

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1993

УДК 612.629.018.08

Е. В. Секретарева, Ф. И. Промина, Н. И. Флерова

## ГОРМОНАЛЬНАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ МАТКИ КРЫС ПОСЛЕ ЕЕ ХИМИЧЕСКОЙ ДЕСИМПАТИЗАЦИИ

Лаборатория физиологии и патологии эндокринной системы (зав.— проф. В. Г. Шаляпина) Института физиологии им. И. П. Павлова (дир.— акад. РАН В. А. Говырин) РАН, Санкт-Петербург

В настоящее время не существует убедительных данных, свидетельствующих о существенной роли женских половых стероидов в генезе роста узлов при фибромиоме матки у женщин, так как во многих случаях при этом заболевании гормональный статус сохраняется неизменным [6]. Не удается объяснить данный феномен и повышением концентрации рецепторов эстрадиола ( $E_2$ ) в фиброматозных узлах, которая могла бы обеспечить возрастание чувствительности к этому гормону, стимулирующему ростовые процессы в матке [2, 4, 6]. Ранее мы обнаружили повышенное содержание рецепторов лишь в тех узлах, которые состоят преимущественно из миоцитов (миомы). В узлах, состоящих в основном из соединительнотканых элементов (фибромы), концентрация рецепторов  $E_2$  оказалась, наоборот, сниженной [2]. Можно думать, что повышение чувствительности клеток фибромиомы к эстрогенам связано с прогрессирующей денервацией растущего узла [5]. Настоящее исследование предпринято с целью проверки этой гипотезы, учитывая то обстоятельство, что вопрос о взаимодействии катехоламинов (КА) и половых стероидов на уровне органов-мишеней до настоящего времени сравнительно мало изучен.

В качестве объекта исследования служила матка, которая, как известно, является мишенью для половых стероидов —  $E_2$  и прогестерона (П). Десимпатизацию матки проводили путем внутриматочного введения симпатолитика изобарина (гуанетидина), который, по данным литературы, резко снижает содержание КА в адренергических нервных окончаниях и клетках ганглиев [3, 8]. Для устранения эндогенного гормонального фона у крыс удаляли яичники за месяц до начала опытов. В качестве морфологических критериев действия  $E_2$  и П на матку использовали число желез миометрия, высоту люминального эпителия и объем ядер миоцитов. Эти параметры сравнивали с показателями рецепции  $E_2$  и П в цитозольной и ядерно-миофибриллярной фракциях матки.

### Материалы и методы

Использовали взрослых беспородных самок крыс. Двустороннюю овариэктомию производили под эфирным наркозом. Изобарин вводили ненаркотизированным крысам через цервикальный канал с помощью притупленной иглы от шприца «Рекорд». Цервикальный канал расширяли мандреном. Препарат вводили трижды в дозе 17 мг в 0,08 мл HCl, нейтрализованной карбонатом натрия. Первое введение осу-

ществляли спустя месяц после овариэктомии, второе — на следующий день, третье — через неделю после второго введения. Животных забивали через 2 нед после последнего введения изобарина.

Гормоны вводили внутримышечно в течение 10 дней, начиная сразу после окончания введения изобарина и заканчивая за 24 ч до забоя. Масляный 0,1 % раствор динрионата  $E_2$  вводили в дозе 1 мкг/животное, а 1 % масляный раствор П — в дозе 1 мг/животное.

После декапитации животных матки извлекали, промыли в физиологическом растворе и гомогенизировали на холоду в 10 объемах ТЭМД-буфера (трис-HCl — 5 мМ, ЭДТА — 1 мМ,  $NaMoO_4$  — 10 мМ, дитиотреитол — 5 мМ). Изучение рецепции проводили по методике, подробно описанной в наших предыдущих работах [1, 6, 7]. Белок определяли по методу Брэдфорд.

Концентрацию норадреналина в матке определяли радиоферментным методом с помощью стандартного набора «КАТЕХОЛА» фирмы «ХЕМОПОЛ» (ЧСФР), согласно инструкции, приложенной к набору.

Для приготовления гистологических препаратов кусочки матки фиксировали в формалине, проводили через спирты по обычной схеме, заливали в парафин и готовили микротомные срезы толщиной 4—5 мкм. Окрашивали гематоксилином и эозином и по методу Ван-Гизона. Высоту люминального эпителия определяли с помощью окуляр-микрометра на поперечных срезах матки. Объем ядер миоцитов циркуляторного слоя миометрия определяли посредством окуляр-микрометра, измеряя продольный ( $l_1$ ) и поперечный ( $l_2$ ) диаметры ядер при увеличении 1:900, и вычисляли их объем по формуле для эллиптического тела вращения:  $V =$

$$= \frac{\pi \cdot l_1 \cdot l_2^2}{6}$$

Данные обрабатывали статистически, используя критерий Фишера — Стьюдента и непараметрические методы.

### Результаты и их обсуждение

Внутриматочное введение изобарина овариэктормированным животным приводило к снижению содержания норадреналина в этом органе в среднем на 40 % (от  $253,6 \pm 63,7$  до  $151,5 \pm 46,8$  нг/г). Масса матки при этом не изменялась.

Из таблицы видно, что само по себе введение изобарина не сказывается на изученных нами морфологических показателях. Однако хроническое введение  $E_2$  на фоне химической десимпатизации в значительно меньшей степени увеличивает высоту люминального эпителия и объем ядер миоцитов, чем у соответствующей контрольной группы животных. Общее число желез эндометрия у крыс под действием  $E_2$  возрастало примерно в равной мере независимо от введения изобарина.

Действие хронического введения П на фоне введения изобарина также проявлялось в гораздо меньшей степени в отношении высоты люминального эпителия и числа желез эндометрия, но не объема ядер миоцитов (см. таблицу).

Группа животных	Число желез эндометрия на поперечный срез	Высота люминального эпителия, мкм	Объем ядер миоцитов, мкм <sup>3</sup>
1. ОЭ, 2 нед — 2 мес после операции (n=50)	11,7±0,6	9,9±0,2	37,1±1,6
2. ОЭ+Э <sub>2</sub> (n=40)	21,5±0,6*	43,5±0,9*	146,4±5,5*
3. ОЭ+П (n=40)	17,8±0,4*	17,6±0,5*	46,9±2,1*
4. ОЭ+изобарин (n=40)	12,3±0,5	9,2±0,2	36,9±1,5
5. ОЭ+изобарин+Э <sub>2</sub> (n=40)	25,5±0,7***	24,3±1,1***	110,2±5,1***
6. ОЭ+изобарин+П (n=30)	14±0,7**	11,4±0,6	51,5±3,6
7. Контроль+физиологический раствор (n=30)	27,8±0,7*	16,0±0,5*	114,1±3,1*

Примечание. Звездочками отмечены достоверные ( $p < 0,001$ ) отличия от показателей 1-й группы (одна звездочка), 3-й группы (две звездочки), 4-й группы (три звездочки).

Таким образом, можно считать, что ослабление симпатического влияния на матку приводит к значительному снижению чувствительности этого органа к Э<sub>2</sub> и П, судя по морфологическим критериям.

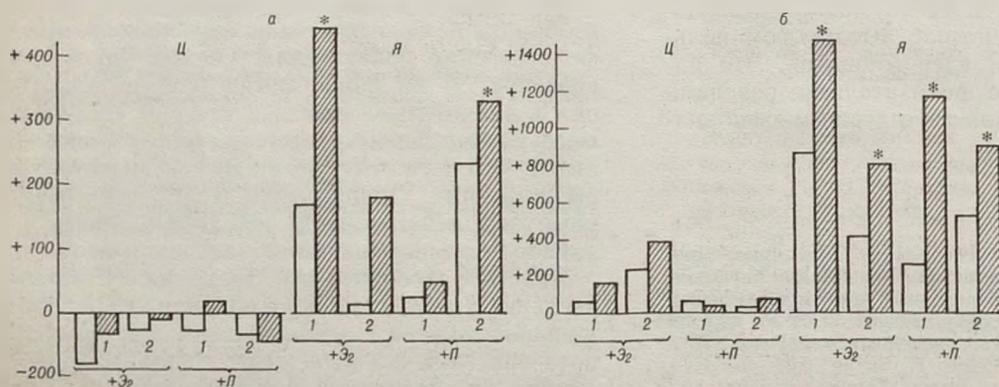
Введение изобарина не сказывается на уровне рецепторов половых гормонов ни в ядерной, ни в цитозольной фракциях. Так, у овариэктомированных крыс уровень рецепторов Э<sub>2</sub> (в нмоль на матку) в цитозоле составил  $1,86 \pm 0,81$ , на фоне введения изобарина —  $2,16 \pm 0,13$ , а в ядрах — соответственно  $0,26 \pm 0,13$  и  $0,13 \pm 0,04$ . Общее содержание рецепторов П в цитозоле матки этих животных составило  $0,62 \pm 0,09$ , при введении изобарина —  $0,76 \pm 0,08$ , а в ядрах — соответственно  $0,08 \pm 0,05$  и  $0,12 \pm 0,04$ . Все эти изменения не были статистически достоверными.

На рисунке представлены данные об изменениях уровня рецепторов женских половых стероидов в матке овариэктомированных крыс с химической десимпатизацией под влиянием введения Э<sub>2</sub> и П. Концентрация ядерных рецепторов Э<sub>2</sub> и П под влиянием половых гормонов у десимпатизированных самок крыс возрастала в гораздо большей степени, чем у соответствующих контрольных животных (см. рисунок, а). Эти различия проявлялись еще ярче при оценке общего содержания рецепторов в матке с учетом массы органа и содержания в нем растворимого белка (см. рисунок, б). Причем у десимпатизированных животных при хроническом введении Э<sub>2</sub> и П возрастало содержание не только гомологичных, но и гетерологичных рецепторов в ядерной фракции, в то вре-

мя как в цитозольной фракции достоверных отличий не наблюдалось.

Учитывая выявленное снижение чувствительности тканей матки к экзогенным Э<sub>2</sub> и П по морфологическим параметрам, эти изменения мы склонны трактовать как нарушения рецепции данных гормонов, вызванные снижением уровня КА в матке.

В литературе имеются многочисленные данные о том, что синтетические аналоги Э<sub>2</sub>, такие как кломифен, тамоксифен и т. п., вызывают значительное повышение концентрации ядерных рецепторов Э<sub>2</sub>, но не имитируют его специфических биологических эффектов в матке [11, 12]. Сходную картину мы обнаружили и в наших экспериментах. Возможно, что в основе антиэстрогенного действия синтетических антиэстрогенов и выявленных нами нарушений чувствительности к половым гормонам у самок крыс с химической десимпатизацией матки лежат одни и те же механизмы, а именно — нарушения рецепторного цикла. Как известно, восстановление рецепторов половых стероидов после отщепления от них связанного гормона в форму, способную вновь присоединять соответствующий гормон, так называемый рециклинг рецепторов, является очень сложным процессом. Он осуществляется с помощью специфических ферментов и требует энергии АТФ, а также зависит от концентрации цАМФ и ионов молибдата [9, 10]. Возможно, что цАМФ, концентрация которого возрастает при действии КА на клетки матки, участвует также в рециклинге рецепторов Э<sub>2</sub> и П, а вызванное изобарином снижение концентрации КА приводит к снижению уровня цАМФ, что в свою очередь



Изменение содержания рецепторов Э<sub>2</sub> (1) и П (2) (в фмоль на 1 мг белка — а и нмоль на матку — б) в цитозольной (Ц) и ядерной (Я) фракциях матки овариэктомированных крыс с химической десимпатизацией матки при хроническом введении одноименных гормонов.

По вертикали — изменение концентрации рецепторов (в % от контроля). Светлые прямоугольники — овариэктомированные крысы, заштрихованные — овариэктомированные крысы с введением изобарина. Звездочка различия между показателями контрольных и десимпатизированных животных статистически достоверны.

приводит к блокированию перехода рецепторов стероидных гормонов из ядра в цитоплазму для связывания новой порции гормона и в результате — к снижению чувствительности матки к соответствующим гормонам. Эта гипотеза хорошо объясняет странный на первый взгляд факт — повышение общего количества рецепторов  $\text{E}_2$  в ядрах при введении П и общего количества ядерных рецепторов П при введении  $\text{E}_2$  десимпатизированным крысам.

Однако предложенный механизм взаимосвязи КА и рецепторов женских половых стероидов в матке является чисто гипотетическим. Полученные нами данные не позволяют исключить и другие возможные механизмы, не связанные с рецепторным циклом.

В целом представленные данные свидетельствуют о том, что КА и женские половые стероиды являются синергистами в действии на клетки матки и что КА необходимы для нормального функционирования ее рецепторного аппарата.

Таким образом, исходная гипотеза о причинах роста фиброматозных узлов, основанная на факте отсутствия в них норадренергических нервных окончаний [5, 8], представленными экспериментальными данными не подтвердилась, и вопрос о причинах роста фиброматозных узлов остается нерешенным.

## Выводы

1. Ослабление симпатического влияния на матку крыс приводит к значительному снижению чув-

ствительности этого органа к  $\text{E}_2$  и П, оцененной по морфологическим критериям.

2. Хроническое введение  $\text{E}_2$  и П десимпатизированным овариэктомированным животным приводит к резкому возрастанию общего количества как гомологичных, так и гетерологичных рецепторов в ядерной фракции матки.

3. КА являются синергистами женских половых стероидов в действии на клетки матки и необходимы для нормального функционирования ее рецепторного аппарата.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян Н. А., Секретарева Е. В., Савченко О. Н. и др. // Физиол. журн. СССР.— С. 992—996.
2. Арутюнян Н. А., Савченко О. Н., Савицкий Г. А. и др. // Акуш. и гин.— 1986.— № 2.— С. 17—19.
3. Борисов М. М., Мухаммедов А. П., Доронин П. П. и др. // Успехи физиол. наук.— 1977.— Т. 8, № 1.— С. 74—90.
4. Посконова М. А., Ноздрачева Л. В., Саркисян Д. А. и др. // Бюл. экспер. биол.— 1973.— № 10.— С. 119—121.
5. Савицкий Г. А., Скопичев В. Г., Ракицкая В. В. // Акуш. и гин.— 1986.— № 2.— С. 24—26.
6. Савицкий Г. А., Савченко О. Н., Секретарева Е. В. и др. // Там же.— 1985.— № 2.— С. 4—7.
7. Секретарева Е. В., Арутюнян Н. А., Проimina Ф. И. и др. // Пробл. эндокринолог.— 1988.— № 5.— С. 61—65.
8. Шалыпина В. Г., Ракицкая В. В., Абрамченко В. В. Адренергическая иннервация матки.— Л., 1988.
9. Aurriccio F., Migliaccio A., Gastoria S. et al. // Biochem. biophys. Res. Commun.— 1986.— Vol. 10, N 2.— P. 1171—1178.
10. Aurriccio F., Migliaccio A., Gastoria S. et al. // Ibid.— 1982.— Vol. 106, N 1.— P. 149—157.
11. Cushing C. L., Bambara R. A., Giff R. // Endocrinology.— 1985.— Vol. 116, N 1.— P. 118—133.
12. Libeau M.-C., Massol N., Baulieu E. E. // Biochem. J.— 1982.— Vol. 204.— P. 653—662.

Поступила 11.10.91

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1993

УДК 618.11-031.4-089.87]-092.9-07:618.33

Б. Я. Рыжавский, И. Р. Еременко, Е. В. Васильева, Н. В. Нагорская

## ОСОБЕННОСТИ ПОТОМСТВА КРЫС, ПОДВЕРГНУТЫХ ОДНОСТРОННЕЙ ОВАРИЭКТОМИИ

Кафедра гистологии (зав.— проф. Б. Я. Рыжавский) Хабаровского медицинского института

Односторонняя овариэктомия (ООЭ) оказывает влияние на функциональное состояние [3] и морфологию ряда отделов головного мозга [2], приводит к изменениям уровня гонадотропных гипофиза и овариальных стероидов в крови [3, 9—11], гипертрофии оставшегося яичника и в последующем к появлению признаков его ускоренного старения [4]. ООЭ крыс, проведенная за 2—2,5 мес до спаривания, не проходит бесследно для потомства, которое отличается от контрольного по ряду морфометрических и биохимических показателей. Эти отличия были выявлены у 1- и 4-месячного потомства гемиовариэктомированных самок и обнаруживались, в частности, в органах репродуктивной системы [5—7]. Эти данные свидетельствовали об отличиях в постнатальном развитии потомства самок, подвергнутых ООЭ. Настоящая работа, являясь продолжением этих исследований, посвящена изучению 5-дневного потомства гемиовариэктомированных крыс.

## Материалы и методы

Исследовались 5-дневные крысята обоего пола — потомство 9 интактных и 12 самок, у которых за 1,5—2 мес до спаривания с интактными самцами удалялся правый яичник. Потомство гемиовариэктомированных крыс составило 111 крысят, а интактных — 81. Взрослые животные, гемиовариэктомированные и интактные, а также их потомство содержались в условиях одного вивария. Декапитацию всех 5-дневных крыс осуществляли одновременно, в утренние часы. Путем взвешивания определялась масса тела, головного мозга и семенников. Трудности полного отделения яичников и надпочечников от окружающих тканей и малые размеры этих органов не позволили определить их массу взвешиванием. Для суждения о массе яичников из всего правого яичника готовились серийные срезы, окрашивались гематоксилином и эозином. Затем определялась суммарная площадь всех срезов методом [1], которая выражалась в условных единицах и рассматривалась как отражающая массу органа. О массе надпочечников, их коркового и мозгового вещества судили по площади среза, прошедшего через центральную часть органа на препаратах, полученных после проведения реакции на  $3\beta$ -ол-стероиддегидрогеназу ( $3\beta$ -СтДГ) [8]. Интенсивность последней в адренокортикоцитах пучковой зоны определяли цитофотометрически, плаг-методом, на основании измерения ее в 50 клетках