

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1996

УДК 612.621.31.083/.084

Е. Н. Карева, В. П. Федотов, В. М. Ржесников, Е. В. Соловьева, Е. В. Покровская

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НИСТРАНОЛА С РЕЦЕПТОРАМИ ЭСТРАДИОЛА И ПРОГЕСТЕРОНА В ЦИТОЗОЛЕ МАТКИ КРЫС *IN VITRO* И *IN VIVO*

Эндокринологический научный центр РАМН, Российский государственный медицинский университет, Москва

Направленный поиск веществ с выраженной эстрогенной активностью привел к созданию соединения, синтезированного в Эндокринологическом научном центре РАМН, — 11 β -нитрооксигидрокси-этинилэстрадиол-диацетата, получившего название "нистранол" [5, 6]. Изучению влияния нового эстрогена на связывание эстрадиола и прогестерона в тканях матки крыс посвящена данная работа.

Исследование способности новых эстрогенов конкурировать с эстрадиолом за связывание в тканях органов-мишеней *in vitro* и влиять на связывание эстрадиола и прогестерона *in vivo* дает возможность более эффективного скрининга эстрогенов, чем использование только классического метода *in vitro* [4].

Материалы и методы

Влияние нистранола на связывание эстрадиола и прогестерона в цитозольной фракции тканей матки крыс изучено на 72 крысах-самках массой 120–140 г, по 6 животных в каждой из исследуемых групп. Масляный раствор нистранола в дозе 0,1–1 мг/кг вводили внутривентрально на 7-й день после овариэктомии по методу Я. Д. Киршенבלата [3]. В качестве контроля служили животные, которым вводили чистый растворитель. Эвтаназию животных проводили под эфирным наркозом через 24 ч после инъекции препаратов.

Очищенные от жировой и соединительной ткани матки гомогенизировали в жидком азоте. Выделение цитозольной фракции и определение влияния препаратов на связывание эстрадиола и прогестерона в тканях матки крыс осуществляли по методу Л. С. Бассалык [1]. Белок определяли по методу О. Lowry [8]. Для статистической обработки данных эксперимента использовали непараметрический *U*-критерий для непарных совокупностей Вилкоксона—Манна—Уитни [2].

Влияние эстрадиола, этинилэстрадиола и нистранола на связывание эстрадиола в цитозольной фракции тканей матки крыс через 1, 6, 24 и 48 ч после их однократного введения изучено на 100 неполовозрелых самках крыс массой 40–45 г методом лигандного обмена [7].

Способность нистранола конкурировать с эстрадиолом за связывание в цитозольной фракции тканей матки крыс *in vitro*

изучали, используя метод конкурентного анализа [4]. В опытах использованы матки неполовозрелых крыс массой тела 35–40 г. Показатель относительной конкурентной способности (ОКС) нистранола вычисляли как процентное соотношение между молярными концентрациями 17 β -эстрадиола и конкурента, при которых [2, 4, 6, 7-³H]-эстрадиол вытесняется из связи с его цитозольными рецепторами на 50%.

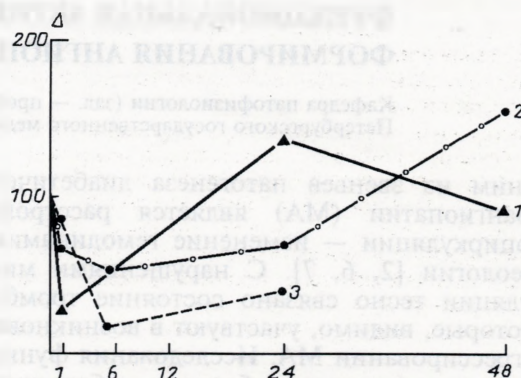
Результаты и их обсуждение

Данные о влиянии эстрадиола, этинилэстрадиола и нистранола на связывание эстрадиола и прогестерона (в фмоль/мг белка) в тканях матки крыс через 24 ч после однократного введения в дозе 0,1 мг/кг массы тела животного представлены в табл. 1. Показано, что однократное введение нистранола снижает в 2 раза уровень рецепторов эстрадиола в ткани матки. В то же время введение эстрадиола в дозе 0,1 мг/кг увеличивает содержание его рецепторов в цитозоле тканей матки в 3,2 раза.

Таким образом, нистранол действует на связывание эстрадиола в цитозольной фракции тканей матки подобно этинилэстрадиолу и противоположно эстрадиолу.

Нистранол, этинилэстрадиол и эстрадиол в изученных дозах увеличивали связывание прогестерона через 24 ч после однократного введения. Более выраженное влияние на этот показатель оказали этинилэстрадиол и нистранол, которые увеличивали его в 1,8 раза, тогда как эстрадиол — в 1,5 раза.

Данные о влиянии нистранола, эстрадиола и этинилэстрадиола на связывание эстрадиола в ци-



Влияние нистранола (0,1 мкг), эстрадиола (0,5 мкг) и этинилэстрадиола (0,1 мкг) на связывание эстрадиола в цитозольной фракции тканей матки неполовозрелых самок крыс через 1, 6, 24 и 48 ч после однократного введения.

По оси ординат — влияние эстрадиола (1), этинилэстрадиола (2) и нистранола (3) на связывание эстрадиола в цитозольной фракции ткани матки (% от среднего значения в контрольной группе); по оси абсцисс — время после инъекции (в ч).

Таблица 1
Влияние эстрадиола, этинилэстрадиола и нистранола на связывание эстрадиола и прогестерона в цитозольной фракции тканей матки крыс (в фмоль/мг белка)

Вводимое соединение	Связывание	
	эстрадиола	прогестерона
Растворитель	43,8 ± 15,3	132,6 ± 16,1
Эстрадиол (0,1)	140,2 ± 35,4*	204,2 ± 37,2*
Этинилэстрадиол (0,1)	30,0 ± 9,5*	239,7 ± 52,8*
Нистранол (0,1)	18,4 ± 8,3*	235,8 ± 57,6*

Примечание. Доза всех вводимых соединений составляла 0,1 мг/кг. * — достоверное отличие от контроля при $p < 0,05$.

Таблица 2

ОКС эстрадиола, этинилэстрадиола и нистранола

Соединение	ОКС
Эстрадиол	100,0
Этинилэстрадиол	150,0 ± 16,8
Нистранол	0,2 ± 0,01

тозольной фракции тканей матки неполовозрелых самок крыс через 1, 6, 24 и 48 ч после однократного введения представлены на рисунке. Через 1 ч после введения эстрадиола и этинилэстрадиола связывание меченого эстрадиола снижается на 75 и 25% соответственно, через 6 ч после введения этинилэстрадиола и нистранола этот показатель снижается на 50 и 80% соответственно. Связывание эстрадиола после введения нистранола и этинилэстрадиола не восстанавливается за 24 ч, тогда как после введения эстрадиола к этому сроку оно возрастает почти в 2 раза. Показанная ранее [5, 6] высокая утеротропная активность нистранола может быть обусловлена его способностью увеличивать скорость транслокации гормон-рецепторных комплексов в ядро, что также объясняет низкую концентрацию цитозольных рецепторов эстрадиола в тканях матки крыс, получавших нистранол.

Критерием способности нистранола конкурировать с эстрадиолом за связывание в цитозольной фракции тканей матки крыс *in vitro* служит показатель ОКС нистранола, представленный в табл. 2. Полученные результаты показали, что нистранол практически не конкурирует с эстрадиолом за связывание с его цитозольными рецепторами в отличие от этинилэстрадиола, моонитратом диоксипроизводного которого он является.

Выводы

1. Отсутствие у нистранола способности конкурировать с эстрадиолом *in vitro* и наличие выра-

женного влияния на связывание эстрадиола и прогестерона в цитозольной фракции *in vivo* наряду с выраженным утеротропным эффектом вероятно связано с превращением нистранола в организме в активный(е) метаболит(ы).

2. При изучении потенциальных лекарственных препаратов с эстрогенной активностью необходимо использовать сочетание методов исследования *in vivo* и *in vitro*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бассалык Л. С. Рецепторы стероидных гормонов. — М., 1987. — С. 198—203.
2. Гублер Е. В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. — Л., 1978. — С. 72—75.
3. Кириенко Я. Д. Практикум по эндокринологии. — М., 1969. — С. 139—141.
4. Покровская Е. В., Иваненко Т. И. // Пробл. эндокринол. — 1981. — № 6. — С. 66—70.
5. Ржезников В. М., Иваненко Т. И., Покровская Е. В., Федотов В. П. // Хим.-фарм. журн. — 1986. — № 9. — С. 1057—1061.
6. Ржезников В. М., Иваненко Т. И., Федотов В. П. // Пат. 1202250 РФ, 1993.
7. Katzenellenbogen J. A., Johnson H. J., Carlson K. E. // Biochemistry. — 1973. — Vol. 12. — P. 4092—4093.
8. Lowry O. U. et al. // Anal. Biochem. — 1977. — Vol. 83, № 2. — P. 346—356.

Поступила 22.11.95

Ye.N. Kareva, V.P. Fedotov, V.M. Rzhiznikov, Ye.V. Solovyova, Ye.V. Pokrovskaya — INTERACTION OF NISTRANOL WITH ESTRADIOL AND PROGESTERONE RECEPTORS IN THE RAT UTERUS CYTOSOL *IN VITRO* AND *IN VIVO*

Summary. Interactions between nistranol and estradiol and progesterone receptors in the cytosol fraction of the uterine tissue of oophorectomized rats and the relative competitive capacity of nistranol have been studied 24 h after a single injection of the drug. The results demonstrate the effects of nistranol on estradiol and progesterone binding. Nistranol boosting of uterine growth in rats is explained by its capacity to accelerate the translocation of hormone-receptor complexes into the nucleus. Investigations of the capacity of new estrogens to compete with estradiol for binding in the tissues of target organs *in vitro* and affect estradiol and progesterone binding *in vivo* permit a more effective screening of estrogens than use of only the classical *in vitro* method.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1996

УДК 616.379-008.64-06:616.61-005-092.9]-076.4

С. А. Шестакова, М. Л. Степанян, В. А. Титова, Н. В. Бойкова

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ В РАННИЕ СРОКИ ФОРМИРОВАНИЯ АНГИОПАТИИ У КРЫС С АЛЛОКСАНОВЫМ ДИАБЕТОМ

Кафедра патофизиологии (зав. — проф. Н. Н. Петрищев) и НИЦ (руководитель В. В. Томсон) Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова

Одним из звеньев патогенеза диабетической микроангиопатии (МА) является расстройство микроциркуляции — изменение гемодинамики и гемореологии [2, 6, 7]. С нарушениями микроциркуляции тесно связано состояние тромбоцитов, которые, видимо, участвуют в возникновении и прогрессировании МА. Исследования функциональной активности тромбоцитов у больных сахарным диабетом (СД), осложненным и не осложненным МА, привели к противоречивым результатам [14], что отчасти, вероятно, обусловлено трудностями ранней диагностики ангиопатий, особенно диабетической нефропатии (ДН). Для выяснения роли тромбоцитов в патогенезе МА

необходимо исследовать состояние системы тромбоцит—сосудистая стенка в ранние сроки формирования сосудистой патологии, используя для этого животных с экспериментальным СД.

Задачей нашего исследования было изучение функциональной активности тромбоцитов и антиагрегационной активности (АА) аорты в ранние сроки формирования микрососудистых повреждений в почках у крыс с экспериментальным СД.

Материалы и методы

Опыты выполнены на 64 нелинейных белых крысах-самцах массой 180—240 г, находившихся на обычном рационе питания. Инсулинзависимый СД (ИЗСД) воспроизводили введе-