

Л. О. Бондаренко

Інститут проблем ендокринної
патології
ім. акад. В.Я. Данилевського АМН
України,
м. Харків

Вплив ікс-випромінення в низьких дозах на шляхи біосинтезу і метаболізму індолів у пінеальній залозі *

Influence of low-dose x-rays on the ways of biosynthesis and indole metabolism in pineal gland

Цель работы: Изучить динамику биохимических превращений индолилалкиламинов в пинеальной железе под влиянием рентгеновского излучения в малых дозах.

Материалы и методы: На 168 половозрелых самцах крыс породы Вистар флюориметрическим методом изучена эпифизарная концентрация серотонина, N-ацетилсеротонина, мелатонина, 5-метокситриптамина, 5-окси- и 5-метоксииндолилуксусной кислот через 1, 7, 14, 30, 45, 90 и 180 дней после фракционного 3-кратного (по 0,25 Гр) рентгеновского облучения. Суммарная доза — 0,75 Гр.

Результаты: Установлено, что в ответ на действие ионизирующего излучения в малых дозах в пинеальной железе в течение первых 14 дней отмечается резкое увеличение биосинтеза серотонина и его метаболитов как по пути прямого O-метилирования с образованием 5-метокситриптамина, так и по пути N-ацетилирования и последующего O-метилирования с образованием мелатонина; через 3 месяца — нормализация, а через 6 месяцев — угнетение изучаемых процессов.

Выводы: Пинеальная железа является радиочувствительным органом, который реагирует на радиационное воздействие даже в малых дозах. Биосинтез индолов в пинеальной железе претерпевает фазные изменения в ответ на действие радиационного стресса, проходя стадии активации, нормализации и истощения и участвуя таким образом в развитии общего адаптационного синдрома. В отдаленные сроки после облучения развиваются явления гипопинеализма, что можно рассматривать как одно из центральных нейроэндокринных звеньев в механизме развития заболеваний пострадиационного генеза.

Ключевые слова: ионизирующее излучение, пинеальная железа, индолилалкиламины, мелатонин.

Objective: To study the dynamics of indolilalkilamine biochemical conversions in the pineal gland at exposure to ionizing radiation in low doses.

Materials and Methods: The concentration of serotonin in N-acetylserotonin, melatonin, 5-methoxytryptamine, 5-oxy- and 5-methoxyindolilacetic acids the epiphysis were studied fluorimetrically 1, 7, 14, 30, 45, 90 and 180 days after fractional 3-fold (0.25 Gy) x-ray irradiation of 168 adult male Wistar rats. Total dose was 0.75Gy.

Results: Significant increase of serotonin biosynthesis and its metabolism in response to low-dose ionizing radiation was revealed in the pineal gland during first 14 days both on the way of direct O-methylation with 5-methoxytryptamin release and of N-acetylation with melatonin release. In 3 months the above indices were normal and in 6 months — suppressed.

Conclusion: The pineal gland is a radiosensitive organ which reacts even to low doses of radiation. Having gone through the stages of activating, normalizing and exhausting indoles biosynthesis suffers from different changes in the pineal gland in response to the influence of ionizing radiation in low doses.

Key words: ionizing radiation, pineal gland, indolilalkilamines, melatonin.

Важливим фактором зовнішнього середовища, який впливає на функціонування пінеальної залози, є рівень іонізуючої радіації. Цей аспект проблеми набуває особливого значення для України у зв'язку з вивченням наслідків аварії на ЧАЕС. Незважаючи на те, що вивченню впливу іонізуючої радіації на організм присвячено великий масив літератури, до останнього часу, як це не дивно, найменше вивченим залишається питання про вплив радіації у різних дозах на функціонування епіфіза мозку. Між тим протипроменеві властивості індолілалкіламінів добре відомі й вивчені досить давно [1]. Так, показано, що радіопротекторні властивості притаманні як 5-окси-, так і 5-метоксиіндолам, але метильован-

ня оксиіндолів у 5-му положенні значно посилює радіозахисну активність. До найпотужніших радіопротекторів індольної природи належать 5-метокситриптамін (мексамін) та мелатонін — продукти метаболізму серотоніну в пінеальній залозі. Втім введення мелатоніну чи мексаміну здійснює захист проти ушкоджень, викликаних впливом іонізуючої радіації, тільки в тому випадку, коли введення гормону випереджає опромінювання або застосовується водночас із ним, але не навпаки [2].

Дані щодо зворотної залежності дуже обмежені, у зв'язку з чим ще й досі остаточно не вирішено питання, яким чином відповідає на дію іонізуючої радіації пінеальна залоза — основний природний постачальник мелатоніну.

В експериментальному дослідженні [3] на щурах, підданих γ -опромінюванню (повністю тіло)

* — Розрахунок дози, визначення схеми опромінювання і вплив іонізуючої радіації на тварин проведено в Інституті медичної радіології ім. С.П. Григор'єва АМНУ.

в дозі 14,35 Гр, показано, що через 30 хв у пінеальній залозі збільшується вміст адреналіну, протягом 30–120 хв зменшується епіфізарна концентрація норадреналіну, дофаміну і мелатоніну на фоні незмінної активності N-ацетилтрансферази (НАТ) — ключового ферменту на шляху перетворення серотоніну в мелатонін. У цей термін спостереження в сироватці крові концентрація мелатоніну залишалася в межах норми при значному збільшенні вмісту кортикостерону. Вивчення реакції пінеальної залози щурів на загальне (повністю тіло) фракціоноване γ -опромінювання у дозі 2,4 Гр (сумарна доза 14,4 Гр) через 6 годин або 3 доби після останнього впливу виявило зменшення активності НАТ і концентрації мелатоніну в пінеальній залозі та сироватці крові на тлі збільшення активності епіфізарної моноаміноксидази (МАО), що вказує на гальмування N-ацетилювання й посилення окиснювального дезамінування серотоніну в пінеалоцитах за цих умов [4]. На противагу цьому, у дослідях [3] на 3–4-ту добу після γ -опромінювання щурів у сумарній дозі 14,35 Гр (фаза радіаційних ушкоджень) були виявлені ознаки збільшення рівня мелатоніну.

Аналіз даних літератури свідчить про те, що відносно впливу іонізуючої радіації у значних дозах на стан мелатонінутворювальної функції пінеальної залози ще й досі не існує єдиної думки, а питання про вплив опромінювання у низьких дозах на шляхи біосинтезу й метаболізму індолів навіть і не розглядається, бо такі дози до останнього часу вважалися нешкідливими.

Виходячи із сказаного метою даного дослідження було вивчення динаміки біохемічних перетворень індолілакіламінів у пінеальній залозі внаслідок впливу іонізуючого випромінювання у низьких дозах.

Методика дослідження

Роботу виконано на 168 статевозрілих самцях щурів популяції Вістар, яких утримували в умовах природної зміни дня і ночі при кімнатній температурі на звичайному раціоні. Загальна тривалість експерименту складала 6 місяців. Беручи до уваги, що концентрація епіфізарних індолів значною мірою залежить від світлового режиму, зумовленого порою року, у кожній серії експерименту використовували індивідуальний контроль. Піддослідних тварин піддавали фракціонованому 3-разовому (по 0,25 Гр) опромінюванню на ікс-терапевтичному апараті РУМ-17. Умови опромінювання: $U=150$ кВ, $I=7$ мА, фільтр 1 мм Сu + 1 мм Al. Використовували спеціальний тубус, $F=40$ см, поле 20×20 см². Потужність дози вимірювали клінічним дозиметром УА-1-18. Було застосовано іонізаційну камеру № 746. Потужність середньої дози по фантому поглинання у м'яких тканинах становила $1,06$ рад/хв= $1,06 \times 10^2$ Гр/хв. Сумарна доза — 0,75 Гр.

Виведення тварин з експерименту шляхом декапітації проводили через 1,7, 14, 30, 45, 90 і 180 діб після опромінювання. Пінеальні залози негайно після витягнення піддавали біохемічній

обробці [5]. Про процеси біосинтезу і метаболізму індолів судили з даних флюориметричного визначення серотоніну та продуктів його метаболізму в пінеальній залозі. Для одного визначення використовували епіфізи від 2–3 тварин (3–5 мг сирої тканини). Метод дозволяє в одному зразку дослідити епіфізарні концентрації серотоніну, N-ацетилсеротоніну (NaC), мелатоніну, 5-метокситриптаміну (5-МТ), 5-окси- та 5-метоксиіндолилоцтових кислот (5-ОІОК та 5-МОІОК), які віддзеркалюють три шляхи метаболізму серотоніну: його прямого O-метилування з утворенням 5-МТ; N-ацетилювання й подальшого O-метилування з утворенням NaC і мелатоніну; окислювального дезамінування і подальшого O-метилування з утворенням 5-ОІОК та 5-МОІОК.

Як стандарти використовували відповідні індоли фірми «Sigma», США. Флюоресценцію визначали на флюориметрі БІАН-130 із використанням світлофільтрів з довжиною хвилі 365 нм та 470 нм. Концентрацію індолів виражали в нг/мг тканини.

Цифровий матеріал обробляли статистично з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення

Дані щодо біохемічних змін індолів у щурів, які зазнали радіаційного впливу в дозі 0,75 Гр, наведено у таблиці.

Встановлено, що опромінення викликало досить виражені біохемічні зміни в пінеальній залозі піддослідних тварин вже протягом 1-ї доби після радіаційного впливу: збільшення епіфізарної концентрації NaC, мелатоніну і 5-МТ на фоні нормального рівня фракції індолоцту; 23%-не збільшення епіфізарного рівня серотоніну не було статистично вірогідним.

На 7-му добу після опромінювання у піддослідних щурів ці зміни були більш вираженими: епіфізарна концентрація серотоніну, NaC, мелатоніну та 5-МТ значно перевищувала таку у контрольних тварин, і лише фракція індолоцту не зазнавала істотних змін. Найбільш виражені зміни з боку показників, що вивчалися, ми реєстрували на 14-ту добу після радіаційного впливу. В цей термін спостереження рівень серотоніну складав 152%, NaC — 172%, мелатоніну — 153%, 5-МТ — 216% і фракції індолоцту — 140% відносно показників контрольних тварин, умовно прийнятих за 100%.

Через 1 місяць після опромінювання вміст серотоніну, NaC, мелатоніну та 5-МТ залишався вище норми, хоч і помітно знизився відносно попереднього етапу спостереження. Привертає увагу різке збільшення концентрації сумарної фракції індолоцту на фоні зниження інших дериватів серотоніну.

Через 1,5 місяця після радіаційного впливу ми відмічали нормалізацію показників епіфізарного вмісту серотоніну, NaC, 5-МТ, 5-ОІОК та 5-МОІОК, і лише концентрація мелатоніну залишалася підвищеною, хоч за абсолютними значеннями і була нижчою, ніж у попередній термін

Динаміка впливу іонізуючого випромінювання в дозі 0,75 Гр на показники метаболізму у пінеальній залозі від 2–3 статевозрілих щурів ($M \pm m$)
Influence of ionizing radiation at a dose of 0,75 Gy on the parameters of metabolism in the pineal gland of 2–3 mature rats ($M \pm m$)

Група тварин	Термін після опромінювання	n	Концентрація індолів у епіфізі (нг/мг тканини)				
			Серотонін	NaC	Мелатонін	5-МТ	5-ОІОК+5-МОІОК
I	Контроль	6	19,90±1,59	3,19±0,18	4,13±0,24	4,68±0,37	38,90±5,72
II	1-ша доба	6	24,48±3,36	4,67±0,08****	5,37±0,50****	6,16±0,55**	40,99±3,36
III	Контроль	6	22,17±2,41	5,07±0,63	4,90±0,41	2,85±0,20	16,90±2,50
IV	7-ма доба	6	34,16±1,61****	7,67±0,66***	6,84±0,33***	4,40±0,80*	18,68±1,20
V	Контроль	5	25,46±2,52	4,23±0,34	5,43±0,52	3,33±0,24	16,49±2,59
VI	14-та доба	5	38,70±5,46*	7,34±0,65**	8,34±0,87***	7,20±1,06***	23,12±3,94
VII	Контроль	6	13,44±0,68	5,42±0,47	1,78±0,21	3,54±0,41	13,51±1,43
VIII	30-та доба	5	16,15±3,13	7,51±0,85*	2,76±0,35**	7,25±0,72****	23,83±2,79***
IX	Контроль	5	12,70±1,99	5,75±0,43	3,37±0,24	4,13±0,26	23,93±1,33
X	1,5 міс.	5	12,44±1,89	6,42±0,53	6,45±0,70***	3,99±0,58	22,06±4,16
XI	Контроль	5	16,14±1,07	8,27±0,40	4,72±0,34	6,19±0,79	12,66±1,70
XII	3 міс.	4	16,94±3,55	8,40±0,12	5,01±1,07	5,17±0,99	11,73±1,09
XIII	Контроль	5	19,22±1,84	6,35±0,50	11,38±0,61	6,48±0,44	41,21±3,79
XIV	6 міс.	5	10,48±1,36***	4,83±0,57*	7,42±0,78***	5,09±0,26***	37,24±5,55

Примітка. n — кількість визначень (для кожного визначення використані епіфізи від 2–3 тварин); * — $0,05 < p < 0,1$; ** — $p < 0,05$; *** — $p < 0,01$; **** — $p < 0,001$ — порівняно з індивідуальним контролем.

спостереження.

І лише через 3 місяці після початку експерименту нормалізувалася епіфізарна концентрація не тільки попередників мелатоніну на шляху його біосинтезу, але й самого гормону.

Проте дослідження, проведені через 6 місяців після впливу іонізуючої радіації у низьких дозах, показали, що в опромінених щурів вміст мелатоніну та його попередників — серотоніну і NaC, а також рівень 5-МТ були значуще нижчими, ніж у неопромінених тварин.

Результати проведеного дослідження свідчать про те, що пінеальна залоза є радіочутливим органом, який чутливо реагує на іонізуюче випромінювання навіть у малих дозах і активно включається в реакцію-відповідь організму на радіаційний стрес шляхом зміни біохімічних перетворень індолів. Різке збільшення епіфізарної концентрації фракцій індолів, що вивчалися, вже протягом 1-ї доби після опромінювання свідчить про активацію усіх ланок, які забезпечують біосинтетичні та метаболічні процеси у пінеалоцитах. Так, збільшення рівня серотоніну вказує на активізацію процесів захоплення триптофану з кровообігу та його активного перетворення у 5-окситриптофан і далі у 5-окситриптамін (серотонін), що є вихідним продуктом на шляху біосинтезу всіх індолів у пінеальній залозі [6]. Для 7-ї доби після опромінювання характерною є картина подальшого різкого збільшення епіфі-

зарної концентрації серотоніну і 5-МТ, що свідчить, на нашу думку, про включення у процес біосинтезу серотоніну запасних форм пінеалоцитів, з одного боку, і переважний метаболізм синтезованого серотоніну шляхом його прямого O-метилування, з іншого. На 14-ту добу епіфізарний рівень серотоніну залишався ще дуже високим, але вже не збільшувався. Водночас епіфізарна концентрація 5-МТ у цей термін спостереження сягала найвищої величини і більше ніж удвічі перевищувала відповідний показник у неопромінених контрольних тварин. Епіфізарні рівні NaC і мелатоніну протягом 14 діб також зростали, але повільніше. Через 1 місяць після радіаційного впливу на фоні зупинки збільшення вмісту 5-МТ спостерігалося підвищення епіфізарної концентрації мелатоніну, що наростало у часі й здійснювалося за рахунок активного використання серотоніну та NaC. Це свідчить про активацію метаболізму серотоніну шляхом його N-ацетилювання й подальшого O-метилування. Через 1,5 місяця після радіаційного впливу вже не 5-МТ, а тільки мелатонін відповідав на опромінювання максимальним збільшенням біосинтезу. Проте далі наставало прогресуюче у часі гальмування не тільки усіх шляхів метаболізму серотоніну в пінеальній залозі, а й біосинтезу даного гормону, що вказує на виснаження резервних можливостей пінеалоцитів у віддалені терміни після радіаційного впливу.

Відомо, що іонізуюча радіація в низьких дозах не тільки викликає безпосередню стрес-реакцію, а й «запускає» ланку біологічних процесів, які проявляються переважно у віддаленому періоді [7]. Ми вважаємо, що різке підвищення епіфізарної продукції метоксиіндолів, і передусім мелатоніну та 5-МТ, у ранні терміни у відповідь на дію іонізуючого випромінювання в малих дозах являє собою одну з нейроендокринних ланок на шляху формування загального адаптаційного синдрому при радіаційному стресі, оскільки відомо, що пінеальна залоза активно включається в процеси адаптації, посилюючи гормональну активність, а її гормон мелатонін вважають гормоном адаптації [8]. Нашими попередніми дослідженнями встановлено, що введення кортикотропіну вже протягом перших 30 хв стимулює захоплення пінеалоцитами триптофану з циркуляції і його епіфізарний метаболізм до стадії утворення серотоніну, а також подальший метаболізм шляхом N-ацетилювання та O-метилування, націлений на продукцію мелатоніну [9].

Слід зауважити, що на 14-ту добу після опромінювання у цих самих тварин ми спостерігали зниження вмісту кортикостерону в надниркових залозах при одночасній значній активації процесів перекисного окиснення ліпідів у гомогенатах печінки і надниркових залозах, а в сироватці крові — процесів вільнорадикального окиснення. Втім через 1,5 місяця після опромінювання ці зміни вже нівелювалися [10].

Зіставлення отриманих нами даних з показниками, які характеризують процеси біосинтезу індолів у пінеальній залозі, свідчать про те, що через 1,5 місяця після опромінювання лише концентрація мелатоніну була підвищеною, тоді як рівень інших окси- та метоксиіндолів повернувся до вихідного. Отримані результати дають нам підставу сформулювати робочу гіпотезу, згідно з якою саме епіфізарні індоли, й насамперед мелатонін, посилюють опірність організму та запобігають розвиткові численних порушень післярадіаційного генезу передусім завдяки притаманній їм імуностимулювальній і антиоксидантній дії [11–15]. Виявлене нами виснаження функціональної активності пінеальної залози у віддалені терміни після радіаційного впливу цілком узгоджується з результатами обстеження ліквідаторів аварії на ЧАЕС та осіб, відселених із 30-кілометрової зони, у яких через 6–8 років після опромінювання також вірогідно зменшилася екскреція мелатоніну із сечею [16]. Ці дані підтверджують усталену думку про те, що післярадіаційні порушення розвиваються дуже

повільно, і дають підставу вважати, що саме завдяки посиленню біосинтезу індолів пінеальна залоза запобігає порушенню функціонування багатьох органів і систем на перших етапах радіаційного ураження.

Порівняння результатів даної роботи з отриманими нами раніше при обстеженні старих щурів [17, 18] указує на певну аналогію. Інакше кажучи, картина біохемічних зрушень у пінеальній залозі опромінених щурів у віддалені терміни після радіаційного впливу майже не відрізняється від тієї, яку ми спостерігали у старих і дуже старих тварин. Це свідчить про те, що рентгенівські промені навіть у малих дозах прискорюють процеси старіння, в яких одним із центральних механізмів, на нашу думку, є гальмування біосинтетичних та метаболічних процесів у пінеальній залозі.

Виходячи з цих даних, можна припустити, що однією з найважливіших причин виникнення ряду захворювань, таких як гіпертонічна хвороба, гіперхолестеринемія та атеросклероз, цукровий діабет, психічні розлади та злоякісні новоутворення, характерних для осіб, що раніше контактували з джерелами іонізуючого випромінювання у низьких дозах, є саме гіпофункція пінеальної залози, оскільки відомо, що мелатоніну притаманні властивості гіпотензивної, гіпохолестеринемічної, гіпоглікемічної, седативної та протипухлинної дії [19–26].

Отримані результати можна розглядати як наукове обґрунтування для розробки принципово нових схем запобігання або лікування післярадіаційних розладів шляхом цілеспрямованого впливу на підвищення мелатонінотворювальної функції пінеальної залози.

Висновки

1. Пінеальна залоза чутливо реагує на дію радіації навіть у низьких дозах.
2. Шляхом зміни біохемічних перетворень індолів вона включається у процес формування загального адаптаційного синдрому при радіаційному стресі.
3. Біосинтез індолів у пінеальній залозі зазнає фазних змін у відповідь на дію іонізуючого випромінювання в низьких дозах, проходячи стадії активації, нормалізації та виснаження.
4. У віддалені терміни після опромінювання розвиваються явища гіпопінеалізму, що можна розглядати як одну з центральних ланок у механізмі розвитку захворювань післярадіаційного генезу.

Література

1. Жеребченко П.Г. Противолучевые свойства индолалкиламинов. — М., 1971. — 216 с.
2. Bard F.M., Habit E.L., Harraz M.M. // *Mutat. Res.* — 1999. — Vol. 444. — P. 367–372.
3. Kassayova M., Ahlersova E., Postorova B., Ahlers J. // *Physiol. Res.* — 1995. — Vol. 44, № 5. — P. 315–320.
4. Ahlersova E., Postorova B., Kassayova M. et al. // *Ibid.* — 1998. — Vol. 47, № 2. — P. 133–136.
5. Miller F.P., Maichel R. // *Life Sci.* — 1970. — Vol. 9, Part I, № 13. — P. 447–452.
6. Balemans M.G., Noordegraaf E.M. et al. // *Experimentia.* — 1978. — Vol. 34, № 7. — P. 887–888.
7. Москалев Ю.И. Отдаленные последствия ионизирующих излучений. — М.: Медицина, 1991. — 463 с.
8. Арушанян Э.Б. // *Успехи физиол. наук.* — 1996. — № 3. — С. 31–50.
9. Бондаренко Л.О. // *Сучасні проблеми експериментальної та клінічної ендокринології.* — К., 1994. — С. 18–19.
10. Ром-Бугославская Е.С., Сомова О.В. // *Тез. докл. III Междунар. симпоз. «Адаптация организма при стрессовых ситуациях».* — Анапа, 1995. — С. 81–82.
11. Reiter R.J., Poeggler B., Li-dun Chen et al. // *Acta Gerontol.* — 1994. — P. 92–111.
12. Анисимов В.Н., Арутюнян А.В., Хавинсон В.Х. // *Докл. АН.* — 1997. — Т. 325, № 6. — С. 831–833.
13. Анисимов В.Н., Прокопенко В.М., Хавинсон В.Х. // *Там же.* — 1995. — Т. 343, № 4. — С. 557–559.
14. Малиновская Н.К. // *Клин. мед.* — 1998. — № 10. — С. 15–22.
15. Барабой В.А. // *Фармац. журн.* — 2000. — № 1. — С. 69–72.
16. Ром-Бугославська О.С., Сомова О.В., Комарова І.В., Бондаренко Л.О. та ін. // *Ендокринолог.* — 1994. — С. 102–105.
17. Бондаренко Л.А. // *Онтогенез.* — 1991. — Т. 22, № 1. — С. 57–62.
18. Бондаренко Л.О. // *Фізіол. журн.* — 1992. — № 2. — С. 111–114.
19. Kawashima K., Miwa J., Fujimoto K. et al. // *Clin. and Exp. Hypertens.* — 1987. — Vol. 9, № 7. — P. 1121–1131.
20. Aoyama H., Mori N., Mori W. // *Atheroscler.* — 1988. — Vol. 69, № 2–3. — P. 269–272.
21. Domian E. // *Rev. roum. med. Ser. endocr.* — 1978. — Vol. 16, № 3. — P. 179–189.
22. Maestroni G.J.M., Fragiaco C., Conti A. et al. // *Schweiz. Med. Wochenschr.* — 1991. — Vol. 121, suppl. № 38. — P. 20.
23. Michail N., Cmirgea R. // *Rev. roum. med. Ser. endocr.* — 1979. — Vol. 17, № 4. — P. 255–258.
24. Алиев Т.В., Насибов М.М., Мириева С.Б. // *Роль этифиза в регуляции вегетативных функций.* — Баку, 1984. — С. 37–44.
25. Milcu I., Nanu L. et al. // *Endocrinologie (Buc.).* — 1975. — Vol. 13, № 3. — P. 165–170.
26. Liberman H.R., Waldhauser F., Carfield E. et al. // *Brain Res.* — 1984. — Vol. 323, № 2. — P. 201–207.

Дата надходження: 21.02.2001.

Адреса для листування:

Бондаренко Людмила Олександрівна,
Інститут проблем ендокринної патології
ім. акад. Л.Я. Данилевського, вул. Артема, 10, Харків, 61002, Україна