

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

А.Б. Мітряєв, Р.І. Кратенко

Харківський державний
медичний університет

Зміна гормонального статусу організму щурів під впливом іонізуючої радіації та 12-краун-4

Alterations of rat organism hormonal status at exposure to ionizing radiation and 12-crown-4

Цель работы: Оценка гормонального статуса крыс, которые подвергались действию ионизирующей радиации и 12-краун-4.

Материалы и методы: Белые крысы экспериментальных групп подвергались действию ионизирующего облучения или одноразовой токсикации 12-краун-4 в 1/1000 ДЛ₅₀ в течение 15 суток. Изучение гормонального статуса организма животных осуществлялось радиоиммунологическими методами.

Результаты: Ионизирующее облучение и 12-краун-4 в основном снижали уровень простагландинов крови. У самок крыс экспериментальных групп уровень пролактина и гонадотропных гормонов крови оставался без изменений, тогда как концентрация эстрадиола увеличивалась, а тестостерона снижалась, что, возможно, объясняется повышенным превращением тестостерона в эстрадиол. Уровень кальцитонина в сыворотке крови крыс уменьшался под действием двух исследуемых факторов, однако концентрация Ca²⁺ оставалась без изменений, что, возможно, связано со снижением уровня простагландинов, поскольку они влияют на костную ткань подобно паратормону. Фактор 12-краун-4 уменьшал, а ионизирующая радиация повышала концентрацию инсулина в сыворотке крови крыс. Первый факт можно объяснить образованием защитной оболочки для инсулина, второй — снижением катаболизма данного гормона. Действие двух экспериментальных факторов также приводило к уменьшению уровня T₄ и увеличению T₃ в сыворотке крови.

Выводы: Действие 12-краун-4 и ионизирующего излучения приводит к дисбалансу гормонального статуса организма белых крыс, который проявляется в изменении концентраций простагландинов, репродуктивных, тиреоидных и других гормонов в сыворотке крови. Влияние 12-краун-4 и ионизирующего излучения имеет, в основном, неспецифический характер и может объясняться активацией микросомального окисления и свободнорадикальных процессов в тканях.

Ключевые слова: 12-краун-4, ионизирующее облучение, гормональный статус, простагландины, инсулин, кальцитонин.

Objective: To evaluate hormonal status of rats exposed to the action of ionizing radiation and 12-crown-4.

Material and Methods: White rats of experimental groups were exposed to ionizing radiation and single toxification with 12-crown-4 in 1/1000 LD₅₀ within 15 days. The investigation of hormonal status of rat organism was performed using radio-immune methods.

Results: Ionizing radiation and 12-crown-4 decreased the blood level of prostaglandins as general. Rat females of experimental groups had unchanged blood level of prolactin and gonadotropic hormones whereas the concentration of estradiol was elevated and that of testosterone diminished. This might be explained by enhanced conversion of testosterone to estradiol. The level of calcitonin in rat blood serum decreased at exposure to the both investigated factors, however Ca²⁺ concentration remained the same with the controls, which may be connected with the decrease in prostaglandin level, since prostaglandins influence the bone tissue in the parathyroid hormone-like way. 12-crown-4 decreased but ionizing radiation increased blood serum insulin concentration in rats. The first fact could be explained by the formation of protective sheath over insulin molecule, the second, by decrease in catabolism of this hormone. The action of the both experimental factors also resulted in T₄ level reduction and T₃ level elevation in the blood serum.

Conclusions: The action of ionizing radiation and 12-crown-4 results in disbalance of white rat organism hormonal status which manifests in alterations of prostaglandin, thyroid, reproductive, etc. hormone concentrations in the blood serum. The influence of ionizing radiation and 12-crown-4, in general, has a non-specific character and may be explained by activation of microsomal oxidation and free-radical processes on the tissues.

Key words: 12-crown-4, ionizing radiation, hormonal status, prostaglandins, insulin, calcitonin.

У наших попередніх повідомленнях була показана синергічність змін у стані біологічних мембран після дії іонізуючого випромінювання (ІВ) та 12-краун-4 [1, 2]. Такі дані дають підстави припустити наявність порушень у гормональному статусі організму експериментальних тварин (щурів) під впливом радіоімітера 12-краун-4, оскільки відомо, що біологічні мембрани відіграють істотну роль у процесах синтезу, секреції, реалізації ефектів та інактивації гормонів [3]. Зокрема, від стану плазматичних

мембран тироцитів залежать процеси поглинання йоду щитоподібною залозою, секреції йодованого тироглобуліну в порожнину фолікула та його поглинання клітинами. Ступінь проникності мембран лізосом тироцитів впливає на перебіг процесу гідролізу тироглобуліну та утворення вільних молекул трийодтироїну (T₃) і тироксину (T₄).

У літературі опубліковані дані, згідно з якими лізосоми реагують на вплив статевих гормонів дозозалежною лабілізацією та транслокацією

до плазматичної мембрани і потім (або одночасно) до ядра [4]; також вони беруть участь у створенні локусу на плазматичній мембрані для захоплення стероїдних гормонів [5].

Мембранний рецепторний апарат, від стану якого залежить виявлення ефектів білково-пептидних гормонів та похідних амінокислот, дуже чутливий до змін фосфоліпідного мікрооточення [3]. Крім того, реалізація впливу деяких гормонів цієї групи пов'язана з активацією мембранно-зв'язаного ферменту (фосфоліпази С), що синтезує вторинні посередники, використовуючи прекурсори ліпідного мікрооточення [6]. Ефекти інших гормонів залежать від аденілат- і гуанілатциклази — білково-ліпідно-вуглеводних комплексів, розташованих на внутрішній поверхні плазматичних мембран [3, 6].

Метаболізм ейкозаноїдів, речовин, які подібно до справжніх гормонів належать до сигнальних молекул, але на відміну від них утворюються не в залозах внутрішньої секреції, а безпосередньо в тканинах і, головним чином, виступають у ролі модуляторів гормональних ефектів, також тісно пов'язані із плазматичними мембранами [3].

Кілька наведених вище прикладів ілюструють необхідність дослідження змін ендокринної системи для комплексної оцінки механізму впливу ксенобіотиків на організм теплокровних тварин, тому метою нашої роботи була оцінка гормонального статусу щурів, що підлягали дії ІВ та 12-краун-4.

Методика дослідження

Дослідження виконано на білих щурах (самцях та самицях) лінії Вістар масою 200–220 г, розподілених на дві експериментальні та контрольну групи. Тварини експериментальних груп підлягали дії ІВ або пероральному одноразовому впливу водним розчином 12-краун-4 у 1/1000 ДЛ₅₀ протягом 15 діб. Умови експерименту описані в наших попередніх повідомленнях [1, 2]. Тварин експериментальних і контрольної груп декапітували на 15-ту добу гільйотинним ножом, із попередньою анестезією натрію тіопенталом (50 мг/кг в/б) [7].

Простаноїди визначали радіоімунологічними методами. При визначенні простагландину F_{2α} використовували діагностичний набір ізотопів АНВІР (ІІГ F_{2α}⁻³H для радіоімунологічного аналізу ПГ F_{2α}). Визначення простагландинів E₁ та E₂ проводили за допомогою радіоімунологічних наборів фірми «Amersham» (Англія) за методом В. Samuelson et al. [8].

Вивчення гормонального статусу білих щурів здійснювали радіоімунологічними методами. Визна-

чення лютеїнізуючого гормону (ЛГ) проводили за допомогою набору реактивів «FSHK-РК» фірми «Oris industrie S.A.» (Франція), пролактину — за допомогою набору реактивів «UPRLK-PR» фірми «Oris industrie S.A.» (Франція), прогестерону — набору реактивів «Стерон-ПНЗ», тироксину — «РІО Т₃-ПГ», трийодтироніну — «РІО Т₄-ПГ», інсуліну — «РІО-Инс. ПГ- 1251», розроблених Інститутом біоорганічної хімії АН Білорусі, тиротропіну — за допомогою набору реактивів «Ria-mdtTSH» фірми «Mallinckard Diagnostica» (Німеччина), АКТГ — набору «ACTHK-3R» фірми «Oris industrie S.A.» (Франція), кальцитоніну — набору реактивів фірми «Amersham International» (Англія).

Результати експериментів обробляли традиційними методами параметричної статистики за допомогою пакета програм STATGRAPHIC із використанням ПК.

Результати та їх обговорення

Активация вільнорадикальних процесів у тварин, що підлягали дії ІВ та 12-краун-4, супроводжувалась утворенням лізоформ фосфоліпідів і вивільненням поліненасичених жирних кислот [2]. Це може бути основою для активації циклу арахідонової кислоти. Однак, всупереч припущенню, ІВ та 12-краун-4, в основному, знижували рівень простагландинів у крові щурів (табл. 1).

Таблиця 1 — Вплив ІВ та 12-краун-4 на вміст простагландинів у крові білих щурів, нг/мл
Table 1 — Influence of ionizing radiation and 12-crown-4 on the amount of prostaglandins in the blood of white rats, ng/ml

Група	Чинник		
	PGE ₂	PGE ₁	PGF _{2α}
ІВ	854,7 ± 72,9*	6269,5 ± 508,9	12,29 ± 1,16
12-краун-4	997,8 ± 152,3*	5366,8 ± 318,5*	9,84 ± 0,52
Контроль	1862,9 ± 226,98	6823,17 ± 148,2	15,40 ± 3,01

Примітка. Тут і далі: * — розбіжності вірогідні, порівняно з контролем p < 0,05; кількість тварин — 7.

Як відомо, синтез простагландинів починається з реакції вивільнення арахідонової кислоти із фосфоліпиду за допомогою фосфоліпази А₂ [3]. Це реакція, що лімітує швидкість. Посилене утворення вільних радикалів приводить до стимуляції цього процесу, проте вивільнені кислоти піддаються перекисному окисненню й тому менше використовуються як субстрат для подальшого перетворення в простагландини. Крім того, є літературні дані, що при активації вільнорадикальних процесів відбувається заміна у другого атома вуглецю гліцерину ненасиченої кислоти на насичену [8].

Зниження рівня простагландинів може пояснюватися ще й тим, що для подальшого перетворення арахідонової кислоти необхідні

відновлений глутатіон як кофактор [3], а в тварин, що піддаються дії ІВ та 12-краун-4, спостерігається зменшення відновленого глутатіону [2].

Синтезувати та вивільняти простагландини до плазми крові здатні багато тканин — сім'яники, легені, печінка, мозок, мозкова речовина наднирникових залоз, серце, жирова тканина, травна система та ін. Таким чином, кров є, деякою мірою, «дзеркалом» утворення простагландинів у всьому організмі.

Проте не слід забувати, що простагландини швидко виводяться із циркулюючої крові й метаболізують у легенях, мозку, печінці та інших тканинах. Близько 80–90 % простагландинів руйнуються за 1 цикл проходження через легені або печінку [3].

Відомо, що PGE_1 є сильним інгібітором агрегації тромбоцитів, а PGE_2 підвищує їх адгезивні властивості [8]. Зменшення вмісту PGE_1 під впливом 12-краун-4 було вірогідним та більш значним порівняно з наслідками дії ІВ, тому можна констатувати, що 12-краун-4 змінював профіль вмісту простагландинів у напрямку, що сприяє агрегації тромбоцитів.

У деяких дослідженнях вважають, що роль еритроцитів у процесах коагуляції обмежується їх пасивною участю у формуванні тромбу, втім у літературі є дані, що свідчать про активну роль червоних кров'яних клітин у нормальному та патологічному гемостазі [9].

Важливу роль у реалізації прокоагулянтних властивостей еритроцитів відіграє фосфатидилсерин [10], а саме його розміщення на зовнішній мембрані еритроцитів. Згідно з літературними даними, інкубація еритроцитів з Ca^{2+} та кальцієвим іонофором викликає зміни у нормальній асиметрії фосфоліпідів та підвищення прокоагулянтних властивостей еритроцитів [9, 10]. За нашими даними, в мембранах еритроцитів щурів під впливом ІВ та 12-краун-4 істотно падав вміст фосфатидилсерину [2], прокоагулянтного фосфоліпиду. Зважаючи на це, можна стверджувати, що зменшення відсотка фосфатидилсерину в еритроцитарних мембранах та кількості еритроцитів у щурів під дією обох чинників сприятиме зменшенню участі еритроцитів у процесі коагуляції.

При дослідженні впливу ІВ та 12-краун-4 на вміст гормонів, що впливають на репродуктивну функцію, було виявлено, що у самиць експериментальних груп рівень пролактину та гонадотропних гормонів залишався без змін, рівень естрадіолу підвищувався, а тестостерону — знижувався (табл. 2).

Таблиця 2 — Вплив ІВ та 12-краун-4 на вміст гормонів репродуктивної функції у крові самиць білих щурів

Table 2 — Influence of ionizing radiation and 12-crown-4 on the amount of hormones which determine reproductive function in the blood of female white rats

Гормон	ІВ	12-краун-4	Контроль
ФСГ, од/л	7,73 ± 0,22	7,96 ± 0,17	8,05 ± 0,28
Пролактин, нг/мл	3,00 ± 0,09	3,03 ± 0,12	3,04 ± 0,07
ЛГ, од/л	7,20 ± 0,45	8,40 ± 1,03	7,20 ± 0,55
Естрадіол, нмоль/л	0,26 ± 0,01*	0,35 ± 0,02*	0,21 ± 0,01
Тестостерон, нмоль/л	1,76 ± 0,08*	1,81 ± 0,09*	2,60 ± 0,14

Отримані зміни у вмісті статевих гормонів на фоні відсутності змін у концентрації тестостерону в самців експериментальних тварин (контроль: 12,8 ± 0,59; ІВ: 15,33 ± 1,00; 12-краун-4: 12,52 ± 1,18), імовірно, можна пояснити підвищенням перетворенням тестостерону на естрадіол.

Рівень кальцитоніну у сироватці крові щурів зменшувався під впливом двох досліджуваних чинників, проте рівень кальцію залишався без змін (табл. 3). Відсутність змін у вмісті кальцію за умови зниження концентрації кальцитоніну можна пояснити зменшенням вмісту PGE_2 , що впливає на кісткову тканину подібно до паратгормону, спричиняючи мобілізацію Ca^{2+} із кісток, яка веде до гіперкальціємії.

Таблиця 3 — Вплив ІВ та 12-краун-4 на вміст Ca^{2+} та гормонів щитоподібної залози в сироватці крові щурів

Table 3 — Influence of ionizing radiation and 12-crown-4 on Ca^{2+} and thyroid hormone amount in the blood serum of rats

Гормон	ІВ	12-краун-4	Контроль
Кальцитонін, пкмоль	7,89 ± 0,86*	6,77 ± 0,81*	13,11 ± 0,80
Ca^{2+} , мкмоль	3,8 ± 0,2	3,9 ± 0,17	3,8 ± 0,2
ТТГ, МОд/л	13,4 ± 1,7	11,9 ± 1,6	11,4 ± 1,1
T_4 , нмоль/л	46,38 ± 1,73*	37,71 ± 2,06*	62,5 ± 4,07
T_3 , нмоль/л	2,73 ± 0,15*	2,05 ± 0,12*	1,37 ± 0,099

При дослідженні впливу ІВ та 12-краун-4 на вміст інсуліну в сироватці крові щурів було

виявлено залежність ефектів зазначених чинників від їхньої природи. Так, проти контролю ($46,11 \pm 2,77$), 12-краун-4 зменшував ($32,11 \pm 2,35$, $\rho < 0,05$), а ІВ збільшувало ($62,0 \pm 3,93$, $\rho < 0,05$) концентрацію інсуліну в сироватці крові щурів. Слід зазначити, що в експерименті ми визначали концентрацію вільного інсуліну. Зважаючи на це, зниження вмісту інсуліну під впливом 12-краун-4 можна пояснити утворенням захисної оболонки для інсуліну, тобто переходом інсуліну у зв'язану форму. Підвищення вмісту інсуліну під впливом ІВ, ймовірно, пов'язане зі зниженням його катаболізму.

Обидва чинники виявляли істотний вплив на концентрацію T_3 і T_4 , не викликаючи при цьому змін у вмісті ТТГ (табл. 3).

Дія ІВ та 12-краун-4 зменшувала концентрацію T_4 та збільшувала вміст T_3 у сироватці крові. Отримані зміни у вмісті T_4 можна пояснити зниженням синтезу тироїдних гормонів у щитоподібній залозі, незважаючи на незмінний вміст ТТГ. Як відомо, $PCGE_2$ здійснює на клітини щитоподібної залози стимулювальний вплив, подібний до ефектів ТТГ [11]. Крім того, низькі концентрації $PCGE_2$ більшою мірою, ніж високі, перешкоджають зв'язуванню ТТГ з мембранами тироцитів. За думкою авторів, це пояснюється тим, що $PCGE_2$ у низьких концентраціях зв'язується, перш за все, рецепторами з високою спорідненістю, які мають негативний кооперативний вплив на зв'язування ТТГ з рецепторами. При підвищенні концентрації $PCGE_2$ відбувається також зв'язування з рецепторами з низькою спорідненістю. Це може викликати конформаційні зміни молекулярних структур мембрани та «знямати» негативну кооперативну взаємодію між ТТГ та $PCGE_2$. Зниження концентрації $PCGE_2$, таким чином, приводить до зменшення його стимулювального впливу на тироцити. Не слід також виключати можливість зниження синтезу тироїдних гормонів за рахунок зменшення синтезу білків, у тому числі тироглобуліну. Зростання вмісту T_3 можна пояснити підвищеним перетворенням T_4 у більш активну форму T_3 .

Порівнюючи результати експериментів щодо впливу ІВ та 12-краун-4 на гормональний статус щурів, можна дійти висновку, що

тенденція зміни концентрацій гормонів була однотиповою (крім змін у концентрації інсуліну). Це доводить радіомітерні властивості 12-краун-4. Взагалі дія чинників на залози ендокринної системи може пояснюватися активацією мікросомального окиснення та вільнорадикальних процесів у тканинах [1, 2].

ВИСНОВКИ

1. Дія 12-краун-4 та ІВ призводить до дисбалансу гормонального статусу організму білих щурів, який проявляється у змінах концентрацій простагландинів, репродуктивних, тироїдних та інших гормонів у сироватці крові.
2. Вплив 12-краун-4 та ІВ має переважно неспецифічний характер і може пояснюватися активацією мікросомального окиснення та вільнорадикальних процесів у тканинах.
3. Однотиповість змін гормонального статусу під впливом ІВ та 12-краун-4 може вказувати на радіомітетичні властивості останнього.

Література

1. Жуков В.І., Мітряєв А.Б., Кратенко Р.І. Дія іонізуючого випромінювання та 12-краун-4 на активність антиоксидантної системи й інтенсивність ПОЛ // УРЖ. — 2002. — Т. X, вип. 1. — С. 37–40.
2. Кратенко Р.І., Мітряєв А.Б. Дія іонізуючого випромінювання та 12-краун-4 на фосфоліпідний склад еритроцитів та гепатоцитів білих щурів // Там же. — 2002. — Т. X, вип. 2. — С. 167–170.
3. Теппермен Д., Теппермен Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы (пер. с англ.). — М.: Мир. — 546 с.
4. Szego C.M., Seeler B.J., Steachman R.A. et al. // J. Biochem. — 1971. — Vol. 23, № 4. — P. 523–538.
5. Szego C.M., Seeler B.J. // J. Endocrinol. — 1973. — Vol. 56, № 3. — P. 347–360.
6. Сергеев П.В., Шимановский Н.Л. Рецепторы физиологически активных веществ. — М.: Медицина, 1987. — 400 с.
7. Ланг С.М., Уилсон Р.П. // Лаб. животные. — 1993. — Т. 3, № 2. — С. 100–101.
8. Samuelson B., Dahlen S.E., Lingren J. // Science. — 1987. — Vol. 237. — P. 1171–1176.
9. Andrews D.A., Low P.S. // Curr. Opin. Hematol. — 1999. — № 2. — P. 76–82.
10. Test S.T., Mitsuyoshi J. // J. Lab. Clin. Med. — 1997. — Vol. 130, № 2. — P. 123–125.
11. Гальчинская В.Ю. // Пробл. эндокринологии. — 1983. — Т. 29, № 2. — С. 78–81.

Дата надходження: 24.03.2003.

Адреса для листування:
Кратенко Роман Іванович,
кафедра біохімії ХДМУ,
пр-т Леніна, 4, Харків, 61022, Україна