

BIOLOGY

Вплив кофеїнового аліментарного навантаження на вміст дегідроепіандростерон-сульфату у сироватці крові щурів різного віку та статі

В. В. Мізін¹, В. П. Ляшенко¹, С. М. Лукашов²

¹Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, м. Дніпро, Україна

²Лікувально-діагностичний науково-консультативний центр «Головний біль», м. Дніпро, Україна
Corresponding author. E-mail: valeriyamv@gmail.com

Paper received 25.08.18; Accepted for publication 30.08.18.

<https://doi.org/10.31174/SEND-NT2018-179VI21-06>

Анотація. Дослідили вплив аліментарного кофеїнового навантаження на рівень дегідроепіандростерон-сульфату (ДГЕА-С) у сироватці крові щурів різної статі п'ятих вікових груп. Встановили, що під впливом кофеїну рівень гормону вірогідно зменшився у самиць ювенільного віку, самиць молодого, зрілого та передстаречого віку. Вплив кофеїнового навантаження у самиць молодого та самиць ювенільного віку вірогідних змін не викликав. Натомість в старечому віці рівень ДГЕА-С за фізіологічних умов був найнижчий серед усіх вікових груп, а під впливом кофеїну його рівень значно збільшився. У самиць старечого віку значення рівня гормону збільшилось в 2,75 рази відносно контрольної групи даного віку.

Ключові слова: кофеїн, дегідроепіандростерон-сульфат, вікові групи, самці, самки.

Вступ. Кофеїн (1, 3, 7-триметил-ксантин), широко поширений у природі рослинний алкалоїд, є найбільш вживаною фармакологічно активною субстанцією на Землі. Понад 90% дорослих людей щодня споживають кофеїн у складі продуктів харчування, напоїв та лікарських препаратів, що входять до їх звичайного раціону. Без цих продуктів людина не уявляє свого життя, такий факт викликає занепокоєння, оскільки аналіз сучасної наукової бази не дає однозначних доказів на користь пропаганди або, навпаки, застереження від вживання продуктів, що містять кофеїн [3, 6, 10]. Вживання кофеїну має різноманітні системні наслідки, включаючи вплив на всі системи органів та особливо гуморальну систему регуляції. Крім того, при дослідженні впливу хімічної речовини на стан здоров'я треба враховувати такі чинники, як вік та стать. Оскільки одні й ті самі впливи у тварин різної статі та різних вікових груп викликають не тільки кількісно але й якісно різні реакції [2, 11].

При дослідженні впливу кофеїну та вікових змін багато авторів приділяють увагу дослідженню стану гуморальної системи регуляції [4, 8, 11]. Чутливим до дії зовнішніх та внутрішніх чинників є стероїдний гормон – дегідроепіандростерон-сульфату (ДГЕА-С), що сприяє утворенню та росту тканин, збільшенню міцності кісток, забезпечує стресостійкість організму [1, 5, 9]. Він бере активну участь в статевому розвитку організму і залежно від статі і потреб статевої системи може перетворюватися як в тестостерон, так і в естрадіол. Саме завдяки цьому гормону відбувається нормальний розвиток вторинних статевих ознак. Рівень ДГЕА-С досягає свого піку в репродуктивному періоді, після якого поступово його рівень починає знижуватись [7].

На нашу думку саме рівень ДГЕА-С в сироватці крові щурів може бути маркером не тільки багатьох патологічних станів організму, а можливо маркером метаболічних зсувів, які відбуваються в різні вікові періоди щурів різної статі.

Мета роботи – встановити наявність вікових та статевих відмінностей на рівень дегідроепіандростерон-сульфату у сироватці крові щурів під впливом кофеїну.

Матеріали і методи дослідження. Експерименти були проведені на нелінійних безпородних білих щурах

самця та самка, які були поділені на контрольну та експериментальну групи. Кожну з цих груп розподілили за віком на 5 груп: I група – щури ювенільного віку статевозрілого періоду; II група – молодого віку репродуктивного періоду; III група – зрілого віку репродуктивного періоду, IV група - передстаречого віку періоду старечих змін, V група - старечого віку періоду старечих змін, У тварин які надійшли в експеримент проводили карантин за всіма правилами зоогієни. Щури утримувалися у стандартних умовах для лабораторних тварин: у світлому приміщенні з постійною температурою 20 – 25 °C та вологістю 40 – 45%. У питній воді щурів не обмежували. До раціону годування щурів експериментальної групи, щодня протягом місяця в їжу додавали 150 мг/кг кофеїн-бензоат натрію (Дарниця).

Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 2005), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013).

Забір крові для визначення рівня гормонів проводили шляхом декапітації. Пробірку із кров'ю залишали при кімнатній температурі на 15 хвилин, потім центрифугували протягом 20 хв при 3000 об/хв. Для відділення сироватки від формених елементів центрифугували кров після утворення згустка при 1000 об/хв протягом 10 хв.

Визначення рівня дегідроепіандростерон сульфату проводили електро-хемілюмінесцентним методом на аналізаторі Elecsys 2010 від компанії Roche (виробник Швейцарія). Загальна тривалість аналізу: 18 хвилин. Перша інкубація: 15 мкл зразка інкубували з ДГЕА-А-специфічним біотинільованим антибіотиком, формуючи імуноконплекси, кількість яких залежить від концентрації аналіту у зразку. В залежності від концентрації аналіту у зразку і формування відповідного імунного комплексу зв'язуюча ділянка міченого антитіла частково заповнюється аналітом зразка, а частково рутенільованим гаптенем. Друга інкубація: Після додавання мікрочастинки, покритих стрептавідином, утворений комплекс зв'язувався з твердою фазою за допомогою взаємодії біоти-

ну і стрептавідину. Реакційна суміш аспірується в вимірювальну комірку, де мікрочастинки осідають на поверхню електрода в результаті магнітної взаємодії. Потім за допомогою ProCell / ProCell M видаляються не пов'язані речовини. Далі прикладена до електрода напруга викликає хемілюмінесцентну емісію, яка вимірюється фотопоможувачем. Результати визначаються за допомогою 2х-точкової калібрувальної кривої, отриманої для даного інструменту і референсної калібрувальної кривої, дані якої повідомлені штрих-кодів набору реагентів.

Статистичну обробку результатів усіх груп проводили за допомогою програми Origin 6.0 Professional методом парних порівнянь та кореляційного аналізу. Розраховували середнє значення та помилку середнього. Достовірність визначали за t-критерієм Стьюдента. Зміни рахувалися вірогідними при рівні значимості $P < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення.

Нами було досліджено вікові зміни рівня дегідроепіандростерон-сульфату у сироватці крові щурів різної статі за фізіологічних умов та під впливом щоденного аліментарного надходження кофеїну. Встановили, що рівень ДГЕА-С у самців контрольної групи ювенільного віку статевозрілого періоду складав $326,5 \pm 13,7$ нмоль/л (рис. 1). У щурів-самців контрольної групи молодого та зрілого віку даний показник вірогідно нижчий відносно щурів ювенільного віку на 31,5 % та 91,6 % відповідно. Рівень дегідроепіандростерон-сульфату у самців передстаречого віку контрольної групи вірогідно нижчий порівняно з щурами ювенільного віку та вищий в 2,64 рази відносно до щурів зрілого віку. В старечому віці контрольної групи рівень ДГЕА-С вірогідно нижчий в 5,8; 2,3 та 2,6 разів відносно самців ювенільного, молодого та передстаречого віку відповідно.

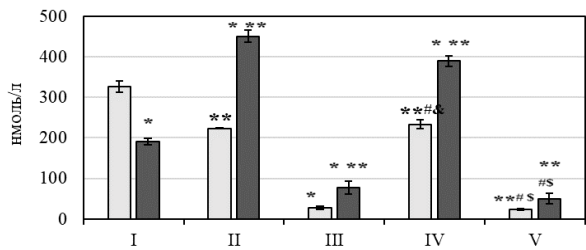


Рис.1. Рівень ДГЕА-С в сироватці крові щурів контрольної групи різного віку та статі, (M±m)

Примітка: I – щури ювенільного віку, II – щури молодого віку, III – щури зрілого віку, IV – щури передстаречого віку, V – щури старечого віку. Світло-сірим кольором позначені самці, темно-сірим позначені самиці.

*- вірогідність відносно самців відповідної вікової групи, при $P < 0,05$; ** - вірогідність відносно щурів ювенільного віку періоду статевого дозрівання, при $P < 0,05$; # - вірогідність відносно щурів молодого віку репродуктивного періоду, при $P < 0,05$; &- вірогідність відносно щурів зрілого віку репродуктивного періоду, при $P < 0,05$; \$ - вірогідність відносно щурів передстаречого віку періоду старечих змін, при $P < 0,05$.

У самиць ювенільного віку, що знаходились на звичайному без кофеїновому раціоні годування рівень ДГЕА-С складав $191,33 \pm 7,6$ нмоль/л. В молодому та передстаречому віці у самиць вміст даного гормону вірогідно збільшився відносно показників самиць контрольної групи ювенільного віку в 2,4 та 2 рази відповідно. В групах самиць зрілого та старечого віку вміст гормону навпаки вірогідно зменшився відносно показників самиць ювенільного віку. У самиць контрольної групи старечого віку рівень дегідроепіандростерон-сульфату

був вірогідно найнижчий серед усіх вікових груп самиць та складав $49,87 \pm 13,13$ нмоль/л. За результатами всіх контрольних вікових груп обох статей бачимо, що у самиць ювенільного віку періоду статевого дозрівання рівень ДГЕА-С вірогідно нижчий відносно самців. Натомість у самиць молодого, зрілого, передстаречого та старечого віку вміст даного гормону у сироватці крові вірогідно вищий порівняно з самцями відповідного віку.

Під впливом щоденного аліментарного надходження кофеїну рівень дегідроепіандростерон-сульфату у щурів самців ювенільного віку вірогідно знизився на 60% відносно показників контрольної групи (рис. 2). В молодому віці у самців експериментальної групи спостерігалась тенденція до підвищення рівня гормону, а в зрілому віці до його зниження. У самців експериментальної групи зрілого віку вміст гормону у сироватці крові знизився в 2,64 та 1,65 разів відносно самців експериментальної групи ювенільного та молодого віку. У самиць передстаречого та старечого віку експериментальної групи під впливом кофеїну вміст ДГЕА-С в сироватці крові вірогідно збільшився відносно показників самиць контрольної групи на 20,1% та 175,47% відповідно. Порівнявши рівень ДГЕА-С експериментальної групи старечого віку з іншими віковими групами, встановили тенденцію до зниження відносно показників експериментальних груп ювенільного, молодого та передстаречого віку.

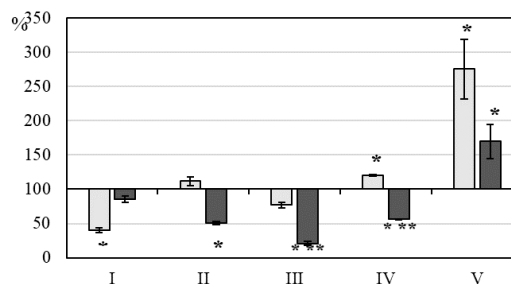


Рис.2. Зміни рівня ДГЕА-С в сироватці крові щурів експериментальної групи різного віку та статі, (M±m)

Примітка: I – щури ювенільного віку, II – щури молодого віку, III – щури зрілого віку, IV – щури передстаречого віку, V – щури старечого віку. Світло-сірим кольором позначені самці, темно-сірим позначені самиці.

*- вірогідність відносно показників щурів контрольної групи, при $P < 0,05$; ** - вірогідність відносно показників самців відповідного віку, при $P < 0,05$.

У самиць експериментальної групи ювенільного віку під дією щоденного надходження кофеїну спостерігалась тенденція до зниження рівня ДГЕА-С у сироватці крові на 14,45% відносно самиць даного віку контрольної групи. В молодому віці у експериментальних самиць рівень гормону вірогідно знизився на 49,12%. У самиць зрілого віку під впливом кофеїну рівень гормону вірогідно знизився на 79,02%, в передстаречому віці вірогідно знизився на 23,18%. Натомість в старечому віці у експериментальних самиць рівень ДГЕА-С навпаки збільшився на 69,84% відносно контрольної групи. Серед всіх вікових експериментальних груп самиць найнижчий вміст ДГЕА-С в сироватці крові був у самиць зрілого віку та складав $10,97 \pm 1,5$ нмоль/л. Найвищий рівень гормону був у самиць молодого та передстаречого віку $229,26 \pm 17,88$ нмоль/л та $218,34 \pm 4,99$ нмоль/л відповідно. Під впливом кофеїнового навантаження спостерігались схожі зміни вмісту ДГЕА-С у самців та самок. В зрілому

та передстаречому віці у самок рівень гормону вірогідно знизився відносно самців даного віку.

Наші дослідження показали, що за фізіологічних умов з віком у шурів відбулось зниження вмісту ДГЕА-С в сироватці крові. Під дією щоденного аліментарного впливу кофеїну рівень гормону вірогідно знизився у шурів самців ювенільного та зрілого віку, а також у самиць молодого, зрілого та передстаречого віку. Дане зниження рівня ДГЕА-С може свідчити про зменшення синтезу анаболічних гормонів в результаті чого можуть посилитись катаболічні процеси в організмі. Всі стероїдні гормони синтезуються з холестеролу, який переходить в прогестерон в подальшому з якого синтезуються катаболічні гормони. Якщо холестерол перетворюється в дегідроепіандростерон-сульфат, то далі синтезуються тестостерон та естроген. Напевно, вживання кофеїну призвело до пригнічення ланки синтезу ДГЕА-С. В результаті чого можуть посилюватись катаболічні процеси, погіршуватись всмоктування Ca^{2+} в кишківнику, репаративно-регенеративні процеси в кістках, накопичення іонів кальцію в клітинних мембранах та порушуватись робота кальцієвих каналів [9, 11]. Така ситуація може призводити до порушення обміну кальцію в організмі та порушення синтезу стероїдних гормонів, клітинних мембран та вітаміну D з холестеролу. Дані зміни можуть призвести до зниження рівня адаптаційних реакцій до дії внутрішніх та зовнішніх чинників, погіршенню метаболічних процесів, зниженню репродуктивної функції та передчасному старінню шурів навіть молодого та зрілого віку. В старечому віці у шурів самців та

самок за фізіологічних умов в наслідок вікових інволюційних змін рівень гормону в сироватці крові значно нижчий порівняно з іншими віковими групами. Тому, під впливом кофеїнового навантаження у шурів даної групи за рахунок компенсаторних процесів значно збільшився вміст ДГЕА-С в сироватці крові. Щоденний вплив кофеїну майже не позначився на рівні гормону шурів самців молодого та самиць ювенільного віку. Можливо припустити, що ці вікові групи є найбільш стійкими до аліментарного кофеїнового впливу та мають високий адаптативно-компенсаторний потенціал. Найбільш чутливими до аліментарного навантаження кофеїну виявились самці ювенільного віку та самки молодого і зрілого віку.

Висновки. Під впливом щоденного аліментарного надходження кофеїну вірогідні зміни рівня ДГЕА-С у самців були в ювенільному, передстаречому та старечому віці. Якщо в ювенільному віці спостерігалось різке зниження рівня гормону на 60%, то в передстаречому і старечому віці навпаки рівень гормону значно підвищився на 20,1% та 175,47% відповідно. Вплив кофеїнового навантаження у самиць ювенільного віку не викликав вірогідних змін, спостерігалась лише тенденція до зниження рівня ДГЕА-С. В молодому, зрілому та передстаречому віці рівень гормону в сироватці крові вірогідно знизився на 49,12%, 79,02% та 23,18% відповідно. В старечому віці у самиць, як і у самців вірогідно збільшився вміст гормону в сироватці крові на 69,84%, але в меншому відсотковому значенні порівняно з самцями в 2,5 разів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гончаров Н.П., Кацяя Г.В. Дегидроепіандростерон: биосинтез, метаболізм, біологічне діяння і клінічне застосування (аналітичний огляд) // Андрологія і генітальна хірургія, 2015. №16(1), С. 13-22.
2. Западнюк І.П., Лабораторні тварини. / І.П. Западнюк, В.І. Западнюк, Е.А. Захарія, Б.В. Западнюк. – Київ: Вища школа, 1983. – 383 с.
3. Cano-Marquina A, Tarin J.J., Cano A. The impact of coffee on health//Maturitas, 2013. P.7-21. doi:10.1016/j.maturitas.2013.02.002
4. Frey T, Platz E.A., Kanarek N., Bradswn G., et al Consumption of caffeinated beverages and serum concentrations of sex steroid hormones in US men // Cancer Causes Control, 2018. 29(1), P. 157-166. doi: 10.1007/s10552-017-0985-9.
5. Ludwig I.A., Clifford M.N., Lean M.E.J., Ashihara H., Crozier A. Coffee: biochemistry and potential impact on health // Food Funct, 2014. P. 1695-717. doi:10.1039/C4FO00042K
6. Miyazaki H, Takitani K, Koh M et al. Dehydroepiandrosterone alters vitamin E status and prevents lipid peroxidation in vitamin E-deficient rats // Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition, 2016. 58 (3), P.223-31. doi: 10.3164/jcfn.15-133
7. Nawata H, Yanase T, Goto K et all. Mechanism of action of anti-aging DHEA-S and the replacement of DHEA-S // Steroids, 2008. 73 (2), P. 209-15. doi:10.1016/j.steroids.2007.10.005
8. Nehlig A. Interindividual differences in caffeine metabolism and factors driving caffeine consumption // Pharmacol Review, 2018. 70(2), P. 384-411. doi: 10.1124/pr.117.014407.
9. Ohlsson C, Nethander M, Kindmark A. et all. Low Serum DHEA-S Predicts Increased Fracture Risk in Older Men: The MrOS Sweden Study // Journal of Bone Miner Research, 2017. 32 (8), P. 1607-14. doi: 10.1002/jbmr.3123
10. Poole R., Kennedy O.J., Roderick P., Fallowfield J.A., Hayes P.C., Parces J. Coffee consumption and health: umbrella review of meta-analyses of multiple health outcomes // BMJ., 2017. P. 11-16. doi: 10.1136/bmj.j5024.
11. Wedick N.M., Mantzoros C.S., Ding E.L., et al. The effects of caffeinated and decaffeinated coffee on sex hormone-binding globulin and endogenous sex hormone levels: a randomized controlled trial // Nutrition Journal, 2012. P. 1-6. doi:10.1186/1475-2891-11-86

REFERENCES

1. Goncharov N.P, Katsia G.V. Dehydroepiandrosterone: Biosynthesis, Metabolism, Biological and Clinical Application (Analytical Review) // Andrology and Genital Surgery, 2015. №16 (1), P. 13-22. (in Rus.).
2. Zapadnyuk I.P., Zapadnyuk V.I., Zakhariya Ye.A., Zapadnyuk B.V. / Laboratory animals. Kiev: Vyshcha shkola, 1983. 383p. (in Rus.).

Influence of caffeine nutritional load on the content of dehydroepiandrosterone sulfate in serum of rats of different age and sex

V. V. Mizin, V. P. Lyashenko, S. M. Lukashov

Abstract. The effect of alimentary caffeine load on the level of dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S) in the blood serum of rats of different sexes of five age groups was studied. It was found that under the influence of caffeine, the level of the hormone significantly decreased in males of juvenile age, females of young, mature and prescient age. Influence of caffeine load in males of young and females of juvenile age did not cause significant changes. But in the old age, the level of DHEA-S under physiological conditions was the lowest among all age groups, and under the influence of caffeine, its level increased significantly. In males of senile age, the value of the hormone level increased by 2,75 times with respect to the control group of this age.

Keywords: caffeine, dehydroepiandrosterone sulfate, age groups, males, females.