

УДК 615.256.4:612.433.62:612.826.4:612.432/434

А. Г. Резников, Е. А. Беникова, В. Н. Демченко

О ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИАНДРОГЕНА 4-НИТРО-3-ТРИФТОРМЕТИЛИЗОБУТИРАНИЛИДА ДЛЯ ОЦЕНКИ ГОНАДОТРОПНЫХ РЕЗЕРВОВ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНОЙ СИСТЕМЫ

Для оценки гормональных резервов гонадотропоцитов гипофиза и интерстициальных клеток мужских половых желез в эксперименте и клинике широко применяют функциональные пробы с введением синтетического гонадолиберина [14] и хорионического гонадотропина [5, 6]. В то же время тестирование резервных возможностей нейросекреторных элементов гипоталамуса, регулирующих гонадотропную активность гипофиза путем выработки соответствующего рилизинг-гормона, продолжает оставаться нерешенной проблемой. Единственный методический подход, применяемый до настоящего времени, состоит в искусственном создании дефицита андрогенов, в результате чего растормаживается гипоталамо-гипофизарная система и последовательно усиливается секреция гонадолиберина, лютеинизирующего (ЛГ) и фолликулостимулирующего (ФСГ) гормонов. Однако такие вмешательства, как хирургическая, химическая или лучевая кастрация, имеют существенные недостатки и могут быть применены только в опытах на животных.

По предложению одного из авторов настоящей работы (А. Г. Резников), ранее был разработан новый метод оценки функционального состояния гипоталамо-гипофизарно-тестикулярной системы, основанный на применении нестероидного антиандрогена 4-нитро-3-трифторметилизобутиранилида (флутамид, Sch-13521, НФБА) [2]. Это вещество обладает высоким сродством к циторецепторам тестостерона и дигидротестостерона и, следовательно, является их конкурентным антагонистом. Оно препятствует проявлению физиологической активности андрогенов в органах-мишенях [3, 9, 10]. Высокая антиандрогенная активность препарата показана в клинике при лечении рака предстательной железы [11, 15]. При введении НФБА крысам и морским свинкам наблюдается значительное повышение секреции гонадотропинов и тестостерона, вызванное фармакологической блокадой обратной связи между гонадами и гипоталамо-гипофизарной системой, которая осуществляется, по-видимому, при непосредственном участии циторецепторов стероидов [4].

Мы изучали возможности применения НФБА для оценки функциональных резервов гипоталамо-гипофизарной системы у человека.

Методика исследований

Исследования проведены на 12 лицах мужского пола — больных с нарушением полового развития и практически здоровых добровольцах. Возраст обследованных и форма патологии указаны в таблице.

НФБА назначали внутрь в крахмальных облатках три раза в день из расчета 10—25 мг/кг ежедневно в течение трех или пяти дней. Утром в день назначения НФБА и на четвертый или шестой день (ближайший после последнего приема препарата) собирали первую утреннюю порцию мочи для определения гонадотропинов и производили

взятие крови из локтевой вены натощак. Накануне исследования и в течение последних суток приема НФБА собирали мочу для определения экскреции 17-кетостероидов (17-КС).

Плазму отделяли центрифугированием и хранили до анализа при температуре -30°C . Концентрацию ЛГ и тестостерона в плазме крови определяли радиоиммунологическим методом с помощью наборов «ЛНК» и «TESTOK» фирмы «CEA-IRE-SORIN» (Франция). Радиоактивность измеряли в колодезном счетчике NK-150 лабораторного комплекта «Гамма» (Венгрия) и жидкостном сцинтилляционном счетчике «Isoscap-300» (Nuclear Chicago, США). Содержание ЛГ в моче определяли иммунологическим методом [16] по стандарту хорионического гонадотропина человека, ФСГ — биологическим тестированием [7] по второму международному стандарту менопаузального гонадотропина мочи человека, 17-КС — с помощью реакции Циммермана. Обработку результатов проводили с применением критериев непараметрической статистики [1].*

Результаты исследований и их обсуждение

Результаты индивидуальных анализов представлены в таблице. Трехдневное введение НФБА в организм четырех здоровых и одного больного не отражалось на уровне тестостерона в плазме крови. Увеличение продолжительности приема препарата до пяти дней привело к заметному возрастанию уровня тестостерона у двух из трех обследованных здоровых лиц и у одного из трех больных. ЛГ-активность крови незначительно увеличивалась у двух из трех здоровых. Не выявлено соответствия между направленностью и степенью изменений уровня ЛГ и тестостерона в плазме крови, вызываемых НФБА. Экскреция 17-КС после приема НФБА изменялась неопределенно.

При назначении [13] флутамида до 5 мг/кг в течение пяти дней мальчикам пубертатного возраста получено достоверное, но, по нашему мнению, недостаточно существенное повышение концентрации ЛГ и ФСГ в крови. У детей препубертатного возраста антиандроген не влиял на содержание гонадотропинов и тестостерона в крови. Применение флутамида для лечения рака предстательной железы у взрослых не сопровождалось повышением уровня ЛГ и тестостерона в крови [11]. Все это поставило под сомнение возможность использования препарата у человека в качестве средства функциональной диагностики.

Нами обнаружено, что наиболее надежным и достоверным показателем реакции гипоталамо-гипофизарной системы на НФБА является содержание гонадотропинов в моче. У всех обследованных здоровых мужчин концентрация ФСГ в моче после пятидневного приема НФБА выросла в 1,5—3 раза ($p < 0,05$), а концентрация ЛГ в такой же мере повысилась у трех из четырех обследованных и незначительно — у одного ($p < 0,05$). Повышение содержания гонадотропных гормонов в моче не обязательно сопровождалось соответствующими изменениями уровня ЛГ и тестостерона в крови.

Подтверждением специфического характера изменений гонадотропной активности мочи под влиянием НФБА могут служить результаты гормональных анализов у больных с нарушениями полового развития. У 6-го Д-в А. выявлена недостаточность гонадотропных резервов (отсутствие увеличения ФСГ мочи), что соответствует клиническому диагнозу гипогонадизма центрального генеза. С другой стороны, первичный характер гипогонадизма у 6-го Х-ч А. подтверждается сохранением реакции на НФБА по результатам определения ЛГ и ФСГ в моче, что свидетельствует о полноценном функционировании обратной связи в системе гипоталамус — гипофиз — гонады. Отсутствие повышения концент-

* Авторы благодарят кандидата химических наук Я. Г. Бальона за предоставление НФБА и доктора биологических наук Т. Д. Травянку за содействие в определении гонадотропинов мочи.

Содержание гормонов в плазме крови и моче до и после приема НФБА

Фамилия, имя, возраст	Диагноз	Доза НФБА	Гормоны в плазме крови				Гонадотропины и стероиды в моче							
			ЛГ, мг/мл		Т, мг/мл		17-КС, мг/сут		ЛГ, МЕ/л					
			до	после	до	после	до	после	до	после	до	после		
М-ч В., 37 лет		10 мг/кг×5 дней	11,2	14,7	5,04	11,10			20	40	100	5	7,5	50
			Здоровые											

Содержание гормонов в плазме крови и моче до и после приема НФБА

Фамилия, имя, возраст	Диагноз	Доза НФБА	Гормоны в плазме крови				Гонадотропины и стероиды в моче							
			ЛГ, мЕ/мл		Т. мЕ/мл		17-КС, мЕ/сут		ЛГ, мЕ/л			ФСГ, мЕ/л		% прироста
			до	после	до	после	до	после	до	после	до	после		
Здоровые														
М-ч В., 37 лет		10 мг/кг×5 дней	11,2	14,7	5,04	11,10			20	40	100	5	7,5	50
К-в Л., 35 лет		10 мг/кг×5 дней	12,5	12,1	6,60	8,56			16	25	56	4	9	125
К-т С., 19 лет		10 мг/кг×5 дней	6,0	7,7	7,02	7,25			14	40	186	3	5	67
М-ч М., 16 лет		10 мг/кг×5 дней							24	28	17	3	8,5	183
Д-ч П., 34 года		25 мг/кг×3 дня			6,90	7,05								
Т-к Ю., 27 лет		10 мг/кг×3 дня			8,55	7,50	26,6	7,4						
Д-о Н., 25 лет		10 мг/кг×3 дня			7,35	7,65	10,3	14,2						
Г-о А., 32 года		10 мг/кг×3 дня			4,02	4,12	27,0	21,6						
Больные														
В-н А., 15 лет	СК	10 мг/кг×5 дней			4,89	9,10	10,0	8,7	40	40	—	9	12	33
Д-в А., 22 года	ГГ	10 мг/кг×5 дней	6,8	1,8	1,32	1,20			25	35	40	5	4	--20
Х-ч А., 16 лет	ГГ	10 мг/кг×5 дней			1,45	0,90	8,3	9,2	20	32	60	6	10	67
Д-й Е., 16 лет	ГГ	20 мг/кг×3 дня			0,60	0,45	10,8	10,6						

Примечание. ГГ—гипогонадизм, СК—синдром Клайнфельтера. Т—тестостерон.

рации ЛГ в моче б-го В-н А. после приема НФБА находит объяснение в высоком исходном уровне гонадотропной активности, что типично для данной патологии (синдром Клайнфельтера). Следовательно, при оценке результатов пробы с НФБА необходимо учитывать величину исходного показателя.

Все без исключения обследуемые хорошо переносят прием препарата. В связи с этим важно подчеркнуть, что изучаемый антиандроген, по данным литературы [8], быстро выводится из организма человека.

Немногочисленность приведенных наблюдений не позволяет еще сделать окончательные выводы относительно практической ценности предложенной нами функциональной пробы. Однако они демонстрируют возможность применения НФБА для тестирования функциональных резервов гипоталамо-гипофизарного звена регуляции половой системы у мужчин и позволяют рекомендовать определение ЛГ и ФСГ в утренней порции мочи в качестве основного показателя. Содержание гонадотропных гормонов в моче адекватно отражает реакцию гипофиза на ЛГ-рилизинг-гормон [12]. Биологическое и иммунологическое тестирование гонадотропинов в моче является общедоступным, в то время как радиоиммунологические анализы выполняются только в специализированных лабораториях и являются дорогостоящими.

Обращает на себя внимание, что в норме степень повышения каждого из гонадотропинов в моче под влиянием НФБА находится в обратной зависимости друг от друга. Вероятно, раздельное определение ФСГ и ЛГ может быть заменено определением общей гонадотропной активности, что еще более упростило бы рекомендуемый тест.

Результаты проведенных исследований служат доказательством участия циторекцепторов андрогенов в осуществлении ингибирующего действия этих гормонов на секрецию гонадотропинов у человека. Они свидетельствуют также о том, что продукция ФСГ, как и ЛГ, находится под контролем андрогенов, что не отрицает, однако, важной роли нестероидного фактора семенных канальцев (ингибина) в регуляции секреции ФСГ.

Выводы

1. Ответная реакция гипоталамо-гипофизарной системы на пятидневный прием антиандрогена НФБА в дозе 10 мг/кг характеризуется достоверным увеличением содержания ЛГ и ФСГ в моче здоровых мужчин и отсутствием или недостаточностью эффекта при некоторых нарушениях полового развития. По-видимому, этот феномен может быть использован для функциональной диагностики нарушений половой системы.

2. Не обнаружено соответствия между изменениями гонадотропной активности мочи, содержания ЛГ и тестостерона в плазме крови после введения НФБА. Экскреция 17-КС с мочой под влиянием НФБА изменяется неопределенно.

3. У лиц мужского пола циторекцепторы андрогенов опосредуют ингибирующее влияние этих гормонов на секрецию ЛГ и ФСГ.

Литература

1. Гублер Е. В., Генкин А. А. Применение критериев непараметрической статистики для оценки различий двух групп наблюдений в медико-биологических исследованиях. М., «Медицина», 1969. 32 с.
2. Резников А. Г., Демченко В. Н., Ягупольский Л. М. и др. Способ определения функционального состояния гипоталамо-гипофизарно-тестикулярной системы. Описание

- изобретения к авторскому свид. 05.04.77. Бюлл. № 13, 1977.
3. Резников А. Г., Варга С. В., Дриментальное изучение антиагитранилида (нифтолида) у кр 40, № 3, с. 336—342.
 4. Резников А. Г., Демченко В. Н. и биохимическое исследование крыс и морских свинок на введ анилида.— Пробл. эндокринол., 1974, № 1, с. 1—10.
 5. Старкова Н. Т. Основы клинич 6. Тетер Е. Гормональные наруш шавы, Польское гос. мед. изд-в
 7. Brown P. S. The assay of gona J. Endocrinol., 1955, 13, p. 59—6
 8. Katchen B., Buxbaum S. Disp fluoro-2-methyl-4'-nitro-m-propi oral 200 mg dose.— J. Clin. E
 9. Liao Sh., Howell D. K., Chang on the receptor binding and n prostate.— Endocrinology, 1974
 10. Neri R., Florance K., Kosiol P. androgen, SCH 13521 (4-nitro- 91, № 2, p. 427—437.
 11. Prout G. R., Irwin R. J. Annu 1973 (Abstract). Цит. по: Neri p. 815—819.
 12. Santner S. Y., Kulin H. E., Sa ments to assess LH RH respc crinol. and Metabol., 1977, 44, p
 13. Sizonenko P. C., Paunier L., gonadal axis by a new antia 1974, 63, p. 328 (abstract).
 14. Snyder P. J., Reitano J. F., U gonadotropin-releasing hormo 1975, 41, № 5, p. 938—954.
 15. Stoliar B., Albert D. SCH 1352 te.— J. Urol., 1974, 111, № 6, p.
 16. Wide L., Gemzell C. Immuno fertile and post menopause w 6, p. 539—546.

Киевский институт эндокринологи и обмена веществ

A. G. Reznikov,

ON POSSIBILITY OF AN
ISOBUTYRANIL
GONADOTROPIC RESERVE

In the morning urine collect in the LH and FSH content as oral administration of the antian NFBA) in a dose of 10 mg/kg fo effect was slight or absent. This p There were no correlations betwee levels in blood plasma in health excretion of 17-ketosteroids in ex participation of androgen recepto and FSH secretion in people.

Institute of Endocrinology and Metabolism, Kiev, USSR

- изобретения к авторскому свидетельству № 552962. Заявлено 23.9.75. Опубликовано 05.04.77. Бюлл. № 13, 1977.
3. Резников А. Г., Варга С. В., Демкив Л. П., Бальон Я. Г., Ягупольский Л. М. Экспериментальное изучение антиандрогенной активности 4-нитро-3-трифторметилизобутиранилида (нифтолида) у крыс и морских свинок.— Фармакол. и токсикол., 1977, **40**, № 3, с. 336—342.
 4. Резников А. Г., Демченко В. Н., Варга С. В., Носенко Н. Д. Радиоиммунологическое и биохимическое исследование реакции аденогипофиза, семенников и надпочечников крыс и морских свинок на введение антиандрогена 4-нитро-3-трифторметилизобутиранилида.— Пробл. эндокринол., 1977, **23**, № 2, с. 86—90.
 5. Старкова Н. Т. Основы клинической андрологии. М., «Медицина», 1974. 390 с.
 6. Тетер Е. Гормональные нарушения у мужчин и женщин. (Пер. с польского). Варшава, Польское гос. мед. изд-во, 1968. 699 с.
 7. Brown P. S. The assay of gonadotrophin from urine of nonpregnant human subjects.— J. Endocrinol., 1955, **13**, p. 59—65.
 8. Katchen B., Buxbaum S. Disposition of a new, nonsteroid antiandrogen, α, α, α -trifluoro-2-methyl-4'-nitro-m-propionotoluidide (Flutamide), in men following a single oral 200 mg dose.— J. Clin. Endocrinol. and Metabol., 1975, **41**, p. 373—379.
 9. Liao Sh., Howell D. K., Chang T. M. Action of a nonsteroidal antiandrogen, Flutamide, on the receptor binding and nuclear retention of 5 α -dihydrotestosterone in rat ventral prostate.— Endocrinology, 1974, **94**, № 4, p. 1205—1209.
 10. Neri R., Florance K., Kosiol P., Cleave S. A biological profile of a nonsteroidal antiandrogen, SCH 13521 (4-nitro-3-trifluoromethylisobutyranilide).— Endocrinology, 1972, **91**, № 2, p. 427—437.
 11. Prout G. R., Irwin R. J. Annual Clinical Congress of American College of Surgeons, 1973 (Abstract). Цит. по: Neri R. O., Peets E. A.— J. Steroid Biochem., 1975, **6**, № 6, p. 815—819.
 12. Santner S. Y., Kulin H. E., Santen R. Y. Usefulness of urinary gonadotropin measurements to assess LH RH responsiveness in hypogonadotropic states.— J. Clin. Endocrinol. and Metabol., 1977, **44**, p. 313—321.
 13. Sizonenko P. C., Paunier L., Cuendet A. Evaluation of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis by a new antiandrogen (SCH 13521) in boys.— Acta paediat. scand., 1974, **63**, p. 328 (abstract).
 14. Snyder P. J., Reitano J. F., Utiger R. D. Serum LH and FSH responses to synthetic gonadotropin-releasing hormone in normal men.— J. Clin. Endocrinol. and Metabol., 1975, **41**, № 5, p. 938—954.
 15. Stoliar B., Albert D. SCH 13521 in the treatment of advanced carcinoma of the prostate.— J. Urol., 1974, **111**, № 6, p. 803—807.
 16. Wide L., Gemzell C. Immunological determination of pituitary LH in the urine of fertile and post menopause women and adult men.— Acta endocrinol., 1962, **39**, № 3, p. 539—546.

Киевский институт эндокринологии
и обмена веществ

Поступила в редакцию
17.III 1978 г.

A. G. Reznikov, E. A. Benikova, V. N. Demchenko

ON POSSIBILITY OF ANTIANDROGEN 4-NITRO-3-FLUOROMETHYL ISOBUTYRANILIDE ADMINISTRATION TO ESTIMATE GONADOTROPIC RESERVES OF HYPOTHALAMO-HYPOPHYSEAL SYSTEM

Summary

In the morning urine collected in the healthy men there was a significant increase in the LH and FSH content as a response of hypothalamo-hypophyseal system to an oral administration of the antiandrogen 4-nitro-3-fluoromethylisobutyranilide (Flutamide, NFBA) in a dose of 10 mg/kg for 5 days. With disturbances in sexual development this effect was slight or absent. This phenomenon is suggested to be used for clinical purposes. There were no correlations between gonadotropins contents in urine, LH and testosterone levels in blood plasma in healthy men and patients after NFBA administration. Urine excretion of 17-ketosteroids in examined men did not change. A conclusion is made on participation of androgen receptors in realization of androgen-dependent regulation LH and FSH secretion in people.

Institute of Endocrinology
and Metabolism, Kiev, USSR