

УДК 612,35

С. Атамнах, асп., В. Барановський, провід. інженер, Є. Решетнік, наук. співроб.,
С. Весельський, д-р біол. наук, П. Янчук, д-р біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ

ВПЛИВ ГІСТАМІНУ НА ЛІПІДНИЙ СКЛАД ЖОВЧІ ЩУРІВ

Досліджено вплив гістаміну (8 мкг/кг, внутрішньопортально) на концентрацію ліпідів у жовчі щурів. У жовчі, отриманій у гострих дослідках на щурах самцях (наркотизація тіопенталом натрію, 50 мг/кг), методом тонкошарової хроматографії визначено концентрацію фосфоліпідів, холестеролу та його ефірів, вільних жирних кислот, тригліцеридів. Результати статистично опрацьовано з використанням пакету Statistica 7.0; $p < 0,05$. Результати. Гістамін збільшував концентрації фосфоліпідів, холестеролу, його ефірів і зменшував вміст вільних жирних кислот і тригліцеридів у жовчі. Ймовірно, гістамін, діючи на транспорт у жовч ліпідних компонентів, впливає на її фізико-хімічні властивості та утримання холестеролу в змішаних жовчних міцелах. Висновок. Гістамін впливає на метаболічні перетворення і транспорт ліпідів у клітинах печінки, викликаючи зростання концентрації фосфоліпідів, холестеролу та його ефірів у жовчі та зменшення в ній вмісту вільних жирних кислот і тригліцеридів.

Ключові слова: печінка, гістамін, ліпіди, жовч.

Вступ. Гістамін належить до важливих ендogenous регуляторів ліпідного обміну [1, 2, 3]. Зокрема, H1R and H2R гістамінові рецептори опосередковують вплив аутокоїду на перебіг ліпідного обміну при розвитку викликаного ліпополісахаридом ураження печінки [4] та при індукованому гіперліпідемією експериментальному неалкогольному стеатогепатиті [2, 4, 5]. Враховуючи, що у печінці активність L-гістидиндекарбоксилази (ключового ферменту синтезу гістаміну із L-гістидину) значно вища ніж у клітинах тіла шлунку та в панкреатичній тканині, а також оскільки вміст цього аутокоїду у тканині печінки є досить високим [6], слід вважати, що гістамін є вагомим регулятором функціонування печінки та обміну речовин у ній.

Одним із аспектів ліпідного обміну в організмі людини і тварин є їх метаболічні перетворення у гепатоцитах із наступним переміщенням до первинних жовчних каналікул в якості ліпідних компонентів жовчі. Завдяки цьому жовч є біологічною рідиною, яка дуже багата на ліпіди [7]. На сьогодні виявлено, що антигістамінові препарати значно змінюють транспепатоцелюлярний транспорт, впливаючи на експресію білків транспортерів плазматичних мембран клітин паренхіми печінки [8]. Враховуючи значну активність гістаміну як регулятора метаболічних і транспортних процесів у тканині печінки метою роботи було дослідження його впливу на концентрацію окремих ліпідів у жовчі. У наших експериментах гістамін використано у дозі, яка була ефективною щодо тканинного дихання у печінці та регуляції печінкового кровообігу (8 мкг/кг маси тіла тварини). Оскільки жовчотворення у клітинах печінки є комплексом численних метаболічних реакцій, значна кількість яких є кисень залежними, доцільно було дослідити наскільки гістамін у такій дозі впливатиме на обмін і транспорт ліпідів жовчі. Важливість дослідження дії регуляторного фактора на надходження і вміст ліпідів у жовчі обумовлена роллю цих сполук у виникненні та перебігу захворювань гепато-біліарної системи.

Матеріали і методи. Досліди проведені на білих щурах (самцях) масою 180-230 г. Під час гострого дослідку тварини знаходились під тіопенталовим наркозом (50 мг / кг маси тіла тварини, внутрішньочеревно). Після лапаротомії у відпрепаровану жовчну протоку через надріз вводили пластикову канюлю, котра з'єднувалась із мікропіпеткою. Жовч збирали впродовж трьох годин експерименту у шість півгодинних проб. Впродовж 30 хвилин після канюлювання жовчної протоки визначали вихідний рівень жовчовиділення шляхом збору трьох 10-хвилинних порцій жовчі. В отриманій жовчі щурів методом тонкошарової хроматографії, удосконаленим у нашій лабораторії [9] виділяли наступні фракції: фосфоліпідів, холестеролу, вільних жирних кислот, тригліцеридів та ефірів холестеролу. Показники отримані при біохімічному аналізі першої півгодинної проби жовчі характеризували

вали вихідний (контрольний) рівень досліджуваних ліпідів жовчі у кожній експериментальній групі. Саме із цими показниками вихідного рівня порівнювали надалі значення концентрації ліпідів у жовчі наступних півгодинних проб, отриманих вже після внутрішньопортального введення гістаміну (8 мкг на кг маси тіла тварини, розчинений у 200 мкл фізіологічного розчину). Тварини контрольної групи отримували внутрішньопортально фізіологічний розчин (200 мкл на 100 г маси тіла).

Статистичну обробку даних проводили з використанням пакету Statistica 7.0 (Stat Soft, США). Кожну групу перевіряли на нормальність за критерієм Шапіро-Вілко. Розподіл цифрових даних був відмінний від нормального. Відмінності між дослідною і контрольною групами шукали за критерієм Мана-Уїтні ($p \leq 0,05$), а відмінності у дослідній групі між вихідним рівнем секреції та рівнем секреції після введення серотоніну – за критерієм Вілкоксона ($p \leq 0,05$). Результати подані у вигляді медіани та верхнього і нижнього квартилів (Me [Q25; Q75]).

Результати та їх обговорення. Виявлено, що у жовчі зібраній впродовж півгодинного проміжку дослідку одразу після внутрішньопортального болюсного введення гістаміну (8 мкг/кг маси тіла) концентрація фосфоліпідів зростає на 5,7% ($p < 0,05$) порівняно із вихідним рівнем (концентрація фосфоліпідів у першій півгодинній пробі жовчі, зібраній до введення аутокоїду) (Таблиця 1). У жовчі зібраній за третій півгодинний проміжок гострого дослідку концентрація фосфоліпідів виявлялася більшою на 16,8% ($p < 0,05$) порівняно із вихідним рівнем та на 10,5% ($p < 0,05$) порівняно із показником отриманим для жовчі тварин контрольної групи (Таблиця 1). У четвертій пробі жовчі вміст фосфоліпідів усе ще лишався на 5,1% ($p < 0,05$) вищим ніж у контролі та на 11,1% ($p < 0,05$) більшим від вихідного рівня (Таблиця 1). Надалі у п'ятій пробі жовчі щурів дослідної групи концентрація фосфоліпідів статистично значимо не відрізняється від вихідного рівня та контролю (Таблиця 1). Хоча у жовчі зібраній впродовж останнього шостого півгодинного проміжку дослідку концентрація фосфоліпідів виявляється на 8,3% ($p < 0,05$) вищою від вихідного рівня (Таблиця 1).

Таким чином, гістамін у застосованій дозі при одноразовому внутрішньопортальному введенні викликає швидке збільшення концентрації фосфоліпідів у жовчі самців щурів. Важлива фізіологічна роль фосфоліпідів жовчі полягає у тому, що вони стабілізують колоїдну систему печінкового секрету, сприяючи утриманню холестеролу в складі змішаних жовчних міцел [10, 11, 12]. Формування таких змішаних міцел у жовчі також значно зменшує токсичні детергентні ефекти жовчних кислот щодо клітин печінки [11]. Отже, гістамін, викликаючи помірне збільшення концентрації фосфоліпідів у жовчі щурів виявляє стабілізуючий вплив як на саму жовч, так і на стан тканини печінки.

Ще одним обов'язковим проміжним продуктом обміну ліпідів, в метаболізмі і транспорті яких ключову роль відіграє печінка, є вільні (неетерифіковані) жирні кислоти, а збільшення їх вмісту в організмі асоційоване із ожирінням, діабетом 2-го типу та метаболічним синдромом [13, 14]. При визначенні вмісту вільних жирних кислот у жовчі щурів, отриманій після внутрішньопортального введення гістаміну, виявлено зменшення концентрації вільних жирних кислот, як порівняно із вихідним рівнем їх концентрації, так і щодо показників жовчі кон-

трольної групи тварин (Таблиця 1). У той же час у жовчі щурів, які отримали гістамін не виявлено тривалих змін концентрації тригліцеридів порівняно із контрольними показниками, але відзначається зменшення їх вмісту порівняно із вихідним рівнем (Таблиця 1). Зауважимо, що у жовчі щурів контрольної групи концентрація тригліцеридів хоча і має тенденцію до зниження впродовж експерименту, але статистично значимих відмінностей між вихідним рівнем і показниками проб зібраних після введення фізіологічного розчину не виявлено (Таблиця 1).

Таблиця 1. Концентрація ліпідів у пробах жовчі щурів під впливом гістаміну (8 мкг/кг маси тіла тварини) та у контролі (2 мл фізіологічного розчину/кг маси тіла тварини), Me,[25;75], n=12

№ проби жовчі	Серія дослідів	Фосфоліпіди	Вільні жирні кислоти	Тригліцериди
№ 1	Контроль	68,7 [64,1; 75,9]	11,9 [10,2; 12,8]	2,1 [1,7; 2,8]
	Дослід	65,0 [59,7; 71,3]	15,5 [13,7; 17,3]*	2,7 [2,4; 3,1]
№ 2	Контроль	67,8 [64,872,2;]	12,8 [10,8; 13,3]	2,2 [1,8; 2,6]
	Дослід	68,7 [64,1; 74,0]*	13,7 [11,9; 15,5]	2,4 [2,1; 2,7]*
№ 3	Контроль	65,0 [63,2; 70,3]	11,9 [11,3; 14,1]	2,0 [1,9; 2,3]
	Дослід	75,9 [69,6; 78,6]*	12,4 [11,5; 14,2]	2,8 [2,5; 3,2]
№ 4	Контроль	66,7 [64,1; 69,6]	12,8 [11,9; 13,3]	2,1 [1,8; 2,2]
	Дослід	72,2 [69,2; 74,0]*	11,9 [10,6; 12,8]*	2,5 [2,3; 2,8]
№ 5	Контроль	63,2 [63,2; 68,5]	12,8 [11,3; 14,2]	1,9 [1,5; 2,0]
	Дослід	64,1 [63,2; 66,9]	8,9 [7,2; 10,2]*	2,2 [1,8; 2,4]*
№ 6	Контроль	61,4 [60,5; 65,0]	13,4 [12,4; 14,2]	1,8 [1,6; 2,0]
	Дослід	70,4 [68,7; 72,2]*	11,9 [9,8; 12,8]	2,3 [2,2; 2,4]*

Примітка: * – $p < 0,05$ щодо контролю; # – $p < 0,05$ відносно вихідного рівня (перший (№1 у таблиці) 30-хв проміжок часу)

Оскільки порушення тригліцеридного гомеостазу в гепатоцитах є ознакою розвитку патологічних змін, які зрештою ведуть до тяжких уражень печінки [15, 16] то, виявлені нами ефекти гістаміну на концентрацію у жовчі вільних жирних кислот і тригліцеридів вказують на його важливий регуляторний вплив і можливу роль у розвитку як жирового переродження печінки, так і холерезу та потребують подальшого детального вивчення.

Холестерол та його ефіри є обов'язковими компонентами жовчі, коливання вмісту яких обумовлюють зміни властивостей жовчі та стають однією з причин розвитку холелітіазу [7]. В науковій літературі нажалу зустрічається мало інформації про експериментальні дослідження впливу гістаміну на виділення холестеролу із жовчю [17], хоча відзначається дія як самого аутокоїду, так і антигістамінових препаратів на його вміст у плазмі

крові [8]. Виявилось, що після внутрішньопортального введення гістаміну концентрація холестеролу збільшується на 4 – 12% ($p < 0,05$) (Таблиця 2). Слід відзначити відмінності у динаміці змін концентрації холестеролу в жовчі отриманій у контрольних дослідах та від тварин, яким внутрішньопортально ввели гістамін (Таблиця 2). А саме, у контролі спостерігається поступове зменшення концентрації вільного холестеролу в жовчі від (30,2 [27,2; 31,1]) мг% у першій півгодинній пробі жовчі (вихідний рівень) до (24,5 [20,7; 26,3]) мг% у останній шостій пробі жовчі, тобто на 18,9% (Таблиця 2). Тоді як у жовчі тварин дослідної групи концентрація вільного холестеролу в першій півгодинній пробі (вихідний рівень) складала (22,5 [20,9; 24,5]) мг%, а у останній шостій пробі – (24,5 [22,5; 24,7]) мг%, тобто статистично значимо не відрізнялася (Таблиця 2).

Таблиця 2. Концентрація холестеролу та його ефірів у пробах жовчі щурів під впливом гістаміну (8 мкг/кг маси тіла тварини) та у контролі (2 мл фізіологічного розчину/кг маси тіла тварини), Me,[25;75], n=12

30-хв проміжки часу	Серія дослідів	Вільний холестерин	Етерифікований холестерин
№ 1	Контроль	30,2 [27,2; 31,1]	2,9 [2,3; 3,1]
	Дослід	22,5 [20,9; 24,5]*	2,8 [2,5; 3,0]
№ 2	Контроль	29,0 [28,1; 31,3]	2,7 [2,0; 2,9]
	Дослід	23,4 [21,8; 25,2]*	3,2 [2,9; 3,4]*
№ 3	Контроль	28,1 [24,5; 29,0]	2,5 [2,1; 2,9]
	Дослід	25,2 [23,6; 28,1]*	2,9 [2,7; 3,3]
№ 4	Контроль	27,0 [23,2; 30,6]	2,6 [1,9; 2,8]
	Дослід	24,5 [23,4; 26,1]*	2,4 [2,2; 2,7]
№ 5	Контроль	25,4 [21,4; 28,1]*	2,3 [2,0; 2,8]
	Дослід	22,7 [20,9; 23,2]	2,2 [2,1; 2,4]
№ 6	Контроль	24,5 [20,7; 26,3]*	2,5 [2,1; 3,0]
	Дослід	24,5 [22,5; 24,7]	2,3 [2,1; 2,4]

Примітка: * – $p \leq 0,05$ щодо контролю; # – $p \leq 0,05$ відносно вихідного рівня (перший (№1 у таблиці) 30-хв проміжок часу)

Під впливом гістаміну концентрація ефірів холестеролу також зростає, але лише у жовчі зібраній впродовж півгодини одразу після внутрішньопортального введення аутокоїду (Таблиця 2). Надалі динаміка змін концентрації ефірів холестеролу стає подібною до такої у контролі.

Таким чином, у результаті проведених нами досліджень виявлено, що гістамін при одноразовому внутрі-

шньопортальному введенні викликає збільшення концентрації холестеролу та його ефірів у жовчі щурів. У той же час за даними літератури [8], антигістамінові препарати, ймовірно, збільшують ризик розвитку атеросклерозу. Отже, антигістамінові препарати, унеможливаючи впродовж певного часу вплив гістаміну на ліпідний гомеостаз, провокують перенасичення крові холестеролом. Гістамін же, як бачимо з наших результатів,

сприяє виведенню холестеролу та його ефірів із жовчу, тобто стимулює його вилучення із кровоносного русла. Слід відзначити, що одночасно із відзначеним впливом на вміст у жовчі холестеролу, гістамін викликає збільшення концентрації фосфоліпідів у печінковому секреті. Це особливо важливо, якщо взяти до уваги, що жовч є біологічною рідиною, яка, по перше, має дуже багатий ліпідний склад [7], по друге, містить багато холестеролу, який, у свою чергу, може створювати осад і конкременти (спричиняє літогенез).

Отже, під впливом гістаміну спостерігається швидке зростання вмісту як вільного, так і етерифікованого холестеролу в жовчі щурів. Також жовч щурів, які отримали гістамін збагачується фосфоліпідами. Але під впливом гістаміну, ймовірно, відбувається затримка вільних жирних кислот і тригліцеридів у клітинах печінки, в результаті чого концентрація цих ліпідних компонентів зменшується у жовчі щурів. Оскільки секреція ліпідів із печінковою жовчю є інтегральним показником, що певною мірою відображає хід метаболічних перетворень ліпідів у цьому органі та організмі в цілому, на основі аналізу отриманих результатів можемо підсумувати, що гістамін є регуляторним фактором який діє на процеси, що забезпечують надходження фосфоліпідів, холестеролу та його ефірів, вільних жирних кислот і тригліцеридів у жовч. Таким чином, гістамін впливає на фізико-хімічні властивості жовчі, що забезпечують утримання холестеролу в складі змішаних жовчних міцел. Також можливо, що гістамін у застосованій нами дозі впливає на транспорт ліпідних компонентів до жовчі. Для з'ясування механізмів реалізації ефектів гістаміну на ліпідний склад жовчі та її властивості необхідним є проведення подальших досліджень із визначенням впливу аутокоїду на секрецію жовчних кислот (як провідних факторів холерезу) та на співвідношення окремих органічних компонентів у жовчі.

Висновок. Гістамін, введений внутрішньопортально щурам у гострому досліді, впливає на метаболічні перетворення і транспорт ліпідів у клітинах печінки, викликаючи зростання концентрації у жовчі фосфоліпідів, холестеролу та його ефірів та зменшення вмісту вільних жирних кислот і тригліцеридів у печінковому секреті.

Список використаних джерел

1. Effect of histamine H1-receptor antagonist on the regulation of carbohydrate and lipid metabolism in rat liver / Y. Koyama, M. Imoto, M. Tanaka et al. // *Biochem Int.* – 1989. – № 18 (2). – P. 399–403.
2. Histamine Regulation in Glucose and Lipid Metabolism via Histamine Receptors. Model for Nonalcoholic Steatohepatitis in Mice / K.-Y. Wang, A. Tanimoto, S. Yamada et al. // *Am. J. Pathol.* – 2010. – № 177 (2). – P. 713–723.
3. Grund V. R. Histamine-induced lipid mobilization in humans and dogs / V. R. Grund, E. W. Pollack, D. B. Hunninghake // *J. Pharmacol Exp. Ther.* – 1976. – № 97 (3). – P. 662–668.
4. The role of histamine H1 receptor and H2 receptor in LPS-induced liver injury / T. I. Masaki, S. Chiba, H. Tatsukawa et al. // *FASEB J.* – 2005. – № 19 (10). – P. 1245–1252.
5. H1-antihistamines exacerbate high-fat diet-induced hepatic steatosis in wild-type but not in apolipoprotein E knockout mice / V. V. Raveendran, K. M. Kassel, D. D. Smith et al. // *Am. J. Physiol Gastrointest Liver Physiol.* – 2014. – № 307 (2). – P. 219–228.
6. Systematic analysis of histamine and N-methylhistamine concentrations in organs from two common laboratory mouse strains: C57BL/6 and Balb/c. / A. S. I. Zimmermann, H. Burhenne, V. Kaever, R. Seifert, D. Neumann // *Inflamm Res.* – 2011. – № 60 (12). – P. 1153–1159.
7. Esteller A. Physiology of bile secretion / A. Esteller // *World J. Gastroenterol.* – 2008. – № 14 (37). – P. 5641–5649.
8. Chronic ingestion of H1-antihistamines increase progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-/- mice / V. V. Raveendran, D. D. Smith, X. Tan et al. // *PLoS One.* – 2014. – Jul. 14. – 9 (7). e102165. doi: 10.1371/journal.pone.0102165. eCollection 2014.
9. Пат. 99031324 Україна, МБН А61B5/14. Спосіб підготовки проб біоридин для визначення вмісту речовин ліпідної природи / Весельський С. П., Лященко П. С., Костенко С. І., Горенко З. А., Куровська Л. Ф.; заявник і патентовласник КНУ імені Тараса Шевченка. – № 33564 А; заявл. 05.10.1999; опубл. 15.02.01; Бюл. № 1.
10. Spontaneous cholecysto- and hepatolithiasis in Mdr2-/- mice: a model for low phospholipid-associated cholelithiasis / F. Lammert, D. Q. Wang, S. Hillebrand et al. // *Hepatology.* – 2004. – № 39 (1). – P. 117–128.
11. Shin-ya Morita. Molecular Mechanisms for Biliary Phospholipid and Drug Efflux Mediated by ABCB4 and Bile Salts / Shin-ya Morita, Tomohiro Terada // *Biomed Res Int.* – 2014; 2014: 954781.
12. Carey M. C. The physical chemistry of cholesterol solubility in bile. Relationship to gallstone formation and dissolution in man / M. C. Carey, D. M. Small // *Journal of Clinical Investigation.* – 1978. – № 61(4). – P. 998–1026.
13. Liver fatty acid-binding protein and obesity // *The Journal of Nutritional Biochemistry.* – 2010. – Nov., № 21 (11). – P. 1015–1032.
14. Specific bile acids inhibit hepatic fatty acid uptake in mice / B. Nie, H. M. Park, M. Kazantzis et al. // *Hepatology.* – 2012. – Oct., № 56 (4). – P. 1300–1310.
15. Kawano Y. Mechanisms of hepatic triglyceride accumulation in non-alcoholic fatty liver disease // Y. Kawano, D. E. Cohen // *Journal Gastroenterology* – 2013. – Apr., № 48 (4). – P. 434–441.
16. Koo S. H. Nonalcoholic fatty liver disease: molecular mechanisms for the hepatic steatosis / S. H. Koo // *Clin Mol Hepatol.* – 2013. – Sep., № 19 (3). – P. 210–215.
17. Lee S. P. Effects of histamine and histamine antagonists on hepatic bile flow in the conscious sheep / S. P. Lee // *Clin. Exp. Pharmacol Physiol.* – 1984. – Jan.-Feb., 11 (1). – P. 61–69.

Надійшла до редколегії 24.11.14

С. Атамнах, асп., В. Барановський, вед. инж., Е. Решетник, науч. сотр., С. Весельский, д-р биол. наук, П. Янчук, д-р биол. наук
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

ВЛИЯНИЕ ГИСТАМИНА НА ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ ЖЕЛЧИ КРЫС

Исследовать влияние гистамина (8 мкг / кг, внутрипортально) на концентрацию липидов в желчи крыс. В желчи, полученной в острых опытах на крысах самцах (нарколизация тиопенталом натрия, 50 мг/кг), методом тонкослойной хроматографии определено концентрацию фосфолипидов, холестерина и его эфиров, свободных жирных кислот, триглицеридов. Результаты статистически обработаны с использованием пакета Statistica 7.0; p<0,05. Гистамин увеличивал концентрации фосфолипидов, холестерина, его эфиров и уменьшал содержание свободных жирных кислот и триглицеридов в желчи. Вероятно, гистамин, действуя на транспорт в желчь липидных компонентов, влияет на ее физико-химические свойства и содержание холестерина в смешанных желчных мицеллах. Гистамин влияет на метаболитические преобразования и транспорт липидов в клетках печени, вызывая повышение концентрации фосфолипидов, холестерина и его эфиров в желчи и снижение в ней содержания свободных жирных кислот и триглицеридов.

Ключевые слова: печень, гистамин, липиды, желчь.

S. Athamnah, PhD stud., V. Baranovsky, chief ing., E. Reshetnik, scientific researcher., S. Veselsky, DSc., P. Yanchuk, DSc.
Taras Shevchenko National University of Kiev, Kiev, Ukraine

EFFECT OF HISTAMINE ON LIPID COMPOSITION OF RAT BILE

To investigate the effect of histamine (8 mkg/kg, i/v) on the concentration of lipids in the rats bile. Using the method of thin layer chromatography concentrations of phospholipids, cholesterol and its esters, free fatty acids, triglycerides were determined in the rats bile collected in acute experiments (anesthesia, sodium thiopental, 50 mg/kg). The results were calculated using Statistica 7.0; p<0,05. Histamine increased concentration of phospholipids, cholesterol, its esters and reduced content of free fatty acids and triglycerides in the rats bile. Probably, histamine, acting on transport lipid components in bile effect on its physical and chemical properties and the maintenance of cholesterol in mixed bile micelles. Histamine affects the metabolic conversion and transport of lipids in the liver cells, causing the increase in the concentration of phospholipids, cholesterol and its esters in bile and decrease it in the content of free fatty acids and triglycerides.

Key words: Liver, histamine, lipids, bile.