

ВЛИЯНИЕ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ ЭСТРАДИОЛА В КРОВИ И ЕГО РЕЦЕПТОРОВ В ПЕЧЕНИ И МАТКЕ САМОК КРЫС

А.Д. Наумов

Учреждение образования «Витебская ордена “Знак Почета”
государственная академия ветеринарной медицины»

Проблема возможных последствий длительного воздействия малых доз ионизирующего излучения до последнего времени остается малоизученной. Сложность оценок и прогнозирования заключается в том, что при воздействии ионизирующих излучений организм играет активную роль из-за работы в нем клеточных репаративных систем, а также возможности адаптации к меняющимся условиям внешней и внутренней среды.

Цель статьи – раскрыть современное состояние проблемы малых доз ионизирующих излучений, акцентируя внимание на системах транспорта и рецепции эстрадиола при внешнем облучении организма.

Материал и методы. Эксперименты выполнены на беспородных лабораторных крысах-самках. Определение содержания эстрадиола в крови проводили с помощью стандартных диагностических наборов. При изучении состояния системы транспорта эстрадиола в крови и его рецепции в печени и матке применен радиолигандный метод.

Результаты и их обсуждение. Исследованы ранние и отдаленные эффекты острого и хронического ионизирующего излучения на динамику эстрадиола в крови и его рецепцию в органах-мишенях. Установлено, что внешнее гамма-облучение может сопровождаться не только изменением содержания эстрадиола в крови, но и модификацией на уровне взаимодействия гормонов с транспортными системами крови и рецепторных органов мишеней. Отмечено увеличение доли свободных фракций эстрадиола в крови, а также изменение количества цитозольных рецепторов эстрадиола в печени и матке экспериментальных животных.

Заключение. Острое и хроническое гамма-облучение оказывают дестабилизирующее влияние на функционирование системы транспорта в крови и рецепции эстрадиола в печени и матке самок крыс. Все это может привести к нарушению физиологических функций организма.

Ключевые слова: эстрадиол, кровь, содержание и транспорт стероидных гормонов, рецепторы эстрадиола, γ -облучение.

EFFECTS OF GAMMA RADIATION ON BLOOD ESTRADIOL LEVELS AND ITS RECEPTORS IN LIVER AND UTERUS FEMALE RATS

A.D. Naumov

Educational Establishment “Vitebsk State Order of “Badge of Honor”
Academy of Veterinary Medicine”

Research on the possible consequences of long-term low doses exposure to ionizing radiation remains scarce. The constraints associated with assessment and prognoses in these studies are linked with the activity of cell reparation systems that help organisms adapt to the changing internal and external environmental conditions.

This article looks into the current state of science with respect to small doses of ionising radiation. The main focus is on transport and reception of estradiol in an organism exposed to external radiation.

Material and methods. The experiments were carried out on unknown breeds of laboratory female rats. Standard diagnostic kits were employed to measure blood levels of estradiol. Examination of estradiol transport blood system and its reception in liver and uterus was performed through a radioligand method.

Findings and their discussion. This study has looked into early and delayed effects of acute and chronic ionizing radiation on estradiol blood dynamics and its reception in target organs. The findings are the following: external gamma radiation can cause not only a change in estradiol blood levels, but it also conditions the interaction of hormones with blood transport systems and target receptor organs. An increase has been found in blood levels of free estradiol fractions, and also a change in the number of cytosolic estradiol receptors in liver and uterus of the animals experimented upon.

Conclusion. Acute and chronic gamma radiation have a destabilizing effect on the blood transport system functionality and on estradiol reception in liver and uterus of female rats. All this can lead to a breakdown of physiological functions in the body.

Key words: estradiol, blood, steroid hormone levels and transport, estradiol receptors, γ -irradiation.

Известно, что одной из наиболее чувствительных к действию ионизирующей радиации является репродуктивная система [1–3]. Важная роль в регуляции репродуктивной функции принадлежит эстрадиолу, действие которого, как и других гормонов, определяется возможностью специфического взаимодействия с рядом транспортных

и рецепторных белков. Половые стероидные гормоны циркулируют в крови в виде свободных гормонов и связанных форм-комплексов с белками плазмы и форменными элементами крови. Считается, что на уровне клетки-мишени проявляет активность именно свободный гормон. Роль же связывания стероидов заключается в изменении доли доступного гормона и во влиянии на скорость клиренса крови от секретируемого или получаемого гормона [4–6].

В научной литературе практически отсутствуют данные о состоянии системы транспорта и рецепции эстрадиола при γ -облучении организма, а такие сведения могут быть полезными при выяснении изменения механизмов действия гормонов в случае развития патологических процессов.

Цель статьи – раскрыть современное состояние проблемы малых доз ионизирующих излучений, акцентируя внимание на системах транспорта и рецепции эстрадиола при внешнем облучении организма.

Материал и методы. Работа проводилась на базе Государственного научного учреждения «Институт радиобиологии» НАН Беларуси. Эксперименты выполнены на беспородных лабораторных крысах-самках с соблюдением всех правил проведения работ при использовании экспериментальных животных (стандартный уход и содержание в виварии, адаптация к условиям эксперимента, соблюдение асептики и антисептики при операциях).

В экспериментах применялись 6-месячные крысы. Изучение содержания, транспорта и рецепции эстрадиола проводилось после однократного внешнего γ -облучения в дозах 0,25; 0,50 и 1,00 Гр на установке «ИГУР» (^{137}Cs) с мощностью дозы 6,20 сГр/мин в различные сроки после воздействия у молодых (6–7 мес.) экспериментальных животных. Хроническое облучение животных осуществлялось на установке «Гаммарид 192/120» при мощности облучения 0,44 мГр/час с продолжительностью облучения при дозе 0,25 Гр 26 дней, при дозе 0,50 Гр 52 дня.

Определение содержания эстрадиола в крови проводили с помощью стандартных диагностических наборов ХОП ИБОХ НАН Республики Беларусь.

При изучении состояния системы транспорта стероидных гормонов в крови в качестве лиганда использовали [2,4,6,7]- ^3H -эстрадиол («Изотоп», Санкт-Петербург).

Аликвоты образцов сыворотки крови, с учетом степени ее разведения, инкубировали в течение фиксированных временных интервалов при 0–4°C в буферной среде (20 мМ Трис-HCl, 10% глицерин, pH-7,4) с меченым тритием эстрадиолом в концентрации 0,2–20,0 нМ. Инкубация образцов велась по следующей схеме: в пробирки последовательно вносили 1 мл буферного раствора, затем 0,1 мл раствора меченого гормона в буферном растворе, затем 0,1 мл 200-кратного избытка немеченого аналога гормона, в случае проб с подавлением специфического связывания метки, или 0,1 мл буфера в случае проб без подавления. Реакцию запускали последующим внесением 0,6 мл разведенного в буферном растворе образца сыворотки крови. Несвязанный гормон удаляли методом твердофазной адсорбции на декстран-покрытом угле (активированный уголь Norit A – 0,5%, декстран Т-70 – 0,05%), в соотношении 9:1. Длительность адсорбции составляла 2–3 минуты с последующим осаждением при 3000 g в течение 3–5 минут, эффективность разделения – не менее 95%. Рецепцию эстрадиола в печени и матке самок крыс проводили, как описано ранее [7].

Результаты обрабатывали статистически с применением t-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Одним из свидетельств раннего нарушения в нейроэндокринной системе при общем внешнем облучении является изменение содержания гормонов в крови. Из полученных нами данных следует, что внешнее γ -облучение 6-месячных крыс-самок в дозах 0,25; 0,50 и 1,00 Гр не сопровождается существенным изменением содержания эстрадиола в крови на 10-е и 30-е сутки после указанного воздействия. Статистически значимые изменения обнаружены лишь на 3-и сутки после облучения в дозе 1,00 Гр и выражаются в увеличении (на 30%) уровня гормона в крови (табл. 1).

Таблица 1

Концентрация эстрадиола в сыворотке крови 6-месячных крыс-самок при внешнем остром γ -облучении в дозах 0,25; 0,50 и 1,00 Гр (нмоль/л)

Сроки после облучения (сутки)	Доза облучения (Гр)	n	Возраст животных (мес.) 6
Контроль		9	0,41±0,08
3	0,25	5	0,40±0,07
	0,50	6	0,46±0,09
	1,00	8	0,62±0,10*
10	0,25	5	0,37±0,07
	0,50	6	0,47±0,08
	1,00	8	0,35±0,07
30	0,25	5	0,39±0,08
	0,50	6	0,42±0,09
	1,00	8	0,47±0,09

Примечание: * – различия достоверны по отношению к контролю ($P < 0,05$).

Изучение системы транспорта эстрадиола производилось *in vivo*, для чего самкам интактных и гамма-облученных крыс внутрибрюшинно вводили по 10–20 мкг/кг массы ³H-стероида.

В ходе исследований было установлено, что количество стероидов в крови после инъекции в течение первого часа быстро увеличивается и в дальнейшем (2–3 часа) остается на высоком уровне. Следует отметить, что максимальное связывание меченных тритием стероидов с белками плазмы наблюдается через 1,5–2 часа после введения гормона, что послужило основанием для определения связанного эстрадиола в плазме крови в этот временной период. Разделение связанной и свободной формы гормонов проводили суспензией активированного угля.

Особенности взаимодействия ³H-эстрадиола с транспортными белками плазмы крови самок крыс представлены в табл. 2. Как следует из полученных данных, при дозе 1,00 Гр наблюдается небольшое увеличение доли свободного стероида на 10-е сутки, после воздействия.

Облучение самок-крыс в дозе 0,50 Гр не сопровождалось существенными изменениями в количестве связанного с белками и свободного эстрадиола.

Таблица 2

Распределение ³H-эстрадиола в плазме крови 6-месячных крыс-самок при внешнем остром γ -облучении в дозах 0,50 и 1,00 Гр ($M \pm m$)

Сроки после облучения (сутки)	Доза облучения (Гр)	n	Возраст животных (мес.)	
			6	
			содержание эстрадиола, фмоль/мг белка	
			общее	связанное
Контроль		6	6,50±0,45	5,90±0,65
10	0,50	5	6,25±0,50	5,35±0,50
	1,00	6	7,70±0,50	4,35±0,50*
30	0,50	5	7,05±0,65	5,85±0,50
	1,00	5	6,80±0,40	5,05±0,35

Примечание: * – различия достоверны по отношению к контролю ($P < 0,05$).

Изучение цитоплазматической рецепции эстрадиола после однократного внешнего γ -облучения проводилось в гормонзависимых (матка) и гормончувствительных (печень) тканях.

Из полученных данных следует, что после острого γ -облучения крыс-самок наблюдаются однонаправленные, более выраженные при дозе облучения 1,0 Гр по сравнению с 0,5 Гр, изменения содержания рецепторов эстрадиола.

Снижение содержания рецепторов как в матке, так и в печени ($P < 0,05$) происходит к 3-му дню после указанных воздействий с последующим постепенным увеличением мест специфического связывания гормона.

Таким образом, результаты исследований взаимодействия эстрадиола с цитоплазматическими белками печени и матки облученных самок крыс свидетельствуют о том, что в этих органах сохраняется высокоспецифическое связывание стероидов.

Из анализа имеющихся литературных данных следует, что наиболее характерным для хронического лучевого воздействия является стимулирующее действие на функцию эндокринных желез, которое, по мнению ряда ученых, сменяется их глубоким и стойким угнетением [1, 8–11].

Нами исследовались ранние и отдаленные эффекты действия хронического ионизирующего излучения при дозах 0,25 и 0,50 Гр на динамику эстрадиола в крови и его рецепцию в органах-мишенях. Полученные данные указывают на то, что хроническое облучение 6-месячных самок крыс в дозе 0,25 и 0,50 Гр на 3-, 10-е сутки после прекращения воздействия не сопровождается достоверным изменением уровня эстрадиола в крови.

В то же время хроническое γ -облучение характеризуется увеличением числа цитозольных рецепторов эстрадиола в матке 6-месячных крыс в 3 раза на 3-и сутки при суммарных дозах облучения 0,25 и 0,50 Гр и в 2 раза – на 10-е сутки при дозе 0,25 Гр (табл. 3).

Облучение в дозе 0,5 Гр на 10-е сутки не сопровождалось столь существенными, по сравнению с контролем, изменениями рецепции в матке самок крыс.

Цитозольная рецепция в печени также возрастала в 2 раза на 3-и сутки после облучения с общими дозами 0,25 и 0,50 Гр.

На 10-е сутки после прекращения облучения содержание цитозольных эстрогеновых рецепторов в обоих случаях приближалось к контрольным значениям.

Таблица 3

Содержание цитозольных рецепторов эстрадиола в матке и печени крыс-самок, подвергшихся в 6-месячном возрасте длительному гамма-облучению в малых дозах (фмоль/мг белка, $M \pm m$)

Орган	Контроль	Доза (Гр)	Сутки после облучения	
Матка	302,90±15,40 n=8	0,25	1103,60±17,40* n=6	682,70±14,20* n=6
		0,50	849,50±19,20* n=6	473,00±13,70* n=6
Печень	61,30±6,40 n=8	0,25	132,70±7,20* n=6	76,80±4,60* n=6
		0,50	115,50±7,40* n=6	55,20±4,00 n=6

Примечание: * – различия достоверны по отношению к контролю ($P < 0,05$).

Заключение. Таким образом, в ходе исследований установлено, что внешнее гамма-облучение может сопровождаться не только изменением содержания эстрадиола и прогестерона в крови, но и изменениями на уровне взаимодействия стероидных гормонов с транспортными белками крови, выражающимися в увеличении доли их свободных фракций, а также цитозольной рецепции эстрадиола в печени и матке экспериментальных животных. Все это, в конечном счете, может привести к нарушению физиологических функций организма.

ЛИТЕРАТУРА

- Дедов, В.И. Радиационная эндокринология / В.И. Дедов, И.И. Дедов, В.Ф. Степаненко; отв. ред. А.М. Лягинская. – М.: Медицина, 1993. – 208 с.
- Попов, Е.Г. Радиационно-индуцированные изменения характеристик андроген-специфичных белков и их вклад в нарушения гормональной регуляции / Е.Г. Попов, А.Д. Наумов // Современные проблемы биохимии: учеб. пособие для студентов и магистрантов высш. учеб. заведений по биол. спец. / С.Б. Бокуть [и др.]; под ред. А.П. Солодкова, А.А. Чиркина. – Витебск: УО «ВГУ им. П.М. Машерова», 2010. – Гл. 10. – С. 231–254.
- Filchenkov, G.N. The low dose gamma ionising radiation impact upon cooperativity of androgen-specific proteins / G.N. Filchenkov, E.H. Popoff, A.D. Naumov // Journal of Environmental Radioactivity. – 2014. – Vol. 127. – P. 182–190.
- Розен, В.Б. Основы эндокринологии / В.Б. Розен. – М.: Высш. шк., 1984. – 336 с.
- Сергеев, П.В. Рецепторы физиологически активных веществ / П.В. Сергеев, Н.Л. Шимановский; отв. ред. П.В. Сергеев. – М.: Медицина, 1987. – 400 с.
- Яговдик, И.Н. Половые стероидные гормоны как маркеры функционального состояния репродуктивной системы в условиях инкорпорации ^{137}Cs / И.Н. Яговдик, В.Б. Белуга // 10-й съезд Белорусского общества физиологов: тез. докл., Минск, 3–4 сент. 2001 г. – Минск: Бизнесофсет, 2001. – С. 51–52.
- Наумов, А.Д. Облучение малыми дозами и влияние гипофункции щитовидной железы, вызванной йодом-131, на механизм действия женских половых гормонов в органах-мишенях: эксперим.-клинич. исслед.: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.01 / А.Д. Наумов; Нац. АН Беларуси, Ин-т радиобиологии. – Минск, 1999. – 40 с.
- Дедов, В.И. Отдаленные последствия внутреннего облучения на эндокринную систему самок крыс / В.И. Дедов // Изв. АН СССР. Сер. биол. – 1982. – № 3. – С. 454–458.
- Дедов, И.И. Корреляция между содержанием в крови половых гормонов и включением эстрадиола- ^3H в компоненты нейроэндокринной системы при ановуляторном цикле / И.И. Дедов, Н.А. Демина, И.С. Буренин [и др.] // Мед. радиология. – 1978. – № 4. – С. 32–36.
- Конопля, Е.Ф. Уровень и рецепция стероидных гормонов при действии малых доз ионизирующего излучения (внешнего, внутреннего и комбинированного) / Е.Ф. Конопля, М.А. Гаврилин, А.Д. Наумов // Молекулярно-клеточные механизмы хронического (внешнего и внутреннего) действия ионизирующих излучений на биологические системы: тез. докл. – Пущино, 1990. – С. 61.
- Наумов, А.Д. Половые стероидные гормоны, их содержание и рецепция в условиях действия ионизирующего излучения / А.Д. Наумов, Л.К. Сечко // Чернобыльская катастрофа: Прогноз, профилактика, лечение и медикопсихологическая реабилитация пострадавших: сб. материалов конф. – Минск, 1995. – С. 123–125.

REFERENCES

1. Dedov V.I., Dedov I.I., Stepanenko V.F. *Radiatsionnaya endokrinologiya* [Radiation Endocrinology], Moscow: Moditsina, 1993, 208 p.
2. Popov E.G., Naumov A.D. *Sovremennye problemy biokhimii: ucheb. posobiye dlia studentov i magistrantov vyssh. ucheb. zavedenii po biol. spets.* [Contemporary Issues of Biochemistry: Biology Students and Masters Textbook], Vitebsk: UO "VGU im. P.M. Masherova", 2010, 10, pp. 231–254.
3. Filchenkov, G.N. The low dose gamma ionising radiation impact upon cooperativity of androgen-specific proteins / G.N. Filchenkov, E.H. Popoff, A.D. Naumov // *Journal of Environmental Radioactivity*. – 2014. – Vol. 127. – P. 182–190.
4. Rozen V.B. *Osnovy endokrinologii* [Fundamentals of Endocrinology], Moscow: Vyssh. shk., 1984, 336 p.
5. Sergeev P.V., Shimanovsky N.L. *Retseptory fiziologicheski aktivnykh veshchestv* [Receptors of Physiologically Active Substances], Moscow: Moditsina, 1987, 400 p.
6. Yagovdik I.N., Beluga V.B. *10-i syezd Belorusskogo obshchestva fiziologov: tez. dokl., Minsk, 3–4 sentiabria 2001 g.* [The 10th Congress of Belarusan Association of Physiologists: Proceedings, Minsk, September 3–4, 2001], Minsk: Biznesofset, 2001, pp. 51–52.
7. Naumov A.D. *Oblucheniye malymi dozami i vliyaniye gipofunktsii shchitovidnoi zhelezy, vyzvannoi yodom-131, na mekhanizm deistviya zhenskikh polovykh gormonov v organakh-misheniakh: eksperim.-klinich. issled.: avtoref. dis. na soisk. uchen. step. d-ra biol. nauk* [Small Dose Irradiation and Impact of Thyroid Gland Hypofunction Caused by Iodine-131, on the Mechanism of Female Sex Hormones Operation in Target Organs: Experimental and Clinic Research: Dr.Sc. (Biology) Dissertation Abstract], Nats. AN Belarusi, In-t radiobiologii, Minsk, 1999, 40 p.
8. Dedov V.I. *Izv. AN SSSR. Ser. biol.* [Journal of ASC of the USSR. Biology], 1982, 3, pp. 454–458.
9. Dedov I.I., Demins N.A., Burenin I.S. *Med. radiologiya* [Medical Radiology], 1978, 4, pp. 32–36.
10. Konoplia E.F., Gavrilin M.A., Naumov A.D. *Molekuliarno-kletochnye mekhanizmy khronicheskogo (vneshnego i vnutrennego) deistviya ioniziruyushchikh izluchenii na biologicheskiye sistemy: Tez. dokl.* [Molecular and Cellular Mechanisms of Chronic (Outer and Inner) Impact of Ionizing Irradiation on Biological Systems: Proceedings], Pushchino, 1990, p. 61.
11. Naumov A.D., Sechko L.K. *Sb. mater. konferents. "Chernobylskaya katastrofa: Prognoz, profilaktika, lecheniye i medikopsikologicheskaya reabilitatsiya postradavshikh"* [Proceedings of the Conference "Chernobyl Disaster: Forecasting, Prevention, Treatment and Medical and Psychological Rehabilitation of the Victims"], Minsk, 1995, pp. 123–125.

Поступила в редакцию 09.04.2020

Адрес для корреспонденции: e-mail: naumova@tut.by – Наумов А.Д.