

Н. Д. Гончарова, Л. А. Мхитарова

ГОРМОНАЛЬНАЯ ФУНКЦИЯ КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ В УСЛОВИЯХ «МЕДИЦИНСКОЙ КАСТРАЦИИ», ИНДУЦИРОВАННОЙ ПРОЛОНГИРОВАННОЙ ИНФУЗИЕЙ АГОНИСТОВ ЛЮЛИБЕРИНА

Лаборатория экспериментальной эндокринологии (зав.— канд. мед. наук Г. В. Кацяя) НИИ экспериментальной патологии и терапии (дир.— акад. Б. А. Лапин), Сухуми

Все расширяющееся использование синтетических аналогов люлиберина (ЛГ-РГ) в клинике для индукции «медицинской кастрации» (рак предстательной, молочных желез, преждевременное половое созревание, эндометриоз и др.) требует всестороннего изучения влияния препаратов этого ряда на различные звенья эндокринной системы, в том числе на функцию адrenaловых желез, в условиях пролонгированной инфузии агонистов ЛГ-РГ. До настоящего времени сведения такого рода отсутствовали. В то же время у больных, перенесших гонадэктомию по поводу рака предстательной железы [11, 17, 18], а также у орхиэктомированных животных [12] наблюдалась активация стероидогенеза в надпочечниках, в том числе отмечалось повышение в периферической крови уровня адrenaловых андрогенов, которым отводится важная роль в реактивации опухолевого роста в предстательной железе после орхиэктомии.

В настоящей работе представлены результаты изучения функциональной активности адrenaловых желез в условиях продолжительной тонической инфузии агонистов ЛГ-РГ — бузерелина и сурфагона — в эксперименте на самцах павианов гамадрилах, близких человеку по различным аспектам репродуктивной эндокринологии, в том числе по характеру и механизму ингибирующего влияния аналогов ЛГ-РГ на функцию половых желез [8—10].

Материалы и методы

Использовали 16 половозрелых самцов павианов гамадрилов в возрасте 8—12 лет массой тела 18—27 кг, содержащихся в Сухумском приматологическом центре. До начала эксперимента животные адаптировались к условиям содержания в индивидуальных метаболических клетках и процедуре взятия крови. После контрольного периода (3—4 нед) павианам в течение 4—6 или 12—16 нед с помощью осмотических мини-насосов (Alza Corp., Palo Alto, США) вводили раствор бузерелина (Hoechts A. G., ФРГ) или сурфагона (лаборатория синтеза пептидов ВКНЦ РАМН) в дозе 3 мкг на 1 кг массы тела в сутки.

В течение эксперимента у обезьян систематически брали кровь: 1—2 раза в неделю в контрольный период и на фоне инфузии агонистов, 1—2 раза в 2 нед в течение 2—4 мес восстановительного периода. Кровь брали в 10 ч 30 мин—11 ч 30 мин из локтевой вены с использованием гепарина в качестве антикоагулянта. Плазму хранили при -20°C до проведения гормонального анализа.

В контрольный период и через 11 нед инфузии сурфагона 3 животным вводили раствор инсулина (внутривенно, 0,2 ЕД на 1 кг массы тела). Кровь брали до инъекции инсулина и через 15 мин, 0,5, 1, 2, 4, 6 и 24 ч после нее.

В плазме определяли уровень следующих стероидов: кортизола (F), кортикостерона (B), альдостерона (Ald), 11-десоксикортизола (S_R), прегненолона ($\Delta^3\text{-P}$), 17-оксипрегненолона (17-ОН- $\Delta^5\text{-P}$), 17-оксипрогестерона (17-ОН- $\Delta^4\text{-P}$), дегидроэпиандростерона (ДЭА), дегидроэпиандростерона сульфата (ДЭА-С) и тестостерона (Т). Уровень F определяли методом конкурентного связывания [14], уровень B, Ald, S_R и Т — радиоиммунологическим с использованием диагности-

ческих систем, разработанных в лаборатории экспериментальной эндокринологии [4—6], уровень $\Delta^5\text{-P}$, 17-ОН- $\Delta^5\text{-P}$, 17-ОН- $\Delta^4\text{-P}$, ДЭА — радиоиммунологическими методами с использованием предварительной хроматографии на колонках с целитом [2].

Для оценки характера специфического транспорта кортикостероидов в периферической крови в условиях продолжительного введения агонистов ЛГ-РГ на протяжении эксперимента в плазме обезьян определяли содержание транскорттина и его сродство к кортизолу. Уровень транскорттина оценивали по максимальной кортизолсвязывающей способности плазмы в условиях ее насыщения, как это было описано ранее [7].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием корреляционного анализа и метода Стьюдента. Площадь ответа со стороны кортикостероидов на введение инсулина оценивали с привлечением метода интегрирования по формуле площади трапеций [1].

Результаты и их обсуждение

Динамику уровня основных кортикостероидов в плазме периферической крови у обезьян в процессе продолжительного введения агонистов ЛГ-РГ, а также в восстановительный период иллюстрирует рис. 1. Следует отметить, что динамика уровня всех кортикостероидов у животных, которым вводили агонисты в течение 4—6 нед, была аналогичной динамике тех же соединений у обезьян с более продолжительным введением (12—16 нед) препаратов, в связи с чем на рисунках и в таблицах приведены значения кортикостероидов только для павианов, которым вводили агонисты ЛГ-РГ в

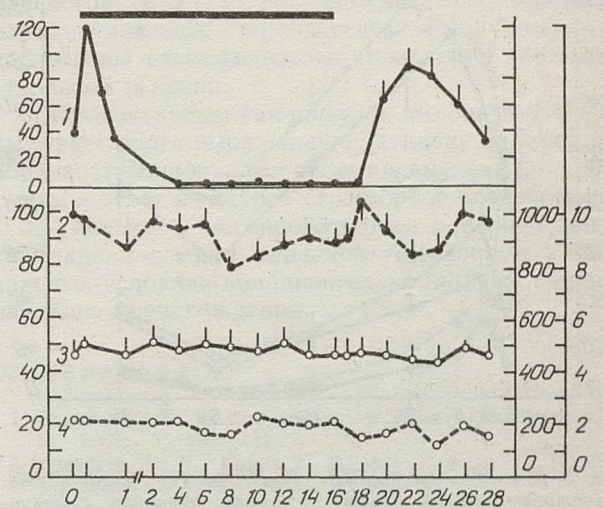


Рис. 1. Динамика уровня Т (1), F (2), B (3) и Ald (4) в плазме периферической крови у самцов павианов гамадрилов, подвергнутых пролонгированной инфузии агонистов ЛГ-РГ ($M \pm m$).

По оси ординат — концентрация гормонов (в нмоль/л): слева — шкала для Т (вверху) и В (внизу), справа — для F (от 0 до 1000) и Ald (от 0 до 10). По оси абсцисс — продолжительность эксперимента (в нед). Жирная полоса иллюстрирует продолжительность введения агонистов ЛГ-РГ.

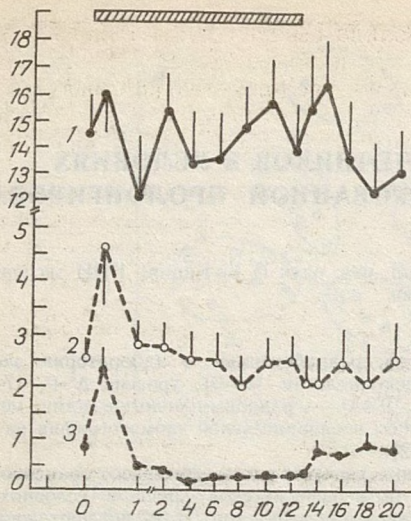


Рис. 2. Динамика уровня 17-ОН- Δ^5 -P (1), Δ^5 -P (2) и 17-ОН- Δ^4 -P (3) в плазме периферической крови у самцов павианов гамадрилов, подвергнутых пролонгированной инфузии агонистов ЛГ-РГ ($M \pm m$).

По оси ординат — концентрация гормонов (в нмоль/л); по оси абсцисс — продолжительность эксперимента (в нед). Заштриховано — продолжительность введения агонистов ЛГ-РГ.

течение 12—16 нед. Как видно на рис. 1, содержание Ald, а также глюкокортикоидных гормонов на протяжении эксперимента существенно не изменялось. Следует лишь отметить некоторое снижение (в среднем на 10—20%) уровня F приблизительно через 2 мес после начала введения агонистов.

Содержание большинства предшественников в цепи биосинтеза кортикостероидных гормонов (Δ^5 -P, 17-ОН- Δ^5 -P), так же как и самих гормонов, не претерпевало существенных изменений в течение периода введения препаратов и после их отмены (рис. 2). Следует лишь отметить тенденцию

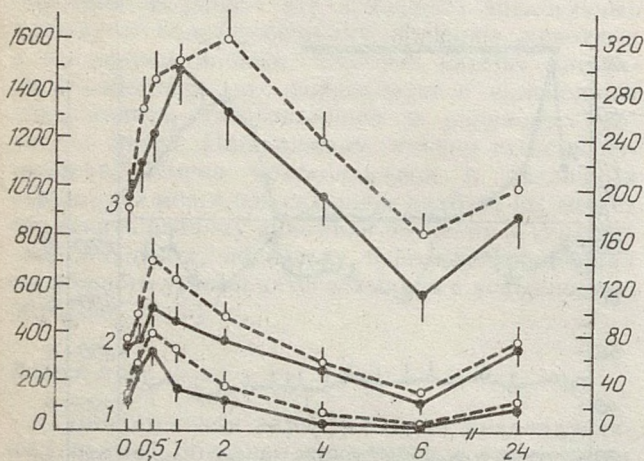


Рис. 3. Динамика уровня ДЭА (1), ДЭА-С (2) и F (3) в плазме периферической крови у самцов павианов гамадрилов ($n=3$) в ответ на инъекцию инсулина (0,2 ЕД на 1 кг массы тела) в контрольный период (сплошные кривые) и на фоне «медицинской кастрации», индуцированной пролонгированной (11 нед) инфузией сурфагона (пунктирные кривые; $M \pm m$).

По оси ординат — концентрация гормонов (в нмоль/л): слева — шкала для F и ДЭА-С, справа — для ДЭА; по оси абсцисс — время забора крови: 0 — до введения инсулина, 0,5, 1, 2, 4, 6 и 24 ч — время от начала введения инсулина.

к снижению уровня S_R в условиях гипоандрогенемии, а также увеличение уровня Δ^5 -P в 1-ю неделю введения агонистов. Изменение уровня S_R при этом коррелировало с динамикой уровня F ($r=0,956$), а Δ^5 -P — с изменениями концентрации T ($r=0,98$).

Незначительное снижение уровня F и S_R при отсутствии изменений в содержании Δ^5 -P и 17-ОН- Δ^5 -P в процессе продолжительного введения агонистов ЛГ-РГ свидетельствует скорее об адаптации обезьян к систематически повторяющейся процедуре взятия крови и устранении в связи с этим элемента стресс-реакции коры надпочечников, очевидно, присутствующего на начальных этапах эксперимента, нежели об ослаблении функциональной активности адrenaловых желез. Увеличение концентрации Δ^5 -P в первые дни после введения агониста, по-видимому, отражает увеличение семенникового вклада в формирование пула Δ^5 -P периферической крови.

В отличие от других кортикостероидов содержание 17-ОН- Δ^4 -P (см. рис. 2), одного из основных предшественников в цепи биосинтеза всех стероидов гормонов, содержание которого в периферической крови у павианов связывали главным образом с надпочечниковым происхождением [3], в процессе пролонгированного введения агонистов ЛГ-РГ претерпело выраженные изменения, коррелирующие с изменением уровня семенниковых андрогенов. Резкое увеличение концентрации 17-ОН- Δ^4 -P в 1-ю неделю введения агонистов сменялось в дальнейшем понижением уровня стероида (в 2—2,5 раза по сравнению с базальными значениями), которое сохранялось на протяжении всего последующего периода введения агонистов и 1-й недели после их отмены. Сходная динамика уровня 17-ОН- Δ^4 -P и T в процессе длительного введения аналогов ЛГ-РГ свидетельствует о существенной роли половых желез в формировании пула 17-ОН- Δ^4 -P периферической крови у самцов павианов гамадрилов.

Уровень ДЭА и ДЭА-С, характеризующих андрогенную фракцию кортикостероидов, подобно другим кортикостероидам, не претерпел существенных изменений в процессе продолжительной инфузии агонистов ЛГ-РГ (табл. 1). Однако следует обратить внимание на тенденцию к повышению (в среднем на 20%) уровня ДЭА-С обезьян приблизительно через 2,5 мес постоянной инфузии агонистов. При этом практически у всех животных не наблюдалось значений ДЭА-С, превышающих индивидуальные колебания концентрации этого гормона в контрольный период, однако вероятность обнаружения значений, соответствующих верхнему пределу нормальных колебаний, была выше.

Процесс специфического транспорта кортикостероидов также практически не изменялся в условиях продолжительного введения агонистов ЛГ-РГ, о чем свидетельствует отсутствие изменений как в максимальной связывающей способности транскортина, так и в константе ассоциации комплекса транскортина — F (табл. 2).

Отсутствие статистически значимого повышения уровня кортикостероидов, а также изменений в характере специфического транспорта адrenaл-кортикальных гормонов у обезьян на фоне подавления тестикулярного стероидогенеза, индуциро-

Таблица 1

Динамика уровня ДЭА и ДЭА-С в плазме периферической крови у самцов павианов гамадрилов в процессе пролонгированной инфузии агонистов ЛГ-РГ ($M \pm m$, $n=8$)

Продолжительность эксперимента, нед	Концентрация стероидов, нмоль/л	
	ДЭА	ДЭА-С
До введения агонистов	23,9±1,7	299±29
1—3 сут	28,8±2,7	367±81
1 нед	19,1±2,1	289±40
2	20,1±2,4	240±32
4	25,3±2,4	235±32
6	25,6±3,8	289±24
8	27,8±4,0	230±40
10	26,0±4,8	364±45
12	20,1±3,4	353±51
14	20,9±5,0	356±41
Восстановление:		
1	25,6±5,4	353±59
2	20,1±3,5	—
4	20,0±3,1	359±40
6	23,9±3,4	256±22
10	—	302±32
12	—	289±43

ванного пролонгированной инфузией агонистов ЛГ-РГ, вряд ли можно рассматривать только как специфическую особенность функционирования коры надпочечников в условиях «медицинской кастрации». В частности, не было обнаружено изменений со стороны адреналовой секреции и некоторыми авторами [14, 16] у лиц, перенесших орхизэктомию. А в исследованиях Т. Cowley и соавт. [12] наряду с отсутствием изменений в уровне кортикостероидов через продолжительное время после операции отмечалось повышение концентрации F и адреналовых андрогенов в ранний послеоперационный период. Не исключено, что в работах, в которых наблюдалось повышение адреналовой секреции после орхизэктомии [11, 13, 17, 18], мог присутствовать фактор стресса, в значительной степени модифицирующий характер адреналовой секреции. С другой стороны, выявленную в настоящей работе тенденцию к повышению уровня ДЭА-С через 2,5—3 мес введения агонистов можно рассматривать и как свидетельство индуцирования тонких изменений в характере кортикостероидной функции, которые более выраженный характер могли бы принять через более продолжительный период введения аналогов ЛГ-РГ или в условиях экстремальных состояний.

Стрессорное воздействие на обезьян введением стандартной дозы инсулина (0,2 ЕД на 1 кг массы

тела) позволило выявить существенные различия в реакции адреналовых желез в базальных условиях и на фоне продолжительной инфузии агонистов ЛГ-РГ. Как видно на рис. 3, у животных, подвергнутых пролонгированному введению сурфагона, отмечалось более выраженное и продолжительное увеличение уровня F и адреналовых андрогенов в ответ на инъекцию инсулина по сравнению с реакцией на стрессорное воздействие в контрольный период. При этом площадь ответа со стороны F, ДЭА-С и ДЭА за 4-часовой период на фоне «медицинской кастрации» соответственно в 1,9, 1,7 и 1,2 раза превышала аналогичный показатель в базальных условиях. В основе механизма различий в реакции коры надпочечников на острое стрессорное воздействие лежат, очевидно, нарушения в центральном звене регуляции адренокортикальной функции, возможно, на уровне регуляции активности адренорецепторов, которые отводят важную роль в механизме повышения секреции кортиколиберина, АКТГ и соответственно кортикостероидов в условиях инсулинизированной гипогликемии [19].

Таким образом, анализ полученных данных свидетельствует о том, что продолжительное введение агонистов ЛГ-РГ наряду с угнетением семенникового стероидогенеза не оказывает существенного влияния на гормональную функцию коры надпочечников в отсутствие экстремальных состояний. Однако острое стрессорное воздействие на фоне «медицинской кастрации» индуцирует более выраженную активацию секреции кортикостероидов, в том числе адреналовых андрогенов, что может рассматриваться как неблагоприятный фактор при использовании агонистов ЛГ-РГ для подавления опухолевого процесса в предстательной железе.

Выводы

1. Подавление семенникового стероидогенеза в результате 3—4-месячной тонической инфузии агонистов ЛГ-РГ не сопровождается активацией надпочечникового стероидогенеза и нарушениями со стороны специфического транспорта кортикостероидов в крови.

2. Пролонгированная инфузия агонистов ЛГ-РГ вызывает более выраженную активацию секреции кортикостероидов, в том числе адреналовых андрогенов, в ответ на острое стрессорное воздействие.

3. Уровень 17-оксипрогестерона в периферической крови самцов павианов гамадрилов в базальных условиях приблизительно на 50 % семенникового происхождения.

Таблица 2

Динамика связывающей способности транскортина и константы ассоциации комплекса транскортина — F у павианов гамадрилов, подвергнутых пролонгированной инфузии агонистов ЛГ-РГ ($M \pm m$, $n=8$)

Продолжительность эксперимента, мес	Связывающая способность транскортина, нмоль/л	Константа ассоциации $\cdot 10^8$ л/моль
До введения агонистов	565±26	2,1±0,1
1	552±49	1,9±0,1
2	563±37	1,9±0,1
3	567±32	2,1±0,2

ЛИТЕРАТУРА

1. Выгодский М. Я. Справочник по высшей математике. — М., 1962. — С. 480—481.
2. Гончаров Н. П., Кацня Г. В., Асо Т. и др. // Пробл. эндокринологии. — 1978. — № 1. — С. 98—102.
3. Гончаров Н. П., Чекан С., Антоничев А. В. и др. // Вопр. мед. химии. — 1979. — № 1. — С. 92—97.
4. Набор реактивов для радиоиммунологического определения тестостерона в плазме крови. ТУ 42-17—86 / Гончаров Н. П., Кацня Г. В., Гончарова Н. Д. и др. — М., 1986.
5. Набор реактивов для радиоиммунологического определения кортикостерона в плазме крови. ТУ 42-19—86 / Гончаров Н. П., Кацня Г. В., Бутнев В. Ю. и др. — М., 1986.
6. Набор реактивов для радиоиммунологического определения 11-дезоксикортизола в плазме крови. ТУ 42-16—86 /

Гончаров Н. П., Каця Г. В., Гончарова Н. Д. и др.— М., 1986.

- Гончарова Н. Д., Гончаров Н. П., Лебедев В. Н. // Бюл. exper. биол.— 1986.— № 3.— С. 344—346.
- Гончарова Н. Д., Гончаров Н. П. // Пробл. эндокринологии.— 1989.— № 2.— С. 62—67.
- Гончарова Н. Д., Гончаров Н. П. // Там же.— № 5.— С. 68—72.
- Гончарова Н. Д., Мхитарова Л. А., Гоголадзе Э. М. // Там же.— 1991.— № 3.— С. 45.
- Beach P. D. // Cancer of the Genitourinary Tract / Eds E. Johnson, M. L. Semuels.— New York, 1979.— P. 273.
- Cowley T. H., Brownsey B. G., Harper M. E. et al. // Acta endocr. (Kbh.).— 1976.— Vol. 81.— P. 310—315.
- Katsiya G. V. // Symposium on Biochemical Aspects of Steroid Research, 4-th.— Holzhau / Erzgebirge, 1988.— P. 15.
- Lukkarinen O., Hammond G. L., Kontturi M., Vihko R. // Invest. Urol.— 1980.— Vol. 17.— P. 328.
- Nugent C. A., Mayes D. M. // J. clin. Endocr.— 1966.— Vol. 26.— P. 1116—1122.
- Parker L., Lai M., Wolk F. et al. // Ibid.— 1984.— Vol. 59.— P. 547—550.
- Reynoso G., Murphy G. P. // Cancer (Philad.).— 1972.— Vol. 29.— P. 941—949.
- Sciarra F., Sorcini G., Di Silverio F., Gagliardi V. // Clin. Endocr. (Oxf.).— 1973.— Vol. 2.— P. 101.
- Tomori N., Suda T., Nakagami Y. et al. // J. clin. Endocr.— 1989.— Vol. 68.— P. 87—93.

Поступила 25.02.92

© С. В. ШИРШЕВ, Н. Н. КЕВОРКОВ, 1993

УДК 612.411.014.2.017.1.06:577.175.327]-08

С. В. Ширшев, Н. Н. Кеворков

ЗАВИСИМОСТЬ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИХ ЭФФЕКТОВ ХОРИОНИЧЕСКОГО ГОНАДОТРОПИНА ОТ ИСХОДНОЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ СПЛЕНОЦИТОВ, РЕАЛИЗУЮЩИХ АДОПТИВНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ

Кафедра иммунологии (зав.— доц. Н. Н. Кеворков) Пермского медицинского института

В настоящее время имеется значительный экспериментальный и клинический материал, свидетельствующий как о нейроэндокринном контроле функции лимфоидной ткани, так и об обратной связи в этой регуляции через медиаторы иммунокомпетентных клеток. Показано наличие специфических гормональных рецепторов на лимфоидных и макрофагальных клетках [6, 9], равно как и их способность продуцировать белково-пептидные гормоны [8, 10]. Установлено, что интерлейкины (ИЛ) могут регулировать функциональную активность желез внутренней секреции [14, 16]. С этих позиций хорионический гонадотропин (ХГ) представляет значительный интерес, поскольку его синтез ассоциирован не только с беременностью и опухолевым ростом [3], но и с процессами антигензависимой дифференцировки лимфоцитов [10]. Это во многом определяет процессы сосуществования двух генетически чужеродных организмов в период физиологически протекающей беременности и, вероятно, способствует «ускользанию» неопластических клеток от иммунной системы хозяина.

Целью работы было изучение влияния физиологических доз ХГ на способность интактных и активированных клеток селезенки формировать первичный иммунный ответ и участие в этом эндогенных простагландинов (ПГ).

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на мышах-самках линии СВА и гибридах (СВА×С57BL/6)F₁. ХГ («Profasi», Италия) в дозах

N. D. Goncharova, L. A. Mkhitarova — HORMONAL FUNCTION OF THE ADRENAL CORTEX IN «MEDICAL CASTRATION» INDUCED BY PROLONGED INFUSION OF LH RELEASING FACTOR AGONISTS

Summary. Time course of the major corticosteroid hormones and the precursors in the biosynthesis chain was studied, as was the type of corticosteroid complex formation with transcortin in the peripheral blood plasma in male papua hamadryas exposed to a 4-16 week infusions of LH releasing factor agonists (busereline, Hoechst A. G., Germany, and surfagon, Cardiology Research Center of the Russian Academy of Medical Sciences) with the use of osmotic mini-pumps (Alza Corp., Palo Alto, USA). Suppression of the gonadal function resultant from prolonged infusion of LH releasing factor agonists was not associated with essential shifts in the adrenal steroidogenesis and in the specific corticosteroid transport. Such exposure induced a somewhat more marked activation of glucocorticoid and adrenal androgen secretion in response to acute stressor exposure (a single injection of insulin in a dose of 0.2 U/kg b. m.). One should bear in mind this fact when prescribing therapy with LH releasing factor agonists to patients with prostatic carcinoma, for the adrenal androgens are transformed into active androgens in the prostatic tissue.

10 или 50 МЕ/мл, соответствующих его уровню во II, III и I триместрах беременности [17], вносили в макрокультуру спленоцитов мышей. Клетки селезенки ($2 \cdot 10^7$) культивировали в 4 мл питательной среды 199 в течение 60 мин при 37 °С, после чего их концентрировали ($2 \cdot 10^7/0,5$ мл) центрифугированием. Затем клетки совместно с антигеном — эритроциты барана ($2 \cdot 10^8$) переносили внутривенно сингенным, летально облученным (219,3 мКл/кг) реципиентам. О результате судили по количеству антителообразующих клеток (АОК), формирующихся в селезенках реципиентов на 4—5-е сутки, методом локального гемолиза в геле агарозы по Эрне [11].

В специальных опытах в культуру спленоцитов совместно с ХГ или без него добавляли Т-лимфоцитактивирующие агенты, такие, как конканавалин А (КонА) («Calbiochem») в дозе 5 мкг/мл и рекомбинантный ИЛ-2 человека («Диагностикум») в дозе 37 МЕ/мл, а также ингибитор циклооксигеназы — диклофенак натрия (вольтарен ПЛИВА, Загреб, Югославия, СИБА—ГЕЙГИ) в дозе 0,015 мг/мл [13].

Таблица 1

Влияние ХГ на способность интактных спленоцитов формировать АОК. Зависимость процесса от активности циклооксигеназы

Группа	Экспериментальное воздействие	Ig числа АОК на $2 \cdot 10^7$ клеток (в скобках абс. число АОК)
1 (n=40)	Контроль	$3,237 \pm 0,033$ (1926,5)
2 (n=8)	ХГ, 10 МЕ/мл	$2,893 \pm 0,103$ (947,5) $p_{2-1} < 0,002$
3 (n=12)	ХГ, 50 МЕ/мл	$2,949 \pm 0,047$ (950,0) $p_{3-1} < 0,001$; $p_{3-2} > 0,05$
4 (n=11)	Вольтарен (0,015 мг/мл)	$2,859 \pm 0,079$ (865,4) $p_{4-1} < 0,001$
5 (n=10)	Вольтарен+ХГ (10 МЕ/мл)	$3,232 \pm 0,036$ (1764,0) $p_{5-1} > 0,05$; $p_{5-2} < 0,01$ $p_{5-3} < 0,01$
6 (n=10)	Вольтарен+ХГ (50 МЕ/мл)	$2,684 \pm 0,109$ (652,0) $p_{6-1} < 0,001$; $p_{6-3} < 0,05$; $p_{6-4} > 0,05$; $p_{6-5} < 0,02$