

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu
Katedra Żywienia Człowieka i Dietetyki

Ewelina Żuk

**Ocena wpływu fitoestrogenów sojowych na regulację
endogennej syntezy cholicy i gromadzenia lipidów
w wątrobie**

Praca doktorska

Promotor:

Prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Agata
Chmurzyńska

Poznań, 2024

Streszczenie

Stłuszczenie wątroby jest najczęściej występującym zaburzeniem funkcjonowania tego narządu. Jednym z kluczowych składników odżywczych, który przyczynia się do prawidłowej pracy wątroby jest cholina. Fosfatydylocholina, czyli jedna z postaci choliny, odgrywa istotną rolę w metabolizmie lipidów i zapobieganiu ich akumulacji w wątrobie. Efektywność endogennej syntezy fosfatydylocholiny zależy m.in. od enzymu PEMT kodowanego przez gen *PEMT*, którego aktywność jest zależna od poziomu estrogenów. Jak dotąd nie zbadano wpływu fitoestrogenów, które są zbliżone strukturalnie do estrogenów, na endogenną produkcję fosfatydylocholiny i funkcjonowanie wątroby. Sugeruje się jednak, że spożycie soi może pozytywnie wpływać na metabolizm lipidów w wątrobie.

Celem niniejszej dysertacji była ocena wpływu wybranych fitoestrogenów, tj. izoflawonów sojowych, na endogenną syntezę choliny i metabolizm lipidów u szczurów, zarówno w stanie niedoboru choliny w diecie, jak i prawidłowej jej podaży.

Przeprowadzono doświadczenie na modelu *in vivo* obejmujące 80 samców szczurów stada niekrewniaczego Wistar w wieku 8 tygodni. W pierwszym etapie badania zwierzęta zostały przydzielone do dwóch równolicznych grup po 40 osobników. W tej części eksperymentu, trwającej 4 tygodnie, jedna grupa spożywała karmę AIN-93M z prawidłową zawartością choliny (CD), a druga dietę z jej deficytem (CholDD). W kolejnym etapie każdą z tych grup podzielono na 4 podgrupy po 10 zwierząt, którym podawano tę samą dietę co w pierwszym etapie, ale z dodatkami izoflawonów sojowych, tj. genisteiną (CD-GEN lub CholDD-GEN), daidzeiną (CD-DAI lub CholDD-DAI) w dawce 0,5 g/kg diety lub gotowym ekstraktem izoflawonów z ziaren soi (CD-ISO lub CholDD-ISO) w dawce 2 g/kg diety. W trakcie trwania doświadczenia wykonano cotygodniowe pomiary masy ciała. Trzykrotnie przeprowadzono również analizę składu ciała z wykorzystaniem jądrowego rezonansu magnetycznego. W materiale biologicznym pozyskanym od zwierząt na koniec eksperymentu oznaczono z wykorzystaniem testów kolorymetrycznych lub immunoenzymatycznych, stężenia wybranych parametrów biochemicznych krwi, tj. glukozy, cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji LDL, HDL i VLDL, triacylogliceroli, enzymów wątrobowych, a w pobranym fragmencie wątroby stężenie fosfatydylocholiny. Dokonano również oceny morfologicznej skrawków wątroby oraz oznaczono wg metody Soxhleta zawartość tłuszczu w kale zebranym w ostatnim tygodniu doświadczenia. Analizę ekspresji wybranych genów (*Pemt*, *Ppar* γ ,

Srebp-1c, *Fasn*) w wątrobie szczurów na poziomie transkrypcji przeprowadzono z wykorzystaniem metody PCR w czasie rzeczywistym, natomiast oznaczenia białek PEMT, PPAR γ , SREBP-1c oraz FAS dokonano stosując metodę Western Blot lub ELISA.

Spożycie izoflawonów sojowych nie wpłynęło na ekspresję genu *Pemt*, a także na zawartości fosfatydylocholiny w wątrobie szczurów bowiem różnice istotne statystycznie między grupami zaobserwowano wyłącznie w odniesieniu do różnej zawartości choliny w diecie. Wykazano natomiast, że między grupami przyjmującymi różne fitoestrogeny sojowe występują różnice w poziomie ekspresji genów *Srebp-1c* i *Fasn* związanych z metabolizmem lipidów. Jednak ze względu na rozbieżności w wynikach na poziomie transkrypcji i translacji efekt ten wydaje się niejednoznaczny. Różnice w poziomie ekspresji genów *Pemt*, *Ppar γ* , *Srebp-1c*, *Fasn* zaobserwowano natomiast porównując ze sobą grupy spożywające prawidłowe ilości choliny w diecie i grupy przyjmujące karmę z deficytem tego składnika. Deficyt choliny w diecie istotnie zwiększył ekspresję genu *Pemt* na poziomie transkrypcji. Efekt ten nie przekładał się na ilość białka PEMT. Niedobór choliny w diecie wpływał również na zmiany w parametrach biochemicznych krwi. Zauważono bowiem różnice między grupami w stężeniu cholesterolu całkowitego oraz cholesterolu frakcji LDL i VLDL w surowicy krwi. Wśród grup spożywających dietę z deficytem choliny zauważono również łagodne zmiany morfologiczne w hepatocytach, tzn. akumulację drobnych kropeł lipidowych i powiększenie obwodu komórek. Nie wykazano zmian w zawartości tłuszczu w kale między poszczególnymi grupami bez względu na zawartość w dietach choliny i izoflawonów sojowych.

Podsumowując, fitoestrogeny sojowe mimo strukturalnego podobieństwa do estrogenów nie wpływają na zwiększenie endogennej syntezy choliny. Ich oddziaływanie na szlaki związane z metabolizmem lipidów wymaga dalszych badań. Potwierdzono natomiast negatywny wpływ niedoboru choliny w diecie na funkcjonowanie wątroby - 12-tygodniowy okres niedoboru spowodował widoczne w obrazie mikroskopowym zmiany w morfologii wątroby, a także wpłynął na niektóre parametry profilu lipidowego. Uzyskane wyniki stanowią potwierdzenie wcześniejszych badań i kolejną przesłankę do stworzenia zaleceń żywieniowych zwracających uwagę na odpowiednie spożycie choliny z dietą.

Słowa kluczowe: endogenna synteza choliny, izoflawony sojowe, stłuszczenie wątroby, ekspresja genów, metabolizm lipidów

Ewelina Żuk
15. 04. 2024 r., Pormon