

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2001

УДК 616.715.22-078.33

М. Б. Бабарина, Е. И. Марова, Ю. М. Кеда, И. В. Крюкова, С. И. Крайнова

## СОМАТОТРОПНАЯ ФУНКЦИЯ ГИПОФИЗА И ПОКАЗАТЕЛИ АУТОИММУНИТЕТА ПРИ СИНДРОМЕ ПЕРВИЧНОГО "ПУСТОГО" ТУРЕЦКОГО СЕДЛА

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

У 48 больных с синдромом первичного "пустого" турецкого седла (ПТС) исследовали антитела к поверхностным антигенам аденогипофиза крыс (АПАГ) и клеток соматотропиномы человека (АПАС) клеточным иммуноферментным методом, антитела к СТГ радиоиммунологическим методом, а также резервы СТГ (тест с инсулиновой гипогликемией) с целью выявления возможной связи между развитием соматотропной недостаточности и наличием аутоиммунного процесса в ткани гипофиза. Согласно результатам инсулинового теста, больные были разделены на 2 группы: с СТГ-недостаточностью (54,2%) и нормальной секрецией СТГ (45,8%). В целом АПАГ и APAC были обнаружены соответственно у 52 и 27% больных, и достоверного различия между частотой встречаемости этих антител в группах с СТГ-недостаточностью и нормальной секрецией не выявлено. Антитела к СТГ выявлены у 2 больных с СТГ-недостаточностью и 3 больных с нормальной секрецией СТГ, и их присутствие не коррелировало с наличием антигипофизарных антител. Высокая частота АПАГ и APAC не позволяет исключить возможности наличия лимфоцитарного гипопизита по крайней мере у части обследованных больных.

*Antibodies to surface antigens of rat adenohypophysis (ASAG) and human somatotropinoma cells (AHST) were studied in 48 patients with primary "empty" sella turcica syndrome by cellular enzyme immunoassay, antibodies to somatotrophic hormone (STH) were radioimmunoassayed, and STH reserves were studied by insulin hypoglycemia test in order to detect a probable relationship between the development of somatotrophic insufficiency and autoimmune process in pituitary tissue. The patients were divided into 2 groups by the results of insulin test: with STH insufficiency (54.2%) and normal STH secretion (45.8%). ASAG and AHST were detected in 52 and 27% patients, respectively; the incidence of these antibodies in the patients with STH deficiency and normal secretion of STH was virtually the same. Antibodies to STH were detected in 2 patients with STH insufficiency and in 3 with normal STH secretion, and their presence did not correlate with the presence of antipituitary antibodies. High incidence of ASAG and AHST does not rule out the possibility of lymphocytic hypophysitis in at least some of examined patients.*

На ранней стадии изучения синдрома "пустого" турецкого седла (ПТС) основная этиологическая роль отводилась фактору повышения внутричерепного давления. Между тем в настоящее время ряд исследователей рассматривают этот синдром в некоторых случаях как аутоиммунное заболевание, клинически характеризуемое различными эндокринными нарушениями, в частности недостаточностью адренокортикотропного, тиреотропного, соматотропного (СТГ) гормонов.

Согласно исследованиям, природа гипопитуитаризма при синдроме ПТС может быть связана с развитием такого эндокринного аутоиммунного заболевания, как лимфоцитарный аденогипофизит [12]. Диагноз лимфоцитарного аденогипофизита подтверждается характерной гистологической картиной ткани гипофиза, выявлением циркулирующих антител к цитоплазматическим или поверхностным антигенам аденогипофиза, а также сочетанием гипопитуитаризма с другими аутоиммунными эндокринопатиями [9].

К настоящему моменту вопрос о возможном участии аутоиммунных процессов в развитии СТГ-недостаточности при синдроме ПТС остается неясным.

Задачей работы являлись анализ частоты присутствия антигипофизарных антител и определение резервов СТГ с целью выявления возможной связи между развитием соматотропной недостаточности и наличием аутоиммунного процесса в ткани гипофиза у больных с синдромом первичного ПТС.

### Материалы и методы

Обследованы 48 мужчин и женщин от 15 лет до 61 года (средний возраст составил  $42,2 \pm 12,4$  года). У всех пациентов диагноз ПТС был установлен МР-томографией головного мозга. Основными жалобами на момент осмотра были слабость, утомляемость, снижение работоспособности, памяти, прибавка в массе, головные боли и головокружения.

*Определение резерва СТГ методом инсулиновой гипогликемии.* С целью определения резерва СТГ всем обследуемым после ночного голодания в положении лежа проводили инсулиновый тест. Инсулин короткого действия (Actrapid) вводили одномоментно внутривенно из расчета 0,1 ЕД на 1 кг массы тела. Гипогликемия, вызванная стандартной дозой инсулина, является мощным стимулятором для выделения СТГ из гипофиза. Тест считался достоверным, если уровень гликемии снижался не менее чем на 50% от исходного. Кровь брали до введения инсулина и через 15, 30, 60, 90, 120 мин от начала пробы. Содержание СТГ в сыворотке крови определяли радиоиммунологическим методом, концентрацию глюкозы — на глюкометре "Сателлит".

*Определение антител к поверхностным антигенам клеток аденогипофиза крысы и соматотропиномы человека.* Определение антител к поверхностным антигенам клеток аденогипофиза крысы (АПАГ) и соматотропиномы человека (АПАС) в сыворотке крови человека осуществляли клеточным твердофазным иммуноферментным методом [1]. Первичную суспензию клеток, выделенных из аденогипофиза крысы или соматотропиномы чело-

века, иммобилизовали на плоскодонных 96 луночных планшетах ("Nunc"), предварительно обработанных 0,01% раствором лизина, в количестве 40 000—50 000 клеток на лунку. Клетки фиксировали глутаровым альдегидом, нейтрализовали глицином и свободные места в лунках блокировали 2% бычьим сывороточным альбумином. В лунки вносили по 0,1 мл тестируемой сыворотки, разведенной в соотношении 1:100 в фосфатном буфере, содержащем 0,15М NaCl и 1% бычьего сывороточного альбумина. Анализ проводили, как описано ранее [1]. Окраску измеряли на иммуноферментном фотометре "ЭФОС" при 492 нм. В качестве внутреннего стандарта в каждом опыте использовали 2 контрольные позитивные сыворотки и 10 контрольных негативных сывороток (лабораторные стандарты). Тестируемая сыворотка считалась положительной АПАГ (+), если величина ее оптической плотности ( $D_{492}$ ) была выше  $X \pm 3\sigma$ , где  $X$  — средняя величина оптической плотности контрольных негативных сывороток. Коэффициент вариации внутри опыта составлял 12,8%, между опытами — 14,5%.

**Определение СТГ-связывающей способности сыворотки крови.** Антитела к гормону роста в сыворотке крови оценивали радиоиммунологическим методом с помощью тест-системы, разработанной в лаборатории белковых гормонов ЭНЦ РАМН, по способности иммуноглобулиновой фракции сыворотки связывать высокоочищенный гормон роста человека, меченный радиоактивным йодом [5, 6].

100 мкл раствора СТГ, меченного  $^{131}\text{I}$  и 100 мкл сыворотки крови, инкубировали в Na-фосфатном буфере с 300 мкл 0,1% BSA в течение 20 ч при температуре 4°C. В пробы, кроме "общего счета", добавляли 500 мкл 25% раствора полиэтиленгликоля-6000 (ПЭГ-6000), тщательно перемешивали и инкубировали еще 1 ч при комнатной температуре. По окончании инкубации реакционную смесь центрифугировали при 3000 об/мин в течение 20 мин. Надосадочную жидкость отсасывали, в пробы вносили по 1 мл 12,5% раствора ПЭГ, тщательно перемешивали, центрифугировали и удаляли надосадочную жидкость. Величину радиоактивности в пробах определяли на  $\gamma$ -счетчике. СТГ-связывающую способность сыворотки выражали в процентах от радиоактивности, добавленной в пробу. О достоверном присутствии в сыворотке крови антител к гормону роста свидетельствовала величина связывающей способности, превышающей 18%.

Статистическую обработку результатов проводили методом вариационной статистики с использованием критерия  $t$  Стьюдента.

## Результаты и их обсуждение

В настоящее время тест с инсулиновой гипогликемией признан наиболее точным и достаточным методом для разграничения полного и частичного дефицита СТГ у взрослых пациентов с гипоталамо-гипофизарными заболеваниями или у пациентов с установленным дефицитом одного гипофизарного гормона или более [4, 7]. При достижении адекватной гипогликемии этот тест позволяет дифференцировать СТГ-недостаточность и сниженную сек-

Таблица 1

**Определение антигипофизарных антител и СТГ-связывающей способности в сыворотке крови больных с синдромом ПТС**

Группа обследованных	Количество АПАГ (+)		Количество АПАС (+)		Антитела к СТГ		
	№	%	№	%	№	%	
Больные с дефицитом СТГ	26	16	61,5	7	26,9	2	7,6
Больные с нормальной секрецией СТГ	22	9	40,9	6	27,3	3	13,6
Всего...	48	25	52	13	27	5	10,4

рецию гормона роста, часто развивающуюся при ожирении или у лиц старше 60 лет [4].

Принято считать, что при достигнутой гипогликемии стимулированный уровень СТГ у здорового взрослого субъекта  $\geq 5$  нг/мл, относительный дефицит СТГ определяется при цифровых показателях от 3 до 5 нг/мл, абсолютный дефицит СТГ определяется при пиковом выбросе менее чем 3 нг/мл (эти единицы действительны для поликлонального РИА, применявшегося в нашем исследовании). Однако цифровые показатели существенно варьируют при разных методах [4].

Достоверное снижение уровня глюкозы в плазме крови у всех больных отмечалось через 30 мин после введения инсулина. Средний уровень максимального снижения глюкозы составил 53% исходного, что можно было расценивать как адекватную реакцию на инсулин. Уровень СТГ по всей группе на 60-й минуте варьировал от 0,06 до 42,01 нг/мл. Достоверное повышение уровня СТГ в ответ на гипогликемию наблюдалось у 85,5% больных и было наибольшим на 60-й минуте пробы. У 45,8% больных ответ СТГ был в пределах нормы, у остальных отмечался низкий стимулированный уровень СТГ, при этом у 14,5% больных ответ СТГ практически отсутствовал, и на фоне стимуляции концентрация СТГ в плазме крови не превышала 0,98 нг/мл. Такое различие в ответе на инсулиновую гипогликемию позволило разделить больных на группу с нормальной секрецией СТГ и на группу с СТГ-недостаточностью.

Сыворотки всех больных определяли на наличие АПАГ и АПАС. Ранее с помощью иммуноферментного метода была показана высокая корреляция определения антигипофизарных антител на аденогипофизарных клетках крысы и опухолевых клетках человека. Результаты определения антигипотензивных антител представлены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, в целом у больных с синдромом ПТС АПАГ встречались с относительно высокой частотой, значительно превышавшей таковую — 4,5% — в популяции [1]. Подобные результаты были получены М. Kamatsu и соавт., которые у пациентов с первичным ПТС выявили антитела к антигенам опухолевых клеток крыс GN3, продуцирующих пролактин в 75% и AtT 20, продуцирующих АКТГ в 47% случаев, 44% больных имели антитела к антигенам обоих видов клеток [9, 10]. На основании этого они предположили, что антигипофизарные антитела к кортикотрофам и лакто-трофам могут быть первичны по отношению к эн-

Таблица 2

## Клинико-иммунологическая характеристика АПАС-позитивных пациентов

№ наблюдения	АПАГ	АПАС+	Антитела к СТГ	Дефицит СТГ	Другие эндокринные нарушения
1	+	+	—	Есть	Гиперпролактинемия. Ожирение I степени
2	+	+	—	—	Гиперпролактинемия. Ожирение II степени
3	+	+	—	—	Гиперпролактинемия. Дисфункция яичников, опсоменорея. Ожирение III степени
4	+	+	—	Нет	Гиперпролактинемия. АИТ. Ожирение III степени
5	—	+	+	Есть	Ановуляторная дисфункция яичников, опсоменорея. Нарушенная толерантность к углеводам. Ожирение III степени. АИТ
6	+	+	—	—	Первичный гипотиреоз. Ожирение I степени
7	—	+	+	Нет	Первичный гипотиреоз
8	+	+	+	Есть	Пангипопитуитаризм: вторичный гипокортицизм, вторичный гипотиреоз, вторичный гипонадизм, несахарный диабет
9	+	+	+	Нет	Гинекомастия I степени. Затянувшийся пубертат. Ожирение I степени
10	+	+	+	—	АИТ. Формирующийся узел правой доли.
11	+	+	—	—	Диффузное увеличение щитовидной железы II степени
12	—	+	—	Есть	Правосторонний многоузловой зоб. Ожирение II степени
13	—	+	—	Нет	Аменорея II степени. Ожирение II степени

докринным нарушениям. Однако, по нашим данным, и АПАГ, и АПАС в обеих группах встречались примерно с одинаковой частотой (см. табл. 1), и присутствие этих антител не было специфичным для СТГ-недостаточности при синдроме ПТС. Это иллюстрируется в табл. 2, где представлена клинико-иммунологическая характеристика больных, позитивных по АПАС.

Как следует из табл. 2, АПАС-позитивные пациенты имели самые различные эндокринные нарушения, в целом характерные для данного синдрома и в равной степени представленные и у АПАС-негативных пациентов.

В то же время следует отметить, что у больных с синдромом ПТС частота обнаружения АПАГ была существенно выше, чем у больных с "неактивной" аденомой гипофиза (38%) [13], соматотропиномой или пролактиномой (22%) или при несахарном диабете (33%) [9], а также при таких аутоиммунных негипофизарных эндокринопатиях, как инсулин-зависимый сахарный диабет (17,6%), тиреоидит Хашимото (28%), диффузный токсический зоб (33,3%) [1].

Выявленные нами АПАГ и АПАС не являлись антителами к гормону роста. СТГ-связывающая способность была выявлена в сыворотке крови только 5 больных и не коррелировала с присутствием АПАГ или АПАС. У 3 из этих больных сек-

реция СТГ была в норме. Только 2 из 26 больных с СТГ-дефицитом имели антитела к СТГ. Можно заключить, что антитела к СТГ не ответственны за дефицит СТГ при синдроме ПТС [11].

Из литературных источников известно, что вероятность развития СТГ-недостаточности у пациентов с гипоталамо-гипофизарными заболеваниями повышается с 45 (при изолированном дефиците какого-либо одного гипофизарного гормона) до 100% при сочетанном дефиците 3—4 гипофизарных гормонов [7]. Возможными причинами для возрастного уменьшения секреции СТГ считаются: снижение секреции и/или действия соматотропин-рилизинг гормона; увеличение секреции и/или эффекта соматостатина; уменьшение числа соматотрофов, а также увеличение чувствительности гипофиза к воздействию ИРФ-1 по механизму отрицательной обратной связи [4]. Однако ответ СТГ на стимуляцию у пожилых людей все же остается несравненно выше, чем у пациентов с гипоталамо-гипофизарными заболеваниями [4] или в обследованной нами группе больных с синдромом ПТС и дефицитом СТГ.

Согласно данным А. Attansio и соавт., соматотропная недостаточность при синдроме "первичного" ПТС развивается у взрослых больных в 9,2% случаев, у детей в 6% случаев [2]. Результаты наших исследований указывают на более частую встречаемость СТГ-недостаточности у этой категории больных, которая составляла 54,2%.

Среди возможных причин развития СТГ-недостаточности у пациентов с ПТС и другими гипоталамо-гипофизарными заболеваниями указываются аутоиммунные нарушения, при которых в некоторых случаях серологическим маркером деструкции соматотрофов служат антитела к поверхностным антигенам соматотрофов гипофиза [3, 10, 12].

Имеются данные, что антитела к цитоплазматическим и поверхностным антигенам клеток аденогипофиза, а также гипопитуитаризм (наиболее часто дефицит АКТГ и ТТГ) указывают на наличие лимфоцитарного аденогипофизита (ЛА), при этом соматотропная недостаточность встречается достаточно редко [8]. Однако пока не доказано, что присутствие антигипофизарных антител является абсолютным доказательством наличия лимфоцитарного гипопизита [12]. ЛА может развиваться в результате первично Т-клеточно опосредованной аутоиммунной агрессии на гипофиз, что подтверждается повышенной реактивностью Т-лимфоцитов к экстрактам гипофиза человека, но по такой неспецифичной иммунной картине не представляется возможным точно определить, гуморальный или Т-клеточный иммунитет ответствен за деструктивные повреждения гипофиза при синдроме ПТС [8].

D. Sobel и соавт. [14] оценили состояние гуморального и клеточного иммунитета у больных с гипопитуитаризмом различного генеза. Из всей обследованной группы только у 1 ребенка с ПТС (с клинически и лабораторно подтвержденными признаками дефицита СТГ, АКТГ, ТТГ, вазопрессина и сопутствующими аутоиммунными неэндокринными нарушениями) отмечалась повышенная лимфоцитарная гиперчувствительность к экстрактам гипофиза человека, а антитела к клеткам гипофиза

отсутствовали. Однако, по нашим данным, у детей с синдромом ПТС в отличие от взрослых с таким же заболеванием антигипофизарные антитела практически не встречаются [13].

Роль аутоиммунного компонента в этиологии СТГ-недостаточности у обследованных нами пациентов остается неясной. Однако относительно высокая частота выявления антигипофизарных антител не исключает возможности наличия лимфоцитарного гипопиза по крайней мере у части больных, поскольку патологическое значение этих антител пока только уточняется, и неизвестно, являются ли они только маркерами заболевания или его причиной [12].

## Выводы

1. У больных с синдромом первичного ПТС на основании результатов теста с инсулиновой гипогликемией недостаточность гормона роста выявлена в 54,2% случаев.

2. АПАГ и АПАС выявлены у 52 и 27% больных соответственно, что значительно превышает частоту их обнаружения у больных с активными и неактивными аденомами гипопиза. Антигипофизарные антитела обнаруживались с примерно равной частотой у больных с нормальной секрецией СТГ и СТГ-недостаточностью.

3. СТГ-связывающая активность сыворотки была выявлена только у 2 пациентов с СТГ-недостаточностью и у 3 пациентов с нормальной секреци-

ей СТГ и в большинстве случаев не ассоциировалась с наличием или отсутствием антигипофизарных антител.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Кедя Ю. М., Крюкова И. В., Смирнова О. М. и др. // Вестн. РАМН. — 1994. — № 12. — С. 33—39.
2. Attansio A. F., Lamberts S. W. I., Mantranga A. M. C. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1997. — Vol. 82. — P. 82—88.
3. Bottazzo G. F., McIntosh C., Stanford W., Preece M. // Clin. Endocrinol. — 1980. — Vol. 12. — P. 1—9.
4. Hartman M. L. // Endocrinology. — 1998. — Suppl. 4. — P. 11—12.
5. Hattori N., Ishikara T., Ikekubo K. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1989. — Vol. 69. — P. 585—592.
6. Hattori N., Ishikara T., Ikekubo K. et al. // Eur. J. Endocrinol. — 1994. — Vol. 130. — P. 438—445.
7. Invited Report of a Workshop // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1998. — Vol. 83, N 2. — P. 379—381.
8. Jensen M. D., Handwerker B. S., Scheithauer B. W. et al. // Ann. Intern. Med. — 1986. — Vol. 105. — P. 200—203.
9. Komatsu M., Kondo T., Yamauchi K. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1988. — Vol. 67, N 4. — P. 633—638.
10. Komatsu M., Aizawa T., Shinida T. et al. // Am. J. Med. Sci. — 1989. — Vol. 297, N 3. — P. 186—189.
11. Mau M., Phillips T. M., Rainer R. E. // Clin. Endocrinol. — 1993. — Vol. 38, N 5. — P. 495—500.
12. Mayfield R. K., Levine J. H., Gordon L. et al. // Am. J. Med. — 1980. — Vol. 69. — P. 619—623.
13. Pankov Y., Keda Y., Kijukova I. et al. // International Congress on Endocrinology, 10-th: Abstracts. — San Francisco, 1996. — P. 248.
14. Sobel D. O., Gutai J. P., Rabin B. S. et al. // Clin. Endocrinol. — 1984. — Vol. 20. — P. 341—348.

Поступила 05.08.2000

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2001

УДК 618.173-085.256.51]-074

Л. М. Берштейн, В. Б. Гамаюнова, Е. В. Цырлина, О. С. Манихас, Х. Адлеркрейтц

## ВЛИЯНИЕ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ЭСТРОГЕНАМИ НА ЭКСКРЕЦИЮ ФИТОЭСТРОГЕНОВ<sup>1</sup>

НИИ онкологии им. проф. Н. Н. Петрова Минздрава РФ, Санкт-Петербург; Отдел клинической химии Хельсинского Университета, Финляндия

В исследование было включено 16 женщин, получавших по поводу умеренных вазомоторных симптомов, присущих постменопаузе, эстрадиола валерат (прогинова) по 2 мг в день в течение 30 дней. Средний возраст обследованных составлял  $55,3 \pm 1,15$  года, продолжительность менопаузы —  $5,6 \pm 0,8$  года, масса тела —  $68,0 \pm 3,0$  кг при росте  $161,3 \pm 1,4$  см. Спектр лигнанов и изофлавоноидов в моче (8 метаболитов) определяли методом капиллярно-газовой хроматографии и масс-спектрометрии. В результате работы пришли к заключению о том, что заместительная терапия эстрогенами (ЭЗТ) в постменопаузе приводит к перераспределению в экскреции фитоэстрогенов с мочой за счет относительного преобладания лигнанов (типа энтеролациона и энтеродиола) над изофлавоноидами (даидзеин, генистеин). После курса ЭЗТ в постменопаузе выявляется различие в характере зависимости между экскрецией метоксиэстрогенов (как показателя инактивации катехолэстрогенов), с одной стороны, и отдельных классов фитоэстрогенов, с другой (прямая корреляция с экскрецией лигнанов и обратная — с экскрецией изофлавоноидов). Эти индуцированные ЭЗТ-изменения представляются важными для вторичной модификации ее клинических и эндокринных эффектов.

Sixteen women were treated with estradiol valerate (progestin) in a daily dose of 2 mg during 30 days for moderate menopausal vasomotor symptoms. The mean age of the patients was  $55.3 \pm 1.15$  years, duration of menopause  $5.6 \pm 0.8$  years, body weight  $68.0 \pm 3.0$  kg, and height  $161 \pm 1.4$  cm. Urinary phytoestrogen profiles (8 metabolites) were evaluated by isotope dilution capillary gas chromatography - mass spectrometry. Estrogen-replacing therapy (ERT) of menopausal patients led to redistribution of urinary excretion of phytoestrogens at the expense of relative predominance of lignanes (enterolactone and enterodiol) over isoflavonoids (daidzein, genisteine). After ERT course the excretion of methoxyestrogens correlated positively with lignane excretion and negatively with isoflavonoid excretion. These changes may be important for secondary modification of clinical and endocrine effects of ERT.

<sup>1</sup>Выполнение работы поддержано грантами РФФИ (97-04-48022) и Sigrid Juselius Foundation (Хельсинки, Финляндия).