

Омельчук Надежда Николаевна

кандидат биологических наук,
факультет повышения квалификации медицинских работников,
кафедра клинической лабораторной диагностики,
Российский университет дружбы народов
kkld-fpkmr-nom@mail.ru

Nadezhda N. Omelchuk

candidate of biology,
Faculty of advanced training of medical workers,
Department of clinical laboratory diagnostics,
Peoples' friendship University of Russia
kkld-fpkmr-nom@mail.ru

**Метод оценки функциональной активности коры надпочечников
с учетом физиологической роли разных фракций кортикостероидов
в крови у здоровых и облученных животных**

**Method of estimation of functional activity of adrenal cortex taking into
account physiological role of different fractions of corticosteroids
in blood in healthy and irradiated animals**

***Аннотации.** Статья посвящена оценке функциональной активности коры надпочечников с учетом физиологической роли разных фракций кортикостероидов в крови у здоровых и облученных животных. Представлены результаты экспериментального исследования суммарной концентрации 11-оксикортикостероидов (11-ОКС) и содержания свободных и связанных их форм в периферической крови под воздействием ионизирующей радиации на материале животных пяти видов.*

***Ключевые слова:** адренокортикальная активность, кортикостероиды, ионизирующая радиация, лучевая болезнь.*

***Abstracts.** The article is devoted to the evaluation of functional activity of adrenal cortex taking into account the physiological role of different fractions of corticosteroids in the blood of healthy and irradiated animals. The results of an experimental study of the total concentration of 11-oxycorticosteroids (11-oxo) and the content of free and bound forms in peripheral blood under the influence of ionizing radiation on the material of animals of five species are presented.*

***Key words:** adrenocortical activity, corticosteroids, ionizing radiation, radiation sickness.*

Исследование функциональной активности коры надпочечников животных под воздействием ионизирующей радиации представляет собой про-

блему несомненной важности, как для радиобиологии, так и для медицины в практике рентгенотерапии и радиотерапии. Значение реакции коры надпочечников в развитии и исходе лучевой болезни, прежде всего, определяется ее ролью в поражении и процессах восстановления радиочувствительных тканей.

Радиобиологические исследования, начатые Г. Селье [8] и продолженные многочисленными исследованиями в области радиобиологии, которые отражены в работах Э. Бетца [2], З. Бака и П. Александера [1] и в современных исследованиях [4; 5], показали, что адренокортикальная реакция возникает в первые часы после любого раздражения независимо от его природы. Ионизирующая радиация не является исключением и также вызывает активацию гипофизарно-надпочечниковую систему, которая является одним из звеньев патогенеза острого лучевого синдрома и связана с механизмами защиты. Гиперактивность коры надпочечников, как универсальная неспецифическая реакция, является общим механизмом ответной реакции системы и на хроническое облучение [3].

Адренокортикальная реакция при лучевой болезни имеет и специфическую характеристику. Под действием облучения она протекает в две фазы, повышение адренокортикальной функции в разгар лучевой болезни является результатом повреждающего эффекта радиации, что в свою очередь, оказывает неблагоприятное влияние на течение и исход лучевой болезни. Данные закономерности, установленные на основании определения адренокортикальной активности, были выявлены без учета различной физиологической роли разных фракций кортикостероидов. В последние десятилетия стало известно, что лишь свободные гормоны обладают биологически активными свойствами, тогда как большинство их находятся в комплексе с белками плазмы и временно инактивированы [10; 11]. Следовательно, общий уровень секреции гормонов не может служить абсолютным критерием глюкокортикоидной активности.

На большом экспериментальном материале на животных пяти видов (кролики, крысы, морские свинки, собаки, мыши) определяли суммарную концентрацию 11-оксикортикостероидов (11-ОКС) и содержание свободных и связанных их форм в периферической крови. Для выяснения механизма повышения свободной фракции кортикостероидов определяли связывающую способность КСГ (кортикостероидсвязывающего глобулина). Обобщение результатов, полученных в экспериментах на 5 видах животных, позволило вывести некоторые закономерности.

После действия ионизирующей радиации нарушается связывание кортикостероидов с белками плазмы крови, следствием чего является увеличение свободных, биологически активных гормонов в разгаре лучевой болезни. Независимо от колебаний общего уровня кортикостероидов, содержание их свободной фракции на всем протяжении лучевой болезни было повышенным.

Особенно отчетливо это повышение проявлялось в первые часы после облучения и в разгаре лучевой болезни.

Выявление связывающей способности КСГ показало, что ранний гиперкортицизм после облучения определяется повышенной общей секрецией 11-ОКС, превышающей связывающую способность КСГ (последняя в этот период не изменяется). Такая реакция типична для состояния стресса в независимости от вызывающего его агента [4; 6; 7; 9]. В разгаре лучевой болезни повышенное содержание свободного гормона в крови, наблюдаемое на фоне нормального и даже сниженного общего уровня 11-ОКС, вызвано понижением связывающей способности КСГ. Снижение связывающей способности КСГ в разгаре лучевой болезни и увеличение свободных кортикостероидов независимо от колебаний общего уровня гормона наблюдается у животных разных видов и является общей радиобиологической закономерностью. Существующее представление о гиперкортицизме при острой лучевой болезни, основанное на двухфазности реакции коры надпочечников, нуждается в уточнении, поскольку практически весь острый лучевой синдром протекает на фоне увеличения свободных биологически активных глюкокортикоидов.

У всех животных в динамике острой лучевой болезни наблюдается период «скрытого» гиперкортицизма, который характеризуется ростом концентрации свободного гормона на фоне даже сниженного общего уровня кортикостероидов в плазме крови. Общее содержание 11-ОКС в плазме периферической крови определяли с помощью флюорометрического метода Guillemín et. Al. с некоторыми изменениями. Данный метод основан на способности 11-ОКС флюоресцировать в спирто-кислотном реагенте. Эта реакция кортикостероидов в этанолсернохлоридном реагенте специфична для 11-ОКС. В указанных реагентах после протонизации Δ^4 -3-кетогруппы в кислой среде происходит взаимодействие Δ^4 -3-кетогруппы с II-гидроксильной группой других молекул кортикостероидов. В результате образуются устойчивые межмолекулярные комплексы, которые дают полосу поглощения с максимумом при 470 мкм и специфичную полосу флюоресценции при 525 мкм.

Для определения свободной и связанной с белком фракций 11-ОКС кортикостероидов использовали метод гельфильтрации De Moor et al. в авторской модификации. Интенсивность флюоресценции измеряли на спектрофлюорометре ХИТАЧИ МР-2 при длине волны возбуждения 470 мкм, флюоресценции – 525 мкм. Интенсивность флюоресценции исследуемых субстратов в каждом опыте сравнивали с интенсивностью флюоресценции растворов соответствующих кортикостероидов различной концентрации.

Статистическую обработку результатов проводили по методу Стьюдента-Фишера. Критерий существенности различий (P) определяли по таблице Стьюдента на основании коэффициента t и степени свободы n , равной $n_1 + n_2 - 2$. Достоверными считали различия при $P < 0,05$ и меньше.

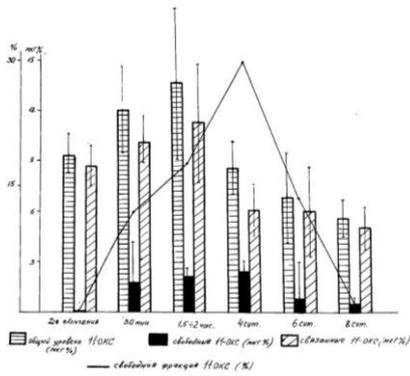


Рис. 1. Изменение фракционного состава 11-ОКС в плазме крови кроликов после облучения в дозе 800 Р.

Изменение связывающей способности КСГ, содержания общих и свободных 11-ОКС в плазме крови кроликов после облучения в дозе 800 Р.

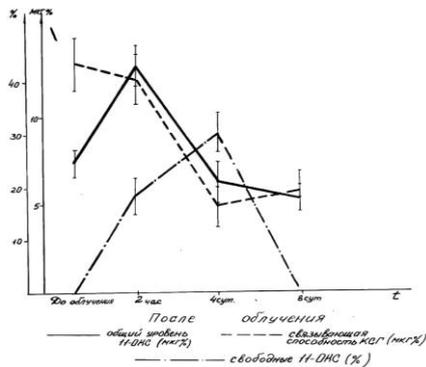


Рис. 2. Изменение связывающей способности КСГ, содержания общих и свободных 11-ОКС в плазме крови кроликов после облучения в дозе 800 Р.

Изменение связывающей способности КСГ, содержания общих и свободных 11-ОКС в плазме крови кроликов после облучения в дозе 800 Р.

Изменение связывающей способности КСГ и общего содержания 11-ОКС в крови у крыс после облучения в дозе 800 Р.

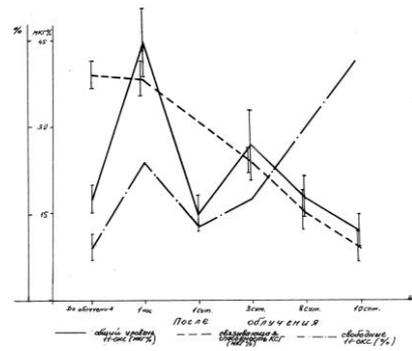
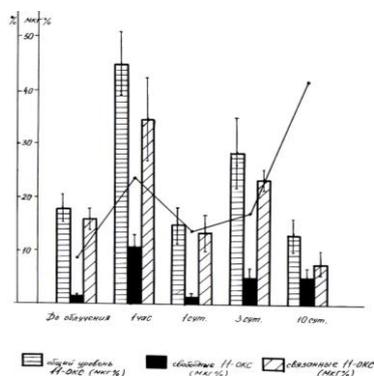


Рис. 4. Изменение фракционного состава 11-ОКС и связывающей способности в плазме крови крыс после облучения в дозе 850 Р.

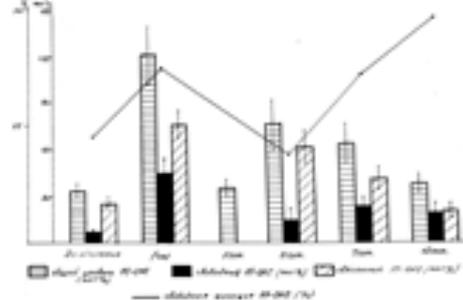


Рис. 5. Изменение фракционного состава 11-ОКС в плазме крови морских свинок после облучения в дозе 450 Р.

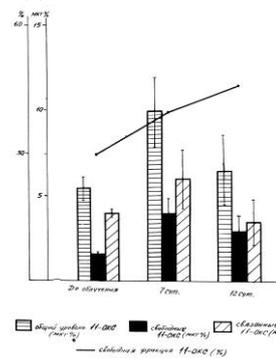


Рис. 6. Изменение фракционного состава 11-ОКС в плазме крови собак после облучения в дозе 350 Р.

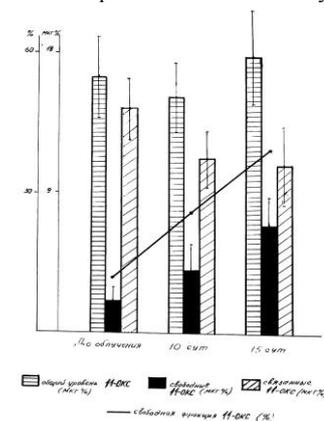


Рис. 7. Изменение фракционного состава 11-ОКС в плазме крови мышей после облучения в дозе 650 Р.

Выводы по результатам исследования.

1. После общего γ -облучения в первые часы и в разгаре лучевой болезни в периферической крови животных увеличивается свободная, не связанная с белками плазмы крови фракция 11-оксикортикостероидов.
2. Увеличение свободной фракции 11-ОКС в первые часы после облучения обусловлено повышением их общего содержания в крови. Связывающая способность КСГ при этом не изменялась.
3. Увеличение свободных кортикостероидов в разгаре лучевой болезни обусловлено, прежде всего, снижением связывающей способности КСГ и не зависит от общей концентрации гормона в плазме крови, что является общей радиобиологической закономерностью.

Литература

1. Бак З., Александер П. *Основы радиобиологии: пер. с англ.* – М.: Издательство иностранной литературы. 1963г. - 500 с.
2. Бетц Э. *Материалы к изучению эндокринного синдрома, вызванного облучением организма: монография: пер. с фр. / под ред. П.Д. Горизонтова.* - М.: Медгиз, 1961. - 312 с.
3. *Вопросы патогенеза, экспериментальной терапии и профилактики лучевой болезни / Под ред. П.Д. Горизонтова.* - М.: Медгиз, 1960. - 432 с.
4. Гребенюк А.Н., Стрелова О.Ю., Лезеза В. И., Степанова Е. Н. *Основы радиобиологии и радиационной медицины: Учебное пособие.* - СПб: ООО «Издательство ФОЛИАНТ», 2012. - 232 с.
5. *Радиобиологические основы лучевой терапии: материалы международной конференции.* Обнинск: МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2017. - 196 с.
6. Робу А.И. *Взаимоотношение эндокринных комплексов при стрессе.* - Кишинев: Штиница, 1982. – 208 с.
7. Розен В.Б. *Основы эндокринологии.* - М.: Высшая школа, 1984. - 336 с.
8. Селье Г. *Очерки об адаптационном синдроме.* - М.: Наука, 1972. - 122 с.
9. Юдаев Н.А. *Биохимия гормонов и гормональной регуляции.* - М.: Медицина, 1976. - 378 с.
10. Slaunwhite W.R., Sandberg A.A. *Disposition of radioactive 17 α -hydroxy-progesterone, 6 α -methy 1-17 α -acetoxy-progesterone and 6 α -methylprednisolone in human subjects.* // *J Clin Endocrinol Metab.* 1961. V. 21. - P. 753-764.
11. Westphal D, Dewson G, Czabotar P.E, Kluck R.M. *Molecular biology of Bax and Bak activation and action.* // *Biochim Biophys Acta.* 2011 - V. 1813(4). - P. 521-531.

references

1. Buk Z., Alexander, P. *Fundamentals of radiobiology].* - М.: Publishing house of foreign literature. - 500 p.

2. Betz, C., *materials for the study of endocrine syndrome, caused by total irradiation of the organism: monograph: per. s FR. / under the editorship of P. D. Gorizontov.* - Moscow: Medgiz, 1961. - 312 p.
3. *Questions of pathogenesis, experimental therapy and prevention of radiation sickness / ed. PD. Gorizontova.* - Moscow: Medgiz, 1960. - 432 p.
4. Grebenyuk A. N., STRELOVA O. Yu., Legeza V. I., Stepanova E. N. *Basics of radiobiology and radiation medicine: textbook.* - SPb: LLC "Publishing house FOLIANT", 2012. - 232 p.
5. *Radiobiological basis of radiation therapy: proceedings of an international conference. Obninsk: MRRC them. A. Tsyb, a branch of fgbu "NERC" of Minzdrav of Russia, 2017.* - 196 p.
6. Robu A. I. *relationship of endocrine complexes under stress.* - Chisinau: Stinica, 1982. - 208 p.
7. Rosen V. B. *fundamentals of endocrinology.* - Moscow: Higher school, 1984. - 336 p.
8. Selye G. *Essays on the adaptation syndrome.* - Moscow: Science, 1972. - 122 p.
9. Yudaev N. Ah. *Biochemistry of hormones and hormonal regulation.* - Moscow: Medicine, 1976. - 378 p.
10. Slaunwhite W. R., Sandberg A. A. *Disposition of radioactive 17 α -hydroxy-progesterone, 6 α -methy 1-17 α -acetoxy-progesterone and 6 α -methylprednisolone in human subjects. //J Clin Endocrinol Metab. 1961. V. 21. - P. 753-764.*
11. Westphal d, Dewson G, Czabotar P. E, Kluck RM *Molecular biology of Bax and Bak activation and action.// Biochim Biophys Acta. 2011-V. 1813(4). - P. 521-531.*