

О. В. Сачинська

Вміст нуклеїнових кислот і білка у передміхуровій залозі щурів за умов поєднаного застосування агоніста гонадоліберину та блокатора рецепторів андрогенів

В опытах на половозрелых самцах крыс изучали влияние блокатора андрогенных рецепторов флутамида (нифтолид) и/или агониста ЛГ-рилизинг гормона сурфагона на содержание нуклеиновых кислот и белка в вентральной доле предстательной железы. Показано, что комбинированное применение препаратов потенцирует "антипростатические" эффекты каждого из них, что выразилось в значительном снижении содержания ДНК, РНК и белка в органе.

ВСТУП

Морфологічна будова та функціональна активність передміхурової залози контролюються багатьма гормональними чинниками, однак основну роль у регуляції залози відіграють андрогени. Чоловічі статеві гормони регулюють фізіологічну активність клітин простати, впливаючи на головні біохімічні процеси - транскрипцію та трансляцію [2]. Дія андрогенів на передміхурову залозу опосередковується специфічними цитозольними білками-рецепторами. Гормон-рецепторні комплекси можуть безпосередньо стимулювати ініціацію транскрипції і трансляції та реплікацію ДНК [3]. Селективні блокатори андрогенних рецепторів здатні пригнічувати біологічні ефекти андрогенів у передміхуровій залозі, призводячи до часткової регресії органа. Ця здатність антиандрогенів використовується в паліативній терапії гормональнозалежних пухлин передміхурової залози [1,2,8].

Андрогенопоз у сім'яниках залежить від вмісту гіпофізарного лютропіну (ЛГ) у плазмі крові. Синтез і секреція ЛГ здійснюється в пульсуючому режимі у відповідь на пуль-

суюче надходження гіпоталамічного гонадотропін-рилізинг гормону (ЛГ/ФСГ-РГ) у портальну систему гіпофіза. Тривала неперервна дія ЛГ-РГ або його агоністів на гонадотропоцити гіпофіза призводить до парадоксального ефекту - зниження кількості мембранних рецепторів ЛГ-РГ та, як наслідок, втрати чутливості гонадотропоцитів до нього [5,6]. Внаслідок цього значно зменшується вміст гонадотропінів і, отже, тестостерону в плазмі крові. Цей феномен індукованої ЛГ-РГ десенситизації гонадотропоцитів використовують у клінічній практиці. Так, агоністи ЛГ-РГ успішно застосовують для лікування гормональнозалежних форм раку передміхурової залози [1,6,9,11].

Найбільшої регресії передміхурової залози досягають при комбінованому застосуванні агоністів ЛГ-РГ з антиандрогенами. Механізми сумісної дії цих препаратів остаточно не визначені. У зв'язку з цим метою нашої роботи було вивчення вмісту нуклеїнових кислот і білка у вентральній частці передміхурової залози щурів (ВП) при комбінованому застосуванні агоніста ЛГ-РГ сурфагону (D-Ala-ЛГ-РГ, фірма "Vareks LTD",

Латвія) та нестероїдного антиандрогену флутаміду (ніфтолід, ХФО “Дарниця”, Україна), а також експериментальна перевірка припущення про потенціювання дій цих препаратів.

МЕТОДИКА

Експерименти проведені на 65 статевозрілих самців щурів лінії Вістар масою 220-260 г. Протягом 30 діб тварини одержували щодобово ніфтолід з розрахунку 10 мг/кг (всередину у вигляді 1 %-ї суспензії в гелі Дорфмана – фізіологічний розчин, що містить 0,5 % натрієвої солі карбоксиметилцелюлози, 0,4 % твіну-80, 0,9 % бензилового спирту) та/або сурфагон у дозах 25, 50 і 100 мкг/кг (підшкірно у фізіологічному розчині). Контрольні тварини одержували плацебо. Через добу після останнього введення препаратів тварин декапітували. ВП зважували, заморожували і зберігали при -20°C до аналізу, а згодом досліджували вміст нуклеїнових кислот та білка [4].

Результати досліджень опрацьовували статистично з використанням критерію t Стюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідів наведено в таблиці.

Слід зазначити, що окреме застосування препаратів здійснювало помірний інгібуючий вплив на ВП. Так, ніфтолід викликав вірогідне зниження вмісту РНК та білка в органі, без зміни їхнього вмісту в 1 мг тканини. Також знижувалося співвідношення РНК/ДНК та спостерігалось підвищення концентрації ДНК в 1 мг тканини у 1,3 раза. Окреме застосування сурфагону у всіх досліджуваних дозах викликало зменшення вмісту РНК в органі. При застосуванні препарату в дозах 25 і 50 мкг/кг знижувався вміст РНК в 1 мг тканини. У разі введення сурфагону в дозах 25 та 100 мкг/кг відмічалось зниження вмісту білка в органі (в 1,7 та 1,5 раза відповідно). У групі тварин, що отримували

сурфагон в дозі 25 мкг/кг зменшувалося співвідношення РНК/ДНК у 1,3 раза.

Слід зазначити, що при застосуванні самого сурфагону ми не спостерігали дозозалежного ефекту ні на один із досліджуваних показників. Ймовірно, це пояснюється тим, що найменша з використаних у досліді доз уже здатна викликати максимально можливу десенситизацію гонадотропоцитів гіпофіза і подальше збільшення дози не призводить до посилення ефекту.

При комбінованому застосуванні підтвердилося припущення про потенціювання ефектів кожного з препаратів. Так, вміст ДНК в 1 мг тканини підвищився в 2,2-2,7 раза порівняно зі значеннями у тварин, що одержували плацебо. Цей показник був вірогідно більшим також щодо значень такого у тварин, котрі отримували кожен з препаратів окремо. Вміст ДНК в органі значно зменшувався. Різноманітні зміни вмісту ДНК в органі та в 1 мг тканини можна пояснити тим, що при блокаді андрогенного впливу спочатку зменшується об'єм цитоплазми при одночасному збереженні розміру ядер [2]. Слід відзначити також значне зменшення вмісту РНК в органі (в 6-12 разів порівняно зі значеннями у тварин, що отримувала плацебо, та в 4-8 разів - з групами, що отримували препарати окремо) та білка в залозі. Крім того, при сумісному введенні препаратів спостерігали істотне зменшення вмісту РНК в 1 мг тканини щодо значень у тварин, які одержували плацебо або лише ніфтолід. Однак найбільш ефективною відносно цього показника виявилася комбінація ніфтоліду з сурфагоном у дозі 50 мкг/кг.

Як видно з таблиці, при комбінованому застосуванні препаратів підвищення дози сурфагону з 25 до 50 мкг/кг призводило до посилення антипростатичних ефектів - вірогідно зменшувалися вміст РНК в 1 мг тканини, вміст нуклеїнових кислот в органі та співвідношення РНК/ДНК. Комбінація ніфтоліду з сурфагоном в дозі 100 мкг/кг виявилася менш ефективною, ніж із сурфагоном у дозі 50 мкг/кг. Це явище може мати таке

**Вплив ніфтолід, сурфагону або їх комбінації на вміст нуклеїнових кислот і білка у вентральній частці передміхурової залози щурів
(M±m)**

Умова дослід, група тварин	n	ДНК, мкг/мг тканини	ДНК, мг/орган	РНК, мкг/мг тканини	РНК, мг/орган	ДНК/РНК	Білок, мкг/мг тканини	Білок, мг/орган
Контроль (I група)	15	3,26±0,10	1,10±0,06	2,54±0,12	0,84±0,06	0,76±0,03	46,71±2,49	15,68±1,07
Ніфтолід (II група)	8	4,29±0,18 P _{I,II} <0,001	0,92±0,07	2,74±0,2	0,58±0,05 P _{I,II} <0,01	0,64±0,04 P _{I,II} <0,05	55,06±3,72	11,80±1,02 P _{I,II} <0,05
Сурфагон, 25мкг/кг (III група)	7	3,54±0,19	0,91±0,14	2,05±0,18 P _{I,III} <0,05	0,54±0,10 P _{I,III} <0,05	0,58±0,04 P _{I,III} <0,01	36,20±3,23 P _{I,III} <0,05	9,32±1,56 P _{I,III} <0,05
Сурфагон, 50мкг/кг (IV група)	7	3,18±0,09	0,93±0,07	2,04±0,17 P _{I,IV} <0,05	0,61±0,09 P _{I,IV} <0,05	0,64±0,05	47,13±4,86	13,97±1,92
Сурфагон, 100мкг/кг (V група)	7	3,29±0,11	0,84±0,09 P _{I,V} <0,05	2,18±0,22	0,57±0,10 P _{I,V} <0,05	0,66±0,06	40,70±2,42	10,61±1,46 P _{I,V} <0,05
Ніфтолід і сурфагон, 25мкг/кг (VI група)	6	8,78±0,67 P _{I,VI} <0,001 P _{II,VI} <0,001 P _{III,VI} <0,001	0,62±0,08 P _{I,VI} <0,001 P _{II,VI} <0,05	1,87±0,15 P _{I,VI} <0,01 P _{II,VI} <0,01	0,14±0,03 P _{I,VI} <0,001 P _{II,VI} <0,001 P _{III,VI} <0,001	0,22±0,02 P _{I,VI} <0,001 P _{II,VI} <0,001 P _{III,VI} <0,001	49,40±2,74 P _{III,VI} <0,01	3,53±0,50 P _{I,VI} <0,001 P _{II,VI} <0,001 P _{III,VI} <0,001
Ніфтолід і сурфагон, 50мкг/кг (VII група)	8	8,13±0,27 P _{I,VII} <0,001 P _{II,VII} <0,001 P _{IV,VII} <0,001	0,40±0,02 P _{I,VII} <0,001 P _{II,VII} <0,001 P _{IV,VII} <0,001 P _{VI,VII} <0,05	1,37±0,08 P _{I,VII} <0,001 P _{II,VII} <0,001 P _{IV,VII} <0,01 P _{VI,VII} <0,05	0,07±0,005 P _{I,VII} <0,001 P _{II,VII} <0,001 P _{IV,VII} <0,001 P _{VI,VII} <0,05	0,17±0,01 P _{I,VII} <0,001 P _{II,VII} <0,001 P _{IV,VII} <0,001 P _{VI,VII} <0,05	52,47±1,68	2,60±0,13 P _{I,VII} <0,001 P _{II,VII} <0,001 P _{IV,VII} <0,001
Ніфтолід і сурфагон, 100мкг/кг (VIII група)	7	7,28±0,27 P _{I,VIII} <0,001 P _{II,VIII} <0,001 P _{V,VIII} <0,001 P _{VII,VIII} <0,05	0,55±0,04 P _{I,VIII} <0,001 P _{II,VIII} <0,001 P _{V,VIII} <0,05 P _{VII,VIII} <0,01	1,84±0,17 P _{I,VIII} <0,001 P _{II,VIII} <0,01 P _{VII,VIII} <0,05	0,14±0,02 P _{I,VIII} <0,001 P _{II,VIII} <0,001 P _{V,VIII} <0,01 P _{VII,VIII} <0,01	0,25±0,02 P _{I,VIII} <0,001 P _{II,VIII} <0,001 P _{V,VIII} <0,001 P _{VII,VIII} <0,01	53,00±2,38 P _{V,VIII} <0,01	4,05±0,37 P _{I,VIII} <0,001 P _{II,VIII} <0,001 P _{V,VIII} <0,001 P _{VII,VIII} <0,01

пояснення. Відомо, що активним гормоном у передміхуровій залозі є 5 α -дигідротестостерон (ДГТ), що утворюється безпосередньо в клітинах залози через відновлення тестостерону (Т) за допомогою 5 α -редуктази. Як було показано раніше, тривале (30 діб) застосування ніфтолідіду в дозі 10 мг/кг пригнічує утворення ДГТ у вентральній частці передміхурової залози [2]. У свою чергу Belanger і співавт. показали, що агоністи ЛГ-РГ викликають підвищення активності 5 α -редуктази у щурів [6]. Це може призводити до того, що незмінна доза антиандрогену є достатньою для запобігання підвищенню активності ферменту, котре може викликати сурфагон у дозах 25 і 50 мкг/кг, і замалою - для сурфагону в дозі 100 мкг/кг.

Значне взаємопотенціювання ефектів препаратів може спричинитись декількома факторами. По-перше, під впливом агоніста ЛГ-РГ сурфагону пригнічується синтез і секреція Т гонадами, внаслідок чого "полегшується" дія ніфтолідіду в клітинах простати. Блокада ніфтолідом зв'язування залишкових андрогенів з рецепторами, в свою чергу, посилює антипростатичні ефекти сурфагону.

Таким чином, комбіноване застосування препаратів значно пригнічує основні біосинтетичні процеси в клітинах вентральної простати, що є закономірним результатом прямого впливу ніфтолідіду на передміхурову залозу та пригнічення сурфагоном системи гіпофізу – сім'яники [1]. Отримані результати є, по-перше, додатковим свідченням функції рецепторів андрогенів як таких, що опосередковують стимулюючий вплив чоловічих статевих гормонів на передміхурову залозу. По-друге, вони наводять на думку про можливість використання вивченої комбінації фармакологічних препаратів з метою гормональної терапії раку передміхурової залози.

O.V. Sachinska

THE CONTENT OF BIOPOLYMERS IN THE RAT PROSTATE UNDER COMBINED AGONIST LH-RELEASING HORMONE AND ANDROGEN RECEPTOR BLOCKER TREATMENT

The effects of androgen receptor blocker Flutamide (Niftolide) and/or LH-releasing hormone agonist Surofagon on the nucleic acids and protein contents in the ventral prostate of male rats were studied. It was shown that combined drug treatment led to potentiating of "antiprostatic" effects of both preparations resulted in significant decrease of DNA, RNA and protein contents.

V.P. Komissarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Возианов А.Ф., Резников А.Г., Клименко И.А. Эндокринная терапия рака предстательной железы. - К.: Наук. думка, 1999. - 280 с.
2. Резников А.Г., Варга С.В. Антиандрогены. - М.: Медицина, 1988. - 208 с.
3. Розен В.Б. Основы эндокринологии. - М.: Высш. школа, 1984. - 336 с.
4. Шаткин А. Колориметрические методы определения ДНК, РНК и белка. - В кн.: Методы вирусологии и молекулярной биологии / Ред. К.Хабель, М.П.Зальцман. - М.: Мир, 1972. - С. 84-89.
5. Braden T.D., Conn P.M. Gonadotropin-releasing hormone and its action // Can. J. Physiol. Pharmacol. - 1991. - **69**, N 4. - P. 445-458.
6. Furr B.J.A., Woodburn J.R. Luteinizing hormone-releasing hormone and its analogues: a review of biological properties and clinical uses // J. Endocrinol. Invest. - 1988. - **11**, N11. - P. 535-557.
7. Labrie F., Dupont A., Cusan L. et al. Combination therapy with flutamide and castration (LHRH agonist or orchiectomy) in previously untreated patients with clinical stage D2 prostate cancer: today's therapy of choice // J. Steroid Biochem. - 1988. - **29**. - P. 385-396.
8. Sciarra F., Toscano G., Di Silverio F. Antiandrogens: clinical applications // J. Steroid Biochem. - 1990. - **37**, N 3. - P 349-362.
9. Vacher P. Gn-RH agonists in the treatment of prostatic carcinoma // Biomedicine and Pharmacotherapy. - 1995. - 49, N 7-8. - P. 325-331.
10. Wajsman Z. Arguments for the long-term use of combined androgen blockade // Eur. Urol. - 1998. - **34**. - Suppl 3. - P 25-28.

11. Waxman J.H., Sandow J., Abel P. et al. Tow monthly depot gonadotropin- releasing hormone agonist (buserelin) for treatment of prostatic cancer // Acta Endocrinol. - 1989. - **120**, N 3. - P. 315-318.

*Ин-т ендокринології та обміну речовин
ім. В.П.Комісаренка АМН України, Київ*

*Матеріал надійшов
до редакції 18.04.2001*