

Взаємозв'язок активності епіфіза та гонад у щурів-самців у різні сезони року

В.В. Гнатюк, Н.М. Кононенко

Національний фармацевтичний університет, Харків; e-mail: gvalery_nice@ukr.net

За допомогою вивчення вмісту мелатоніну та тестостерону в сироватці крові досліджено функціональну активність епіфіза та гонад у різних сезонах року у щурів-самців різного віку – 3, 9, 15 та 20 міс, що відповідає віку людини 14, 29-30, 43-44, 55-56 років. Виявили наявність циркануального ритму секреції як мелатоніну, так і тестостерону. Найбільший вміст мелатоніну спостерігається у щурів-самців у літній та зимовий період, найменший – восени. На відміну від мелатоніну найвищий вміст тестостерону в усіх вікових групах був восени, найменший – взимку. Встановлений зворотний кореляційний зв'язок між вмістом мелатоніну та тестостерону в вікових групах 3, 9 та 15 міс в усі сезони. Найбільший коефіцієнт кореляції ($r=-0,92$) визначили у щурів віком 9 міс восени, коли вміст мелатоніну в сироватці крові був найменшим, а тестостерону – найбільшим відносно всіх вікових груп та сезонів. Отримані результати дають змогу стверджувати про наявність зв'язку між функціональною активністю епіфіза та гонад у щурів-самців різного віку в різних сезонах року.

Ключові слова: епіфіз; гонади; мелатонін; тестостерон; сезони року; стать; вік

ВСТУП

Більшість фізіологічних процесів на різних рівнях організації – від молекулярного до органного – проходять із визначеною періодичністю. Ритми окремих показників і функцій у нормі синхронізовані між собою, що забезпечує високу надійність функціонування організму [1]. Згідно з сучасними уявленнями роль провідного водія ритму відіграють супрахіазматичні ядра гіпоталамуса (СХЯ). Через контакти з гіпоталамічними нейроендокринними клітинами, що містять рилізінг-гормони, СХЯ регулюють добові ритми секреції гормонів гіпофіза та надсилають свої сигнали до розташованих на периферії ендокринних залоз (надниркові, щитоподібна та статеві залози), викликаючи ритмічні зміни рівня синтезованих ними гормонів [2].

Унікальне регуляторне значення для роботи нервової та ендокринної систем має епіфіз, здатний інтегрувати різні екзогенні й ендогенні сигнали, трансформуючи їх у

гормональну відповідь. Позбавлений власних ритмозадавальних властивостей у ссавців, він забезпечує поєднання, координацію різних за періодом біологічних ритмів [3]. В останні роки мелатонін розглядають як провідний інтегратор, що опосередковує всі найбільш важливі функції епіфіза, пов'язані з контролем діяльності периферичних ендокринних залоз та центральної нервової системи. В нормі його функціональна активність знаходиться в протифазі з діяльністю гіпофіза. Якщо гіпофіз за рахунок тропних гормонів активує ендокринну функцію, то епіфіз, навпаки, її гальмує [4]. При цьому зниження вмісту мелатоніну в крові стимулює синтез гіпофізом лютеїнізуючого (ЛГ) та фолікуло-стимулюючого (ФСГ) гормонів [5].

Тестостерон – є головним гормоном, що підтримує сексуальну функцію у чоловіків та забезпечує взаємодію між нервовою, ендокринною та судиною системами [6]. Процес синтезу тестостерону знаходиться під контролем гіпоталамо-гіпофізарної системи

та реалізується за механізмом зворотного зв'язку на двох рівнях: гіпоталамічному та гіпофізарному [7]. Враховуючи відомості про вплив мелатоніну на синтез ЛГ і ФСГ, знання про взаємозв'язок цих гормонів та синтезу тестостерону, обговорюється наявність зв'язку і між рівнями мелатоніну та тестостерону безпосередньо. Також відомо, що деяким хворобам, в патогенезі яких нині велике значення надається мелатонінодефіциту, – виразкова хвороба шлунка, інфаркт міокарда, гіпертонічна хвороба [8], притаманні гендерні та вікові особливості виникнення – статистично високі рівні захворюваності у осіб чоловічої статі молодого віку [9], але ж робіт, де було б вивчено взаємозв'язок між рівнями мелатоніну та тестостерону в сироватці крові у щурів або чоловіків різного віку в різні сезони року ми не зустріли.

Мета роботи: встановити взаємозв'язок активності епіфіза та гонад у щурів-самців різного віку в різні сезони року за допомогою вивчення вмісту мелатоніну та тестостерону в сироватці крові.

МЕТОДИКА

Дослідження виконані на 96 щурах-самцях, які були розподілені на групи за віком, а саме 3, 9, 15 та 20 міс, що відповідає віку людини 14, 29-30, 43-44, 55-56 років відповідно, в чотирьох сезонах: осінь (жовтень), зима (січень), весна (березень) та літо (липень). Під час досліду тварини були розподілені на групи по 6 тварин в кожній, утримувалися на стандартному харчовому раціоні та температурному режимі в умовах природного освітлення без впливу штучних джерел освітлення. Співвідношення світло/темрява було таким: осінь – 10:14, зима – 8:16, весна – 12:12, літо – 16:8. Визначення вмісту мелатоніну та тестостерону в сироватці крові щурів виконували методом імуноферментного аналізу, з використанням набору Melatonin ELISA («IBL-International», Німеччина) та набору DRG Тестостерон ELISA («DRG», Німеччина). Збір крові проводили з

10.00 до 12.00. Період для забору крові було обрано таким чином, щоб не було збігів піків циркадіанних ритмів секреції досліджуваних гормонів – для мелатоніну це з 2.00 до 4.00, для тестостерону – 6.00-8.00 [3, 10], а також з урахування наявності низько- та високоамплітудних ритмів секреції мелатоніну, співвідношення яких по-різному представлені в різних вікових групах – у молодих переважають високоамплітудні ритми, а у осіб похилого віку – низькоамплітудні [11]. Усі втручання та евтаназію тварин проводили згідно з вимогами комісії з біоетики НФаУ та «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах», що узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних і інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) та I Національного конгресу з біоетики (Київ, 2001). Для визначення взаємозв'язку вмісту мелатоніну та тестостерону розраховували коефіцієнти кореляції. Оцінку щільності зв'язку проводили за «Таблицею Чеддока» [12]:

Коефіцієнт кореляції	Щільність зв'язку
1,0	Зв'язок функціональний
0,9 – 0,99	Дуже сильний
0,7 – 0,9	Сильний
0,5 – 0,7	Значний
0,3 – 0,5	Помірний
0,1 – 0,3	Слабкий
0,00	Зв'язок відсутній

Статистична обробка матеріалу включала використання стандартних методів варіаційної статистики, розрахунок середніх значень (М) та середньої похибки (m); оцінку отриманих результатів проводили методом однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA, вірогідною вважали різницю при $P \leq 0,05$ [13]. Використовували програмне забезпечення Statistica 7.0 та Excel.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Було встановлено, що найбільший вміст мелатоніну спостерігається у щурів-самців в літній та зимовий період, а найменший – восени

(рис. 1,а). Восени цей показник вірогідно знижувався у всіх вікових групах в 1,9-2,4 раза порівняно зі значеннями влітку та в 1,8-2 рази щодо значень в зимовий період. Найменший вміст восени було встановлено в групі щурів віком 9 міс – $127,28 \pm 5,11$ пмоль/л, що було на 22% нижче порівняно з 3-місячними щурами ($P \leq 0,05$) та на 20% – з щурами віком 15 міс ($P \leq 0,05$). Навесні вміст мелатоніну був вищий ніж восени в усіх вікових групах, хоча вірогідна різниця відмічена лише у щурів віком 3 міс – 17% ($P \leq 0,05$).

Встановлено, що найменший вміст мелатоніну навесні спостерігається у щурів віком 20 міс – $140,54 \pm 8,43$ пмоль/л та, як і восени, у щурів 9 міс – $142,33 \pm 7,18$ пмоль/л, що відповідно на 29-28% ($P \leq 0,05$) нижче, ніж у щурів віком 3 міс – $198,66 \pm 10,24$ пмоль/л. Також навесні вірогідна різниця вмісту цього показника була між віковими групами 9 і 20 міс – 25% та 15 і 20 міс – 16%. У тварин всіх вікових груп навесні спостерігалася і різниця щодо вмісту мелатоніну зимою та літом ($P \leq 0,05$).

Таким чином, у всі сезони найбільший вміст мелатоніну виявлено у щурів віком 3 міс, найменший – у щурів 20 міс. Отримані нами результати узгоджуються з даними літератури [3], де автори відмічають зниження вмісту мелатоніну у людей більш похилого віку. Водночас у нашому дослідженні був визначений низький вміст мелатоніну восени, притаманний 9-місячним щурам. Оцінюючи сезонні коливання встановлено, що влітку в усіх вікових групах цей показник був найвищий, що не збігається з даними Бондаренко [14], в якій були досліджені нічні піки синтезу мелатоніну в сироватці крові радіоімунним методом, але узгоджується з даними іншої праці [15], де обговорюються питання наявності високої екскреції метаболіту мелатоніну – 6-сульфтоксимелатоніну саме влітку вночі. Цей факт автор [15] та інші науковці [16], в тому числі і Бондаренко [17], пов'язують зі змінами вертикального компонента геомагнітного поля Землі. Отримані

дані вказують на те, що цикл світло-темрява хоча і є потужним, але не єдиним фактором зовнішнього середовища, який регулює формування біоритмів у пінеальній залозі. Також слід враховувати екстрапінельні джерела синтезу мелатоніну, який може потрапляти в кровотік і впливати на віддалені клітини-мішені [18], а отже бути частиною мелатоніну, що визначається під час аналізу. Найменший вміст мелатоніну було виявлено восени та навесні, що узгоджується з даними літератури, де обговорюються питання існування сезонного фізіологічного десинхронозу в період біологічної весни та осені [19].

Слід відмітити, що найвищий вміст тестостерону у всіх вікових групах спостерігався восени, найменший – взимку ($P \leq 0,05$; див. рис. 1,б). Отримані результати узгоджуються з даними літератури [20], підтверджуючи наявність циркануального ритму секреції тестостерону та можливий взаємозв'язок вмісту мелатоніну та тестостерону. Протягом всього експерименту вміст тестостерону у 20-місячних щурів залишався низьким порівняно з іншими віковими групами, не мав вірогідних відмінностей в різні сезони року, що є важливим показником старіння, яке відбувається в організмі чоловіків [21]. Найбільший вміст тестостерону у крові був восени у самців віком 9 міс – $7,57 \pm 0,53$ нмоль/л та 15 міс – $6,73 \pm 0,93$ нмоль/л, що відповідає віку чоловіків з найвищими значеннями цього показника [22]. При цьому у щурів віком 3 міс вміст тестостерону вірогідно зменшений – $5,52 \pm 0,27$ нмоль/л порівняно з 9-місячними тваринами, що враховуючи більш високий вміст мелатоніну, визначений у щурів віком 3 міс, підтверджує наявність гальмуючого впливу останнього на систему гіпоталамус-гіпофіз-гонади [4, 6]. Однак вірогідна різниця між вмістом тестостерону в групах, що відповідають репродуктивному періоду, а це щури-самці віком 3, 9 та 15 міс, була тільки восени; взимку, навесні та літом – вірогідні відмінності між вмістом тестостерону в сироватці крові відсутні.

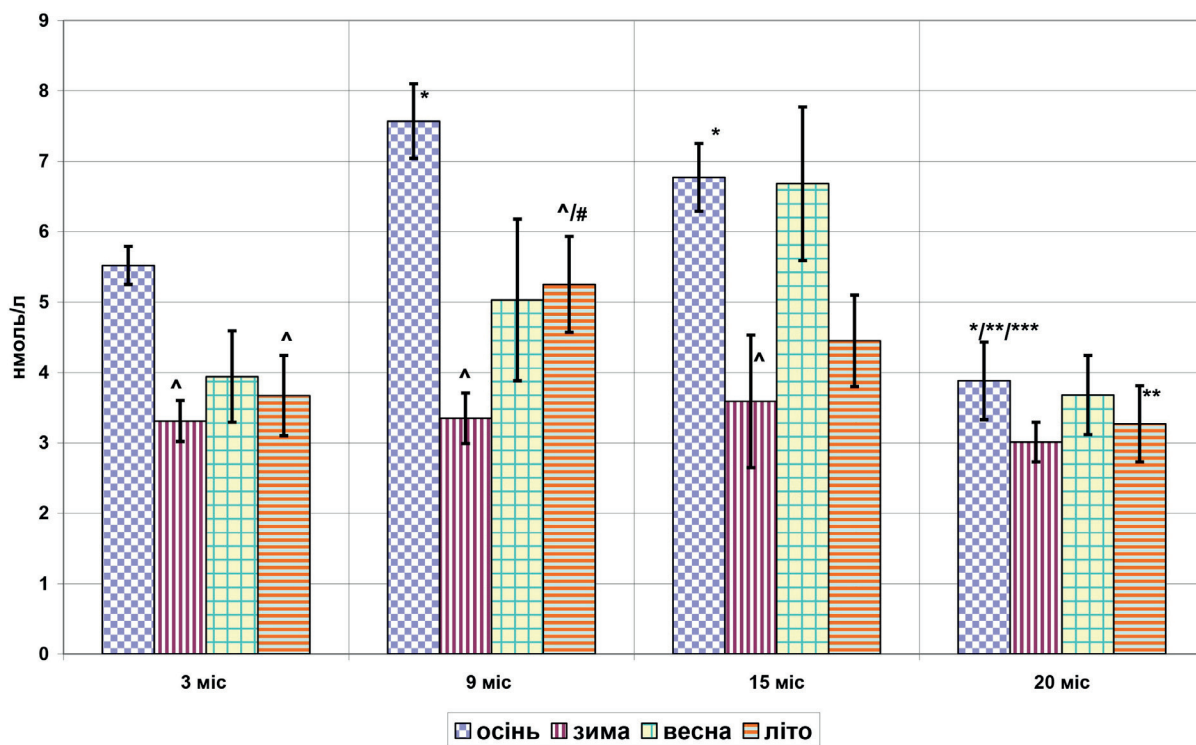
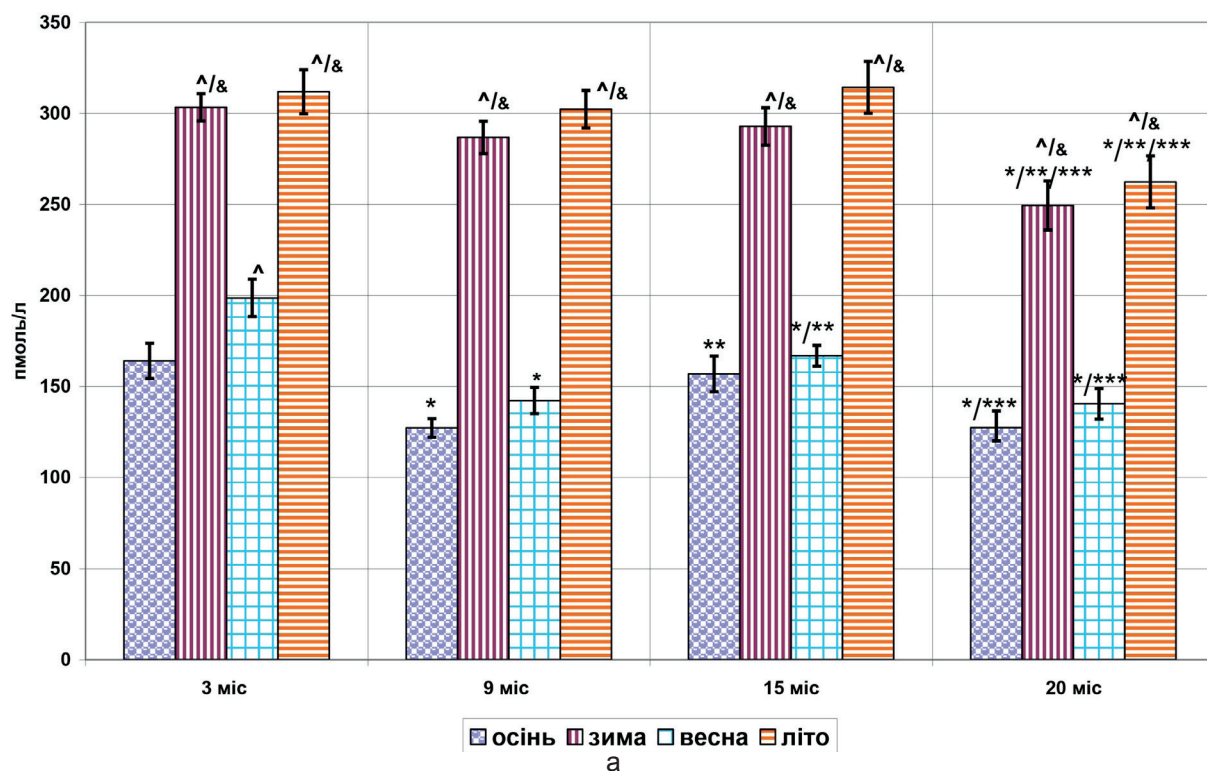


Рис. 1. Вміст мелатоніну (а) та тестостерону (б) в сироватці крові щурів-самців різного віку в різні сезони року.
 * $P \leq 0,05$ відносно щурів віком 3 міс; ** $P \leq 0,05$ відносно щурів віком 9 міс; *** $P \leq 0,05$ відносно щурів віком 15 міс; ^ $P \leq 0,05$ відносно значень восени; & $P \leq 0,05$ відносно значень навесні

Для визначення взаємозв'язку вмісту мелатоніну та тестостерону нами було розраховані коефіцієнти кореляції. Встановлено, що у щурів віком 3, 9 та 15 міс в різні сезони року був зворотний кореляційний зв'язок між вмістом гормонів (рис. 2), що означає – зниження вмісту мелатоніну може призводити до підвищення вмісту тестостерону та навпаки, і ще раз, підтверджує гальмувальний вплив мелатоніну на синтез гонадотропних гормонів гіпофіза [4, 6], а відповідно й на зміни секреції гормонів периферичної ендокринної ланки.

Ступінь кореляції відрізнявся у щурів різного віку та в різні сезони року. Найвищий – дуже сильний – кореляційний зв'язок між вмістом мелатоніну та тестостерону спостерігався у щурів віком 9 міс восени $-0,92$ (рис. 2). До груп зі значним рівнем кореляції (від $-0,50$ до $-0,70$) увійшли щури віком 3 та 15 міс восени – $-0,62$ та $-0,69$ та щури віком 9 та 15 міс у весняний період – $-0,56$ і $-0,59$ відповідно. В інших вікових групах взимку та літом

коефіцієнт кореляції був помірний – від $-0,33$ до $-0,47$. Слабким та різноманітним він був у щурів віком 20 міс від $-0,06$ навесні до $+0,17$ – восени, що свідчить про зміни в системі нейрогормональної регуляції, котрі відбуваються з віком [21]. Отримані результати, можливо пояснити, інтегруючи два механізми: по-перше, гальмувальну дію мелатоніну на систему гіпоталамус-гіпофіз-сім'яники за допомогою пригнічення синтезу гонадотропних гормонів; по-друге, зниження синтезу мелатоніну призводить до підвищення секреції ФСГ та ЛГ, що стимулює синтез тестостерону в клітинах Лейдіга, який в свою чергу, разом з ЛГ, може спричинити ще більше зниження вмісту мелатоніну блокуванням трансляції мРНК N-ацетилтрансферази – головного ферменту перетворення серотоніну в мелатонін [23].

ВИСНОВКИ

1. Встановлено наявність взаємозв'язку функціональної активності епіфіза та гонад

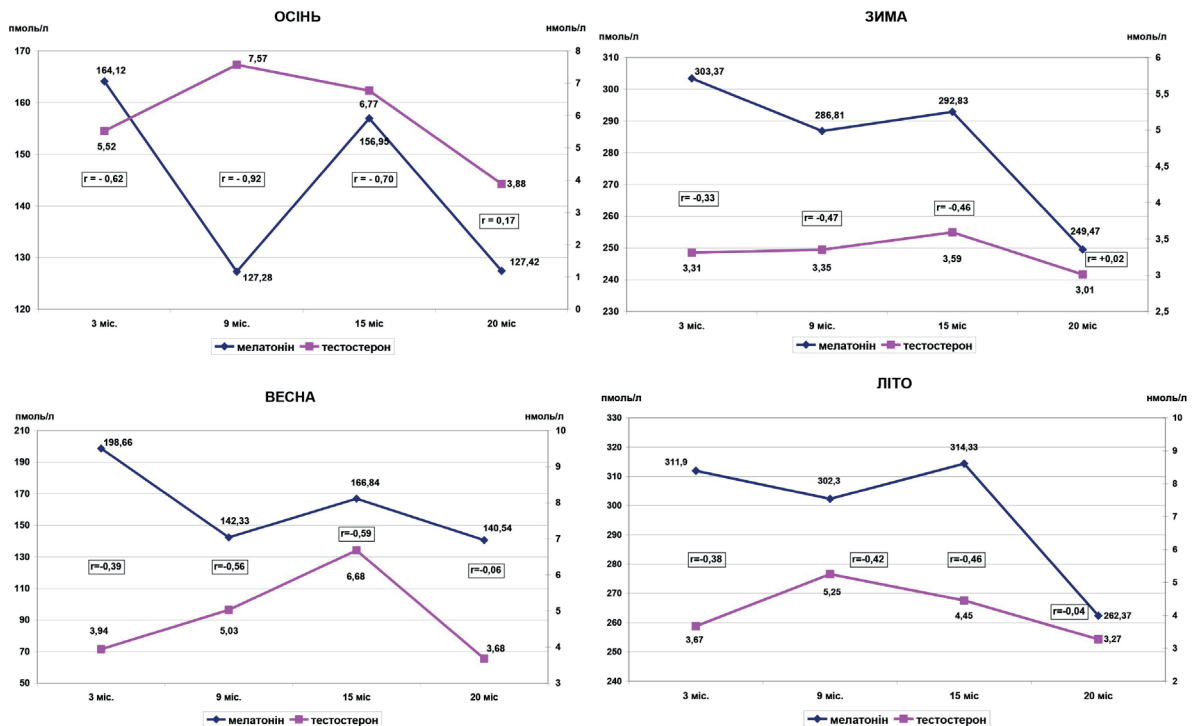


Рис. 2. Показники кореляції мелатоніну та тестостерону в сироватці крові щурів-самців різного віку в різні сезони року

на підставі вивчення вмісту мелатоніну та тестостерону в сироватці крові щурів-самців різного віку в різні сезони року.

2. Найщільніший зворотний кореляційний зв'язок між вмістом мелатоніну та тестостерону спостерігався восени у щурів віком 9 міс.

В.В. Гнатюк, Н.Н. Кононенко

ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ АКТИВНОСТИ ЭПИФИЗА И ГОНАД У КРЫС-САМЦОВ В РАЗНЫЕ СЕЗОНЫ ГОДА

Определяя содержание мелатонина и тестостерона в сыворотке крови провели исследование функциональной активности эпифиза и гонад в разные сезоны года у крыс-самцов разного возраста – 3, 9, 15 та 20 мес, что соответствует возрасту человека 14, 29-30, 43-44, 55-56 лет. Установили присутствие цирканнуального ритма секреции как мелатонина, так и у тестостерона. Наибольшее содержание мелатонина наблюдается у крыс-самцов в летний и зимний период, наименьшее – осенью. В отличие от мелатонина наивысшее содержание тестостерона во всех возрастных группах было осенью, наименьшее – зимой. Установлена обратная корреляционная связь между содержанием мелатонина и тестостерона в возрастных группах 3, 9 и 15 мес во все сезоны. Наибольший коэффициент корреляции ($r=-0,92$) был определен у крыс возрастом 9 мес осенью, когда содержание мелатонина в сыворотке крови было наименьшим, а тестостерона – наибольшим относительно всех возрастных групп и сезонов. Полученные результаты позволяют утверждать, что существует связь между функциональной активностью эпифиза и гонад у крыс-самцов разного возраста в разные сезоны года.

Ключевые слова: эпифиз; гонады; мелатонин; тестостерон; сезоны года; пол; возраст.

V. Hnatiuk, N. Kononenko

THE STUDY OF THE RELATIONSHIP BETWEEN THE ACTIVITY OF EPIPHYSIS AND GONADS IN MALE RATS IN DIFFERENT SEASONS

In male rats of different ages, we studied the functional activity of the pineal gland and the gonads during different seasons by determining the levels of melatonin and testosterone in the blood serum. It was found that the highest levels of melatonin observed in male rats in summer and winter, and the lowest – in autumn. The lowest level of melatonin has been established in the group of rats aged 9 months – 127.28 ± 5.11 pmol/l that was 22% lower than the level of melatonin in 3 months old rats ($P \leq 0,05$), and 20% below the level of melatonin in rats of 15 months old ($P \leq 0,05$). The highest level determined in rats aged 3 months (corresponds to the age of man – 14 years old),

the lowest – in rats 20 months (corresponds to the age 55-56 years old). At the same time, the low level of melatonin was defined in rats aged 9 months in the autumn (corresponds to the age of man 29-30 years). In the study of testosterone levels in different seasons it was found that the highest level in all age groups presents in autumn, the lowest – in winter. When comparing the levels of testosterone in different age groups, it was determined that the fall of the highest level of testosterone present in the blood of males age 9 months and 15 months, which corresponds to the age of 29-30 and 43-44 of human years. Significant difference between the levels of testosterone in the groups that correspond to the reproductive age – rats of age 3, 9 and 15 months, are present only in the autumn; spring and summer – significant differences between the levels of testosterone absent. The degree of correlation differed in rats of different ages in different seasons: the highest correlation between the levels of melatonin and testosterone was determined in rats aged 9 months in autumn. The correlation coefficients in rats aged 20 months old have been weak - from 0.05 in the spring to 0.17 in autumn that shows the changes in neurohormonal regulation which occur with age.

Key words: epiphysis; gonads; melatonin; testosterone; seasons; sex; age.

National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

REFERENCES

1. Korkushko OV, Shatilo VB. Functional status pineal gland of the brain with aging: ways of correction desynchronosis. Bukovin Med Visnik. 2006;4(10):8–10. [Ukrainian].
2. Komarov FI, Rapoport SI, Malinovskaia NK, Anisimov VN. Melatonin in health and disease. Moscow; 2004. [Russian].
3. Anisimov VN. Chronometer of life. Priroda. 2007;7:3–10. [Russian].
4. Yanko RV. Morphofunctional state of the thyroid gland after exposure to melatonin. Fiziol Zh. 2015;5(61):47–51. [Ukrainian].
5. Kaladze NN, Soboleva EM, Skoromnaia NN. Results and prospects of physiological, pathogenetic and pharmacological effects of melatonin. Zdorov Reb. 2010; 2(32):156–66. [Russian].
6. Minukhin AS. The role of androgens in the provision of sexual function in men. Probl Endocr Path. 2010; 1:99–106. [Russian].
7. Minukhin AS, Bondarenko VA. The role of hormonal factors in the regulation and maintenance of sexual function of men. Probl Endocr Path. 2011; 1:76–82. [Russian].
8. Kostenko E, Manevich TM, Razumov NA. Desynchronosis as One of the Most Important Factors of Cerebrovascular Disease. Lecheb Delo. 2013; 2:104–116. [Russian].
9. Osnovni prichini visokogo rinvya smertnosti v Ukraini. News Med and Pharm. 2010; 22 (350):URL: <http://www.mif-ua.com/archive/article/15170>. (Accessed 01.04.2016). [Russian].

10. Brambilla DJ, Matsumoto AM, Araujo AB, McKinlay JB. The effect of diurnal variation on clinical measurement of serum testosterone and other sex hormone levels in men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94(3):907–13.
11. Korkushko OV, Khavinson VKh, Shatilo VB, Pisaruk AV, Labunets IF. Diurnal rhythms of changes in the function of cardiovascular system and its autonomic regulation in apparently healthy elderly subjects with special reference to the state of melatonin-producing function of the epiphysis. *J Acad Med Sci Ukr.* 2005; 1 (11):136–47.
12. Mukaka MM. Statistics corner: A guide to appropriate use of Correlation coefficient in medical research. *Malaw Med J Sept.* 2012; 24(3): 69–71.
13. Kochetov AG, Liang OV, Masenko VP, Zhiron IV, Nakonechnikov SV, Tereshchenko SN. Statistical methods of medical data. Moscow, 2012. [Russian]
14. Bondarenko LA. Comparative estimation of season influence on the night melatonin concentration peak formation in young and old rats. *Physiol J.* 1992; 2(38):111–14. [Russian].
15. Bartsch H, Bartsch C, Mecke D, Lippert TH. Seasonality of pineal melatonin production in the rat: possible synchronization by the geomagnetic field. *Chronobiol Int.* 1994; 11(1):21–6.
16. Rapoport SI, Malinovskaya NK. Epiphysis – the target-organ of biotropic action of natural magnetic waves. *Bukov Med Herald.* 2006; 4(10):13–15. [Russian].
17. Bondarenko LA. The role of interactions between internal and external environmental factors in regulation of pineal gland functional activity. Manuscript. Kyiv, 2003. P.10. [Russian].
18. Belenichev IF, Gubskiy YuI, Llevitsky EL, Kovalenko SI, Marchenko AN. Regulation of antioxidant homeostasis and system detoxication of organism by hormone melatonin. Role of melatonin dependent receptors in realization of this function. *Mod Probl Toxicol.* 2003; 2:2–16. [Russian].
19. Johnsson A. Light, circadian and circannual rhythms. *Solar Radiat Human Health.* Oslo, 2008. P. 57–75.
20. Agadzhanian NA, Radish IV, Khisamutdinov AF. The lipid and hormone metabolism in healthy men in different seasons. *Kazan Med J.* 2009; 6 (90):776–79. [Russian].
21. Bondarenko LA. Some hormonal mechanisms of accelerated aging at gipopinealizme. Kharkiv, 2015. [Russian].
22. Iarygina VN, Melenteva AS. Manual Gerontology and Geriatrics. Moscow, 2010. [Russian].
23. Belichev IF, Gubskii YI, Levickii EL, Kovalenko SI, Marchenko AN. Regulation of antioxidant homeostasis and detoxification system of the body of the hormone melatonin. The role of melatonin-dependent receptors in this function. *Such Probl Toksik.* 2003; 2:2–16. [Russian].

*Матеріал надійшов до
редакції 22.01.2016*