

гепатоцитов. Связывающие характеристики рецептора в первую очередь сопоставляли с такими интегральными показателями структурного свойства липидного матрикса, как его жидкость и гидрофобность. Установлено, что понижение мембранной жидкости и гидрофобности гепатоцитов и эритроцитов после введения аллоксана сопровождалось значительным повышением связывания за счет увеличения числа доступных рецепторов. Однако в мембранах легочной ткани крыс большая микровязкость сочеталась с большим числом рецепторов и с более высокой инсулинсвязывающей активностью.

Простые корреляции между уровнем связывания гормона и средней микровязкостью и гидрофобностью мембраны мало что разъясняют в существе липидрецепторных взаимодействий. Повидимому, эти взаимодействия определяются состоянием пограничных липидов (в частности, степенью их перекисления), составляющих непосредственное микроокружение рецепторов. Изменения в липидном матриксе влияют не только на доступность рецепторов для инсулина (т. е. на число рецепторов), но и на их аффинность. Возможно, изменение липидов в микроокружении рецептора влияет на его конформацию и доступность для регуляторных белков (в частности, для инсулина).

Выводы

1. Установлен факт обратной зависимости между концентрацией иммунореактивного инсулина в крови и уровнем его связывания в тканях и влияния инсулина на собственные рецепторы.

2. Существует обратная корреляционная связь между инсулинсвязывающей активностью в клетках и микровязкостью и гидрофильностью в мембранах по данным ЭПР-спектроскопии.

© А. А. Булатов, 1997

УДК 616.154:577.175.328]-088.61-07

А. А. Булатов

ФЕНОМЕН МАКРОПРОЛАКТИНЕМИИ, ЕГО ПРОИСХОЖДЕНИЕ И КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ*

Эндокринологический научный центр (дир. — акад. РАМН И. И. Дедов) РАМН, Москва

Количественный анализ гипофизарного белкового гормона пролактина (ПРЛ) в циркулирующей крови человека стал возможным лишь в 70-е годы, когда этот гормон был впервые получен в высокоочищенном состоянии и на этой основе был разработан радиоиммунологический метод его определения. С тех пор в клинических исследованиях под ПРЛ, циркулирующим в крови, обычно имеется в виду иммунореактивный гормон, определяемый с помощью радиоиммунологического или иного иммунохимического метода. Широкое использование иммунохимического подхода к анализу ПРЛ показало, что повышение его уровня в крови — гиперпролактинемия — яв-

3. АТФ может оказывать существенное влияние на процесс связывания инсулина с его рецепторами при сахарном диабете.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балашова Т. С., Голега Е. Н., Рудько И. А. и др. // Тер. арх. — 1993. — № 10. — С. 25—27.
2. Дедов И. И., Горелышева В. А., Романовская Г. А. и др. // Пробл. эндокринол. — 1992. — № 6. — С. 52—55.
3. Зверихановский Ф. А., Жулкевич И. В., Данилишина В. С., Жулкевич Г. Д. // Там же. — 1987. — № 4. — С. 15—18.
4. Любарская С. Г., Грачева Н. К., Князева А. П., Старосельцева Л. К. // Биохимия. — 1980. — Т. 45, № 1. — С. 66—71.
5. Микаелян Н. П. Метаболический статус и инсулинсвязывающая активность клеток крови и печени при экстремальных состояниях (экспериментально-клиническое исследование): Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — М., 1992.
6. Микаелян Н. П., Князев Ю. А., Максина А. Г., Микаелян Э. П. // Бюл. exper. биол. — 1994. — № 10. — С. 388—392.
7. Cafiso D. S., Hubbell W. L. // Ann. Rev. Biophys. Bioenerg. — 1981. — Vol. 10. — P. 217.
8. Davidson M. B., Kaplan S. A. // J. clin. Invest. — 1977. — Vol. 59, N 1. — P. 22—30.
9. Gruber M. // Biochim. biophys. Acta. — 1974. — Vol. 370, N 1. — P. 297—307.
10. Kahn C. R., Freychet P., Roth I. // J. Biol. Chem. — 1974. — Vol. 249. — P. 2249—2257.
11. Meyis I. P. M., Roth I. // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1975. — Vol. 66, N 8. — P. 1118—1126.
12. Scatchard L. O. // Ann. N. Y. Acad. Sci. — 1949. — Vol. 51, N 6. — P. 660—672.

Поступила 17.12.96

N. P. Mikaelyan, Yu. A. Knyazev, A. G. Maxina, B. A. Dainyak, A. Ye. Gurina, E. P. Mikaelyan, F. S. Dzugkoyeva — INSULIN-RECEPTOR INTERACTIONS AND EPR SPECTROSCOPY IN EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

Summary. Insulin concentration in the blood and the level of its binding in tissues inversely correlate in experimental diabetes mellitus. Insulin-binding activity in cells and the microviscosity and hydrophilism of plasma membranes are in inverse correlation. ATP modifies insulin reception.

ляется одним из частых проявлений эндокринной патологии у человека.

К настоящему времени клинические состояния, сопровождающиеся гиперпролактинемией, достаточно подробно изучены, особенно у женщин. Типичными симптомами гиперпролактинемии у женщин являются нарушения менструального цикла, бесплодие, галакторея, составляющие классический синдром гиперпролактинемии или синдром персистирующей галактореи—аме-нореи [4, 8]. У мужчин гиперпролактинемия может сопровождаться импотенцией с потерей ли-бидо [1]. В качестве эффективного средства медикаментозного лечения гиперпролактинемических состояний широко применяют агонисты дофамина (бромкриптин, парлодел, норпролак и др.), подавляющие секрецию ПРЛ лактотрофами и та-

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований.

Сравнение свойств низкомолекулярной (нм) и высокомолекулярной (вм) форм ирПРЛ сыворотки крови

Свойство	нм-ирПРЛ	вм-ирПРЛ
Молекулярная масса (гель-фильтрация)	~23 кД	> 100 кД
Иммунореактивность в системе радиоиммунологического анализа (соответствие гипофизарному 23К-ПРЛ)	Соответствует (кривые разведения параллельны)	Не соответствует (отсутствие кратности при разведении)
Биоактивность (в культуре клеток Nb2 лимфомы)	ирПРЛ/биоПРЛ ~ 1	ирПРЛ/биоПРЛ >> 1
Влияние на биологическую активность моноклональных антител к ПРЛ	Полное подавление	Частичное подавление
Реакция на стимуляцию секреции ПРЛ гипофизом	Сильная	Слабая

Биологическая активность высокомолекулярного ирПРЛ в сравнении с сывороточной низкомолекулярной формой (23К-ирПРЛ) была изучена по митогенному эффекту в культуре клеток Nb2 лимфомы крыс. Эта линия клеток несет специфические лактогенные рецепторы и в особых условиях культивирования отвечает на ПРЛ и другие лактогенные гормоны усилением клеточной пролиферации [15, 24].

ПРЛ способен стимулировать в этих клетках транскрипцию генов, связанных с клеточным ростом [25]. Обычно, согласно авторам данной клеточной линии [15, 24], суспензию клеток лимфобластоидной линии Nb2, чувствительной к лактогенным гормонам, культивируют в среде с 10 % эмбриональной телячьей сывороткой, 10 % лошадиной сывороткой и другими добавками. За 24 ч до опыта клетки для синхронизации пролиферации отмывают в той же среде, но лишенной эмбриональной телячьей сыворотки и рассеивают в этой среде в 24-луночные планшеты. Через 24 ч в лунки вносят испытуемые образцы и после инкубации клеток в течение 48–64 ч оценивают митогенный эффект.

Из 13 сывороток крови с повышенным содержанием ирПРЛ, использованных в наших опытах (табл. 2), 8 сывороток (№ 1–8) характеризовались количественным преобладанием (более 70 % от общего уровня ирПРЛ) низкомолекулярной формы ирПРЛ. 5 сывороток (№ 9–13), напротив, имели в качестве главной формы высокомолекулярный ирПРЛ. Как видно из табл. 2, в сыворотках № 1–8 с преобладанием 23К-ирПРЛ количество гормона, определяемого радиоиммунологи-

ческим и биологическим методами, практически совпадало — соотношение ирПРЛ и биологически активного ПРЛ (ирПРЛ/биоПРЛ) было близко к 1 (0,8–1,1). В сыворотках № 9–13, где обнаружено преобладание высокомолекулярного ирПРЛ, биологическая активность суммарного ирПРЛ была явно пониженной — соотношение ирПРЛ/биоПРЛ возрастало до 1,5–2,3, что свидетельствует о значительно меньшей биологической активности высокомолекулярной формы ирПРЛ по сравнению с низкомолекулярной.

Кроме того, была изучена биологическая активность отдельных фракций сывороточного ирПРЛ с мол. массой 23 кД и более 10 кД, полученных в результате гель-фильтрации сывороток крови больных с макропролактинемией. Обнаружено, что разница в величине соотношений ирПРЛ/биоПРЛ была еще больше. Для фракции 23К-ирПРЛ соотношение ирПРЛ/биоПРЛ составило около 1, тогда как для фракции высокомолекулярного ирПРЛ оно находилось в пределах 1,6–3,4. Наши данные о низкой биологической активности высокомолекулярного ирПРЛ согласуются с результатами исследований, предпринятых в этом же направлении другими авторами с применением разных методических подходов [12, 18]. Так, описано существенное расхождение результатов определения ПРЛ во фракциях, полученных при гель-фильтрации сывороток крови здоровых женщин с нормопрولاктинемией, радиоиммунологическим и радиорецепторным методами [12]. Высокомолекулярный ирПРЛ по сравнению с низкомолекулярным проявлял мень-

Таблица 2

Соотношение ирПРЛ и биоПРЛ в сыворотках крови больных с преобладанием низкомолекулярной (нм) или высокомолекулярной (вм) формы ирПРЛ

№ сыворотки	Общее содержание ирПРЛ, мкЕд/мл	Соотношение нм-и-вм-форм ирПРЛ	Соотношение ирПРЛ/биоПРЛ
1	2213	нм > вм	1,10
2	2983	нм > вм	0,94
3	3000	нм > вм	1,05
4	3044	нм > вм	1,14
5	6210	нм > вм	0,93
6	10065	нм > вм	1,03
7	53354	нм > вм	1,00
8	54680	нм > вм	0,83
9	1544	нм < вм	2,26
10	2110	нм < вм	1,52
11	3179	нм < вм	1,65
12	5116	нм < вм	1,69
13	104152	нм = вм	1,46

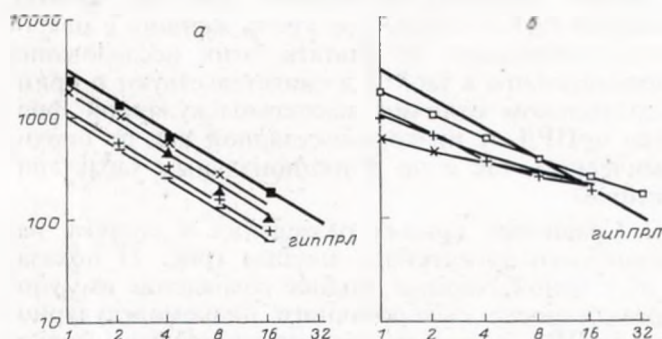


Рис. 1 Кривые разведения в системе радиоиммунологического анализа низкомолекулярного — нм (а) и высокомолекулярного — вм (б) ирПРЛ 5 сывороток крови с высоким содержанием вм-ирПРЛ

ГипПРЛ — высокоочищенный гипофизарный ПРЛ человека. По оси ординат — концентрация ирПРЛ (в мкЕд/мл); по оси абсцисс — разведение (число раз).

взаимодействовал на мембране нитроцеллюлозы с конъюгированными с пероксидазой хрена поли- и моноклональными антителами к иммуноглобулинам человека (но не морской свинки). Таким образом, в сыворотке крови женщин с макропролактинемией белок, связывающий ПРЛ, может иметь иммуноглобулиновую природу, иначе говоря, представлять собой аутоантитело к ПРЛ. Следует отметить, что возможность наличия антипролактиновых аутоантител в крови у пациентов с умеренной идиопатической гиперпролактинемией недавно была показана японскими исследователями [16, 17] методом осаждения иммунных комплексов полиэтиленгликолем.

Накопленный экспериментальный материал указывает на то, что иммунореактивность макропролактина сыворотки крови скорее всего неоднородна. Носителем части иммунореактивности, по-видимому, является ПРЛ, входящий в состав комплекса с иммуноглобулинами и, возможно, частично освобождающийся из него при проведении иммунохимического анализа. С другой стороны, существенная часть иммунореактивности высокомолекулярной фракции может быть проявлением определенного влияния на иммунохимическое взаимодействие меченого ПРЛ и антипролактиновых антител радиоиммунологической системы свободных иммуноглобулинов этой фракции, обладающих сродством к ПРЛ или антителам к нему. Не исключено, что часть специфических иммуноглобулинов макропролактиновой фракции представляет собой антиидиотипические аутоантитела, способные к взаимодействию с антителами к ПРЛ радиоиммунологической системы или лактогенными клеточными рецепторами (чем может быть обусловлена подавляемая моноклональными антителами биологическая активность высокомолекулярного ирПРЛ). В литературе имеется сообщение [21] о возможности сосуществования в крови аутоантител к тиреотропину и антиидиотипических аутоантител, взаимодействующих с антителами к этому гормону.

Пока не совсем ясно, каковы могут быть причины и патофизиологические последствия образования в организме человека антипролактиновых иммуноглобулинов. В последнее время доказано, что ПРЛ может продуцироваться клетками иммунной системы человека, которые имеют рецепторы этого гормона [11, 22]. Обсуждается возможность иммуномодуляторной роли ПРЛ. В связи с этим можно допустить, что избыточное образование иммуноглобулинов против ПРЛ у ряда лиц обусловлено особенностями функционирования у них клеток иммунной системы и не имеет прямого отношения к эндокринной патологии.

Каково же клинико-диагностическое значение феномена макропролактинемии? Клиническое обследование женщин с гиперпролактинемией различного генеза при разном соотношении высоко- и низкомолекулярной форм ирПРЛ, осуществленное И. А. Иловой и Л. К. Дзерановой в сотрудничестве с нами [5, 6], показало, что преобладание высокомолекулярного ирПРЛ в крови может наблюдаться независимо от происхождения гиперпролактинемии. Оно может существовать в виде гиперпролактинемии и определять тактику лечения. При длительном динамическом наблюдении

установлено, что высокомолекулярная форма ирПРЛ может оставаться доминирующей независимо от течения заболевания, наступления беременности и родов и динамики уровня общего ирПРЛ.

При умеренной идиопатической гиперпролактинемии (уровень общего ирПРЛ 600—4000 мЕД/л) с преобладанием высокомолекулярного ирПРЛ симптомы гипогонадизма и выраженной галактореи нехарактерны. Такая форма гиперпролактинемии, как правило, не поддается коррекции агонистами дофамина. В этих случаях рекомендуется наблюдение за женщинами и лечение сопутствующих гинекологических заболеваний, если таковые выявлены.

Преобладание высокомолекулярного ирПРЛ в сыворотке крови при высоком уровне гиперпролактинемии (выше 4000 мЕД/л), обусловленной ПРЛ-секретирующей опухолью гипофиза, может сочетаться с типичной клинической картиной персистирующей галактореи—аменореи. В данном случае в сыворотке крови может выявляться высокое абсолютное содержание низкомолекулярного биологически наиболее активного ирПРЛ. В таких случаях могут быть применены агонисты дофамина.

У больных с гиперпролактинемией, сохраняющейся на фоне лечения агонистами дофамина, при положительной динамике клинической симптоматики (уменьшение или исчезновение галактореи, восстановление менструального цикла) рекомендуется исследование относительного содержания низко- и высокомолекулярной форм ирПРЛ для выявления возможности преобладания последней в крови как причины стойкой гиперпролактинемии.

В целом экспериментальные данные о сывороточном высокомолекулярном ирПРЛ, его происхождении и свойствах, а также клинический опыт свидетельствуют о том, что введение в алгоритм диагностического поиска анализа не только уровня общего ирПРЛ, но и содержания его высоко- и низкомолекулярной форм может расширить возможности дифференциальной диагностики различных форм гиперпролактинемии и оптимизировать тактику ее лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балаболкин М. И., Герасимов Г. А., Горохова Т. Р. // Сов. мед. — 1990. — № 4. — С. 23—26.
2. Булатов А. А., Макаровская Е. Е., Дзеранова Л. К. и др. // Пробл. эндокринологии. — 1992. — № 6. — С. 13—16.
3. Булатов А. А., Макаровская Е. Е., Марова Е. И., Мельниченко Г. А. // Там же. — 1995. — № 6. — С. 19—23.
4. Дедов И. И., Мельниченко Г. А. Персистирующая галакторея—аменорея: этиология, патогенез, клиника, лечение. — М., 1985.
5. Дзеранова Л. К., Макаровская Е. Е., Кирпатовская Л. Е. и др. // Пробл. эндокринологии. — 1992. — № 5. — С. 22—25.
6. Макаровская Е. Е., Иловой И. А., Мартынов А. В. и др. // Там же. — 1995. — № 1. — С. 19—22.
7. Мельниченко Г. А., Гитель Е. П., Романцова Т. И. // Там же. — 1990. — № 3. — С. 29—33.
8. Мельниченко Г. А. // Клиническая эндокринология / Под ред. Н. Т. Старковой — М., 1991. — С. 79—88.
9. Benker G., Jaspers C., Hausler G., Reinwein D. // Klin. Wochenschr. — 1990. — Bd 68. — S. 1157—1167.
10. Bjoro T., Johansen E., Frey H. H. et al. // Acta endocrinol. — 1993. — Vol. 128. — P. 308—312.
11. Dardenne M., do Carmo Leite de Moraes M., Kelly P. A., Gagnierault M. C. // Endocrinology. — 1994. — Vol. 134. — P. 2108—2114.

12. Farkouh N. H., Packer M. G., Fzantz A. G. // J. clin. Endocrinol. Metab. — 1979. — Vol. 48. — P. 1026—1032.
13. Fraser I. S., Zhuang Guang Lun, Jian Ping Zhou et al. // Ibid. — 1989. — Vol. 69. — P. 585—592.
14. Fraser I. S., Zhuang Guang Lun // Obstetr. Gynecol. Surv. — 1990. — Vol. 45. — P. 515—520.
15. Gout P. W., Noble R. L., Beer C. T. // Biochem. Cell Biol. — 1986. — Vol. 64. — P. 659—666.
16. Hattori N., Ishihara T., Ikekubo K. et al. // J. clin. Endocrinol. Metab. — 1992. — Vol. 75. — P. 1226—1229.
17. Hattori N., Ishihara T., Ikekubo K. et al. // Eur. J. Endocrinol. — 1994. — Vol. 30. — P. 438—445.
18. Jackson R. D., Wortsman J., Malarkey W. B. // J. clin. Endocrinol. Metab. — 1985. — Vol. 61. — P. 258—264.
19. Jackson R. D., Wortsman J., Malarkey W. B. // Ibid. — 1989. — Vol. 68. — P. 1046—1050.
20. Keifer K. A., Malarkey W. R. // Ibid. — 1978. — Vol. 46. — P. 119—124.
21. Ochi Y., Inui T., Hachiya T. et al. // Ibid. — 1990. — Vol. 71. — P. 1163—1167.
22. Pellegrini I., Lebrun J. -T., Ali S., Kelly P. A. // Mol. Endocrinol. — 1992. — Vol. 6. — P. 1023—1031.
23. Soong Y. K., Ferguson K. M., McGarnick G., Jeffcoate S. L. // Clin. Endocrinol. (Oxf.). — 1982. — Vol. 16. — P. 259—265.
24. Tanaka T., Shui R. P. C., Gout P. W. et al. // J. clin. Endocrinol. Metab. — 1980. — Vol. 51. — P. 1058—1063.

25. Yu-Lee L.-Y. // Mol. Cell Endocrinol. — 1990. — Vol. 68. — P. 21—28.

Поступила 13.09.96

A. A. Bulatov — THE MACROPROLACTINEMIA PHENOMENON: ORIGIN AND CLINICAL DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

Summary. The authors discuss the experimental and clinical data on the origin, properties, and diagnostic value of serum immunoreactive prolactin (irPRL) with a high molecular mass (macroprolactin, 100K-PRL). This form predominates in the blood of about 25% of women of a reproductive age with hyperprolactinemia. Comparison of the biochemical, immunochemical, and functional characteristics of the blood serum 100K-PRL and the monomeric fraction irPRL (23K-PRL) showed them to differ in principle. A low biological activity of 100K-PRL explains the absence of typical clinical signs of hyperprolactinemia in many women with macroprolactinemia. In contrast to 23K-PRL, 100K-PRL weakly reacts to stimulants and inhibitors of PRL secretion by the pituitary. PRL-binding protein, apparently an immunoglobulin, is the basis of fraction 100K-PRL. The authors consider that analysis of not only total irPRL in the blood, but of its high and low-molecular forms be included in the algorithm of diagnostic search in some forms of hyperprolactinemia. This will help determine the treatment policy, because moderate hyperprolactinemia with predominating 100K-PRL as a rule cannot be corrected by dopamine agonists.