

УДК 616.89-009.19+614.876]:615.256.51

**ДЕЙСТВИЕ БЕМИТИЛА НА СПЕЦИФИЧЕСКОЕ СВЯЗЫВАНИЕ  
ЭСТРАДИОЛА КАРДИОМИОЦИТАМИ КРЫС В УСЛОВИЯХ  
ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ И СТРЕССА**С. Н. Мельник<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Гомельский государственный медицинский университет<sup>2</sup>Институт радиобиологии Национальной Академии наук Беларуси, г. Гомель

Установлено, что воздействие стресса на содержание специфических рецепторов к эстрадиолу в миокарде крыс проявляется в большей степени спустя 3 суток, достоверно снижая данный показатель. Внешнее  $\gamma$ -облучение статистически значимо увеличивает число рецепторов для эстрадиола в миокарде на 10 суток. Комплексное воздействие иммобилизационного стресса и ионизирующего излучения достоверно снижают цитоплазматическую фракцию миокардиальных рецепторов к эстрадиолу на 75 % к 30 суткам. Применение бемитила позволяет компенсировать эффекты, оказываемые острым иммобилизационным стрессом и ионизирующим излучением.

**Ключевые слова:** цитозольная рецепция, эстрадиол, кардиомиоциты, ионизирующее излучение, стресс, бемитил.

**EFFECT OF BIMITHYL ON THE SPECIFIC ESTRADIOL BINDING  
BY CARDIOMYOCYTES OF RATS IN THE CONDITIONS  
OF IONISING RADIATION AND STRESS**S. N. Melnik<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Gomel State Medical University<sup>2</sup>Institute of Radiobiology» of the National Academy of Sciences, Gomel

It has been ascertained, that the stress influence on the contents of specific receptors for estradiol in rats' myocardium becomes evident to its maximum extent on the third day, reliably decreasing this index. The external  $\gamma$ -irradiation statistically increases the number of receptors for estradiol in the myocardium on the tenth day. The complex effect of the immobilizing stress and ionising radiation reliably decline cytoplasmic fraction of myocardial receptors for estradiol to 75 % on the 30th day. The application of bimithyl allows compensation of the effects, induced by the acute immobilizing stress and ionizing radiation.

**Key words:** cytosolic reception, estradiol, cardiomyocytes, ionizing radiation, stress, bimithyl.

**Введение**

Клинические наблюдения свидетельствуют, что частота сердечно-сосудистых заболеваний и инфаркта миокарда у женщин достоверно ниже, чем у мужчин того же возраста. Обращает на себя внимание тот факт, что данная закономерность касается только женщин репродуктивного возраста; с наступлением менопаузы указанное различие между полами исчезает. Можно полагать, что относительно низкая распространенность сердечно-сосудистых заболеваний у женщин до менопаузы связана с наличием в их организме женских половых гормонов, в первую очередь, эстрогенов, содержание которых в менопаузе резко падает [1]. Клинические исследования свидетельствуют, что сердечно-сосудистые заболевания развиваются на определенной эндокринной основе, а их развитие во многом детерминировано полом [2, 3]. Таким образом, общебиологическая роль эстрогенных гормонов не ограничивается контролем формирования и регуляцией репродуктивной сферы женского организма, а также антиандрогенной активностью; их влияние распространяется на все системы человека, включая сердечно-сосудистую.

Экспериментальные, клинические и морфологические данные указывают на то, что радиационно-индуцированная болезнь сердца развивается в результате повреждения микроциркуляторного русла с последующей сниженной или патологически измененной репарацией эндотелиоцитов и развитием ишемических изменений, обуславливающих в дальнейшем формирование фиброза в различных структурах сердца, то есть в основе нарушений микроциркуляции лежит повреждение эндотелия [4].

Одним из наиболее важных нерадиационных факторов, который может сопровождать действие ионизирующего излучения на организм и оказывать неблагоприятное воздействие, является эмоциональный стресс, который может выступать как фактор этиологии и патогенеза при самых различных формах патологии, а также потенцировать уже имеющиеся заболевания [5].

Для предупреждения и коррекции эмоционально-стрессовых нарушений могут быть использованы различные фармакологические средства. Главной задачей является устранение эмоционального перенапряжения и редукция сформировавшихся на этом фоне негативных последствий.

Одним из препаратов новой группы фармакологических средств антигипоксантов (актопротекторов), эффективность действия которых базируется на защите тканей от кислородного голодания, является бемитил [6]. Такие состояния организма человека встречаются как в физиологических условиях, так и при заболеваниях (стрессах, травмах, шоке, радиационном поражении).

**Цель работы** — изучение влияния бемитила на специфическое связывание эстрадиола кардиомиоцитами крыс, под действием стрессорного и радиационного факторов.

#### **Материалы и методы исследования**

Экспериментальная работа проводилась на базе Государственного научного учреждения «Институт радиобиологии» НАН Беларуси и на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет».

Эксперименты выполнены на 170 беспородных 6–7-месячных лабораторных крысах-самках массой 180–200 г с соблюдением всех правил проведения работ при использовании экспериментальных животных (стандартный уход и содержание в виварии, адаптирование к условиям эксперимента, соблюдение асептики и антисептики при операциях).

Животных облучали (однократно и равномерно) на установке ИГУР  $\gamma$ -квантами  $^{137}\text{Cs}$  в дозе 1 Гр при мощности дозы 0,9 Гр/мин. Ионизирующее излучение в этой дозе не вызывает у крыс развития клинических признаков лучевой болезни. На 1 сутки после облучения крыс подвергали воздействию стресса путем жесткой фиксации в положении на спине в течение 6 часов. Необлученных крыс стрессировали одновременно с облученными. Контролем служили животные соответствующего возраста. Стрессированным животным бемитил вводили внутривентриально в оптимальной эффективной дозе 25 мг/кг. Дозу делили на две равные части и вводили первую часть за 20 минут до стресса, а вторую часть сразу после стресса. Облученным крысам вводили всю дозу сразу.

Таким образом, в эксперименте использовали 7 групп животных: 1) контрольные (интактные) крысы; 2) облученные животные; 3) животные, подвергшиеся стрессу; 4) облученные и подвергшиеся стрессу крысы; 5) облученные животные + бемитил; 6) животные, подвергшиеся стрессу + бемитил; 7) облученные и подвергшиеся стрессу крысы + бемитил. Исследование проводили на 3 сутки («стадия резистентности»), 10 и 30 сутки (отдаленные этапы постстрессорного периода).

После декапитации животных забирали участок миокарда со стороны верхушки сердца, измельчали ножницами и гомогенизировали в гомогенизаторе стекло/стекло, используя

буфер А (20 мМ трис-НСl, рН 7,4 при 0–4°) в 2–3 приема по 5–7 секунд. Все процедуры проводились при температуре 0–4 °С, что диктовалось необходимостью снижения повреждающего действия ферментативных систем, а также температурной лабильностью рецепторных белков.

Изучение физико-химических параметров гормон-рецепторного взаимодействия проводилось с использованием метода насыщающего анализа. В качестве лиганда использовали [2, 4, 6, 7]- $^3\text{H}$ -эстрадиол (активность 88 Ки/ммоль фирмы Amersham (Англия)). Гомогенат миокарда центрифугировали при 37000 об./мин на протяжении 1 часа в центрифуге Beckman L8-50 M/E (ротор 50 Ti). Полученную надосадочную жидкость (цитозоль) инкубировали с [2, 4, 6, 7] —  $^3\text{H}$ -эстрадиолом в течение 18 часов при 0–4 °С. Инкубацию проводили в присутствии (Вн) или отсутствии (Во) 200-кратного избытка немеченого аналога. Свободный и связанный белками стероид разделяли методом твердофазной адсорбции на декстран-покрытом угле (активированный уголь Norit А — 0,5 %, декстран Т40 — 0,05 %). Длительность адсорбции составляла 3–5 минут. Далее уголь осаждали при 2000–3000 г в течение 3 минут [7].

Супернатант по 0,2 мл переносили во флаконы для счета радиоактивности, в которые добавляли по 5 мл сцинтилляционной жидкости (Ultima cold АВ Packard (США)). Просчет образцов осуществляли на  $\beta$ -сцинтилляционном счетчике Tri-carb Packard 2500TR (США). Специфическое связывание (Вс) определяли как разность между общим (Во) — счет в пробирках с меченым гормоном и неспецифическим связыванием (Вн) — счет в пробирках с избытком немеченого стероида (Вс = Во – Вн).

Концентрация белка в сыворотке крови и цитозоле определялась по методу Лоури [8].

Статистическую обработку полученного материала осуществляли с использованием пакетов компьютерных программ «Microsoft Excel» 2007 и «Statistica» 6.0. При сравнении независимых групп с ненормальным распределением значения одного или двух количественных признаков использовали непараметрический метод — критерий Манна-Уитни.

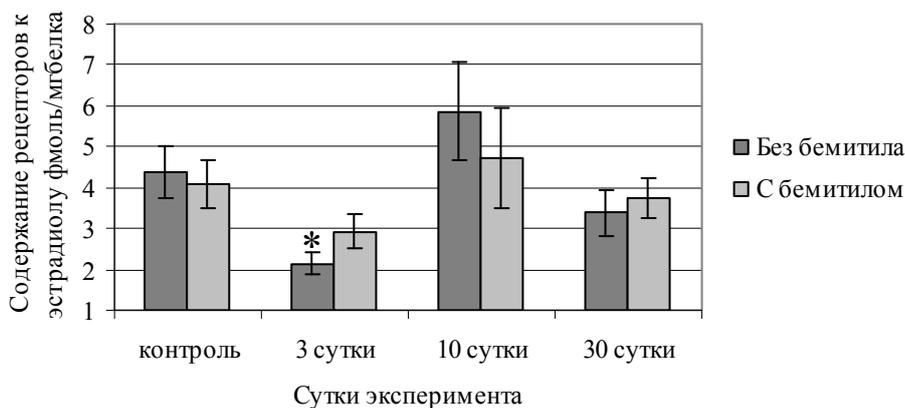
#### **Результаты и их обсуждение**

Установлено, что содержание специфических рецепторов к эстрадиолу в миокарде контрольных крыс равнялось  $4,37 \pm 0,63$  фмоль/мг белка (рисунок 1). На фоне применения бемитила интактным животным специфическое связывание эстрадиола практически не изменилось и составило  $4,08 \pm 0,6$  фмоль на 1 мг белка.

Число цитозольных эстрогеновых рецепторов подвергшихся стрессу крыс на 3 сутки после стресса достоверно снижалось до  $2,14 \pm 0,26$  фмоль/мг белка ( $p < 0,03$ ). У стрессиро-

ванных животных, которым вводили бемитил, к 3 суткам после стресса также наблюдалось снижение цитоплазматической фракции миокардиальных рецепторов к эстрадиолу. Однако данное снижение было не столь выражено и не являлось статистически значимым. На 10 сутки постстрессорного периода отмечен небольшой подъем содержания рецепторов для эстрадиола в миокарде у крыс, которым не вводили бемитил, в то время как

у животных, которым применяли бемитил, данный показатель находился в пределах контрольных значений. Спустя 30 суток после стресса специфическое связывание эстрадиола в миокарде как у животных, которым не вводили бемитил, так и у животных с предварительным применением бемитила возвращается к контрольным значениям. При этом применение бемитила в большей степени стабилизирует данный показатель.

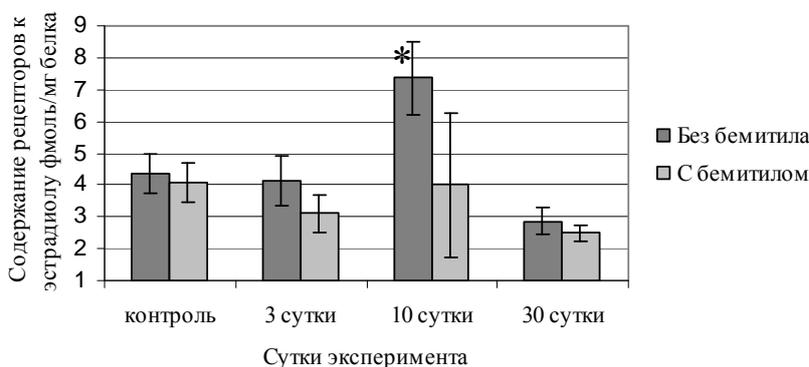


\* Достоверно по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ )

**Рисунок 1 — Содержание рецепторов к эстрадиолу в кардиомиоцитах крыс, подвергнутых стрессорному воздействию**

Исследование цитоплазматической фракции миокардиальных рецепторов к эстрадиолу у крыс после внешнего  $\gamma$ -облучения как без актопротектора, так и на фоне применения бемитила показало, что к 3 суткам после облучения данный показатель по сравнению с контролем не подвергался значительным изменениям (рисунок 2). Однако уже к 10 суткам наблюдалось статистически значимое ( $p < 0,05$ ) увеличение специфического связывания эстрадиола в мио-

карде на 3 фмоль/мг (в 1,7 раз) у облученных животных, в то время как применение бемитила после внешнего облучения у крыс не приводило к статистически значимым изменениям содержания рецепторов к эстрадиолу. К 30 суткам отмечалось некоторое снижение числа рецепторов к эстрадиолу в кардиомиоцитах у крыс после указанного воздействия по сравнению с контролем как без применения бемитила, так и на фоне его применения.

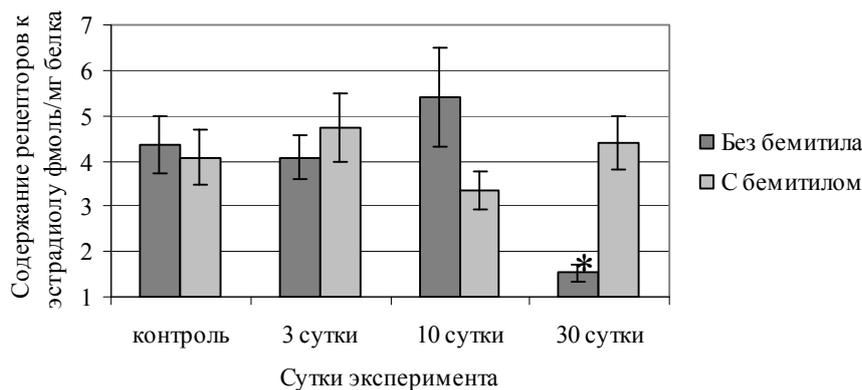


\* Достоверно по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ )

**Рисунок 2 — Содержание рецепторов к эстрадиолу в кардиомиоцитах крыс, подвергнутых облучению**

При комплексном воздействии иммобилизационного стресса и ионизирующего излучения на крыс выявлено, что на 3 сутки после воздействий исследуемый показатель значи-

тельных изменений по сравнению с контролем не претерпел как в группе животных без применения бемитила, так и в группе крыс с его применением (рисунок 3).



\* Достоверно по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ )

Рисунок 3 — Содержание рецепторов к эстрадиолу в кардиомиоцитах крыс, подвергнутых облучению и стрессу

К 10 суткам отмечалось некоторое увеличение содержания рецепторов для эстрадиола в миокарде на 17 % у животных, которым не применяли бемитил, в то время как на фоне применения бемитила значительных изменений не наблюдалось. Спустя 30 суток отмечается статистически значимое снижение ( $p < 0,001$ ) специфического связывания эстрадиола участков на 75 % ( $B_c = 1,53 \pm 0,19$  фмоль/мг белка) в кардиомиоцитах крыс, которым не применяли бемитил. В миокарде крыс, которым вводили бемитил, данный показатель находился в пределах контрольных значений.

#### Заключение

Таким образом, установлено, что воздействие стресса на содержание специфических рецепторов к эстрадиолу в миокарде крыс проявляется в большей степени спустя 3 суток, достоверно снижая данный показатель. Внешнее гамма-облучение статистически значимо увеличивает число рецепторов для эстрадиола в миокарде на 10 суток. Комплексное воздействие иммобилизационного стресса и ионизирующего излучения достоверно снижают цитоплазматическую фракцию миокардиальных рецепторов к эстрадиолу на 75 % к 30 суткам, что можно объяснить истощением резервных возможностей организма при совместном дей-

ствии стресса и гамма-облучения. Применение бемитила позволяет компенсировать эффекты, оказываемые острым иммобилизационным стрессом и ионизирующим излучением.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Грацианский, Н. А. Заместительная терапия эстрогенами в менопаузе: реальный метод первичной профилактики сердечно-сосудистых заболеваний или только интересная тема для обсуждения? / Н. А. Грацианский // Клини. фармакол. и терапия. — 1994. — № 3. — С. 30–39.
2. Сергеев, П. В. Эстрогены и сердце // Кардиология. — 1996. — № 3. — С. 75–78.
3. Influence of 17  $\beta$ -estradiol sulfate on the mechanical and electrical function of a rat's left heart ventricle and development of reperfusion arrhythmias / V. I. Kobrin [et al.] // Proceed. of XXV Int. Cong. on Electrocard. — Budapest Ed. Ist. Preda — 1998. — P. 177–180.
4. Состояние сердца у лиц, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения / А. Б. Кутузова [и др.] // Мед. радиология и радиац. безопасность. — 2002. — Т. 47, № 3. — С. 66–79.
5. Пшеничкова, М. Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии / М. Г. Пшеничкова // Пат. физиол. и экспер. терапия. — 2000. — № 4. — С. 21–31.
6. Лызинов, А. Н. Лекарственные средства нового фармакологического класса антигипоксанты (актопротекторы): учеб.-метод. пособие / А. Н. Лызинов, Э. С. Питкевич; под ред. Э. С. Питкевича. — Гомель: ГГМУ, 2007. — 132 с.
7. Наумов, А. Д. Облучение малыми дозами и влияние гипопункции щитовидной железы, вызванной йодом-131, на механизм действия женских половых гормонов в органах-мишенях (экспериментально-клиническое исследование): дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.01 / А. Д. Наумов. — Минск, 1999. — 217 с.
8. Северин, С. Е. Практикум по биохимии / С. Е. Северин, Г. А. Соловей; под ред. С. Е. Северина. — М.: МГУ, 1989. — 239 с.

Поступила 14.06.2010

## ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДОРОВЬЕ И ЗДРАВООХРАНЕНИЕ, ГИГИЕНА

УДК 616-002.6-006.52-036.22-055.2(4776.2)

### ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН ГОМЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ

В. Н. Беляковский<sup>1</sup>, А. М. Волченко<sup>1</sup>, Е. В. Воропаев<sup>1</sup>, Т. И. Пригожая<sup>2</sup>, С. В. Стасенкова<sup>2</sup>,  
Б. И. Гребеняк<sup>2</sup>, Е. Э. Сурменкова<sup>2</sup>, А. А. Терешина<sup>2</sup>, Н. В. Хилькевич<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Гомельский государственный медицинский университет

<sup>2</sup>Гомельский областной клинический онкологический диспансер

Изучены типоспецифические особенности папилломавирусной инфекции у 600 здоровых женщин. Наиболее частым типом в группе здоровых женщин явился ВПЧ ВКР 16 типа ( $20,3 \pm 2,9$  %)( $p < 0,05$ ); среди остальных 11 типов выделяется ВПЧ ВКР 56 типа ( $15,7 \pm 2,6$  %), который встречается чаще, чем ВПЧ ВКР