

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2000

УДК 616.432-006.55-092:577.175.61-07

В. Н. Бабичев, Е. И. Марова, Т. А. Кузнецова, Е. И. Адамская, И. В. Шишкина,  
С. Ю. Касумова

## РЕЦЕПТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ГОРМОНАЛЬНОГО СИГНАЛА В НЕЙРОЭНДОКРИНОЛОГИИ

Лаборатория физиологии эндокринной системы, Отделение нейроэндокринологии ЭНЦ РАМН, Институт нейрохирургии им. Н. Н. Бурденко РАМН, Москва

*Проведено исследование по изучению роли половых гормонов в механизме возникновения аденом гипофиза. С этой целью было проведено определение концентрации ядерных рецепторов эстрадиола и тестостерона в различных по структуре опухолях аденогипофиза: пролактиномах, менингиомах, соматотропиномах, астроцитоммах, невриномах, а также эпендимомах. Показано, что концентрация ядерных эстрогенных и андрогенных рецепторов значительно выше в пролактинсекретирующих аденомах гипофиза по сравнению с соматотропиномами и другими исследованными опухолями гипофиза.*

*The role of sex hormones in the mechanisms of pituitary adenoma development has been investigated. The concentrations of estradiol and testosterone nuclear receptors were evaluated in adenohypophyseal tumors of different structure: prolactinomas, meningiomas, somatotropinomas, astrocytomas, neurinomas, and ependymomas. The concentrations of estrogen and androgen receptors are much higher in prolactin-secreting pituitary tumors than in somatotropinomas and other pituitary tumors examined.*

Принцип "узнавания" является универсальным для всех биологических процессов, начиная с реализации ферментативных реакций и разнообразных межклеточных контактов и кончая сложными формами физиологических взаимосвязей тканей, органов и систем внутри высокоразвитых многоклеточных организмов, а также взаимодействия между организмами в сообществе.

Процесс рецепции внеклеточных регуляторов занимает особое место в сложной системе механизмов биологического узнавания. По современным представлениям, гормоны оказывают свое регуляторное действие на компетентные клетки благодаря наличию в составе последних особых рецепторных белков, выполняющих 2 функции: функцию дискриминированного приема поступающего сигнала и функцию инициации соответствующих ответных реакций клетки.

Известно 2 типа рецепторов, различающихся по своей локализации. Рецепторы полипептидных гормонов (и простагландинов, и нейромедиаторов) фиксированы на плазматической мембране, что определяет необходимость участия в действии этих соединений внутриклеточных посредников — цАМФ,  $Ca^{2+}$ , цГМФ. Рецепторы стероидных гормонов, а также гормонов щитовидной железы локализованы внутриклеточно, в связи с чем гормон-рецепторные комплексы могут принимать непосредственное участие в контроле активности определенных генов (на уровне клеточного ядра). Благодаря внутриклеточной локализации рецепторов стероидов возникают особое разнообразие и разнонаправленность индуцируемых ими эффектов в клетках разных тканей, т. е. имеет место селективность гормонального действия. Избирательность действия стероидов формируется на стадии их реализации клеткой. В основе механизмов, обеспечивающих избирательность на уровне исходного узнавания клеткой гормона, лежит принцип специфического связывания лиганда рецепторами, характеризующегося весьма высокой энергией взаи-

модействия, выраженной гормональной специфичностью сродства и ограниченной емкостью связывающих мест. Основной принцип, лежащий в основе формирования селективности действия стероидов на уровне взаимодействия гормон-рецепторных комплексов с клеточным ядром, остается, однако, неизвестным.

Таким образом, проблема рецепции стероидных гормонов является одной из наиболее актуальных проблем современной нейроэндокринологии. Развитие исследований по изучению рецепции стероидов и реактивности клеток к этим гормонам приведет к существенным изменениям наших представлений о механизмах программирования и регуляции жизнедеятельности клеток в норме и при патологии. Это в полной мере относится к механизму возникновения аденом гипофиза. Гормональная активность аденом гипофиза зависит от функционального состояния высших отделов ЦНС, а также от того гормонального фона, скорее, гормонального дисбаланса, который возникает в организме при различных патологиях. В настоящее время можно считать устоявшимся положение, когда процесс образования аденом гипофиза проходит в 2 фазы: первая включает в себя появление в клетках гипофиза специальных или индуцированных мутаций, во вторую фазу эндогенные и экзогенные активирующие факторы вызывают экстенсивный рост опухоли. К таким факторам следует отнести и половые стероиды, в частности эстрогены, которые являются важными регуляторами секреции пролактина и гонадотропинов. Это подтверждается как клиническими, так и экспериментальными данными, когда длительное введение больших доз эстрогенов может вызывать развитие пролактинсекретирующих опухолей гипофиза [10, 15]. Однако место действия и механизм влияния эстрогенов в процессе возникновения опухолей неизвестны. Еще менее известна роль андрогенов.

В своих исследованиях мы поставили перед собой задачу расширить наши представления о роли

половых стероидов в процессе возникновения аденом гипофиза. С этой целью было проведено определение концентрации ядерных рецепторов эстрадиола и тестостерона в пролактинсекретирующих аденомах гипофиза.

## Материалы и методы

Опытный материал был получен после оперативного вмешательства у 19 больных с пролактинсекретирующей опухолью аденогипофиза (16 женщин и 3 мужчины), у 9 больных с менингиомой, у 3 — с астроцитомой, у 3 — с невриномой, а также у 2 — с соматотропиномой и у 1 больного с эпидимомой. Опухолевую ткань гомогенизировали в 0,01 М ТЕМ-буфере (0,01 М трис-НСl, 0,0015 М ЭДТА, 0,01 М 2-меркаптоэтанол рН 7,4), затем центрифугировали 10 мин при 800 g. Для получения ядерного материала осадок гомогената подвергали дальнейшей гомогенизации в 0,01 М ТЕ-буфере (0,01 М трис-НСl, 0,0015 М ЭДТА рН 6,8). Ядра выделяли по методу Chauveau в модификации В. М. Кедровой и Л. В. Орловой [2], основанной на различии в плотности ядер и остальных клеточных элементов: при центрифугировании в 2,2 М сахарозе при 13 000 g в течение 60 мин ядра оседают на дно, тогда как другие клеточные элементы всплывают. При определении количества мест специфически связаных в ядерной фракции опухолевых тканей использовали метод Anderson и соавт. [6], основанный на обмене меченого гормона с немеченым. В качестве меченых гормонов использовали 17- $\beta$ -2,4,6,7-3Н-эстрадиол (3Н-Э, удельная активность 90 Ки/ммоль, фирмы "Amersham, Англия) и 1,2,6,7-3Н-тестостерон (3Н-Т, удельная активность 75 Ки/ммоль, Санкт-Петербург). Пробы ядерной суспензии инкубировали с насыщающими концентрациями 3Н-Э ( $6 \cdot 10^{-9}$  М) и 3Н-Т ( $40 \cdot 10^{-9}$  М). Инкубацию осуществляли при 32°C в течение 60 мин. Свободный гормон от связанного с ядрами отмывали дважды ТЕ-буфером (рН 6,8) и осадок переносили 1,5 мл этанола в сцинтилляционные флаконы. Радиоактивность в пробах просчитывали в жидкостно-сцинтилляционном счетчике SL-30 "Intertechnique". Количество связывающих мест в ядрах рассчитывали в фемтомолях на 1 мг ДНК, а содержание ДНК — по методу Burton [7].

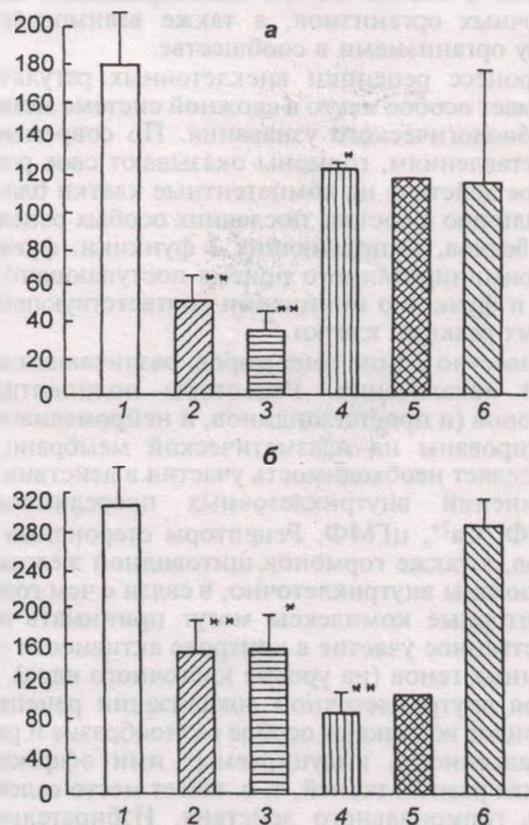
## Результаты и их обсуждение

Детальный анализ полученных нами данных свидетельствует о том, что концентрация ядерных рецепторов эстрадиола была максимальной в аденоматозных клетках пролактинсекретирующих опухолей гипофиза, составляя  $179,7 \pm 25,7$  фмоль/мг ДНК (см. рисунок, а), и превышала концентрацию рецепторов в менингиоме и астроцитоме в 3,7 и 5 раз соответственно. Достоверно была снижена и концентрация эстрадиолсвязывающих мест в невриноме, тогда как в клетках соматотропиномы число ядерных эстрадиолсвязывающих мест существенным образом не отличалось от концентрации рецепторов эстрадиола в клетках пролактинсекретирующих аденом гипофиза.

Аналогичная картина наблюдалась и в изменении концентрации ядерных тестостеронсвязывающих мест в анализируемых нами опухолях. Так, число ядерных рецепторов тестостерона в опухоле-

вых клетках, секретирующих пролактин и соматотропный гормон, было одинаково (см. рисунок, б), однако по сравнению с пролактинсекретирующими опухолями в менингиоме и астроцитоме число тестостеронсвязывающих мест было снижено в 2 раза, а в невриноме — в 3,7 раза.

Анализ полученных данных позволяет высказать предположение о том, что существует определенная связь между концентрациями рецепторов к эстрадиолу и тестостерону в тех опухолях гипофиза, клетки которых секретируют в избыточных количествах пролактин, т. е. в пролактиномах. Представляется, что нарушение рецепторного связывания в центральных нервных структурах, принимающих участие в регуляции гонадотропной функции гипофиза, а также пролактина, вызывает повреждение механизма обратной связи между гипоталамусом, гипофизом и гонадами. Это подтверждается клиническими симптомами: наличие пролактинемии сопровождается нарушением половой функции (у женщин в виде аменореи, галактореи и бесплодия, а у мужчин — снижения или отсутствия либидо, потенции и азоспермии). К настоящему времени уточнены некоторые вопросы этиологии, патогенеза, тактики обследования и лечения больных с гиперпролактинемией опухолевого генеза [1, 3—5], однако роль половых гормонов в патогенезе пролактинсекретирующих опухолей остается не до конца выясненной. Две конкурирующие между собой теории, одна из которых поддерживает ведущую роль нарушенного гипоталамического кон-



Концентрация ядерных рецепторов эстрадиола (а) и тестостерона (б) в опухолевых тканях.

По осям абсцисс — структура опухолевой ткани; по осям ординат — концентрация ядерных рецепторов (в фмоль/мг ДНК). 1 — пролактинсекретирующая аденома гипофиза (n = 17); 2 — менингиома (n = 9); 3 — астроцитомы (n = 3); 4 — невринома (n = 3); 5 — секрет эпидимомы (n = 1); 6 — соматотропинома (n = 2).

\* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,001$  по сравнению с 1.

троля, другая — наличие первичного дефекта гипофизарных клеток на генетическом уровне, рассматриваются сегодня как 2 последовательных этапа образования аденом гипофиза, т. е. этот процесс может быть разделен на 2 фазы. Первая фаза включает в себя появление в клетках гипофиза спонтанных или индуцированных мутаций, во второй фазе имеет место влияние эндогенных и экзогенных активирующих факторов, одним из которых является различная степень связывания рецептора с половыми гормонами, что способствует росту опухоли. Известно, что эстрогены являются важными регуляторами секреции пролактина из гипофиза: их введение вызывает увеличение уровня пролактина в крови [8, 9]. Этот стимулирующий эффект эстрогенов отмечают и в условиях *in vitro* в эксплантах гипофиза [13], в опухолевых клетках аденогипофиза [11] и первичной культуре аденогипофиза интактных крыс [16]. Во время менструального цикла у женщин уровень пролактина меняется синхронно уровню эстрогенов с пиком обоих гормонов в середине цикла [3]. Показано, что длительное введение больших доз эстрогенов может вызывать развитие пролактинсекретирующих опухолей гипофиза как у крыс, так и у людей [10, 15]. Известно, что эстрогены стимулируют пролиферацию лактотрофов и вызывают развитие пролактинпродуцирующих опухолей гипофиза у некоторых инбредных линий крыс [15].

Эти данные указывают на то, что эстрогены у людей, как и у крыс, являются стимуляторами или модуляторами секреции пролактина, однако место и механизм действия эстрогенов в пролактинсекретирующих клетках не известны. Еще менее известна роль андрогенов в регуляции секреции пролактина. У кастрированных крыс обоего пола введение тестостерона увеличивало уровень пролактина в крови [12, 14]. Полученные нами данные о способности андрогенов специфически связываться с опухолевыми клетками и различающаяся концентрация рецепторов тестостерона в зависимости от структуры опухоли и ее локализации также подтверждают данные литературы. Более того, в перспективе можно предвидеть роль эндокринной терапии в диагностике и лечении различных пролактинсекретирующих опухолей гипофиза. В настоящее время фактор клинического применения половых гормонов в лечении пролактиномом остается неизученным, поэтому полученные нами данные о точке приложения половых гормонов, о механизме

их действия в этом процессе вносят определенный вклад в фундаментальную проблему такой нейроэндокринной патологии, какой являются пролактинсекретирующие опухоли гипофиза. Это тем более важно, когда клиницист знает исходный уровень половых гормонов на момент начала лечения пролактиномом с учетом пола больных, а также морфологического строения и степени дифференцировки опухоли.

## Выводы

1. Половые гормоны активно участвуют в механизме формирования опухолей аденогипофиза, в частности пролактиномом, за счет наличия в них специфических рецепторов.

2. Концентрация ядерных эстрогенных и андрогенных рецепторов значительно выше в пролактинсекретирующей аденоме гипофиза, чем в других исследованных опухолях.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Касумова С. Ю. Функциональная морфология аденом гипофиза: Дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1985.
2. Кедрова В. М., Орлова Л. В. // Современные методы в биохимии. — М., 1968. — С. 59—71.
3. Мельниченко Г. А. Гиперпролактинемический гипогонадизм (классификация, клиника, лечение): Дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1990.
4. Нейроэндокринология: Клинические очерки / Под ред. Е. И. Маровой. — М., 1999.
5. Спигирева Р. Я. Нейроэндокринные нарушения при аденомах гипофиза и их коррекция: Дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1987.
6. Anderson J. N., Clark J. H., Peck E. J. // *Biochem. J.* — 1972. — Vol. 126. — P. 561—567.
7. Burton K. // *Ibid.* — 1956. — Vol. 62. — P. 315—323.
8. De Lean A., Ferland L., Drouin J. et al. // *Endocrinology.* — 1977. — Vol. 100. — P. 1496—1504.
9. Frantz A. G., Kleinberg D. L., Noel G. L. // *Recent Prog Horm. Res.* — 1972. — Vol. 28. — P. 527—590.
10. Gooren L. J., Assies J., Asscheman H. et al. // *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* — 1988. — Vol. 66. — P. 440—446.
11. Haug E., Gautvit K. M. // *Endocrinology.* — 1976. — Vol. 99. — P. 1482—1499.
12. Kalra P. S., Fawcett C. P., Krulich L., McCann S. M. // *Ibid.* — 1973. — Vol. 92. — P. 1256—1268.
13. Nicoll C. S., Meites J. // *Ibid.* — 1962. — Vol. 70. — P. 272—276.
14. Shin S. H., Aiken R. B., Robets R., Howitt C. // *J. Endocrinol.* — 1974. — Vol. 63. — P. 257.
15. Spady T. J., McComb R. D., Shull J. D. // *The Endocrine Society. Program Abstracts.* — New Orleans, Louisiana, 1998. — P. 126.
16. West B., Dannies P. S. // *Endocrinology.* — 1980. — Vol. 106. — P. 1108—1113.

Поступила 27.01.2000

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ. 2000

УДК 547.962+591.147.1:599.323.4

Л. И. Надольник, Н. В. Емельянов, И. П. Пастер, В. В. Виноградов

## КОРТИКОСТЕРОИДСВЯЗЫВАЮЩИЙ ГЛОБУЛИН

### ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГИПОТИРЕОЗЕ У САМЦОВ И САМОК КРЫС

Лаборатория биохимии эндокринных желез (зав. — проф. В. В. Виноградов) Института биохимии (дир. — проф. Л. И. Нефедов) НАН Республики Беларусь, Гродно

Изучали основные параметры комплексообразования кортикогормонсвязывающего глобулина (КСГ) у самцов и самок крыс в условиях гипотиреоза после введения мерказолила в дозе 6 и 30 мг/кг в сутки; в эксперименте были использованы неполовозрелые животные.

Main parameters of complex formation of corticosteroid-binding globulin (CSG) were studied in young male and female rats with hypothyrosis induced by mercasolyl in a daily dose of 6 and 30 mg/kg. No pronounced differences in CSG, typical of adult