

Т.Б. Синельник, О.Д. Синельник, В.К. Рибальченко

## Жовчні кислоти в процесах утворення каналцевої жовчі

*В обзоре обобщены современные представления о роли желчных кислот в механизмах формирования каналцевой (первичной) желчи: мембранный транспорт желчных кислот в гепатоцитах; молекулярные механизмы и пути регуляторных влияний желчных кислот на функцию мембранных транспортеров; роль гидрофобности желчных кислот в регуляции их мембранного транспорта; некроз и апоптоз гепатоцитов при холестазах под действием гидрофобных желчных кислот; возможные механизмы протективных эффектов урсодезоксихолевой кислоты при холестатическом повреждении печени.*

Утворення каналцевої (первинної) жовчі розглядають як секреторний осмотичний процес, що відбувається за рахунок активного транспорту через апікальні мембрани гепатоцитів у жовчні каналці органічних речовин (головним чином жовчних кислот) і неорганічних іонів. З часу першого формулювання гіпотези осмотичної фільтрації [52] отримано значну інформацію стосовно механізмів цих процесів, в останнє десятиріччя – на клітинному та молекулярному рівнях. Участь окремих компонентів жовчі в розвитку осмотичного градієнта, рушійної сили для надходження води в каналці обговорюється з позиції даних про наявність у плазматичних мембранах гепатоцитів систем транспорту відповідних речовин [9, 40, 60]. Транспортери плазматичних мембран гепатоцитів переносять також метаболіти токсичних екзогенних та ендогенних речовин. Значну кількість білків-транспортерів, зокрема транспортерів органічних речовин, ідентифіковано та клоновано.

Транспорт речовин з крові через базолатеральні (синусоїдальні) мембрани ге-

патоцитів забезпечують натрійзалежний транспортер для поглинання жовчних кислот (NTCP – Na<sup>+</sup>-taurocholate cotransporting polypeptide), транспортери для амфіпатичних субстратів – аніонів та катіонів органічних речовин (OATPs – organic anion transporting polypeptides, OCTs – organic cation transporters), Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФаза, K<sup>+</sup>-канали, Na<sup>+</sup> – H<sup>+</sup>-обмінник, Na<sup>+</sup> – HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-симпортер тощо.

Активний транспорт речовин з гепатоцитів через їх апікальні (каналікулярні) мембрани в жовчні каналці забезпечується АТФ-залежними експортними насосами, що відносяться до родини АТФ-зв'язувальних касетних (ABC – ATP-binding cassette) мембранных транспортерів – однієї з найбільших суперродин білків прокаріот та еукаріот [16]. Вони транспортують катіони органічних сполук, пептиди, білки та цитотоксичні природні речовини і ксенобіотики. До цих транспортерів належить підгрупа Р-глікопротеїнів (Pgps), серед яких – експортний насос жовчних кислот (BSEP – bile salt export pump), головний транспортер жовчних

кислот; Р-глікопротеїни мультиагентного опору (MDR – multidrug resistance): MDR3 – транспортер фосфатидилхоліну; MDR1, що опосередковує каналікулярну екскрецію великої кількості ліпофільних катіонів (протипухлинних препаратів, блокторів кальцієвих каналів, циклоспорино А тощо). Друга підгрупа білків родини ABC – білки мультиагентного опору (MRPs – multidrug resistance proteins). Один з них, MRP2, опосередковує транспорт в каналці амфіпатичних аніонних субстратів, у тому числі лейкотриєну С<sub>4</sub>, кон'югатів глутатіону-S, глюкуронідів та сульфатів і є частково відповідальним за незалежну від жовчних кислот секрецію жовчі. Два інших члени цієї родини, MRP1 та MRP3, експресовані в базолатеральній мембрані, здійснюють АТФ-залежний вихід з гепатоцитів в судинне русло глюкуронідів та глутатіонових кон'югатів ендогенних та екзогенних речовин, дивалентних сульфатованих кон'югатів жовчних кислот. В каналікулярних мембранах ідентифіковано також Cl<sup>-</sup> – HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> та HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> – SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>-обмінники, Cl<sup>-</sup>-канали.

Порушення функціонування або регуляції (в експериментальних моделях чи внаслідок генетичних та інших пошкоджень) транспортних систем гепатоцитів є однією з причин розвитку захворювань печінки, зокрема холестатичного ураження [59]. Детермінантою утворення каналцевої жовчі є процеси транспорту в гепатоцитах жовчних кислот – основних природних холеретиків, відповідальних за так звану залежну від жовчних кислот секрецію жовчі. Як з'ясовано останнім часом, участь жовчних кислот в секреторних процесах не обмежується їх роллю як осмотично активних речовин. Жовчні кислоти змінюють функціональну експресію мембранних білків-транспортерів на рівні транскрипції та посттранскрипційно (в останньому випадку жовчні кислоти виявляють «гормоноподібні» ефекти, модулю-

ючи сигнальні шляхи) [8, 60].

Впливи жовчних кислот як амфифільних речовин, призводять до зміни фізико-хімічного стану мембран і функції мембранних транспортерів в гепатоцитах, а при підвищенні їх внутрішньоклітинного вмісту можуть бути причиною некротичного чи апоптичного пошкодження, що спричинює холестатичне ураження печінки. Цей патофізіологічний процес супроводжує різні захворювання печінки, є комплексним, зумовленим порушеннями регуляції та експресії мембранних транспортерів, сигнальних шляхів, зміною функції білків цитоскелета, щільних контактів [59, 60]. Хронічний, довготривалий холестаза призводить до розвитку біліарного цирозу через некроз та апоптоз клітин печінки та наступний фіброз. Експериментальні дані та клінічні спостереження свідчать про ефективність при холестатичних ураженнях гідрофільної дигідроксизовчаної кислоти – урсодезоксихолевої та її тауринового кон'югата, які значною мірою поліпшують секреторну функцію та структуру печінки, виявляють антиапоптозний ефект [27, 33, 60].

В даному огляді розглянуто деякі сучасні аспекти клітинних та молекулярних механізмів, за якими реалізується участь жовчних кислот в процесах утворення первинної жовчі: функціонування систем транспорту жовчних кислот в мембранах гепатоцитів; шляхи регуляторних та модулюючих впливів жовчних кислот на транспортні процеси; їх ефекти як детергентів; можливі механізми протективної дії урсодезоксихолевої кислоти при холестатичних ураженнях печінки.

### **Транспортери жовчних кислот плазматичних мембран гепатоцитів та їх транскрипційна регуляція жовчними кислотами**

Концентрація жовчних кислот у жовчі перевищує їх концентрацію у порталній плазмі в 1000 разів. Цей градієнт утво-

рюється функціонуванням транспортерів жовчних кислот в базолатеральних та каналікулярних мембранах гепатоцитів. Дослідження останніх років показали, що в системі регуляції їх функціональної експресії, як і в експресії ферментів, причетних до біотрансформації токсичних жовчних кислот, важлива роль належить самим жовчним кислотам як лігандам ядерних гормональних рецепторів та активаторам деяких транскрипційних факторів [11, 36].

У базолатеральних мембранах гепатоцитів ідентифіковано натрій – таурохолат котранспортуючий поліпептид (NTCP людини та Ntcp щурів) [24]. Рушійною силою для електрогенного (із стехіометрією натрій – таурохолат 2:1) поглинання кон'югованих жовчних кислот є трансмембранний градієнт концентрації іонів натрію, що підтримується  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазою, та внутрішньоклітинний електричний потенціал, створений дифузією назовні  $\text{K}^+$ .

Ntcp щурів з молекулярною масою 51 кДа містить залишки 362 амінокислот, як припускають, має 7 трансмембранних доменів. Експресія Ntcp в печінці щурів з'являється в онтогенезі пізно, філогенетично у хребетних виявляється виключно у ссавців. Ntcp транспортує всі фізіологічні жовчні кислоти, найвища його ефективність характерна для тауринових та гліцинових кон'югатів ди- та тригідроксижовчних кислот, значно меншою мірою Ntcp транспортує некон'юговані жовчні кислоти, деякі некон'юговані стероїди. NTCP людини складається з 349 залишків амінокислот, структурно та функціонально близький до Ntcp щурів.

У дослідженнях на везикулах базолатеральних мембран гепатоцитів з використанням експериментальних моделей холестази, викликаного: 1) ендотоксином (ліпополісахаридна обробка); 2) естрогеном (етинілестрадіолом); 3) лігуванням загальної жовчної протоки (модель позаклітинної жовчної обструкції), виявлено

зниження натрійзалежного поглинання таурохолату та експресії Ntcp [39, 48]. У пацієнтів з позапечінковою обструкцією жовчних шляхів спостерігалось зниження концентрації мРНК NTCP і підвищення її після відновлення жовчного дренажу [59]. Припускають, що регуляторне зниження функції головної системи поглинання жовчних кислот гепатоцитами під час холестази захищає клітини від подальшої внутрішньоклітинної акумуляції потенційно токсичних жовчних кислот у випадках, коли система каналцевого транспорту жовчних кислот пошкоджена. Оскільки час життя цих мембранних транспортерів кілька діб, гострі зміни їх функціональної активності реалізуються за посттранскрипційними механізмами, тоді як транскрипційні регуляторні реакції, як вважають, можуть бути хронічними адаптивними відповідями.

В останні роки з'ясовано деякі механізми контролю генної транскрипції Ntcp/NTCP та інших мембранних транспортерів. Виявлено низку факторів, які, часто при сумісній дії, стимулюють або інгібують експресію генів [60]. Індукція експресії Ntcp здійснюється ретиноїдами через стимуляцію ядерного рецептора RAR (retinoid acid receptor), що функціонує як гетеродимер з ядерним рецептором RXR (retinoid X receptor) [11]. В конститутивній експресії Ntcp бере також участь транскрипційний фактор HNF (hepatocyte nuclear factor)- $\alpha$  [30].

Установлено, що регуляторне зниження експресії Ntcp жовчними кислотами здійснюється при їх зв'язуванні як лігандів з ядерним рецептором FXR (farnesoid X receptor), який за допомогою подальшої індукції експресії транскрипційного супресора SHP-1 (short heterodimeric protein) блокує ретиноїдну активацію промотора Ntcp [11]. Лігування жовчної протоки у миші індукує експресію SHP-1 паралельно з акумуляцією жовчних кислот в плазмі,

що передує регуляторному зниженню експресії Ntcp на кілька годин [69]. Як виявлено, SHP-1 також регуляторно знижує експресію гена холестерин-7 $\alpha$ -гідроксилази (СУР7А1), ферменту, що лімітує синтез жовчних кислот з холестерину [35, 36].

Можлива також пряма активація SHP-1 жовчними кислотами через каскад JNK (c-Jun NH<sub>2</sub>-terminal kinase, члена родини мітогенактивованих кіназ, MAPK) [23], або опосередкована такими цитокінами, як фактор некрозу пухлини – (TNF)- $\alpha$  чи інтерлейкін-1 $\beta$ , сильну індукцію яких виявляють гідрофобні жовчні кислоти [37]. Ефекти цитокінів на експресію Ntcp припускають в механізмах холестатичної дії ендотоксину (ліпополісахариду), а також під час лігування жовчної протоки. Холестатичні дози ліпополісахариду викликають в печінці щурів втрату активності HNF-1 і RXR:RAR та зменшують експресію Ntcp паралельно зі зниженням секреції жовчі [60].

Натрійзалежний транспорт забезпечує поглинання більш як 80 % таурохолату та дещо менше (50 %) – холату. В базолатеральних мембранах гепатоцитів виявлено також системи натрійнезалежного поглинання жовчних кислот Oatps/OATPs, важливою рисою яких є поліспецифічність транспорту: спектр їх субстратів включає кон'юговані та некон'юговані жовчні кислоти, бромсульфогалеїн, дізодисульфонатстильбен, серцеві глікозиди та інші нейтральні стероїди, лінійні та циклічні пептиди тощо [40, 44]. Натрійнезалежне поглинання жовчних кислот є менш істотним і, як припускають, полегшується обміном з внутрішньоклітинними аніонами (наприклад глутатионом та бікарбонатом).

Три члени цієї родини – Oatp1, Oatp2 та Oatp4 виявили високі рівні експресії та транспорту жовчних кислот в печінці. Oatp1 містить 670 амінокислотних залишків, Oatp2 – 661. Вони є глікопротеїнами, що мають 12 трансмембранних доменів. За

субстратною специфічністю Oatp1 дещо відрізняється від Oatp2: перший здійснює транспорт переважно амфіпатичних органічних аніонів, другий – нейтральних компонентів. В базолатеральних мембранах гепатоцитів людини ідентифіковані: ОАТР-А – внесок якої у загальне поглинання жовчних кислот в гепатоцитах незначний, ОАТР-С більш важлива транспортна система [32, 60].

Oatp-транспортери здійснюють функцію як поглинання, так і виходу таурохолату через базолатеральні мембрани в кров синусоїдів. У всіх наведених вище моделях холестази експресія Oatp1 регуляторно знижується. Вміст мРНК після обробки етинілестрадіолом залишається незмінним, що свідчить про посттранскрипційну регуляцію Oatp1 за цих умов [48]. Після однієї доби лігування загальної жовчної протоки експресія мРНК Oatp1 виявляє регуляторне зниження, проте відновлюється через 3 доби, натрійнезалежне поглинання жовчних кислот при цьому не змінюється. Це свідчить про те, що інші транспортери компенсують регуляторне зменшення Oatp1, зокрема, Oatp2, експресія якого не змінюється за умов лігування жовчної протоки [15, 16]. Експресія мРНК ОАТР-А у хворих з первинним склерозуючим холангітом підвищується, тоді як експресія ОАТР-С виявляється зниженою [68]. Через те, що Oatps функціонують у двох напрямках, збереження експресії Oatp2 щура та ОАТР-А людини під час холестази може дозволити посилення виходу потенційно токсичних жовчних кислот та інших органічних аніонів з клітини за умов пошкодження каналцевої системи виходу для органічних аніонів [60].

Показано, що жовчні кислоти є функціональними лігандами ядерних рецепторів SXR/PXR (steroid X receptor/pregnane X receptor – рецепторів людини та щура відповідно), що функціонують як рецептори ксенобіотиків і регулюють експресію

генів, причетних до детоксикації багатьох лікарських речовин. Ці гени кодують низку білків – цитохром Р-450-ферментів, які каталізують реакції гідроксилювання – перший крок у детоксикації речовин, у тому числі токсичних жовчних кислот. За участю зазначених рецепторів жовчні кислоти також регуляторно підвищують експресію транспортерів для поглинання та виходу речовин, зокрема, Oatp2 та OATP-A [22, 53]. За силою як ліганди SXR/PXR жовчні кислоти утворюють ряд: 3-кетолітохолева > літохолева > дезоксихолева = холева. Цікаво відмітити, що гідрофільна урсодезоксихолева кислота, яка не активує FXR, є сильним стимулятором PXR та індуктором цитохром Р-450-ферментів у гепатоцитах людини, що може бути одним із пояснень її ефективності при лікуванні хронічних холестатичних захворювань [47].

Базолатеральні системи виходу жовчних кислот належать до субродини Mgrs/MRPs, за умов норми слабо експресовані в гепатоцитах, проте їх експресія дуже виразно регуляторно підвищується під час холестаза [12, 42, 67]. Mgr1/MRP1 та Mgr3/MRP3 здійснюють (з різною афінністю) АТФ-залежний транспорт глюкуронідів та кон'югатів глутатіону ендогенних та екзогенних речовин [32]. Ці системи транспортують з високою афінністю дивалентні жовчні кислоти у вигляді сульфатованих таурокон'югатів, Mgr3, до того ж, моновалентні жовчні кислоти, такі, як тауро- та глікохолати, MRP3 – тільки глікохолат з низькою афінністю [26].

За умов холестаза під впливом ліпополісахариду (але не етинілестрадіолу) та на 14 добу після лігування загальної жовчної протоки експресія Mgr3 підвищується [51]. Експресія MRP3 підвищується у пацієнтів з синдромом Dubin-Johnson [43]. Оскільки Mgr1/MRP1 та Mgr3/MRP3 здатні транспортувати жовчні кислоти у вигляді сульфатів та глюкуроні-

дів, які видаляються із сечею, їх індукцію під час холестаза розглядають як основний механізм елімінації токсичних жовчних кислот [55].

Припускають, що жовчні кислоти індукують Mgr3 за участю рецепторів SXR/PXR, як це виявлено і для Oatp2 [47]. Крім того, в промоторній зоні MRP3 ідентифіковано елемент, що реагує на жовчні кислоти, який містить два FTF ( $\alpha$ -fetoprotein transcription factor)-подібні елементи [65].

*Трансцелюлярний транспорт жовчних кислот* до каналікулярного полюса клітини, як припускають, здійснюється у зв'язку з білками (глутатіон-S-трансферазою, білком, що зв'язує жирні кислоти; 3 $\alpha$ -гідроксистероїддегідрогеназою) [56]. Їх функцію пов'язують з мінімізацією рефлюксу жовчних кислот через синусоїдальні мембрани та зменшенням токсичності жовчних кислот у гепатоцитах. Жовчні кислоти виявлені у зв'язку з різними органелами (мітохондріями, апаратом Гольджі, ендоплазматичним ретикуломом). Вільні жовчні кислоти можуть досягати каналікулярного полюса за допомогою дифузії [56].

Більшість каналікулярних транспортних систем, причетних до формування жовчі, належать до суперродини ABC-транспортерів. Кожний ABC-транспортер складається з чотирьох основних доменів. Два гідрофобні трансмембранні домени пронизують мембрану кілька разів, формуючи шлях, через який розчини перетинають мембрану та забезпечують місце(ця) зв'язування, які визначають специфічність субстрату до транспортера. Два гідрофільні домени, локалізовані на цитоплазматичному боці мембрани, поєднують гідроліз АТФ з транспортним процесом [34]. Транспортери жовчних кислот, як і інші білки каналікулярних мембран, після клітинного синтезу спочатку переміщуються до базолатеральних мембран. Надалі за допомогою мікротрубочкозалежного

везикулярного транспорту вони рухаються до місця своєї функціональної локалізації на каналікулярному полюсі, де відбувається їх вбудовування в мембрану через злиття везикул або екзоцитоз [6].

Каналікулярні мембрани гепатоцитів містять транспортер моновалентних жовчних кислот, експортний насос жовчних кислот (Bsep/BSEP), транспортер бівалентних жовчних кислот та інших амфіпатичних кон'югатів – Mrp2/MRP2. Bsep ототожнено з одним із членів субродини Р-глікопротеїнів, так званим Р-глікопротеїном сестринського гена (Spgp/SPGP) [17]. Bsep щурів, молекулярною масою близько 160 кДа, містить 1321 залишок амінокислот і має 12 мембранозв'язувальних доменів.

Фізіологічна роль BSEP у секреції жовчних кислот підтверджується даними про те, що у пацієнтів з прогресуючим родинним внутрішньопечінковим холестазом (PFIC-2- progressive familial intrahepatic cholestasis) спостерігаються мутації у відповідному гені і підвищення концентрації жовчних кислот у плазмі та зниження її у жовчі [59].

На відміну від Ntcp та Mrp2, експресія Bsep більш стабільна під час холестазу, викликаного лігуванням загальної жовчної протоки [34]. Вважають, що підтримка експресії Bsep за умов обструктивного холестазу має значення для захисту клітин від токсичної дії жовчних кислот.

Жовчні кислоти регуляторно підвищують експресію Bsep/BSEP на рівні транскрипції, взаємодіючи з ядерним рецептором FXR [14]. Цей рецептор (родини стероїд-ретиноїд-тиреїд гормональних рецепторів), специфічно експресований в тканинах, де функціонують жовчні кислоти (печінка, кишечник, нирки), опосередковує регуляцію генів, відповідальних за синтез жовчних кислот (CYP7A) та їх каналікулярний транспорт. FXR функціонує як димер з іншим ядерним ретиноїдним рецеп-

тором RXR. Найбільш сильним лігандом FXR є гідрофобна таурохенодезоксихолева кислота, тоді як тауроурсодезоксихолева кислота, що міститься в жовчі людини та щурів у мінімальній кількості, не є лігандом для цього рецептора [61].

Зниження АТФ-залежного транспорту жовчних кислот за умов холестазу, викликаного ендотоксином (ліпополісахаридом від *Escherichia coli* або цитокінами – TNF- $\alpha$ ), супроводжується зменшенням вмісту мРНК та білка Bsep. За умов естрогеніндукованого холестазу вміст мРНК зберігається, що свідчить про посттранскрипційні зміни експресії цього транспортного білка [34]. Припускають, що зниження функції Bsep/BSEP за цих умов може бути пов'язаним з експресією в печінці Pgp Mdr1/MDR1. Як виявлено, експресія Mdr1/MDR1 підвищується при дії деяких екзогенних (тепловий шок, ультрафіолетове опромінення, хемотерапевтичні агенти) та ендогенних (цитокіни) стимулів, в холестатичних моделях (після лігування загальної жовчної протоки, під впливом ліпополісахариду тощо) та при холестатичних захворюваннях [60]. Bsep/BSEP конкурентно інгібують деякі катіонні субстрати Mdr1/MDR1 (циклоспорин А, рифаміцин SV, рифампіцин) при їх акумуляції в печінці [54].

Транспортер для бівалентних жовчних кислот ідентифіковано з білком мультиагентного опору Mrp2/MRP2 [15], що опосередковує каналікулярну екскрецію дивалентних амфіпатичних кон'югатів глутатіону, глюкуронідів, сульфатів, зокрема сульфатованих тауро- та глікохолатів.

Дані про регуляцію транскрипції Mrp2 за участю ядерного стероїдного рецептора SXR/PXR отримано з досліджень ефектів гербіцидів на мишах *in vivo* та ксенобіотиків (вінкристину, тамоксифену та «класичного» ліганду PXR – рифампіцину) на ізольованих гепатоцитах [64]. Як зазначалося вище, жовчні кислоти як

ліганди SXR/PXR здатні регуляторно посилювати метаболізм ендогенних речовин та ксенобіотиків та екскрецію їх кон'югатів через Oatp2 та Mrp3. Крім того, жовчні кислоти, можуть регулювати експресію Mrp2/MRP2 як ліганди FXR, який розділяє місце зв'язування в промоторі гена Mrp2/MRP2 з SXR/PXR.

Подібно до Ntcp, і функція, і експресія Mrp2 порушуються при холестази, індукованому лігуванням загальної жовчної протоки, етинілестрадіолом та ендотоксином [59]. Це пояснюють гальмуванням ретиноїдної активації RXR:RAR внаслідок індукції жовчними кислотами SHP-1 або регуляторного зниження транскрипції RXR цитокінами. Мутації в гені MRP2 призводять до синдрому Dubin-Jonson, що характеризується порушенням екскреції ендогенних та екзогенних амфіпатичних кон'югатів [59]. Разом з тим обстеження пацієнтів з холестатичним алкогольним гепатитом показали, що мРНК MRP2 незначно знижена при цьому виді захворювання [68]. Нещодавні дослідження виявили FXR-чутливі елементи в промоторі MRP2, що дозволяє припустити регуляторне підвищення жовчними кислотами експресії цього транспортера у людини [31].

Таким чином, жовчні кислоти як ліганди ядерних гормональних рецепторів та активатори деяких транскрипційних факторів здатні регулювати функціональну експресію їх базолатеральних та каналікулярних транспортерів у гепатоцитах. В цілому регуляторні відповіді забезпечують захист гепатоцитів від затримки токсичних жовчних кислот. Під час обструктивного холестазу адаптивній регуляції жовчними кислотами підлягає також молекулярна експресія транспортерів жовчних кислот в мембранах холангіоцитів, нирок, кишечника, що забезпечує позапечінковий шлях для екскреції жовчних кислот під час холестазу та обмежує пошкодження клітин печінки [60].

**Жовчні кислоти в процесах посттранскрипційної регуляції їх мембранних транспортерів**  
Жовчні кислоти можуть змінювати секрецію жовчі через сигнальні механізми, які посттранскрипційно модулюють процеси їх транспорту в гепатоцитах:  $Ca^{2+}$ , протеїнкіназу С (ПКС), циклічний аденозинмонофосфат (цАМФ), а також мітогенактивовані протеїнкінази. Серед можливих механізмів таких впливів припускають фосфорилювання/дефосфорилювання транспортних білків, зміни їх вмісту в плазматичних мембранах гепатоцитів через поповнення з інтрацелюлярних пулів, активацію їх везикулярного транспорту та вбудовування в мембрану [8, 60].

Підвищення концентрації цитозольного  $Ca^{2+}$  кальціймобілізуючими агентами гальмує натрійзалежне поглинання жовчних кислот, що може бути зумовленим: змінами натрієвого градієнта, рушійної сили для натрій – таурохолат котранспортера, його секвестрацією або регуляцією його фосфорилювання/дефосфорилювання. За фізіологічних умов кальційзалежна регуляція поглинання жовчних кислот може запобігати їх акумуляції в гепатоцитах в токсичних концентраціях [8].

Кальціймобілізуючі агенти стимулюють вихід кон'югованих жовчних кислот з гепатоцитів [42]. Це пояснюють: 1) активацією АТФ-залежного транспорту через фосфорилювання/дефосфорилювання транспортера або через регуляцію продукції АТФ мітохондріями; 2) посиленням скоротливої активності каналікулярної мембрани; 3) зміною проникності щільних контактів [8, 29, 62].

Раніше вважалося, що жовчні кислоти діють як кальцієві іонофори й індукують вхід  $Ca^{2+}$  в різні клітини (еритроцити, клітини нирок, ентероцити, гепатоцити). Останні дослідження виявили здатність жовчних кислот впливати на клітинний кальцієвий гомеостаз, змінюючи його вхід, мобілізацію та вихід. Гідрофобні літохолева, хенодезоксихолева та гідрофільна

урсодезоксихолева кислоти та їх тауринові кон'югати звільнюють  $\text{Ca}^{2+}$  з інозитол-3-фосфат ( $\text{IP}_3$ )-чутливого кальцієвого депо за  $\text{IP}_3$ -незалежними механізмами [8]. Серед досліджених жовчних кислот тауроохолева кислота виявила найменшу ефективність і в мобілізації  $\text{Ca}^{2+}$ , і в стимуляції його входу та виходу. Тауроурсодезоксихолева кислота – сильний агоніст  $\text{Ca}^{2+}$ , за фізіологічних умов індукує як його мобілізацію з клітинних депо, так і його вхід через  $\text{Ni}^{2+}$ -чутливі кальцієві канали. Вихід  $\text{Ca}^{2+}$  з ізольованих гепатоцитів індукують хенодезоксихолева та тауролітоохолева кислоти, урсодезоксихолева та тауроурсодезоксихолева кислоти такого ефекту не виявляють [8]. Здатність різних жовчних кислот до підвищення внутрішньоклітинної концентрації кальцію не асоціюється з індукованою жовчними кислотами токсичністю, про що свідчить відсутність проявів холестазу за умов введення інгібітора секвестрації кальцію 2,5-ди(t-бутил)-1,4-бензогідрокінону [13]. Найменш токсична з жовчних кислот – урсодезоксихолева, викликає більш істотне та пролонговане підвищення внутрішньоклітинної концентрації кальцію, ніж токсична тауролітоохолева кислота [7].

Активатор ПКС – форболовий ефір, подібно до кальцієвих агоністів, гальмує натрійзалежне поглинання жовчних кислот у гепатоцитах та посилює їх вихід [21]. Зниження секреції жовчі, індуковане форболовим ефіром та кальцієвими агоністами (вазопресином, адреналіном, ангіотензином II) пов'язують із підвищенням парацелюлярної проникності [41].

Нещодавно на ізольованих гепатоцитах показана активація ПКС жовчними кислотами. Серед можливих механізмів цього ефекту: посилення синтезу диацилглицерину або його стабілізація в плазматичній мембрані; імітація жовчними кислотами ефекту фосфатидилсерину та дія як кофактора ПКС; активація ПКС за до-

помогою їх дії на мобілізацію внутрішньоклітинного  $\text{Ca}^{2+}$ . Жовчні кислоти стимулюють транслокацію й активацію щонайменш трьох різних ізоформ ПКС –  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  в культурі ізольованих гепатоцитів. Тауроохолева кислота може стимулювати всі три ізоформи, урсодезоксихолева та тауроурсодезоксихолева –  $\alpha$ -ПКС [7]. Нещодавні дослідження показали, що тауроурсодезоксихолева кислота стимулює вбудовування транспортних білків у каналікулярну мембрану за фізіологічних умов та під час холестазу. Припускають, що пролонговане підвищення концентрації внутрішньоклітинного кальцію під її впливом, яке асоціюється з транслокацією кальційчутливої ізоформи  $\alpha$ -ПКС до плазматичної мембрани, поліпшує везикулярний екзоцитоз.

Інші дослідження свідчать, що до стимуляції тауроурсодезоксихолевою кислотою мікротрубочкозалежного везикулярного транспорту залучені МАРК: PI (інозитолфосфат)3-кіназа, Ras, малий мономерний білок, що зв'язує ГТФ, кінази типу Erk (extracellular signal-regulated kinase) [33, 46]. Виявлено, що індукція секреції жовчних кислот тауроурсодезоксихолевою кислотою супроводжується  $\text{p38}^{\text{МАРК}}$ -залежним вбудовуванням  $\text{Vser}$  з субканалікулярних зон в апікальну мембрану гепатоцитів. Дані стосовно тригерного значення в активації МАРК короткочасного клітинного набухання, індукованого жовчними кислотами, суперечливі [2, 33].

У моделі на ізольованих гепатоцитах глюкагон, стимулюючи синтез цАМФ, стимулює натрійзалежне поглинання жовчних кислот [21]. Ефект глюкагону пояснюють гіперполяризацією плазматичної мембрани завдяки цАМФ-опосередкованому фосфорилуванню  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази. Інше пояснення – посттранскрипційна активація  $\text{Ntcp}$  за допомогою посилення транслокації цього транспортера жовчних кислот з місця його ендоплазматичного походження до синусоїдальної мембрани. Інгі-



бітори Р13-кінази (вортманін) та актинових філаментів (колхіцин) блокують здатність цАМФ до транслокації Ntcp до плазматичної мембрани та посилювати поглинання таурохолату гепатоцитами [63].

На ізольованих гепатоцитах цАМФ та його аналоги стимулюють також вихід жовчних кислот із гепатоцитів, як припускають, через стимуляцію мікротрубочкозалежної везикулярнотранспортної системи [25]. Дибутиріл – цАМФ, так само, як і таурохолат, при внутрішньовенному введенні щурам селективно підвищують експресію Vser та Mgr2 в везикулах, ізольованих із каналікулярних мембран цих печінок [16].

Жовчні кислоти, не впливаючи прямо на синтез цАМФ, незначно гальмують його стимульовану продукцію в гепатоцитах. Найбільш сильну здатність до гальмування стимульованого синтезу цАМФ у клітинах печінки виявляє урсодезоксихолева кислота, далі йдуть хенодесоксихолева та дезоксихолева. В механізмі гальмівної дії жовчних кислот на індукований синтез цАМФ припускають активацію ПКС. Оскільки глюкагон стимулює і поглинання, і секрецію жовчних кислот, фізіологічне значення модуляції синтезу цАМФ жовчними кислотами за механізмом зворотного зв'язку убачають у попередженні акумуляції в гепатоцитах потенційно токсичних жовчних кислот. Найбільш сильний інгібіторний ефект урсодезоксихолевої кислоти порівняно з іншими дигідроксижовчними кислотами на стимульований синтез цАМФ є одним з пояснень ефективності цієї жовчної кислоти при лікуванні захворювань печінки з проявами холестазу [8].

### **Гідрофобність жовчних кислот як фактор регуляції секреції жовчі**

Мембранотропні властивості жовчних кислот як амфіфільних речовин тісно пов'язані з їх впливом на секрецію жовчі. Встановлено, що жовчні кислоти *in vitro* зв'я-

зуються з мембранами, змінюють зв'язування з ними холестерина та фосфоліпідів, звільняють останні з мембран [19]. При введенні в високих дозах жовчні кислоти пошкоджують мембрани гепатоцитів – плазматичні, ендоплазматичного ретикулу, мітохондрій, цитоскелета, порушують міжклітинні контакти [1, 20, 50]. З гідрофобними впливами жовчних кислот пов'язують загибель гепатоцитів внаслідок апоптозу та некрозу та розвиток холестазу [27, 38, 48, 50].

Високий рівень гідрофобності жовчної кислоти в цілому зумовлює більшу її здатність викликати холестаз. Водночас ефекти гідрофобних жовчних кислот на секрецію жовчі можуть модулюватися процесами їх біотрансформації в гепатоцитах. Дезоксихолева кислота, близька за рівнем гідрофобності до хенодесоксихолевої, внаслідок інтенсивного гідроксилювання є менш цитотоксичною. Індукція системи цитохрому Р-450 в гепатоцитах фенобарбіталом зменшує токсичність гідрофобних дигідроксижовчних кислот [3].

Токсичність, індукована високим вмістом в гепатоцитах жовчних кислот за умов механічно- і гормоніндукованого холестазу в культурі гепатоцитів, викликає характерні пошкодження, зокрема порушення притаманної нормальним клітинам полярності, утворення псевдоканалців – просвітів у цитоплазмі печінкових клітин, структурно та функціонально близьких до каналців [58]. Причиною цього може бути порушення організації цитоскелета і пов'язаного з ним везикулярного транспорту синтезованих мембранних рецепторів, транспортерів, функціональних комплексних білків до відповідного полюса клітини [54]. Високі концентрації тауро-хенодесоксихолевої кислоти інгібують функцію мікротрубочкозв'язаного «моторного» ферменту кінезину більш ніж на 80 %, що призводить до послаблення руху везикул у цитоплазмі.

Токсичність, індукована жовчними кислотами, у деяких випадках характеризується набуханням гепатоцитів, руйнуванням плазматичної мембрани та звільненням внутрішньоклітинного вмісту, тобто загальними явищами некрозу. Проте гістологічні спостереження (наявність похідних від гепатоцитів ацидофільних тілець) дають змогу говорити про те, що гепатоцити при холестазі, викликаному жовчними кислотами, більшою частиною гинуть через апоптоз. Апоптоз, індукований токсичними жовчними кислотами, відбувається дозо- і часозалежно при концентраціях жовчних кислот, типових для холестазу, нижчих за критичні концентрації міцелоутворення, які характерні для некрозу. Припускають, що гідрофобні жовчні кислоти індукують апоптоз за допомогою ліганднезалежної активації Fas-рецепторів, через активацію ПКС та оксидативний стрес [28, 45, 57]. Послідовність апоптотичних процесів під впливом жовчних кислот дискутується, що пов'язано з множинними апоптогенними ефектами жовчних кислот в гепатоцитах, а також відмінами в дії різних гідрофобних жовчних кислот [18, 38].

Гідрофобні жовчні кислоти індукують везикулярний транспорт Fas-рецепторів з клітинного пулу до клітинної поверхні, активуючи протеїнкінази JNK та/або ПКС [18, 38]. Збільшення в клітинній поверхні щільності Fas-рецепторів ініціює їх олігомеризацію, агрегацію та призводить до подальшого розвитку апоптозу [49].

Відома здатність гідрофобних жовчних кислот змінювати структуру та функцію мембран мітохондрій (у тому числі ізольованих): зниження мітохондріального трансмембранного потенціалу, продукція реактивних видів кисню (ROS), звільнення цитохрому с [45].

Жовчні кислоти індукують транслокацію проапоптозного білка Вах з цитозолю до мітохондрій, де він спричинює

звільнення цитохрому с [45]. Блокування змін мітохондріальної проникності циклоспорином А, запобігає набуханню мітохондрій і редукує втрату цитохрому с в ізольованих мітохондріях.

Апоптоз під впливом токсичних жовчних кислот детермінується, в першу чергу, вмістом АТФ у клітинах: при високому вмісті АТФ виникає апоптоз, при видаленні АТФ – блокується. За умов хронічної інтоксикації переважає апоптоз; при гострій інтоксикації, коли вміст АТФ швидко втрачається, розвивається некроз.

Урсо- та тауроурсодезоксихолева кислоти запобігають апоптозу та некрозу, індукованим гідрофобними жовчними кислотами, та викликають холерез [33]. Як зазначено вище, холеретичні ефекти урсодезоксихолевої кислоти пов'язують із стимуляцією вбудовування Vser у каналікулярну мембрану за участю активації MAPK. Інгібітори Erk або p38<sup>MAPK</sup> повністю усувають холеретичний ефект урсодезоксихолевої кислоти, але не впливають на антиапоптозну її дію, що свідчить про різні шляхи реалізації антихолестатичної та антиапоптозної дії урсодезоксихолевої кислоти. Вважають, що її антиапоптогенні ефекти можуть бути зумовленими модуляцією мітохондріальної проникності та гальмуванням утворення ROS, репарацією мембран [45]. Такий погляд підтримується даними про гальмування антиоксидантами утворення ROS у відповідь на гідрофобні жовчні кислоти та етанол [66].

Апоптоз, індукований гідрофобними жовчними кислотами, відіграє істотну роль у розвитку гострих і хронічних вірусних і медикаментозних гепатитів, алкогольних уражень, первинного біліарного цирозу тощо. Розуміння механізмів пошкодження гепатоцитів при холестазі є важливим для пошуку нових підходів до лікування зазначених захворювань.

Гідрофобність жовчних кислот є фактором, який зумовлює не тільки їх пош-

коджувальні впливи при високому вмісті в гепатоцитах. Як з'ясувалося, за фізіологічних умов жовчні кислоти змінюють фізико-хімічний стан мембран (плинність, щільність латеральної упаковки, хімічний склад), і такі зміни впливають на функцію транспортерів, що опосередковують мембранний транспорт [5]. Гідрофільні жовчні кислоти (тауроурсодезоксихолева,  $\alpha$ - та  $\beta$ -тауромурихолеві) підвищували плинність каналікулярних мембран, гідрофобна тауро-хенодезоксихолева – її зменшувала. Підвищення плинності каналікулярних мембран під впливом гідрофільних жовчних кислот супроводжувалось зниженням співвідношення холестерин/фосфоліпіди в бішарах каналікулярних мембран та підвищенням гідрофобності їх фосфоліпідів і, таким чином, щільності латеральної упаковки. Під впливом гідрофобних жовчних кислот співвідношення холестерин/фосфоліпіди було підвищеним, а мембрани містили менш гідрофобні фосфоліпіди.

Експресія каналікулярних ABC транспортерів також залежала від гідрофобності жовчних кислот. Експресію Mgr2 та Mgr3 посилювали гідрофільні жовчні кислоти, експресію Vser – гідрофобні. Причому експресія ABC транспортерів змінювалася під впливом жовчних кислот без зміни вмісту мРНК. Було припущено, що експресія транспортерів, як і плинність та щільність латеральної упаковки мембран, змінювалися під впливом змін видів фосфоліпідів мембран, викликаних жовчними кислотами.

Ці дані дозволяють припустити певну роль безпосередньої взаємодії жовчних кислот з ліпідним матриксом мембран в їх ефектах на функції мембранних транспортерів, ферментів ендоплазматичного ретикулула, мітохондрій. У цьому аспекті нетоксичність урсодезоксихолевої та тригідроксижовчної  $\beta$ -мурихолевої кислот та їх цитопротективні ефекти при дії

гідрофобних жовчних кислот, а також гідрофобних ксенобіотиків, можуть бути пов'язаними з особливостями хімічної будови їх молекул, а саме з відсутністю в молекулах великої гідрофобної зони, характерної для інших жовчних кислот. Ці нетоксичні жовчні кислоти можуть зменшувати детергентні впливи більш токсичних жовчних кислот через конкурентне блокування їх зв'язування з мембранами гепатоцитів [4, 27, 59].

Множинні ефекти жовчних кислот в гепатоцитах, механізми яких лишаються значною мірою гіпотетичними, свідчать, що жовчними кислотам відводиться значна регуляторна роль у процесах утворення каналцевої жовчі. Жовчні кислоти регулюють транспортні процеси в гепатоцитах на рівні транскрипції мембранних транспортних білків, взаємодіючи з ядерними гормональними рецепторами, а також на посттранскрипційному рівні – через активацію клітинних сигнальних шляхів та, як виявилось, безпосередньо при взаємодії з ліпідним матриксом мембран. Нові аспекти регуляції процесів утворення первинної жовчі жовчними кислотами важливі для розробки адекватних підходів при корекції жовчосекреторної функції за умов холестатичних уражень печінки.

**T.B. Synelnyk, O.D. Synelnyk, V.K. Rybalchenko**

#### **BILE ACIDS IN THE PROCESSES OF CANALICULAR BILE FORMATION**

This review summarizes the current knowledge of the role of bile acid in the canalicular bile secretion: its membrane transport in hepatocyte; molecular mechanisms and pathways of its regulatory effects on membrane transporters; the role of its hydrophobicity in membrane transporter regulation; hepatocyte necrosis and apoptosis at cholestasis induced by hydrophobic bile acids; the possible mechanisms of protective effects of ursodeoxycholic acid in cholestatic impairment of the liver.

*Institute of physiology of biology faculty of Taras Shevchenko National Kiev University*

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Синельник О.Д., Карпезо Н.О., Весельський С.П., Синельник Т.Б. Детергентні властивості жовчних кислот та їх дія на секрецію жовчі // *Фізіол. журн.* – 1999. – **45**. – № 3. – С. 18 – 27.
2. Синельник О.Д., Карпезо Н.О., Канаїкіна І.О. Відсутність функціонального зв'язку між змінами клітинного об'єму та стимуляцією секреції жовчі // *Вісник Київ. ун-ту. Проблеми регуляції вегетативних функцій.* – 1999. – Вип.5. – С. 11 – 15.
3. Синельник О.Д., Синельник Т.Б., Весельський С.П. Вплив фенобарбіталу на ефекти високих доз гідрофобних жовчних кислот на секрецію жовчі // *Там само.* – 2002. – Вип. 8. – С. 16 – 20.
4. Синельник О.Д., Синельник Т.Б., Рибальченко В.К. Запобігання пошкоджуючій дії гербіциду 2,4Д на жовчосекреторну функцію печінки за допомогою препарату «Урсофальк» // *Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології. Тези доп. Всеукр. наук. конф., присвяч. 160-річчю кафедри ФЛТ Київ.ун-ту.* – 2002. – С. 99.
5. Asamoto Y., Tazuma S., Ochi H., Chayama K., Suzuki H. Bile-salt hydrophobicity is a key factor regulating rat liver plasma membrane communication: relation to bilayer structure, fluidity and transporter expression and function // *Biochem. J.* – 2001. – **359**. – P. 605 – 610.
6. Bartles J.R., Feracci H.M., Stieger B., Hubbard A.L. Biogenesis of the rat hepatocyte plasma membrane in vivo: comparison of the pathways taken by apical and basolateral proteins using subcellular fractionation // *J. Cell Biol.* – 1987. – **105**. – P. 1241 – 1251.
7. Beuers U., Throckmorton D.C., Anderson V.S. et al. Taurosoodeoxycholic acid activates protein kinase in isolated rat hepatocytes // *Gastroenterology.* – 1996. – **110**. – P. 1553 – 1563.
8. Bouscarel B., Kroll S.D., Fromm H. Signal transduction and hepatocellular bile acid transport: cross talk between bile acids and second messengers // *Ibid.* – 1999. – **117**. – P. 433 – 452.
9. Boyer J., Graf J. Hepatic transport systems, regulating pH<sub>i</sub>, cell volume and bile secretion // *Ann. Rev. Physiol.* – 1992. – **54**. – P. 415 – 438.
10. Buechler M., Koening J., Brom M. et al. cDNA cloning of the hepatocyte canalicular isoform of the multidrug resistance protein, cMRP, reveals a novel conjugate export pump deficient in hyperbilirubinemic mutant rats // *J. Biol. Chem.* – 1996. – **271**. – P. 15091 – 15098.
11. Denson L.A., Sturm E., W., Zimmerman T.L. et al. The orphan nuclear receptor, shp, mediates bile acid induced inhibition of the rat bile acid transporter // *Gastroenterology.* – 2001. – **121**, № 1. – P. 140 – 147.
12. Donner M.J., Keppler D. Up-regulation of basolateral multidrug resistance protein 3 (MRP3) in cholestatic liver // *Hepatology.* – 2001. – **34**. – P. 354 – 359.
13. Farrel G.C., Duddy S.K., Kass G.E. et al. Release of Ca<sup>2+</sup> from the endoplasmic reticulum is not the mechanism for bile acid-induced cholestasis and hepatotoxicity in the intact rat liver // *J.Clin. Invest.* – 1990. – **85**. – P. 1255 – 1259.
14. Feckert P., Zollner G., Fuchsichler A. et al. Effect of ursodeoxycholic and cholic acid feeding on hepatocellular transporter expression in mouse liver // *Gastroenterology.* – 2001. – **121**, № 1. – P. 170 – 183.
15. Gartung C., Trauner M., Schobasser S.F. et al. Sodium-independent uptake of bile acids in unaffected by down-regulation of an organic anion transporter (oatp) in rat liver during cholestasis produced by common bile duct ligation // *Hepatology.* – 1996. – **24**. – P. 369 A.
16. Gatmaitan Z.C., Nies A.T., Arias I.M. Regulation and translocation of ATP-dependent apical membrane proteins in rat liver // *Amer. J. Physiol.* – 1997. – **272**. – P. 1041 – 1049.
17. Gerloff T., Stieger B., Hagenbuch B. et al. The sister P-glycoprotein represents the canalicular bile salt export pump of mammalian liver // *J. Biol. Chem.* – 1998. – **273**. – P. 10046 – 10050.
18. Graf D., Kurz A.K., Fisher R. et al. Taurolithocholic acid-3 sulfate induces CD95 trafficking and apoptosis in a c-jun N-terminal kinase-dependent manner // *Gastroenterology.* – 2002. – **122**. – P. 1411 – 1427.
19. Graham J. M., Northfield T. Solubilization of lipids from hamster bile canalicular and contiguous membranes and from human erythrocyte membrane by conjugated bile salts // *Biochem. J.* – 1987. – **242**. – P. 825 – 834.
20. Greim H M.D., Trulzsch M.D., Rolo J.P.D. et al. M.D. Mechanism of cholestasis // *Gastroenterology.* – 1972. – **65**, № 5. – P. 837 – 845.
21. Grune S., Engelking L.R., Anwer M.S. Role of intracellular calcium and protein kinases in the activation of hepatic Na<sup>+</sup>/taurocholate cotransport by cyclic AMP // *J.Biol. Chem.* – 1993. – **268**. – P. 17734 – 17741.
22. Guo G.L., Choudhuri S., Klaassen C.D. Induction profile of rat organic anion transporting polypeptide 2 (Oatp2) by prototypical drug-metabolizing enzyme inducers that activate gene expression through ligand-activated transcription factor pathway // *Pharmacol. Exp. Ther.* – 2002. – **300**. – P. 206 – 212.
23. Gupta S., Stravitsr.T., Dent P., Hylemon P.B. Down-regulation of cholesterol-7 $\alpha$ -hydroxylase (CYP7A1) gene expression by bile acids in primary rat hepatocytes mediated by c-Jun N-terminal kinase pathway // *J.Biol. Chem.* – 2001. – **276**. – P. 15816 – 15822.
24. Hagenbuch B., Stieger B., Foguet M. et al. Functional expression, cloning and characterization of the hepatocyte Na<sup>+</sup>/bile acid cotransport system // *Proc. Natl.Acad.Sci.* – 1991. – **88**. – P. 10629 – 10633.
25. Hayakawa T., Bruck R., Ng O.C., Boyer J.L. DBcAMP stimulates vesicle transport and HRP excretion in isolated perfused rat liver // *Amer. J. Physiol.* – 1990. – **259**. – P. 727 – 735.
26. Hirohashi T., Suzuki H., Takikawa H., Sugiyama Y. ATP-dependent transport of bile salt by rat multidrug resis-

- tance-associated protein 3 (Mrp3) // *J. Biol. Chem.* – 2000. – **275** – P. 2905 – 2910.
27. Heuman D.M., Mills A.S., McCall J. et al. Conjugates of ursodeoxycholate protect against cholestasis and hepatocellular necrosis caused by more hydrophobic bile salts // *Gastroenterology.* – 1991. – **100**. – P. 203 – 211.
28. Jones B.A., Rao Y.P., Stravitz R.T., Gores G.J. Bile salt-induced apoptosis of hepatocytes involves activation of protein kinase C // *Amer. J. Physiol.* – 1997. – **272**. – P. 1109 – 1115.
29. Kan K.S., Coleman R. The calcium ionophore A23187 increases the tight-junctional permeability in rat liver // *Biochem. J.* – 1988. – **256**. – P. 1039 – 1041.
30. Karpen S.J., Sun A.Q., Kudish B. et al. Multiple factors regulate the rat liver basolateral sodium-dependent bile acid cotransporter gene promoter // *J. Biol. Chem.* – 1996. – **271**. – P. 15211 – 15221.
31. Kast H.R., Goodwin B., Tarr P.T. et al. Regulation of multidrug resistance-associated protein 2 (ABCC2) by the nuclear receptors pregnane X receptor, farnesoid X receptor, and constitutive androstane receptor // *J. Biol. Chem.* – 2002. – **277**. – P. 2908 – 2915.
32. Konig J., Cui Y., Nies A.T., Keppler D. A novel human organic anion transporting polypeptide localized to the basolateral hepatocyte membrane // *Amer. J. Physiol.* – 2000. – **278**. – P. 156 – 164.
33. Kunz A.K., Graf D., vom Dahl S.W., Schmitt M., Häussinger M. Tauroursodeoxycholate induced choleresis involves p38<sup>MAPK</sup> activation and translocation of the bile salt export pump in rats // *Gastroenterology.* – 2001. – **121**. – P. 407 – 419.
34. Lee J.M., Trauner M., Soroka C.J. et al. Expression of the bile salt pump is maintained after chronic cholestasis in the rat // *Gastroenterology.* – 2000. – **118**. – P. 163 – 172.
35. Lu T.T., Makishima M., Repa J.J. et al. Molecular basis for feedback regulation of the bile acid synthesis by nuclear receptors // *Mol. Cell.* – 2000. – **6**. – P. 507 – 515.
36. Makishima M., Okamoto A.Y., Repa J.J. et al. Identification of nuclear receptor for bile acids // *Science.* – 1999. – **284**. – P. 1362 – 1365.
37. Miyake J.H., Wang S.L., Davis R.A. Bile acid induction of cytokine expression by macrophages correlates with repression of hepatic cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase // *J. Biol. Chem.* – 2000. – **275**. – P. 21805 – 21808.
38. Miyoshi H., Rust C., Roberts P. et al. Hepatocyte apoptosis after bile duct ligation in the mouse involves Fas // *Gastroenterology.* – 1999. – **117**, №3. – P. 669 – 677.
39. Mosely R.H., Wang W., Takeda H. et al. Effect of endotoxin on bile acid transport in rat liver: a potential model for sepsis-associated cholestasis // *Amer. J. Physiol.* – 1996. – **271**. – P. 137 – 146.
40. Müller M., Jansen P.L.M. The secretory function of the liver: new aspects of hepatobiliary transport // *J. Hepatology.* – 1998. – **28**, № 2. – P. 344 – 354.
41. Nathanson M.H., Gautam A., Ng O.C., Bruck R., Boyer J.L. Hormonal regulation of paracellular permeability in isolated rat hepatocyte couplets // *Amer. J. Physiol.* – 1992. – **262**. – P. 1079 – 1086.
42. Ogawa K., Suzuki H., Hirohashi T., Ishikawa T., Meier P.J. et al. Characterization of inducible nature of MRP3 in rat liver // *Ibid.* – 2000. – **278**. – P. 438 – 446.
43. Paulusma C.C., Kool M., Bosma P.J. et al. A mutation in the human canalicular multispecific organic anion transporter gene causes the Dubin-Johnson syndrome // *Hepatology.* – 1997. – **25**. – P. 1539 – 1542.
44. Reichel C., Gao B., Van Montfort J. et al. Localization and function of the organic anion-transporting polypeptide oatp2 in rat liver // *Gastroenterology.* – 1999. – **117**. – P. 688 – 695.
45. Rodrigues C.M.P. Bile acids and hepatocyte apoptosis: living/leaving life in the Fas lane // *Ibid.* – P. 732 – 736.
46. Schliess F., Kurz A.K., von Dahl S., Häussinger D. Mitogen activated protein kinases mediate the stimulation of bile acid secretion by tauroursodeoxycholic acid // *Ibid.* – 1997. – **113**. – P. 1306 – 1314.
47. Schuetz E.G., Strom S., Yasuda K. et al. Disrupted bile acid homeostasis reveals an unexpected interaction among nuclear hormone receptors, transporters, and cytochrome P450 // *J. Biol. Chem.* – 2001. – **276**. – P. 39411 – 39418.
48. Simon F.R., Fortune J., Iwahashi M. et al. Ethinylestradiol cholestasis involves alterations in expression of liver sinusoidal transporters // *Amer. J. Physiol.* – 1996. – **271**. – P. 1043 – 1052.
49. Sodeman T., Bronk S.F., Roberts P.J., Miyoshi H., Gores G.J. Bile salts mediate hepatocyte apoptosis by increasing cell surface trafficking of Fas // *Ibid.* – 2000. – **278**. – P. 992 – 999.
50. Sokol R.J., Winklhofer B.M., Devereaux M.W., McKim J.M. Generation of hydroperoxides in isolated rat hepatocytes and hepatic mitochondria exposed to hydrophobic bile acids // *Gastroenterology.* – 1995. – **109**. – P. 1249 – 1256.
51. Soroka S.J., Lee J.M., Azzaroli F., Boyer J.L. Cellular localization and up-regulation of multidrug resistance-associated protein 3 in hepatocytes and cholangiocytes during obstructive cholestasis in rat liver // *Hepatology.* – 2001. – **33**. – P. 783 – 791.
52. Sperber I. Secretion of organic anions in the formation of urine and bile // *Pharmacol. Rev.* – 1959. – **11**. – P. 109 – 134.
53. Staudinger J., Goodwin B., Jones S.A. et al. The nuclear receptor PXR is a lithocholic acid sensor that protects against liver toxicity // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 2001. – **98**. – P. 3369 – 3374.
54. Stieger B., Fattinger K., Madon J. et al. Drug- and estrogen-induced cholestasis through inhibition of the hepatocellular bile salt export pump // *Gastroenterology.* – 2000. – **118**. – P. 422 – 430.
55. Stiehl A., Raedsch R., Rudolph G. et al. Biliary and urinary excretion of sulfated, glucuronidated and tetrahydroxylated bile acids in cirrhotic patients // *Hepatology.* – 1985. – **5**. – P. 492 – 495.
56. Strange H.S. Hepatic bile salt transport. A review of

- subcellular binding sites // Biochem. Soc. Trans. – 1981. – 9. – P.170 – 174.
57. Takikawa Y., Miyoshi H., Rust C., Roberts P., Siegl R. et al. The bile acid activated phosphatidylinositol 3-kinase pathway inhibits Fas apoptosis upstream of Bid in rodent hepatocytes // Gastroenterology. – 2001. – 120. – P. 1810 – 1817.
  58. Török N.J., LaRusso E.M., Mc Niven M.A. Alterations in vesicle transport and cell polarity in rat hepatocytes subjected to mechanical or chemical cholestasis // Ibid. – 2001. – 121, №5. – P. 1176 – 1184.
  59. Trauner M., Meier P.J., Boyer J.L. Molecular pathogenesis of cholestasis // N. Engl. J. med. – 1998. – 339. – P. 165 – 178.
  60. Trauner M., Boyer J.L. Bile salt transporters: molecular characterization, function, and regulation // Physiol. Rev. – 2003. – 83, №2. – P. 633 – 671.
  61. Wang H., Chen G., Hollister K. et al. Endogenous bile acid are ligands for the nuclear receptor FXR/BAR // Mol. Cell. – 1999. – 3. – P. 543-553.
  62. Watanabe S., Phillips M.J.  $Ca^{2+}$  causes active contraction of bile canaliculi: direct evidence from microinjection studies // Proc. Natl. Acad. – Sci. USA. – 1984. – 81. – P. 6164 – 6168.
  63. Webster S.R., Anwer M.S. Role of the PI3K/PKB signaling pathway in cAMP-mediated translocation of rat liver Ntcp // Amer. J. Physiol. – 1999. – 277. – P. 1165 – 1172.
  64. Wielandt A.M., Vollrath V., Manzano M. et al. Induction of the multispecific organic anion transporter (cMoat/Mrp2) gene and biliary glutathione secretion by the herbicide 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid in the mouse liver // Biochem. J. – 1999. – 341. – P. 105 – 111.
  65. Yang, Y., Zhang M., Eggertsen G., Chiang J.Y.L. On the mechanism of bile acid inhibition of rat sterol 12 $\alpha$ -hydroxylase gene (CYP8B1) transcription: roles of  $\alpha$ -feto-protein transcription factor and hepatocyte nuclear factor 4 $\alpha$  // Biochim. and Biophys. Acta. – 2002. – 1583. – P. 63 – 73.
  66. Yerushalmi B., Dahl R., Devereau M.W. et al. Bile acid induced rat hepatocyte apoptosis is inhibited by antioxidant and blockers of the mitochondrial permeability transition // Hepatology. – 2001. – 33. – P. 616 – 626.
  67. Zeng H., Liu G., Reo R.A., Kruh G.D. Transport of amphipatic anions by human multidrug resistance protein 3 // Cancer Res. – 2000. – 60. – P. 4779 – 4784.
  68. Zollner G., Fickert P., Zenz R. et al. Hepatobiliary transporter expression in percutaneous liver biopsies of patients with cholestatic liver diseases // Hepatology. – 2001. – 33. – P. 633 – 646.
  69. Zollner G., Fickert P., Silbert D. et al. Induction of short heterodimer partner 1 precedes downregulation of Ntcp in bile ductulated mice // Amer. J. Physiol. – 2002. – 282 – P. 184 – 191.

*Ин-т фізіології біологічного факультету Київ.  
ун-ту ім. Тараса Шевченка*

*Матеріал надійшов до  
редакції 24.09.2003*