

ОБМІН ТЕСТОСТЕРОНУ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ З АЛОКСАНОВИМ ДІАБЕТОМ

В. М. Демченко, М. Д. Тронько

Лабораторія нейрогормональної регуляції розмноження і лабораторія патофізіології
Київського інституту ендокринології та обміну речовин

Увагу клініцистів і експериментаторів давно привертає проблема участі статевих залоз у патогенезі цукрового діабету та його ускладнень. Одним з найчастіших ускладнень при діабеті є порушення статевої функції, поєднане з ослабленням утворення статевих гормонів [1, 6, 7].

Цілком можливо, що при діабеті змінюється не тільки біосинтез андрогенів, але й їх метаболізм, що може привести до порушення балансу гормонів в організмі. В зв'язку з цим для більш повної оцінки андрогенної забезпеченості організму при діабеті необхідно вивчити їх обмін.

Методика досліджень

Досліди проведені на 12 білих щурах-самцях вагою 180—310 г. Всіх тварин поділили на дві групи. У 7 з 12 тварин I групи був викликаний експериментальний діабет шляхом внутрішньочеревного введення алоксану з розрахунку 175 мг/кг ваги. Перед введенням препарату щурів на 12—24 год залишали без їжі. Тваринам контрольної групи вводили в тій же дозі фізіологічний розчин. Концентрацію цукру в крові визначали за реакцією з ортотолуїдином [9]. Наявність діабету встановлювали за підвищенням концентрації цукру в крові понад 300 мг%.

Через 14 днів від початку розвитку діабету тварин заживали декапітацією. В них вилучали печінку, зважували її і гомогенізували в 0,25 М розчині сахарози при охолодженні до 3—5° С на протязі 1 хв. 25% гомогенат печінки інкубували з тестостероном при температурі 37° С на протязі 60 хв. Інкубаційна суміш об'ємом 5 мл складалася з 200 мкмоль трис-буфера, рН—7,4, 0,98 мкмоль НАДФ-Н₂, 50 мкмоль никотинамід, 75 мкмоль хлористого магнію й 100 мкг тестостерону. Вміст білка в пробі в середньому становив 40—50 мг. Білок визначали біуретовим методом. Екстракцію і очищення проб проводили за методом Крехової [2]. Для вивчення обміну тестостерону використовували метод двомірної тонкошарової хроматографії на закріпленому шарі окису алюмінію [3]. Екстракт інкубату печінки хроматографували в двох системах розчинників—метиленхлорид:етилацетат (80:1) і етанол:гексан:бензол (3:17:70). Для поліпшення якості розділення використовували повторне проходження розчинників у кожному напрямку. З метою ідентифікації виділених метаболітів тестостерону порівнювали рухливість цих сполук з рухливістю стандартів у різних хроматографічних системах, а також проводили якісні реакції з 2,4-динітрофенілгідрозином і сірчаною кислотою з етанолом при нагріванні від 80 до 180° С, які дають з окремими сполуками характерне кольорове забарвлення [8, 10]. Кількісне визначення 17-кетостероїдів проводили за допомогою реакції Ціммермана з м-динітробензолом. При кількісному визначенні тестостерону проводили попереднє окислення його в андростендіон за допомогою реакції з хромовим ангідридом в оцтовій кислоті з послідовним визначенням за реакцією Ціммермана. Розрахунок фракцій визначали по концентраційній кривій, побудованій для дегідроєпіандростерону.

Результати досліджень та їх обговорення

Проведені досліді показали, що через два тижні після введення алоксану у тварин першої групи розвивався експериментальний діабет.

Рівень цукру в крові у них був підвищений і дорівнював у середньому 422 ± 16 мг%. Водночас у контрольних тварин він становив $101 \pm 6,1$ мг%.

Обмін тестостерону в п

Порівнюючи м
вим діабетом та у
(рис. 1 і 2).

Так, в резуль
експериментальних
лено по десять сп

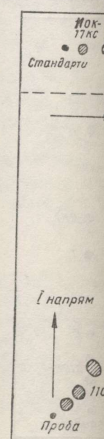


Рис. 1
Т — тестостерон,
андростендіон, Е —
11-кето-андрост

такі продукти обмі
рон, андростерон, ет
і 11-оксі-етіохоланол
рону, не ідентифіков
Згідно з даними
рону в печінці щурі
нянні з контрольни

Вміст метаболітів тес

Метаболіти тестос

- Тестостерон
- Андростендіон
- Дегідроєпіандростерон
- Андростерон
- Етіохоланол
- 11-оксі і 11-кето-андрост
- 11-оксі і 11-кето-етіохол

Порівнюючи метаболізм тестостерону в печінці щурів з алоксановим діабетом та у контрольних тварин, якісних змін ми не виявили (рис. 1 і 2).

Так, в результаті інкубації тестостерону з гомогенатами печінки експериментальних і контрольних тварин на хроматограмах було виявлено по десять сполук. Після проведеної ідентифікації були виявлені

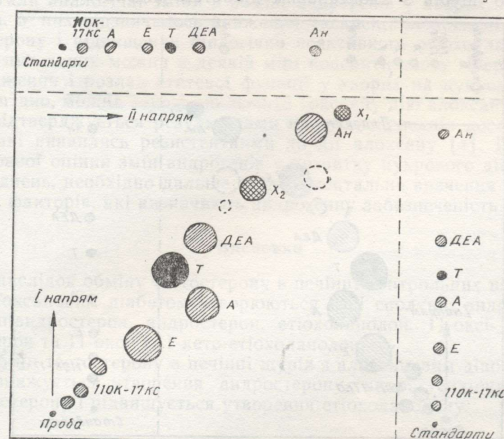


Рис. 1. Хроматограма контрольної проби інкубату.

Т — тестостерон, АН — андростендіон, ДЕА — дегідроєпіандростерон, А — андростерон, Е — етіохоланолон, 11-оксі- і 11-кето-етіохоланолон, 11-оксі- і 11-кето-андростерон, 11-ОК — 17-КС — 11-оксигеновані 17-кетостероїди.

такі продукти обміну тестостерону: андростендіон, дегідроєпіандростерон, андростерон, етіохоланолон, 11-кето- і 11-оксі-андростерон, 11-кето- і 11-оксі-етіохоланолон. Дві сполуки, утворені в процесі обміну тестостерону, не ідентифіковані і позначені на хроматограмах як X_1 і X_2 .

Згідно з даними, представленими в таблиці, інактивація тестостерону в печінці щурів з алоксановим діабетом трохи знижена в порівнянні з контрольними тваринами за рахунок зменшення утворення

Вміст метаболітів тестостерону в інкубатах печінки контрольних щурів і тварин з алоксановим діабетом

Метаболіти тестостерону	Вміст метаболітів тестостерону в мкг		
	Контроль	p	Алоксановий діабет
Тестостерон	13,3±0,88	<0,02	21,3±2,4
Андростендіон	10,2±0,75	<0,01	5,8±0,69
Дегідроєпіандростерон	8,5±0,8	<0,05	6,0±0,62
Андростерон	6,7±0,59	=0,02	4,2±0,73
Етіохоланолон	5,5±0,44	<0,05	8,1±1,05
11-оксі і 11-кето-андростерон	5,3±0,47	>0,05	4,0±1,1
11-оксі і 11-кето-етіохоланолон	7,4±0,38	>0,05	7,5±1,04

андростендіону, дегідроепіандростерону і андростерону. Якщо в печінці тварин контрольної групи утворювалось у середньому відповідно $10 \pm 0,73$, $8,5 \pm 0,8$ і $6,7 \pm 0,59$ мкг, то в печінці тварин підослідної групи — $5,8 \pm 0,69$, $6,0 \pm 0,62$ і $4,2 \pm 0,73$ мкг. Водночас при інкубації тестостерону з печінкою щурів з алоксановим діабетом відзначалось збільшення

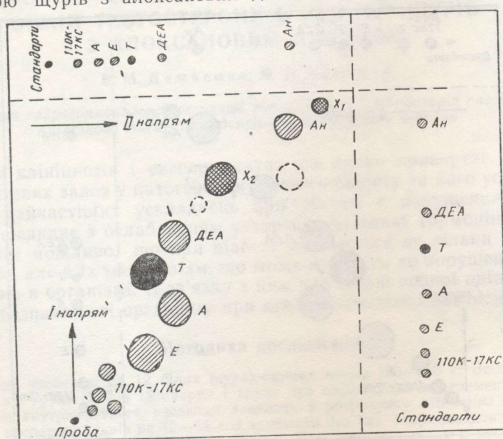


Рис. 2. Хроматограма дослідної пробі інкубати.
Умовні позначення див. рис. 1.

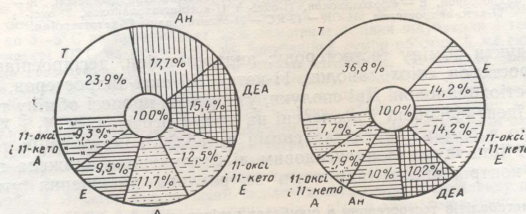


Рис. 3. Співвідношення тестостерону і окремих його метаболітів в інкубатах печінки контрольних щурів (зліва) і тварин з алоксановим діабетом (справа), в %.

утворення метаболіту етіохоланолону понад 1,5 раза, і в середньому воно становило $8,1 \pm 1,0$ мкг. При цьому спостерігалось зниження в 2,3 раза коефіцієнта андростерон/етіохоланолон з 1,23 в нормі до 0,54 при алоксановому діабеті. Утворення 11-оксигенових 17-кетостероїдів у тварин з алоксановим діабетом не змінюється.

При перерахунку продукції метаболітів тестостерону в печінці щурів з алоксановим діабетом у процентному відношенні також виявлено зміну його обміну (рис. 3).

Таким чином, наші дані свідчать про те, що у щурів з алоксановим діабетом відзначається порушення обміну тестостерону в печінці за рахунок зниження утворення андростендіону, дегідроепіандростерону і

андростерону та підвищеного вивільнення внаслідок чують метаболізм тестостерону. Зміни гормонів підшлункової спостерігали аналогічні зміни при інкубації тестостерону з печінкою щурів з алоксановим діабетом. У них відзначалося підвищення андростендіону і підвищення дегідроепіандростерону. Підставою цих даних можна вважати зниження і розлад стабільності метаболізму.

Вірогідно, можна також сказати, що це підтверджується результатами досліджень, які виявилися резистентними до більш повної оцінки змін андростендіону, необхідно давати інші фактори, які визначають метаболізм тестостерону.

1. Внаслідок обміну тестостерону з алоксановим діабетом дегідроепіандростерон, андростендіон та 11-окс- і 11-кетостероїди.

2. Обмін тестостерону в печінці: знижується утворення епіандростерону і підвищується

1. Арутюнян В. М. — Журн. 1962, 1, 1.
2. Крехова М. А. — Вопросы 1962, 1, 1.
3. Комисаренко В. П. — Д 1962, 1, 1.
4. Комисаренко В. П. — Т 1962, 1, 1.
5. Рындин М. Г. — Марч 1962, 1, 1.
6. Сополоверова И. М. — 29 ноября 1962, 366.
7. Шариевич И. Н. — Пробл. 1962, 1, 1.
8. Юдаев Н. А. — Биохимия 1962, 1, 1.
9. Muller D. — Z. med. Laborte 1962, 1, 1.
10. Rondini G., Belloni C. 1974.

TESTOSTERONE METABOLISM

V. N. De

Laboratory of Neurohormones
of Pathophysiology, In

Experimental diabetes in the alloxan in a dose of 175 mg/kg means of two-dimensional thin-layer chromatography. The studies show that testosterone metabolism is disturbed; the formation of androstenedione and dehydroepiandrosterone decreases and that of etiocholanolone increases.

андростерону та підвищеного утворення етіохоланолону. Мабуть, ці зміни відбуваються внаслідок порушення біохімічних процесів, які забезпечують метаболізм тестостерону в печінці, викликаний дефіцитом в організмі гормона підшлункової залози — інсуліну. Так, ряд дослідників [5] спостерігали аналогічні зміни в обміні андрогенів у хворих з цукровим діабетом. У них відзначалось зниження екскреції біологічно активного андростерону і підвищення біологічно неактивного етіохоланолону. На підставі цих даних можна в деякій мірі пояснити часту гіперхолестеремію, зниження і розлад статевої функції у хворих на цукровий діабет.

Вірогідно, можна також виключити токсичну дію алоксану на печінку. Це підтверджується результатами наших попередніх досліджень на щурах, які виявились резистентними до дії алоксану [4]. Проте, для більш повної оцінки змін андрогенів у розвитку цукрового діабету і його ускладнень, необхідно далі експериментальне вивчення біосинтезу та інших факторів, які визначають андрогенну забезпеченість організму.

Висновки

1. Внаслідок обміну тестостерону в печінці контрольних щурів і тварин з алоксановим діабетом утворюються такі сполуки: андростендіон, дегідроепіандростерон, андростерон, етіохоланолон, 11-оксі- і 11-кето-андростерон та 11-оксі- і 11-кето-етіохоланолон.

2. Обмін тестостерону в печінці щурів з алоксановим діабетом порушений: знижується утворення андростерону, андростендіону, дегідроепіандростерону і підвищується утворення етіохоланолону.

Література

1. Арутюнян В. М. — Журн. експер. и клин. мед., 1967, 3, 54.
2. Крехова М. А. — Вопросы мед. химии, 1965, 2, 60.
3. Комиссаренко В. П., Демченко В. Н. — Лабораторное дело, 1974, 2.
4. Комиссаренко В. П., Тронько М. Д. — Фізіол. журн. АН УРСР, 1973, 6.
5. Рындина М. Г., Марченко А. Г., Ларионова Г. П., Солодкова М. И. — В сб.: Материалы годичной научной конфер. эндокринол., М., 1970.
6. Сополоверова И. М. — В сб.: Тез. докл. Всес. конфер. эндокринол., М., 26—29 ноября 1962, 366.
7. Шарневич И. Н. — Пробл. эндокринол., 1970, 3, 96.
8. Юдаев Н. А. — Биохимия стероидных гормонов коры надпочечников, М., 1956.
9. Muller D. — Z. med. Labortechnik, 1965, 3, 169.
10. Rondini G., Belloni C., Pallucchini F. — Minerva pediatrica, 1967, 39, 1974.

Надійшла до редакції
24.1 1974 р.

TESTOSTERONE METABOLISM IN LIVER OF ALLOXAN-DIABETIC RATS

V. N. Demchenko, N. D. Tron'ko

Laboratory of Neurohormonal Regulation of Reproduction and Laboratory
of Pathophysiology, Institute of Endocrinology and Metabolism, Kiev

Summary

Experimental diabetes in the rats was induced by intraperitoneal administration of alloxan in a dose of 175 mg/kg. Testosterone metabolism in the liver was studied by means of two-dimensional thin-layer chromatography on aluminium oxide. The results of the studies show that testosterone metabolism in the liver of alloxan-diabetic rats is disturbed; the formation of androstenedione, dehydroepiandrosterone and androsterone decreases and that of etiocholanolone increases.