

РОЗДІЛ IV

Фізіологія людини і тварин

УДК 612,35:616.36

Ірина Чернуха,
Євдокія Решетнік,
Станіслав Весельський,
Микола Макарчук

Співвідношення основних фракцій ліпідів у жовчі щурів при дії тестостерону

У гострих дослідах на щурах-самцях із канюльованою жовчною протокою, які перебували під тіопента-ловим наркозом (60 мг/кг), встановлено, що ефективність дії внутрішньопортально введеного тестостерону пропіонату (0,7 мг/кг) проявляється поступово й тільки через 2–2,5 год реєструються достовірні суттєві зміни у співвідношенні основних фракцій ліпідів у жовчі піддослідних тварин, порівняно з контролем. У зв'язку з широким застосуванням препарату тестостерону пропіонату та з огляду на виявлені його ефекти на ліпідний склад жовчі при одноразовому внутрішньопортальному введенні доцільно дослідити вплив курсового застосування цього препарату на характеристики зовнішньосекреторної функції печінки.

Ключові слова: тестостерон, жовч, ліпіди, печінка.

Постановка наукової проблеми та її значення. Аналіз досліджень цієї проблеми. Хворобами цивілізації вважаються надлишкова маса тіла, високий кров'яний тиск, атеросклероз, цукровий діабет, хвороби печінки, тощо. Усі ці патології тією чи іншою мірою пов'язані з порушенням ліпідного обміну [1]. Як вважають, одним із вагомих факторів, котрий, впливаючи на метаболізм ліпідів, сприяє розвитку атеросклерозу, є низький рівень тестостерону в організмі. А печінка – найважливіший орган для нормального метаболізму холестеролу та в її клітинах функціонують ключові ферменти, тісно пов'язані з холестероловим гомеостазом [2].

У чоловіків і жінок тестостерон є основним біологічно активним андрогеном. Класичний шлях дії андрогенів передбачає зв'язування з андрогенними рецепторами, які містяться практично у всіх клітинах організму. У чоловіків фізіологічна активація андрогенних рецепторів у центральній нервовій системі пригнічує споживання їжі, підвищує витрати енергії та знижує масу тіла. Крім того, активація андрогенних рецепторів поліпшує гомеостаз глюкози, запобігає стеатозові печінки, посилює чутливість скелетних м'язів до інсуліну, знижує ліпогенез у білій жировій тканині з одночасним зниженням її маси у внутрішніх органах та призводить до зниження синтезу адипонектину й лептину. Роль андрогенних рецепторів в енергетичному обміні в жінок докладно не охарактеризовано, хоча й повідомляється, що в частини жінок із синдромом повної нечутливості до андрогенів загальна жирова маса організму підвищена, порівняно як із чоловіками, так і з жінками контрольних груп із поправками на вік [3, 4].

Ліпіди становлять до 1,5 % маси печінки здорової людини. Це зумовлене надходженням ліпопротеїнів та вільних жирних кислот із крові й синтезом ліпідів безпосередньо в клітинах печінки. Транзиторне підвищення вмісту ліпідів у цитоплазмі гепатоцитів у 2–5 разів може відбуватись у фізіологічних умовах після вживання жирної їжі та алкоголю, але через 2–3 доби в умовах дотримання дієти вміст ліпідів знижується до норми. При тривалому підвищенні рівня ліпідів у печінці в концентрації понад 5 % запускаються процеси, що зумовлюють розвиток стеатозу печінки (жирової хвороби печінки). Існує низка факторів, що сприяють накопиченню ліпідів печінкою. Серед них, наприклад, – зниження рівня тестостерону та гормону росту в крові [5]. Порушення метаболічних процесів і перебігу імунних та запальних реакцій, а також окислювальний стрес й апоптоз можуть призводити до збільшення жирової дистрофії печінки, залежно від рівня тестостерону в організмі [2].

© Чернуха І., Решетнік Є., Весельський С., Макарчук М., 2017

Окрім значної ролі андрогенів у патогенезі жирового переродження печінки, їм властива здатність регулювати жовчоутворювальну функцію. Синтетичний андроген, метилтестостерон, викликав зменшення секреції жовчі й жовчних кислот, а також збільшення секреції холестеролу до жовчі. Ці дані пояснюють, зокрема, як метилтестостерон інтенсифікує утворення холестеринових жовчних каменів у самок [6].

Секреція ліпідів у жовч є одним зі шляхів виведення надлишку холестеролу з організму. У цілому жовч відіграє важливу роль у розщепленні та всмоктуванні харчового жиру в шлунково-кишковому тракті через утворення складних міцел жовчних кислот із фосфоліпідами та холестеролом жовчі. Окрім того, відомий також цитопротекторний ефект біліарних ліпідів при ураженні гепатоцитів та холангіоцитів жовчними кислотами [7]. Холестерол і фосфоліпіди (98 % – фосфатидилхолін) становлять ліпідний комплекс жовчі. У нормальній жовчі людини та інших ссавців холестерол перебуває в солюбілізованому стані, цьому сприяють жовчні кислоти (холева, деоксихолева та хенодеоксихолева кислоти), а також фосфоліпіди (лецитин – фосфатидилхолін), які утворюють із холестеролом спеціальні комплекси, що називаються міцелами. У випадку зниження концентрації в жовчі цих компонентів створюються умови для випадання холестеролу в осад і його кристалізації [8]. Отже, оцінити вплив андрогенів, зокрема тестостерону, на жовчосекреторну функцію й таку важливу складову частину жовчоутворення, як секреція ліпідів, можна, вивчивши ефекти гормону на вміст різних ліпідних компонентів жовчі та їх співвідношення в печінковому секреті.

Мета роботи – дослідити вплив тестостерону на вміст ліпідів у жовчі самців щурів.

Методика. Дослідження проведено на білих щурах-самцях масою 0,18–0,23 кг. Під час гострих дослідів тваринам вводили як наркоз тіопентал натрію 60 мг/кг, згодом канюлювали жовчну протоку й після відбору першої півгодинної проби (вихідний рівень) тваринам вводили внутрішньопортально тестостерон пропіонат 0,7 мг/кг і збирали наступні п'ять півгодинних проб печінкового секрету. Усі експерименти проводили з дотриманням вимог Європейської конвенції із захисту хребетних тварин та Закону України № 3447 IV «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Важливі компоненти жовчі ссавців – ліпіди, які відіграють ключову роль у формуванні її колоїдної та міцелярної структури, тому в кожній відібраній пробі жовчі методом тонкошарової хроматографії, удосконаленим у нашій лабораторії, визначали вміст ліпідів, таких як фосфоліпіди, холестерол, вільні жирні кислоти, тригліцериди, етери холестеролу [9].

Статистичну обробку результатів проводили з використанням пакета Statistica 7.0 (Stat Soft, США) з урахуванням критерію t-Ст'юдента. Нормальність розподілу даних оцінювали за допомогою тесту Шапіро-Уїлка. Показники концентрації окремих ліпідів у жовчі після введення гормону порівнювали з вихідним значенням (уміст ліпідної фракції в жовчі, зібраній перед введенням тестостерону пропіонату впродовж першої півгодини гострого експерименту), а також із показниками концентрації ліпідів жовчі самців щурів контрольної групи. Статистично значущими вважали відмінності при $p \leq 0,05$ [10, 11].

Виклад основного матеріалу й обґрунтування отриманих результатів дослідження. На різних етапах гострого тригодинного експерименту в контрольних щурах із канюльованою жовчною протокою характеристики ліпідного складу отриманої жовчі змінюються поступово й різноспрямовано, порівняно з їх рівнем у першій вихідній півгодинній пробі. Зокрема, на початковому етапі контрольного дослідження, коли після розриву ентерогепатичної циркуляції низки органічних речовин, ще простежуємо зворотне надходження жовчних кислот із кишечника, концентрація фосфоліпідів, холестеролу та його ефірів у жовчі щурів поступово помірно зростає (табл. 1). Потрібно зазначити, що на завершальних етапах експерименту рівень цих метаболітів у жовчі лишається більш високим, ніж у вихідній пробі, та підтримується переважно безпосереднім їх біосинтезом у клітинах печінки. Водночас зміни концентрацій вільних жирних кислот і тригліцеридів у жовчі контрольних тварин у ході експерименту мають певною мірою протилежний і хвилеподібний характер. Так, на початковому етапі дослідження в другій півгодинній пробі жовчі концентрація вільних жирних кислот зростає на 32,3 %, а тригліцеридів – на 23,2 %, порівняно з вихідним рівнем. У наступних півгодинних зразках спостерігаємо різнонаправлені коливання рівня даних метаболітів у жовчі контрольних щурів і на завершальному етапі дослідження в шостій півгодинній пробі їх концентрація виявляється значно нижчою, порівняно з вихідним рівнем (табл. 1).

Внутрішньопортальне введення тестостерону піддослідним щурам вносить вагомі корективи в характер змін рівня метаболітів ліпідного обміну в жовчі на завершальних етапах, тобто в 5–6 півгодинних проміжках гострого експерименту (табл. 1).

На початковому ж етапі дослідження динаміка змін у ліпідному складі жовчі від піддослідних щурів майже повністю збігається з характером цих змін у жовчі контрольних тварин, котре виявилось в більшості досліджуваних показників у другій півгодинній пробі після введення фізіологічного розчину в контролі чи апробованої дози тестостерону в досліді. Зокрема, концентрація фосфоліпідів, вільного холестеролу й особливо його етерів відчутно зростає в другій півгодинній пробі жовчі, яка зібрана після введення препарату.

На завершальних етапах дослідження в п'ятій та особливо в останній (шостій) півгодинній пробі жовчі концентрація фосфоліпідів знижується на 20,31 % ($p < 0,01$) від вихідного рівня й на 25,02 % ($p < 0,01$), порівняно з контролем. Що стосується холестеролу жовчі, то через дві-дві з половиною години після внутрішньопортального введення тестостерону пропіонату самцям щурів спостерігається суттєве зниження його концентрації в печінковому секреті як порівняно з вихідним рівнем (на 23,87 % ($p < 0,01$) менша в останній, шостій, пробі жовчі), так і щодо контролю (на 23,57 % ($p < 0,001$) менша в останній (шостій) пробі жовчі). Отже, застосований нами гормональний препарат викликає суттєве зменшення надходження вільного холестеролу в жовч самців щурів.

Етерифікована форма холестеролу, як зазначалося вище, одразу після введення препарату інтенсивніше надходить у жовчні каналці. Але в шостій пробі жовчі кількість етерів холестеролу знижується, порівняно з вихідним рівнем, на 14,62 % ($p < 0,05$), а порівняно з показниками секрету тварин контрольної групи – на 35,65 % ($p < 0,001$) (табл. 1).

Таблиця 1

Концентрація ліпідів (мг %) у жовчі самців щурів при дії тестостерону пропіонату (0,7 мг/кг), ($M \pm SD$, $n=12$)

Проба жовчі	Серія	Фракції ліпідів жовчі				
		фосфоліпіди	холестерол	вільні жирні кислоти	тригліцериди	етери холестеролу
1	контроль	69,05±7,66	23,87±2,52	13,55±2,87	2,50±0,47	2,98±0,50
	тестостерон	68,80±8,70	25,85±3,05	16,52±3,36	2,20±0,39	2,60±0,47
внутрішньопортальне введення самцям фізіологічного розчину або тестостерону пропіонату						
2	контроль	77,65±9,24	28,85±4,24	17,93±2,13	2,03±0,52	3,53±0,55
	тестостерон	76,40±9,49*	28,37±2,27	18,08±2,84	1,82±0,42**	3,13±0,47**
3	контроль	78,87±9,27	28,58±3,23	14,20±1,61	2,00±0,48	3,62±0,54
	тестостерон	68,02±7,97	25,93±2,46	17,20±4,99	1,90±0,42**	3,15±0,52**
4	контроль	77,95±8,53	28,05±2,67	13,35±1,18	2,17±0,47	3,50±0,43
	тестостерон	70,28±6,13	26,97±1,98	15,77±3,27	1,72±0,38**	3,02±0,34
5	контроль	74,93±9,44	26,87±2,47	14,68±1,25	2,30±0,38	3,48±0,56
	тестостерон	57,23±6,44 ^{###}	20,62±2,85* [#]	10,43±1,60* ^{###}	2,60±0,39	2,37±0,49 ^{##}
6	контроль	73,13±7,44	25,75±2,02	11,6±1,63	2,07±0,35	3,45±0,55
	тестостерон	54,83±5,46* ^{###}	19,68±1,49* ^{###}	9,95±2,66**	2,70±0,33* [#]	2,22±0,45* ^{###}

Примітки. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, порівняно із вихідним рівнем; # $p < 0,01$, ## $p < 0,001$, порівняно з показниками контрольної групи тварин; 2–6 – півгодинні проби після введення тестостерону пропіонату.

Уміст вільних жирних кислот у зразках жовчі, зібраних через 2 год після внутрішньопортального введення тестостерону пропіонату, зменшується відносно вихідного рівня на 36,86 % ($p < 0,001$) і на 28,95 % ($p < 0,001$), порівняно з показниками жовчі контрольної групи тварин. У наступній (останній) півгодинній пробі жовчі концентрація вільних жирних кислот зменшується на 39,77 % ($p < 0,001$) відносно вихідного рівня (табл. 1, рис. 1).

Як уже зазначалося вище, одразу після внутрішньопортального введення тестостерону пропіонату концентрація тригліцеридів у жовчі суттєво зменшується щодо вихідного рівня (табл. 1). Але в останній (шостій) пробі жовчі (зібраний в останній півгодинний проміжок гострого дослідження, тобто через 2–2,5 год після введення гормонального препарату) уміст тригліцеридів збільшується на 22,73 % ($p < 0,01$), порівняно з вихідним рівнем, і на 30,44 % ($p < 0,01$) відносно показників контрольної групи досліджень (табл. 1, рис. 1). Можемо припустити, що посилення виведення тригліцеридів до жовчі під впливом тестостерону пропіонату може запобігати їх накопиченню в клітинах печінки.

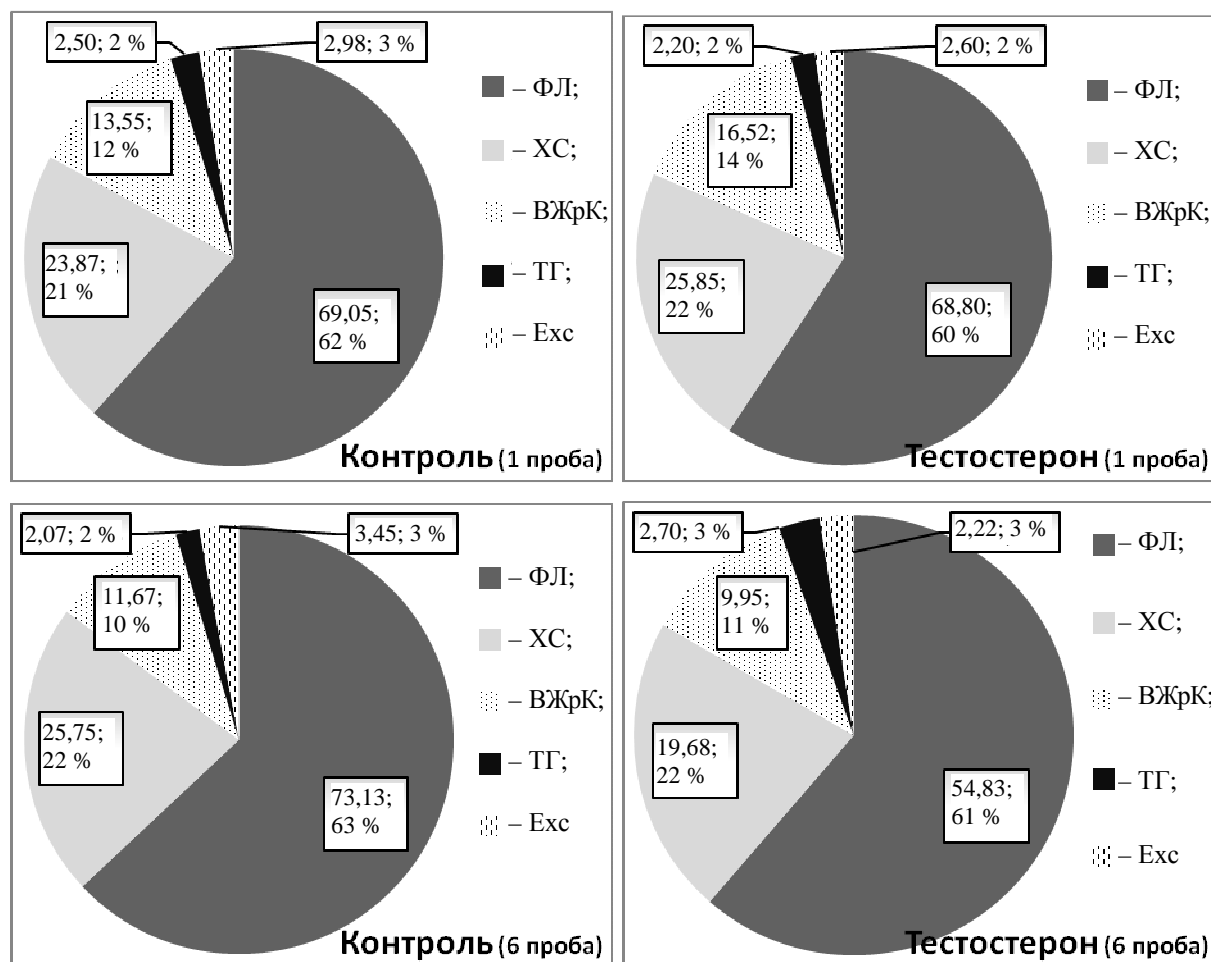


Рис. 1. Співвідношення ліпідів у 1-й та 6-й пробах жовчі самців щурів у контролі та при дії тестостерону пропіонату (0,7 мг/кг); на діаграмі концентрації ліпідів виражені в $M \pm SD$ (мг %); указано для кожної ліпідної фракції % від загального вмісту ліпідів; $n=12$

Отже, можемо відзначити, що одноразове внутрішньопортальне введення тестостерону пропіонату веде до змін вмісту більшості визначених нами фракцій ліпідів жовчі, що може свідчити про перерозподіл фосfolіпідів, холестеролу і його етерів та вільних жирних кислот і тригліцеридів під впливом гормонального препарату як у тканині печінки, так і в організмі в цілому.

Висновки та перспективи подальшого дослідження. Ефективність дії внутрішньопортально введеної апробованої дози тестостерону пропіонату на досліджувані характеристики зовнішньосекреторної функції печінки самців щурів проявляється поступово й лише через 2–2,5 год реєструються достовірні зміни у співвідношенні основних фракцій ліпідів у жовчі піддослідних тварин, порівняно з контролем. У зв'язку з широким застосуванням препарату тестостерону пропіонату та з огляду на виявлені його ефекти на ліпідний склад жовчі при одноразовому внутрішньопортальному введенні доцільно дослідити вплив курсового застосування цього препарату на характеристики зовнішньосекреторної функції печінки.

Джерела та література

1. Радзівська І. Г. Холестерол як біологічно активний компонент жирів тваринного походження / І. Г. Радзівська, О. П. Мельник, А. П. Белінська // Вісник НТУ «ХП». – 2014. – № 7 (1050). – С. 116–120.
2. Cai Z. Effect of testosterone deficiency on cholesterol metabolism in pigs fed a high-fat and high-cholesterol diet / Z. Cai, H. Xi, Y. Pan [et al.] // Lipids in Health and Disease. – 2015. – V 14, № 1. – P. 14–18.
3. Рибак О. С. Вплив андрогенного дисбалансу на ліпідний обмін і показники імунної реактивності жінок, хворих на стабільну стенокардію в поєднанні з цукровим діабетом 2-го типу / О. С. Рибак // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2011. – № 2. – С. 75–79.

4. Корпачев В. В. Асоціація алейних варіантів гена рецептора андрогенів (за кількістю CAG-повторів) з андрогензалежними гормонально-метаболічними показниками організму людини / В. В. Корпачев, С. В. Мельниченко, Р. Г. Лукашова // Український біохімічний журнал. – 2015. – № 2 (87). – С. 26–40.
5. Ягмур В. Б. Неалкогольна жирова хвороба печінки: сучасний погляд на патогенез, діагностику та лікування / В. Б. Ягмур // Гастроентерологія. – 2013. – № 3 (49). – С. 138–147.
6. Ohshima A. Effect of a synthetic androgen on biliary lipid secretion in the female hamster / A. Ohshima, V. Cohen, N. Ayyad [et al.] // *Lipids*. – 1996. – V 31(8). – P. 879–886.
7. Тяжка О. В. Значення біохімічного дослідження жовчі як індикатора порушень метаболізму жирних кислот, фосфоліпідів та холестерину в дітей з холелітазом / О. В. Тяжка, В. В. Сміщук, Т. С. Брюзгіна // Перинатологія і педіатрія. – 2015. – №1 (61). – С. 63–67.
8. Мороз О. Ф. Зміни співвідношення ліпідних компонентів жовчі шурів при застосуванні нейропептиду бомбезину / О. Ф. Мороз, С. П. Весельський, Т. П. Лященко [та ін.] // Укр. біох. журн. – 2009. – Т. 81 (1). – С. 52–58.
9. Патент 99031324 Україна, МБН А61В5/14. Спосіб підготовки проб біорідин для визначення вмісту речовин ліпідної природи / С. П. Весельський, П. С. Лященко, С. І. Костенко, З. А. Горенко, Л. Ф. Куровська ; заявник і патентовласник КНУ імені Тараса Шевченка. – № 33564 А ; заявл. 05.10.1999 ; опубл. 15.02.2001. – Бюл. № 1.
10. Філімонова Н. Б. Статистичний аналіз даних відповідно до засад науково обгрунтованої медицини. Первинний аналіз кількісних даних, подання результатів експерименту / Н. Б. Філімонова, І. О. Філь, Т. С. Михайлова // Медицина залізничного транспорту України. – 2004. – № 4. – С. 30–38.
11. Філімонова Н. Б. Статистичний аналіз даних відповідно до засад науково обгрунтованої медицини. Порівняння груп за кількісними показниками / Н. Б. Філімонова, І. О. Філь // Медицина транспорту України. – 2005. – № 4. – С. 86–93.

Чернуха Ирина, Решетник Евдокия, Нурищенко Наталья, Весельський Станіслав. Соотношение основных фракций липидов в желчи крыс при действии тестостерона. В острых опытах на находящихся под тиопенталовым наркозом (5 мг / 100 г) крысах-самцах с канюлированным желчным протоком установлено, что эффективность действия внутрипортально введенного тестостерона пропионата (0,7 мг/кг) проявляется постепенно и только через 2–2,5 часа регистрируются достоверные существенные изменения в соотношении основных фракций липидов в желчи этих животных, по сравнению с контролем. В связи с широким применением препарата тестостерона пропионата и беря во внимание выявленные его эффекты на липидный состав желчи при однократном внутрипортальном введении целесообразно исследовать влияние курсового применения этого препарата на характеристики внешнесекреторной функции печени.

Ключевые слова: тестостерон, желчь, липиды, печень.

Chernuha Iryna, Reshetnik Evdokia, Nurishchenko Natalya, Veselsky Stanislav. The Ration of the Major lipid Fractions in the Bile of Rats with Testosterone Action. It is known that androgens play a significant role in the pathogenesis of hepatic steatosis and in the regulation of lipid metabolism and bile secretory function of liver. Lipids are important components of mammalian bile. Bile lipids play a substantial role in the formation of colloidal and micellar structure of the bile. Bile lipids may exhibit cytoprotective properties in the liver damage conditions. Evaluate the influence of androgens on bile secretion function and such an important component of bile formation as lipids secretion can be studied the effects of the hormone on the content of various lipid components in bile. The aim of our study is to investigate the effect of testosterone on lipids ratio in bile male rats.

The study was conducted on white male rats weighing 0,18–0,23 kg. In acute experiments, the animals were administered as an anesthetic thiopental sodium 60 mg / kg, then cannulated bile duct and, after selection the first half-hour sample of bile, injected with testosterone propionate (0,7 mg / kg, intraportal) and collected the next five half-hour samples of bile. The concentrations of the phospholipids, cholesterol, free fatty acids, triglycerides, cholesterol esters in the bile samples were determined by TLC. Statistical analysis of the results was performed using the package Statistica 7,0 (Stat Soft, USA) taking into account the criteria t-Student. Normality of data distribution was evaluated using test Shapiro-Wilk's W test. A statistically significant difference was considered at $p \leq 0,05$. In acute experiments on male rats it was found that 2–2,5 hours after the administration of testosterone propionate (0,7 mg/kg, intraportal) significantly are reduced the concentration of phospholipids (at 25,02 % ($p < 0,01$) compared to control), cholesterol (at 23,57 % ($p < 0,001$) compared to control) and its ethers (at 35,65 % ($p < 0,001$) compared to control) and free fatty acids (28,95 % ($p < 0,0001$) compared to control samples). In these male rats bile samples the concentration of triglycerides is significantly higher (at 22,73 % ($p < 0,01$)) than in the control.

Efficiency of the used testosterone propionate dose at the exocrine function of male rat liver appeared gradually and only after 2–2,5 hours were found significant changes in the ratio of the major bile lipid fractions. Due to the widespread use of the testosterone propionate and given the detected its effects on lipid composition of bile after a single administration advisable to investigate the effect of a course of this hormone on the lipid secretory function of the liver.

Key words: testosterone, bile, lipids, liver.

Стаття надійшла до редколегії
21.03.2017 р.