© Мельник А.В.

УДК: 577.112.386+546.221.1:611.018.54:577.175.6

Мельник А.В.
Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра біологічної та загальної хімії (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

ЗВ'ЯЗОК РІВНЯ СТАТЕВИХ ГОРМОНІВ З ВМІСТОМ СІРКОВМІСНИХ АМІНОКИСЛОТ ТА ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ В КРОВІ

Резюме. *В роботі показано, що статеві гормони залучені до регуляції рівня сірковмісних амінокислот та гідроген сульфіду в сироватці крові. Вміст тестостерону в крові прямо корелює з рівнем гомоцистеїну й цистеїну та обернено корелює з рівнем гідроген сульфіду в сироватці крові. Кореляційні зв'язки також реєструються з вмістом в крові естрадіолу, однак їх направленість є протилежною. На основі персентильного аналізу показно, що високий рівень тестостерону та низький рівень естрадіолу в крові асоціюються з високим рівнем гомоцистеїну, цистеїну та низьким рівнем гідроген сульфіду в сироватці крові.*

Ключові слова: *тестостерон, естрадіол, гомоцистеїн, цистеїн, сироватка крові.*

Вступ

Стать є важливим чинником ризику розвитку кардіоваскулярної патології [1]. Статеві відмінності поширеності серцево-судинних захворювань значною мірою пов'язані з різними біологічними ефектами тестостерону та естрогенів. Як відомо, вплив статевих гормонів на організм і серцево-судинну систему зокрема, реалізується через геномні та негеномні механізми [7]. До негеномних ефектів можна віднести пряму дію статевих гормонів на судини і продукцію ними вазорегуляторних молекул. Естрогени посилюють утворення вазодилятаторів, зокрема простациклінів, але гальмують продукцію констрикторних молекул - ендотеліну-1, лейкотрієнів, катехоламінів. Останнім часом увагу науковців привертає обмін сірковмісних амінокислот гомоцистеїну та цистеїну, адже вони безпосередньо залучені до регуляції тонусу судин, а також є ендогенними субстратами для синтезу гідроген сульфіду - важливого регулятора серцево-судинної діяльності. На сьогодні залишається до кінця не вивченим питання щодо впливу статевих гормонів на рівень цих сірковмісних амінокислот та гідроген сульфіда в сироватці крові.

Метою дослідження було оцінити наявність можливих зв'язків між рівнем статевих гормонів в плазмі крові та вмістом гомоцистеїну, цистеїну та гідроген сульфіду в сироватці крові.

Матеріали та методи

Досліди проведені на 60 білих нелінійних щурах обох статей (*Rattus norvegicus*). Всі тварини перебували в стандартних умовах віварію з 12-годинним режимом день/ніч, воду і збалансований гранульований корм отримували *ad libitum*. Дослідження проведено згідно загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (Київ, 2001), "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей" (Страсбург, 1986), інших міжнародних угод та національного законодавства в цій галузі.

Есперимантальну модуляція вмісту статевих гормонів в організмі щурів виконували за допомогою кастрації тварин (оваріектомія та тестектомія відповідно самкам та самцям щурів) під каліпсоловим наркозом (10 мг/кг) хірургічним методом через серединний розтин передньої черевної стінки згідно загальноприйнятих методик. Дослідження проводились через 21 день після кастрації [4, 8]. Замісну гормонотерапію у самців і самок кастрованих щурів відтворювали введенням тестостерону пропіонату, (завод ООО "Фармадон", м. Ростов-на-Дону) 1 мг/кг підшкірно 1 раз на день; а також естрадіолу гемігідрату ("Естримакс", АО Гедеон Рихтер), 150 мг/кг внутрішньошлунково протягом 14 днів [3, 6]. Вміст естрадіолу та тестостерону в гепариновій плазмі крові тварин визначали імуноферментним методом стандартними наборами DRG Estradiol ELISA фірми DRG (USA) та DSLACTIVE Testosterone фірми DSL (USA) згідно інструкцій фірм-виробників.

Рівень загального ГЦ в сироватці крові визначали методом ІФА за набором "Homocysteine EIA" (Axis-Shield, Англія) на аналізаторі STAT FAX 303/PLUS. Вміст загального цистеїну в сироватці крові визначали за реакцією з нінгідрином після інкубації плазми з дітіотреітолом [5]. Вміст H2S в сироватці визначали за реакцією утворення тіоніну з використанням n-фенілендиаміну адаптованим нами методом [2].

Статистичний аналіз матеріалу проводився за допомогою стандартних методів із застосуванням пакету прикладних програм "MS Excel XP" та "Statistica SPSS 10.0 for Windows" (ліцензійний № 305147890). Оцінювали середнє значення, стандартні помилки, достовірність відмінностей. Для оцінки міжгрупової різниці застосовували параметричний t-критерій Ст'юдента, при визначені зв'язків між показниками - кореляційний аналіз по Пірсону. Також застосовували метод персентилів (визначали персентилі P_5, P_{10}, P_{25}, P_{50}, P_{75}, P_{90}, P_{95}). Достовірною вважали різницю при $p<0,05$. Результати наведено як $M \pm m$.

Результати. Обговорення

Проведений кореляційний аналіз (табл. 1) показав, що між рівнем статевих гормонів та вмістом сірковмі-

Таблиця 1. Кореляційний аналіз між рівнем сірковмісних метаболітів та вмістом статевих гормонів у плазмі крові щурів (n=60).

Вміст сірковмісних метаболітів в сироватці крові, мкмоль/л	Вміст статевих гормонів в плазмі крові, нг/дл	
	Тестостерон	Естрадіол
Гомоцистеїн	0,41*	-0,47*
Цистеїн	0,44*	-0,52*
Гідроген сульфід	-0,52*	0,61*

Примітка. * - достовірність коефіцієнту кореляції при r≥0,36 (p<0,05).

Таблиця 2. Персентильний аналіз рівня сірковмісних метаболітів залежно від вмісту тестостерону в плазмі крові самців щурів.

Вміст сірковмісних метаболітів в сироватці крові, мкмоль/л	Рівень тестостерону в плазмі крові самців, нг/дл		
	0-25 персентиль n=8	25-75 персентиль n=14	75-100 персентиль n=8
	1 група	2 група	3 група
	6,04±0,68	77,6±8,34*	129±5,82*#
Гомоцистеїн	6,52±0,12	7,33±0,11*	8,17±0,13*#
Цистеїн	118±3,57	134±2,52 *	151±2,24*#
Гідроген сульфід	103±3,66	87,5±3,30*	74,8±2,29*#

Примітки: * - статистично достовірна різниця (p<0,05) щодо показників 1 групи; * - статистично достовірна різниця (p<0,05) щодо показників 2 групи.

Таблиця 3. Персентильний аналіз рівня сірковмісних метаболітів залежно від вмісту естрадіолу в плазмі крові самок щурів.

Вміст сірковмісних метаболітів в сироватці крові, мкмоль/л	Рівень естрадіолу в плазмі крові самок, нг/дл		
	0-25 персентиль n=8	25-75 персентиль n=14	75-100 персентиль n=8
	1 група	2 група	3 група
	0,70±0,01	4,55±0,43*	6,08±0,17*#
Гомоцистеїн	7,22±0,18	6,42±0,16*	5,56±0,0,34*#
Цистеїн	133±3,63	118±4,21 *	102±4,00*#
Гідроген сульфід	70,9±2,49	84,6±2,37*	98,5±3,38*#

Примітки: 1. * - статистично достовірна різниця (p<0,05) відносно показників 1 групи; * - статистично достовірна різниця (p<0,05) відносно показників 2 групи.

сних метаболітів існують статистично вірогідні зв'язки. Так, рівень тестостерону в крові виявляє прямий кореляційний зв'язок з вмістом в крові гомоцистеїну й цистеїну та обернений кореляційний зв'язок з вмістом в крові гідроген сульфіду. Натомість, рівень естрадіолу в крові виявляє прямий кореляційний зв'язок з вмістом в крові гідроген сульфіду та обернений кореляційний зв'язок з вмістом в крові гомоцистеїну та цистеїну. Найбільш міцні кореляційні зв'язки виникали між рівнем в крові статевих гормонів та вмістом гідроген сульфіду.

Персентильний аналіз засвідчив, що рівень сірковмісних метаболітів в сироватці крові самців до певної міри детермінується рівнем тестостерону в крові (табл. 2). За низьких концентрацій тестостерону в крові (1 група) відмічається найменший вміст в сироватці крові рівня гомоцистеїну і цистеїну та найвищий рівень гідроген сульфіду. Зростання рівня тестостерону в 12,9 разів (2 група) супроводжується збільшенням вмісту в сироватці крові гомоцистеїну (на 12,4%, p<0,05), цистеїну (на 13,6%, p<0,05) та зменшенням рівня гідроген сульфіду (на 15,1%, p<0,05). За високих концентрацій тестостерону (3 група) відмічаються найбільші рівні гомоцистеїну та цистеїну, а також мінімальний вміст гідроген сульфіду в сироватці крові. Показники сірковмісних метаболітів у 3 групі достовірно відрізняються від таких показників у 2 групі. Таким чином, зростання рівня тестостерону в крові асоціюється зі зростанням вмісту гомоцистеїну й цистеїну та зменшенням гідроген сульфіду в сироватці крові.

Рівень естрадіолу в крові самок щурів також до певної міри визначає вміст сірковмісних речовин сироватці крові (табл. 3). За низьких концентрацій естрадіолу в крові (1 група) відмічається найменший вміст в сироватці крові рівня гідроген сульфіду та найвищий рівень гомоцистеїну і цистеїну. Зростання рівня естрадіолу в 6,5 разів (2 група) супроводжується зменшенням вмісту в сироватці крові гомоцистеїну (на 11,1%, p<0,05), цистеїну (на 11,3%, p<0,05) та збільшенням рівня гідроген сульфіду (на 19,3%, p<0,05). За високих концентрацій естрадіолу (3 група) відмічаються найменші рівні гомоцистеїну та цистеїну, а також найбільший рівень гідроген сульфіду в сироватці крові, при чому ці показники достовірно відрізняються від таких у 2 групі. Таким чином, зростання рівня естрадіолу в крові асоціюється зі зменшенням вмісту гомоцистеїну й цистеїну та збільшенням гідроген сульфіду в сироватці крові.

Проведений кореляційний та персентильний аналізи засвідчили, що рівень статевих гормонів є важливим чинником, який детермінує вміст сірковмісних амінокислот в крові. Так, з високим рівнем естрадіолу асоціюється низький вміст в крові гомоцистеїну, цистеїну та високий рівень гідроген сульфіду. Натомість, високий рівень тестостерону супряжений з високим рівнем гомоцистеїну та цистеїну, а також низьким вмістом гідроген сульфіду. Проведені дослідження засвідчили той факт, що статеві гормони володіють регуляторним впливом на рівень гомоцистеїну, цистеїну та гідроген сульфіду в сироватці крові щурів.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Вміст тестостерону в крові прямо корелює з рівнем гомоцистеїну й цистеїну (r відповідно становить 0,41 та 0,44; p<0,05) та обернено корелює з рівнем гідроген сульфіду (r=-0,52; p<0,05) в сироватці крові.

2. Вміст естрадіолу в крові обернено корелює з рівнем гомоцистеїну й цистеїну (r відповідно становить

-0,47 та -0,52; $p<0,05$) та прямо корелює з рівнем гідроген сульфіду ($r=0,61$; $p<0,05$) в сироватці крові.

3. Високий рівень тестостерону та низький рівень естрадіолу в крові асоціюються з високим рівнем гомоцистеїну, цистеїну та низьким рівнем гідроген сульфіду в сироватці крові.

Подальші дослідження в цьому напрямку дозволять розшити існуючі уявлення про біохімічні механізми, через які реалізується вплив статевих гормонів на рівень сірковмісних метаболітів у крові.

Список літератури

1. Барна О. М. Гендерна кардіологія. Проекція на аритмії у жінок / О.М. Барна // Медицинские аспекты здоровья Женщины. - 2007. - Т. 4, № 7. - С. 14-18.
2. Визначення вмісту гідроген сульфіду в сироватці крові / Н. В. Заічко, Н. О. Пентюк, Л. О. Пентюк, А. В. Мельник // Вісник наукових досліджень. - 2009. - №1. - С. 29-32.
3. Ali B. H. Sex Ddifference in the suspectibility of rats to gentamicin nephrotoxicity: influence of gonadectomy and hormonal replacement therapy / B.H. Ali, T.H. Ben Ismail, A.A. Basir // Indian Journal of Pharmacology. - 2001. - Vol. 33. - P. 369-373.
4. Aloisi A. M. Gonadectomy affects hormonal and behavioral responses to repetitive nociceptive stimulation in male rats / A.M. Aloisi, I. Ceccarelli, P. Fiorenzani // Ann. N Y. Acad. Sci. - 2003. - Vol. 1007. - P. 232-237.
5. Gaitonde M. K. A spectrophotometric method for direct determination of cysteine in the presence of other naturally occuring amino acid / M.K. Gaitonde // Biochem. J. - 1967. - Vol. 104, № 2. - P. 627-633.
6. Involvement of calcitonin gene-related peptide in elevation of skin temperature in castrated male rats / M. Yuzurihara, Y. Ikarashi, M. Noguchi, Y. Kase // Urology. - 2003. - Vol. 62, № 5. - P. 947-951.
7. Key role of estrogens and endothelial estrogen receptor α in blood flow-mediated remodeling of resistance arteries / K. Tarhouni, A.L. Guihot, M.L. Freidja [et al.] // Arterioscler Thromb Vasc Biol. - 2013. - Vol. 33 (3). - P. 605-611.
8. Postnatal development and testosterone dependence of a rat epididymal protein identified by neonatal tolerization / S.A. Joshi, S. Shaikh, S. Ranpura, V.V. Khole // Reproduction. - 2003. - Vol. 125, № 4. - P. 3495-3507.

Мельник А.В.

СВЯЗЬ УРОВНЯ ПОЛОВЫХ ГОРМОНОВ С СОДЕРЖАНИЕМ СЕРОСОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТ И ГИДРОГЕН СУЛЬФИДА В КРОВИ

Резюме. *В работе показано, что половые гормоны вовлечены в регуляцию уровня серосодержащих аминокислот и гидроген сульфида в сыворотке крови. Содержание тестостерона в крови прямо коррелирует с уровнем гомоцистеина и цистеина и обратно коррелирует с уровнем гидроген сульфида в сыворотке крови. Корреляционные связи также регистрируются с уровнем в крови эстрадиола, однако их направленность является противоположной. На основе персентильного анализа показано, что высокий уровень тестостерона и низкий уровень эстрадиола в крови ассоциируются с высоким уровнем гомоцистеина, цистеина и низким уровнем гидроген сульфида в сыворотке крови.*

Ключевые слова: *тестостерон, эстрадиол, гомоцистеин, цистеин, сыворотка крови.*

Melnik A.V.

RELATIONS BETWEEN SEX HORMONES LEVELS AND SULFUR AMINO ACIDS AND HYDROGEN SULFIDE IN BLOOD

Summary. *It is shown that sex hormones involved in regulation of serum sulfur-containing amino acids and hydrogen sulfide levels. The content of testosterone in the blood directly correlates with the serum homocysteine and cysteine levels and inversely correlated with the serum hydrogen sulfide. Correlation is also registered with estradiol levels, but their direction is opposite. Based on percentile analysis shown that high testosterone and low estradiol levels are associated with high serum homocysteine, cysteine and low serum hydrogen sulfide.*

Key words: *testosterone, estradiol, homocysteine, cysteine, blood serum.*

Рецензент - д.мед.н., проф. Волощук Н.І.

Стаття надійшла до редакції 29.11.2016 р.

Мельник Андрій Володимирович - к.мед.н., доц. кафедри біологічної та загальної хімії ВНМУ ім. М.І.Пирогова; +38(093)6702708; anderneting@gmail.com