

А. Б. Котлярова, Х. А. Мерзін, Т. В. Король, В. В. Манько
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА

ВПЛИВ ТЕСТОСТЕРОНУ ТА ПРОГЕСТЕРОНУ НА ВМІСТ Ca^{2+} В АЦИНАРНИХ КЛІТИНАХ ЗОВНІШНЬООРБІТАЛЬНОЇ СЛІЗНОЇ ЗАЛОЗИ ЩУРІВ

*Тестостерон та прогестерон дозозалежно зменшують за дії *in vitro* вміст Ca^{2+} у секреторних клітинах зовнішньoorбітальної слізної залози щурів обох статей. Цей вплив відбувається, очевидно, неспецифічним шляхом через рецептори, розташовані на плазматичній мембрані клітин. Дослідження активності транспортних систем і вмісту Ca^{2+} у цих клітинах за дії статевих гормонів може бути основою для розробки засобів фармакологічної корекції синдрому сухого ока і синдрому Шегрена.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: Ca^{2+} , зовнішньoorбітальна слізна залоза щура, тестостерон, прогестерон.

ВСТУП. Андрогени та естрогени (як і пролактин) забезпечують нормальне функціонування слізної залози [6]. Відомо також, що поверхня ацинусів слізних залоз самців багатьох видів (щери, кролі, морські свинки, кролі, людина) є значно більшою, ніж у самок цього самого виду [1]. Причиною цього є те, очевидно, що андрогени, 17- β естрадіол і прогестерон мають відношення до статевих гормонів, а саме до дії андрогенів на слізну залозу [4]. Оскільки андрогени посилюють синтез секреторного компонента ацинарними клітинами слізних залоз *in vitro* [2] та сприяють збільшенню поверхні ацинусів слізної залози [1], синдром Шегрена і синдром сухого ока спостерігаються у жінок значно частіше, ніж у чоловіків [3, 13]. Проте механізм впливу андрогенів на слізну залозу залишається нез'ясованим.

Статеві гормони можуть діяти, згідно з класичними уявленнями, прямо на транскрипцію генів, зв'язуючись із внутрішньоклітинними рецептор-шапероновими комплексами, або опосередковано через рецептори плазматичної мембрани із залученням певної системи внутрішньоклітинних месенджерів [7]. Більшість ефектів, які викликають статеві гормони, реалізується класичним прямим механізмом. Проте дослідження останніх років показали, що стероїдні гормони можуть викликати швидкі й зворотні зміни електричної активності

© А. Б. Котлярова, Х. А. Мерзін, Т. В. Король, В. В. Манько, 2011.

плазматичної мембрани клітин різних тканин негеномним шляхом трансдукції сигналу [5, 8, 10–12].

На плазматичній мембрані ацинарних клітин зовнішньoorбітальної слізної залози не ідентифіковано рецепторів статевих гормонів. Але існують дані, що ці гормони можуть взаємодіяти з пуринорецепторами клітин нирок [10]. Згідно з даними К. Suzuki та Oda [9], естрадіол може активувати Ca^{2+} - і потенціалкерівані K^+ -канали через β -адренорецептори плазматичної мембрани. Підтверджується це тим, що блокатор β -адренорецепторів пропранолол інгібує естрадіоліндуковане відкривання Ca^{2+} - і потенціалкеріваних K^+ -каналів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на нелінійних щурах обох статей масою 150–200 г. Тварин анестезували хлороформом і декапітували. Після декапітації швидко виділяли зовнішньoorбітальну слізну залозу та очищали її від сполучної тканини. Секреторні клітини залози ізолювали шляхом почергової дворазової інкубації у середовищі, наближеному за складом до позаклітинного, що містив колагеназу (400 У/мл) та лідазу (400 У/мл), і середовищі, до складу якого входить ЕГТА (2 ммоль/л). Цілісність плазматичної мембрани клітин перевіряли під світловим мікроскопом з використанням трипанового синього.

Кількість клітин підраховували за допомогою камери Горяєва. Після ізолювання суспен-

зію клітин розділяли на аліквоти та інкубували протягом 15 хв у позаклітинному середовищі, що містило тестостерон (8 або 80 нг/мл) або прогестерон (1, 10 або 25 нг/мл). Вміст внутрішньоклітинного Ca^{2+} визначали спектрофотометричним методом з використанням металохромного барвника арсеназо III. Концентрацію білка визначали методом Лоурі.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Вміст Ca^{2+} в ацинарних клітинах зовнішньоорбітальної слізної залози щурів-самців становив $(0,22 \pm 0,03)$ мкмоль/млн клітин ($n=6$). За наявності у середовищі 8 нг/мл тестостерону сумарний вміст Ca^{2+} зменшувався на 34 % порівняно з контролем. При збільшенні концентрації тестостерону до 80 нг/мл вміст Ca^{2+} знижувався на 41 % порівняно з контролем ($p < 0,05$, $n=6$; рис. 1).

Вміст Ca^{2+} в ацинарних клітинах слізної залози щурів-самок становив $(0,17 \pm 0,02)$ мкмоль/млн клітин ($n=8$; рис. 2). За умов додавання прогестерону в середовище інкубації (1, 10 і 25 нг/мл) вміст внутрішньоклітинного Ca^{2+} зменшувався на 16, 24 та 34 % відповідно ($p \leq 0,01$, $n=8$; рис. 2).

Зареєстроване зменшення вмісту Ca^{2+} у секреторних клітинах слізних залоз за дії статевих гормонів було досить швидким. Мало ймовірно, що ця зміна спричинена зміною транскрипції білків, відповідальних за підтримання Ca^{2+} -гомеостазу клітини. Найімовірніше, статеві гормони активують не лише внутрішньоклітинні рецептори, а й рецептори на плазматичній мембрані ацинарних клітин, і, тим самим, змінюють рівень у цитозолі внутрішньоклітинних месенджерів та функціонування Ca^{2+} -транспортувальних систем.

ВИСНОВКИ. 1. Тестостерон суттєво і достовірно знижує вміст внутрішньоклітинного Ca^{2+} в ацинарних клітинах слізної залози щурів-самців.

2. Прогестерон дозозалежно та вірогідно знижує внутрішньоклітинну концентрацію Ca^{2+} у секреторних клітинах зовнішньоорбітальної слізної залози щурів-самок.

3. Зареєстрована дія статевих гормонів на функціонування слізної залози реалізується, очевидно, через рецептори на плазматичній мембрані, для з'ясування механізму трансдукції яких необхідно провести спеціальні дослідження.

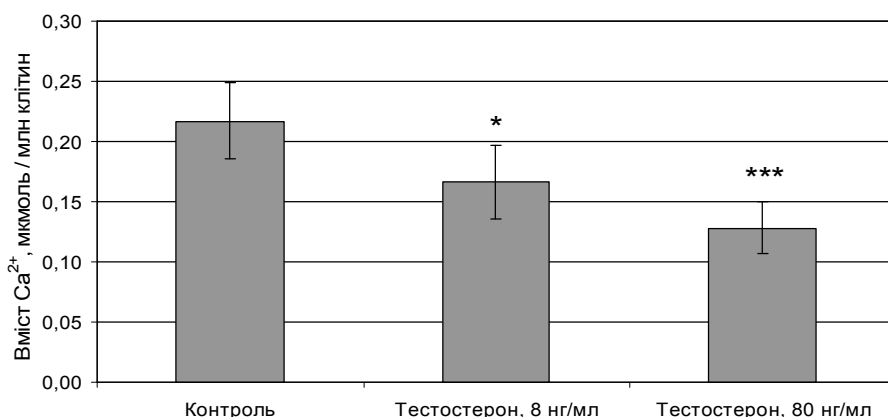


Рис. 1. Вплив тестостерону на вміст Ca^{2+} в ацинарних клітинах зовнішньоорбітальної слізної залози щурів.

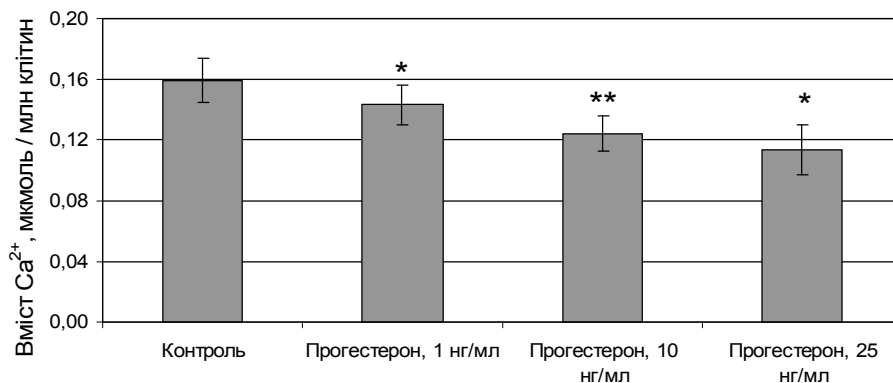


Рис. 2. Зміни вмісту внутрішньоклітинного Ca^{2+} у секреторних клітинах зовнішньоорбітальної слізної залози щурів-самок.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Androgen influence on lacrimal gland apoptosis, necrosis, and lymphocytic infiltration / A. Azzarolo, R. Wood, A. Mircheff [et al.] // IOVS. – 1999. – **40**, № 3. – P. 592–602.
2. Sullivan D. Androgen regulation of secretory component synthesis by lacrimal gland acinar cells in vitro / D. Sullivan, R. Kelleher, J. Vaerman [et al.] // J. Immunol. – 1990. – **145**, № 12. – P. 4238–4244.
3. Androgen support of lacrimal gland function / A. Azzarolo, A. Mircheff, R. Kaswan [et al.] // Endocrine. – 1997. – **6**, № 1. – P. 39–45.
4. Estrogen's and progesterone's impact on gene expression in the mouse lacrimal gland / T. Suzuki, F. Schirra, S. Richards [et al.] // IOVS. – 2006. – **47**, № 1. – P. 159–168.
5. Gonadal steroids: effects on excitability of hippocampal pyramidal cells / T. Teyler, R. Varddaris, D. Lewis [et al.] // Science. – 1980. – **209**. – P. 1017–1019.
6. Hormonal regulatory influence in tear film / L. Oprea, A. Tiberghien, C. Creuzot-Garcher, C. Baudouin // J. Ophthalmol. – 2004. – **27**, № 8. – P. 933–941.
7. Meyer M. Gender differences of cardiovascular disease new perspectives for estrogen receptor signaling / M. Meyer, E. Haas, M. Barton // Hypertension. – 2006. – **47**. – P. 1019–1026.
8. Moss R. Non-transcriptional actions of 17 β -estradiol on hippocampal membrane excitability / R. Moss, Q. Gu // 33rd International Congress of Physiological Sciences. – 1997. – L007.01 (Abstract).
9. Non-genomic action of 17 β -estradiol on opening of Ca²⁺- and voltage-activated K⁺ channel in lacrimal acinar cells / K. Suzuki, Y. Oda, K. Oda [et al.] // Tokai J. Exp. Clin. Med. – 2004. – **29**, № 3. – P. 71–78.
10. Non-genomic inhibition of human P2X₇ purinoceptor by 17 β -estradiol / C. Cario-Thoumaniantz, G. Loirand, L. Ferrier [et al.] // J. Physiol – 1998. – **508**, № 3. – P. 659–666.
11. Non-genomic mechanism of 17 β -estradiol-induced inhibition of contraction in mammalian vascular smooth muscle / T. Kitasawa, E. Hamada, K. Kitasawa [et al.] // J. Physiol. – 1997. – **499**, № 2. – P. 497–511.
12. Progesterone rapidly inhibits axonal transport / H. Hiruma, T. Katakura, S. Nishida [et al.] // Jpn. J. Physiol. – 1999. – **49**. – Suppl. S54.
13. Sato E. Comparative influence of steroid hormones and immunosuppressive agents on autoimmune expression in lacrimal glands of a female mouse model of sjogren's syndrome / E. Sato, D. Sullivan // IOVS. – 1994. – **35**, № 5. – P. 2632–2642.

А. Б. Котлярова, Х. А. Мерзин, Т. В. Король, В. В. Манько
ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ИВАНА ФРАНКО

ВЛИЯНИЕ ТЕСТОСТЕРОНА И ПРОГЕСТЕРОНА НА СОДЕРЖАНИЕ CA²⁺ В АЦИНАРНЫХ КЛЕТКАХ ВНЕГЛАЗНИЧНОЙ СЛЕЗНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС

Резюме

Тестостерон и прогестерон в условиях *in vitro* дозозависимо уменьшают содержание Ca²⁺ в секреторных клетках внеглазничной слезной железы крыс обоего пола. Это влияние осуществляется, возможно, неспецифическим путем через рецепторы, расположенные на плазматической мембране клеток. Исследование активности транспортных систем и содержания Ca²⁺ в этих клетках при действии половых гормонов может быть основой для разработки средств фармакологической коррекции синдрома сухого глаза и синдрома Шегрена.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: Ca²⁺, внеглазничная слезная железа крысы, тестостерон, прогестерон.

A. B. Kotliarova, H. A. Merzin, T. V. Korol, V. V. Manko
IVAN FRANKO LVIV NATIONAL UNIVERSITY

TESTOSTERONE AND PROGESTERONE EFFECT ON CA²⁺ CONTENT IN ACINAR EXORBITAL LACRIMAL GLAND CELLS OF RATS

Summary

Testosterone and progesterone *in vitro* dose-dependent decrease Ca²⁺ content in exorbital lacrimal gland secretory cells of males and females rats, respectively. This effect is mediated probably by nonspecific way through receptors located on the plasma membrane of cells. Estimation of Ca²⁺ transporting systems activity and Ca²⁺ content in these cells on influence of sex hormones may be the basis for the pharmacological correction of dry eye syndrome and Shegren's syndrome.

KEY WORDS: Ca²⁺, rat exorbital lacrimal gland, testosterone, progesterone.

Отримано 05.10.11

Адреса для листування: В. В. Манько, смт Новий Яричів, вул. Молодіжна, 12, Львів, Україна.