

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ. 1994

УДК 616.432-008.6:577.175.322]-02-07

В. И. Гудошников, Т. В. Мамаева, В. П. Федотов

ВЛИЯНИЕ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ И НОРАДРЕНАЛИНА НА СЕКРЕЦИЮ СОМАТОТРОПНОГО ГОРМОНА ПЕРВИЧНЫМИ КУЛЬТУРАМИ ГИПОФИЗОЦИТОВ КРЫС РАЗЛИЧНОГО ВОЗРАСТА

Лаборатория биологических исследований гормональных соединений (зав.— проф. В. П. Федотов) Института экспериментальной эндокринологии (дир.— член-корр. РАМН И. Г. Акмаев) Эндокринологического научного центра (дир.— член-корр. РАМН И. И. Дедов) РАМН, Москва

Изучение действия глюкокортикоидов на секрецию соматотропного гормона (СТГ) гипофизом издавна привлекает внимание эндокринологов. В опытах на первичных культурах аденогипофизарных клеток взрослых крыс были получены данные, свидетельствующие как об ингибирующем, так и о стимулирующем влиянии глюкокортикоидов на секрецию СТГ [11, 12]. Однако наибольший интерес представляет изучение влияния этих гормонов на секрецию СТГ в раннем постнатальном периоде развития, когда наблюдаются интенсивный рост и повышенная пролиферативная активность клеток в различных тканях.

В представленной работе анализируется действие глюкокортикоидов на секрецию СТГ с учетом возраста животных — доноров гипофизарных клеток. Кроме того, описано воздействие на соматотрофы других стероидных гормонов (альдостерона, прогестерона) в сравнении с глюкокортикоидами. И наконец, учитывая то, что глюкокортикоиды и катехоламины как важнейшие гормоны стресса взаимодействуют между собой на различных регуляторных уровнях [5], в настоящем исследовании рассмотрено сочетанное влияние дексаметазона и норадреналина на секрецию СТГ гипофизарными клетками.

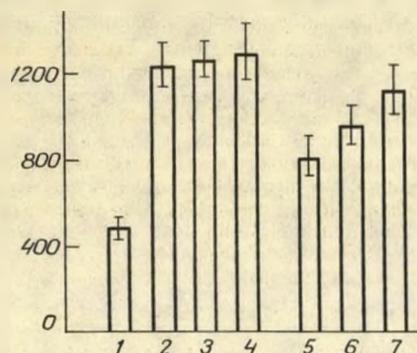


Рис. 1. Влияние кортикостероидов на секрецию СТГ в культуре гипофизарных клеток неонатальных крысят.

1 — контроль; 2—4 — дексаметазон в концентрациях 10^{-8} , 10^{-7} и 10^{-6} М соответственно; 5—7 — альдостерон в дозах 10^{-8} , 10^{-7} и 10^{-6} М соответственно. $p < 0,001$ во всех случаях. $n=5-10$ в группе.

Здесь и на рис. 2 и 3 по вертикали — уровень СТГ в среде (в нг/мл).

Материалы и методы

В опытах использовали крыс линии Вистар следующих возрастных групп: а) неонатальных (5—8-дневных) обоего пола; б) сосунков (10—14-дневных) обоего пола; в) взрослых (60—120-дневных) самцов или самок. Приготовление и выращивание первичных культур гипофизарных клеток [4] в модификации [2] описано ранее. Кортикостероиды и прогестерон вводили в 3-дневных культурах на 72 ч в среде с 1% эмбриональной телячьей сыворотки. За сутки до окончания опыта осуществляли смену среды. В день завершения эксперимента собирали пробы среды для определения СТГ гомологичным радиоиммунологическим методом [1]. В работе применяли гормональные препараты следующих фирм: дексаметазон, прогестерон и норадреналин фирмы «Seriva» (ФРГ), кортикостерон — «Fluka» (Швейцария), альдостерон — «Koch-Light» (Англия). Полученные результаты обработаны статистически с использованием *t*-критерия Стьюдента и представлены в виде $M \pm m$.

Результаты и их обсуждение

На рис. 1 продемонстрировано выраженное стимулирующее влияние дексаметазона и альдостерона на продукцию СТГ в культуре гипофизарных клеток неонатальных крысят. На рис. 2 показаны

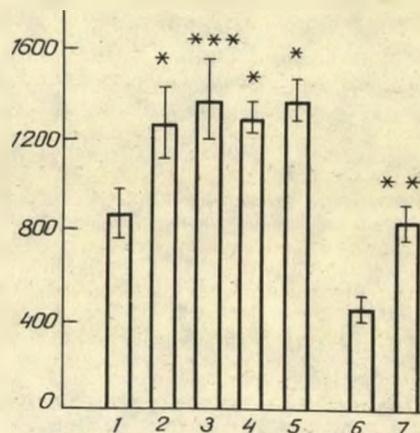


Рис. 2. Влияние кортикостероидов и прогестерона на секрецию СТГ в культурах гипофизарных клеток взрослых крыс.

1 и 6 — контроли в двух разных экспериментах, выполненных соответственно на гипофизарных клетках самцов и самок крыс; 2 и 3 — альдостерон в концентрациях 10^{-7} и 10^{-6} М; 4 и 5 — дексаметазон в дозах 10^{-7} и 10^{-6} М; 7 — прогестерон (10^{-6} М). $n=5-7$ в группе. Одна звездочка — $p < 0,01$, две — $p < 0,001$, три — $p < 0,001$ в сравнении с соответствующим контролем.

Влияние кортикостероидов и прогестерона (10^{-6} М) на секрецию СТГ в культурах гипофизарных клеток неонатальных крысят (длительность преникубации 48 ч, инкубации 24 ч)

Группа	СТГ в среде, нг/мл	ρ
<i>Опыт 1</i>		
Контроль	197,1 ± 14,9 (10)	—
Кортикостерон	464,1 ± 31,6 (6)	<0,001
Прогестерон	257,0 ± 17,8 (6)	<0,05
<i>Опыт 2</i>		
Контроль	119,4 ± 8,2 (5)	—
Дексаметазон	221,3 ± 23,4 (4)	<0,01
Альдостерон	212,5 ± 36,8 (6)	<0,05

Примечание. В опыте 2 клетки инкубировали в бессывороточной среде, содержащей 0,2 % желатина; в скобках — число наблюдений в группе.

реакции СТГ-секретирующих клеток взрослых крыс на стероидные соединения. Там же демонстрируется заметное стимулирующее влияние прогестерона на продукцию СТГ гипофизарными клетками взрослых животных. Сопоставление данных, представленных на рис. 1 и 2, позволяет заключить, что реактивность соматотрофов неонатальных крысят к кортикостероидам несколько выше, чем у взрослых крыс.

Данные таблицы показывают, с одной стороны, выраженное стимулирующее влияние на секрецию СТГ гипофизарными клетками неонатальных крысят природного глюкокортикоида кортикостерона и менее заметное воздействие на этот процесс прогестерона, а с другой стороны, свидетельствуют о том, что стимулирующее действие дексаметазона и альдостерона на клетки — продуценты СТГ имеет место и в бессывороточной среде, а следовательно, не является результатом взаимодействия этих гормонов с факторами роста и гормонами сыворотки.

На рис. 3 показано стимулирующее действие дексаметазона и норадреналина на секрецию СТГ гипофизарными клетками крысят-сосунков. В присутствии дексаметазона повышается реакция соматотрофов на более низкую концентрацию норадреналина, что свидетельствует о перmissiveм характере действия глюкокортикоида.

Как следует из полученных результатов, кортикостероиды повышают продукцию СТГ — главного стимулятора соматического роста. Ранее нами было показано, что кортикостероиды подавляют биосинтез ДНК и суммарных белков гипофиза в раннем постнатальном развитии [2]. На первый взгляд, эти результаты парадоксальны. Однако следует учитывать, что соматотрофы составляют лишь часть популяции гипофизарных клеток, а СТГ — только часть всех белков, синтезируемых соматотрофами. Кроме того, СТГ не способен преодолеть пролиферативный блок, вызываемый глюкокортикоидами в периферических тканях-мишенях, в том числе и в печени [10]. Следовательно, освобождаемый под влиянием глюкокортикоида СТГ может выполнять функции, отличные от функций стимулятора пролиферативной активности, например, регулятора углеводного и других видов обмена веществ [3].

Наибольший интерес, с нашей точки зрения, представляет оценка комбинированного воздей-

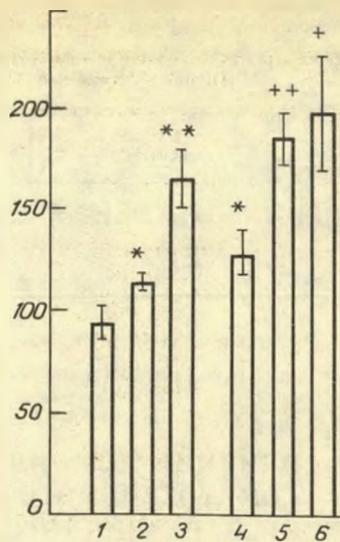


Рис. 3. Влияние норадреналина и дексаметазона на секрецию СТГ гипофизарными клетками крысят-сосунков.

1 — контроль; 2 и 3 — норадреналин в концентрациях 10^{-7} и 10^{-6} М; 4 — дексаметазон (10^{-8} М); 5 и 6 — норадреналин в дозах 10^{-7} и 10^{-6} М в сочетании с дексаметазоном. Длительность преникубации с дексаметазоном — 72 ч, инкубации с дексаметазоном и/или норадреналином — 2 ч. и—6 в группе. Одна звездочка — $p < 0,05$, две — $p < 0,01$ в сравнении с контролем; один крестик — $p < 0,05$, два — $p < 0,01$ по сравнению с дексаметазоном.

ствия длительной премедикации кортикостероидами и влияния катехоламинов при кратковременной экспозиции (см. рис. 3). Такая постановка эксперимента позволяет смоделировать ситуацию в созревающем организме, когда гипофиз подвергается сочетанному воздействию глюкокортикоидов [9] и катехоламинов. Полученные нами результаты позволяют утверждать, что наблюдаемое в постнатальном развитии становление соматотропной функции гипофиза может быть отчасти обусловлено сочетанным воздействием глюкокортикоидов и катехоламинов.

Несомненный интерес представляет и обнаруженное нами стимулирующее влияние сравнительно низкой концентрации альдостерона (10^{-8} М) на секрецию СТГ. Следует подчеркнуть, что эта концентрация близка к константе диссоциации рецепторов минералокортикоидов в аденогипофизе (~ 9 нМ) [9]. На наш взгляд, следует более внимательно оценить состояние соматотропной функции гипофиза при избыточной секреции глюко- или минералокортикоидов, наблюдаемое при ряде эндокринопатий, особенно у детей.

Что касается прогестерона, то его влияние на соматотрофы, видимо, может быть опосредовано рецепторами как глюкокортикоидов, так и прогестининов.

И в заключение остановимся на возрастных различиях базальной секреции СТГ в первичных культурах. Предыдущее исследование [6], проведенное нами на первичных культурах гипофизарных клеток крыс разного возраста, показало более чем 50-кратную разницу в базальной секреции пролактина между неонатальной и препубертатной группой животных в условиях кратковременной (3-часовой) инкубации. В настоящей работе мы не наблюдали столь резких различий в базальной секреции СТГ между отдельными возрастными группами. Как правило, базальная секреция СТГ была выше в группах препубертатных и

взрослых крыс по сравнению с группами неонатальных животных и сосунков, в условиях длительной (24-часовой) инкубации (см. рис. 1—3), однако эта разница часто перекрывалась разбросом результатов от опыта к опыту, что может объясняться слабой сохранностью соматотрофов в процессе культивирования, возможно, из-за отсутствия трофического влияния гипоталамического соматолиберина [7].

Обнаружение нами повышенной чувствительности соматотрофов неонатальных крысят и сосунков к биорегуляторам дает возможность утверждать, что соматотропная функция гипофиза уже в неонатальном периоде способна активно включиться в нейроэндокринное обеспечение процессов роста и развития созревающего организма.

Выводы

1. В условиях длительной (72 ч) экспозиции дексаметазон и альдостерон в концентрациях 10^{-8} — 10^{-6} М стимулируют в первичных культурах секрецию СТГ гипофизарными клетками неонатальных и взрослых крыс.

2. Кортикостерон и прогестерон (10^{-6} М) также обладают способностью повышать освобождение СТГ из гипофизарных клеток.

3. После длительной обработки гипофизарных клеток крысят-сосунков дексаметазоном обнаружено увеличение как базальной секреции СТГ, так и реакции соматотрофов на секретогенное влияние низкой концентрации норадrenalина (10^{-7} М) в последующей кратковременной (2 ч) инкубации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамова В. В., Батрагеева Л. А., Федотов В. П. // Пробл. эндокринологии.— 1986.— Т. 32, № 1.— С. 56—60.

2. Гудошников В. И., Федотов В. П. // Там же.— 1992.— Т. 38, № 1.— С. 61—64.
3. Кеда Ю. М. // Там же.— 1985.— Т. 31, № 6.— С. 75—80.
4. Кожолов И. С., Морозова Л. Г., Фазекаш И. и др. // Бюл. экспер. биол.— 1978.— Т. 85, № 2.— С. 215—217.
5. Утевский А. М., Расин М. С. // Успехи соврем. биол.— 1972.— Т. 73, вып. 3.— С. 323—341.
6. Федотов В. П., Гудошников В. И., Кожолов И. С., Абрамова В. В. // Бюл. экспер. биол.— 1992.— Т. 113, № 4.— С. 402—404.
7. Baker B. L., Reel J. R., Van Dewark S. D., Yu Y. Y. // Anat. Rec.— 1974.— Vol. 179.— P. 93—105.
8. DeNicola A. F., Tornello S., Weisenberg L. et al. // Hormone Metab. Res.— 1981.— Vol. 13.— P. 103—106.
9. Henning S. J. // Amer. J. Physiol.— 1981.— Vol. 241.— P. G199—G214.
10. Loeb J. N. // New. Engl. J. Med.— 1976.— Vol. 295.— P. 547—552.
11. Nakagawa K., Obara T., Matsubara M., Kubo M. // Endocr. Jap.— 1985.— Vol. 32.— P. 61—64.
12. Oosterom R., Verleun T., Zuiderwijk J., Lamberts S. W. J. // Endocrinology.— 1983.— Vol. 113.— P. 735—741.

Поступила 29.06.93

V. I. Gudoshnikov, T. V. Mamayeva, V. P. Fedotov — STEROID HORMONE AND NORADRENALIN EFFECTS ON SOMATOTROPIC HORMONE SECRETION BY PRIMARY CULTURES OF HYPOPHYSEOCYTES OF RATS OF DIFFERENT AGES

Summary. Dexamethasone and aldosterone in concentrations 10^{-8} to 10^{-6} stimulated STH secretion by hypophyseal cells of neonatal and adult rats under conditions of prolonged (72 h) incubation of primary cultures. Corticosterone and progesterone had a stimulating effect on STH release by hypophyseal cells. Long exposure of cultured suckling rat cells to dexamethasone resulted in increase of STH basal secretion and enhanced the stimulating effect of low concentration (10^{-7} mole) of noradrenalin on STH release during a subsequent short (2 h) incubation. The results permit us to suggest that development of hypophyseal somatotrophic function observed in the postnatal period may be to a certain measure explained by combined effects of corticosteroids and catecholamines.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1994

УДК 616.379-008.64-07:816.153:577.164.31-02:613.281

Р. Е. Садыкова, В. М. Коденцова, А. В. Древаль

НИАЦИНОВЫЙ СТАТУС ОРГАНИЗМА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ; ВЛИЯНИЕ УРОВНЯ БЕЛКА В РАЦИОНЕ

Институт питания (дир.— проф. М. Н. Волгарев) РАМН, Москва

Ниацин (витамин РР) является необычным витамином, поскольку может синтезироваться в организме из триптофана, и, таким образом, не является строго необходимым компонентом рациона [4]. Превращение триптофана в ниацин, имеющее важное значение в здоровом организме, может нарушаться при патологических состояниях. Установлено, что при сахарном диабете изменяется активность многих ферментов метаболизма триптофана, следствием чего является снижение превращения этой аминокислоты в ниацин [9, 11, 13] и соответственно уменьшение экскреции 1-метилникотинамида — продукта метаболизма ниацина [1, 2]. Вместе с тем многочисленные исследования свидетельствуют, что в возникновении и прогрессировании инсулинзависимого сахарного диабета этому витамину и его коферментным формам принадлежит важная роль. Диабетогенное действие стрептозотоцина этиоло-

гически связано со снижением уровня НАДФ в клетках [4, 7, 12]. Дефицит ниацина повышает чувствительность к действию стрептозотоцина [14], а введение никотинамида как до, так и после введения стрептозотоцина дает защитный эффект от его повреждающего действия [4, 8], восстанавливает активность ферментов метаболизма триптофана по ниациновому пути до уровня, характерного для здоровых животных [13]. Никотинамид находит применение в качестве гиполипидемического и сахаропонижающего средства в лечении больных сахарным диабетом [1, 2].

В последние годы появились сообщения об эффективном защитном действии высокобелковой диеты при развитии стрептозотоцинового диабета у крыс [5, 6], однако механизм его остается неясным. Поскольку белок рациона может служить источником ниацина, мы предположили,