

ЛЕЦИТИН И ЖЕНСКИЕ ПОЛОВЫЕ ГОРМОНЫ

Методическое пособие

Днепро

2017

ГУ «Днепропетровская медицинская академия Министерства
здравоохранения Украины»

НИИ медико-биологических проблем ГУ «ДМА МЗ Украины»

А.Л. Дроздов, Ю. В. Силкина, О. М. Лозовик, А.А. Марзан

ЛЕЦИТИН И ЖЕНСКИЕ ПОЛОВЫЕ

ГОРМОНЫ

Методическое пособие

Днепро

2017

УДК 612.111:612.621.31

ББК 28.86

Авторы: А.Л. Дроздов, д-р мед. наук, проф., дир. НИИ медико-биологических проблем ГУ «ДМА МЗ Украины»; Ю. В. Силкина, д-р мед. наук, профессор; О. М. Лозовик; А.А. Марзан.

Лецитин и женские половые гормоны.

Днепропетровск: ЧМП «Экономика». 2017. - 80 с.

Рекомендовано к печати Ученым советом ГУ «ДМА МЗ Украины» (протокол № 7 от 23 февраля 2017 г.).

Рецензент: Член-корр. НАМН Украины, проф., дир. ГУ «НИИ фармакологии и токсикологии» НАМН Украины Бухтиярова Т. А.;

Доктор биол. наук, проф., зав. Кафедрой экологии и охраны окружающей среды Днепр. госуд. аграрно-эконом. ун.-та, В. И. Чёрная.

This manual is a finalization of a small cycle of studies dedicated to analysis of the effect of soy (LS) and sunflower (LSF) lecithin on concentration of steroid hormones in blood serum of white rats in terms of a 2-week intoxication with tetrachloromethane (CCl₄, TCl M). The use of CCl₄ results in a raise of hydrocortisone and estradiol level (especially on day 3 of the observations), along with progesterone and, especially, testosterone depletion of serum pool. Such a shift in the concentration of steroid hormones in blood corresponded to increase in the diameter and area of the endocrinocyte nuclei of zona fasciculata and, especially, zona reticularis of adrenal cortex, combined with a decrease in width and destruction of this zone.

The use of lecithins has a relatively weak effect on morphological indexes of adrenal cortex endocrinocytes' nuclei compared to tetrachloromethane. Lecithin of soya as well as sunflower, does not block a tendency to increase of diameter and area of nuclei in all areas of adrenal cortex. However, both LS and LSF significantly reduce DN of zona fasciculata and zona reticularis on day 3 of the experiment compared to the effects of CCl₄.

Significant differences were found in the effects of LS and LSF on the concentration of steroid hormones in blood serum of rats at intoxication with CCl₄. They include the ability of LS to increase hydrocortisone level, probably due to the blockade of synthesis of all groups of sex steroids, especially expressed on day 3 of the observations. LSF effects were characterized by stabilization of hydrocortisone level, activation of testosterone formation, especially on 7-14 days, probably due to depletion of progesterone pool and blockade of estradiol synthesis on day 14 of the experiment.

ISBN 978-966-2637-49-

ББК 28.86

© Дроздов А. Л., Силкина Ю. В.,
Лозовик О. М., Марзан А.А., 2017

Оглавление

1. Краткая история открытия женских половых гормонов.....	6
2. Биосинтез прогестерона и эстрогенов.....	7
3. Содержание эстрогенов и прогестерона в крови.....	29
4. Краткие данные о лецитине и его биологических свойствах....	32
5. Влияние лецитина на содержание прогестерона и эстрадиола в крови крыс в условиях интоксикации ЧХУ.....	44
5.1. Влияние лецитина на содержание прогестерона в крови крыс при интоксикации CCl_4	46
5.2. Изменения концентрации эстрадиола в сыворотке крови при подостром введении ЧХУ.....	51
5.3. Влияние лецитина на морфометрические показатели сетчатой зоны коры надпочечников.....	54
6. Сравнительная характеристика воздействия лецитина в условиях интоксикации CCl_4 на различные группы стероидных гормонов.....	62
7. Список литературы для дополнительного изучения.....	78

Список сокращений

- ДЯ - диаметр ядер;
- ДФИ – дифосфоинозитол;
- Л - лецитин (ы);
- ЛХАТ - лецитин-холин-ацетилтрансфераза;
- ЛП - липопротеиды;
- ЛПВП, α -ЛП, HDL - ЛП высокой плотности;
- ЛГ - лютеинизирующий гормон;
- ЛФХ – лизофосфатидилхолин;
- КН - кора надпочечников;
- МФИ – монофосфоинозитол;
- ПЛ, (LSF) - лецитин подсолнечника;
- СЗКН – сетчатая зона коры надпочечников;
- СФМ – сфингомиелин;
- СЛ, (LS) – лецитин сои;
- Т - тестостерон;
- ТФИ – трифосфоинозитол;
- ФХ, РС - фосфатидилхолин;
- ФЛ - фосфолипиды;
- ХМ - хиломикроны;
- Х - холестерин;
- Х α -ЛП или Х β -ЛП - холестерин α - или β - липопротеидов;
- ЦНС - центральна нервова система;
- ЧХУ, ССl₄ - тетрахлорметан (четырёххлористый углерод).

1. Краткая история открытия женских половых гормонов

Важную роль в выделении эстрогенных гормонов сыграл предложенный в 1923 г. Алленом и Дойзи метод их тестирования по изменению морфологической структуры влагалищных мазков у кастрированных грызунов. В 1927 г. Ашхейм и Цондек показали, что в моче беременных женщин содержится значительное количество эстрогенов. В 1929 г. кристаллический эстрогенный гормон (эстрон) из этого источника был получен двумя группами исследователей во главе с Дойзи (США) и Бутенандтом (Германия). Эстрон стал первым выделенным в кристаллическом виде стероидным гормоном.

В 1930 г. из мочи беременных женщин Маррианом был выделен еще один эстрогенный гормон (менее активный, чем эстрон) – эстриол. Было также показано, что ряд продуктов химического превращения эстрона превосходит его по биологической активности. Наиболее активным из них было дигидропроизводное эстрона – эстрадиол. Эти данные заставляли предположить, что, как и в случае андрогенов, экскретируемые эстрогенные гормоны могут быть не идентичны гормонам, вырабатываемым в самих половых железах. В 1935 г. Дойзи сообщил о выделении из яичников свиней высокоактивного кристаллического эстрогена, соответствующего по своей структуре эстрадиолу. Эстрон и эстриол также были найдены в растительных тканях.

Как известно, после разрыва фолликула на его месте в яичниках образуется желтое тело. В 1903 г. Френкелем было показано, что удаление желтого тела препятствует имплантации или прерывает уже начавшуюся беременность. В 1923 г. Корнер и

Аллен установили, что беременность у крольчих при их кастрации можно сохранить введением экстрактов желтого тела и предложили способ их тестирования. Поскольку в отличие от андрогенов и эстрогенов метаболиты гормона желтого тела, экскретирующиеся с мочой, являются совершенно неактивными, выделение гормона желтого тела должно было сразу осуществляться непосредственно из продуцирующей его ткани. В 1934 г. гормон желтого тела из яичников свиньи был получен в четырех лабораториях: Германии (Бутенандт; Слотта с сотрудниками), США (Аллен и Винтерштейнер) и Швейцарии (Гартман и Веттштейн). Структурная формула прогестерона, предложенная Слотта, была вскоре подтверждена частичным синтезом его молекулы.

2. Биосинтез эстрогенов и прогестерона

Взаимодействие половых гормонов (женских и андрогенов) оказывает выраженное воздействие (Табл. 1) на ряд существенных физиологических процессов на разных уровнях организации человеческого, начиная, безусловно, с репродуктивных функций (Рис.1).

Ведущую роль в биосинтезе женских половых гормонов в отсутствие беременности играют яичники. Значительно меньшую роль играет секреция эстрогенов и прогестерона надпочечниками. Биосинтез эстрогенов и прогестерона в яичниках представляет собой циклический процесс, отражающий как циклические изменения структуры самой железы, так и женских репродуктивных органов (Рис. 2).

Таблица 1. Основные биологические эффекты половых гормонов в физиологических условиях.

Эстрогены	Прогестерон	Андрогены
<i>Уровень организма</i>		
<ul style="list-style-type: none"> • Феминизирующее действие • Уменьшение содержания антиатерогенных фракций липидов • Сосудорасширяющее действие • Прокоагулянтное действие • Регуляция полового влечения 	<ul style="list-style-type: none"> • Термогенный эффект • Задержка жидкости и электролитов • Нивелирование позитивного действия эстрогенов на сердечно-сосудистую систему • Прокоагулянтное действие 	<ul style="list-style-type: none"> • Универсальный анаболический эффект • Инициация пубертантных изменений • Прокоагулянтное действие • Регуляция полового влечения
<i>Органный уровень</i>		
<ul style="list-style-type: none"> • Увеличение размеров матки, кровоснабжение половых органов • Сохранение костной массы 	<ul style="list-style-type: none"> • Развитие альвеол молочных желез • Сохранение костной массы (эффект менее выраженный, чем в эстрогенов) 	<ul style="list-style-type: none"> • Сохранение костной массы (эффект менее выраженный, чем в эстрогенов)
<i>Тканевой уровень</i>		
<ul style="list-style-type: none"> • Проплиферация эндометрия • Проплиферация железистого компонента молочных желез • Активное трофическое воздействие на слизистые оболочки половых органов и мочевыводящих путей 	<ul style="list-style-type: none"> • Изменение секреторной функции эндометрия после адекватной эстрогенной стимуляции или децидуализации 	<ul style="list-style-type: none"> • Влияние на эндометрий в физиологических условиях минимальное, при незначительном усилении влияния – атрофия, иногда – децидуализация • Стимуляция функции сальных желез и волосяных фолликулов
<i>Клеточный уровень</i>		
<ul style="list-style-type: none"> • Содействует пролиферации гранулезы под воздействием ФСГ • Усиливает митотическую активность клеток эндометрия 	<ul style="list-style-type: none"> • Тормозит митотическую активность эндометрия 	<ul style="list-style-type: none"> • Тормозит пролиферацию гранулезы под воздействием ФСГ

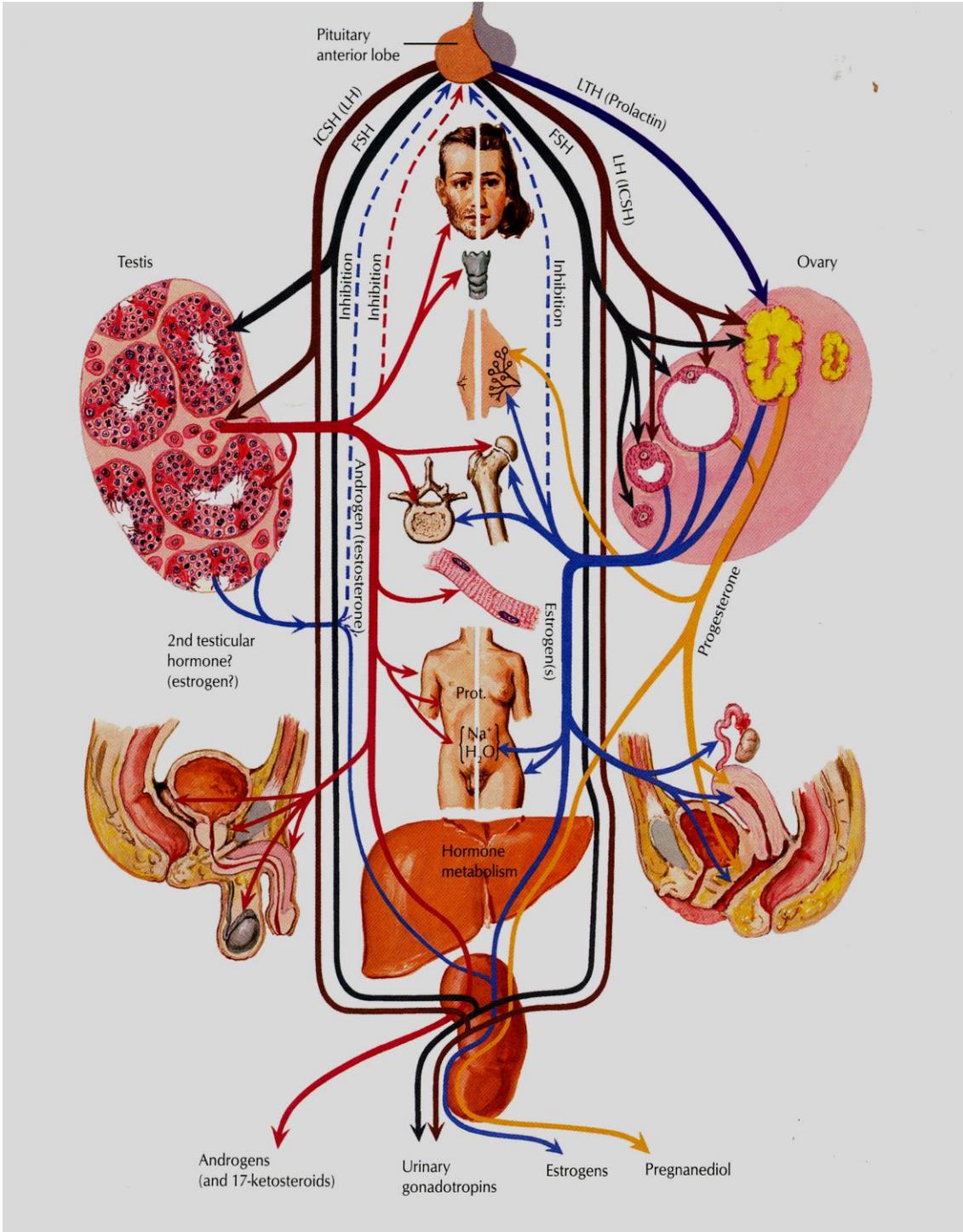


Рис. 1. Регуляторные механизмы образования и биологические эффекты половых гормонов (Robert B. Raffa, Scott M. Rawls, Elena Portyansky Beyzarov. Netter's Illustrated Pharmacology, 2005)

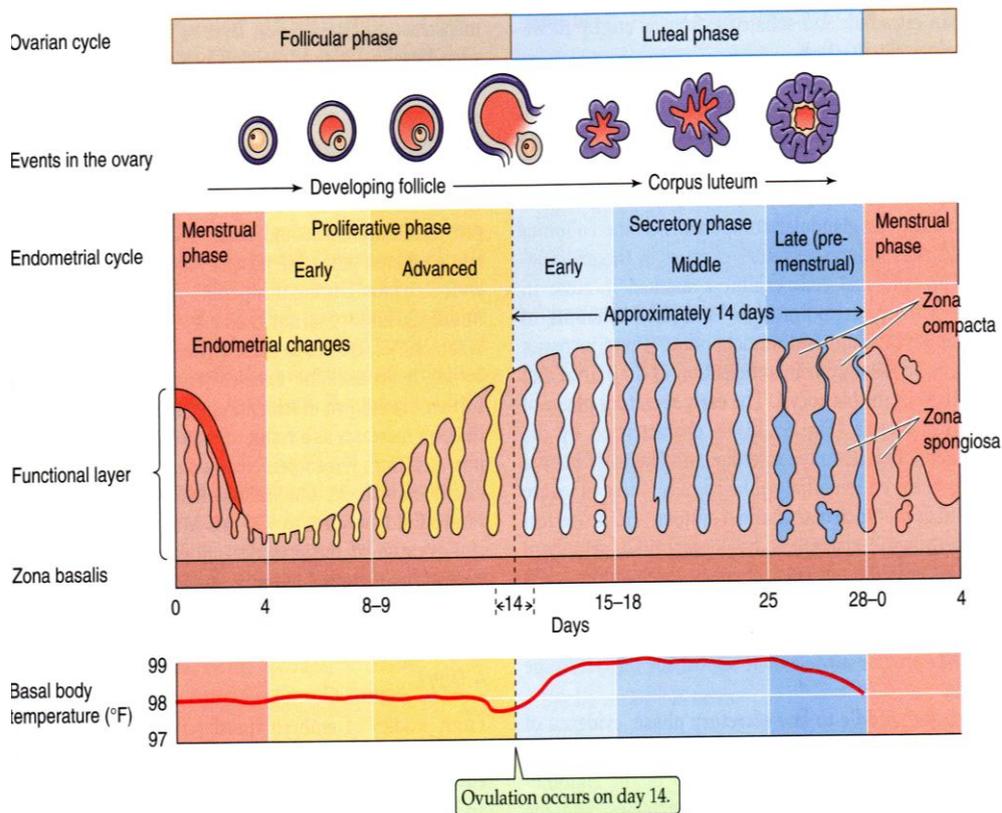


Рис. 2. Основные характеристики изменений в яичниках и эндометрии на этапах менструального цикла (Walter F. Boron, Emile L. Boulpaep. Medical physiology, second edition, 2009).

В первую (фолликулярную) фазу полового цикла основным структурным элементом яичника являются растущие фолликулы, заключающие в себе яйцеклетку, окруженную гранулезными клетками, базальной мембраной и тека-клетками (внутренними железистыми и наружными фиброзными) (Рис. 3), что привело к формированию двухклеточной теории синтеза половых стероидов в яичниках (Рис. 4).

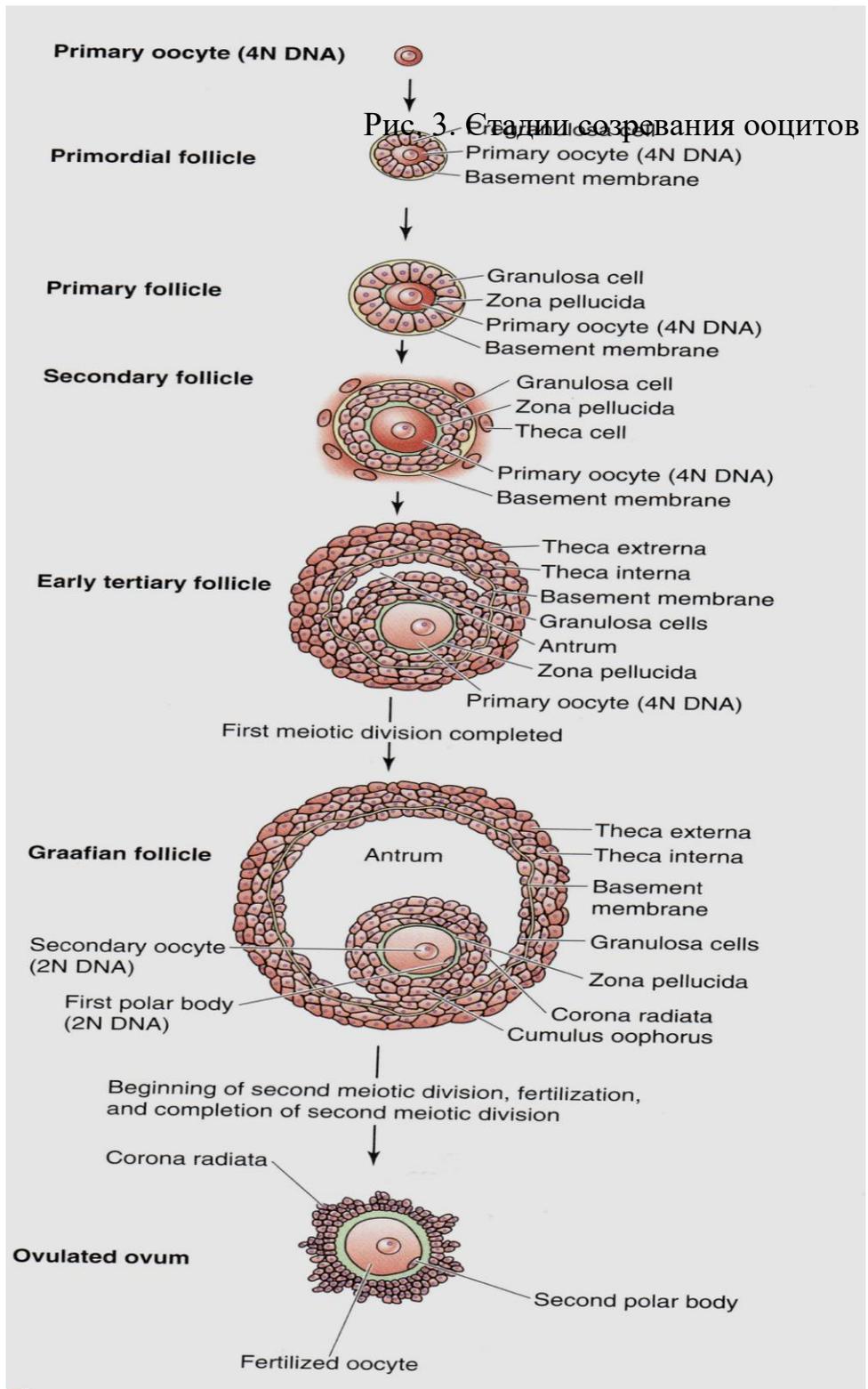


Рис. 3. Стадии созревания ооцитов (Walter F. Boron, Emile L. Boulpaep. Medical physiology, second edition, 2009)

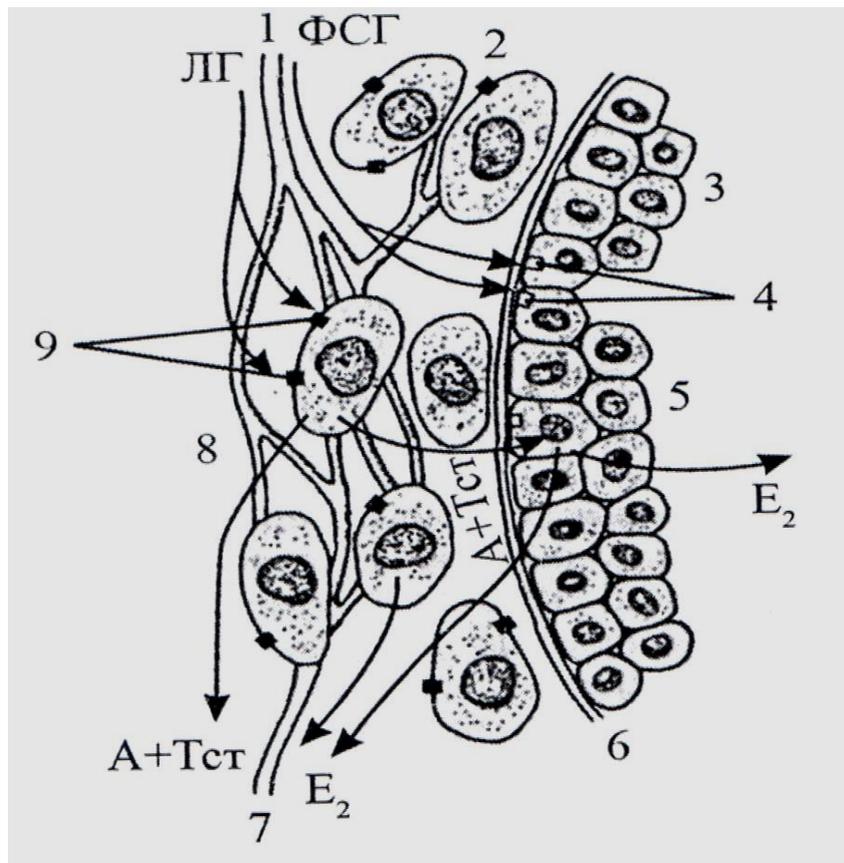


Рис. 4. Схема структурных основ двухклеточной теории синтеза половых стероидов в яичниках. $A+Tст$ – андростендион и тестостерон, которые образуются в клетках внутренней теки; E_2 – эстрадиол, который ароматизируется из андрогенов в гранулезе фолликула; 1 – яичниковая артерия; 2 – тека-клетки; 3 – клетки гранулезы; 4 – рецепторы ФСГ; 5 – фолликулярная жидкость; 6 – базальная мембрана; 7 – яичниковая вена; 8 – капиллярная сеть; 9 – рецепторы ЛГ (Запорожан В.М., Цегельский М.Р. Акушерство и гинекология, том 3, 2005)

В то время как тека-клетки хорошо васкуляризованы, гранулезные клетки в первую фазу цикла практически не имеют кровоснабжения. Во время овуляции кровеносные сосуды внутренних тека-клеток

прорываются через базальную мембрану. Гранулезные клетки начинают прорастать в кровяной сгусток, васкуляризируются и трансформируются в лютеиновые клетки, образуя отдельное анатомическое образование – желтое тело. В отсутствие беременности желтое тело регрессирует к началу следующего полового цикла.

Циклические структурные изменения яичника сопровождаются существенными изменениями в спектре секретируемых им стероидов (Рис. 5).

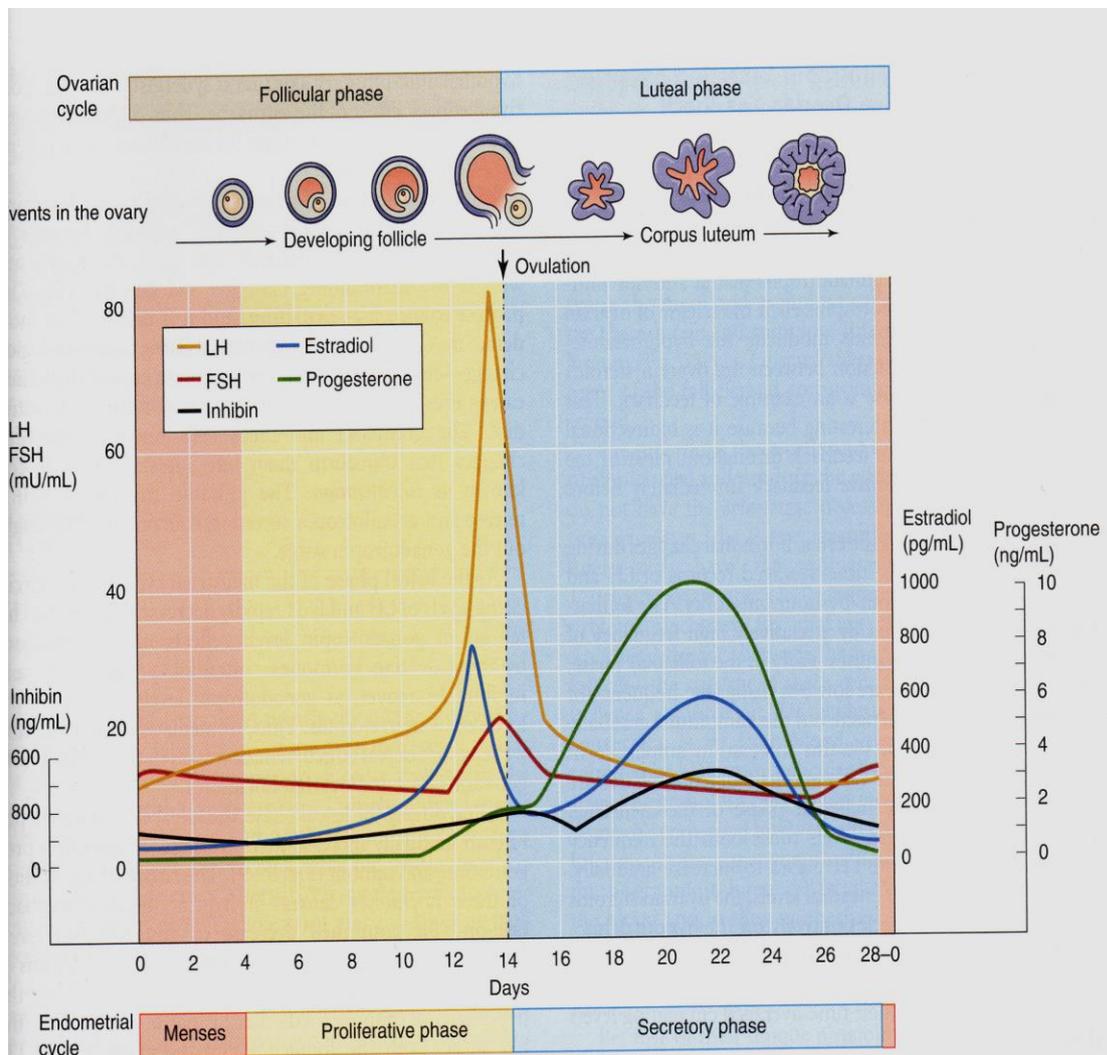


Рис. 5. Концентрация регуляторных и женских половых гормонов в крови на этапах менструального цикла (Walter F. Boron, Emile L. Boulpaep. Medical physiology, second edition, 2009)

Если в первую половину цикла основными секретируемыми стероидами яичника являются эстрогены, то во вторую половину цикла доминирует секреция прогестерона.

Первоначальные этапы биосинтеза эстрогенов проходят идентично соответствующим этапам биосинтеза андрогенов и кортикостероидов. В результате ароматизации тестостерона или Δ^4 -андростендиона образуются 17β -эстрадиол и эстрон (Рис. 6).

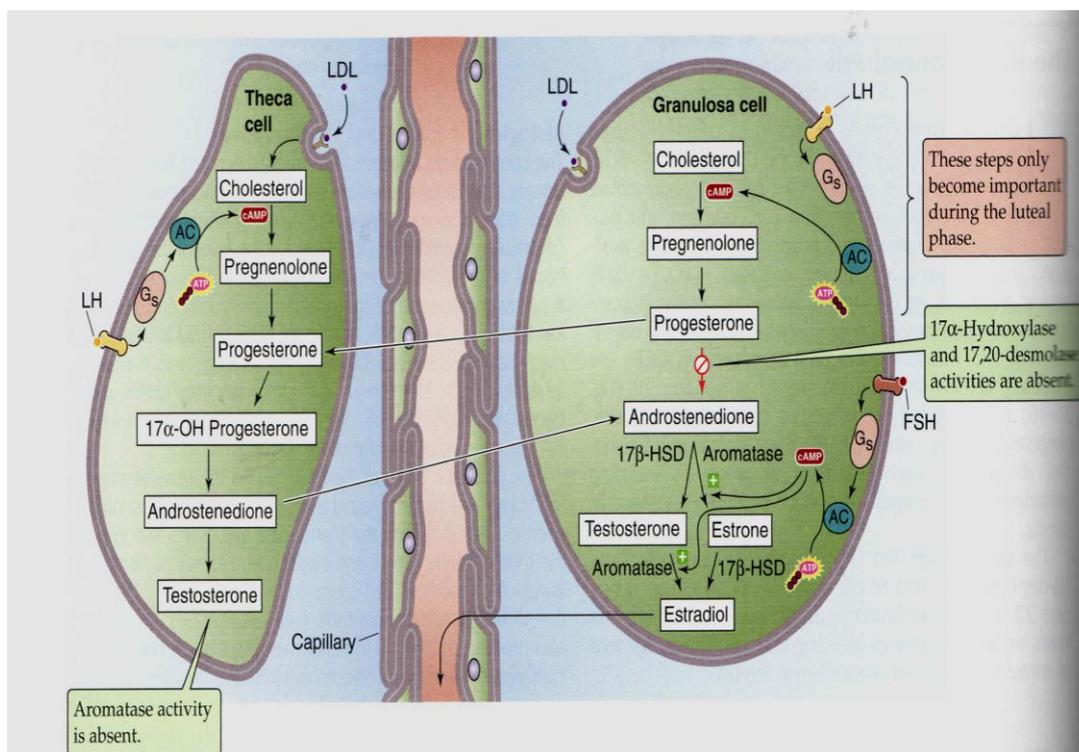


Рис. 6. Сравнительная характеристика путей биосинтеза и их регуляция для тестостерона и женских половых стероидов (Walter F. Boron, Emile L. Boulpaep. Medical physiology, second edition, 2009).

Ферментная система отщепления боковой цепи холестерина обнаруживается в митохондриях как фолликулов, так и в желтом теле. Конечным ферментом, катализирующим превращение холестерина в прегненолон, является цитохром P-450. Система отщепления боковой

цепи холестерина в яичниках, как и в надпочечниках (Рис. 7), требует участия НАДФН-зависимой флавопротеидной дегидрогеназы и O_2 и тормозится CO .

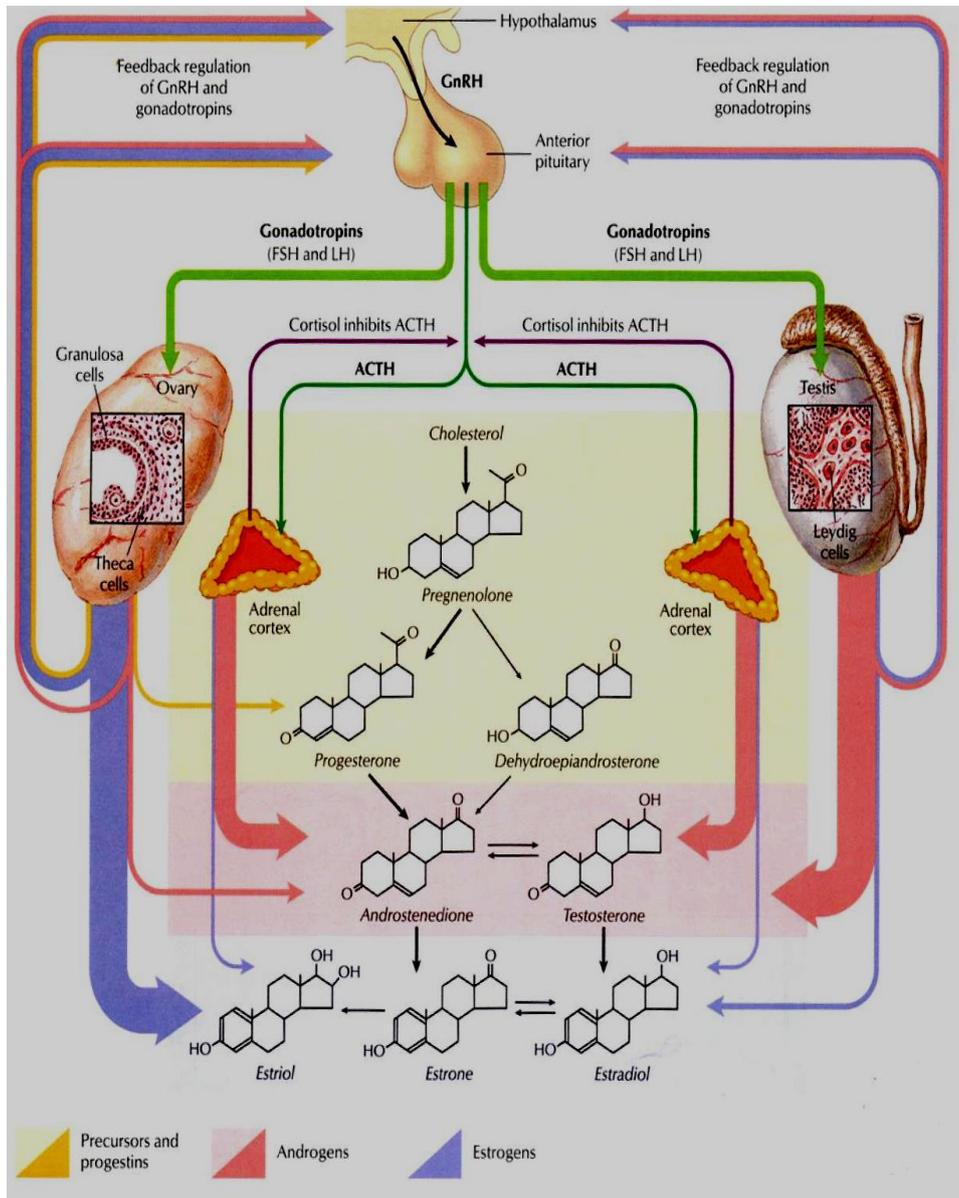


Рис. 7. Сравнительная характеристика путей биосинтеза и регуляторных влияний на них в коре надпочечников и половых железах (Robert B. Raffa, Scott M. Rawls, Elena Portyansky Beyzarov. Netter's Illustrated Pharmacology, 2005).

Компоненты пути транспорта электронов в митохондриях яичников и надпочечников также, по-видимому, идентичны. Характерно, однако, что в то время как содержание обычных цитохромов дыхательной цепи в митохондриях желтого тела сравнимо с таковым в надпочечниках и печени, содержание цитохрома Р-450 в митохондриях желтого тела составляет лишь 1/8, а содержание ферредоксин-подобного белка – 1/10 по сравнению с корой надпочечников. Хотя спектральные свойства цитохрома Р-450 митохондрий яичников сходны с характеристиками такового надпочечников, добавление к пигменту яичников дезоксикортикостерона не вызывает изменения его спектра по первому типу. Этот факт, по-видимому, отражает отсутствие в митохондриях яичника цитохрома Р-450 для реакций 11 β -гидроксилирования. Участвующий в отщеплении боковой цепи холестерина цитохром Р-450 в яичниках представляет практически все его содержание в митохондриях.

Непосредственным донором электронов для системы отщепления боковой цепи холестерина является внутримитохондриальный НАДФН. Окислительные и фосфорилирующие возможности митохондрий желтого тела аналогичны митохондриям других тканей. Восстановление

внутримитохондриального НАДФ в желтом теле осуществляется в основном в результате обратного транспорта электронов в сочетании с энергозависимой НАД - НАДФ-трансгидрогеназой.

Как и в других стероид-секретирующих железах, биосинтез эстрогенов со стадии прегненолона может проходить по двум путям:

а) Δ^4 -путь – через прогестерон, 17α -оксипрогестерон и андростендион и в) Δ^5 -путь – через 17 -оксипрегненолон, дегидроэпиандростерон, Δ^5 -андростендиол и тестостерон. В этих реакциях участвуют следующие ферменты: 17α -гидроксилаза, C_{17} - C_{20} – лиаза ($17,20$ -десмолаза), 17β -гидроксистероид дегидрогеназа и (Δ^5) - 3β -гидроксистероид дегидрогеназа с ароматазой ($\Delta^{5,4}$ – изомеразой). Реакции, катализируемые этими ферментами, протекают в основном в микросомах, но часть ферментов представлены в других субклеточных фракциях (в частности, в митохондриях и растворимой цитозольной фракции).

17α -гидроксилаза и C_{17} - C_{20} – лиаза требуют для своей активности НАДФН и молекулярный кислород и имеют в качестве терминальной оксидазы цитохром P-450. Акцептором водорода при 3β -оксистероиддегидрогеназной реакции является НАД; $\Delta^{5,4}$ – изомераза не требует какого-либо кофактора, хотя НАД стимулирует реакцию путем ускорения распада фермент-субстратного комплекса.

3 β -оксистероиддегидрогеназы также могут быть специфичными по отношению к различным субстратам. 17 β - оксистероиддегидрогеназа микросом использует в качестве донора водорода НАДФН и не требует для своей активности присутствия O₂.

Единственно обнаруженным отличием микросомальных ферментов стероидогенеза в яичниках является их локализация внутри микросомных субфракций. Если в надпочечниках и семенниках микросомальные ферменты стероидогенеза локализованы преимущественно в субфракции гладких микросом, то аналогичные ферменты яичников распределены поровну между гладкими мембранами и мембранами, несущими рибосомы.

Заключительным и уникальным этапом синтеза эстрогенов является ароматизация C₁₉-стероидов. Эта реакция катализируется ферментным комплексом (ароматаза) микросом. Промежуточным этапом при ароматизации нейтральных стероидов является гидроксирование в 19-м положении. 19-гидроксирование является лимитирующей реакцией всего процесса ароматизации. Для каждой из трех последовательных реакций (образование 19-оксиандростендиона, 19-кетоандростендиона и эстрона) установлена потребность в НАДФН и O₂. В опытах с микросомами плаценты человека обнаружено, что для превращения 1 М андростендиона в 1 М

эстрогена требуется 3 М НАДФН и 3 М O_2 . Таким образом, ароматизация вовлекает три оксидазные реакции смешанного типа.

Вопрос о том, какой фактор является ответственным за сдвиг в секреторной активности яичника с эстрогенов в фолликулярную фазу цикла на прогестерон в фазу желтого тела, не может считаться полностью выясненным. Известно, что гранулезные клетки имеют относительно слабую 17-гидроксилазную и C_{17} - C_{20} -лиазную активность. В первую фазу цикла гранулезные клетки практически лишены кровоснабжения и синтез стероидов в них идет слабо. Соответственно в этот период наблюдается значительный синтез эстрогенов, преимущественно внутренними тека-клетками. После овуляции в клетках желтого тела, образующихся в основном из гранулезных клеток, вследствие улучшения кровоснабжения начинается бурный синтез стероидов, который, из-за низкой активности указанных ферментов, останавливается на стадии прогестерона. С другой стороны, не исключена возможность, что добавочным контролирующим фактором является соотношение Δ^4 - и Δ^5 -путей биосинтеза. Ряд данных указывает, что в то время как в фолликуле преобладает Δ^5 -путь синтеза с небольшим образованием прогестерона, в гранулезных клетках и в желтом теле наблюдается

значительное усиление превращения прегненолона по Δ^4 -пути, т.е. в прогестерон.

Кроме фолликулов и желтого тела биогенез стероидов в яичниках может также происходить и в клетках стромы (интерстициальная ткань). У человека в клетках стромы синтезируются в основном C_{19} -стероиды андрогенного типа. У кроликов в интерстициальной ткани синтезируются главным образом прогестерон и 20α -дигидропрогестерон (последний стероид является результатом превращения прогестерона). Андрогены у крольчих являются, наряду с эстрогенами, продуктами клеток фолликула.

Во время беременности в женском организме появляется еще один важнейший орган, продуцирующий эстрогены, - плацента. Ароматизирующая ферментная система начинает функционировать в клетках наружного синцитиотрофобласта примерно с 13-ой недели беременности. Колоссальное увеличение образования эстрогенов и прогестерона при беременности является следствием именно возникновения нового стероид-продуцирующего органа – плаценты (Рис. 8). Биосинтез прогестерона и эстрогенов в плаценте имеет целый ряд характерных особенностей. Главной из них является то, что плацента представляет собой функционально неполный эндокринный

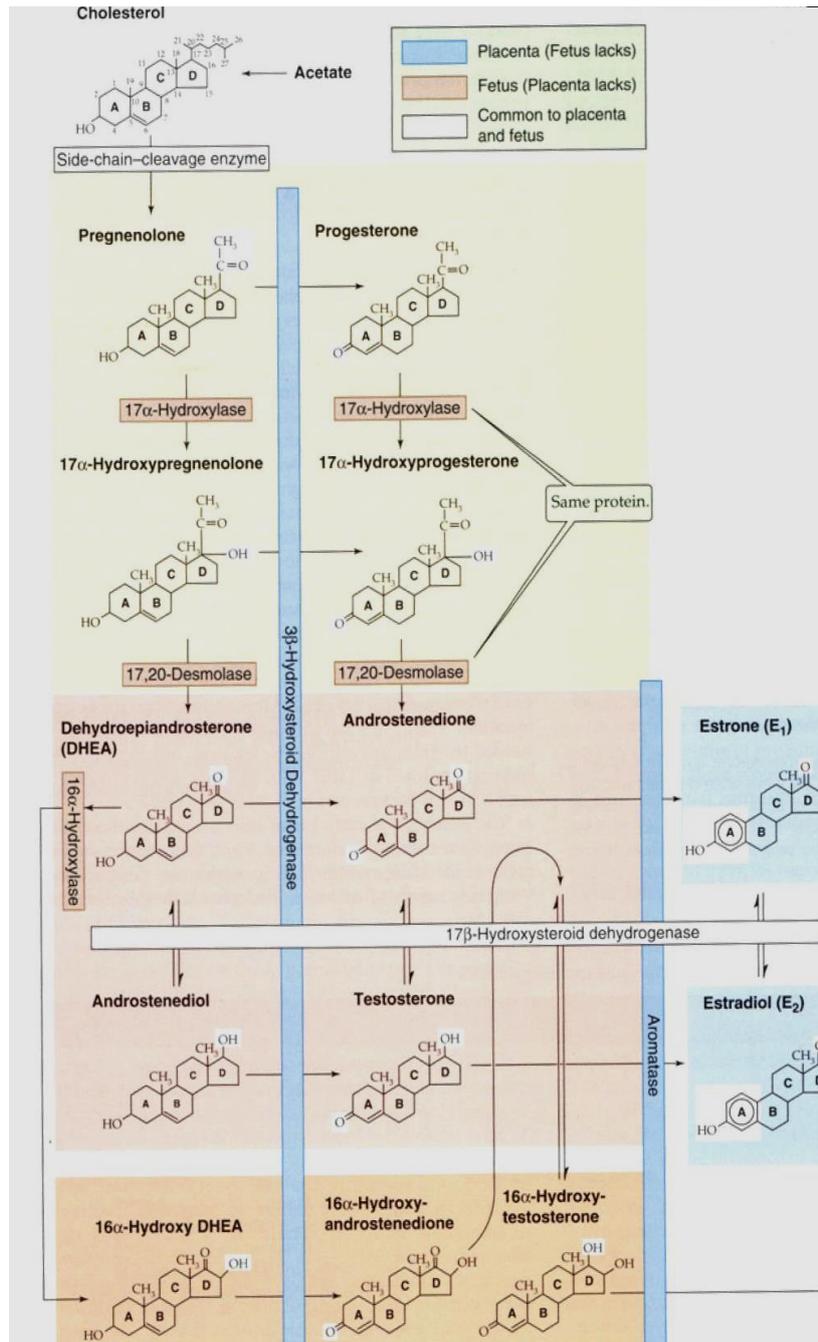


Рис. 9. Фетоплацентарное распределение ферментов и продуктов биосинтеза половых гормонов (Walter F. Boron, Emile L. Boulpaep. Medical physiology, second edition, 2009).

Превращение ацетата в холестерин не происходит в плаценте, а в тканях плода происходит лишь в небольшой степени. Основное

количество холестерина, используемое фетоплацентарным комплексом, происходит из материнского организма. Плацента последовательно превращает холестерин в прегненолон и прогестерон. Плод не способен превращать прегненолон в прогестерон, и весь прогестерон, образующийся в фетоплацентарном комплексе, имеет своим источником плаценту.

Образование из прегненолона и прогестерона C_{19} -стероидов происходит практически только в тканях плода. Как прегненолон, так и прогестерон гидроксилируются плодом в 17α -положении. Однако отщепление боковой цепи 17α -оксипрогестерона происходит лишь в минимальном объеме, и он используется главным образом для синтеза C_{21} -кортикостероидов в надпочечниках плода. В тоже время плод имеет высокоактивную C_{17} – C_{20} -лиазу для Δ^5 -стероидов, в результате чего из 17 -оксипрегненолона образуется дегидроэпиандростерон – в количественном отношении наиболее важный стероид плода.

Образующийся дегидроэпиандростерон не используется в качестве субстрата 3β -оксистероиддегидрогеназой плода, но под действием высокоактивной сульфокиназы превращается в сульфоформу.

Решающую роль в регуляции биосинтеза эстрогенов и прогестерона играют гонадотропные гормоны (Рис. 10).

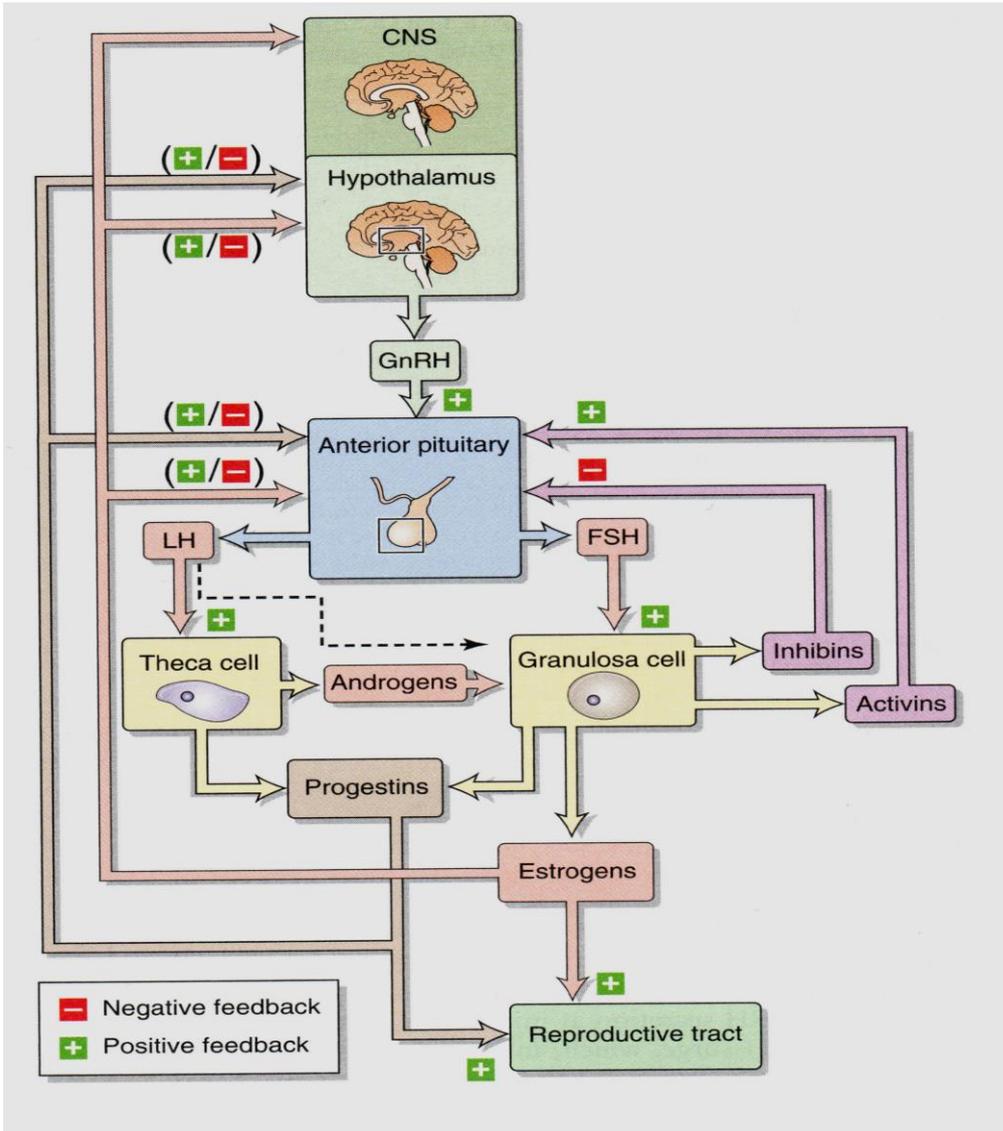


Рис.10. Механизмы регуляции синтеза половых стероидов в организме человека (Walter F. Boron, Emile L. Boulpaep. Medical physiology, second edition, 2009).

Рост фолликула в яичнике осуществляется благодаря действию фолликулостимулирующего гормона гипофиза. Однако, стероидогенная активность фолликулов проявляется лишь в результате воздействия лютеинизирующего гормона. Нужно

подчеркнуть, что регуляция функций яичников, в частности, осуществляется параллельно несколькими путями (Рис. 11).

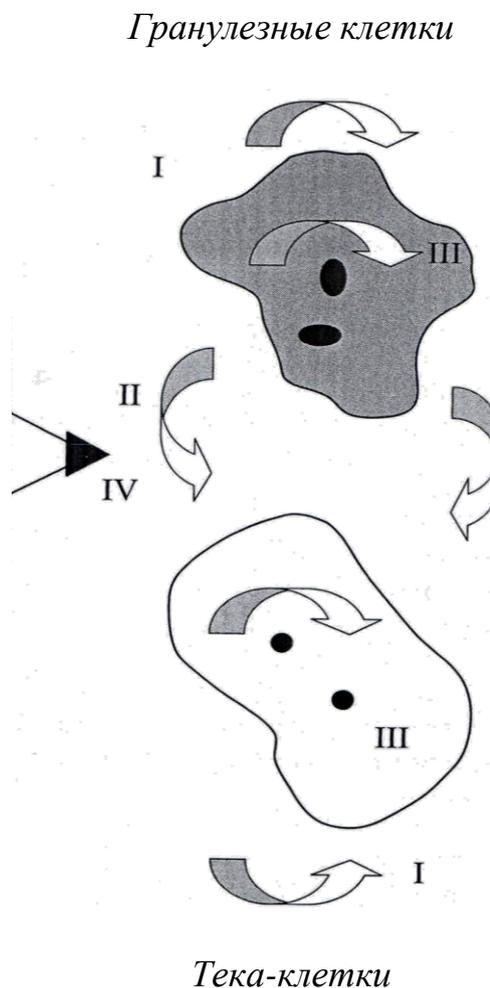


Рис.11. Регуляция функции яичников (по В. П. Сметник, 2003):
I-аутокринная, II-паракринная, III-интракринная, IV-эндокринная.

Образующиеся эстрогены в свою очередь стимулируют рост фолликула и повышают его чувствительность к гонадотропинам. В результате во вторую половину фолликулярной фазы секреция эстрогенов яичниками начинает возрастать со скоростью, зависящей от уровня гонадотропинов в крови и от внутрияичникового соотношения образующихся эстрогенов и андрогенов. Когда в

результате увеличения секреции эстрогенов их концентрация в плазме достигает определенной пороговой величины, происходит выброс больших количеств ЛГ из гипофиза (по механизму положительной обратной связи) (Рис. 12).

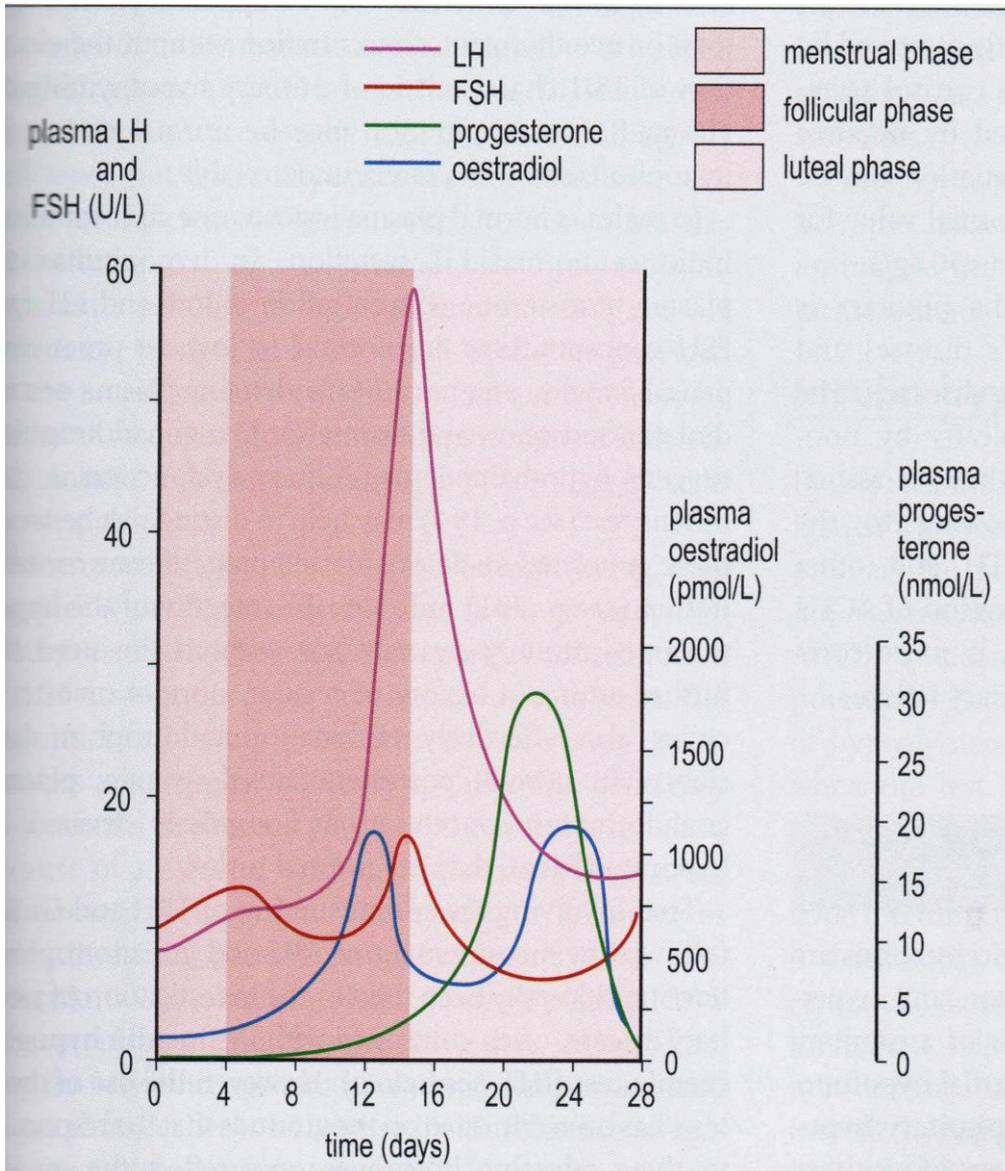


Рис. 12. Воздействие концентрации гормонов гипофиза на плазматический уровень женских половых гормонов (Walter F. Boron, Emile L. Boulpaep. Medical physiology, second edition, 2009).

Овуляция, по-видимому, является результатом как внезапного воздействия на яичник высоких концентраций ЛГ, так и определенных изменений в зрелых фолликулах, вызванных локально эстрогенами. Синтез прогестерона в образующемся желтом теле в свою очередь контролируется ЛГ.

Торможение роста фолликулов в постовуляторную фазу цикла, вероятно, объясняется высокой внутрияичниковой концентрацией прогестерона, а также андростендиона. Новый рост фолликулов не начинается, пока концентрация этих стероидов не вернется к базальному уровню.

Хотя конкретный механизм функционирования цАМФ в качестве эффектора ЛГ в яичниках до конца не выяснен, можно с уверенностью считать, что он связан с регуляцией биосинтеза белка. Блокада стероидного эффекта ЛГ ингибиторами белкового синтеза показана неоднократно. По наиболее распространенной точке зрения ЛГ контролирует биосинтез стероидов в яичниках на стадии отщепления боковой цепи холестерина. Учитывая близость цитохром Р-450-зависимой полиферментной системы отщепления боковой цепи холестерина в яичниках, семенниках и надпочечниках, можно предполагать, что ЛГ как специфический гормон яичников также

контролирует или синтез компонентов этой системы, или ее активность.

В то же время пока еще нельзя полностью исключить возможность воздействия ЛГ на стадиях, предшествующих холестерину. Такой стадией, в частности, может быть гидролиз эфиров холестерина. Возможно, что гипотетический «стероидогенный» белок, образующийся в ранние сроки воздействия ЛГ, является белком транспорта свободного холестерина из липидных капель цитоплазмы в митохондрии. Показана также стимуляция ЛГ биосинтеза стероидов яичников, предшествующих холестерину.

Контролируемым процессом является не только дифференцировка и функционирование стероидогенных структур яичника, но и их обратное развитие. Регрессия желтого тела является необходимой предпосылкой начала каждого следующего полового цикла. Сравнительно давно было замечено, что у целого ряда животных удаление матки продлевает период существования желтого тела. Было высказано предположение о выработке в матке под влиянием прогестерона специфического лютеолитического фактора (лютеолизина), вызывающего регрессию желтого тела. Было также показано, что действие лютеолизина носит локальный характер, поскольку отсутствие одного рога матки продлевает длительность

существования только желтого тела, находящегося в яичнике на той же стороне тела.

3. Содержание эстрогенов и прогестерона в крови

Концентрация циркулирующих эстрогенов является самой низкой из всех стероидных гормонов. Содержание неконъюгированного эстрадиола в плазме в начале менструального цикла женщин составляет около 30 пг/мл. Во вторую половину фолликулярной фазы концентрация эстрадиола резко увеличивается и достигает перед овуляторным пиком лютеинизирующего гормона величин порядка 350-400 пг/мл. После овуляции наблюдается падение уровня эстрадиола с небольшим вторичным подъемом в середине лютеальной фазы.

Овуляторный подъем неконъюгированного эстрона выражен в меньшей степени – в среднем с 40 пг/мл в начале цикла до 160 пг/мл в середине. Таким образом, соотношение эстрадиол/эстрон увеличивается с 0,7 в начале цикла до 2,0 в период овуляции. Концентрация третьего «классического» эстрогена – эстриола в плазме небеременной женщины невелика (10-20 пг/мл) и отражает не секрецию этого стероида, а метаболизм эстрадиола и эстрона. Эстрогеном, в наибольшем количестве циркулирующим в плазме,

является эстронсульфат. Его овуляторный пик достигает величин 3,1-3,3 нг/мл. В отличие от андрогенов, где наблюдается частичная секреция их сульфатов, эстронсульфат не секретируется, а представляет собой результат периферического конъюгирования эстрогена.

Скорость продукции эстрадиола и эстрогена в начале цикла составляет около 100 мкг/день для каждого стероида. В лютеальную фазу скорость продукции этих эстрогенов увеличивается до 250 мкг за 24 часа. 20-30% эстрогена образуется в результате периферической ароматизации андростендиона; периферическое образование эстрадиола осуществляется в незначительном количестве.

Концентрация прогестерона в периферической крови женщин в предовуляторную фазу цикла не превышает 0,3-1,0 нг/мл, а его суточная продукция – 1-3 мг. В этот период основным источником прогестерона являются не яичники, а надпочечники. После овуляции концентрация прогестерона в крови увеличивается до 10-15 нг/мл. Скорость продукции прогестерона в фазу функционирования желтого тела достигает 20-30 мг за 24 часа.

Во время беременности наблюдается последовательное увеличение содержания в плазме эстрогенов. Концентрация неконъюгированного эстрадиола к 8-й неделе беременности

составляет около 1 нг/мл, а к концу беременности превышает 20 нг/мл. Характерно, что практически весь эстрадиол в плазме находится при этом в неконъюгированном виде, и его концентрация превышает концентрацию неконъюгированных эстрона и эстриола. С другой стороны, общая концентрация эстриола (вместе с его конъюгатами) сохраняется наибольшей и при беременности, достигая к ее концу уровня 120-200 нг/мл.

Во время беременности обнаруживается одновременное постепенное увеличение концентрации прогестерона в плазме крови. Максимальное содержание (100-150 нг/мл) данного стероида наблюдается в последний месяц беременности. Суточная продукция его в этот период выражается весьма значительной величиной – 250 мг.

Аналогично ситуации с андрогенами эстрогены и прогестерон нельзя рассматривать как исключительно женские половые гормоны, поскольку достаточно значительное их количество циркулирует и в мужском организме. Содержание эстрона в периферической плазме крови мужчин составляет 40-60 пг/мл, концентрация эстрадиола – 20-30 пг/мл. Таким образом, у данного пола концентрация основных эстрогенов близка к таковой у женщин в первой половине фолликулярной фазы цикла, но, возможно, с несколько более низким

отношением эстрадиол/эстрон. Концентрация эстронсульфата у мужчин также является достаточно высокой и превышает уровень неконъюгированного эстрона примерно в 10 раз.

Скорость продукции эстрадиола и эстрона у мужчин составляет около 40 и 160 мкг за 24 часа соответственно. Установлено, что семенники секретируют эстрогенные стероиды, при этом больше секретируется эстрадиола, чем эстрона. Наоборот, надпочечники секретируют преимущественно эстрон. В общей сложности, около половины эстрогенов в крови мужчин являются продуктом непосредственной секреции, а другая половина происходит в результате периферического превращения андрогенов. Ароматизирующая ферментная система семенных желез сосредоточена в основном в микросомах, а в них – во фракции агранулярного ретикулума.

Периферическая концентрация прогестерона у мужчин (около 0,3 нг/мл), что также примерно соответствует уровню этого гормона у женщин в фолликулярную фазу цикла.

4. Краткие данные о лецитине и его биологических свойствах

Лецитин (Л) – впервые был выделен в 1850 году М. Бобли из яичных желтков. В настоящее время установлено его наличие в

больших количествах не только в яичных желтках, но и в различных пищевых продуктах, например, в зерновых культурах, соевых бобах, пивных дрожжах, рыбе и др.

В наше время термин лецитин рассматривается в двух аспектах:

1) как синоним класса фосфолипидов (ФЛ) – фосфатидилхолина (-нов) (ФХ; РС), на первых этапах изучения – дипальмитоил-фосфатидилхолина; 2) в качестве названия комплексной пищевой добавки, получаемой из соевых бобов, семян подсолнечника и др.

В молекуле лецитина электрически заряженные фосфатная и холиновая группы образуют полярную (заряженную) головку молекулы. При температуре тела ФХ (как и другие липиды) находятся преимущественно в твердом состоянии, что предопределяет ряд его биологических функций, в частности, участие в построении клеточных мембран.

Метаболической особенностью фосфатидилхолина, как и всего класса фосфолипидов, является высокая скорость биопревращений. Биологический период полужизни фосфолипидов плазмы крови достигает примерно 24 часов, а в цитоплазматических мембранах (в зависимости от типа клеток) колеблется от нескольких часов до нескольких суток.

Разрушение фосфатидилхолина осуществляется, в первую очередь, за счет ферментативной деградации, в частности, гидролиза фосфолипазами четырех групп. Фосфолипаза A_1 отщепляет жирные кислоты по α -, а фосфолипаза A_2 – по β -положению. Фосфолипаза C отсоединяет фосфорилированные азотсодержащие спирты от фосфолипидов, а фосфолипаза D расщепляет фосфатидилхолины до фосфатидной кислоты и азотсодержащего спирта холина.

Основной биологической функцией ФХ является участие в образовании и функционировании клеточных мембран. В состав клеточных (цитоплазматических) мембран входят, в первую очередь, белки и липиды (типичное весовое соотношение между ними составляет 1:1), углеводы (до 5%) и небольшое количество РНК (менее 0,1%). Наличие липидов определяет такие свойства биологических мембран как высокое сопротивление (около $10^3 \text{ Ом} \cdot \text{см}^{-2}$), большая электрическая ёмкость ($0,5-1,5 \text{ мкФ} \cdot \text{см}^{-2}$), не проницаемость для ионов и других полярных соединений, проницаемость для неполярных соединений.

В отличие от ФХ лецитин как пищевой продукт представляет собой смесь обычных фосфолипидов, свободных жирных кислот и «минорных» («редковстречающихся») фосфолипидов, например, лизофосфатидилхолина, а также ряда примесей, состав которых

определяется источником получения продукта. Использование подобных смесей с одной стороны вынуждает постоянно искать способы их дополнительной очистки, с другой – учитывать, в процессе применения, особенности состава сырья, использованного для их получения и, наконец, придаёт Л дополнительные биологические свойства.

Существенное значение имеет сырьё из которого получается «чистый» лецитин. В настоящее время наиболее распространено использование соевого лецитина, что обусловлено более лёгким и распространённым возделыванием, особенно в США, сои и эффективной её переработкой с получением широкого ассортимента продуктов: соевых масла, мяса, молока, добавок к пищевым продуктам и др. Вместе с тем, соевые бобы содержат ряд веществ, отрицательно влияющих на организм млекопитающих, включая человека. К их числу относятся ингибиторы трипсина, олигосахариды, агглютинины, повышающие свёртываемость крови, гойтрогены, нарушающие функции щитовидной железы и др. Инактивация подобных веществ, в основном, требует интенсификации и удлинения воздействия на растительное сырьё высоких температур, что приводит к разрушению ненасыщенных связей и, тем самым, к снижению физиологической активности ФЛ. Кроме этого, соевый фосфатит, в

процессе производства, частично трансформируется в изолецитин, обладающий токсическими свойствами.

В последнее время, большее внимание уделяется подсолнечниковому лецитину. Это обусловлено тем, что содержание фосфолипидов в семенах подсолнечника практически не отличается от бобов сои, их выделение требует меньшей температурной обработки и данное сырье содержит больше полиненасыщенных жирных кислот.

Регулярное использование лецитина по 1-5 грамм в сутки с пищей оказывает целый ряд биологических эффектов.

Наибольшее внимание среди биологических свойств лецитина вызывает его гепатопротекторное действие. Регулярное применение Л на протяжении 1,5-2 и более месяцев вызывает существенное улучшение функционирования печени, особенно выраженное у лиц с её расстройствами. Это проявлялось в уменьшении сгущения желчи, снижения в ней кристаллов холестерина, билирубината кальция, желчных солей, микролитов, улучшения её коллоидной стабильности, повышении мицеллообразования, уменьшении явлений жировой инфильтрации. Кроме описанных гепатопротекторных свойств Л, как поставщика основных классов фосфолипидов, данная пищевая добавка, при приеме натощак, проявляет желчегонное действие,

способствует сокращению жёлчного пузыря и жёлчевыводящих путей, а также перистальтике кишечника.

Выраженное воздействие лецитин оказывает на показатели функционирования печени в условиях применения гепатотропных ядов.

Фосфатидилхолин непосредственно включается в фосфолипидную структуру мембран печеночных клеток, при отравлении гепатотропными ядами, замещает дефекты и восстанавливает барьерную функцию липидного бислоя. Помимо восстановления нарушенной барьерной функции биологических мембран, фосфолипиды оказывают стабилизирующее действие на мембранные белки.

В условиях гепатита у крыс, вызванного четыреххлористым углеродом, эссенциальные ФЛ, нейтрализуя свободные радикалы в реакциях перекисного окисления липидов, препятствует разрушению фосфолипидов фосфолипазой А, уменьшают накопление лизофосфатидилхолина, стеатоз и некроз паренхимы печени, активируют β -окисление жирных кислот. Считается, что их терапевтическое действие при CCl_4 -гепатите обусловлено антиоксидантными свойствами фосфолипидов, а не их заместительным эффектом.

Длительное введение в организм фосфатидилхолина различного растительного происхождения препятствует, возникающему под влиянием CCl_4 , уменьшению содержания общего белка, снижает ферментативную активность сывороточных аминотрансфераз, сохраняет уровень гликогена, снижает уровень триглицеридов, способствует поддержанию на высоком уровне содержания фосфолипидов, улучшает аэробные процессы окисления в печени.

В основе воздействия Л на метаболизм жиров лежит природный антагонизм фосфатидилхолина (и других ФЛ) и холестерина. Уже на уровне цитоплазматических мембран проявляется способность холестерина повышать их жёсткость и увеличивать твёрдость, тогда как ФЛ, включая ФХ, делают их более текучими и жидкими, т.е. увеличивают функциональную активность мембран. В результате метаболических процессов, протекающих в мембранах, в первую очередь, гепатоцитов образуются липопротеиды высокой плотности (ЛПВП), проявляющие антиатеросклеротическую активность.

Регулярное применение лецитина приводит к снижению уровня холестерина в крови и стенках кровеносных сосудов, а также повышает способность желчных кислот выводить это соединение из кровотока.

Ещё одним существенным свойством лецитина является его участие во всасывании жирорастворимых витаминов А, D, Е и К, а также в их биологической трансформации, как и витаминов группы В, с образованием метаболически активных форм.

Существенным биологическим эффектом лецитина является его нейротропное действие, которое проявляется в снижении, на фоне регулярного использования этой добавки, раздражительности, утомляемости, улучшении показателей внимания, обучаемости и памяти.

У беременных потребность в лецитине существенно возрастает в связи с необходимостью формирования невральнoй трубки, а в последующем нервной системы и развитию нервной деятельности плода. У детей раннего постнатального периода с гипоксическо-ишемическими поражениями ЦНС, использование на фоне «плановой» терапии, лецитина уже через 2-3 недели приводило к прибавке в весе, увеличению объема спонтанных движений, появлению рефлексов орального автоматизма, что сопровождалось положительной ультразвуковой динамикой состояния головного мозга.

При постоянном употреблении после перенесённого инсульта лецитин способствует более полному восстановлению психических и

двигательных функций. Вместе с тем, при изучении рассеянного склероза установлено пониженное содержание ФХ в мозге и миелиновой оболочке нервов, при этом в его составе преобладают формы, включающие сложные жирные кислоты.

Определение механизмов нейропротекторных свойств фосфолипидов показало, что само по себе повреждающее воздействие на нервную систему значительно влияет на ее фосфолипидный состав. В частности, удаление верхнего шейного симпатического узла у крыс через 7 дней приводило на стороне поражения к резкому увеличению уровня ЛФХ при одновременном снижении содержания ФХ, СФМ и МФИ. Тогда как с интактной стороны в большей степени возрастала концентрация СФМ и ФХ. Эти сдвиги, по мнению авторов, отражают структурные изменения в ткани ЦНС, вызванные односторонней ганглиосимпатэктомией.

Морфологический анализ позитивного воздействия лецитина на органы и ткани показал, что при инкубации культуры ткани клеток сетчатки с яичным лецитином образование нейритов значительно (до 300%-450%) увеличивается по сравнению с контролем.

В экспериментах были установлены существенные сдвиги концентрации другого класса ФЛ лецитина – полифосфоинозитидов в условиях неблагоприятных воздействий на животных.

При различных экстремальных состояниях (гипоксия, гипогликемия, электрокожное и фенаминовое возбуждение, тиопенталовый сон) в головном мозге крыс резко изменялось содержание ДФИ и ТФИ, тогда как содержание других ФЛ практически всегда оставалось постоянным.

В этих условиях сдвиги содержания ДФИ и ТФИ коррелировали по величине и направлению со сдвигами содержания АДФ и АТФ.

При длительном дефиците лецитина происходит расщепление миелина нервов, отмирание нервных клеток, что особенно выраженным является в условиях энцефалопатий различного генеза. В основе нейротропного влияния лецитина лежит не только тот факт, что существенную часть серого и/или белого вещества мозга составляют фосфолипиды и, в частности, фосфатидилхолин, не только то, что ФХ выполняет специфические функции в структуре и функции цитоплазматических мембран, но и непосредственным участием компонентов лецитина в протекании метаболических процессов в нервных клетках. Фосфатидилхолин является донором аминок спирта холина в синтезе нейромедиатора ацетилхолина, катализируемом ацетилхолинэстеразой. Ацетилхолин является медиатором, преимущественно парасимпатической нервной системы, регулирующим протекание таких интегративных функций ЦНС как

обучение и память, сократимости поперечно-полосатых мышц, и целого ряда вегетативных функций организма (тонус бронхов, гладких мышц желудка и кишечника, процессы аккомодации, секреторная активность желез внешней секреции и др.).

Ряд компонентов, входящих в состав пищевого лецитина (например, фосфатидилинозит, диацилглицерол или фосфатидилсерин) обладают способностью регулировать активность внутриклеточных Ca^{2+} - зависимых протеинкиназ и, тем самым, участвовать в протекании каскадных механизмов, изменяющих уровень фосфорилирования белков и липидов, в частности, в нейронах.

В настоящее время применение лецитина как пищевой добавки к базисной терапии рекомендуется при довольно широком круге заболеваний. К их числу относятся:

- 1) нарушения мозгового кровообращения, истощении центральной и периферической нервной системы, вегето-сосудистой дистонии, головных болях, расстройствах сна, повышенной возбудимости и раздражительности, ухудшении памяти и концентрации внимания, хронической усталости, пониженной работоспособности;

2) повышенный уровень холестерина в крови, атеросклероз с поражением сосудов различной локализации (мозга, сердца, периферических артерий и др.), комплексное лечение расстройств сердечного ритма, ишемической болезни сердца, гипертонической болезни;

3) заболевания поджелудочной железы, сахарный диабет I-II типа;

4) заболевания печени, желчевыводящих путей, гепатопротекторное действие при воздействии токсических веществ, алкоголя, хронический гепатит, цирроз;

5) нарушение работы почек, профилактика камнеобразования;

6) профилактика фиброза предстательной железы, снижение подвижности сперматозоидов;

7) заболевания, сопровождающиеся иммунодефицитом, анемией, нарушением свертываемости крови;

8) комплексная терапия аллергии, заболеваний кожи, псориаза, экземы, нейродермита и др.;

9) применение при беременности и у кормящих матерей, при родовых травмах и осложнениях, у детей с нарушениями развития, особенно, нервной системы.

5. Влияние лецитина на содержание прогестерона и эстрадиола в крови крыс в условиях интоксикации ЧХУ

Сравнительные характеристики биологических эффектов лецитина сои и подсолнечника в условиях токсического воздействия изучали на 98 Wistar *albino* половозрелых крысах, массой 170,0-200,0 г. Опытные животные находились в виварии при температуре воздуха 20 – 24°C , влажности – не более 65 % , в режиме – «день – ночь ». Животные находились в стандартных клетках достаточного размера, на стандартном рационе вивария и получали питьевую воду и корм *ad libitum*.

Эксперименты на животных выполняли в соответствии с «Общими принципами экспериментов на животных», одобренных I-IV Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001 – 2011 гг.) и согласованных с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей», Страсбург, 1985. Протокол опытов был согласован Комиссией по биоэтике НИИ медико-биологических проблем ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗО Украины».

Методом случайной выборки животные были разделены на 4 группы:

- первая – интактная группа животных, которые содержались в стандартных условиях вивария (принята за исходные показатели Si фон);
- вторая – группа животных, которым внутрижелудочно вводили тетрахлорметан (CCl₄; ЧХУ);
- третья – группа животных, которым внутрижелудочно вводили лецитин сои;
- четвертая – группа животных, которым внутрижелудочно вводили лецитин подсолнечника.

У животных в начале и на 3, 7, 14 сутки получали кров из правого желудочка и в ее сыворотке определяли общую концентрацию прогестерона, эстрадиола. В экспериментах использовали тетрахлорметан, чда, ГОСТ 20288-74, производство АО «Реахим» (Россия). Сухой обезжиренный лецитин подсолнечника пищевой (SFL), украинского производства. Лецитин сои сухой обезжиренный пищевой SOLEC (SL), производство «SOLAE LLC» (США).

Модель интоксикации создавали путем внутрижелудочного введения 50% раствора тетрахлорметана в оливковом масле, в дозе 2,5 г/кг на 1, 3 и 7 сутки наблюдений.

Исследуемые показатели регистрировали в начале и на 3, 7 и 14 сутки эксперимента у групп животных, которым ежедневно внутрижелудочно вводили 20 % суспензию SL и SFL по 2,5 г/кг.

Достоверность различий между исследуемыми группами определяли с помощью t-критерия Стьюдента. Статистически достоверными считали отличия, соответствующие величине ошибки $p < 0,05$.

5.1. Влияние лецитина на содержание прогестерона в крови крыс при интоксикации CCl_4 .

Исходные показатели концентрации прогестерона в сыворотке крови самок белых крыс колебались от $149,79 \pm 23,89$ до $101,67 \pm 14,07$ нмоль/л, что не имело статистически значимых различий. В связи с этим, нами был сформирован объединенный исходный фон с уровнем прогестерона $133,47 \pm 19,28$ нмоль/л, который не имел существенных математических отличий с отдельными подгруппами и находился в пределах видовой нормы для взятых в эксперимент лабораторных грызунов.

Интоксикация тетрахлорметаном приводила к появлению тенденции к снижению концентрации прогестерона в сыворотке крови крыс на этапах проведенных наблюдений (табл. 2, рис. 13). В

наших условиях гипопрогестеронемия носила нарастающий характер, составляя на 3 сутки – 23,1%; на 7 сутки – 50,5% ($p < 0,05$) по сравнению с объединенным исходным фоном. Тогда как, к 14 дню наблюдений данный показатель возвращался к уровню, установленному до начала использования тетрахлорметана, но был на 104,4% ($p < 0,05$) больше, чем на 7 сутки введения ЧХУ.

Табл. 2. Влияние лецитина на концентрацию прогестерона (нмоль/л) в сыворотке крови крыс с интоксикацией ЧХУ

Сроки наблюдений	Стат. показатель	Серии исследований		
		ЧХУ	ЧХУ + соев. лецитин	ЧХУ + подс. лецитин
3 сутки	$M \pm m$	102,70±16,49	86,04±3,47*	95,82±13,42*
7 сутки	$M \pm m$	* ** 66,13±17,17	* 86,32±3,36	* ** ° 22,78±7,62
14 сутки	$M \pm m$	** 135,14±20,05	** 128,95±8,64	* ** ° 57,33±6,89

Примечания: *- $p < 0,05$ по сравнению с исходным фоном,
 ** - $p < 0,05$ по сравнению с предшествующим периодом наблюдений,
 ° - $p < 0,05$ при сопоставлении с эффектами ЧХУ.

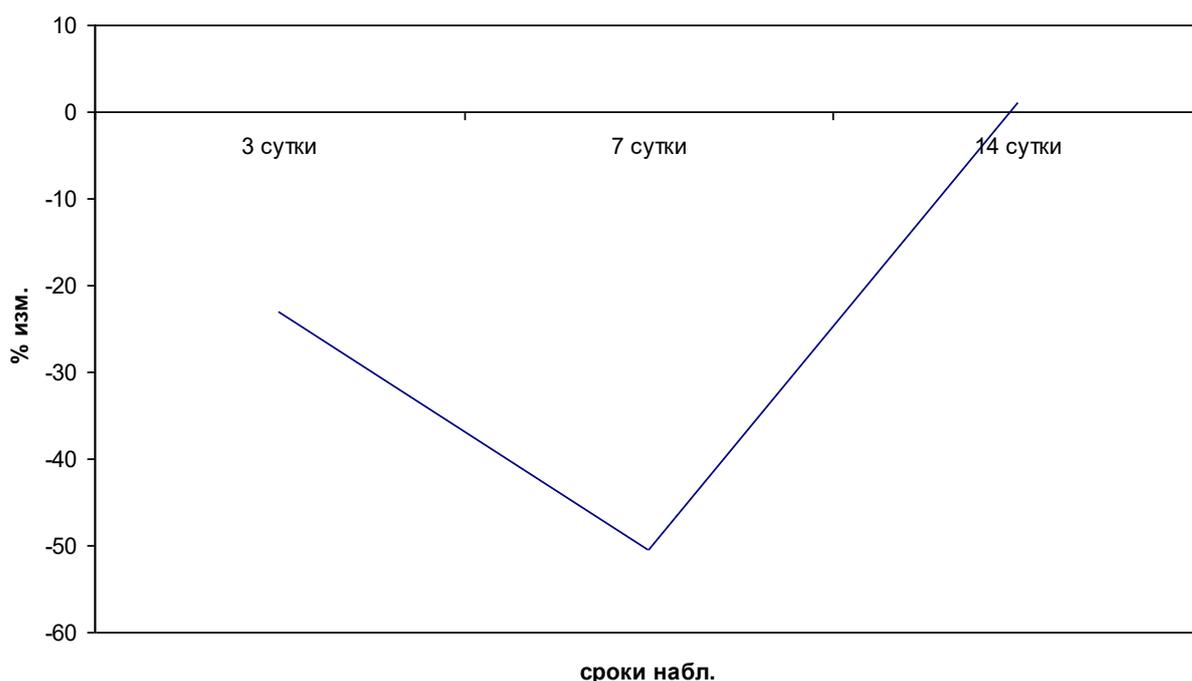


Рис. 13. Сдвиги концентрации прогестерона
в крови крыс при введении ЧХУ

Примечания: * - $p < 0,05$ по сравнению с исходным фоном,
° - $p < 0,05$ при сопоставлении с эффектами ЧХУ.

На следующем этапе наблюдений было определено воздействие лецитина сои (LS) и лецитина подсолнечника (LSF) на концентрацию прогестерона в сыворотке крови крыс в условиях интоксикации ЧХУ.

Наблюдения показали, что ежедневное двухнедельное применение лецитина сои по 2,5 г/кг приводит к снижению уровня прогестерона на 3 и 7 сутки на 35,3 – 35,5% (рис. 14) при сопоставлении с исходными показателями. Тогда как на 14 день, как и

при интоксикационной гипопрогестеронемии, концентрация гормона возвращалась к исходным показателям.

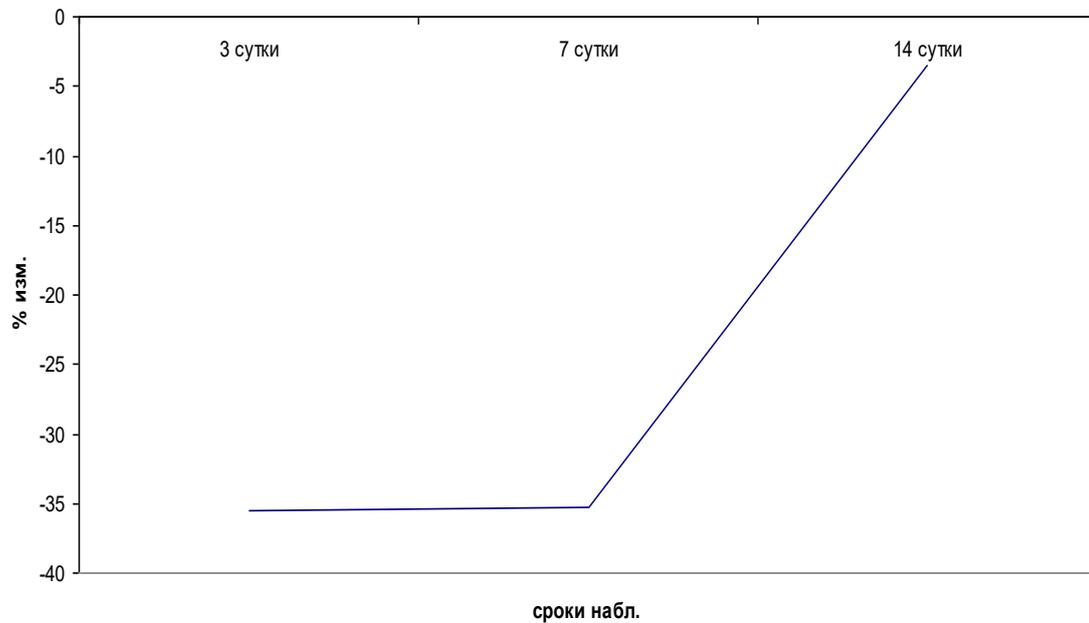


Рис. 14. Изменения концентрации прогестерона в крови крыс при введении LS на фоне действия ЧХУ

Примечания: * - $p < 0,05$ по сравнению с исходным фоном,
° - $p < 0,05$ при сопоставлении с эффектами ЧХУ.

Под воздействием подсолнечникового лецитина отмечалось (Рис. 15) снижение уровня прогестерона в крови крыс на 3 сутки – на 28,2%, на 7 сутки – на 82,9%, на 14 сутки – на 57,0%, что свидетельствует о гипопрогестеронемическом эффекте LSF.

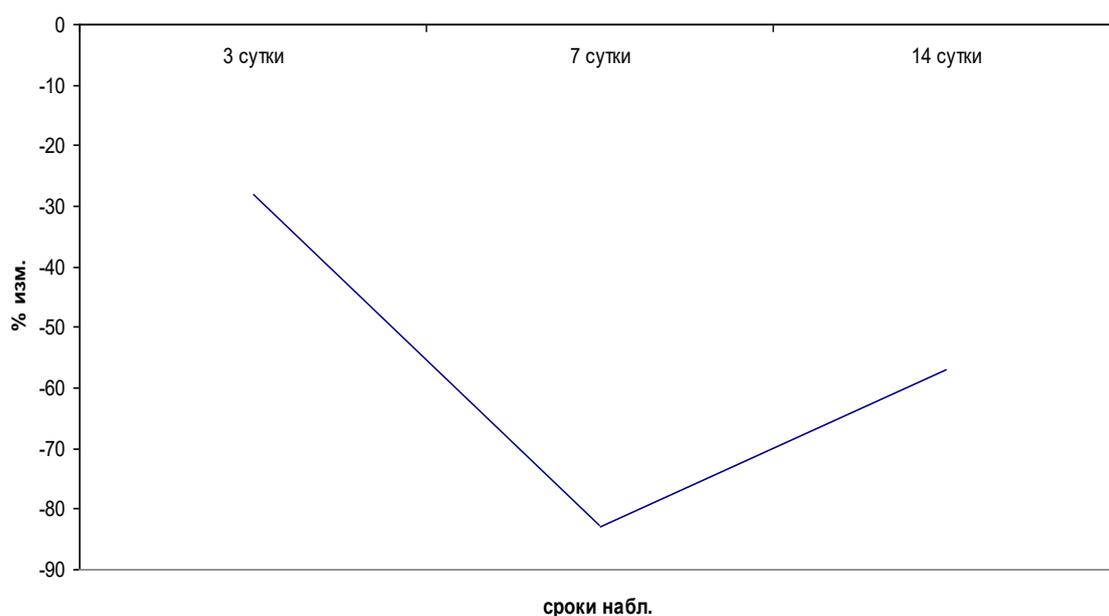


Рис. 15. Изменения концентрации прогестерона в крови крыс при введении LSF на фоне действия ЧХУ

Примечания: * - $p < 0,05$ по сравнению с исходным фоном,
 ° - $p < 0,05$ при сопоставлении с эффектами ЧХУ.

Т. о., можно прийти к выводу о том, что при интоксикации четыреххлористым углеродом развивается гипопрогестеронемия, наиболее выраженная на 7 сутки наблюдений ($\Delta = - 50,5\%$; $p < 0,05$) и проходящая к 14 дню наблюдений.

Использование лецитина сои смягчает данный эффект ЧХУ на всем протяжении эксперимента. Применение лецитина подсолнечника значительно усугубляло воздействие тетрахлорметана на концентрацию прогестерона на 7 ($\Delta = - 65,6\%$; $p < 0,05$) и 14 (на $57,6\%$; $p < 0,05$) сутки моделирования расстройств.

5.2. Изменения концентрации эстрадиола в сыворотке крови при подостром введении ЧХУ.

Исходный фон концентрации эстрадиола в наших наблюдениях составлял $0,61 \pm 0,06$ нмоль/л, не существенно отличаясь в отдельных сериях исследований, и соответствует видовой норме данных лабораторных грызунов.

Интоксикация тетрахлорметаном приводила (табл. 3, рис. 16) к резкому увеличению уровня эстрадиола в сыворотке крови белых крыс на 3 сутки исследований. Увеличение показателя достигало 132,7% ($p < 0,05$) при сопоставлении с исходным фоном. На 7 и 14 дни наблюдений тенденция изменений сохранялась, теряя достоверный характер.

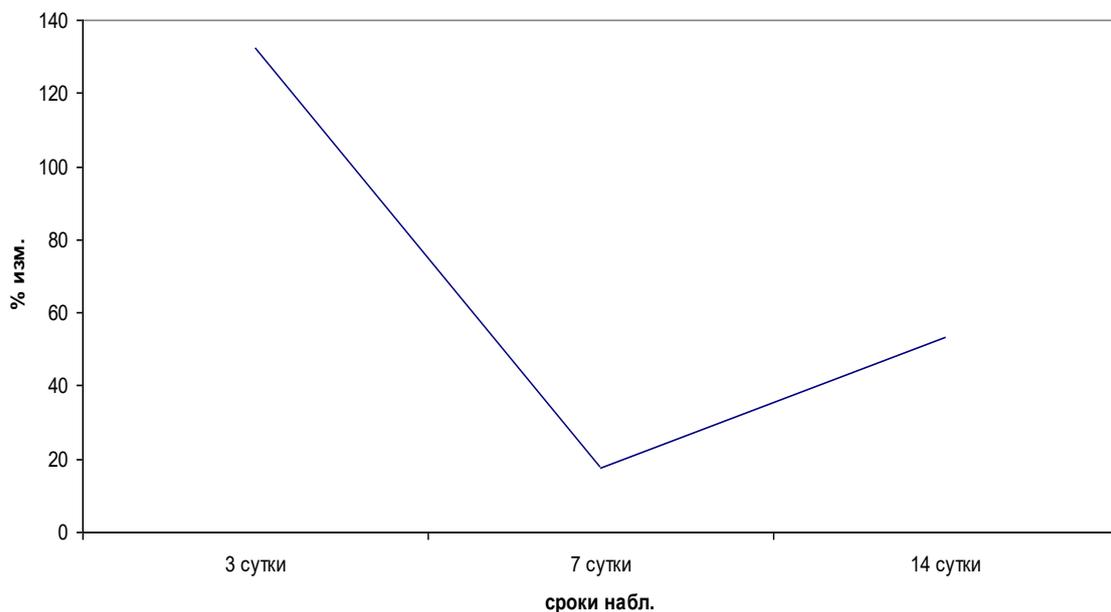


Рис. 16. Сдвиги концентрации эстрадиола
в крови крыс при введении ЧХУ

Примечания: * - $p < 0,05$ по сравнению с исходным фоном.

Табл. 3. Влияние лецитина на концентрацию эстрадиола (нмоль/л) в сыворотке крови крыс с интоксикацией ЧХУ

Сроки наблюдений	Стат. показатель	Серии исследований		
		ЧХУ	ЧХУ + соев. лецитин	ЧХУ + подс. лецитин
3 сутки	M _{±m}	1,42 _{±0,23} *	0,38 _{±0,06} * [°]	0,84 _{±0,29}
7 сутки	M _{±m}	0,72 _{±0,14}	0,65 _{±0,02}	0,67 _{±0,06}
14 сутки	M _{±m}	0,93 _{±0,19}	0,70 _{±0,05}	0,50 _{±0,03} [°]

Примечания: * - $p < 0,05$ по сравнению с исходным фоном,
[°] - $p < 0,05$ при сопоставлении с эффектами ЧХУ.

Использование лецитина сои приводило к существенному снижению концентрации эстрадиола в сыворотке крови на 3 день введения на 37,7% ($p < 0,05$) по сравнению с исходным фоном и на 73,2% ($p < 0,05$) при сопоставлении с эффектами ЧХУ (Рис. 17). В дальнейшем при использовании LS данный параметр был несколько ниже, чем на фоне действия четыреххлористого углерода.

Применение лецитина подсолнечника, в данных условиях эксперимента, оказывало иное действие на гиперэстрадиолемию, вызванную тетрахлорметаном (Рис. 18).

Через 3 суток наблюдений LSF несколько уменьшал уровень эстрадиола по сравнению с воздействием ЧХУ, однако он недостоверно превышал контрольные величины. Подобная тенденция сохранялась и в дальнейшем, достигая наибольшей выраженности к завершению (14 дню) исследований. На данном этапе наблюдений снижение уровня эстрадиола составляло 46,2% ($p < 0,05$) при сопоставлении с эффектами тетрахлорметана.

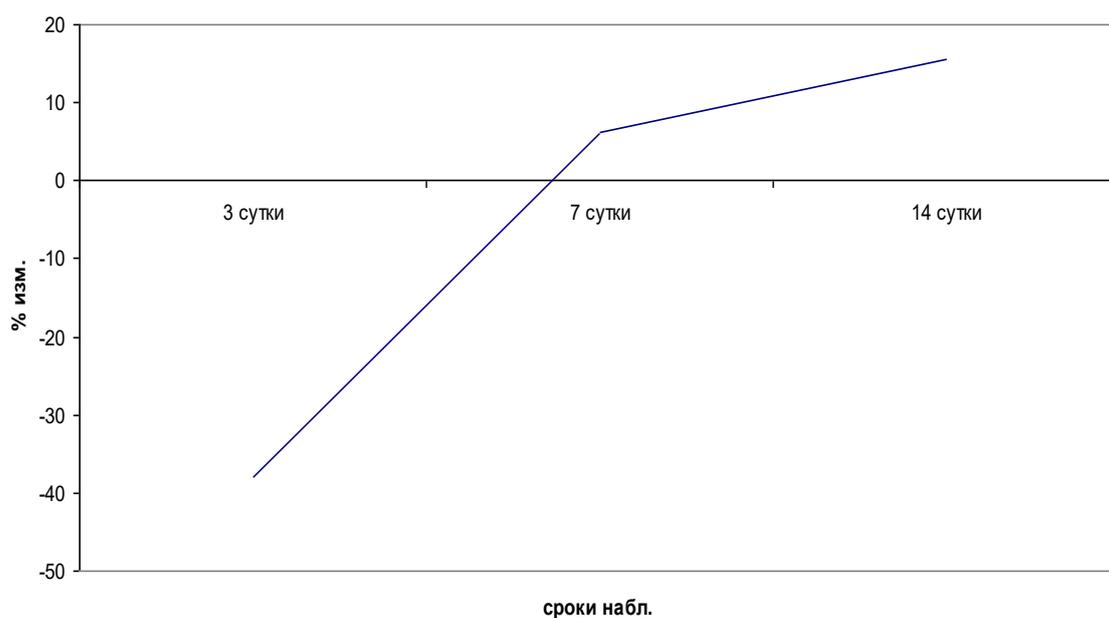


Рис. 17. Изменения концентрации эстрадиола в крови крыс при введении LS на фоне действия ЧХУ

Примечания: * - $p < 0,05$ по сравнению с исходным фоном,
 ° - $p < 0,05$ при сопоставлении с эффектами ЧХУ.

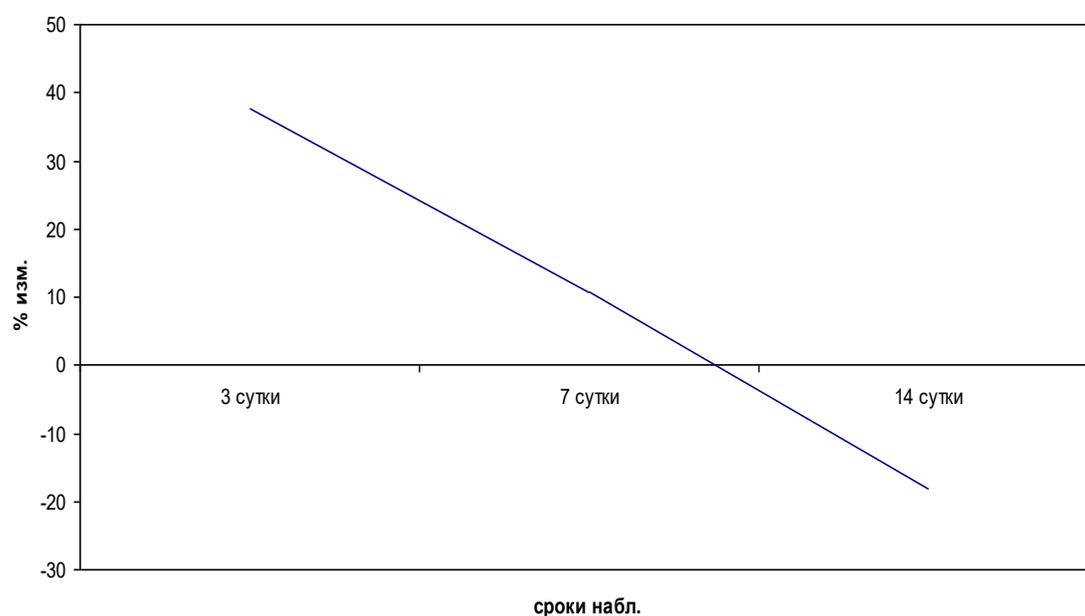


Рис. 18. Изменения концентрации эстрадиола в крови крыс при введении LSF на фоне действия ЧХУ

Примечания: ° - $p < 0,05$ по сравнению с влиянием тетрахлорметана.

Т. о., интоксикация тетрахлорметаном вызывает повышение уровня эстрадиола, особенно выраженное на 3 сутки эксперимента ($\Delta = +132,7\%$; $p < 0,05$). Использование лецитина сои резко снижало изучаемый параметр на данном отрезке наблюдений и слабо влияло на него в последующем. Лецитин подсолнечника более «мягко» снижал гиперэстрадиолемию, вызванную ЧХУ. При этом, наибольшая степень выраженности данного воздействия отмечалась на 14 день исследований ($\Delta = -46,2\%$; $p < 0,05$).

5.3. Влияние лецитина на морфометрические показатели сетчатой зоны коры надпочечников

Как указывалось ранее, одним из трех, синтезирующих женские половые гормоны, локусов является сетчатая зона коры надпочечников. Мы посчитали целесообразным определить воздействие на нее как интоксикации тетрахлорметаном, так и использования LS и LSF в условиях токсического воздействия.

Наблюдения показали (табл. 4), что при использовании ЧХУ площадь надпочечников достоверно возрастала на 41,1% на 3 сутки наблюдений по сравнению с контролем, снижаясь на 7 день на 10,2% ($p < 0,05$) при сопоставлении с предшествующим интервалом эксперимента. На 14 сутки наблюдений прирост показателя уменьшался до 33,9% ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными величинами.

Можно предположить, что данные изменения отражают сочетание на 3 сутки острого воздействия как интоксикации ЧХУ, так и стрессирующего влияния экспериментальной обстановки. В последующем на 7 и 14 сутки, вероятно, развивалась адаптивная

реакция на стрессорное воздействие и компенсация подострого отравления тетрахлорметаном.

Таблица 4. Влияние тетрахлорметана на морфометрические характеристики надпочечников белых крыс

Морфометрические показатели (величина)		Контроль			Применение ЧХУ		
		Сроки наблюдений			Сроки наблюдений		
		3 сут.	7 сут.	14 сут.	3 сут.	7 сут.	14 сут.
1. Площадь надпочечн. (мм ²)	M ±m	5,6 0,1	4,7 0,1	5,6 0,1	7,9* 0,1	7,1*** 0,2	7,5* 0,1
2. Площадь корк. вещ-ва (мм ²)	M ±m	5,0 0,1	4,0 0,1	5,4 0,1	6,55* 0,14	6,0*** 0,1	6,5*** 0,14
3. Доля корк. вещ-ва (%)		89,3	85,1	96,4	82,9	84,5	86,7
4. Ширина сетч. зоны (мкм)	M ±m	247,2 1,8	246,4 2,8	247,2 1,8	352,5* 1,3	367,3*** 1,31	372,5* 2,33

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем;
** - $p < 0,05$ при сопоставлении с предшествующим периодом наблюдений.

Данное заключение подтверждается тем, что площадь коры надпочечников претерпевает практически те же изменения (рис. 19) в наших условиях эксперимента.

Иные изменения были установлены со стороны ширины сетчатой зоны коркового вещества надпочечников при подостром применении ЧХУ. Данный показатель (табл. 4) прогрессивно

существенно, по сравнению с контролем, возрастал на 3, 7 и 14 сутки наблюдений соответственно на 42,6%, 49,1% и 50,7%.

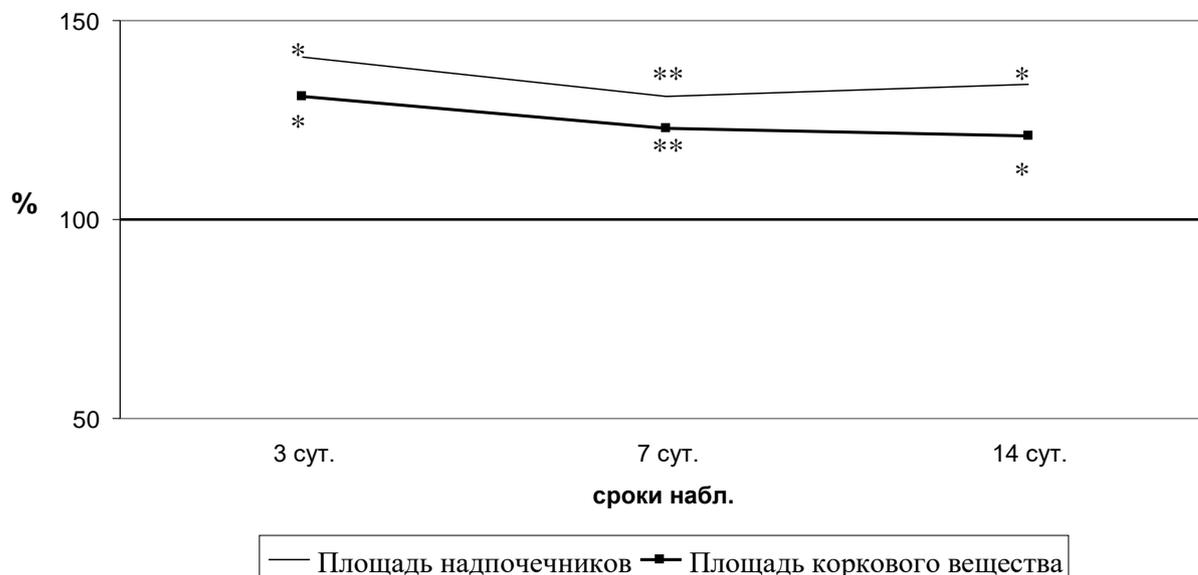


Рис. 19. Влияние ЧХУ на площадь надпочечников и их коркового вещества

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем;
** - $p < 0,05$ при сопоставлении с предшествующим периодом наблюдений.

Использование лецитина сои или лецитина подсолнечника оказывало выраженное и, в целом, сходное воздействие на изучаемые морфометрические показатели надпочечников (табл. 5). Данные изменения (рис. 20) можно охарактеризовать как статистически значимое уменьшение прироста площади надпочечников, особенно, на 7 и 14 дни эксперимента по сравнению как с контрольными, так и с животными, которым вводили ЧХУ.

Более сложные сдвиги под влиянием лецитинов наблюдались со стороны коркового вещества надпочечников. Под влиянием лецитинов данный морфометрический показатель так же

характеризовался меньшей степенью прироста, при сопоставлении с контролем, на 7 и 14 сутки исследований.

Таблица 5. Воздействие лецитинов на морфометрические параметры надпочечников при интоксикации тетрахлорметаном

Морфологические показатели (величина)		CCl ₄ +Лецитин сои			CCl ₄ +Лецитин подсолнечника		
		Сроки наблюдений			Сроки наблюдений		
		3 сут.	7 сут.	14 сут.	3 сут.	7 сут.	14 сут.
1. Площадь надпочечн. (мм ²)		*	*** ^o	*** ^o	*	*** ^o	*** ^o
	M ±m	7,9 0,1	5,8 0,3	6,8 0,3	7,7 0,2	5,7 0,2	7,0 0,2
2. Площадь корк. вещ-ва (мм ²)		*	*** ^o	***	*	*** ^o	*** ^o
	M ±m	6,2 0,1	5,0 0,2	6,2 0,1	6,4 0,2	5,1 0,1	5,8 0,1
3. Доля коркового вещ-ва (%)		78,5	86,2	91,2	83,1	89,5	82,3
4. Ширина сетч. зоны (мкм)		* ^o	*** ^o	*** ^o	*	*** ^o	*** ^o
	M ±m	310,2 0,7	342,0 0,9	310,2 0,7	339,0 0,7	310,2 0,7	351,0 0,8

Примечания: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем;

** - $p < 0,05$ при сопоставлении с предшествующим сроком наблюдений;

^o - $p < 0,05$ по сравнению с эффектами ЧХУ.

Однако, они имели несколько менее выраженный характер, что проявлялось и при их сопоставлении с эффектами тетрахлорметана. Еще одной особенностью являлся тот факт, что LSF обладал несколько более выраженным воздействием на этот показатель, чем LS. Вместе с тем, необходимо подчеркнуть, что лецитин сои в значительно большей степени снижал увеличение ширины сетчатой зоны коры надпочечников, особенно на 3 и 14 дни эксперимента соответственно на 8,5% и 11,6% чем лецитин подсолнечника (рис. 21).

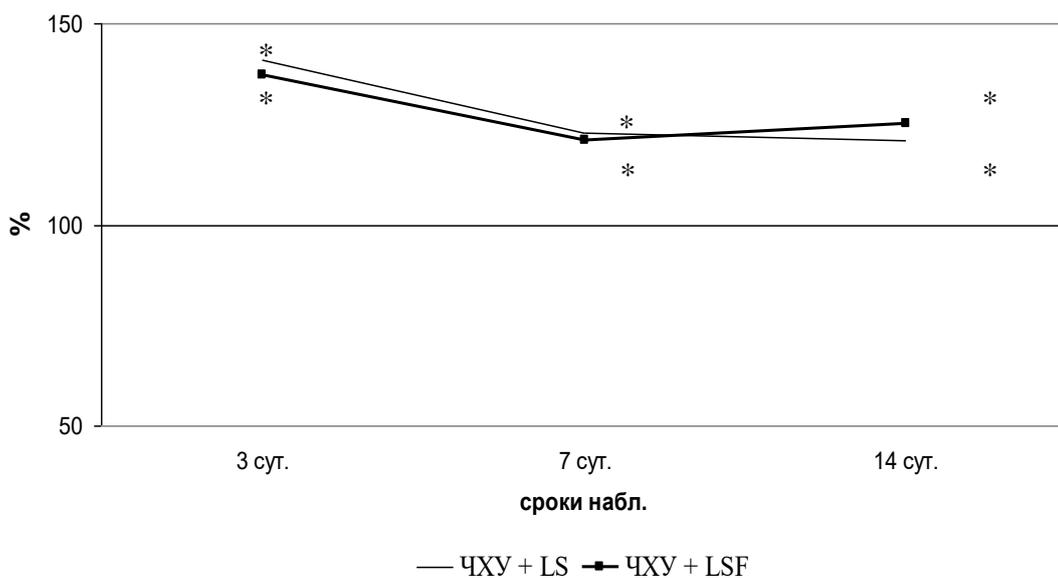


Рис. 20. Влияние лецитина на площадь надпочечников в условиях интоксикации тетрахлорметаном
Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

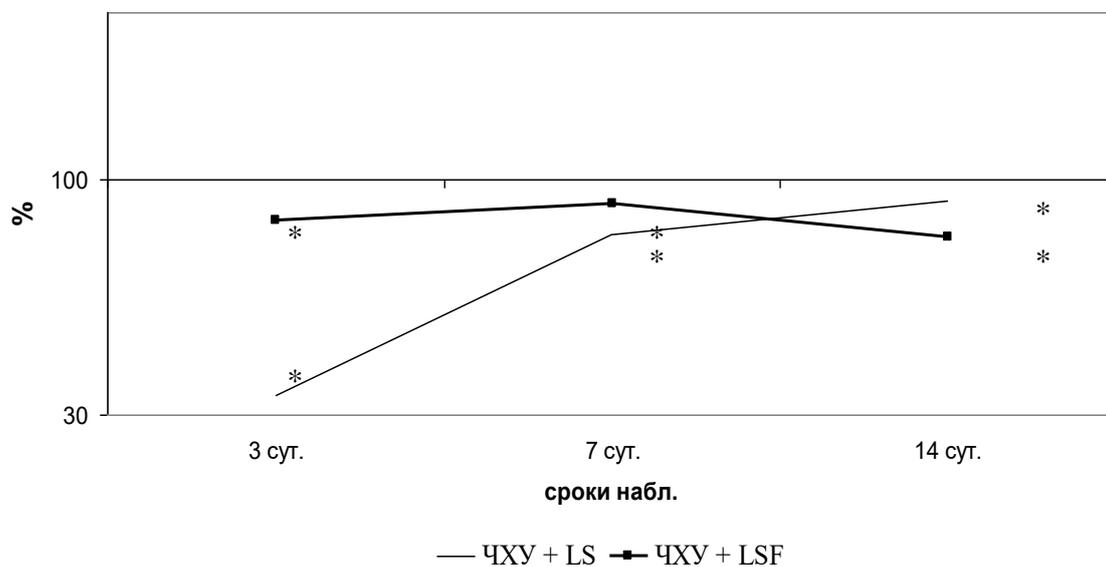


Рис. 21. Влияние лецитина на ширину сетчатой зоны коры надпочечников при подостром отравлении ЧХУ
Примечание: * - $p < 0,05$ при сопоставлении с воздействием ЧХУ;
% - приведенный % изменений по сравнению с эффектами ЧХУ

Одним из морфометрических показателей, отражающих биосинтетическую активность клеток, является размер, в частности диаметр и площадь, ядер клеток. В наших условиях в качестве таких параметров были выбраны диаметр и площадь ядер эндокриноцитов сетчатой зоны (СЗКН) коркового слоя надпочечников.

Наблюдения показали (Табл. 6), что подострое применение тетрахлорметана оказывает выраженное воздействие на оба изучаемых показателя СЗКН.

Таблица 6. Влияние тетрахлорметана на морфометрические показатели эндокриноцитов сетчатой зоны коры надпочечников

Серии исследований	Сроки набл.	Морфометрические показатели (величина)			
		Диаметр ядер эндокриноцитов сетч. зоны (мкм)		Площадь ядер эндокриноцитов сетч. зоны (мкм ²)	
		М	± m	М	± m
Контроль	3 сут.	5,01	0,07	27,96	2,15
	7 сут.	4,05	0,08	25,00	1,36
	14 сут.	4,07	0,70	25,90	1,15
Применение ЧХУ	3 сут.	6,78*	0,10	35,80*	1,60
	7 сут.	6,82*	0,50	28,71* ^o	0,50
	14 сут.	6,08*	0,40	30,80* ^o	1,15

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем;
^o - $p < 0,05$ при сопоставлении с 3 сутками наблюдений.

В целом, данное влияние можно охарактеризовать как значительное их увеличение, по сравнению с контролем, на всем протяжении наблюдений.

В наших условиях эксперимента введение ЧХУ приводило к достоверному возрастанию площади ядер эндокриноцитов в среднем на 20,0% при сопоставлении с контролем, при этом максимум прироста отмечался на 3 сутки и достигал 28,0% ($p < 0,05$). Диаметр ядер клеточного кула существенно увеличивался в среднем на 51,0% с пиком на 7 день исследований ($\Delta = +68,4\%$; $p < 0,05$).

Сопоставление, полученных на 7 и 14 сутки сдвигов регистрируемых параметров с первым периодом эксперимента, показало, что более выражено изменялась площадь ядер эндокриноцитов СЗКН. Этот показатель на 7 и 14 дни наблюдений был достоверно ниже на соответственно 19,8% и 14,0%.

Применение как лецитина сои, так и лецитина подсолнечника оказывало стабилизирующее влияние на исследуемые морфометрические показатели СЗКН (Табл. 7).

На фоне двухнедельного внутрижелудочного введения LS отмечалось, как и при использовании ЧХУ, увеличение как площади, так и диаметра ядер эндокриноцитов при сравнении с контрольными величинами. Однако, данный прирост имел несколько менее выраженный характер, а на 3 сутки наблюдений был существенно меньшим, чем на фоне действия CCl_4 , для диаметра на 10,8%, а для площади ядер на 18,7%.

Использование LSF на диаметр ядер эндокриноцитов СЗКН оказывало аналогичное с LS воздействие с сопоставимыми по величине эффектами. Вместе с тем, необходимо подчеркнуть, что на фоне применения лецитина подсолнечника, особенно на 14 сутки наблюдений, уменьшение площади ядер имело значительно большее значение по сравнению как с предшествующим интервалом исследований, так и с воздействием тетрахлорметана.

Таблица 7. Влияние лецитинов на морфометрические характеристики эндокриноцитов сетчатой зоны коры надпочечников при интоксикации тетрахлорметаном

Серии исследований	Сроки набл.	Морфометрические показатели (величина)			
		Диаметр ядер эндокриноцитов сетч. зоны (мкм)		Площадь ядер эндокриноцитов сетч. зоны (мкм ²)	
		М	± m	М	± m
ЧХУ + лецитин сои	3 сут.	6,05* ^o	0,11	29,12 ^o	0,80
	7 сут.	5,95*	0,40	28,12*	0,40
	14 сут.	5,85*	0,40	29,50*	0,80
ЧХУ + лецитин подсолн.	3 сут.	6,18* ^o	0,12	29,70 ^o	1,10
	7 сут.	5,87*	0,40	29,00*	0,40
	14 сут.	5,65*	0,50	26,70** ^o	1,00

Примечания: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем;
 ** - $p < 0,05$ при сопоставлении с предшествующим периодом наблюдений;
^o - $p < 0,05$ по сравнению с эффектами ЧХУ.

Т.о., можно прийти к заключению о том, что в условиях интоксикации ЧХУ отмечается стабильное увеличение ширины диаметра ядер эндокриноцитов сетчатой зоны коры надпочечников, тогда как площадь их ядер, увеличивалась на 3 сутки наблюдений, существенно снижалась на последующих этапах эксперимента.

Оба изученных лецитина уменьшали, особенно на 3 сутки наблюдений, выраженность эффектов подострого использования тетрахлорметана.

Приведенные результаты завершают ряд работ [8, 9], посвященных анализу воздействия лецитина на стероидные гормоны

в условиях отравления CCl_4 . В связи с этим, представляется рациональным провести сравнительный анализ воздействия ЧХУ, LS и LSF на различные классы стероидных гормонов.

6. Сравнительная характеристика воздействия лецитина в условиях интоксикации CCl_4 на различные группы стероидных гормонов.

Стероидные гормоны в организме млекопитающих, включая человека, представлены, как известно, пятью (довольно близкими, по структуре) (табл. 8), различными по биологическому действию классами: глюкокортикоиды, минералокортикоиды, андрогены, эстрон и его гидроксильированные аналоги, а также прогестерон. Процессы их биосинтеза, начинаются с ацетилирования холестерина (Рис. 22) и, в последующем, тесно переплетаются, протекая в митохондриальной и микросомальных фракциях клеток коры надпочечников (Н), половых желез, а при беременности, и в плаценте.

В процессе образования прогестерона, глюко- и минералокортикоидов, а также на начальных этапах биосинтеза андро- и эстрогенов преобладают $\Delta^4 - \Delta^5$ превращения. При образовании андростендиона, вместе с утратой двухуглеродного линейного остатка, к ним добавляются изменения в 3, а для андростендиола гидрогенизация в положении C_{15} (Рис. 23).

Таблица 8. Структурные характеристики стероидных гормонов.

Гормон	К-во атомов углерода	Радикалы, расположенные в положениях:						Изменения (Δ) при углеродных атомах №№
		C ₃	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₃	C ₁₆	C ₁₇	
Кортизол	C ₂₁	= O	- CH ₃	- OH	- CH ₃		- OH, CH ₂ OH - C = O	$\Delta^{4,5}$
Кортизон	C ₂₁	= O	- CH ₃	= O	- CH ₃		- OH, CH ₂ OH - C = O	$\Delta^{4,5}$
Кортикостерон	C ₂₁	= O	- CH ₃	- OH	- CH ₃		CH ₂ OH - C = O	$\Delta^{4,5}$
Альдостерон	C ₂₁	= O	- CH ₃	- O -	- CH - OH		CH ₂ OH - C = O	$\Delta^{4,5}$
Тестостерон	C ₁₉	= O	- CH ₃		- CH ₃		- H, - OH	$\Delta^{4,5}$
Андростендион	C ₁₉	- OH	- CH ₃		- CH ₃		= O	$\Delta^{4,5}$
Андростерон	C ₁₉	- OH	- CH ₃		- CH ₃		= O	
Эстрон	C ₁₈	- OH			- CH ₃		= O	$\Delta^{1,2}, \Delta^{3,4}, \Delta^{5,10}$
Эстрадиол	C ₁₈	- OH			- CH ₃		- H, - OH	$\Delta^{1,2}, \Delta^{3,4}, \Delta^{5,10}$
Эстриол	C ₁₈	- OH			- CH ₃	- OH	- H, - OH	$\Delta^{1,2}, \Delta^{3,4}, \Delta^{5,10}$
Прогестерон	C ₂₁	= O	- CH ₃		- CH ₃		- CH ₃ - C = O	$\Delta^{4,5}$

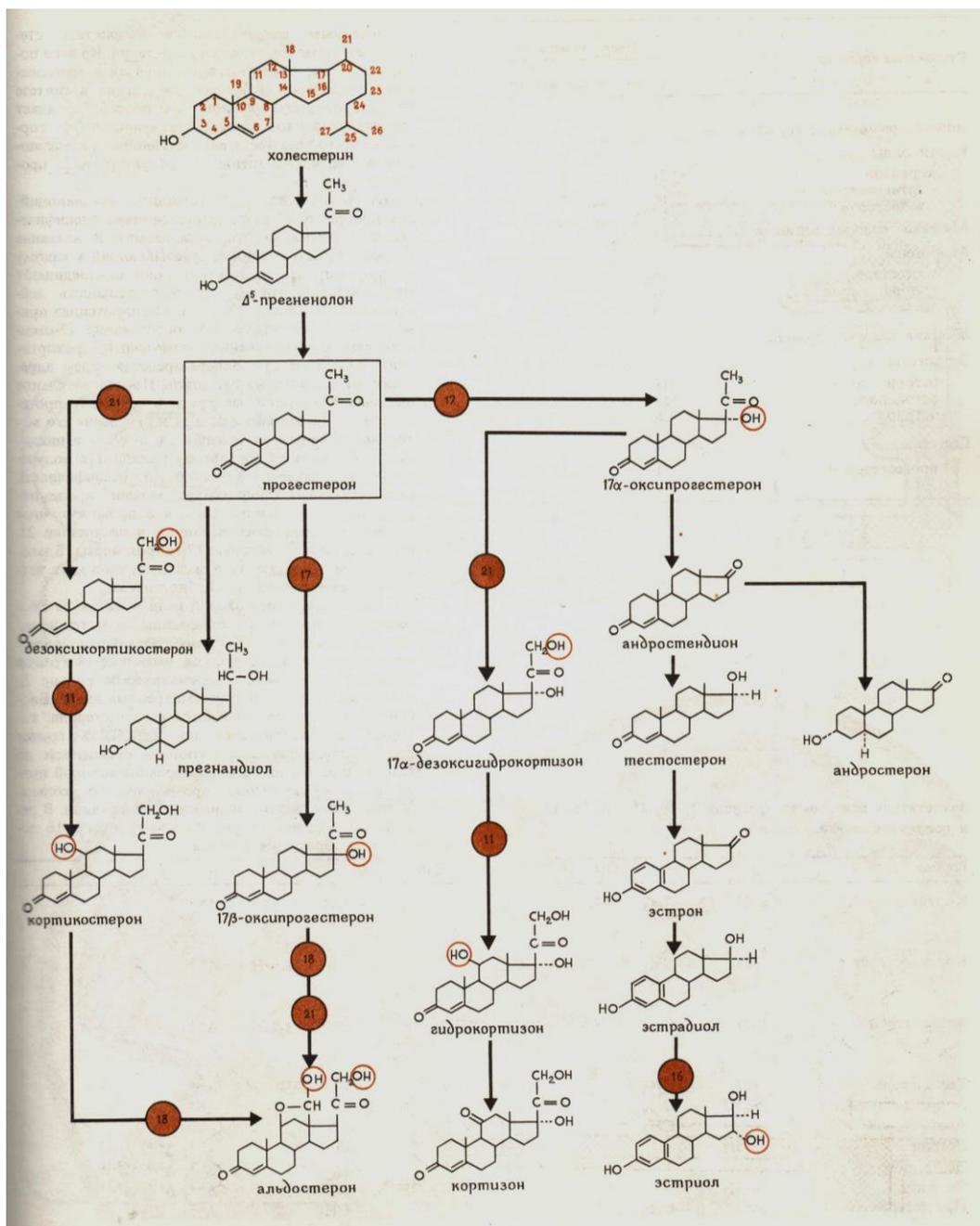


Рис. 22. Схема биосинтеза стероидных гормонов.

В процессе ароматизации тестостерона (Т) и/или андростендиола утрата метильной группы в 10 положении сочетается с образованием, в первую очередь, регулярных ненасыщенных связей в кольце А эстрогенов. Т.е., на завершающих этапах синтеза андро-

и, особенно, эстрогенов биотрансформация молекул этих групп стероидов приобретает всё более разнообразный характер, а они всё меньшую молекулярную массу и число атомов углерода.

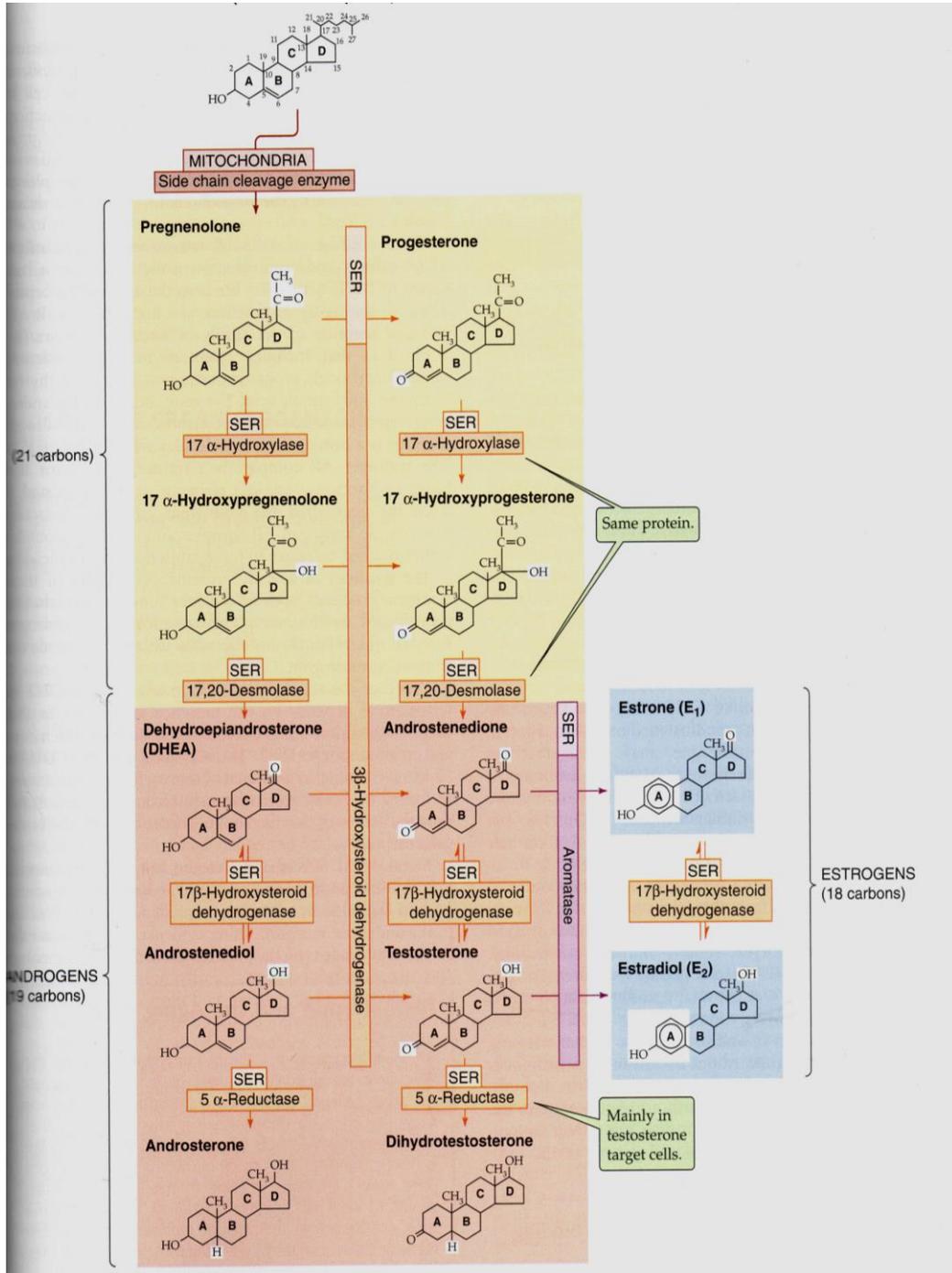


Рис. 23. Схема биосинтеза половых стероидных гормонов (Walter F. Boron, Emile L. Boulpaep. Medical physiology, second edition, 2009).

Кроме, приведенного выше, анализа последовательности биосинтеза основных групп стероидных гормонов, перед началом оценки воздействия на них ЧХУ и лецитина целесообразным нам представляется оценить соотношение концентраций изучаемых гормонов в крови. Установление соотношений плазменных пулов исследуемых стероидов позволит определить значимость полученных сдвигов. Данный параметр в сочетании с анализом характера биосинтетических реакций – выделить основное направление изменений, а при сопоставлении со структурными сдвигами в тканях коры надпочечников попытаться понять либо степень вовлечения в них непосредственно синтетических процессов либо экскреции гормонов.

В таблице 9 представлены концентрации в крови основных стероидных гормонов, являвшихся объектом данного исследования, с учетом физиологических, половых и суточных колебаний. Из приведенных данных видно, что наибольший уровень в плазме крови характерен для гидрокортизона, который составлял в усредненном виде 105×10^3 нг/л. Вторым по содержанию является прогестерон $12,5 \times 10^3$ и третьим тестостерон – 7×10^3 нг/л. Т.е., сдвиги со стороны данных показателей даже только в цифровом выражении, без учёта функциональных свойств, будут иметь особое преимущественное значение.

При анализе воздействия тетрахлорметана на содержание стероидных гормонов оказалось, что при 2-х недельном наблюдении отмечался прирост концентрации гидрокортизона в крови, особенно выраженный у самок. В то же время, уровень прогестерона снижался, в наибольшей степени, на 7 сутки ($\Delta = -50,5\%$; $p < 0,05$). Показатель

стремился к исходным величинам на 14 день, существенно превосходя предшествующий временной интервал на 104,4%.

Таблица 9. Уровень стероидных гормонов в крови [4].

№ п/п	Название стероидного гормона	К-во углеродных атомов	Условия регистрации	Концентрация в крови (нг/л)
1	Эстрадиол	18	Начало менопаузального периода	~ 30,0
			Середина меноп. периода	~160,0
			Овуляторный максимум	350,0-400,0
			Показатель у мужчин	20,0-30,0
2	Прогестерон	21	Предовуляторная фаза	300,0-400,0
			Овуляторный максимум	$10 \times 10^3 - 15 \times 10^3$
			Показатель у мужчин	~ 300,0
3	Тестостерон	19	Показатель у мужчин	$5 \times 10^3 - 9 \times 10^3$
			Свободный тестостерон	40,0-200,0
4	Гидрокортизон	21	Суточный минимум	$25 \times 10^3 - 115 \times 10^3$
			Суточный максимум	$50 \times 10^3 - 230 \times 10^3$

Содержание тестостерона на фоне повторных введений ЧХУ имело стойкую тенденцию к снижению, достигавшую на 7-14 сутки 76%-78% ($p < 0,05$) от исходных величин. Со стороны эстрадиола наблюдалось значительное повышение его концентрации на 132,7% через 3 дня после начала эксперимента, которое в последующем

имело менее выраженный характер и утрачивало статистическую значимость.

Суммируя эти изменения, можно сделать вывод о том, что в условиях интоксикации тетрахлорметаном усиливается образование гидрокортизона, включая интенсификацию его биосинтеза, о чем свидетельствует снижение уровня прогестерона, как одного из двух важнейших предшественников кортизола, и андрогенов. Этому способствовало угнетение синтеза андрогенов (вероятно, на уровне десмолазы) (рис. 24). Одновременно наблюдался рост концентрации эстрадиола, что, особенно на ранних этапах, усиливало снижение уровня тестостерона, являющегося субстратом для ароматазы. Продуктом деятельности данного фермента, как известно, является эстрадиол. Т.е., понижение концентрации тестостерона на фоне действия ЧХУ может являться результатом сочетания уменьшения уровня прогестерона с интенсификацией образования гидрокортизона, особенно на 3 сутки, активацией ароматизации Т в эстрадиол.

Данные заключения косвенно подтверждаются изменениями морфологической архитектуры коры надпочечников (КН). Сдвиги микроскопической картины корковой зоны Н, привлечение наше внимание, заключались в том, что применение тетрахлорметана приводило к существенному возрастанию нагрузки на эндокриноциты пучковой и сетчатой зон КН. Со стороны пучковой зоны (источника глюкокортикоидов) это проявлялось в увеличении диаметра и площади ядер эндокриноцитов, сочетавшимся с уменьшением ширины и деструкцией данной зоны. Такие сдвиги, вероятно, отражают значительное и стойкое возрастание биосинтетической активности клеток этого отдела коры надпочечников, сочетающегося с элементами перенапряжения данной клеточной субпопуляции.

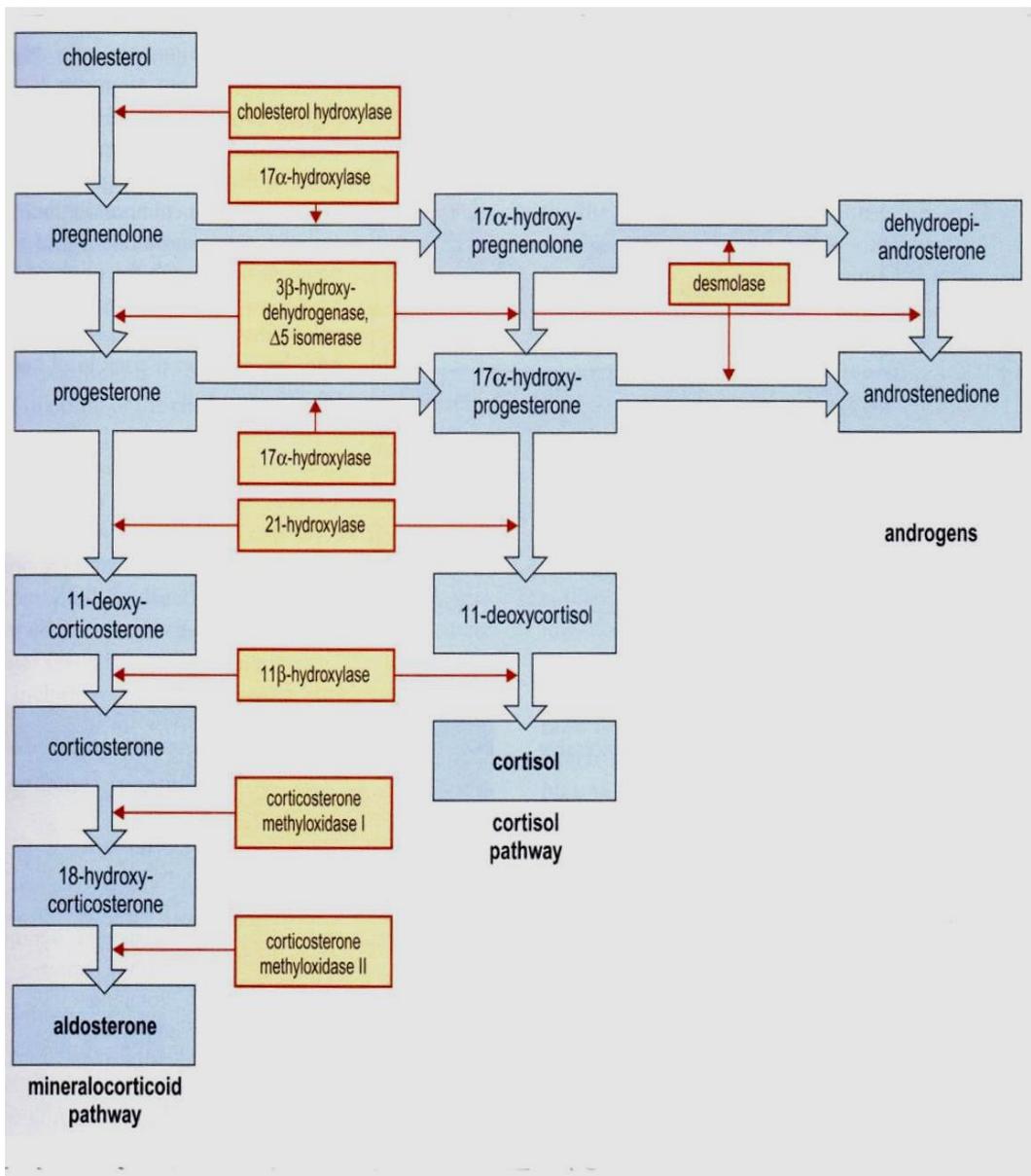


Рис. 24. Взаимоотношение биосинтеза основных групп стероидных гормонов (Walter F. Boron, Emile L. Boulpaep. Medical physiology, second edition, 2009).

Несколько другие изменения отмечаются в сетчатой зоне КН (СЗКН). Ширина данного слоя, при интоксикации тетрахлорметаном, была увеличенной параллельно с возрастанием площадей как коры, так и всего надпочечника. В этих условиях наблюдений имело место

стабильное увеличение диаметра и, несколько меньшее, площади ядер эндокриноцитов.

Приведенные сдвиги, по всей вероятности, свидетельствуют об: а) активации в клетках СЗКН биосинтетических (возможно, начиная с синтеза функционально активных белков) процессов; б) в сочетании со сдвигами содержания в крови половых стероидов (табл. 10), о перераспределении синтеза половых стероидов в пользу поддержания уровня (особенно выраженным на 14 день эксперимента) прогестерона, как предшественника образования, в первую очередь, гидрокортизона.

Таблица 10. Обобщенные сдвиги концентрации стероидных гормонов в крови крыс при интоксикации ЧХУ

№ п/п	Стероидные гормоны	Сроки интоксикации ЧХУ			Примечания
		3 сутки	7 сутки	14 сутки	
1.	Гидрокортизон	+	↑	+	
2.	Прогестерон	↑	- -	↑+++	
3.	Тестостерон	0	- - -	- - -	
4.	Эстрадиол	+++	↑	↑+	

Примечания: ↓↑ - тенденция к изменению показателя по сравнению с исходным фоном;
 +; +++; -; - -; - - -; - достоверные сдвиги параметров по сравнению с исходным фоном;
 ↑+; ↑+++ - сочетание тенденции к сдвигу концентрации гормона, по сравнению с исходными, с достоверными, при сопоставлении с предшествующими сроками, изменениями.

Учитывая, что процесс биосинтеза стероидных гормонов начинается с реакции ацетилирования холестерина, с уменьшением в прогестероне или прегненолоне атомов углерода до 21, мы посчитали целесообразным определить содержание холестерина в сыворотке крови.

Наблюдения показали (табл. 11), что в условиях повторных введений тетрахлорметана концентрация общего холестерина существенно, при сопоставлении с контролем, возрастала на 14,4 %, 31,3 % и 57,9 % соответственно на 3, 7 и 14 сутки наблюдений.

Таблица 11. Воздействие лецитинов на концентрацию общего холестерина (мМ/л) в сыворотке крови при интоксикации ЧХУ.

Серии наблюдений (к-во животных)	Стат. показатели	Сроки наблюдений			Примечания
		3 суток	7 суток	14 суток	
Контроль (6; 8; 6;)	М	1,53	1,28	1,21	
	±m	0,07	0,19	0,09	
Четыреххлористый углерод (6; 8; 10;)	М	*	*	*	
	±m	1,75	1,68	1,91	
ЧХУ + соевый лецитин (6; 6; 8;)	М	*	*	**	
	±m	1,86	2,02	1,38	
ЧХУ + подсолнечниковый лецитин (6; 6; 6;)	М	0,07	0,24	0,10	
	±m	1,90	1,70	* ●	
	±m	0,17	0,16	0,12	

Примечания: * - $p < 0,05$ при сопоставлении с контролем; ** - $p < 0,05$ по сравнению с ЧХУ; ● - $p < 0,05$ при сопоставлении с эффектами СЛ.

Подобные сдвиги означают, что в условиях интоксикации ЧХУ создаются метаболические предпосылки для активации

стероидогенеза, особенно выраженные к 14 дню исследований (рис. 25).

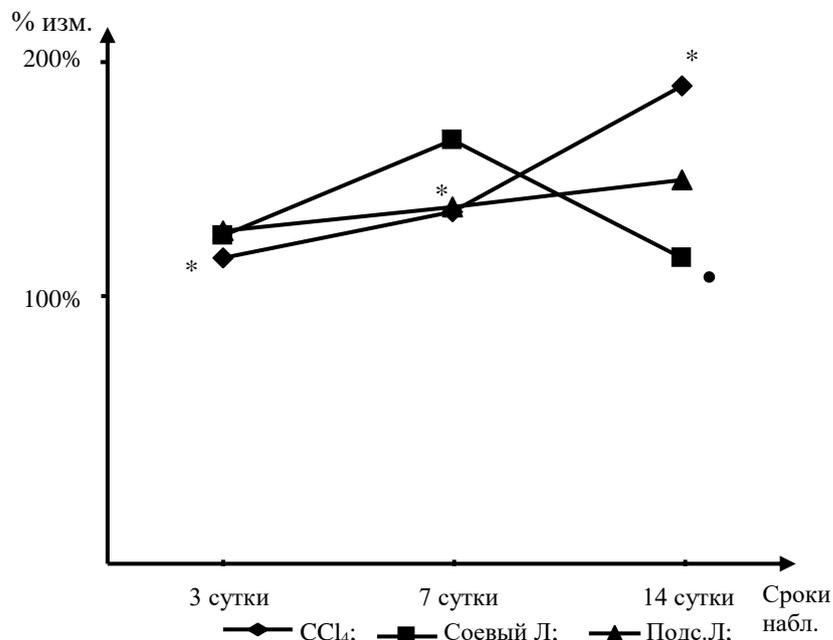


Рисунок 30. Влияние соевого и подсолнечникового лецитинов на концентрацию общего холестерина в условиях интоксикации четыреххлористым углеродом.

Примечания: по оси Y % изменения приведенные по сравнению с контролем; * - $p < 0,05$ при сопоставлении с контролем; - $p < 0,05$ по сравнению с эффектами ЧХУ.

Использование как лецитина сои (LS), так и лецитина подсолнечника (LSF) оказывало выраженное воздействие как на концентрацию стероидных гормонов в сыворотке крови, так и на структуру надпочечников белых крыс в условиях интоксикации ЧХУ.

Использование LS приводило к увеличению уровня гидрокортизона на 3-7 сутки как у самок на (31,0-35,0 %), так и в общем поголовье (на 21-25 %) крыс, сопоставимым с эффектами тетрахлорметана. Вместе с тем, на 14 день наблюдений содержание

гормона в общей группе было на 20,4 % ($p < 0,05$), а у самок на 34,2 % ниже, чем при воздействии CCl_4 .

Клетки пучковой зоны коры надпочечников характеризовались наличием большого количества липидных капель в цитоплазме, за счет чего последняя имела вид вспененной. Ядра имели сохранную форму и контур, располагались в центральной части клеток, были окрашены умеренно базофильно. Архитектура зоны была сохранена на протяжении всего срока наблюдений. Колонны клеток просматривались за счет ограничивающих их микрогемососудов, которые были расширены и легко визуализировались, т.к. характеризовались полнокровием. Клетки сетчатой зоны также были сохранены по гистологическим характеристикам. Сосуды здесь имели общую, уже описанную, тенденцию изменений, т.е. были расширены и полнокровны. Лецитин сои оказывал выраженное стимулирующее воздействие на орган, вызывая активную тотальную реакцию со стороны сосудов (в виде дилатации), усиление пролиферации герминативных клеток коры и интенсификацию накопления липидов в цитоплазме эндокриноцитов пучковой зоны.

В этих условиях не отмечалось признаков деструктивных процессов в пучковой зоне коры надпочечников, отмечавшихся при применении одного ЧХУ.

LS вызывал на 3-7 сутки эксперимента уменьшение уровня прогестерона в среднем на 35,0%, что незначительно отличалось от сдвигов, установленных в условиях интоксикации. Вместе с тем, необходимо отметить, что тенденция к росту концентрации данного гормона проявлялась ранее (на 7-14 день), а не только на 14 сутки, как при использовании самого тетрахлорметана. Вероятно, этим обусловлено менее выраженное падение содержания тестостерона в

сыворотке крови крыс, установленное в середине и к окончанию эксперимента.

Еще одним существенным отличием, наблюдавшимся при использовании лецитина сои, является предотвращение прироста концентрации эстрадиола, особенно ярко выраженное на 3 сутки исследований. Снижение данного показателя составляло, в этот период, 37,7% ($p < 0,05$) по сравнению с исходными и 73,2% ($p < 0,05$) при сопоставлении с эффектами ЧХУ.

Несколько иное влияние на уровень стероидных гормонов и морфологию коры надпочечников в условиях интоксикации ЧХУ оказывает лецитин подсолнечника.

LSF предотвращает рост концентрации гидрокортизона на фоне действия тетрахлорметана в общей популяции белых крыс. У самок данных грызунов увеличение содержания кортизола на 3 сутки эксперимента составляет 19,2 % ($p < 0,05$), что было, как и в последующие сроки наблюдений, несколько ниже, отмеченных при применении CCl_4 величин.

Пучковая зона КН, в этих условиях, была сформирована в большей степени клетками средних размеров с гомогенно оксифильно окрашенной цитоплазмой. Признаков клеточного набухания обнаружено не было. Клетки сетчатой зоны имели подобные, описанным выше, характеристики на протяжении всего эксперимента. В то же время, действие лецитина подсолнечника не вызывало выраженной реакции сосудов (лишь незначительное расширение в мозговом веществе и сетчатой зоне), а также заметного изменения морфо-функциональных параметров клеток коры. Архитектура компонентов органа в целом была сохранена в обеих группах.

При двухнедельном пероральном введении лецитинов, как и в условиях применения CCl_4 , площадь ткани железы существенно (на 20-40%) возрастала на протяжении 14 суток исследований. Необходимо отметить, что при введении LS прирост данного параметра был достоверно ниже на 7 (-18,3%) и 14 (-9,5%) дни наблюдений по сравнению с эффектами тетрахлорметана. Аналогичное воздействие на площадь надпочечников оказывало применение LSF, когда статистически значимое её снижение на 7 сутки составляло 19,7%, а на 14 – 7,7%.

Существенные изменения отмечались со стороны площади коркового вещества надпочечников, которая возрастала при использовании обоих лецитинов на 24,0%-28,0% в течении 3-7 дней по сравнению с контролем. К исходу двух недель применения достоверный прирост данного показателя составлял для LS-14,8%, а для LSF-7,5%. Вместе с тем, необходимо подчеркнуть тот факт, что возрастание площади коры надпочечника было меньшим, чем под влиянием ЧХУ, для лецитина сои на 7 сутки на 16,5% ($p < 0,05$), а для LSF- на 7 сутки на 15,0% ($p < 0,05$) и на 14 – на 10,8% ($p < 0,05$). Эти сдвиги хорошо совпадают и, вероятно, лежат в основе уменьшения общей площади железы. Кроме этого, они подтверждаются снижением доли площади коркового вещества в общей площади железы, которое имело статистически значимый характер при использовании LS на 3, а LSF на 14 дни эксперимента.

Применение в условиях интоксикации CCl_4 лецитина сои или подсолнечника приводит к существенному снижению площади надпочечников на 7-14 сутки наблюдений за счет уменьшения корковой их части и, преимущественно, ширины клубочковой и сетчатой её зон.

Использование лецитинов сравнительно слабо влияет на морфологические показатели ядер эндокриноцитов коры надпочечников по сравнению с тетрахлорметаном. Лецитин как сои, так и подсолнечника не блокирует тенденцию к увеличению диаметра и площади ядер во всех зонах коры надпочечников. Однако, и LS и LSF существенно уменьшают ДЯ пучковой и сетчатой зон на 3 сутки эксперимента по сравнению с эффектами ЧХУ. Использование лецитина сои уменьшает площадь ядер Э сетчатой зоны на 3, а LSF – на 3 и 14 дни наблюдений при сопоставлении с тетрахлорметаном.

Под воздействием лецитина подсолнечника снижение уровня прогестерона (при интоксикации ЧХУ) имело более выраженный характер, превышая порог статистической значимости на всём протяжении наблюдений.

Вместе с тем, уровень тестостерона существенно возростал, начиная с 3 суток эксперимента ($\Delta=+20,4\%$; $p<0,05$), а на 7-14 дни исследований в 3,5-5,5 раз превышал показатели, установленные в условиях применения тетрахлорметана. Содержание эстрадиола, в этих условиях, на 3-7 сутки существенно не отмечалось от контрольных и имело тенденцию к снижению по сравнению с установленными при введении CCl_4 величинами. На 14 день наблюдений указанная тенденция переходила в достоверное снижение на 46,2% по сравнению с воздействием тетрахлорметана.

Т.о., под влиянием LSF, как и LS прогестерон более активно используется в качестве предшественника тестостерона, стабилизируя уровень эстрадиола у белых крыс.

Установлены существенные отличия в эффектах LS и LSF на концентрацию стероидных гормонов в крови крыс при интоксикации ЧХУ. К ним относится способность LS повышать уровень

гидрокортизона, вероятно, за счет блокады синтеза всех групп половых стероидов, особенно выраженная на 3 сутки наблюдений. Для воздействия LSF характерными были стабилизация уровня гидрокортизона, активация образования тестостерона, особенно на 7-14 сутки, вероятно, за счет обеднения пула прогестерона и блокады синтеза эстрадиола на 14 день эксперимента.

Список литературы для дополнительного изучения

1. Дзяк Г.В. Лецитин и его биологические свойства: методическое пособие. / Г.В. Дзяк, А.Л. Дроздов, С.М. Шульга, И.С. Глух, А.И. Глух, М. Адаб, В.Н. Кравец. - Днепропетровск. - 2013.- 64 с.
2. Н.А. Юдаев, С.А. Афиногенова, А.А. Булатов и др. Биохимия гормонов и гормональной регуляции. М., «Наука», 1976 г. – 380с.
3. П.В. Сергеев. Стероидные гормоны. М.: Наука, 1984. - 237 с.
4. Н.У. Тиц. Клиническая оценка лабораторных тестов. М.: Медицина, 1986. – 480 с.
5. William J. Marshall, Stephen K. Bangert. Clinical Chemistry Sixth edition. – Edinburg, London, New York, Oxford, Philadelphia, St. Louis, Sydney, Toronto, 2008. - 470 p.
6. Robert B. Raffa, Scott M. Rawls, Elena Portyansky Beyzarov. Netter's Illustrated Pharmacology, First Edition, USA, 2005. - 180p.
7. Walter F. Boron, Emile L. Boulpaep. Medical physiology: a cellural and molecular approach, 2nd ed., Canada, 2009. - 341 p.
8. Г. В. Дзяк. Современные представления о биологических свойствах лецитина. / Дзяк Г. В., Дроздов А.Л., Шульга С. М., Глух И. С., Глух А. И., Кошелев О. С., Кравец В. Н., Куделя И. В. Методическое пособие.- Дн-вск. - 2010. - 36 с.
9. Дзяк Г. В. Порівняльна характеристика методів визначення складу соняшникового лецитину / Г. В. Дзяк, С. М. Шульга, О. Л. Дроздов, І. С. Глух, А. І. Глух, Т. А. Іващенко. Методичні рекомендації.- Дн-ск. - 2012. - 69 с.

10. Дзяк Г. В. Влияние соевого и подсолнечникового лецитинов на показатели функционирования печени при интоксикации тетрахлоретано / Г. В. Дзяк, Адаб М., А. Л. Дроздов, С.М. Шульга, И.С. Глух. Методическое пособие.- Дн-ск.-2014.- 35 с.
11. Дзяк Г.В. Токсикологическая характеристика лецитина, обогащенного фосфатидиэтаноламином / Г. В. Дзяк, А. Л. Дроздов, А. А. Марзан, И. С. Глух, А. И. Глух, О. И. Школа. Методическое пособие. Днепропетровск: 2014. – 32 с.
12. Дзяк Г.В. Стан та перспективи подальшого визначення споживних властивостей лецитину / Г. В. Дзяк, А. І. Вовк, А. І. Глух, І. С. Глух, С.В. Горобець, О. Л. Дроздов, Г. Г. Зубковська, О. Г. Родинський, С. М. Шульга. Методичні рекомендації, Київ-Дніпропетровськ:ПБП «Економіка». 2015.- 29 с.
13. Дзяк Г.В. Нейротропные свойства лецитина подсолнечника / Г.В. Дзяк, А. И. Глух, И. С. Глух, А.Л. Дроздов, А.Г. Зубковская, А.Г. Родинский, С. М. Шульга. Методическое пособие.- Днепропетровск: ПБП «Экономика», 2015.- 28 с.
14. Дроздов А. Л. Лецитин и кора надпочечников / Дроздов А. Л., Краснов А. А., Силкина Ю. В. Методическое пособие.- Днепропетровск: ЧМП «Экономика». 2016. - 64 с.
15. Дроздов А. Л. Лецитин и андрогены / А. Л. Дроздов, А. А. Марзан, М. Адаб, И. С. Свиргун. Методическое пособие.- Днепр: ЧМП «Экономика». 2016. – 48 с.