemical composition of bile, but also adjust the intensity of bile formation because it modulates the activity of cholesterol-7 $\alpha$ -hydrolase, a key enzyme of bile acid synthesis. In addition, taurine as the S-containing aminoacid, can take a part in the regulation of prooxidant-antioxidant balance in liver tissues, as well as the process of substrate conjugation with bile acids, may be a limiting factor in the course of metabolic processes, ensuring bile formation in the liver of animals and humans. With this in mind, the purpose of the work was to investigate the effect of low doses of taurine on biliary function and efficiency of the processes of conjugation and hydroxylation in the liver tissues of rats.

Experiments conducted on white rats - males weighing 180 - 220 g, which before experiment were deprived of food for 18 - 20 hours with free access to water. The collected bile were analyzed for content of free and conjugated bile acids by thin layer chromatography. Taurine at a dose of 3 mg per 100 g body weight, dissolved in distilled water (1 mL) was injected through a tube into the esophagus one times or three times for three days. Served as a control rats treated orally only water in the same way.

The experiments did not reveal significant changes in the volume rate of secretion of bile after a single administration of taurine. Insertion of taurine for three days also affect the rate of bile secretion compared with control animals, which were injected simultaneously probe the appropriate amount of distilled water.

However, promoted by thin layer chromatography analysis of available spectrum in the bile of free and conjugated bile acids showed significant differences, both qualitative and quantitative

data within the organic components depending on the mode of loading body taurine rats. In particular, the experimental rats were observed increased secretion of bile by the liver taurokonyuhativ bile acids compared with the corresponding control. Thus, the level of acid secretion tauroholevoyi increased almost equally by 53,3 – 53,8 % both at once, and in the course administered taurine. While efficiency taurodyhidroksyholanovyh acid biosynthesis in the liver of experimental rats significantly differed in different modes of loading taurine. Single-dose taurine levels and secretion mixture taurohenodezoksyholevoyi taurodezoksyholevoyi acids increased only by 37,9% ( $p \leq 0,05$ ), and in the course assignment acids - by 57,3%. Obviously, endogenous taurine, introduced per os, promoted strengthening work polyenzyme systems in rat liver cells, providing its conjugation with cholic, henodezoksyholevoyu dezoksyholevoyu and bile acids, as evidenced by a significant increase in taurokonyuhovanyh derivatives of these acids. Biological feasibility of conjugated bile acids is that Tauro- and glycoconjugates of bile acids are more soluble and exhibit less damaging effect on the cells of the liver and biliary tract.

The level of secretion hlikoholevoyi hlikohenodezoksyholevoyi and mixtures of acids and hlikodezoksyholevoyi Single-dose taurine did not change significantly compared with control values. While the introduction of this triple amino experimental rats clearly reduced performance polyenzyme systems in hepatocytes, providing conjugation of bile acids with glycine. This is evidenced by decreased secretion of 61,4% and a mixture hlikohenodezoksyholevoyi hlikodezoksyholevoyi bile acids in experimental rats. Free bile acids such as cholic, henodezoksyholeva dezoksyholeva and, in the case of a course administration of taurine were determined in a series of experiments in trace amounts. This to some extent may be due to increased use in the process of conjugation with taurine.

Analysis of variation of hydroxylation and conjugation of bile acids with a load body taurine rats indicates significant adjustment in the course of metabolic processes that provide bile formation in the liver of animals. Particular growth factor

conjugation is more than double ensured a significant increase in bile acid biosynthesis taurokonyuhovanyh. While a slight increase in hydroxylation ratio indicates greater severity in the biosynthesis of metabolite data with mitochondrial enzymes. This complex effect of taurine on bile formation processes reveals the direction to use other substrates for testing the optimal conditions to adjust or increase bile koloyidostiykosti animals and humans.

Thus, activation polyenzyme systems that provide conjugation with taurine to some extent inhibited the conjugation of bile acids with glycine, which clearly proved in the case of long loading of animals given the drug. Last primarily caused significant changes in the ratio of ratios glyco- taurophidnyh to bile acids and partially in the ratio of hydroxylation, which could be due to changes in the course of other levels of metabolism. Thus, taurine is actively involved in the regulation of a wide range of physiological and biochemical processes.

УДК [612.357.1+577.117.2]:57.05

Данченко Н.М., Бабан В.М., Решетнік Е.М., Весельський С.П., Цудзевич Б.О. Особливості біосинтезу жовчних кислот у печінці щурів при навантаженні їх організму таурином // *Питання біоіндикації та екології. – Запоріжжя, ЗНУ: 2014. – С. 247–258.*

Досліджено вплив низьких доз таурину на жовчовидільну функцію та ефективність процесів кон'югації в тканинах печінки щурів. За умов гострого експерименту зареєстроване зростання більш ніж у 1,5 рази секреції таурокон'югатів із жовчю у піддослідних щурів. Встановлено, що за одноразового введення таурину рівень секреції глікохолової та суміші глікохенодезоксихолової і глікодезоксихолової кислот у щурів дослідної групи достовірно не змінився порівняно з контрольною. Трикратне введення цієї амінокислоти піддослідним щурам зумовило зниження секреції суміші глікохенодезоксихолової і глікодезоксихолової кислот у жовчі піддослідних щурів, що вказує на значне зниження ефективності роботи поліферментних систем, які забезпечують кон'югацію жовчних кислот з гліцином.