

15. Прокопенко Л. Г., Равич-Щербо М. И. Обмен иммуноглобулинов.— М.: Медицина, 1974.—224 с.
16. Tajima S., Nishimura N., Ito K. Suppression of delayed-type hypersensitivity mediated by macrophage-like cells in mice with experimental liver injury // Immunology.— 1985.—54, N 1.— P. 57—64.
17. Jerne N. K., Nordin A. A. Plaque formation in agar by single antibody-producing cells // Science.— 1963.—140, N 2.— P. 405—408.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила 12.05.87

УДК 616—092.9:612.622.1:612.627.8

Влияние половых гормонов на содержание циклических нуклеотидов в денервированной матке крыс

Л. А. Попова

Изучение патогенеза нейродистрофического процесса в матке, являющейся гормонозависимым органом, включает выяснение взаимосвязи нервного механизма и эффектов половых стероидов в ее тканях. За последние десять лет появились сообщения о том, что стероидные гормоны, помимо их общепризнанного действия через цитозольные и ядерные рецепторы, оказывают влияние также через универсальные внутриклеточные регуляторы (цАМФ и цГМФ), изменяя их концентрацию [4, 11, 12, 16, 19]. Показаны увеличение активности аденилат- и гуанилатциклазы в тканях матки при действии половых гормонов, а также непосредственное связывание эстрогенрецепторного комплекса с фосфодиэстеразой, что приводит к снижению активности последней и возрастанию концентрации циклических нуклеотидов соответственно [2, 12]. Известно кроме того, что аденилат- и гуанилатциклазная системы в матке подчинены влияниям нейромедиаторов, однако соотношение действия этих медиаторов и половых гормонов на внутриклеточные регуляторные системы остается во многом неясным.

В настоящей работе представлены результаты изучения влияния эстрадиола и прогестерона на содержание циклических нуклеотидов в матке крысы при нарушении ее симпатической и парасимпатической нейрорегуляции, т. е. возможности реализации цАМФ- и цГМФ-зависимых эффектов половых гормонов в этих условиях.

Методика

Исследование проведено на 98 белых беспородных крысах-самках массой 120—150 г, которые за 10—14 сут до взятия экспериментального материала подвергались билатеральной овариэктомии. Одним животным за сутки до операции либо в течение последних трех суток перед операцией вводили внутримышечно 17 β -эстрадиол-дипропионат (300 мкг/кг ежедневно), другим — на фоне эстрадиола в течение двух последних суток перед операцией вводили еще прогестерон (по 30 мг/кг). В последнем случае имитировали природную последовательность действия половых гормонов. Контролем служили овариэктомизированные животные, которым не вводили гормонов. Денервация матки, производимая одновременно с овариэктомией, заключалась в повреждении симпатических (десимпатизация — ДС) либо парасимпатических (депарасимпатизация — ДПС) нервных волокон, подходящих к матке. При ДС полностью удаляли все нервные образования, находящиеся на передней поверхности брюшной аорты, и частично — подчревные нервы [10] и обрабатывали наиболее крупные маточные сосуды 96%-ным спиртом. ДПС рогов матки производили поперечным перерезанием их в месте на 0,5—0,7 см выше бифуркации органа с последующим соединением отрезков полихлорвиниловой трубкой для оттока содержимого из полости [5]. При этом перерезали парасимпатические нервы, входящие в матку снизу от сакрального сплетения.

Операции проводили под гексеналовым наркозом (100 мг/кг), животных умерщвляли декапитацией.

Для подтверждения роли медиаторного компонента в осуществлении влияния симпатических и парасимпатических нервов проводили опыты с введением резерпина в виде препарата рауседила (2 мг/кг ежедневно в течение трех суток) и сернокислого атропина (20 мг/кг трижды в сутки в течение трех суток). Содержание цАМФ и цГМФ определяли с помощью стандартных наборов «Cyclic AMP», «GMP Assay Kit» фирмы «Amersham» (Англия). Пробы высушивали и сухой остаток растворяли в 0,4 мл буфера, имеющегося в наборах. Подсчет радиоактивности проб проводили в сцинтилляторе ЖС-8 на счетчике «Intertechnique-SL30» (Франция). Цифровые данные обрабатывали статистически.

Результаты и их обсуждение

Проведенные опыты позволили установить, что в тканях матки овариэктомированных крыс содержание циклического цАМФ составляет ($136,8 \pm 6,4$), а цГМФ — ($25,6 \pm 4,0$) пмоль/г (таблица). Хирургическая ДС или ДПС органа у этих животных концентрацию цАМФ не изме-

Содержание циклических нуклеотидов в тканях денервированной матки овариэктомированных крыс при введении различных половых гормонов, пмоль/г

Условие эксперимента	цАМФ	цГМФ	
Овариэктомия (контроль)	$136,8 \pm 6,4$ (5)	$25,6 \pm 4,0$ (5)	
Десимпатизация (ДС)	$140,7 \pm 8,3$ (5)	$14,5 \pm 1,9$ (5)	$P_1 < 0,05$
Депарасимпатизация (ДПС)	$131,1 \pm 11,8$ (5)	$15,2 \pm 2,4$ (5)	$P_1 < 0,05$
Введение рауседила	$146,3 \pm 9,9$ (6)	$15,1 \pm 2,1$ (5)	$P_1 < 0,05$
Введение атропина	$139,4 \pm 7,6$ (6)	$16,2 \pm 1,9$ (5)	$P_1 < 0,05$
Введение эстрадиола: одноразовое	$138,0 \pm 9,1$ (6)	$39,0 \pm 3,6$ (5)	$P_2 < 0,05$
трехразовое	$241,2 \pm 16,0$ (6)	$51,2 \pm 4,0$ (6)	$P_2 < 0,001$
при ДС	$152,0 \pm 20,4$ (7)	$15,6 \pm 2,0$ (7)	
при ДПС	$132,0 \pm 10,0$ (7)	$21,6 \pm 2,8$ (7)	
при действии рауседила	$140,0 \pm 22,0$ (5)	$13,6 \pm 2,4$ (5)	$P_2 < 0,05$
при атропинизации	$162,8 \pm 6,0$ (7)	$12,8 \pm 1,6$ (7)	$P_3 < 0,05$
Собственно введение эстрадио- ла и прогестерона	$183,2 \pm 8,0$ (7)	$29,2 \pm 2,8$ (7)	$P_2 < 0,01$
Введение эстрадиола и прогесте- рона: при ДС	$149,6 \pm 10,4$ (7)	$17,2 \pm 2,4$ (7)	
при ДПС	$152,0 \pm 12,2$ (7)	$13,6 \pm 2,8$ (7)	
при действии рауседила	$144,0 \pm 12,0$ (7)	$12,0 \pm 2,4$ (6)	
при атропинизации	$151,8 \pm 11,8$ (5)	$16,0 \pm 3,2$ (5)	

Примечание. Р указано только при достоверных различиях, P_1 — достоверность различий между показателями в контрольном и денервированном органах при одинаковом гормональном фоне, P_2 — достоверность различий между показателями в аналогичных сериях (контроль, ДС и др.) при овариэктомии и введении гормонов овариэктомированным животным, P_3 — достоверность различий между показателями серий животных с ДПС матки и получавших атропин; в скобках — число опытов.

няла, но цГМФ снижали до $(14,5 \pm 1,9)$ и $(15,2 \pm 2,4)$ пмоль/г соответственно. Фармакологическое выключение адренергических и холинергических нервных влияний рауседелом и атропином оказывало действие, аналогичное хирургической денервации (см. таблицу).

Эстрадиол при трехкратном его введении овариэктомированным животным увеличивал концентрацию цАМФ от $(136,8 \pm 6,4)$ до $(241,2 \pm 16)$ и цГМФ — от $(25,6 \pm 4,0)$ до $(51,2 \pm 4,0)$ пмоль/г. При однократном введении гормона наблюдали только небольшое, но достоверное увеличение концентрации цГМФ. Полученные нами результаты подтверждаются данными, имеющимися в литературе, об активации аденилат- и (еще в большей мере) гунилатциклазной системы в тканях матки при введении эстрогенов [12, 19].

Изучение этих же эффектов в матке с нарушенной симпатической нейрорегуляцией (хирургическая ДС, введение резерпина) показало, что при трехкратном введении эстрадиола в данных условиях концентрация циклических нуклеотидов не повышается. Нарушение парасимпатических нервных влияний на матку в результате перерезки соответствующих нервов либо введения атропина также препятствовало проявлению действия эстрогенов на содержание циклических нуклеотидов. При этом, как и на фоне ДС, значения концентрации цАМФ и цГМФ в тканях оставались близкими к таковым в соответствующих сериях при овариэктомии (см. таблицу). Полученные результаты свидетельствуют о том, что на фоне выключения нервных влияний действие эстрадиола на содержание циклических нуклеотидов в тканях матки не проявляется.

Следующая часть наших опытов представлена аналогичными исследованиями, но проведенными на фоне комбинированного влияния половых гормонов (эстрадиола и прогестерона). Как следует из результатов, представленных в таблице, введение этих гормонов овариэктомированным животным увеличивало концентрацию цАМФ, значение которой при этом было выше такового при овариэктомии, но ниже, чем при введении только эстрадиола и составляло $(183,2 \pm 8,0)$ пмоль/г. Концентрация цГМФ не изменялась, что свидетельствует о нивелировании прогестероном повышения его содержания, вызываемого трехкратным введением эстрадиола, т. е. по отношению к цГМФ эти гормоны проявляли себя как антагонисты.

Хирургическая и фармакологическая ДС матки, как следует из таблицы, предотвращала повышение концентрации циклического АМФ, вызываемое введением комбинации половых гормонов, и значение ее при этом оставалось близким к таковому в аналогичных сериях овариэктомированных животных. При перерезке парасимпатических нервов и введении атропина наблюдался аналогичный эффект — действие гормонов на концентрацию АМФ не реализовалось (см. таблицу).

Таким образом, в результате проведенных опытов выяснилось, что на фоне выключения нервных влияний в матке повышения концентрации циклических нуклеотидов в ее тканях, вызываемого действием половых гормонов, не происходит. Если для концентрации циклических нуклеотидов определить уровни базальных значений, характерных для низкого фона половых гормонов (овариэктомия) и гормонорегулируемых, то можно сказать, что нервные влияния на матку имеют отношение к контролю обоих значений цГМФ, а по отношению к цАМФ их действие проявляется только на гормонорегулируемом уровне. Из этого следует, что нейрорегуляторные влияния на цГМФ-зависимые процессы в матке только отчасти подчинены действию половых гормонов, в то время как нервная регуляция цАМФ-зависимых процессов в основном детерминирована гормонами.

Сравнивая результаты, полученные при хирургической ДС и введении резерпина, видно, что значения концентраций циклических нуклеотидов при этих воздействиях существенно не отличались, и это можно трактовать как доказательство медиаторной природы симпатических нервных влияний в данном случае. Сопоставление значений концентрации циклических нуклеотидов в тканях при хирургической

ДПС и введении атропина выявило достоверные различия содержания цАМФ на фоне эстрадиола. Более низкая концентрация цАМФ при ДПС свидетельствует о выключении, кроме холинергических, еще каких-то (видимо, сенсорных) влияний, участвующих в регуляции данного показателя. Обращало также на себя внимание, что концентрация цГМФ при хирургической ДПС была более высокой, чем при других нарушениях нервных влияний. Объяснить это можно развитием в тканях, наряду с дистрофическими, еще и воспалительных явлений вследствие повреждения сенсорных проводников [8]. Образующиеся при этом стимуляторы репарации могут активировать гуанилатциклазу.

Анализ полученных результатов позволил сделать предположение, что нейрорегуляторные механизмы в матке могут играть роль посредников в реализации цАМФ- и цГМФ-зависимых эффектов половых гормонов. Аналогичная точка зрения существует в отношении роли гистамина [6]. В пользу нашего предположения свидетельствуют результаты предыдущих исследований, а также данные, полученные рядом авторов, показавшие, что эстрогенные гормоны в матке крысы стимулируют процесс медиации катехоламин (КА)-содержащих нервов, меньше — АХЭ-положительных. Последние больше активируются на фоне комбинированного воздействия эстрадиолом и прогестероном. Перерезка нервов матки вызывала снижение в ее тканях ряда морфологических и биохимических эффектов эстрогенов [7, 8, 9, 14]. В реализации нейрорегуляторных влияний на ткани безусловно принимают участие активируемые ими системы местных регуляторов, которые также изменяют концентрацию циклических нуклеотидов в клетках. Как показали наши предыдущие исследования, активация адренергической нейромедиации приводит к стимуляции секреции серотонина тучными клетками, особенно на фоне эстрадиола. Стимулирующие влияния парасимпатических нервов показаны по отношению к тучным клеткам и накоплению гистамина в тканях при обоих гормональных фонах. В матке аденилатциклазная система активируется КА (через β -адренорецепторный механизм), гистамином (через рецепторы типа H_2), активность гуанилатциклазы возрастает при возбуждении α -адрено-, М-холино- и серотониновых рецепторов [1, 12, 16, 18]. Содержание циклических нуклеотидов при этом определяется не только интенсивностью регуляторных воздействий, но и числом соответствующих рецепторов в клетках, т. е. чувствительностью клеток. Увеличение содержания катехоламинов в матке под влиянием эстрадиола [7, 14] и усиление синтеза α -адренорецепторов при этом [16] предполагает участие α -адренорецепторного механизма в реализации эффектов гормона, что было подтверждено при изучении количества цГМФ [16]. Значение же β -рецепторного механизма в этом пока не выяснено [12, 18]. Более обоснованным является участие β -рецепторов в реализации цАМФ-эффектов прогестерона, который стимулирует их синтез [16]. В литературе имеются также убедительные данные о существенной роли гистамина как посредника действия эстрогенов [6].

В наших опытах хирургическая и фармакологическая ДС матки предотвращала повышение концентрации цАМФ при обоих гормональных фонах и цГМФ — при действии эстрадиола. Исходя из сказанного выше, первое можно предположительно рассматривать как следствие в основном выключения β -адренергических механизмов, отсутствие же изменений со стороны цГМФ объясняется ослаблением α -адренергических влияний и серотонина. Последствия нарушения парасимпатической нейрорегуляции в виде неповышения концентрации цАМФ при обоих гормональных фонах можно трактовать как результат снижения синтеза гистамина в тканях вследствие угнетения гистидиндекарбоксилазы при дефиците ацетилхолина [3]. Наряду с этим, недостаточность гистамина может быть обусловлена снижением секреторной функции тучных клеток в условиях длительного нарушения как симпатических, так и парасимпатических нервных влияний.

Выводы

1. Существует однонаправленность влияний половых гормонов и нейромедиаторов симпатических и парасимпатических нервов на количество циклических нуклеотидов в матке. На фоне эстрадиола это выражается в заметном повышении концентрации цГМФ и меньше — цАМФ, при комбинированном действии эстрадиола и прогестерона — только в повышении концентрации цАМФ.

2. Выключение симпатических и парасимпатических нейрорегуляторных механизмов предотвращает вызванное гормонами повышение содержания циклических нуклеотидов. Это свидетельствует, с одной стороны, о снижении влияния эстрадиола и прогестерона в матке при нарушении ее иннервации, с другой, — о существенной роли нервных механизмов в реализации поздних цАМФ- и цГМФ-зависимых эффектов половых гормонов.

THE EFFECT OF SEX HORMONES ON THE CONTENT OF CYCLIC NUCLEOTIDES IN THE RAT DENERVATED UTERUS

L. A. Popova

Estradiol dipropionate increased the amount of cGMP and to less extent that of cAMP in the uterine tissues of ovariectomized rats. The combined effect of estradiol and progesterone promoted rise only in the cAMP level. Surgical and pharmacological denervation of both sympathetic and parasympathetic nerve influences in uterus suppressed the effect of the above hormones. Thus, neuromediator processes play an essential role in realization of cAMP- and cGMP-dependent effects in the general program of the sex hormone action in the above organ.

A. A. Bogomoletz Medical Institute,
Ministry of Public Health of the
Ukrainian SSR, Kiev

1. Биохимическая фармакология: Учеб. пособие для вузов / Под ред. П. В. Сергеева. — М.: Высш. школа, 1982. — 343 с.
2. Гарновская М. Н., Думлер И. Л. Участие рецептора эстрадиола в ингибировании гормоном фосфодиэстеразы циклических нуклеотидов ткани матки // Укр. биохим. журн. — 1984. — 56, № 6. — С. 633—637.
3. Демин Н. Н. Влияние ацетилхолина на активность декарбиксилаз аминокислот // Тр. ин-та морфологии животных им. А. Н. Северцова. — 1952. — Вып. 6. — С. 93.
4. Кондратюк Т. П., Бабич Л. Г., Осипенко А. А. и др. Содержание циклических нуклеотидов в миометрии крольчих при различных функциональных состояниях // Вопр. мед. химии. — 1985. — 31, вып. 2. — С. 55—59.
5. Ласси Н. И. О влиянии денервации матки на ее спонтанную сократительную активность // Физиол. журн. СССР. — 1969. — 55, № 4. — С. 501—507.
6. Панкова Т. Г., Игонина Т. М., Салганик Р. И. Роль гистамина как посредника в действии эстрадиола на матку крыс: торможение гормональной индукции ферментов с помощью антагонистов гистамина // Пробл. эндокринологии. — 1985. — 31, № 3. — С. 73—78.
7. Попова Л. А. Влияние половых гормонов на характер нервного контроля в матке крыс // Тез. науч. конф. Укр. респ. о-ва патофизиологов. — Запорожье, 1985. — С. 114.
8. Попова Л. А., Задорожная Т. Д., Куфтырева Т. И. Изменения структуры матки при нарушении ее симпатической и парасимпатической иннервации и влияния на них половых гормонов // Проблемы невынашивания беременности и гнойно-воспалительные заболевания в современном акушерстве. — Львов, 1986. — С. 188—189.
9. Попова Л. А., Радловская З. Т. Влияние эстрадиола на содержание нуклеиновых кислот в матке с нарушенной иннервацией // Общая и молекулярная генетика. — Киев, 1986. — Ч. 1. — С. 82—83.
10. Светлов П. Г., Корсакова Г. Ф. Оперативная методика нарушения иннервации матки у крыс // Патофизиология внутриутробного развития. — Л.: Медгиз, 1959. — С. 86—94.
11. Bekairi A. M., Sanders R. B., Yochim J. H. Uterine adenylate cyclase activity during the estrous cycle and early progestation in the rat: Responses to fluoride activation and decidual induction // Biol. Reprod. — 1984. — 31, N 4. — P. 742—751.
12. Chew C. S., Rinard G. A. Estrogenic regulation of uterine cyclic AMP metabolism // Biochim. and Biophys. acta. — 1974. — 362, N 3. — P. 493—500.
13. Fell D. A. Theoretical analyses of the functioning of the high- and low Km cyclic