

О.В. Климяк, О.В. Бондзик, Є. М. Решетнік, С.П. Весельський, М.Ю. Макачук

## Особливості жовчоутворення у щурів різної статі за дії естрогену

*Досліджувався вплив естрогену (8 мкг/100 г) на зовнішньосекреторну функцію печінки та зміни в жовчнокислотному складі жовчі у щурів різної статі. Встановлено, що естроген достовірно змінював динаміку холерезу у самиць, а також зумовлював різнонаправлені зміни у жовчнокислотному складі жовчі самців і самицьок. Встановлено, що естроген у застосованій дозі більш ефективно стимулює жовчоутворення у печінці самиць щурів, яке супроводжувалося достовірними змінами в динаміці холерезу. Естроген зумовлював різнонаправлені зміни у жовчнокислотному складі жовчі, які свідчать про посилення процесів кон'югації жовчних кислот з таурином і гліцином в печінці самиць щурів. У самців збільшувався біосинтез вільних і кон'югованих діоксихоланових жовчних кислот.*

*Ключові слова: естроген, холерез, жовч, жовчні кислоти.*

### ВСТУП

Серед численних ендогенних факторів, які змінюють жовчосекреторну функцію печінки, значна регуляторна роль належить естрогенам [14]. Відомим є істотний вплив кастрації на жовчоутворення, при цьому характер і ступінь змін залежать як від видових, так і індивідуальних особливостей тварин, а також від часу, що збіг після кастрації [8]. Зокрема, видалення статевих залоз у білих щурів призводило до тривалого (до двох місяців) посилення холесекреції зі зниженням загальної концентрації холатів і білірубину в жовчі. Гіперсекреція жовчі у них відбувалася на фоні підвищення активності кислотої фосфатази та розширення перибіліарних ділянок локалізації її по периферії печінкових часточок, а також збільшення активності лужної фосфатази жовчних капілярів [1, 4]. Водночас введення екзогенних естрогенів і їх аналогів та зміна експресії естрогенових рецепторів призводять до інтенсифікації захоплення клітинами печінки холестерину з крові та збільшення його синтезу de novo в гепато-

цитах [11, 12, 15]. Отже естрогени регулюють численні метаболічні процеси в печінці. Разом з тим вони впливають на проліферативні процеси у біліарних трактах і змінюють секреторну активність холангіоцитів різними шляхами [2, 11].

Істотне значення відводиться естрогенам в розвитку патологічних станів гепатобіліарної системи [14, 15]. Саме їх вплив відіграє ключову роль у провокуванні захворюваності на жовчнокам'яну хворобу жінок [4, 10, 14, 15]. Встановлено значне зниження синтезу жовчних кислот у вагітних жінок, а також при терапії естрогенами в постменопаузі та застосуванні гормональних протизаплідних засобів [5, 15]. Варто зазначити, що при введенні в організм естрогенів, як і під час вагітності, разом зі зниженням синтезу та секреції жовчних кислот і фосфоліпідів посилюється виділення до жовчі холестерину [15]. Всі описані зміни спричинюють перенасичення ним жовчі з наступною нуклеацією його циклопентанфенантренових основ і утворенням ядер жовчних каменів, а отже викликають збільшення літогенності жовчі [14, 15].

© О.В. Климяк, О.В. Бондзик, Є. М. Решетнік, С.П. Весельський, М.Ю. Макачук

Слід відзначити, що концентрація одного з природних естрогенів – естрону (3-Оксиестра-1,3,5(1 О-триент-17-он) часто підвищується в крові впродовж вагітності. Естрон є метаболітом ферментативного перетворення естрадіолу, а також він надходить від плоду, де утворюється з сульфату дегідроепіандростерону у надниркових залозах [6]. Тож імовірно, що виявлені у жінок під час вагітності відхилення в процесах жовчоутворення певною мірою зумовлені значними змінами у співвідношенні стероїдних статевих гормонів. Нині відмічено зростання захворюваності на жовчнокам'яну хворобу і серед чоловіків та у людей з нормальною масою тіла [7]. У зв'язку з цим необхідним є порівняльне вивчення особливостей впливу естрогенів (зокрема естрону) в особин різної статі. Тому метою нашої роботи було дослідження впливу естрону на процеси жовчоутворення в печінці тварин та на якісні й кількісні характеристики продукрованої жовчі.

## МЕТОДИКА

Експерименти проведено на білих щурах масою 180–250 г, які перед дослідженням були позбавлені їжі на 18–20 год з вільним доступом до води. Під час гострого досліду тварини знаходилися під тіопенталовим наркозом (5 мг/100 г, внутрішньоочеревинно). Після лапаротомії у відпрепаровану жовчну протоку через надріз її стінки вводили тонку пластикову канюлю з приєднаною поліетиленовою трубкою, котра з'єднувалася з мікропіпеткою. Впродовж 30 хв після канюлювання жовчної протоки визначали вихідний рівень жовчовиділення за допомогою збору трьох 10-хвилинних порцій жовчі. Після цього дослідним тваринам внутрішньопортально вводили естрон (8 мкг/100г маси), розчинений у 200 мкл фізіологічного розчину. Контрольній групі тварин аналогічним способом вводили

відповідний об'єм фізіологічного розчину. Об'єм секретованої жовчі реєстрували кожні 10 хв протягом трьох годин досліду. Інтенсивність секреторної функції печінки оцінювали за середньою об'ємною швидкістю секреції жовчі, котру розраховували за об'ємом жовчі (нанолітри), що продукувалася впродовж однієї хвилини у перерахунку на один грам маси тіла. Крім того, розраховували сумарний об'єм жовчі, виділеної впродовж 30-хвилинних проміжків часу та за весь період досліду. У кожній півгодинній пробі отриманої жовчі методом тонкошарової хроматографії [3] визначали якісний і кількісний вміст жовчних кислот (таурохолевої, суміші таурохенодезоксихолевої та тауродезоксихолевої, глікохолевої, суміші глікохенодезоксихолевої та глікодезоксихолевої, вільної холевої, хенодезоксихолевої та дезоксихолевої). Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням стандартизованих методів варіаційної статистики (STATISTICA 6.0) з врахуванням критерію t Стьюдента. Нормальність розподілу результатів оцінювали за допомогою тесту Шапіро – Уїлка.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При дослідженні зовнішньосекреторної функції печінки, за умов гострого експерименту, необхідним є введення канюлі в загальну жовчну протоку, що призводить до розмикання ентерогепатичного круообігу жовчних кислот і виключає їх стимулювальну дію на холерез. У зв'язку з цим у контрольних дослідах як у самців, так і самиць поступово знижувалась об'ємна швидкість холесекреції впродовж трьохгодинного експерименту. У самиць зниження цього показника було дещо суттєвішим. У шостому півгодинному проміжку швидкість холесекреції у самців зменшилася на 10,1 %, а у самиць на 14,3 % порівняно з першим (вихідним) півгодинним проміжком (табл. 1). Кількість жовчі, що виділялася печінкою

Таблиця 1. Об'ємна швидкість холесекреції (нл · г<sup>-1</sup> · хв<sup>-1</sup>) у щурів за дії естроу (M±m; n=21)

Півгодинні проміжки дослідів	Самці		Самиці	
	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід
10.00–10.30	49,75±2,6	48,1±1,75	40,87±2,03	48,51±2,23
10.30–11.00	47,37±2,24	47,6±2,23	39,86±1,79	47,70±2,36
11.00–11.30	45,9±2,8	48,1±1,75	37,53±1,84	42,63±2,9
11.30–12.00	47,23±1,56	48,4±1,87	35,01±2,34	46,61±1,72**
12.00–12.30	44,71±1,2	49,4±2,7	35,01±2,34	50,02±1,4**

Тут і в табл. 2 \* P<0,05; \*\* P<0,01; \*\*\* P<0,001

самиць за весь дослід (у розрахунку на 1 г тканини) знизилася на 24,1% (P<0,05).

Аналізуючи якісні і кількісні характеристики отриманої жовчі слід зазначити, що загальний вміст жовчних кислот у всіх пробах контрольного дослідів у самців був значно вищим, ніж у самиць. Так, загальна концентрація жовчних кислот у жовчі самців у першій півгодинній пробі становила 492,46 мг% ± 21,8 мг%, а у самиць лише 430,86 мг% ± 18,2 мг%, тобто на 14,3 % була нижчою. В останній (шостій) півгодинній пробі контрольного дослідів загальний вміст жовчних кислот у жовчі самців перевищував такий у самиць на 15,2 % (P<0,05; табл. 2).

Співвідношення окремих жовчних кислот у жовчі самиць та самців мало певні особливості. Зокрема, якщо вміст таурохолевої та суми тауродіоксихоланових кислот майже не відрізнявся між собою в обох статей, то концентрація глікохолевої кислоти у жовчі самців була у 1,5–2,0 рази вищою (P<0,001). Водночас концентрація суми глікохенодезоксихолевої та глікодезоксихолевих кислот у більшості півгодинних проб жовчі самиць контрольного дослідів була вищою на 37,1–54,2 % (P<0,05) порівняно з відповідними пробами жовчі самців. Слід відмітити, що вміст як окремих вільних жовчних кислот, так і їх суми був дещо вищим (на 3,9–5,6 %) у жовчі самиць (див. табл. 2).

Внутрішньопортальне введення естроу зумовило суттєві зміни як в динаміці холерезу, так і в спектрі жовчних кислот у

жовчі, отриманій під час експерименту на щурах. Зокрема, під впливом цього гормону в самиць щурів спостерігалася хвилеподібне підвищення секреції жовчі печінкою. В першій півгодинній проміжок часу після введення естроу об'ємна швидкість холесекреції підвищилася на 18,69 % порівняно з контрольними значеннями (див. табл. 1). Стимулювальний ефект гормону в другому півгодинному проміжку дещо підсилювався і об'ємна швидкість секреції жовчі зросла на 19,67 % (P<0,05) порівняно з контролем. Жовчоутворення у третьому півгодинному проміжку частково загальмувалося. Найбільш потужне стимулювання холесекреції естроном відбувалося в четвертому та п'ятому (на 35,03 і 40,73 %; P<0,05; див. табл. 1) півгодинних проміжках. І як наслідок, за весь час експерименту сумарний об'єм секретованої жовчі у дослідній групі самиць порівняно з контролем збільшився на 19,55 %; P<0,05; див. табл. 1).

Естрон майже не впливав на холерез у самців впродовж першого півгодинного проміжку після введення препарату, уповільнюючи його лише на 3,0 %. Надалі відбувалося осциляційне підвищення жовчоутворення, особливо в третьому (на 4,7 %) та п'ятому (на 9,8 %) півгодинних проміжках порівняно з контрольними значеннями. Таке підвищення холерезу призвело лише до статистично незначного (на 2,9 %) збільшення загальної кількості отриманої жовчі у дослідних щурів-самців за весь дослід порівняно з контролем (див. табл. 1).

За дії естроу якісні і кількісні характе-

**Таблиця 2. Концентрація жовчних кислот (мг %) у жовчі щурів за дії естрогену ( $M \pm m$ ;  $n = 21$ )**

Півгодинні проміжки досліджу		Таурохолева кислота	Таурохенодезоксихолева і тауродезоксихолева кислоти	Глікохолева кислота	Глікохенодезоксихолева і глікодезоксихолева кислоти	Холева кислота	Хенодезоксихолева і дезоксихолева кислоти
Самці							
10.00–10.30	Контроль	182,94±6,5	110,02±4,1	151,44±6,5	23,60±2,6	15,48±2,1	6,74±0,4
	Дослід	196,75±5,4	114,75±4,2	119,54±14,4	33,88±2,8*	21,15±0,8*	11,31±0,8**
10.30–11.00	Контроль	180,60±6,4	106,46±3,6	147,30±6,3	22,16±2,5	14,84±1,9	6,50±0,4
	Дослід	215,05±5,2***	123,31±4,3**	126,25±15,5	34,88±2,5**	23,72±0,9***	13,15±1,1***
11.00–11.30	Контроль	178,50±5,9	103,70±3,8	144,74±6,5	21,70±2,1	15,04±2,0	6,46±0,5
	Дослід	209,40±4,8**	127,94±5,9**	113,25±12,6*	31,81±2,1**	22,40±1,0	12,38±0,8***
11.30–12.00	Контроль	172,50±5,4	100,08±3,1	136,64±9,1	20,14±1,9	15,82±2,0	6,86±0,5
	Дослід	211,97±5,9***	122,08±4,4**	113,51±12,2	33,50±2,0**	23,25±0,7**	11,35±0,5***
12.00–12.30	Контроль	166,22±6,8	95,24±3,4	132,12±8,5	18,74±1,9	16,74±1,8	7,16±0,5
	Дослід	197,50±7,6**	112,32±4,8**	105,77±10,3	28,10±1,0***	21,18±0,7	10,27±0,4***
Самиці							
10.00–10.30	Контроль	177,58±6,5	99,18±7,8	92,52±8,0	36,18±2,3	16,34±1,5	7,68±0,5
	Дослід	199,80±9,6*	92,35±3,7	82,87±3,7	26,42±2,2**	13,60±0,8	8,53±0,2
10.30–11.00	Контроль	171,76±6,3	96,00±7,6	70,56±16,0	34,18±2,3	15,26±1,4	7,88±0,5
	Дослід	202,87±10,2*	88,85±5,3	78,23±4,9	24,20±3,7*	14,47±0,8	8,47±0,2
11.00–11.30	Контроль	168,28±6,3	95,28±6,4	85,38±7,9	32,38±2,1	14,70±1,2	7,60±0,4
	Дослід	196,77±9,2**	86,50±5,2	74,07±5,2	24,35±2,0*	13,67±0,5	7,82±0,4
11.30–12.00	Контроль	163,10±6,3	93,82±7,4	81,06±6,8	29,72±2,1	15,34±1,6	7,56±0,5
	Дослід	197,73±9,6**	83,90±4,5	73,02±3,8	23,90±2,9	13,20±0,5	7,65±0,1
12.00–12.30	Контроль	159,72±6,1	90,38±6,5	77,84±6,1	27,20±1,9	15,76±1,3	7,92±0,6
	Дослід	189,70±8,9*	82,46±4,1	70,02±3,6	21,58±1,8	11,60±0,9*	7,06±0,2

ристики жовчі самиць і самців щурів змінювалися впродовж експерименту по-різному. Концентрація вільної холевой кислоти суттєво зросла впродовж усього експерименту у жовчі самців, з двома чіткими високодостовірними максимума змін у другій (60,1 %,  $P < 0,001$ ) та четвертій (47,5 %,  $P < 0,05$ ) півгодинних пробах порівняно з контролем (див. табл. 2). Концентрація цього метаболіту в пробах жовчі самиць, отриманих після введення препарату, була нижчою на 7,5–16,6 %, ніж у контрольних тварин, а в останній пробі досліджу ця різниця сягала достовірних значень і становила 26,6 % ( $P < 0,05$ ; див. табл. 2).

Зменшення концентрації холевой кислоти у жовчі самиць за дії естрогену ймовірно є

наслідком підвищеної її кон'югації з таурином, про що свідчить зростання концентрації таурохолевой кислоти у більшості проб (див. табл. 2). У жовчі самців вміст таурохолевой кислоти також підвищувався з відповідними максимумами змін у другій (19,1 %,  $P < 0,01$ ) та четвертій (22,9 %,  $P < 0,01$ ) пробі. Це разом з більш високою концентрацією холевой кислоти може свідчити не лише про активацію поліферментних систем, які здійснюють кон'югацію холатів з таурином, а також посилення біосинтезу останньої в тканині печінки самиць. Слід відмітити, що кон'югація цієї жовчної кислоти з гліцином під дією естрогену помітно знизилася, особливо в тканині печінки самців (див. табл. 2).

Загальна концентрація хенодезоксихолевої та дезоксихолевої кислот значно вища за дії естрогену у всіх півгодинних пробах жовчі щурів самців порівняно з відповідними контрольними значеннями, а максимальне підвищення її (більше ніж удвічі;  $P < 0,01$ ) спостерігалось в третій півгодинній пробі жовчі (див. табл. 2). Естрон не зумовлював підвищення вмісту вільних жовчних кислот у жовчі самиць. При цьому у всіх їх проаналізованих пробах виявили незначне зниження вмісту кон'югованих з таурином і гліцином діоксихоланових кислот (див. табл. 2). Це не виключає можливості їх часткового розбавлення завдяки стимуляції холерезу у самиць досліджуваним гормоном.

Слід зазначити, що окрім виявленого більш значного, порівняно з холевою кислотою, підвищення вмісту вільних діоксихоланових кислот, у жовчі самців спостерігалось і одночасне достовірне збільшення концентрації кон'югованих із таурином діоксихоланових кислот та, особливо, їх глікокон'югатів. Так, у другому півгодинному проміжку сумарна концентрація глікохено- та глікодезоксихоланових кислот у жовчі дослідних самців перевищувала таку контрольних тварин на 57,2 % ( $P < 0,01$ ). А в п'ятому півгодинному проміжку сумарна концентрація цих кислот була більшою за відповідні контрольні значення на 66,7 % ( $P < 0,01$ ). Таке суттєве зміщення рівноваги в бік підвищення вмісту діоксихоланових похідних може вказувати на те, що досліджувана доза естрогену сприяє не лише активації поліферментних систем, які забезпечують кон'югацію жовчних кислот, але і посилює їх біосинтез «кислим» шляхом із залученням мітохондріальних ферментів [4]. Останнє пов'язане з активацією гормоном процесів тканинного дихання у печінці [9]. Отже, виявлені за дії естрогену зміни холерезу та секреції окремих вільних і кон'югованих жовчних кислот у самиць і самців щурів вказують на комплексну дію

досліджуваного гормону на зовнішньосекреторну функцію печінки щурів. Не виключено, що виявлені, швидкі в часі метаболічні перебудови в певних ланках жовчнокислотного обміну можуть реалізовуватися завдяки швидкій взаємодії досліджуваного нами гормону з високоспіднятими до естрогенів мембранними та цитоплазматичними білками-рецепторами [1]. Швидкі та пролонговані в часі зміни у зовнішньосекреторній функції печінки ймовірно відбуваються завдяки багаторівневій взаємодії естрогену з іншими чинниками, включаючи перебудову нейрогуморальної системи з відповідними наслідками в перебігу фізіолого-біохімічних процесів у печінковій тканині.

Таким чином, естрон, введений внутрішньопортально в організм щурів в дозі 8 мкг/100 г достовірно стимулював холерез у самиць порівняно з контрольними тваринами. Навантаження організму щурів естроном зумовлювало суттєві і різнонаправлені зміни в процесах біосинтезу та кон'югації жовчних кислот у печінці дослідних тварин різної статі, що відображалось у певних змінах співвідношення вільних і кон'югованих жовчних кислот у жовчі тварин.

**О.В. Климяк, О.В. Бондик, Е. М. Решетник, С.П. Весельский, М.Ю. Макаруч**

#### **ОСОБЕННОСТИ ЖЕЛЧЕОБРАЗОВАНИЯ У КРЫС РАЗНОГО ПОЛА ПОД ВЛИЯНИЕМ ЭСТРОНА**

Исследовалось влияние эстрогена (8 мкг/ 100 г) на внешнесекреторную функцию печени и изменения в желчекислотном составе желчи у крыс разного пола. Установлено, что гормон в исследуемой дозе более эффективно стимулирует желчеобразование в печени самок крыс, которое сопровождалось достоверными изменениями в динамике холереза. Эстрон обуславливал разнонаправленные изменения в желчнокислотном составе желчи, свидетельствующем об усилении процессов конъюгации желчных кислот с таурином и глицином в печени самок крыс. У самцов наблюдалось увеличение биосинтеза свободных и конъюгированных диоксихолановых желчных кислот.

Ключевые слова: эстрон, холерез, желч, желчные кислоты.

**O.V. Klimyuk, O.V. Bonzik, E.M. Reshetnik,  
S.P. Veselsky, M. Yu. Makarchuk**

**PECULIARITIES OF BILE FORMATION  
IN RATS OF DIFFERENT SEX  
IN ESTRON INFLUENCE**

The influence of estron (8 µg/100g of animal's body weight) on the exocrine function of liver and the changes in bile acid composition of bile on different sex rats was studied. It was shown, that hormone at the applied dose, effected choleresis of female rats more effectively. Estron also caused different changes in bile composition. So, estron stimulated bile acid conjugation with taurine and glycine in female rat liver. Increasing of free and conjugated bile acid biosynthesis in male rats was observed.

Key words: estron, choleresis, bile, bile acids.

*Taras Shevchenko Kyiv National University*

**СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Бабичев В.Н. Рецепторные механизмы действия половых гормонов. Может ли рецептор работать без лиганда? // Проблемы эндокринологии. – 2006. – 52, № 1. – С.32–38.
2. Ведерникова Н.Н., Майский А.И. Анализ критериев специфичности действия половых гормонов на печеночную ткань // Успехи совр. биологии. – 1978. – 86, Вып.2. – С. 283–292.
3. Способ определения желчных кислот в биологических жидкостях: А.с.4411066/14 СССР, МБИ Г 01 N 33/50/ С.П. Весельский, П.С. Ляшенко, И.А. Лукьяненко (СССР). – №1624322; Заявлено 25.01.1988; Оpubл. 30.01.1991, Бюл. № 4.
4. Вишнякова Т.Г., Шныра А.А., Бочаров А.В. Выявление прямого регуляторного действия эстрогенов на гепатоциты, оцениваемого по изменению уровня особого эстроген-связывающего белка в первичной структуре клеток // Биохимия. – 1989. – № 4. – С. 694–701.
5. Жукова Л.А., Сумин С.А., Лебедев Т.Ю., Андреева Н.С., Гуламов А.А. Неотложная эндокринология: учебное пособие. – М.: Мед. информ. агентство, 2006. – 160 с.
6. Кишкун А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 800 с.
7. Корочина И.Э. Гастроэнтерологические аспекты метаболического синдрома // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2008. – 18. – С. 26–37.
8. Розен В.Б. Половые гормоны и их циторецепция в множественном контроле функций печени // Вестн. АМН СССР. – 1983. – № 2. – С.80–86.
9. Теппермен Дж., Теппермен Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы. – М.: Мир, 1989. – 653 с.
10. Alvaro D., Mancino M.G., Onori P., Franchitto A., Alpini G., Francis H., Glaser S., Gaudio E. Estrogen and pathophysiology of the biliary tree // World J. Gastroenterol. – 2006. – 12, № 22. – P.3537–3545.
11. Bravo E., Cantafora A., Avella M., Botham K. M. Metabolism of chylomicron cholesterol is delayed by estrogen. An in vivo study in the rat // Exp. Biol. Med. – 2001. – 226, №. – P.112–118.
12. Bravo E., Cantafora A., Cicchini C., Avella M., Botham K. M., The influence of estrogen on hepatic cholesterol metabolism and biliary lipid secretion in rats fed fish oil // Biochim. et Biophys. Acta – Molecular and Cell Biology of Lipids. – 1999. – 1437, № 3. – P.367–377.
13. Cirillo D. J., Wallace R. B., Rodabough R. J., Greenland P., LaCroix A. Z., Limacher M. C., Larson J. C. Effect of Estrogen Therapy on Gallbladder Disease // JAMA – 2005 – 293, № 3 – P.330–339.
14. Kalala S., Krishna M., Shah R., Lebovics E., Frishman W. H. Pstmenopausal hormone replacement therapy and the risk of calculous gallbladder disease // Clin. Geriatrics. – 2006. – 14, №3. – P.25–29.
15. Wang H. H., Afdhal N. H., Wang D. O-H. Overexpression of estrogen receptor β increases hepatic cholesterogenesis, leading to biliary hypersecretion in mice // J. Lipid Res. – 2006 – 47, № 4 – P.778–786.

*Київ.нац.ун-т ім. Тараса Шевченка*

*Матеріал надійшов  
до редакції 22.04.2011*