

УДК 612.35+616.36+591.132.5

УЧАСТЬ ПРОСТАГЛАНДИНІВ У РЕАЛІЗАЦІЇ ВПЛИВУ БОМБЕЗИНУ НА МЕМБРАННИЙ ПОТЕНЦІАЛ ГЕПАТОЦИТІВ

Цапенко П.К., Оглобля О.В., Лященко Т.П.

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна
E-mail: tsapenko Petr@yahoo.com*

Показано, що простагландин $F_{2\alpha}$, котрий є посередником між різними субпопуляціями клітин печінки, спричиняє гіперполяризацію мембран гепатоцитів, тобто чинить збуджуючий вплив на ці клітини. При цьому простагландини опосередковують та посилюють дію норадреналіну на паренхімні клітини печінки, що позначається на величині змін мембранного потенціалу. Блокада синтезу екзогенних простагландинів за допомогою ацетилсаліцилової кислоти не позначається на ефектах бомбезину. Отримані дані свідчать, що вплив бомбезину на мембранний потенціал гепатоцитів щурів не опосередкований дією простагландинів.

Ключові слова: бомбезин, мембранний потенціал, гепатоцит, простагландини.

ВСТУП

Бомбезин та споріднені з ним пептиди поширені у багатьох системах органів вищих тварин та здійснюють вплив на велику кількість фізіологічних процесів, у тому числі гепатобіліарної системи. Зокрема, показано, що бомбезин та гастрин-релізінг пептид відіграють важливу роль у каналцевої секреції жовчі, а також забезпечують скорочення жовчного міхура та вихід жовчі у дванадцятипалу кишку [1]. Дослідження жовчосекреторної функції печінки щурів *in vivo* показали стимулювальний вплив бомбезину на процес жовчоутворення [2]. Існують дані про те, що бомбезин посилює протипухлинні ефекти субстанції Р [3], про вплив бомбезину на проліферацію гепатоцитів [4] та пригнічуючий вплив його антагоністів на ріст пухлинних клітин [5]. Проте, не зважаючи на численні відомості щодо впливу бомбезину на функціонування печінки, механізми цього впливу лишаються дотепер нез'ясованими.

Відомо, що внутрішньоклітинні посередники дії бомбезинових пептидів представлені інозитолтрифосфатом та діацилгліцеролом [6]. Наші попередні дослідження показали деполяризуючу дію бомбезину на мембранний потенціал гепатоцитів, при цьому зміни цього показника пов'язані виключно з хемокерованими каналами [7-9]. Разом з тим вазопресин, дія якого на гепатоцити так само пов'язана з системою інозитолтрифосфату та діацилгліцеролу, викликав гіперполяризаційні зміни мембранного потенціалу гепатоцитів [9], що змушує припустити непряму дію бомбезину на клітини паренхіми печінки. Так, показано, що катехоламіни справляють свій вплив на функції гепатоцитів не лише прямим шляхом, але й опосередковано через дію на непаренхімні клітини печінки та виділювані цими клітинами простагландини [10, 11]. Дослідження питання участі ендогенних простагландинів в ефектах бомбезину

і стало метою даної роботи. У якості показника функціонального стану клітин ми використовували мембранний потенціал, оскільки він відображає процеси синтезу та мембранного транспорту у секреторних клітинах, зокрема, гепатоцитах [7, 12].

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Досліди проводили на самцях лабораторних білих щурів масою 200-250 г, які утримувались в стандартних умовах віварію. Дослідження на тваринах проведені з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей.

Дію бомбезину на мембранний потенціал гепатоцитів досліджували за допомогою мікроелектродної техніки за методом печінкових слайсів [13]. Для цього у наркотизованих щурів проводили відмивання печінки від крові за методикою Сеглена [14]. Препарат печінки перфузували у експериментальній камері стандартним позаклітинним сольовим розчином, температура розчину становила 37°C; склад розчину був таким (у ммоль/л): 140 NaCl, 4 KCl, 1 CaCl₂, 1 MgCl₂, 10 глюкоза, 1 KН₂РO₄, 10 НЕРЕС (рН 7,4, NaOH) [7].

Мікроелектроди виготовляли з боросилікатних заготовок зовнішнього діаметру 1,45 мм на півавтоматі для виготовлення скляних мікроелектродів МЭ-4. Мікроелектроди заповнювали 2,5 М розчином KCl у термостаті за температури 50°C протягом 10 годин. Опір готових мікроелектродів становив 100-120 МОм. Потенціал реєстрували за допомогою диференційного підсилювача, що був виготовлений дослідно-конструкторським виробництвом Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України на основі мікросхеми К140УД8Б. Сигнал від підсилювача спрямовувався через аналогово-цифровий перетворювач до комп'ютера, на якому реєструвався за допомогою спеціальної програми. Після реєстрації дані зберігалися у вигляді таблиць в файлах формату Excel, після чого проводилася їх статистична обробка.

Експеримент складався з таких серій:

1. З метою визначення, як позначається на мембранному потенціалі опосередкованню дії норадреналіну простагландинами, ми досліджували вплив норадреналіну на тлі дії ацетилсаліцилової кислоти та порівнювали з дією самого катехоламіну та самої ацетилсаліцилової кислоти.
2. Визначаючи характер дії простагландинів, вивчали вплив на мембранний потенціал гепатоцитів простагландину F_{2α} (єдиного простагландину, до якого на гепатоцитах містяться рецептори [10]).
3. З'ясовували роль ендогенних простагландинів у реалізації ефектів бомбезину, застосовуючи пептид на тлі дії ацетилсаліцилової кислоти.

Ми перфузували препарат розчином досліджуваних речовин в максимально ефективній концентрації: норадреналін («Здоров'я», Харків) - 1 мкмоль/л [15], бомбезин («Sigma», США) – 50 нмоль/л [16], простагландин F_{2α} - 5 мкмоль/л [17], ацетилсаліцилова кислота - 500 мкмоль/л [18].

Фактичний матеріал було оброблено методами варіаційної статистики. Проводився тест на нормальність розподілу Шапіро-Уїлка, нормально розподілені дані обчислювалися за критерієм Стюдента для залежних вибірок з урахуванням тесту Левена на гомогенність вибірки. Статистично значущими вважалися зміни при p<0,05.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Результати наших досліджень свідчать, що за умов блокади циклооксигенази норадреналін викликає гіперполяризацію мембран гепатоцитів, але меншої величини, ніж за умов застосування самого норадреналіну (Рис. 1). При цьому сама ацетилсаліцилова кислота не спричиняла змін мембранного потенціалу гепатоцитів, а отже будь-яка модуляція даного показника була пов'язана саме з дією гормону.

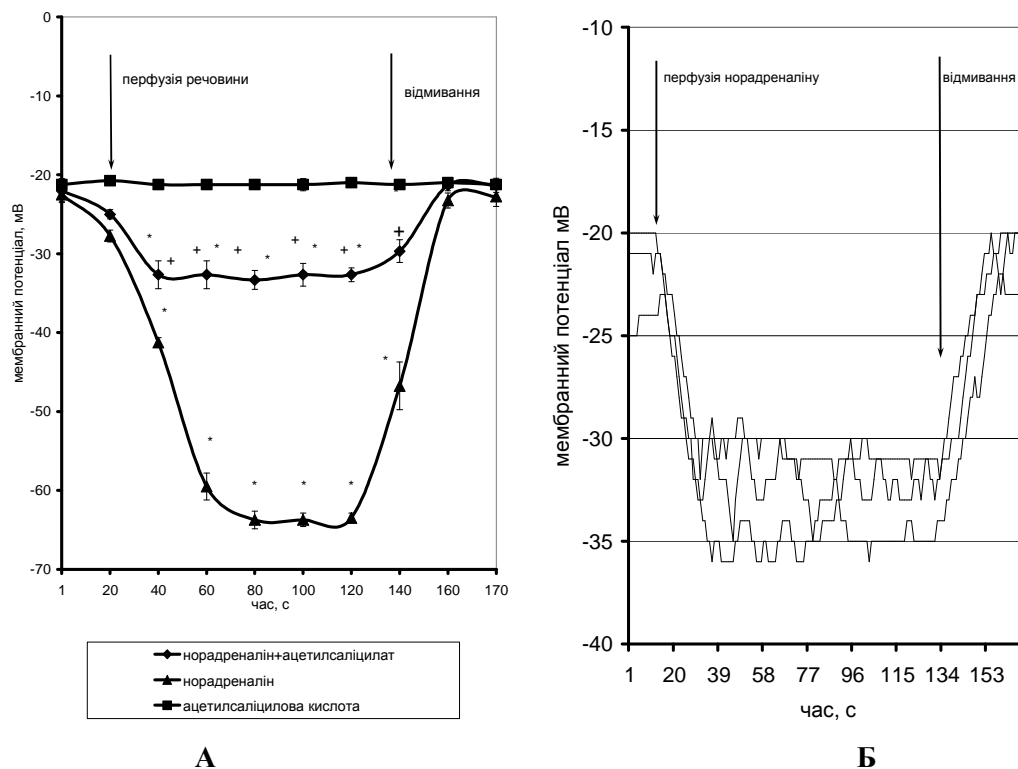


Рис. 1. А.- Вплив норадреналіну, ацетилсаліцилової кислоти та норадреналіну на тлі дії ацетилсаліцилової кислоти на мембранний потенціал гепатоцитів. * - $p < 0,05$ щодо вихідного рівня; + - $p < 0,05$ щодо перфузії самого норадреналіну. Б - Вплив норадреналіну на тлі дії ацетилсаліцилової кислоти на мембранний потенціал гепатоцитів (оригінальні записи).

Також слід зазначити, що при дії норадреналіну на тлі дії ацетилсаліцилової кислоти спостерігалися секреторні потенціали, а отже стимуловальний вплив норадреналіну не повністю опосередковується дією через непаренхімні клітини печінки, проявляється й пряма дія гормону (рис.1).

Отже, наші дані підтверджують відомості про опосередкування ефектів норадреналіну простагландінами і одночасно свідчать про те, що блокада циклооксигенази проявляється на величині змін мембранного потенціалу гепатоцитів під впливом регулятора, дія якого опосередкована ейкозаноїдами.

З метою перевірки гіпотези про опосередкування дії бомбезину простагландинами, ми на першому етапі перфузували препарат розчином ейкозаноїду (рис.2). Наші результати свідчать, що простагландин $F_{2\alpha}$ спричиняє гіперполяризацію мембран гепатоцитів, при цьому клітини в значній мірі проявляють індивідуальні особливості (рис.2), що може бути пов'язане з різним ступенем їх функціональної активності. Адже в умовах нашого експерименту ми не можемо контролювати від клітини якої зони печінкового ацинусу (зони 1-3 або перипортальної чи перивенозної зони за різними класифікаціями) ми проводимо відведення потенціалу.

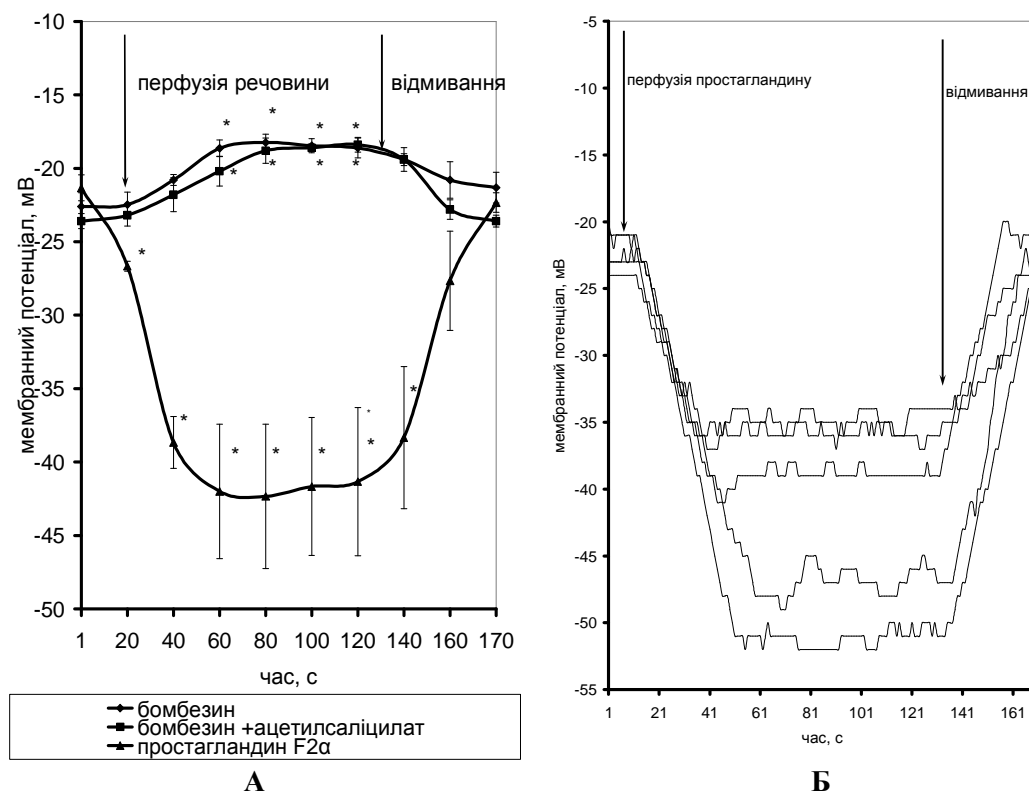


Рис. 2. А - Зміни мембранного потенціалу гепатоцитів щурів під впливом простагландину $F_{2\alpha}$, та бомбезину на тлі дії ацетилсаліцилової кислоти. * - $p < 0,05$ щодо контролю. Б - Вплив простагландину $F_{2\alpha}$ на мембранний потенціал гепатоцитів (оригінальні записи).

Статистична обробка показала, що застосування простагландину $F_{2\alpha}$ призводило до зростання мембранного потенціалу в середньому на 82%. Це зростання було значущим: t-критерій Стьюдента дорівнював 65,54, а рівень статистичної значущості був меншим за 0,001. Звертає увагу факт, що простагландин $F_{2\alpha}$ викликає появу секреторних потенціалів порівняно високої амплітуди (рис. 2), тобто значно стимулює процеси трансмембранного транспорту

клітин паренхіми печінки, що може бути свідченням посилення виділення компонентів жовчі через апікальну мембрану гепатоцитів або посилення захоплення жовчних кислот через базолатеральну мембрану клітин.

Застосування бомбезину на тлі попереднього застосування блокатору циклооксигенази ацетилсаліцилової кислоти викликало деполяризаційні зміни мембранного потенціалу гепатоцитів, які не відрізнялися від таких за умов застосування самого пептиду (рис.3). Це свідчить про незалучення метаболітів арахідонової кислоти в реалізації впливу бомбезину на електричні процеси на мембранах гепатоцитів щурів. Отже, бомбезин справляє свій вплив на гепатоцити через інший посередник, найвірогідніше, внутрішньоклітинний, оскільки за даними літератури інші відомі міжклітинні посередники в печінці або ж не справляють свого впливу на процеси жовчоутворення, або ж виступають у ролі інгібіторів цих процесів [11, 19]. Це дозволяє припустити, що деполяризуюча дія бомбезину пов'язана із дією самого пептиду та його власними специфічними внутрішньоклітинними механізмами сигналізації. Оскільки ж показано, що зв'язування бомбезинових рецепторів із своїм агоністом спричиняє активацію фосфоліпази С та її каскадних механізмів, яка зумовлює гіперполяризацію мембран гепатоцитів через відкривання кальцій-залежних калієвих каналів, то деполяризація мембран клітин паренхіми печінки під впливом бомбезину може бути пов'язана з наявністю інших внутрішньоклітинних сигнальних шляхів пептиду. Питання встановлення цих шляхів бомбезину та переключення між ними лишається відкритим та потребує подальших досліджень.

ВИСНОВКИ

1. Бомбезин деполяризує мембрани гепатоцитів, що може вказувати на зміни метаболічної активності гепатоцитів та свідчить про активацію трансмембранного транспорту клітин.
2. Простагландини викликають гіперполяризацію мембран гепатоцитів, що є свідченням зростання їх метаболічної активності, та опосередковують і посилюють дію норадреналіну на ці клітини.
3. Оскільки пригнічення активності циклооксигенази не змінює характер дії бомбезину на мембранний потенціал гепатоцитів, то це вказує на те, що дія бомбезину на гепатоцити не залучає простагландини.

Список літератури

1. Cho W.K. Intracellular pH regulation in bombesin-stimulated secretion in isolated bile duct units from rat liver / Cho W.K., Mennone A., Boyer J.L. // *AJP - Gastrointest. Liver Physiol.* – 1998.- vol. 275, issue 5. – P. 1028-1036.
2. Мороз О.Ф. Участь бомбезину у регуляції жовчосекреторної функції печінки щурів / Мороз О.Ф.: Автореферат... к. біолог. наук, спец.: 03.00.13 - фізіологія людини і тварин. — К. : Київський нац. ун-т ім. Т. Шевченка, 2009. — 19 с.
3. MacKinnon A.C. Expression of V1A and GRP receptors leads to cellular transformation and increased sensitivity to substance-P analogue-induced growth inhibition / MacKinnon A.C., Tufail-Hanif U., Lucas C.D. et al. // *Br. J. Cancer.*- 2005.- Vol.92(3).- P. 522-531.

4. Assimakopoulos S.F. Stimulation of oval cell and hepatocyte proliferation by exogenous bombesin and neurotensin in partially hepatectomized rats / Assimakopoulos S.F., Tsamandas A.C., Alexandris I.H., Georgiou C., Vagianos C.E., Scopa C.D. // *World J. Gastrointest. Pathophysiol.*- 2011.- Vol.2(6).- P.146-154.
5. Bajo A.M. Bombesin antagonists inhibit proangiogenic factors in human experimental breast cancers / Bajo A.M., Schally A.V., Groot K., Szepeshazi K. // *Br. J. Cancer.*- 2004.- Vol.90, N1.- P. 245–252.
6. Santiskulvong C. EGF receptor function is required in late G1 for cell cycle progression induced by bombesin and bradykinin / Santiskulvong C., Sinnet-Smith J., Rozengurt E. // *Am J Physiol Cell Physiol.* – 2001.- vol. 281, issue 3. – P. 886-898.
7. Aromataris E.D. Glucagon activates Ca²⁺ and Cl⁻ channels in rat hepatocytes / Aromataris E.D., Roberts M.L., Barritt G.J. et al. // *J. Physiol.* – 2006. – 573. – Issue 3. – P.611-625.
8. Цапенко П.К. Вплив бомбезину на електричну активність гепатоцитів щурів / Цапенко П.К., Оглобля О.В., Лященко Т.П. // *Фізика живого.* – 2009. - №2. – С.68-73.
9. Цапенко П.К. Зміни мембранного потенціалу гепатоцитів щурів під впливом вазопресину / Цапенко П.К., Лященко Т.П. // *Фізіологічний журнал.* – 2011. - №4. – С.77-82.
10. Kmiec Z. Cooperation of liver cells in health and disease / Kmiec Z. // *Adv. Anat. Embryol. Cell Biol.* – 2001. – Vol.161. – P.149-151.
11. Oben J.A. Sympathetic nervous system regulation of liver repair / Oben J.A., Diehl A.M. // *Anat. Rec. A Discov. Mol. Cell Evol. Biol.*- 2004.- Vol. 280(1).- P. 874-883.
12. Фролькис В.В. Влияние активации биосинтеза белка на уровень мембранного потенциала клеток / Фролькис В.В. // *Биофизика.* – 1974. – 19. – №3. - С.470-473.
13. Lyall V. Measurement of intracellular chloride activity in mouse liver slices with microelectrodes / Lyall V., Croxton T.L., Armstrong W.M. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1987. – N.903(1). – P.56-67.
14. Li A.P. Human hepatocytes: isolation, cryopreservation and applications in drug development / Li A.P. // *Chemico-biological interactions.* – 2007. – V.168(1). – 16-29.
15. Sanchez-Gutierrez J.C. Modulation of gluconeogenesis by epinephrine in hepatocytes isolated from genetically obese (fa/fa) Zucker rats / Sanchez-Gutierrez J.C. // *Arch. Biochem. Biophys.*- 2000.- Vol.373(1).- P. 249-254.
16. Mitchell F.M. Differential modulation of bombesin-stimulated phospholipase C and mitogen-activated protein kinase activity d-Arg, d-Phe, D-Trp, Leu Substance P / Mitchell F.M., Heasley L.E., Qian N.-X. et al. // *American society for Biochemistry and molecular biology, inc.*- 1995.- Vol.210, No 15.- issue 14.- P. 8623-8628.
17. Koukoui O. Effects of the prostaglandins PGF₂ and PGE₂ on calcium signaling in rat hepatocyte doublets / Koukoui O., Boucherie S., Sezan A. et al. // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*- 2006.- Vol. 290.- P. G66-G73.
18. Sils D. Inhibition of platelet aggregation and thromboxane production by low concentrations of aspirin in vitro / Sils D., Rodgers S.E., Lloyd J.V. et al. // *Clin. Sci.*- 1988.- Vol. 74(5).- P. 491-497.
19. Boyer J.L. Bile formation / Boyer J.L., Nathanson M.H. // *Shiff's diseases of the liver.*- Philadelphia.- 1999.- P. 119-142.

Цапенко П.К. Участие простагландинов в реализации влияния бомбезина на мембранный потенциал гепатоцитов / П.К. Цапенко, О.В. Оглобля, Т.П. Лященко // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2014. – Т. 27 (66), № 1. – С. 207-214.

Показано, что простагландин F_{2α}, который является посредником между разными субпопуляциями клеток печени, вызывает гиперполяризацию мембран гепатоцитов, то есть оказывает возбуждающее воздействие на эти клетки. При этом простагландины опосредуют и усиливают действие норадреналина на паренхимные клетки печени, что сказывается на величине изменений их мембранного потенциала. Блокада синтеза экзогенных простагландинов при помощи ацетилсалициловой кислоты не изменяет эффекты бомбезина. Полученные данные свидетельствуют, что влияние бомбезина на мембранный потенциал гепатоцитов крыс не опосредован воздействием простагландинов.

Ключевые слова: бомбезин, мембранный потенциал, гепатоцит, простагландины.

**THE ROLE OF PROSTAGLANDINS IN REALIZATION OF BOMBESIN
INFLUENCE ON HEPATOCYTES MEMBRANE POTENTIAL**

Tsapenko P.K., Ogloblya O.V., Liashchenko T.P.

*Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine
E-mail: tsapenkopetr@yahoo.com*

Stimulating effects of bombesin on cholangyocyte secretion activity, gall bladder contraction and bile formation was shown by various authors. Influence of bombesin on hepatocyte proliferation activity is known also. But mechanism of bombesin effects on hepatocyte function is unclear. Our previous investigation suggests that bombesin evokes depolarization of rat liver cells by chemosensitive ionic channels activation. By contrast vasopressin, which has the same second messengers as bombesin, provokes hepatocyte hyperpolarization. It suggests that bombesin effect on hepatocyte membrane potential may involve releasing of prostaglandins by non-parenchymal liver cells, similar to norepinephrine liver cells regulation.

Bombesin effect on hepatocyte membrane potential was investigated by microelectrode technique on liver slices. For the preparation of liver slices, male rats were anaesthetized with an intraperitoneal injection of sodium thiopental (50 mg kg⁻¹ body mass). After laparotomy liver was perfused by standard medium (in mM: 140 NaCl, 4 KCl, 1 CaCl₂, 1 MgCl₂, 10 glucose, 1 KH₂PO₄, 10 HEPES, adjusted to pH 7.2-7.4 with NaOH) then it was isolated and sliced. Slices were placed in perfused silgard-covered bath at 37°C. Silver chloride indifferent electrode was attached with medium by salt bridge. Microelectrodes were made from borosilicate glass (interior diameter 1.45 mm, resistance below 110 MΩ) and filled by 2.5 M KCl. Hepatocyte membrane potential was measured in the presence of: 1) norepinephrine and norepinephrine at cyclooxygenase inhibition by acetylsalicylic acid, 2) acetylsalicylic acid alone, 3) prostaglandin F_{2α} (only one prostaglandin which has receptors on hepatocytes), 4) bombesin with acetylsalicylic acid.

Norepinephrine evokes hepatocyte hyperpolarization from -25 to -65 mV. By contrast, at cyclooxygenase inhibition norepinephrine provokes hepatocyte hyperpolarization to -35 mV. Acetylsalicylic acid has no effect on rat liver hepatocyte electrical potential, so prostaglandins mediate catecholamine influence on these cells. It should also be stated that norepinephrine in the presence of acetylsalicylic acid induces membrane potential oscillations (secretory potentials). This fact suggests that membrane potential changes are induced by catecholamine and prostaglandin together.

Prostaglandin F_{2α} evokes hepatocyte hyperpolarization; in this case there is an inherent characteristic of hepatocyte membrane potential changes, that may depends on hepatocyte functional activity. It should be noted that prostaglandin F_{2α} provokes high amplitude secretory potentials of rat liver cells, what indicates that prostaglandin activates hepatocyte transmembrane transport system and induces increasing of bile flow trough apical membrane or increasing of bile acid uptake on basolateral cell membrane.

Bombesin at cyclooxygenase inhibition by acetylsalicylic acid causes cell depolarization which was not differ from bombesin-induced depolarization. So, prostaglandins are not mediate bombesin influence on rat hepatocyte membrane potential. It suggests that there is another (maybe intracellular) bombesin messenger. We can assume that bombesin-induced rat liver cells depolarization is not mediated by protein kinase C intracellular cascade. Therefore intracellular signal pathways of bombesin are still unclear and should be investigated.

Conclusion: prostaglandin F_{2α}, which is a messenger between liver cells subpopulations, evokes hepatocyte membrane hyperpolarization and has a stimulating action on these cells. Prostaglandins mediate and potentiate norepinephrine action on rat liver cells membrane potential difference. Inhibition of endogenous prostaglandins synthesis by acetylsalicylic acid does not change a bombesin effects on hepatocytes electrical membrane potential. This fact suggests that influence of bombesin on rat liver hepatocytes membrane potential does not mediated by prostaglandins.

Keywords: bombesin, membrane potential, hepatocyte, prostaglandins.

References

1. Cho W.K., Mennone A., Boyer J.L., Intracellular pH regulation in bombesin-stimulated secretion in isolated bile duct units from rat liver, *AJP - Gastrointest. Liver Physiol.*, **275**, 1028 (1998).
2. Moroz O.F., Effect of bombesin on bile formation in the rat liver, *Dissertacion for the candidate biological science degree in speciality 03.00.13 – human and animal physiology* (Taras Shevchenko Kyiv National University, Kyiv, 2009), 19 p.
3. MacKinnon A.C., Tufail-Hanif U., Lucas C.D. Expression of V1A and GRP receptors leads to cellular transformation and increased sensitivity to substance-P analogue-induced growth inhibition, *Br. J. Cancer.*, **92**, 522 (2005).
4. Assimakopoulos S.F., Tsamandas A.C., Alexandris I.H., Georgiou C., Vagianos C.E., Scopa C.D., Stimulation of oval cell and hepatocyte proliferation by exogenous bombesin and neurotensin in partially hepatectomized rats, *World J. Gastrointest. Pathophysiol.*, **2**, 146 (2011).
5. Bajo A.M., Schally A.V., Groot K., Szepeshazi K., Bombesin antagonists inhibit proangiogenic factors in human experimental breast cancers, *Br. J. Cancer.*, **90**, 245 (2004).
6. Santiskulvong C., Sinnet-Smith J., Rozengurt E., EGF receptor function is required in late G₁ for cell cycle progression induced by bombesin and bradykinin, *Am J Physiol Cell Physiol.*, **281**, 886 (2001).
7. Aromataris E.D., Roberts M.L., Barritt G.J., Glucagon activates Ca²⁺ and Cl⁻ channels in rat hepatocytes, *J. Physiol.*, **573**, 611 (2006).
8. Tsapenko P.K., Ogloblia O.V., Lyashchenko T.P., Influence of bombesin on electrical activity of rat hepatocytes, *Physics of the alive*, **2**, 68 (2009).
9. Tsapenko P.K., Liashchenko T.P., Effect of vasopressin on the membrane potential of rat hepatocytes, *Fiziologichnyi zhurnal*, **4**, 77 (2011).
10. Kmiec Z., Cooperation of liver cells in health and disease, *Adv. Anat. Embryol. Cell Biol.*, **161**, 149 (2001).
11. Oben J.A., Diehl A.M., Sympathetic nervous system regulation of liver repair, *Anat. Rec. A Discov. Mol. Cell Evol. Biol.*, **280**, 874 (2004).
12. Frol'kis V.V., Effect of activation of protein biosynthesis on the magnitude of cell membrane potential, *Biofizika*, **19**, 470 (1974).
13. Lyall V., Croxton T.L., Armstrong W.M., Measurement of intracellular chloride activity in mouse liver slices with microelectrodes, *Biochim. Biophys. Acta.*, **903**, 56 (1987).
14. Li A.P., Human hepatocytes: isolation, cryopreservation and applications in drug development, *Chemico-biological interactions.*, **168**, 16 (2007).
15. Sanchez-Gutierrez J.C., Modulation of gluconeogenesis by epinephrine in hepatocytes isolated from genetically obese (fa/fa) Zucker rats, *Arch. Biochem. Biophys.*, **373**, 249 (2000).
16. Mitchell F.M., Heasley L.E., Qian N.-X., Differential modulation of bombesin-stimulated phospholipase C and mitogen-activated protein kinase activity d-Arg, d-Phe, D-Trp, Leu Substance P, *American society for Biochemistry and molecular biology, inc.*, **210**, 8623 (1995).
17. Koukoui O., Boucherie S., Sezan A., Effects of the prostaglandins PGF₂ and PGE₂ on calcium signaling in rat hepatocyte doublets, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **290**, G66 (2006).
18. Sils D., Rodgers S.E., Lloyd J.V., Inhibition of platelet aggregation and thromboxane production by low concentrations of aspirin in vitro, *Clin. Sci.*, **74**, 491 (1988).
19. Boyer J.L., Nathanson M.H., Bile formation, *Shiff's diseases of the liver*, edited by Schiff E.R., Sorrell M.F., Maddrey W.C. (Lippincott-Raven, Philadelphia PA, 1999), 119.

Поступила в редакцию 25.01.2014 г.