

УДК 616.432+616.45]-092.9:613.632:615.279

ФУНКЦІОНАЛЬНІ ПЕРЕБУДОВИ ГІПОФІЗАРНО-НАДНИРНИКОВОЇ СИСТЕМИ СТАТЕВОЗРІЛИХ ЩУРІВ-САМЦІВ ЗА УМОВ ВПЛИВУ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ ТА КОРЕКЦІЇ АНТИОКСИДАНТАМИ (А-ТОКОФЕРОЛ)

Гринцова Н.Б.

Медичний інститут
Сумського державного університету

Досліджено функціональний стан гіпофізарно-надниркової системи статевозрілих щурів-самців за умов впливу солей важких металів та корекції антиоксидантами (а-токоферол). Щури експериментальної групи на протязі 30-ти діб вживали звичайну питну воду, насичену комбінацією солей важких металів: цинка ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) – 5 мг/л, міді ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) – 1 мг/л, заліза ($FeSO_4$) – 10 мг/л, марганця ($MnSO_4 \cdot 5H_2O$) – 0,1 мг/л, свинця ($Pb(NO_3)_2$) – 0,1 мг/л та хрому ($K_2Cr_2O_7$) – 0,1 мг/л. З метою вивчення репаративних змін у гіпофізарно-наднирковій системі, щурам на протязі 30-ти діб разом з вживанням комбінації солей важких металів вводили в раціон а-токоферол. Встановлено, що солі важких металів негативно впливають на функціональний стан гіпофізарно-надниркової системи. Л-токоферол позитивно діє на функціональний стан кори наднирників, збільшується рівень кортизолу, що в значній мірі поліпшує адаптаційні можливості організму піддослідних тварин.

Ключові слова: важкі метали, гіпофіз, наднирники, кортизол.

Постановка проблеми. У програмі глобального моніторингу UNEP та номенклатурі ВОЗ тяжкі метали віднесені до одних з найбільш небезпечних забруднювачів зовнішнього середовища [11, с. 78]. На теперішній час відомі загальні механізми дії ксенобіотиків на клітину: генотоксичність, ферментотоксичність, імуноотоксичність і мембранотоксичність, оксидативний стрес [8, с. 32-33]. Негативні фактори навколишнього середовища, в тому числі і важкі метали, призводять до розладу антиоксидантного захисту внаслідок будь-якого зовнішнього впливу та викликають посилення вільно радикального окислення (ВРО). Це супроводжується зміною конформації ліпідів біомембран, підвищенню їхньої лабільності й проникності, розбалансуванню ферментних систем мембран. Продукти ВРО ушкоджують білки, тіолові сполуки, нуклеотидфосфати, змінюють ступінь гліколізу, ушкоджують ядрну ДНК [10, с. 36-39]. З літературних джерел відомо, що розвиток оксидантного стресу неминує супроводжується зниженням концентрації а-токоферолу – ліпорозчинного перехоплювача вільних радикалів [2, с. 82-86]. Антиоксидантна система організму контролює і гальмує всі етапи вільно радикальних реакцій. Основний механізм контролю цих реакцій пов'язаний з ланцюгом зворотних окисно-відновних реакцій іонів металів, глутатіону, аскорбату, токоферолу та інших речовин, що важливе для збереження макромолекул нуклеїнових кислот і білків, деяких складових мембран [10, с. 36-39].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. На сьогоднішній час актуальним є пошук антиоксидантів, які захищають організм від окислювального стресу. Одним з таких препаратів, здатних підтримувати антиоксидантний статус організму і гомеостаз, є а-токоферол, якому присвячені наукові публікації останніх десятиліть [6, с. 1-10]. Як універсальний компонент клітинних мембран, а-токоферол бере участь в підтримці стаціонарного рівня вільнорадикального окислення в біомембранах, регулює їх проникність, а також стимулює біосинтез білків, а дослідження останнього часу свідчать про поліфункціональність

дії а-токоферолу, безпосередньо не пов'язаних з його антиоксидантними властивостями [6, с. 1-10]. Л-токоферол відіграє важливу роль в передачі позаклітинних сигналів, які необхідні в регуляції апоптоза, активує гени, які беруть участь в індукції та інгібації апоптозу [2, с. 82-86; 12, с. 63-70]. Вивчено стрес-протекторну дію а-токоферолу при іммобілізаційному стресі [1, с. 27-29], а також дію а-токоферолу на нейроендокринні клітини гіпоталамусу [5, с. 1-12] та кору наднирників при водній деривації [2, с. 82-86].

Виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми. Автори не знайшли робіт щодо функціонального стану гіпофізарно-надниркової системи статевозрілих щурів-самців за умов впливу солей важких металів та корекції антиоксидантами (а-токоферол).

Мета статті. Головною метою цієї роботи є вивчення впливу комбінації солей важких металів на функціональний стан гіпофізарно-надниркової системи та можливості застосування протектора а-токоферолу для корекції виявлених змін.

Виклад основного матеріалу. Експеримент проведений на 24 білих статевозрілих щурах-самцях масою 200-250 г, віком 5-6 місяців, що були розподілені на 4 групи (по 6 щурів в групі). Лабораторні тварини першої групи (контрольної) утримувались у звичайних умовах віварію. Другу групу (Е) склали щури, яким в стандартний раціон харчування вводили вітамін Е (а-токоферол ацетат) у формі 10% масляного орального розчину. Підбір та розрахунок дози препарату здійснювали виходячи із середньої терапевтичної добової дози для дорослих, що становить 100 мг на добу (30 крапель 10% розчину). Розрахунок дози для щурів проводили з урахуванням рекомендацій Р.С. Риболовлева та Ю.Р. Риболовлева згідно формули [7, с. 1513-1516]. Доза для щура = $r \times \text{Доза для людини} / R$, де r – коефіцієнт видової витривалості для щура, $r=3,62$, R – коефіцієнт видової витривалості для людини, $R=0,57$. Третю групу (ВМ) склали щури, які на протязі 30-ти діб вживали звичайну питну воду, насичену комбінацією солей важких металів: цинка ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) – 5 мг/л, міді ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) – 1 мг/л, заліза ($FeSO_4$) – 10 мг/л, мар-

ганця ($MnSO_4 \cdot 5H_2O$) – 0,1 мг/л, свинця ($Pb(NO_3)_2$) – 0,1 мг/л та хрома ($K_2Cr_2O_7$) – 0,1 мг/л. Четверту групу (BM+E) складали тварини, які на протязі 30-ти діб разом з вживанням комбінації солей важких металів, отримували вітамін Е. Групи піддослідних тварин виводилися з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом через 30 діб від початку експерименту. Утримання тварин та маніпуляції над ними проводилися у відповідності до положень Європейської конвенції з захисту хребетних тварин для здійснення експериментальних і наукових завдань (Страсбург, 1986), принципів Гельсінської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (1964-2000 рр.), а також «Загальних етичних правил експериментів над тваринами», затверджених І Національним конгресом біоетики України (Київ, 2001). Функціональний стан гіпофіза та кори надниркових залоз оцінювали шляхом визначення у сироватці периферійної крові тварин (методом ІФА та автоматичного імунохеомлюмінесцентного аналізу) наступних гормонів: адренкортикотропного гормону АКТГ (пг/мл) та кортизолу COR (нмоль/л). Рівень гормонів визначався за допомогою реагентів фірми Siemens (серії 0252 – для АКТГ та 0376 – для COR) на автоматичному імунохеомлюмінесцентному аналізаторі Immulite 1000 Siemens Healthcare Global. Забір крові у щурів проводили шляхом пункції хвостової вени безпосередньо перед декапітацією, в ранковий час, з 6 до 8 години. Кров забирали в пробірки, центрифугували 20 хв. при $+4^\circ C$ (1000 g), після чого здійснювали відбір сироватки. Всі зразки були проаналізовані в двох повторях. Статистична обробка даних здійснювалася у пакеті програм «Statistica 8.0», з використанням критерію Стьюдента-Фішера. Значущими вважали відмінності при $p \leq 0,05$.

Після 30-ти денного терміну споживання піддослідними тваринами вітаміну Е (щурів ІІ групи) рівень АКТГ в сироватці крові щурів підвищувався в 1,3 разів ($p < 0,001$, $t = 100,1707$), а рівень кортизолу (COR) навпаки зменшувався в 1,9 разів ($p < 0,001$, $t = 5,217841$) у порівнянні з показниками інтактних тварин (Таблиця 1).

Таблиця 1

Результати визначення гормонів у сироватці крові експериментальних та контрольних тварин ($M \pm m$), $n=6$

Показник	Вміст гормонів у сироватці крові	
	АКТГ (пг/мл)	COR (нмоль/л)
Досліджувані групи тварин		
Контрольні тварини (I)	$420,0 \pm 0,25$	$72,0 \pm 3,9$
Експериментальні тварини групи Е (II)	$559,5 \pm 1,37^{***}$	$38,5 \pm 5,1^{***}$
Експериментальні тварини групи BM (III)	$223,45 \pm 1,45^{***}$	$< 27,6 \pm 4,8^{***}$
Експериментальні тварини групи BM+E (IV)	$131,63 \pm 1,31^{***}$	$75,05 \pm 2,75$

Примітка: різниця між показниками контролю та експеримента * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$.

Прослідковується негативний зворотний зв'язок між зниженим рівнем кортизолу в кро-

ві і підвищеним рівнем секреції АКТГ гіпофізом. Комбінація солей важких металів на протязі зазначеного терміну експерименту чинить негативну токсичну дію на функціональний стан гіпофіза та кору надниркових залоз у піддослідних тварин ІІІ групи. При цьому, значно зменшується рівень як АКТГ, так і COR. Рівень АКТГ зменшується в 1,9 разів ($p < 0,001$, $t = 133,5808$), відносно показників контрольних тварин та в 2,5 разів відносно показників тварин, що споживали вітамін Е ($p < 0,001$, $t = 168,4593$). Рівень COR в 2,6 разів ($p < 0,001$, $t = 7,179055$) менший за показники контрольних тварин та в 1,4 разів ($p \geq 0,001$, $t = 1,556349$) відносно показників тварин, що споживали вітамін Е. Як відомо, глюкокортикоїди є індукторами стресс-реакції в екстремальних умовах. Зменшення секреції АКТГ та кортизолу відіграють значну роль в розвитку ендокринних захворювань та вказують на розвиток в організмі піддослідних тварин ІІІ групи загального адаптаційного синдрому, стадії виснаження, що корелює з думкою ряду авторів [3, с. 136-137; 9, с. 92-96]. У тварин ІV експериментальної групи, що отримували з питною водою комбінацію солей важких металів та вітамін Е прослідковується подальше зниження рівня секреції АКТГ гіпофізом: у 3,2 рази ($p < 0,001$, $t = 216,2275$) відносно показників контрольних тварин, у 4,3 разів відносно показників тварин, що споживали вітамін Е ($p < 0,001$, $t = 225,7269$) та в 1,7 разів ($p < 0,001$, $t = 46,98781$) відносно тварин, котрим моделювався мікроелементоз. Разом з цим, рівень COR значно підвищувався та практично досягав показників контрольних тварин, перевищуючи показники тварин, що споживали вітамін Е в 1,9 разів ($p < 0,001$, $t = 6,308056$) та показники тварин з експериментальним мікроелементозом в 2,7 разів ($p < 0,001$, $t = 8,577441$). Як відомо, максимальна концентрація ендogenous токоферола знаходиться в наднирниках та сім'ячках [4, с. 47-50], тому і рівень природних антиоксидантів вище у даних тканинах. Надходження до організму солей важких металів супроводжується посиленням вільно радикальних процесів. Розвиток окислювального стресу незмінно супроводжується зниженням концентрації а-токоферола. Тому, факт підвищення рівня COR практично до показників контрольних тварин у тварин ІV експериментальної групи, можна пояснити замісною дією а-токоферола, ліпорозчинного перехоплювача вільних радикалів, що підвищує стабільність клітинних мембран спонгіоцитів, які відіграють важливу роль в передачі позаклітинних сигналів, регулюючих апоптоз [2, с. 82-86].

Висновки з даного дослідження. 1. Солі важких металів негативно впливають на функціональний стан гіпофізарно-надниркової системи експериментальних тварин.

2. Надходження солей важких металів на протязі 30-ти денного терміну експерименту викликає в організмі піддослідних тварин розвиток стрес-реакції, на що вказує значне достовірне зменшення рівня АКТГ в 1,9 разів і COR в 2,6 разів стосовно показників інтактних тварин. Виявляються зміни, що характерні для стадії виснаження загального адаптаційного синдрому, результатом якого є глибокий дисбаланс у роботі гіпофізарно-надниркової системи.

3. Антиоксидант L-токоферол, на фоні надходження до організму комбінації солей важких

металів, виявив достовірну стреспротекторну дію на спонгіцити пучкової зони кори наднирників. L-токоферол сприяє зменшенню токсичного впливу солей важких металів на кору наднирників, послаблює прояви стадії виснаження загального адаптаційного синдрому, відновлює гормональну рівновагу в гіпофізарно-наднирниковій системі.

Перспективи подальшого розвитку в цьому напрямку базуються на проведенні морфологічних та морфометричних досліджень гіпофіза та надниркових залоз статевозрілих щурів різної статі в контексті вивчення індивідуальної анатомічної мінливості органів та систем органів в умовах впливу солей важких металів та корекції антиоксидантами (а-токоферол).

Список літератури:

1. Абатнина Ю. В. Апоптоз нейросекреторных клеток гипоталамуса при стрессе у мишей на разных этапах онтогенеза / Ю.В. Абатнина, Е.Д. Бажанова, Д.Л. Теплый // Морфология. – 2005. – Т. 127, N3. – С. 27–29.
2. Азизова Ю.В. Влияние водной депривации на уровень апоптоза клеток коры надпочечников молодых и старых мишей. Стресспротекторные эффекты а-токоферолацетата / Ю.В.Азизова, Д.Л.Теплый, Е.Д.Бажанова, О.Н.Позднякова // Естественные науки. Журнал фундаментальных и прикладных исследований – 2009. – № 4 (29). – С. 82–86.
3. Волошин Н.А. Морфологическая характеристика гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы в условиях воздействия экстремальных факторов / Н.А.Волошин, А.А.Зябрева, А.С.Стародуб // Український морфологічний альманах – 2012. – Т. 10, № 4. – С. -136-137.
4. Голиков П.П. Механизмы активации перекисного окисления липидов и мобилизации эндогенного антиоксиданта альфа-токоферола при стрессе / П.П. Голиков, Б.В. Давыдов, С.Б.Матвеев // Вопросы медицинской химии. – 1987. – Т. 33, N1. – С. 47–50.
5. Калмыков А.П. «Влияние антиоксидантов на морфофункциональное состояние нейроэндокринных центров гипоталамуса белых крыс», автореферат дис. на соиск. ученой степ.кандбиол.наук «03.00.13-физиология», Астрахань, 2003-с. с. 1-12.
6. Мамонтова Е.В. «Реакция гипоталамо-адренкортикальной системы молодых и старых мишей на стресс и возрастные особенности коррекции стрессорных нарушений а-токоферолом», автореферат дис. на соиск. ученой степ.кандбиол.наук «03.03.01- физиология», Астрахань, 2010-с. с. 1-10.
7. Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев // Журнал АМН СССР. – 1979. – Т. 247, № 6. – С. 1513-1516.
8. Стежка В.А. К вопросу об иммунотоксическом действии соединений тяжелых металлов / В.А. Стежка, Н.Н. Дмитруха, Т.Н. Покровская Т.А. Билько, Е.Г. Лампека // Современные проблемы токсикологии. – 2003. – № 1. – С. 32-33.
9. Фомина К.А. Состояние нейроэндокринной системы и ее функциональных резервов при хроническом воздействии на организм толуола в различные возрастные периоды / К.А.Фомина // Український журнал клінічної та лабораторної медицини – 2011. – Т. 6, № 2. – С. 92-96.
10. Цудзевич Б.О. Антиоксидантна система в тканинах щурів за умов інтоксикації важкими металами / Б.О. Цудзевич, І.В. Калінін, Н.А. Петрук // Сучасні проблеми токсикології. – 2012. – № 2. – С. 36-39.
11. Elinder С.-G. Biological monitoring of metals / С.-G. Elinder, L. Friberg, T. Kjeiisstrom, G. Nordberg, G. Oberdoerstser. – Geneva, WHO, 1994. – P. 78.
12. Kong A. N. Differential Activation of MAPK and ICE/Ced-3 Protease in Chemical-Induced Apoptosis The of Role of Oxidative Stress in the Regulation of Mitogen-activated Protein Kinases (MAPKs) leading to Gene Expression and Survival or Activation of Caspases leading to Apoptosis / A. N. Kong, R. Yu, W. Lei, S. Mandlekar, T. N. Tan, D.S. Ucker // Restor Neurol Neurosci. – 1998. – Vol. 12, N2–3. – P. 63–70.

Гринцова Н.Б.

Медицинский институт
Сумского государственного университета

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ ГИПОФИЗАРНО-НАДПОЧЕЧНИКОВОЙ СИСТЕМЫ ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС-САМЦОВ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И КОРРЕКЦИИ АНТИОКСИДАНТАМИ (А-ТОКОФЕРОЛ)

Аннотация

Исследовано функциональное состояние гипофизарно-надпочечниковой системы половозрелых крыс-самцов в условиях воздействия солей тяжелых металлов и коррекции антиоксидантами (а-токоферол). Крысы экспериментальной группы в течение 30-ти суток употребляли обычную питьевую воду, насыщенный комбинацией солей тяжелых металлов: цинка ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) – 5 мг/л, меди ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) – 1 мг/л, железа ($FeSO_4$) – 10 мг/л, марганца ($MnSO_4 \cdot 5H_2O$) – 0,1 мг/л, свинца ($Pb(NO_3)_2$) – 0,1 мг/л и хрома ($K_2Cr_2O_7$) – 0,1 мг/л. С целью изучения репаративных изменений в гипофизарно-надпочечниковой системе, крысам в течение 30-ти суток вместе с употреблением комбинации солей тяжелых металлов вводили в рацион а-токоферол. Установлено, что соли тяжелых металлов негативно влияют на функциональное состояние гипофизарно-надпочечниковой системы. L-токоферол положительно действует на функциональное состояние коры надпочечников, увеличивается уровень кортизола, что в значительной степени улучшает адаптационные возможности организма подопытных животных.

Ключевые слова: тяжелые металлы, гипофиз, надпочечники, кортизол.

Grintsova N.B.
Medical Institute
of Sumy State University

**FUNCTIONAL REORGANIZATION OF THE PITUITARY-ADRENAL SYSTEM
AT ADULT MALE RATS UNDER THE IMPACT OF HEAVY METAL SALTS
AND CORRECTION OF ANTIOXIDANTS (A-TOCOPHEROL)**

Summary

We investigated the functional state of the pituitary-adrenal system at adult male rats under the impact of heavy metal salts and correction of antioxidants (a-tocopherol). For 30 days rats in experimental groups drank normal drinking water saturated with a combination of salts of heavy metals: zinc ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) – 5 mg/l of copper ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) – 1 mg/l iron ($FeSO_4$) – 10 mg/l manganese ($MnSO_4 \cdot 5H_2O$) – 0,1 mg/l of lead ($Pb(NO_3)_2$) – 0.1 mg/l and chromium ($K_2Cr_2O_7$) – 0,1 mg/l. In order to study changes in the reparative pituitary-adrenal system the rats for 30 days with the use of heavy metal salts in combination were administered as diet-tocopherol. It was found that the heavy metal salts adversely affected the functional state of the pituitary-adrenal system. L-tocopherol has a positive effect on the functional state of the adrenal cortex, increases levels of cortisol, which greatly improves the adaptive capacity of the organism at experimental animals.

Keywords: heavy metals, the pituitary gland, adrenal glands, cortisol.