

БИОХИМИЯ

УДК 612.014/392.63:615.357.631

ВЛИЯНИЕ ТЕСТОСТЕРОНА НА КАЛЬЦИЕВЫЙ ОБМЕН И ЕГО ГОРМОНАЛЬНУЮ РЕГУЛЯЦИЮ

Н.Г. Беляев, Е.Г. Болотова

Ставропольский государственный университет

Установлено, что тестостерон в условиях физиологического покоя оказывает выраженное гипокальциемическое действие, опосредованное через стимуляцию секреторной активности светлых клеток щитовидной железы и повышение биологической активности кальцитонина. Инъекция тестостерона тиропаратиреоидэктомизированным животным не сопровождалась развитием гипокальциемии. В период действия однократного стрессирующего фактора тестостерон ингибирует секрецию кальцитонина и уменьшает выраженность гипокальциемии.

Ключевые слова: кальцитонин; тестостерон; кальций; гипокальциемия; тиропаратиреоидэктомия; кальциевый обмен.

Введение. В связи с важной ролью кальция (Ca) в большинстве физиологических процессов, научные исследования, посвященные гормональной регуляции кальциевого обмена, занимают особое место. Среди них работы по гипотермии [10; 16; 18; 20], особенностям обмена Ca в условиях невесомости [7], анализу изменения уровня Ca при стрессах различной этиологии [14; 21]. Изучено активное участие этого иона в работе кардиомиоцитов и сердечно-сосудистой системы [1; 6; 11], в функционировании нейронов [12; 17] и синапсов [2; 3]. Во многих работах описаны особенности метаболизма Ca в условиях выполнения мышечных нагрузок различной длительности и интенсивности [4; 5; 9; 15; 21].

Установлено, что на гомеостаз кальция помимо основных кальцийрегулирующих гормонов кальцитонина (КТ), паратгормона (ПТГ) и витамина Д₃ оказывают влияние и ряд других гормонов, в частности гормоны эпифиза, коры надпочечников, половые гормоны. Значимым является исследование возможных механизмов приложения указанных гормональных факторов в период формирования приспособительных реакций организма. В данном направлении особый интерес представляют исследования механизмов влияния тестостерона, обладающего мощным анаболическим эффектом.

Цель данной работы — исследование механизмов влияния тестостерона на метаболизм Ca в условиях покоя и выполнения однократной мышечной нагрузки.

Материал и методика. Эксперименты выполнены на крысах-самцах

линии «Вистар» массой 180–200 гр. в возрасте 6 месяцев, содержащихся в обычных условиях вивария при сбалансированном рационе питания, в светлое время суток, в первой половине дня.

Все процедуры в работе с крысами проводили согласно нормам и правилам обращения с лабораторными животными. Кровь для анализа брали из бедренной вены под легкой эфирной анестезией, затем животных выводили из эксперимента. В соответствии с инструкцией по сбору, хранению и транспортировке биологического материала для лабораторных исследований забор крови производили в предварительно охлажденную пробирку, стабилизировали гепарином и помещали ее в емкость со льдом. Центрифугировали в течение 15 минут при 3000 об/мин. Полученную плазму хранили в холодильной камере с соблюдением температурного и временного режима в зависимости от определяемого компонента крови.

Гиперандрогения моделировалась путем внутримышечного введения раствора тестостерона пропионата в оливковом масле для инъекций в объеме 0,12 мг/100 г массы тела животного. В контрольной группе вводили физиологический раствор в том же количестве. Гипокальцитонинемия создавалась путем удаления щитовидной железы (ЩЖ). При этом удалялись и околощитовидные железы. Тиропаратиреоидэктомия у белых лабораторных крыс проводилась в соответствии с рекомендациями Я.Д. Киршенблат [13].

При моделировании мышечной нагрузки использовался тредбан с электростимулирующей решеткой, роль которой заключалась в выработке у крыс рефлекса «избегания». По мнению большинства исследователей, беговая дорожка является наиболее удобным способом моделирования физической деятельности на мелких лабораторных животных, так как бег является привычным видом мышечной деятельности для крыс. 3–4 предварительные тренировки по 15 минут вырабатывали у животных рефлекс выполнения мышечной нагрузки. Животные, у которых была затруднена выработка рефлекса «избегания» исключались из эксперимента. Из эксперимента также исключались животные с изначально низкой физической работоспособностью. Лабораторные крысы получали нагрузку средней длительности (90 минут), при скорости движения ленты тредбана 20 м/мин. Определение концентрации общего Са в плазме крови осуществлялось о-крезолфталеиновым методом на спектрофотометре «КФК-2». Содержание кальцитонина (КТ) оценивали с помощью иммуноферментативного многоканального фотометра «Benchmark Microplate Reader». Кальцитониновую активность плазмы (КТ-активность) определяли методом биологического тестирования. В качестве тест-объектов использовали мышей [19]. Достоверность различий полученных результатов определяли по t-критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Из табл. 1 видно, что введение тестостерона в условиях относительного покоя вызывает изменения не только уровня общего Са в крови, но и гормональной составляющей поддержания его гомеостаза. Так в течение 48 часов после введения

андрогена фиксируется гипокальциемия, с максимальным проявлением через 3 и 6 часов после инъекции. Повышение секреторной активности С-клеток ЩЖ наблюдалось в течение 24 часов эксперимента. Но высокая биологическая активность КТ сохраняется только первые 6 часов после введения тестостерона.

Таблица 1

Влияние тестостерона на содержание Са, КТ и КТ-активность плазмы крови крыс ($M \pm m$)

Величина	Условия эксперимента				
	контроль	после введения тестостерона через:			
		3 часа	6 часов	24 часа	48 часов
Са, ммоль/л	2,21±0,04	1,3±0,04 P<0,001	1,52±0,08 P<0,001	2,09±0,03 P<0,05	2,08±0,03 P<0,05
КТ-активность, мед/мл,	0,2±0,07	16,4±1,42 P<0,001	14,2±1,09 P<0,001	0,6±0,14 P<0,05	1,0±0,21 P<0,01
Кальцитонин, пг/мл	24,7±2,36	115,0±10,21 P<0,001	136,2±9,35 P<0,001	109,3±10,33 P<0,001	36,0±2,77 P<0,02

Примечание. P — достоверность различий по сравнению с контрольной группой; n=5.

Учитывая значительное возрастание концентрации КТ и его биологической активности в первые часы после введения тестостерона можно с большой уверенностью утверждать, что первоначально гипокальциемическое действие мужского полового гормона проявляется опосредованно — через стимуляцию секреторной активности С-клеток ЩЖ и повышение биологической активности КТ. При этом опосредованный эффект тестостерона более значим, чем его последующее влияние на метаболизм Са через костную ткань.

Убедительным подтверждением выраженного опосредованного гипокальциемического действия тестостерона являются результаты эксперимента с удалением основных кальцийрегулирующих желез (табл.2). В данном случае максимальное снижение уровня общего Са при введении тестостерона составило 9,5% (3,15±0,07 ммоль/л до введения и 2,85±0,09 ммоль/л через 3 часа после введения гормона). Инъекция гормона животным с интактными щитовидными и околощитовидными железами обеспечивало снижение концентрации общего Са на 41,2% (2,21±0,04 ммоль/л до введения и 1,3±0,04 ммоль/л через 3 часа после введения гормона).

При этом нельзя исключить и тот вариант, что гипокальциемическое действие тестостерона может проявляться не только за счет стимулирования секреторной активности С-клеток ЩЖ, но и путем повышения биологической активности КТ. Обладая выраженным анаболическим действием, тестостерон может уменьшать процент неактивной формы КТ — гормона, связанного с белками и увеличивать процент свободного — активного КТ.

Таблица 2

Влияние тестостерона на уровень общего кальция, КТ
в плазме крови крыс в условиях тиропаратиреоидэктомии ($M \pm m$)

Величина	Контроль	Тиропаратиреоидэктомизированные			
		через 3 часа после операции		через 6 часов после операции	
		без тестостерона	с тестостероном	без тестостерона	с тестостероном
Са, ммоль/л	2,21±0,04	3,15±0,07 P<0,001	2,85±0,09 P<0,001 P ₁ <0,05	2,98±0,09 P<0,001	2,58±0,10 P<0,001 P ₁ <0,02
КТ, пг/мл	24,7±2,36	31,0±1,00 P<0,05	27,4±0,87 P>0,1 P ₁ <0,05	62,0±8,00 P<0,02	44,0±2,31 P<0,001 P ₁ >0,1

Примечание. P — достоверность различий по сравнению с контрольной группой,
P₁ — между экспериментальными группам; n=5.

Полученные данные демонстрируют наличие определенных функциональных связей между кальцитонинпродуцирующими клетками и тестостероном, которые во многом определяют гипокальциемический эффект мужского полового гормона. С целью выявления характера связей между указанными системами организма в условиях адаптации к стресс-факторам была проведена серия экспериментов по определению влияния тестостерона на метаболизм Са в условиях выполнения мышечной нагрузки.

Таблица 3

Влияние тестостерона на содержание Са, КТ и
КТ-активность плазмы крови крыс
при мышечной нагрузке ($M \pm m$).

Величина	M±m		
	контроль	нагрузка 90 мин	нагрузка 90 мин+ тестостерон 0,25 мг
Са, ммоль/л	2,21±0,04	1,48±0,04 P<0,001	1,72±0,06 P<0,001 P ₁ <0,01
КТ-активность, мед/мл	0,17±0,07	20,11±5,41 P<0,01	1,1±0,4 P<0,02 P ₁ <0,08
Кальцитонин, пг/мл	24,71±2,36	77,7±5,2 P<0,001	27,56±1,1 P<0,001 P ₁ <0,001

Примечание. P — достоверность различий по сравнению с контрольной группой,
P₁ — между экспериментальными группам; n=5.

Согласно данным, представленным в табл. 3, выполнение животными однократной мышечной нагрузки сопровождалось повышением уровня КТ,

его биологической активности и как следствие развитием гипокальциемии. Учитывая важность Ca в секреции гормонов стрессадаптивного звена, гипокальциемию и гиперкальцитонинемию следует рассматривать как своеобразную «физиологическую меру», направленную на предохранение организма от чрезмерного расходования пластических и энергетических ресурсов организма [8].

В условиях гиперандрогении выполнение аналогичной по объему и интенсивности мышечной нагрузки не способствовало повышению секреторной активности С-клеток ЩЖ и повышению уровня КТ, а гипокальциемия была не столь выражена как в условиях без введения тестостерона. Следовательно, в условиях адаптации организма к стресс-фактору характер взаимодействия тестостерона с кальцитонинпродуцирующими клетками меняется. Тестостерон оказывает угнетающее действие на секреторную активность С-клеток ЩЖ.

Заключение. Полученные данные позволяют утверждать, что между кальцитонинпродуцирующими клетками и тестостероном существуют определенные функциональные связи. Характер связей определяется функциональным состоянием организма. В частности, мужской половой гормон — тестостерон в условиях физиологического покоя проявляет гипокальциемические свойства, а в период действия однократного стрессирующего фактора ингибирует секрецию КТ и уменьшает выраженность гипокальциемии, ограничивая таким образом активность стресслимитирующей системы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Александрова Е.А.* Кальцийтранспортирующие системы и регуляция концентрации кальция в кардиомиоцитах // Успехи физиол. наук. 2001. № 3 (32). С. 40–48.
2. *Балезина О.П., Букия А.Н., Лаптева В.И.* Разнонаправленное действие внутриклеточного высвобождения кальция на квантовую секрецию медиатора // Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2005. Т. 91, №1. С. 61–70.
3. *Балезина О.П., Богачева П.О., Орлова Т.Ю.* Влияние блокаторов кальциевых каналов L-типа на активность новообразуемых синапсов мышцы // Бюл. эксперимент. биологии и медицины. 2007. Т. 143, № 2. С. 128–131.
4. *Беляев Н.Г.* Определение концентрации общего кальция в крови как потенциального маркера состояния перетренированности // Теория и практика физической культуры. 2002. № 5. С. 14–16.
5. *Беляев Н.Г., Беляева Н.Н., Соколов В.Н.* Суточная динамика содержания кальция в условиях моделирования хронического физического стресса // Морфология. 2006. № 2. С. 20.
6. *Блохин И.О., Власов М.М., Галагудза Е.М., Нифонтов Е.М., Петрищев Н.Н.* Роль натрий-кальциевого обменника в формировании устойчивости миокарда к ишемии и реперфузии // Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2008. Т. 94, № 3. С. 284–292.
7. *Григорьев А.И., Ларина И.М., Моруков Б.В.* Особенности обмена кальция в невесомости // Физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 1999. Т. 85, № 6. С. 835–846.

8. Држевецкая И.А., Мишина Н.Ф., Лиманский Н.Н. Тирокальцитонин компонент стресса. Гистогематические барьеры и нейрогуморальная регуляция. М., 1981.

9. Држевецкая И.А., Држевецкий Ю.М. Гормональная регуляция обмена кальция и секреторные процессы. М., 1983. (ВИНИТИ. Серия физиология человека и животных; Т. 27).

10. Иванов К.П., Арокина Н.К., Потехина И.Л. Стимуляция физиологических функций у крыс при глубокой гипотермии без отогревания с помощью введения в желудочки мозга ЭДТА // Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2005. Т. 91, № 3. С. 286–292.

11. Кондратьев Д.В., Казанский В.Е., Камкин А.Г. Роль кальция в реакции сердца на механическое воздействие // Успехи физиол. наук. 2008. Т. 39, № 3. С. 3–28.

12. Костюк П.Г. Ионы кальция и пластичность нервной системы // Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2001. Т. 87, № 8. С. 1017–1025.

13. Киришенблат Я.Д. Практикум по эндокринологии. М., 1969.

14. Маслова М.Н. Молекулярные механизмы стресса // Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2005. Т. 91, № 11. С. 1320 – 1328.

15. Меньшиков И.В. Свободные жирные кислоты и Ca^{2+} в плазме крови после продолжительной физической нагрузки у спортсменов, тренирующих выносливость // Физиология человека. 2004. Т. 30, № 4. С. 124–129.

16. Рубцов А.М. Сезонные изменения активности мембранных кальций-транспортирующих систем сердца и скелетных мышц животных-гибернаторов // Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2005. Т. 91, № 2. С. 141–151.

17. Семенов Д.Г., Беляков А.В., Самойлов М.О. Умеренная гипобарическая гипоксия модифицирует Ca^{2+} -опосредованную глутаматергическую сигнальную трансдукцию в коре мозга крыс // Бюл. эксперимент. биологии и медицины. 2009. Т. 147, № 2. С. 144–147.

18. Слепчук Н.А., Мельникова Н.Н. Влияние концентрации ионов кальция в крови на физиологические функции крыс при иммерсионной гипотермии // Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2001. Т. 87, № 7. С. 933–944.

19. Ткачев Г.А., Симонов В.В., Каплан В.П. Способ определения концентрации тирокальцитонина в плазме крови // Лабораторное дело. 1975. № 8. С. 476–478.

20. Федоров Г.С., Потехина И.Л., Иванов К.П. О корреляции между концентрацией ионов кальция (Ca^{2+}) в крови и состоянием физиологических функций у животных при глубоком охлаждении // Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2005. Т. 91, № 10. С. 1205–1212.

21. Худавердян Д.Н., Аракелян К.П. О включении кальцийрегулирующих гормонов кортизола и электролитов крови в ранние приспособительные реакции организма // Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2002. Т. 88, № 3. С. 381–386.

22. Цыбизов Г.Г. Гуморальная регуляция гомеостаза кальция и фосфора при физических нагрузках // Физиол. журн. СССР. 1979. Т. 65, № 10. С. 1539–1542.

**INFLUENCE OF TESTIS HORMONE
ON A CALCIUM EXCHANGE
AND ITS HORMONAL REGULATION**

N.G. Beljaev, E.G. Bolotova

Stavropol State University

It is established that testis hormone in the conditions of physiological rest renders expressed mediated hypocalcemic action through the stimulation of confidential activity of light cells of a thyroid gland and rising of biological activity of calcitonin. Testis hormone injection of the tiroparathyreoidectomy animals was not accompanied by hypocalcemia development. In the period of the stressful factor action, testis hormone inhibits secretion KT and reduces the expression of hypocalcemia.

Key words: calcitonin; testis hormone; calcium; hypocalcemia; tiroparathyreoidectomy; calcium metabolism.