Выводы

1. Инкорпорация ^{131}I в малой дозе (9,25 кБк) самцам крыс в препубертатном периоде не оказывала повреждающего влияния на их репродуктивную систему в половозрелом возрасте.

2. Введение ^{131}I в дозах 37 и 92,5 кБк 30-дневным самцам крыс вызывает у половозрелых животных функциональные сдвиги в репродуктивной системе, выражающиеся в изменении уровня биологически активного ЛГ и Т в крови, а также метаболизма андрогенов в гипоталамусе.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Думитру И., Мэйкэнеску-Джорджеску М., Ротару М.* и др. // Физиология и патофизиология воспроизводства человека.— Бухарест, 1984.— С. 845.
2. *Кузнецов А. С., Булдаков Л. А., Дементьев С. И.* // Метаболизм и биологическое действие радионуклидов при оральном поступлении в организм.— М., 1989.— С. 157—163.
3. *Москаленко Ю. И.* Отдаленные последствия ионизирующих излучений.— М., 1991.
4. *Резніков О. Г., Демченко В. М., Нищименко О. В.* // Фізіол. журн.— 1976.— № 5.— С. 616—621.
5. *Baraghini C. F., Celani M. F., Zaidi A. A.* et al. // J. endocr. Invest.— 1984.— Vol. 7.— Suppl. 3.— P. 23—91.
6. *Burton K.* // Biochem. J.— 1956.— Vol. 62.— P. 315—322.
7. *Casarett G. W.* Radiation Histopathology.— Boca Raton, 1980.— Vol. 1.
8. *Damme M. P. Van, Robertson D. M., Diczfalusy E.* // Acta endocr. (Kbh.).— 1974.— Vol. 77.— P. 655—661.
9. *Isaacs I. T.* // Prostate.— 1984.— Vol. 5.— P. 545—557.
10. *Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J.* // J. biol. Chem.— 1951.— Vol. 193.— P. 265—275.
11. *Mian T. A., Glenn H. I., Jannasen M.* et al. // Current Applied Radiopharmacology.— Toronto, 1986.— P. 303—308.
12. *Roselli C. E., Ellinwood W. E., Resko J. A.* // Endocrinology.— 1984.— Vol. 114.— P. 192—200.

Поступила 11.10.93

L. V. Tarasenko, S. V. Varga, V. N. Demchenko, Ye. V. Bolshova, N. D. Nosenko, P. V. Sinitsyn, L. V. Chaikovskaya, A. G. Reznikov — EFFECT OF ^{131}I INCORPORATION ON MALE RAT REPRODUCTIVE SYSTEM AND THE DOSE-DEPENDENT EFFECT

Summary. Radioactive ^{131}I was injected in single doses 9.25, 37, and 92.5 kBq to prepubertal (30-day-old) male rats. Iodine incorporation in doses 37 and 92.5 kBq resulted in some functional changes in the reproductive system of mature rats: blood testosterone level increased, its hypothalamic aromatization intensified, and biologically active LH level in the blood dropped. Incorporation of 9.25 kBq of ^{131}I had no effect on male reproductive system. A possibility of direct injury to rat testicles by ^{131}I incorporation is suggested.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1994

УДК 612.411.014.2.017.1].06:577.175.64/.65].08

С. В. Ширшев, Ю. И. Шилов, Н. Н. Кеворков

ВЛИЯНИЕ ЖЕНСКИХ ПОЛОВЫХ СТЕРОИДОВ НА СПОСОБНОСТЬ СПЛЕНОЦИТОВ ФОРМИРОВАТЬ АДОПТИВНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ. РОЛЬ ПРОСТАГЛАНДИНА $F_{2\alpha}$ В МЕХАНИЗМАХ ГОРМОНАЛЬНОЙ ИММУНОРЕГУЛЯЦИИ

Лаборатория экологической иммунологии (дир.— член-корр. РАН В. А. Черешнев) Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь

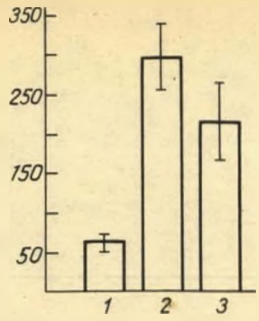
Механизмы специфической толерантности, развивающейся к антигенам плаценты и плода при физиологической беременности, до сих пор не выяснены. Между тем концепция нейроэндокринного контроля иммунной системы получает новые экспериментальные и клинические подтверждения [3, 11]. Эндокринный статус беременной женщины существенно отличается от такового у небеременной, уровень гормонов репродукции и их соотношение значительно меняются в разные триместры, что, по-видимому, важно для процессов роста и дифференцировки фетальных клеток.

В период беременности половые стероидные гормоны являются ее мощными протекторами не только благодаря контролю за процессами роста репродуктивных органов и тканей, но и вследствие непосредственного влияния на иммунокомпетентные клетки матери [4—6, 13]. Этому способствует высокий уровень половых стероидных гормонов во время беременности, превышающий на несколько порядков максимальные концентрации у фертильных небеременных женщин [9]. Известно, что эстрадиол (E_2) и прогестерон (П) обладают разнообразными иммуномодулирующими эффектами, и это разнообразие зависит от их концентрации, степени активности лимфоцитов, а также длительности воздействия гормонов на иммунокомпетентные клетки [4].

Целью настоящей работы было изучение иммуномодулирующих эффектов E_2 и П в концентрациях, характерных для беременности, а также влияния этих гормонов на продукцию простагландина $F_{2\alpha}$ ($ПГF_{2\alpha}$) иммунокомпетентными клетками на этапе антигеннезависимой дифференцировки.

Материалы и методы

Работа выполнена на мышах-самках линии СВА массой 20—22 г, полученных из питомника лабораторных животных РАМН «Рапполово». Асептически выделенные интактные клетки селезенки культивировали в 4 мл питательной среды 199 ($5 \cdot 10^6$ клеток в 1 мл) при 37 °С в течение 1 ч. В опытные культуры клеток вносили E_2 (1 или 10 нг/мл) или П (20 или 100 нг/мл) фирмы «Serva». Дозы половых стероидов соответствуют среднему уровню этих гормонов в I и III триместрах беременности у женщин [9]. В контрольные флаконы вносили растворитель гормонов — этанол (0,25 % раствор на среде 199). Параллельно ставили контроль без растворителя гормонов. После часовой инкубации клетки отмывали холодной средой 199 и концентрировали таким образом, чтобы в 0,5 мл суспензии содержалось $2 \cdot 10^7$ спленоцитов. Затем $2 \cdot 10^7$ клеток совместно с $2 \cdot 10^8$ эритроцитами барана в общем объеме 0,7 мл переносили внутривенно сингенным, летально облученным (219,3 мКл/кг) реципиентам. На 4-й день от сингенного переноса мышей-реципиентов забивали и в селезенке определяли количество антителообразующих клеток (АОК) ме-



Зависимость концентрации $ПГF_{2\alpha}$ от качественного состава интактных клеток селезенки.

По вертикали: концентрация $ПГF_{2\alpha}$ (в пг/0,1 мл); по горизонтали: *1* — контроль; *2* — спленоциты, лишенные адгезивных клеток (макрофагов); *3* — спленоциты, элюированные с колонки нейлоновой ваты (Т-лимфоциты), $p_{1-2}<0{,}001$; $p_{1-3}<0{,}01$.

тодом локального гемолиза в геле агарозы [7]. В других экспериментах, после часового инкубирования клеток селезенки с половыми стероидами, брали по 0,1 мл супернатанта и определяли концентрацию простагландина $ПГF_{2\alpha}$ радиоиммунологическим методом. Для этого использовали стандартный КИТ РИА ^3H-$ПГF_{2\alpha}$ (Директ; Институт изотопов, Будапешт, Венгрия).

В некоторых сериях экспериментов клетки селезенки фракционировали. Макрофаги удаляли методом активной адгезии на стекле [2], Т-лимфоциты получали элюируя спленоциты с колонки найлоновой ваты [8].

Жизнеспособность клеток после часового культивирования по тесту с трипановым синим в среднем составила 98 %.

Результаты обрабатывали с помощью критерия Стьюдента, для АОК использовали десятичный логарифм натуральных чисел, поскольку их распределение при генерации log-зависимо.

Результаты и их обсуждение

Часовая инкубация нефракционированных спленоцитов с E_2 в концентрации, которая обычно бывает на 8-й неделе беременности (1 нг/мл), не оказывает существенного влияния на процессы формирования АОК, в то время как в концентрации, характерной для 30-й недели беременности (10 нг/мл), E_2 оказывает статистически достоверное иммуностимулирующее действие (табл. 1). П в концентрациях, характерных как для 8-й (20 нг/мл), так и для 30-й (100 нг/мл) недели беременности, активирует процессы антигеннезависимой дифференцировки иммунокомпетентных клеток, что приводит к статистически достоверному повышению числа АОК (см. табл. 1).

Таблица 1

Уровень адоптивного иммунного ответа при часовом воздействии женских половых гормонов на клетки селезенки

Группа	Экспериментальное воздействие	lg числа АОК ($2\cdot10^3$ клеток)	p
1 (n=18)	Контроль — среда 199	3,242±0,052 (1978,8)	
2 (n=58)	Контроль — растворитель гормонов	3,239±0,027 (1942,7)	$p_{2-1}>0{,}05$
3 (n=10)	E_2, 1 нг/мл	3,346±0,083 (2618,0)	$p_{3-2}>0{,}05$
4 (n=10)	E_2, 10 нг/мл	3,427±0,089 (3196,0)	$p_{4-2}<0{,}05$ $p_{4-3}>0{,}05$
5 (n=10)	П, 20 нг/мл	3,459±0,050 (3056,0)	$p_{5-2}<0{,}001$
6 (n=10)	П, 100 нг/мл	3,445±0,078 (3222,0)	$p_{6-2}<0{,}02$ $p_{6-5}>0{,}05$

Примечание. n — число животных в группе; в скобках — натуральные значения АОК.

Статистически значимой разницы между эффектами высоких и низких доз E_2 или П не обнаружено, что говорит о перманентном иммуностимулирующем действии половых стероидных гормонов в течение всего периода беременности. Однако необходимо подчеркнуть, что речь идет только о гуморальном иммунном ответе, а иммуностимулирующее действие половых стероидов реализуется на уровне лимфоцитов, которые еще не контактировали с антигеном.

Известно, что $ПГF_{2\alpha}$ оказывает выраженное потенцирующее действие на процессы антителообразования [1]. Этот класс ПГ практически не охарактеризован с позиции регуляции иммуногенеза, в отличие от $ПГE_2$ — иммуносупрессора гуморальных и клеточно-опосредованных реакций [10, 15]. Антагонизм эффектов этих ПГ объясняют тем, что $ПГE_2$ реализует свое действие через цАМФ, а $ПГF_{2\alpha}$ — через цГМФ [12]. Поскольку $ПГE_2$ и $ПГF_{2\alpha}$ синтезируются из единого предшественника — $ПГH_2$ [9], можно предполагать реципрокность механизма их синтеза иммунокомпетентными клетками.

Как видно из табл. 2, при часовой инкубации E_2 или П с клетками нефракционированной селезенки происходит статистически значимое увеличение концентрации $ПГF_{2\alpha}$ в супернатантах этих клеток. Характерно, что этот процесс не зависит от вида полового стероидного гормона и его концентрации.

Таким образом, иммуностимулирующий эффект E_2 и П в концентрациях, характерных для беременности, сопровождается усилением продукции $ПГF_{2\alpha}$ спленоцитами. Не исключено, что усиление продукции $ПГF_{2\alpha}$ лимфоидными клетками селезенки является сигналом, активирующим процессы дифференцировки иммунокомпетентных клеток, рецептирующих женские половые стероиды.

Учитывая, что продукция $ПГF_{2\alpha}$ прямо связана с Т-лимфоцитами [14], нами были проведены дополнительные исследования на фракционированных клетках селезенки. На рисунке видно, что спленоциты, лишенные прилипающих клеток — основных продуцентов $ПГE_2$ [1], резко активируют продукцию $ПГF_{2\alpha}$. Суспензия Т-клеток, элюированная с колонки нейлоновой ваты, продуцирует сходные количества $ПГF_{2\alpha}$, что однозначно указывает на Т-лимфоцитарную природу $ПГF_{2\alpha}$ и в

Таблица 2

Концентрация $ПГF_{2\alpha}$ в супернатантах спленоцитов на фоне часового воздействия женских половых стероидов

Группа	Экспериментальное воздействие	$ПГF_{2\alpha}$, пг/0,1 мл	p
1 (m=5)	Контроль, среда 199	29,9±6,9	
2 (m=11)	Контроль, растворитель гормонов	52,1±7,8	$p_{2-1}>0{,}05$
3 (m=3)	E_2, 1 нг/мл	114,3±1,7	$p_{3-2}<0{,}001$
4 (m=4)	E_2, 10 нг/мл	125,8±10,7	$p_{4-2}<0{,}001$ $p_{4-3}>0{,}05$
5 (m=4)	П, 20 нг/мл	159,1±31,0	$p_{5-2}<0{,}01$
6 (m=3)	П, 100 нг/мл	113,5±17,0	$p_{6-2}<0{,}01$ $p_{6-5}>0{,}05$

Примечание. m — число проб в группе.

то же время подтверждает наше предположение о реципрокности синтеза ПГ разного класса. Однако механизм такого действия работает не на уровне одной клетки, а на уровне популяций клеточного сообщества. Можно считать, что макрофаги, обладающие адгезивностью и продуцирующие преимущественно $ПГЕ_2$, сдерживают продукцию $ПГF_{2\alpha}$ Т-лимфоцитами, с высоким уровнем которого связаны иммуностимулирующие эффекты женских половых гормонов. По-видимому, в период беременности половые стероиды активируют процессы продукции $ПГF_{2\alpha}$ Т-лимфоцитами либо непосредственно, либо опосредованно, ингибируя активность макрофагов. Результатом этого действия является активация процессов антигеннезависимой дифференцировки клеток, формирующих гуморальный иммунный ответ.

Выводы

1. E_2 в концентрации, характерной для I триместра (1 нг/мл), увеличивает продукцию $ПГF_{2\alpha}$ интактными спленоцитами, а в концентрации 10 нг/мл (III триместр) одновременно с активацией синтеза $ПГF_{2\alpha}$ статистически значимо увеличивает число АОК в селезенке.
2. П в концентрациях 20 или 100 нг/мл, которые отражают его уровень на период I и III триместров беременности соответственно, увеличивает количество АОК и уровень $ПГF_{2\alpha}$, продуцируемый иммуноцитами.
3. Продукция $ПГF_{2\alpha}$ связана с Т-лимфоцитами. Адгезивные клетки сдерживают эту продукцию.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Громыхина Н. Ю., Козлов В. А.* // Иммунология.— 1982.— № 5.— С. 11—15.
2. *Дерфлинг П., Вишнер З.* // Иммунологические методы / Под ред. Г. Фримеля.— М., 1987.— С. 373—378.
3. *Корнева Е. А.* // Вестн. АМН СССР.— 1985.— № 3.— С. 63—73.
4. *Шилов Ю. И.* Влияние эстрадиола и прогестерона на отдельные этапы иммуногенеза: Дис. ... канд. мед. наук.— Пермь, 1984.
5. *Cardoso E., Coumroglon M., Andrada E. C., Andrada J. A.* // European Federation of Immunological Society: European Immunological Meeting, 11-th.— Helsinki, 1991.— P. 42—42.
6. *Hill A., Wolff Sh.* // Cancer Res.— 1983.— Vol. 43, N 9.— P. 4114—4118.
7. *Jerne N. K., Nordin A. A.* // Science.— 1963.— Vol. 140, N 3365.— P. 405—405.
8. *Julius E. L., Simpson J., Herzenberg L.* // Europ. J. Immunol.— 1973.— Vol. 3.— P. 646—648.
9. *Kase N. G., Reyniak J. V.* // Mount Sinai J. Med.— 1985.— Vol. 52, N 1.— P. 11—34.
10. *Minakuchi R., Wacholtz M. C., Davis L. S., Lipsky P. E.* // J. Immunol.— 1990.— Vol. 145, N 8.— P. 2616—2625.
11. *Plaut M.* // Ann. Rev. Immunol.— 1987.— Vol. 5.— P. 621—669.
12. *Stein S. H., Phipps R. P.* // Europ. J. Immunol.— 1991.— Vol. 21, N 2.— P. 313—318.
13. *Szekeris-Bartho J., Hadnagy J., Paesa A. S.* // J. Reprod. Immunol.— 1985.— Vol. 7, N 2.— P. 121—128.
14. *Webb D. R., Osheroff P. L.* // Proc. nat. Acad. Sci. USA.— 1976.— Vol. 73.— P. 1300—1304.
15. *Webb D. R., Nowowiejski I.* // Cell. Immunol.— 1977.— Vol. 33.— P. 1—10.

Поступила 07.09.93

S. V. Shirshev, Yu. I. Shilov, N. N. Kevorkov — EFFECT OF FEMALE SEX STEROIDS ON SPLENOCYTE ABILITY TO PRODUCE AN ADOPTIVE IMMUNE RESPONSE. ROLE OF PROSTAGLANDIN F2α IN HORMONAL IMMUNOREGULATION MECHANISMS

Summary. Male CBA mice were used in experiments. Splenocytes were incubated for an hour in macrocultures with estradiol (E2) or progesterone (P), then the cells were transferred (together with the antigen) to lethally irradiated syngeneic recipients, and on day 4 the count of antibody-producing cells (APC) was estimated. Prostaglandin F2α (PGF2α) concentrations were radioimmunoassayed in cell culture supernatants. E2 and P concentrations corresponded to these hormones levels in blood sera during pregnancy. E2 and P in the tested concentrations were found to reliably stimulate the processes of APC formation, their effects being dose independent. Both E2 and P statistically reliably increased PGF2α level in splenocyte culture. Fractionation of splenocytes helped reveal the highest PGF2α level in the cultures devoid of adhesive cells and rich for T lymphocytes. Hence, E2 and P stimulated the processes of antigen-independent differentiation of splenocytes producing APC either by directly stimulating T lymphocytes or via macrophages by blocking their negative effects. Stimulation of adoptive immune response by sex steroids is closely connected with PGF2α production by immunocompetent cells under the effects of these hormones.

♦ ОБЗОРЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1994

УДК 616.71-007.234-07:616.154(048.8)

О. К. Ширалиев, Т. Ф. Мамедов, Ж. И. Гагиева

ГОРМОНЫ И ОСТЕОПОРОЗ

Республиканский диагностический центр (дир.— доктор мед. наук О. К. Ширалиев) Минздрава Республики Азербайджан, Баку

Остеопороз и его осложнения — переломы костей — представляют значительную медико-социальную проблему. Ежегодно вследствие остеопороза возникают переломы костей у 1,3 млн американцев и у 40 тыс. канадцев [18, 37]. Во Франции каждая вторая, а в Австралии каждая пятая женщина в возрасте около 70 лет страдает от переломов, вызванных остеопорозом [8, 35]. Возникновение остеопороза в пожилом возрасте у женщин обусловлено уменьшением выработки эстрогенов [6]. Однако снижение минеральной плотности кости происходит не только с возрастом, но еще в большей степени при всех состояниях, приводящих к изменению баланса гормонов гипоталамо-гипофизарной системы, щитовидной и паращитовидных желез, надпочечников.

В связи с изложенным целью настоящей работы явилось обобщение данных литературы о влиянии гормонов на возникновение и развитие остеопороза.