

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ, ОЦЕНКА И СУЩНОСТЬ ГИСТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ЭСТРОГЕН-ИНДУЦИРОВАННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В МАТКЕ

В данной работе все эксперименты были выполнены на половозрелых овариэктомированных крысах. Этот экспериментальный подход позволяет исключить влияния циклических колебаний не только эстрогенов, но и гестагенов, которые, естественно, имеют место на протяжении эстрального цикла. Кроме того, при использовании стандартной дозы вводимых эстрогенов, в матке развивается стандартная реакция, отклонения от которой достаточно легко зарегистрировать. Это последнее обстоятельство особенно важно, так как вся работа направлена именно на обнаружение изменений в нормальной реакции матки на эстрогеновую стимуляцию.

Некоторые ученые [Biggsby RM, 1993; Shelley ME et al, 1994] в качестве альтернативной модели проводят эксперименты на неполовозрелых животных, у которых отсутствует циклическая деятельность яичников. Однако, у половозрелых и неполовозрелых животных имеются некоторые отличия в реагировании матки на половые гормоны, так как при введении половых стероидов препубертатным животным мы можем наблюдать только первую в их жизни реакцию тканей-мишеней на гормональную стимуляцию в органах, которые сами еще не полностью сформированы, и где еще не полностью развиты рецепторные системы, способные воспринимать гормональные сигналы [Остин К., Шорт Р., 1987; Liu FTY, 1960; Terada N et al, 1985]. По этому поводу можно лишь добавить, что овариэктомированные животные являются классической моделью для изучения действия половых гормонов в тканях-мишенях, и используются очень многими исследователями.

Животные брались в опыты через 1 месяц после билатеральной овариэктомии. Этот промежуток времени, прошедший после удаления яичников, необходим для ликвидации последствий предшествующего влияния эстрогенов и прогестерона на органы-мишени, и именно для этих целей данный срок является более чем достаточным и мог бы быть намного меньше. У этой маленькой проблемы имеется еще одна сторона - оперативное вмешательство, которое неминуемо вызывает стрессовую реакцию, последствия которой также должны быть ликвидированы до начала экспериментов. Поэтому, мы выбрали срок - 1 месяц после овариэктомии. Промежуток времени от 3 до 6 недель выдерживался после подобных операций во многих лабораториях [Лагучев С.С., 1970; Панкова Т.Г. и др., 1985; Kerr MB et al, 1991; Rajkumar K, 1993; Das SK et al, 1994; Suburo AM et al, 1995].

В настоящем исследовании для эстрогенизации был использован масляный раствор эстрадиола дипропионата, который вводился однократно внутримышечно в дозе 10 микрограмм на животное. Выбор именно этого эстрогена обусловлен тем, что эстрадиол является главным женским половым гормоном и его активность во много раз выше других эстрогенов - эстриола и эстрона [Остин К., Шорт Р., 1987; Теппермен Д., Теппермен Х., 1989]. Более того, эстрадиол, по сравнению с синтетическими аналогами имеет большую продолжительность действия - до 1 недели, что дает возможность использовать минимальное количество инъекций. Выбор эстрадиола обусловлен также тем, что действие этого гормона наиболее хорошо изучено в экспериментах по изучению эффектов эстрогенов в матке, так как большинство исследователей для этих целей применяли эстрадиол.

Использованная доза эстрадиола, 10 микрограмм, лишь немного выше физиологической, но не является токсической. Основанием для выбора данной дозировки явились многочисленные литературные данные, где, как мы смогли убедиться, в огромном количестве исследований была применена сходная доза эстрадиола [Епифанова О.И., 1965; Лагучев С.С., 1970, 1975; Schirar A et al, 1980; Mukku VR et al, 1982; Rajkumar K, 1993; Biggsby RM, Li A, 1994; Bani G et al, 1995].

Во всех экспериментах матки исследовались в три различных срока после введения эстрадиола - в 24, 36 и 48 часов. Эти сроки также были выбраны не случайно. В работах О.И. Епифановой (1965), С.С. Лагучева (1970, 1975), ставших классическими и посвященных исследованию реакций матки на эстрогены проводится детальный анализ выраженности морфологических проявлений действия эстрогенов в матке в различные сроки после введения данных гормонов. В этих монографиях показано, что максимальные морфологические проявления действия эстрогенов в матке наблюдаются с 24 до 48 часов после однократного введения эстрогенов. В эти временные промежутки регистрируется не только резкое нарастание высоты эпителиальных клеток, но и наблюдается наибольшее количество митозов в структурах матки. Данные многих других исследователей также свидетельствуют об этом [Локтионов А. С. и др., 1981; Lavia LA et al, 1984; Schatz R et al, 1984; Terada N et al, 1985; Di-Augustine RP et al, 1988; Conti CJ et al, 1981; Evans GS et al, 1990; Alkhalaf M et al, 1991; Galand P et al, 1992; Cicatiello L et al, 1993; Bhattacharyya N et al, 1994; Tan J et al, 1993; Biggsby RM, Li A,

1994; Finn SA et al, 1995]. Поэтому, мы сочли эти сроки - 24, 36 и 48 часов, наиболее удачными для использования в наших экспериментальных моделях.

Хорошо известно, что эстрогены индуцируют в матке огромное количество реакций, которые были достаточно детально описаны в литературном обзоре. Теперь попробуем задуматься, для какой цели эстрогены вызывают такое большое число изменений в различных видах обмена веществ, в синтезе и рецепции гормонов, эйкозаноидов, биоаминов, факторов роста, в функциональной активности макрофагов, тучных клеток, эозинофилов, и во многих других процессах. На наш взгляд, все это нужно для достижения, в основном, двух главных целей. Во-первых, для обеспечения как бы результирующих или конечных эффектов в матке - индукции роста и пролиферации тканей матки, без которых невозможно нормальное функционирование этого органа в секреторной фазе репродуктивного цикла, что в последующем может привести к отсутствию условий для имплантации и развития зародыша. С обеспечением первой цели тесно связана и вторая, которая заключается в строгом контроле процессов роста и пролиферации тканей матки, так как при отсутствии надлежащего слежения за интенсивно-пролиферирующей тканью могут развиваться очаги неконтролируемого роста - злокачественные опухоли. Эта мысль очень хорошо подтверждается избытком данных о том, что эстрогены способны индуцировать предраковые и злокачественные процессы в репродуктивных органах [Аmineва Х.К., Журавлева Т.Б., 1974; Li S et al, 1994; Leeuwen van FE et al, 1994; Yoshida A et al, 1994; Takahashi M et al, 1994; Walmer DK et al, 1995; Bucher JR et al, 1995]. Видимо, наличие эстроген-зависимых опухолей является результатом нарушений в работе систем, контролирующих действие эстрогенов в органах-мишенях. Все это обусловило не только выбор темы настоящего исследования - выяснение гистогенетических реакций матки при действии эстрогенов и других факторов, но и определило методические подходы для оценки действия эстрогенов в матке, с помощью которых можно зарегистрировать как бы конечный результат действия эстрогенов на матку - интенсификацию роста и пролиферации. Для этого было применено измерение размеров клеток, ядер и их ядрышек с последующим вычислением объемов данных структур, определение содержания ДНК и интенсивности пролиферации. Нужно отметить, что высокая достоверность этих простых методов, используемых долгое время, не вызывает никаких сомнений. И более того, все они являются весьма и весьма адекватными для поставленных исследовательских целей, так как только данные параметры, а например, не количество какого-либо фактора роста, не увеличение веса или кровоснабжения могут четко охарактеризовать интенсивность роста ткани и ее митотическую активность. Другими словами, изменение вышеупомянутых морфологических показателей наиболее четко отображает степень действия эстрогенов в матке и, естественно, их регистрация может дать самые достоверные и полные сведения об этом процессе [Епифанова О.И., 1965; Волкова О.В., 1983; Pakrasi PL et al, 1983; Branham WS et al, 1993; Hosie MJ, Murphy CR, 1995]. Следует отметить, что данные параметры позволяют не только вполне адекватно охарактеризовать эстроген-индуцированные изменения в матке, но и комплексно оценить направленность процессов, составляющих эстроген-индуцированный гистогенез.

Теперь предстоит выяснить, почему же такие универсальные индикаторы роста и пролиферации ткани как объемы клеток, ядер, ядрышек, уровень ДНК и митотическая активность являются специфическими морфологическими проявлениями действия эстрогенов в матке.

Известно, что эстрогеновые стероиды связываются с собственными рецепторами в цитозоле клеток матки [Green S, et al, 1987; Parker MG, 1993; Levin E et al, 1993; Maaroufi Y, Leclercq G, 1994]. Это сопровождается изменениями конформации рецептора и транспортировкой гормоно-рецепторного комплекса в ядро, где он взаимодействует с ДНК и вызывает активацию транскрипции специфических генов, что происходит во всех типах клеток матки [Schwartz JA, Skafar DF, 1993; Zhou Y et al, 1993; Anolik JH et al, 1995; Amso NN et al, 1994; Ben-Nur H et al, 1995]. Интенсификация транскрипционного процесса сопровождается деспирилизацией некоторых участков ДНК, поступлением в ядро новых молекул нуклеотидов, ферментов, обеспечивающих транскрипцию и процессинг РНК-транскриптов, различных белков [Thampan RV, 1985, 1988; Lutz WH, Barker KL, 1986; Komm BS et al, 1987; Brantley KM, Whelley SM, 1990; Usuki S, 1992; Yamashita S, 1995]. Кроме того, при этом в ядре начинает накапливаться вновь синтезированные РНК-транскрипты, промежуточные продукты процессинга и зрелые молекулы РНК [Haji M et al, 1984; Thampan RV, 1985, 1988]. Совершенно очевидно, что для повышенного количества молекул в ядре и для осуществления процессов, происходящих в нем необходимо большее пространство. Это и происходит - объем ядра начинает увеличиваться. Причем степень увеличения размеров клеточного ядра зависит от интенсивности его функциональной активности [Топчиева О.И. и др., 1978; Ганина К.П. и др., 1990; Lavia LA et al, 1985]. И при нарастании скорости транскрипции наблюдается прогрессирующее увеличение размеров ядра [Топчиева О.И. и др., 1978; Ганина К.П. и др., 1990; Lavia LA et al, 1985; Johannisson E et al, 1982, 1987]. Все это дает основание считать, что изменение объема ядра является прямым отображением его функциональной активности. Более того, увеличение объемов ядер в клетках матки после введения эстрогенов прямо и тесно коррелирует не только с процессами, ассоциированными с интенсификацией транскрипции, такими как повышение количества РНК, возрастание активности ферментов, обеспечивающих транскрипцию, изменение структуры хроматина, но и с общим количеством рецепторов эстрогенов в клетках матки, с численностью рецепторов, связанных с эстрогенами, с численностью эстрогеновых рецепторов, находящихся в ядре или связанных с ДНК, а также с концентрацией эстрогенов в крови [Рыжова Р.К., 1970; Топчиева О.И. и др., 1978; Ганина К.П. и др., 1990; Johannisson E et al, 1982, 1987; Lavia LA et al, 1985; Whelley SM, 1986; Greiss FC et al, 1986; Luck HJ et al, 1989; Bouhoff A et al, 1990; Murray MK, 1992; Tan J et al, 1993; Ben-Nur H et al, 1995]. Таким образом, можно заключить, что возрастание размеров

ядер клеток матки после введения эстрогенов является не только прямым отображением функциональной активности ядер, но и четким индикатором активности эстрогенных влияний на этот орган или, другими словами, отражает степень одной из реакций клеток матки на эстрогенную стимуляцию [Топчиева О.И. и др., 1978; Ганина К.П. и др., 1990; Brody S, Wiquvist N, 1960; Johannisson E et al, 1982, 1987; Lavia LA et al, 1985; Luck HJ et al, 1989; Bouhoff A et al, 1990; Lemos R, 1992; Murray MK, 1992; Tan J et al, 1993]. Все это дает право по изменению размеров ядра судить об интенсивности ответа маточных клеток на эстрогеновые стероиды.

В проведенных экспериментах было обнаружено увеличение объемов ядер клеток покровного эпителия, эпителия желез и клеток стромы эндометрия после введения эстрадиола. Причем, объемы ядер постоянно увеличивались от 24 к 36 и к 48 часам после инъекции эстрадиола. Теперь ясно, что эти факты однозначно свидетельствуют об эстроген-индуцированном повышении функциональной активности клеточных ядер, которая нарастала с течением времени от 24 к 48 часам от момента введения эстрадиола.

Говоря о внутриядерных процессах, нельзя не отметить, что эстрогены вызывают активацию транскрипции и в области ядрышковых организаторов [Muller RE, Knowler JT, 1984-1,2; Whelly SM, 1986; Brantley KM, Whelly SM, 1990], что сопровождается увеличением количества предшественников рРНК, продуктов их процессинга, формирующихся и зрелых субъединиц рибосом, а также различных белковых молекул, входящих в состав рибосом и обеспечивающих сборку их субчастиц [Топчиева О.И. и др., 1978; Ганина К.П. и др., 1990; Muller RE, Knowler JT, 1984-1,2; Whelly SM, 1986; Brantley KM, Whelly SM, 1990]. Можно сказать, что под влиянием эстрогенов наступает резкая активизация функциональных потенциалов ядрышка. Морфологически, повышение функциональной активности ядрышка проявляется увеличением его объема [Топчиева О.И. и др., 1978; Ганина К.П. и др., 1990; Roberts DK et al, 1988; Brantley KM, Whelly SM, 1990; Lemos R, 1992; Niwa K et al, 1992]. Причем, установлено, что степень увеличения ядрышковых размеров прямо и тесно коррелирует с интенсивностью транскрипции в области ядрышкового организатора и с количеством занятых эстрогеновых рецепторов в ядрах, с общим количеством рецепторов эстрогенов в клетках, концентрацией эстрогенов в крови [Топчиева О.И. и др., 1978; Ганина К.П. и др., 1990; Johannisson E et al, 1982, 1987; Roberts DK et al, 1988; Luck HJ et al, 1989; Bouhoff A et al, 1990; Brantley KM, Whelly SM, 1990; Niwa K et al, 1992; Lemos R, 1992]. Поэтому, можно считать, что такой показатель как объем ядрышка является не только четким отражением функциональной активности этой части ядра, но и служит одним из достоверных индикаторов степени эстрогенных влияний на матку. Таким образом, обнаруженное в настоящем исследовании повышение объемов ядрышек во всех структурах матки с 24 до 48 часов после введения эстрадиола обусловлено эстроген-индуцированным планомерным возрастанием функциональной активности ядрышка.

Процессы, происходящие в ядре под влиянием эстрогенов не могут не сказаться на цитоплазме клеток. Усиление транскрипции, интенсификация формирования рибосом приводят, во-первых, к увеличению количества матричных, транспортных РНК и рибосом [Konecki J et al, 1984; Muller RE, Knowler JT, 1984; Thampan RV, 1985; Labate ME et al, 1986; Lutz WH, Barker KL, 1986; Takahara H et al, 1992], а во-вторых, к активизации белкового синтеза в цитоплазме [Komm BS, Lyttle CR, 1984; Quarmby VE, Korach KS, 1984; Komm BS et al, 1986; Vaquer NZ, et al, 1993; Malini T, Vanithakumari G., 1993]. Вследствие возрастания активности биосинтеза белка наблюдается огромное количество изменений в цитоплазме, так как одни белковые молекулы являются строительным материалом для формирования новых органоидов, другие - ферментами, способствующими изменению хода биологических реакций и синтезу новых регуляторных веществ белковой и небелковой природы, третьи - представляют собой биологически-активные вещества, например, такие как факторы роста, продукты ряда протоонкогенов, также способные регулировать течение многих внутриклеточных процессов. Кроме того, молекулы белков выступают и в качестве рецепторов, изменяющих реагирование клетки на внешние стимулы, и в качестве транспортных систем, обеспечивающих поступление различных веществ в клетку и из клетки. В общем, к цитоплазме клеток матки имеет место увеличение количества различных молекул, что уже само по себе должно приводить к возрастанию объема клетки. Это и было зарегистрировано в настоящем исследовании в эпителиальных и стромальных клетках эндометрия. Но более того, эстрогены индуцируют также и весьма специфические изменения в ориентации белков цитоскелета. Известно, что под влиянием эстрогенов в цитоплазме эпителиальных клеток матки появляются длинные упорядоченные нити актиновых микрофиламентов, идущих от базальных к апикальным частям клеток [Luxford KA, Murphy CR, 1992, 1993]. Видимо, поэтому эстрадиол-индуцированное увеличение размеров эпителиальных клеток проявляется наибольшими изменениями в высоте клеток [Епифанова О.И., 1965; Топчиева О.И. и др., 1978; Волкова О.В., 1983; Brody S, Wiquvist N, 1960; Murray MK, 1992; Lemos R, 1992; Tan J et al, 1993]. Необходимо заметить, что течение многих биосинтетических реакций, интенсивность которых усиливается эстрогенами, тесно и прямо коррелирует с количеством рецепторов эстрогенов в клетках, с численностью рецепторов, связанных с хроматином, с концентрацией эстрогенов в крови [Епифанова О.И., 1965; Лагучев С.С., 1970; Топчиева О.И. и др., 1978; Ганина К.П. и др., 1990; Johannisson E et al, 1982, 1987; Lavia LA et al, 1984; Bouhoff A et al, 1990; Murray MK, 1992; Tan J et al, 1993; Krisinger J et al, 1993]. С другой стороны, установлено, что возрастание активности внутриклеточных биосинтетических реакций тесно взаимосвязанно с увеличением размеров клеток [Топчиева О.И. и др., 1978; Brody S, Wiquvist N, 1960; Johannisson E et al, 1982, 1987; Lavia LA et al, 1984; Luck HJ et al, 1989; Bouhoff A et al, 1990; Murray MK, 1992; Lemos R, 1992]. И кроме того, имеются достаточно четкие доказательства, что морфологическое состояние эпителиальных клеток матки, их размеры, высота эпителиальных клеток находятся в тесной связи с численностью эстрогеновых рецепторов, с количеством занятых эстроген-связывающих сайтов в ядрах в данных структурах [Топчиева О.И. и др., 1978;

Kirkland JL et al, 1981; Sanfilippo JS et al, 1985; Lavia LA et al, 1985; Greiss FC et al, 1986; Luck HJ et al, 1989; Murray MK, 1992; Tan J et al, 1993; Amso NN et al, 1994; Ben-Nur H et al, 1995], концентрацией эстрадиола в крови [Рыжова Р.К., 1970; Топчиева О.И. и др., 1978; Brody S, Wiquist N, 1960; Johannisson e et al, 1982, 1987; Lavia LA et al, 1984; Bouhoff A et al, 1990; Lemos R, 1992]. Поэтому, возрастание объемов клеток матки, происходящее после введения эстрогенов, является специфическим эффектом данных гормонов в матке, а степень возрастания клеточных размеров четко отображает силу эстрогенных влияний на матку. Следовательно, обнаруженное в данной работе повышение клеточных объемов во всех структурах матки свидетельствует об интенсификации внутриклеточных обменных процессов, индуцируемых эстрадиолом. А нарастание показателей объемов клеток, наблюдаемое при действии эстрадиола с 24 к 36 и 48 часам, следует расценивать как постепенное усиление эстрогенных влияний на орган, что обусловлено планомерной интенсификацией вышеназванных изменений метаболизма клеток матки.

Воздействие эстрогенов на генетический аппарат клеток матки приводит к существенным изменениям в кинетике их клеточных циклов. Хорошо известно, что эстрогеновые гормоны способствуют уменьшению продолжительности всех периодов клеточного цикла, стимулируют выход клеток из G₀- в G₁-фазу клеточного цикла [Лагучев С.С., 1970, 1975; Galand P, de-Maertelaer V, 1992; Cicatiello L et al, 1993; Bhattacharyya N et al, 1994]. В результате этого в матке повышается количество клеток, проходящих и прошедших S-период, которые имеют увеличенное количество ДНК, и, естественно, возрастает численность делящихся клеток [Sato B et al, 1983; Hanazono M et al, 1990; Galand P, de-Maertelaer V, 1992; Jansen HT et al, 1993; Malini T, Vanithakumari G, 1993; Escalante R et al, 1993; Paria BC et al, 1994]. Поэтому, при исследовании тканей матки после эстрогенной стимуляции в них выявляется повышенное содержание ДНК и множество клеток, находящихся в митозе. В ряде экспериментов для анализа пролиферативной активности было применено иммуногистохимическое выявление ядерного антигена пролиферирующих клеток (PCNA), который является частью ДНК-полимеразы сигма. Было установлено, что PCNA синтезируется в G₁- и S-периодах клеточного цикла, но выявляется в клетках находящихся во всех периодах, кроме G₀- и ранней G₁- фазы, так как период полураспада PCNA составляет около 12 часов [Rumpel E et al, 1995]. Следовательно, PCNA является маркером клеток, проходящих клеточный цикл, которые обязательно вступят в митоз. Поэтому выявление данного антигена является прекрасным средством для оценки пролиферативной активности ткани.

Опять нужно отметить, что и степень прироста содержания ДНК, и митотическая активность, экспрессия PCNA в маточных структурах при введении эстрогенов обнаруживают прямые тесные корреляционные взаимосвязи с общим количеством рецепторов эстрогенов, с численностью ядерной фракции рецепторов, с уровнем занятых эстроген-связывающих участков ДНК, с концентрацией эстрогенов в крови [Лагучев С.С., 1970, 1975; Топчиева О.И. и др., 1978; Brody S, Wiquist N, 1960; Mukku VR et al, 1986; Greiss FC et al, 1986; Evans GS et al, 1990; Galand P, de-Maertelaer V, 1992; Rumpel E et al, 1995]. Все это также дает основание считать активность пролиферации и возрастание содержания ДНК одними из достоверных проявлений эстрогенных влияний на матку. И более того, интенсивность этих процессов можно расценивать как прямое отображение степени реакций матки на эстрогены.

Следовательно, выявленное в настоящем исследовании повышение содержания ДНК и митотической активности в покровном и железистом эпителии, клетках стромы эндометрия обусловлены эстроген-индуцированным снижением длительности всех периодов клеточного цикла, возрастанием доли клеток, находящихся в S- и G₂-периодах клеточного цикла. Результаты показали, что между исходным состоянием и 24 часами после введения эстрадиола, а также между 24 и 36 часами имеется наиболее существенные отличия в митотической активности и содержании ДНК в эпителиальных структурах матки. Но между 36 и 48 часовыми сроками эти отличия становятся намного меньше, а порой отсутствуют. Скорее всего, эти факты свидетельствуют о постепенном ослаблении эстрогенных влияний на матку, начиная с 36 часового срока или включения механизма ауто-понижающей регуляции действия эстрогенов. Однако, между 36 и 48 часами наблюдается возрастание других проявлений эффектов эстрогенов в матке, таких как повышение объемов клеток, ядер и ядрышек. Поэтому, может быть, что за 12 часов, т.е. с 36 до 48, клетки физически не успевают пройти весь клеточный цикл, так как для клеток матки в условиях введения эстрогенов показано, что продолжительность G₁-периода колеблется от 6 до 8 часов, S-периода - 5-6 часов, G₂-периода - 6-8 часов [Лагучев С.С., 1970, 1975]. Получается, что 1 клеточный цикл клетка проходит примерно за 17-22 часа. Следовательно, то большое число клеток, которые были в M-фазе в 36 часовой срок наблюдения, через 12 часов оказываются в синтетическом периоде. И возможно поэтому, мы не смогли зарегистрировать в покровном и железистом эпителии дальнейшего сильного возрастания содержания ДНК и митотической активности, как в интервале 24 - 36 часов. В то же время, в клетках стромы, где сильное нарастание митотической активности впервые отмечается в 36 часов, между 36 и 48 часами имеется существенная разница, что также говорит в пользу нашего предположения о эпителиальных компонентах. С этими данными согласуются результаты по выявлению PCNA-положительных клеток. Было установлено, что после введения эстрадиола происходит резкое нарастание доли положительных клеток. В покровном эпителии индекс мечения достигает максимума в 36 часов после введения эстрадиола, а в эпителии желез и клетках стромы - в 48 часовой срок. Это, во-первых, свидетельствует, что после введения эстрадиола увеличивается количество клеток, проходящих цикл, а во-вторых, показывает динамику данного прироста. Видно, что в покровном эпителии процент клеток, находящихся в цикле после 36 часов начинает незначительно снижаться, а в эпителии желез и клетках стромы амплитуда прироста индекса мечения между 36 и 48 часами меньше, чем между 24 и 36 часовыми сроками. Все

это говорит о постепенном снижении количества клеток, находящихся в клеточном цикле и о выходе клеток в G₀-период. Следовательно, можно заключить, что с течением времени выраженность эстроген-индуцированных изменений в матке постепенно снижается.

Эстрадиол-индуцированное возрастание объемов клеток, ядер и ядрышек сопровождается изменениями в пропорциях между данными отделами клетки. Для характеристики этих взаимосвязей были рассчитаны ядерно-цитоплазматические и ядрышково-ядерные отношения, про которые хорошо известно, что они являются универсальными показателями степени дифференцировки клетки, а также дают косвенное представление о пролиферативных потенциях тканей [Топчиева О.И. и др., 1978; Ганина К.П. и др., 1990]. В нашей работе показано снижение ядерно-цитоплазматических отношений во всех изученных маточных структурах, что свидетельствует о более сильном увеличении объема ядра, по сравнению с цитоплазмой. И установлено возрастание ядрышково-ядерных отношений во всех исследованных структурах матки, что показывает большее увеличение объема ядрышка, чем ядра. Снижение ядерно-цитоплазматических отношений во всех структурах матки происходило планомерно, начиная с 24 часов после введения эстрадиола вплоть до 48 часового срока. Противоположная ситуация наблюдается со стороны ядрышково-ядерных отношений, величины которых планомерно повышаются во всех структурах в течение действия эстрадиола. Эти данные прямо свидетельствуют о снижении степени дифференцировки клеток, что всегда имеет место в быстро-пролиферирующих тканях. Можно отметить, что возрастание ядрышково-ядерных отношений, по мнению многих исследователей, также является косвенным отображением увеличения пролиферативного потенциала ткани [Топчиева О.И. и др., 1978; Ганина К.П. и др., 1990]. Таким образом, применительно к нашей модели, можно констатировать, что эстрадиол также способствует снижению степени дифференцировки клеток матки. Эта ситуация абсолютно естественна, так как в матке роль индуктора цитодифференцировки отведена другому гормону - прогестерону, а эстрогены как бы подготавливают почву для его действия [Волкова О.В., 1983].

Итак, объемы клеток, ядер, ядрышек и их соотношения, содержание ДНК, численность PCNA-позитивных клеток и митотические индексы маточных структур являются не только четкими и достоверными морфологическими проявлениями действия эстрогенов в матке, но и позволяют однозначно судить о степени выраженности эффектов эстрогенов в матке. Изменения данных показателей, наблюдаемые в матке овариэктомированных крыс после введения эстрадиола прямо отображают эстроген-индуцированные изменения метаболизма клеток, которые, в основном, заключаются в увеличении скорости транскрипции, включая области ядрышковых организаторов, активизации различных биосинтетических реакций в цитоплазме, уменьшение длительности периодов клеточного цикла, снижение уровня дифференцировки клеток матки. Комплекс данных изменений в матке можно расценивать в качестве единого процесса - эстроген-индуцированного гистогенеза, основными составляющими которого являются активация пролиферации, роста, снижение дифференцировки всех видов клеток матки.

ГИСТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МАТКЕ ПРИ СОЧЕТАННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭСТРАДИОЛА И ФАКТОРОВ, ИЗМЕНЯЮЩИХ КОНЦЕНТРАЦИЮ ПРОЛАКТИНА В ОРГАНИЗМЕ

Для выяснения хода гистогенетического процесса в матке при сочетанном воздействии эстрадиола и факторов, изменяющих уровень пролактина в организме были смоделированы экспериментальные ситуации, при которых эстрадиол действовал на фоне гипер- или гипопролактинемии. Создание гиперпролактинемического состояния осуществлялось двумя путями. Первый из них заключался в обычном введении животным экзогенного пролактина. А основанием для второго пути послужили знания о физиологической регуляции секреции пролактина, которая обеспечивается дофамином. В этом плане доподлинно известно, что дофамин является одним из мощных и главных регуляторов секреции пролактина гипофизом [Остин К, Шорт Р., 1987; Теппермен Д., Теппермен Х., 1989; Borgundvaag B et al, 1992]. Его действие заключается в сильном торможении синтеза и секреции пролактина пролактотрофами аденогипофиза и опосредованно D₂-рецепторами [Теппермен Д., Теппермен Х., 1989; Seki K, Nagata I, 1990; Borgundvaag B et al, 1992]. Следует отметить, что и в клинической практике давно и широко используются дофаминергические препараты для коррекции нарушений в секреции пролактина [Теппермен Д., Теппермен Х., 1989; Borgundvaag B et al, 1992]. Поэтому, второй путь создания гиперпролактинемии основан на экзогенном введении антагонистов D₂-рецепторов дофамина. В качестве такого препарата выбран метоклопрамид. Использование именно метоклопрамида обусловлено, во-первых, его выраженным и хорошо доказанным действием по стимулированию секреции пролактина, и во-вторых, его минимальным нейролептическим эффектом [McLeod RM, Robyn C, 1977; Seki K, Nagata I, 1990]. Способ индукции гипопролактинемии основан на стимуляции D₂-рецепторов дофамина, что сопровождается резким угнетением синтеза и секреции пролактина аденогипофизом. Для этого был использован препарат бромкриптин (парлодел), который является D₂-агонистом. Его действие на освобождение пролактина четко документировано и применение данного вещества уже стало общепринятым и, можно сказать, классическим как для создания гипопролактинемии в экспериментальных условиях, так и для лечения гиперпролактинемических состояний [Теппермен Д., Теппермен Х., 1989; Barbieri RL, Ryan KJ. 1983; Borgundvaag B et al, 1992]. Выбор бромкриптина хорош также и тем, что он блокирует не только спонтанную секрецию пролактина, но также и предотвращает повышение секреции этого гормона, индуцируемое

эстрадиолом, что как раз и нужно для наших экспериментов [Bression D et al, 1985; Higuchi T et al, 1992; Johnston JM et al, 1992]. Говоря о достоинствах использования дофаминергических веществ для изменений уровня пролактина в организме, нельзя не упомянуть о некоторых недостатках. Отрицательным моментом в данных подходах может явиться прямое действие блокаторов и стимуляторов рецепторов дофамина на дофаминовые рецепторы в матке, что может повлечь к изменениям в реагировании матки на эстрогены. Однако, в настоящее время наличие D2-рецепторов и других типов рецепторов дофамина в матке не является строго доказанным, и даже некоторые авторы утверждают, что они отсутствуют [Estan L et al, 1988; Woolley DE et al, 1994]. Другая отрицательная сторона - это возможность дофаминергических средств влиять не только на секрецию пролактина, но и способствовать незначительному изменению секреции других гормонов аденогипофиза, например, таких как гормон роста, аденокортикотропный гормон [Klemcke HG et al, 1990; Seki K, Nagata I, 1990]. По этому поводу можно сказать, что действие данных веществ на секрецию других гормонов весьма и весьма незначительно, по сравнению с их эффектом на секрецию пролактина [Barbieri RL, Ryan KJ, 1983; Klemcke HG et al, 1990; Seki K, Nagata I, 1990]. И кроме того, абсолютно любое вмешательство, затрагивающее секрецию хотя бы одного гормона неизбежно приведет к реагированию механизмов обратных связей и в конце концов - к изменению профиля многих гормонов. Для устранения этих побочных эффектов можно проводить эксперименты *in vitro*, однако, и здесь мы будем иметь дело с множеством неблагоприятных ситуаций, связанных с нахождением клеток в искусственных условиях. Таким образом, выбор подходов для проведения экспериментов по выяснению роли пролактина в реализации эффектов эстрогенов, хотя и не лишен некоторых недостатков, можно считать вполне и вполне удачным, позволяющим решить поставленные задачи и сделать ясные заключения.

В проведенных экспериментах установлено, что при действии эстрадиола на фоне введения экзогенного пролактина наблюдается меньшее, чем при введении эстрадиола и дистиллированной воды возрастание объемов клеток, ядер, ядрышек, увеличение содержания ДНК, PCNA-позитивных клеток и митотических индексов, менее интенсивное повышение ядрышково-ядерных отношений и менее глубокое снижение ядерно-цитоплазматических соотношений в покровном эпителии, эпителии желез и клетках стромы эндометрия крыс, отмечено во все сроки исследования. Принимая во внимание анализ морфологических эффектов эстрадиола в матке, можно считать что данные изменения свидетельствуют о торможении многих внутриклеточных эстрадиол-индуцированных процессов, например таких как, скорость транскрипции, формирование рибосом, биосинтез белка, что в свою очередь приводит к удлинению длительности клеточного цикла, уменьшению клеток, прошедших и находящихся в S-периоде, делящихся клеток, а также к уменьшению общего числа клеток, проходящих цикл. Таким образом, выявленные изменения следует расценивать как морфологическое отображение снижения реализации эффектов эстрадиола в матке, а комплекс обнаруженных изменений можно рассматривать как новый ранее неизвестный гистогенетический процесс, вызванный эстрогенами и пролактином, ход которого существенно отличается от гистогенеза, вызванного только эстрадиолом.

При введении эстрадиола на фоне эндогенной гиперпролактинемии, индуцированной метоклопрамидом также наблюдалось меньшее, чем при введении эстрадиола и дистиллированной воды увеличение объемов клеток, ядер, ядрышек, повышение содержания ДНК и митотических индексов, менее интенсивное возрастание ядрышково-ядерных отношений и менее глубокое снижение ядерно-цитоплазматических соотношений во всех изучаемых структурах матки и во все сроки исследования. Данные изменения также являются морфологическим эквивалентом угнетения в течении внутриклеточных эстроген-индуцированных процессов и прямо указывают на снижение в реализации эффектов эстрадиола в матке, что проявляется возникновением отличий в ходе эстроген-индуцированного гистогенеза.

Таким образом, видно, что при введении и пролактина и метоклопрамида, повышающего концентрацию пролактина в крови имеются сходные изменения, которые заключаются в возникновении отличий в ходе эстроген-индуцированного гистогенеза, основными из которых являются уменьшение морфологического выражения действия эстрадиола в матке крыс.

При введении эстрадиола на фоне гипопролактинемии, вызванной бромкриптином наблюдается большее, чем при введении только эстрадиола увеличение объемов клеток, ядер, ядрышек, повышение содержания ДНК и митотических индексов, более сильное возрастание ядрышково-ядерных отношений и снижение ядерно-цитоплазматических соотношений во всех изучаемых структурах матки и во все сроки наблюдения. Данные изменения указывают на активизацию в течении соответствующих эстрадиол-индуцируемых процессов в ядрах и цитоплазме, а также событий связанных с клеточными циклами, и являются свидетельствами более сильного действия эстрадиола на матку. На основании чего можно сделать вывод о возникновении в данной ситуации существенных отличий в ходе эстроген-индуцированного гистогенеза в матке, что проявляется повышением морфологического выражения действия эстрогенов в матке. Следует заметить, что результаты полученные с бромкриптином прямо противоположны данным, обнаруженным при использовании пролактина и метоклопрамида.

Итак, выявленные изменения в ходе эстроген-зависимого гистогенетического процесса в матке при действии пролактина скорее всего опосредованы рецепторами пролактина, наличие которых показано в матке [Tamaia T et al, 1988; Nagano M, Kelly PA, 1994]. Так как действие пролактина выявлено только у крыс, получавших эстрогены, и отсутствовало у контрольных животных с введением растворителя, то наиболее вероятно, что эффект пролактина каким-либо образом связан с эстрогенами. Возможно, что пролактин вмешивается в механизм действия эстрадиола, либо путем уменьшения числа рецепторов эстрогенов, либо нарушая

взаимодействие рецепторов с эстрадиолом, или гормоно-рецепторного комплекса с ДНК. Косвенным подтверждением этому могут послужить данные, где показано, что в течение полового созревания пролактин может снижать чувствительность матки к эстрогенам [Mistry A, Vijayan E, 1982]. В другой работе, в условиях длительного введения пролактина, в течение 5 и 9 дней, было зарегистрировано лишь очень незначительное снижение количества эстрадиол-связывающих участков в матке и веса этого органа у овариэктомированных крыс при и без введения эстрадиола [Saiduddin S, Zassenhaus HP, 1977], хотя авторы данного сообщения не обратили на этот факт никакого внимания, так как целью их работы была проверка гипотезы о возможном повышении численности рецепторов эстрогенов в матке под влиянием пролактина. Ожидаемый результат не был получен, и они сделали выводы об отсутствии данного эффекта у пролактина [Saiduddin S, Zassenhaus HP, 1977]. Кроме того, наши предположения основаны на фактах, показывающих способность пролактина изменять количество рецепторов для других гормонов в различных тканях. Например, пролактин способен уменьшать количество рецепторов для лютеинизирующего гормона в фолликулярных клетках яичников и в клетках Лейдига семенников, [Остин К., 1987; Теппермен Д., 1989; Kauppila A et al, 1988; Gitay-Goren H, 1988; 1989; Dusza L, 1989; Leroy-Martin B et al, 1989; Brumsted JR, Riddick DH, 1992; Nanno T, 1993].

Касаясь фактов об отсутствии влияния пролактина на матку овариэктомированных крыс без эстрогенного воздействия, возникает еще одно предположение, объясняющее этот феномен. Не исключено, что при почти полном отсутствии эстрогенов, которое имеет место у овариэктомированных крыс, у пролактина просто нет условий для реализации своих эффектов на матку. Во-первых, в данной ситуации в матке могут отсутствовать пролактиновые рецепторы, так как имеются указания о возможности эстрогенов регулировать содержание рецепторов для пролактина в тканях матки [Young KH et al, 1991]. А во-вторых, на фоне крайне низкой интенсивности обменных процессов в матке овариэктомированных животных трудно себе представить, что какое-либо вещество приводило бы к еще более сильному их снижению, так как снижать практически нечего. С другой стороны, отсутствие эффекта пролактина у овариэктомированных крыс не показывает и противоположного его действия, что вполне согласуется с данными, полученными у крыс с введением эстрадиола. Таким образом, совокупность полученных результатов дает право однозначно заключить, что пролактин тормозит реализацию морфологических эффектов эстрогенов в матке. Наиболее вероятно, этот эффект пролактина опосредован его воздействием на какие-то звенья в механизме действия эстрадиола.

По поводу уменьшения выраженности морфологического действия эстрадиола в матке под влиянием метоклопрамида может возникнуть больше предположений и вопросов о возможных путях действия данного препарата. Это связано с тем, что хотя одним из ярких эффектов метоклопрамида является резкое повышение уровня пролактина, тем не менее он, являясь антагонистом D2-дофаминовых рецепторов, обладает другим механизмом действия, отличным от пролактина. Поэтому, можно сразу допустить, что обнаруженные эффекты метоклопрамида опосредованы пролактином, что вполне согласуется с результатами, полученными с использованием введения самого гормона. Однако, нужно обсудить возможность участия дофаминовых рецепторов, локализованных в матке, в тормозящем влиянии метоклопрамида на реагирование тканей матки на эстрогены. В качестве аргументов, опровергающих этот путь, выступают научные сведения, показывающие отсутствие рецепторов дофамина в матке [Lee DW et al, 1986; Borgundvaag B et al, 1992; Estan L et al, 1988, 1993; Woolley DE et al, 1994]. Кроме того, мы не смогли найти в литературе примеров сильного влияния дофамина, его антагонистов и агонистов на процессы роста и деления каких-либо тканей. Однако, участие рецепторов дофамина в обсуждаемом процессе все же нельзя полностью отвергнуть, так как работы о дофаминовых рецепторах в матке были посвящены, в основном, миометрию, а слизистая оболочка в этом плане детально не была исследована [Lee DW et al, 1986; Borgundvaag B et al, 1992; Estan L et al, 1988, 1993; Woolley DE et al, 1994].

Изменения в матке под действием метоклопрамида было зарегистрировано только у крыс, получавших эстрадиол, но не у контрольных групп с введением оливкового масла, где эффекты данного препарата отсутствовали. Следовательно, в случае с метоклопрамидом имеет место аналогичная ситуация, как и с пролактином, то есть действия метоклопрамида связано с эстрадиолом. И независимо от того, что лежит в основе действия метоклопрамида - или наиболее вероятный путь, при котором эффект препарата опосредуется пролактином, или менее возможный, обусловленный блокадой маточных дофаминовых рецепторов, ясно одно, что в данной ситуации происходит нарушение каких-то звеньев в механизме действия эстрогенов в матке, что и проявляется торможением развития их морфологических эффектов.

Результаты, полученные с бромокриптином, и демонстрирующие активизацию выраженности морфологических эффектов эстрадиола в матке, прямо противоположны таковым с введением пролактина и метоклопрамида. Это совершенно четко согласуется с действием данных препаратов, так как пролактин и метоклопрамид индуцируют гиперпролактинемию и при этом тормозят развитие эффектов эстрогенов в матке, а бромокриптин вызывает гипопролактинемическое состояние и способствует усилению реакций матки на эстрадиол.

Однако, возрастание активности эстрадиол-индуцируемых изменений в морфологии матки, наблюдаемое под влиянием бромокриптина, также может быть обусловлено различными путями.

Один из них основан на блокирующем влиянии бромокриптина на синтез и секрецию пролактина гипофизом, с последующей выраженной гипопролактинемией [Barbieri RL, Ryan KJ, 1983; Johnston JM et al, 1992]. При этом создается ситуация, когда эстрадиол воздействует на матку на фоне сниженного уровня

пролактина в организме. И вероятно, в таких условиях действию гормона не препятствует пролактин, что сопровождается повышенным ответом тканей матки на эстрогены.

По этому поводу имеются литературные данные, где показано снижение эстрадиол-индуцированного возрастания веса матки под влиянием бромокриптина [Hernandez DE, Alvares EO, 1979]. На основании этого было сделано заключение, что действие бромокриптина опосредованно пролактином, который способствует или потенцирует развитие эффектов эстрогенов в матке крыс. Эти факты на первый взгляд противоречат нашим данным. Однако, здесь имеется один важный момент. В этих экспериментах введение бромокриптина заканчивалось за сутки до начала введения эстрадиола. А известно, что после отмены бромокриптина возникает компенсаторная гиперпролактинемия [Теппермен Д., Теппермен Х., 1989; Morigi T et al, 1985]. И поэтому возможно, в данных экспериментальных условиях эстрадиол действовал на фоне гипер-, а не гипопролактинемии. Следовательно, результаты этих исследователей не могут рассматриваться в качестве противоположных, при их сопоставлении с нашими данными. С другой стороны, если учесть, что имела место компенсаторная гиперпролактинемия, то все это вполне согласуется с результатами настоящей работы, а также поддерживает высказанное нами предположение о том, что эффекты бромокриптина опосредованы пролактином. В экспериментах по изучению роли пролактина в развитии эстрадиол-индуцированных пролиферативных реакций в матке было выявлено недостоверное и незначительное возрастание эстрадиол-индуцируемой пролиферации [Kiss R et al, 1987]. Однако, авторы этого сообщения сделали выводы об отсутствии какого-либо влияния данного гормона [Kiss R et al, 1987]. По всей вероятности причина этого кроется в используемой модели. Авторы данной публикации применяли однократное введение как эстрадиола, так и пролактина, а исследование матки выполнялось через 6, 24, 36, и 48 часов. Ситуация с эстрадиолом понятна, так как это вещество обладает длительным действием, более 1 недели. А пролактин имеет короткий период действия, и период полувыведения введенного пролактина составляет не более 12 часов. Следовательно, в период от 24 до 48 часов эффект данного препарата не может быть четко выявлен, а в 6 часовой срок после инъекции эстрадиола в матке еще не наблюдается существенных изменений пролиферации. Если учесть наличие обратных связей в регуляции секреции гормонов, то можно предположить, что после введения пролактина происходит компенсаторное снижение его выработки клетками аденогипофиза. Данное обстоятельство возможно способствовало некоторому недостоверному усилению эстрогенных влияний, показанному на диаграммах в обсуждаемой публикации [Kiss R et al, 1987]. Кроме того, все эти опыты были выполнены на мышах с привитой опухолью молочной железы, что также могло повлиять на результаты [Kiss R et al, 1987].

Подтверждением полученным нами изменениям при введении бромокриптина могут также выступить косвенные сведения о том, что при хроническом приеме бромокриптина, снижающего концентрацию пролактина в крови может возникнуть гиперплазия эндометрия [Neumann F, 1990]. Хотя, в этой работе не проводятся параллели с эстрогенами, мы привели эти сведения с учетом ключевой роли эстрогенов в развитии гиперплазии и рака эндометрия.

Существуют исследования, где не выявлено изменений массы матки в условиях экспериментальной гипер- и гипопролактинемии у половозрелых крыс [Tozawa H, 1993], но отмечено, что в течение полового созревания пролактин может снижать чувствительность матки к эстрогенам [Mistry A, Vijayan E, 1982]. В этой связи можно отметить, что масса матки у интактных животных зависит не только от эстрогенных влияний, но может быть в большей степени - от действия прогестерона. Поэтому масса органа в данной ситуации не отображает активности действия эстрогенов в матке.

Другой путь, также как и в случае с метоклопрамидом, может быть опосредован влиянием бромокриптина на дофаминовые рецепторы, локализованные в матке. Однако, как уже обсуждалось ранее, этот механизм менее вероятен, так как наличие рецепторов дофамина в матке не очень четко документировано [Borgundvaag B et al, 1992; Estan L et al, 1988, 1993; Woolley DE et al, 1994]. Более того, в качестве доказательств сомнительности данного пути могут послужить результаты исследований по изучению влияния бромокриптина на синтез самого пролактина в гипофизе и матке. Оказалось, что бромокриптин не влиял на синтез гликозилированного пролактина, который был обнаружен только в матке, но снижал секрецию гипофизарного пролактина [Lee DW, Markoff E, 1986]. Показано, что сам дофамин не влиял на синтез трансформирующего фактора роста-а, содержание которого в матке регулируется эстрогенами [Borgundvaag B et al, 1992].

Также как и в предыдущих двух случаях, изменения в морфологии матки контрольных овариэктомированных крыс, получавших оливковое масло, не были выявлены при введении бромокриптина, что дает основание думать о вовлеченности эстрадиола в действие бромокриптина. Подтверждением наших результатов об отсутствии влияния пролактина, метоклопрамида и бромокриптина могут послужить исследования, где также не обнаружено влияния данных веществ на пролиферативные процессы в матке овариэктомированных мышей [Kiss R et al, 1987].

Таким образом, ход эстрадиол-индуцированного гистогенеза в матке существенно меняется под действием бромокриптина, индуцирующий гипопролактинемию, что проявляется активацией морфологических проявлений действия эстрадиола. Действие бромокриптина реализуется путем воздействия на механизм действия эстрогеновых стероидов в матке что, скорее всего, опосредованно снижением концентрации пролактина в организме.

Суммируя результаты, полученные в экспериментах, где эстрадиол действовал в условиях гиперпролактинемии, индуцированной пролактином или метоклопрамидом и гипопролактинемии, вызванной

бромокриптином можно сказать, что выраженность морфологических эффектов эстрогенов в матке находится под контролем со стороны пролактина, который способен регулировать развитие действия эстрогеновых гормонов в матке путем снижения чувствительности структур органа к данным стероидам.

Итак, результаты экспериментов по этому разделу не только выявили новый, ранее неизвестный тип гистогенеза в матке, возникающий под влиянием эстрогенов и пролактина, но и позволяют вставить недостающие звенья в цепочку представлений о биологической роли последнего в матке. Прежде полагали, что функции пролактина в матке заключаются в потенцировании действия прогестерона [Daly DS et al, 1983; Maslar IA, Ansbacher R, 1986; Daniel JC Jr et al, 1988; Casslen BG et al, 1990; Randall GW et al, 1991; Kleis-SanFrancisco S et al, 1993]. Сейчас к этому можно добавить, что другой функцией пролактина в этом органе является торможение развития морфологических эффектов эстрогенов. Таким образом, имеется логическое завершение наших знаний по этой проблеме, так как эстрогены регулируют морфо-функциональное состояние в одну фазу репродуктивного цикла, а прогестерон - в другую, и их совокупность составляет полный маточный цикл.

ГИСТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МАТКЕ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭСТРАДИОЛА И ОСТРОГО СТРЕССА

В условиях воздействия острого стресса обнаружено, что эстроген-индуцированный гистогенетический процесс в матке изменяет свое течение, что, в основном, проявляется снижением морфологического выражения действия эстрогенов в матке, таких как возрастание объемов клеток, ядер, ядрышек, повышение содержания ДНК и митотических индексов, уменьшение ядерно-цитоплазматических и увеличение ядрышково-ядерных отношений в эпителии желез, покровном эпителии, клетках стромы эндометрия крыс. Однако, некоторые из этих параметров в отдельные сроки исследования почти не отличались от контрольных показателей или были чуть выше их. Тем не менее, в общем, мы склонны рассматривать действие острого стресса как угнетающее развитие морфологических проявлений действия эстрогенов, так как право сделать такое заключение дают и результаты дисперсионного анализа, которые показали статистически достоверное влияние острого стресса на почти все исследованные параметры.

Что же лежит в основе обнаруженных изменений в ходе эстроген-индуцированного гистогенеза матки при остром стрессе? Без всякого сомнения можно сказать, что данные изменения вызваны нейро-эндокринными сдвигами, неизбежно возникающими при действии стресса. Стресс-обусловленные сдвиги весьма многогранны и затрагивают функционирование всех звеньев эндокринной системы. Однако, изменения в реакциях матки на эстрогены, вызванные острым стрессом могли быть связаны и с условиями проведения экспериментов. Поэтому, сначала попробуем подвергнуть анализу эти вопросы.

В наших экспериментах крысы подвергались иммобилизационному стрессу путем помещения в специальные пластмассовые камеры, где животные находились в практически неподвижном состоянии. Продолжительность стрессирования составляла 6 часов. Эстрадиол вводился внутримышечно непосредственно перед началом иммобилизации. Поэтому возникли предположения о том, что 6 часовое нахождение животных в бездвижном состоянии могло привести к уменьшению всасывания гормона из места инъекции. Однако, сразу можно привести несколько контр-аргументов по этому поводу. Во-первых, работающая мышца имеет не только лучшее кровоснабжение и более интенсивный метаболизм мышечных волокон [Панин Л.Е., 1983]. Однако, при этом следует подразумевать, что возрастание объемной скорости кровотока через мышцу зависит не только от местных причин, но и за счет усиления работы сердца, что всегда имеет место при физической нагрузке. Во-вторых, хотя и животные находились в неподвижности, но такое содержание, бесспорно, являлось мощным стрессом [Корнева Е.А., Шхинек Э.К., 1988]. А стресс подразумевает не только изменения в эндокринной системе, а и во многих других [Корнева Е.А., Шхинек Э.К., 1988]. Ни для кого не секрет, что при стрессе увеличивается частота сокращений сердца, повышается системное артериальное давление, и вместе с тем имеет место снижение тонуса гладкомышечных клеток артериол скелетной мускулатуры, что в совокупности приводит к заметному возрастанию кровоснабжения скелетной мышечной ткани [Панин Л.Е., 1983]. Более того, при стрессе происходит повышение концентрации в крови многих веществ, усиливающих сосудистую проницаемость, например, гистамина, серотонина, брадикинина, тромбксана А₂ [Панин Л.Е., 1983; Корнева Е.А., Шхинек Э.К., 1988]. В добавление к этому можно сказать, что наблюдая за животными, находящимися в камерах было заметно, как они постоянно предпринимали попытки выбраться из камер и делали незначительные движения лапами. Таким образом, приведенные аргументы не дают права утверждать, что в процессе иммобилизационного стресса происходит существенное ухудшение кровоснабжения мышечной ткани. Возможно даже, что имеет место обратное явление. Кроме того, имеются сведения, что в условиях стресса повышается образование эстрогенов в надпочечниках, и снижается распад данных гормонов в печени [Корнева Е.А., Шхинек Э.К., 1988; Nomura J et al, 1988], что также свидетельствует против снижения биодоступности эстрадиола. Следовательно, мы не имеем серьезных оснований считать, что всасывание эстрадиола из места инъекции как-то ухудшается, и что стресс-индуцированное торможение реализации эффектов эстрадиола в матке обусловлено исключительно снижением концентрации эстрадиола в крови. В то же время, мы не можем полностью исключить возможность влияния подобных факторов на исследуемые параметры. Тем более, что все нарушения, возникающие в данной ситуации вызваны не чем иным, как стрессом, а целью именно этого раздела работы было изучение влияния стресса в целом, а не отдельных его компонентов.

Переходя к анализу возможного влияния нейро-эндокринных сдвигов, индуцированных острым стрессом на обнаруженные изменения в ходе гисогенеза в, хотелось бы сначала прояснить одну интересную деталь. Яичники, как одно из звеньев, не только регулирующее морфо-функциональное состояние матки, но и сильно подверженное влиянию стрессов было как бы выключено из стресс-реакции в наших моделях. Так как эксперименты по этому и другим разделам настоящего исследования выполнены на овариэктомированных крысах, и реакции матки на эстрогены изучались при введении стандартной, одинаковой дозы эстрадиола. Значит, изменения, обнаруженные под влиянием стресса, естественно, не обусловлены нарушениями в функционировании яичников. Поэтому, можно считать, что ткани матки способны и самостоятельно реагировать на действие острого стресса. Или, другими словами, имеет место прямое влияние острого стресса на матку, которое заключается в снижении чувствительности структур органа к эстрадиолу.

Ключевой системой, участвующей в стрессовых процессах, является гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось, активность которой резко повышается под влиянием острых стрессов [Корнева Е.А., Шхинек Э.К., 1988; Rivier C, Rivest S, 1991; Marti O et al, 1993-1,2; Rosetta L, 1993; Armario A et al, 1993]. Одним из результатов этого становится сильное возрастание концентрации глюкокортикоидов в крови. При такой же стрессовой модели, которая была использована в наших экспериментах показано, что у крыс в первые часы после 6 часовой иммобилизации концентрация кортикостерона повышена более чем в 3,5 раза по сравнению с исходным уровнем, к концу первых суток - более чем в 2 раза, а через 48 часов - в 1,5 раза [Корнева Е.А., Шхинек Э.К., 1988]. С другой стороны, про глюкокортикоиды известно, что они обладают выраженным антиэстрогенным действием и приводят к угнетению эстрадиол-стимулируемых процессов роста и деления клеток матки, снижают количество рецепторов эстрогенов и прогестерона [Stewart PJ et al, 1983; Atkinson S, Adams NR, 1988; Rabin DS et al, 1990; Terada N et al, 1991; Zamorano P et al, 1992; Jo T et al, 1993; Bigsby RM, 1993]. Поэтому, повышенные концентрации глюкокортикоидов, имеющиеся при стрессе можно рассматривать в качестве фактора, участвующего в выявленных нами изменениях. Однако, степень их участия остается неясной.

Другим гормоном, который может вырабатываться в надпочечниках и оказывать выраженное влияние на матку является прогестерон. Установлено, что его секреция может несколько увеличиваться в условиях острого стресса [Resko AM, 1969]. Следовательно, прогестерон, имеющий выраженные антиэстрогенные свойства также может принимать участие в стресс-индуцируемом торможении в реализации действия эстрогенов в матке.

Эндогенные опиоидные пептиды, уровень которых в организме также повышен при стрессе [Leng G et al, 1987; Forman LJ, Estilow S, 1988; Laatikainen TJ, 1991] могут способствовать стресс-обусловленным изменениям в реакциях матки на эстрогены, так как известно, что эти вещества при определенных условиях оказывают тормозящее влияние на эстрадиол-индуцированное включение 3Н-тимидина в ДНК [Garai J et al, 1989; Ordog T et al, 1992; 1993]. Хотя эффект опиоидов может быть очень дискуссионным, потому что литературные данные о их антиэстрогенном действии несколько противоречивы [Acevedo CG, Contreras E, 1987; Ordog T et al, 1992; 1993].

Гормоны щитовидной железы несколько потенцируют действие эстрогенов в матке [Gardner RM et al, 1978; Kirkland JL et al, 1981]. И в то же время, концентрация тироксина и трийодтиронина, в течение первых двух суток после 6 часовой иммобилизации снижена до 20 - 50 процентов от нормы [Корнева Е.А., Шхинек Э.К., 1988]. Следовательно, недостаток тиреоидных гормонов может повлечь нарушения в реализации эффектов эстрогенов в матке, наблюдаемые при остром стрессе.

На основании полученных в настоящем исследовании данных появилась реальная возможность обсудить роль пролактина в стресс-обусловленных изменениях реагирования тканей матки на эстрогены. В этом плане известно, что секреция пролактина значительно возрастает под воздействием острых стрессов [Milin J et al, 1985; Demarest KT et al, 1985-1,2; Seltzer AM et al, 1986; Maggi R et al, 1988; Knigge U et al, 1988; Johansson G et al, 1990; Morehead MH et al, 1990; Ratner A et al, 1991; Maric D et al, 1991; Tejwani GA et al, 1991; Clough RW et al, 1992; Kjaer A et al, 1993]. Кроме того, показано ингибирующее влияние данного гормона на реализацию эффектов эстрогенов в матке. Поэтому, можно предполагать, что пролактин также принимает участие в угнетении действия эстрогенов в матке при остром стрессе.

В условиях острого стресса имеет место повышение концентраций различных биологически-активных веществ не только тормозящих действие эстрогенов в матке, но и - усиливающих. Например, гормоны мозгового вещества надпочечников - норадреналин и адреналин обладают некоторым стимулирующим влиянием на действие эстрогенов в матке [Re G et al, 1993], и их секреция повышена при стрессовой реакции [Панин Л.Е., 1983; Корнева Е.А., Шхинек Э.К., 1988]. Уровень другого биоамин - гистамина также увеличивается при стрессах [Knigge U et al, 1988], и он также имеет позитивное действие на эффекты эстрогенов в матке [Панкова Т.Г. и др., 1985].

Таким образом, в реакцию организма на острый стресс вовлекается огромное количество веществ, способных и тормозить, и активировать действие эстрогенов в матке, но при остром стрессе перевес складывается в пользу биологически-активных соединений, угнетающих развитие эффектов эстрогенов. К сожалению, причины этого пока абсолютно непонятны. Отчасти это связано с тем, что несмотря на хорошую изученность реакции организма на острый стресс, сведения о влиянии на матку многих участвующих в стресс-реакции веществ полностью отсутствуют или весьма скудны. Например, мы не смогли обнаружить литературных источников о действии адренкортикотропного гормона или фолликулостимулирующего

гормона на процесс реализации эффектов эстрогенов в матке. Более того, предположить некое участие пролактина в изменениях реагирования матки на эстрадиол в условиях острого стресса стало возможным только на основании результатов настоящего исследования.

Снижение выраженности морфологических эффектов эстрогенов в матке выявлено только у животных с введением эстрадиола. А у контрольной группы, которая получала инъекции оливкового масла в ряде случаев обнаружено слабое недостоверное возрастание объемов клеток и ядер, которые могут быть расценены как эстрадиолоподобные реакции. Наиболее вероятно, что у крыс, которым вводился эстрадиол и у контрольных животных действие стресса на матку опосредуется различными механизмами. Видимо, на фоне эстрогенизации эффект острого стресса реализуется путем нарушения механизма действия эстрадиола в матке, что приводит к снижению чувствительности структур органа к эстрадиолу. А у овариэктомированных крыс без эстрогенных воздействий острый стресс опосредует свои эффекты по другим, эстрогеннезависимым путям.

Таким образом, эстроген-индуцируемая гистогенетическая реакция такой матки существенно меняется под действием острого иммобилизационного стресса, который приводит к торможению развития морфологических проявлений действия эстрадиола в матке получавших эстрадиол овариэктомированных крыс, где стресс реализует свое влияние путем нарушения каких-либо этапов в механизме действия эстрадиола в матке. У животных без введения эстрогенов острый стресс приводит к развитию минимальных эстрадиолоподобных эффектов в матке, и эффект стресса в данном случае опосредуется по эстрогеннезависимым механизмам. Выявленные реакции матки являются самостоятельными, независимыми от изменения функции яичников, что доказывает прямое влияние стресса на этот орган. Наиболее вероятно, что действие стресса опосредованно стресс-индуцированными нейро-эндокринными сдвигами, среди которых, возможно, определенную роль играет пролактин.

ГИСТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МАТКЕ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭСТРАДИОЛА И ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА

В матке наблюдалось большее увеличение объемов ядер, ядрышек, клеток при действии эстрадиола в условиях хронического стресса, чем при действии эстрадиола в бесстрессовых условиях. Наиболее вероятно, что это является проявлением более сильной активацией эстрогенами вышеописанных биосинтетических процессов. При введении эстрадиола на фоне хронического стресса также происходит большее увеличение содержания ДНК и более резкая активация пролиферативных процессов во всех тканях матки, чем у нестрессированных крыс. Скорее всего, в стрессовых условиях под влиянием эстрадиола очень большое количество клеток выходит из G₀-периода в G₁, резко сокращается длительность всех фаз клеточного цикла с последующим возрастанием количества клеток в S-, G₂- и M-фазах. Поэтому было зарегистрировано увеличение содержания ДНК и показателей митотических индексов во всех структурах. Аналогичные изменения в пролиферативной активности под влиянием хронических стрессов были зарегистрированы в ряде других органов, таких как эпителий роговицы, желудка, где выявлены резкое сокращение длительности всех периодов клеточного цикла [Кириллов О.И., 1977; Тимошин С.С. и др., 1985, 1991]. Однако, в 48 часовой срок в люминальном и железистом эпителии и в 36 часовой срок в клетках стромы митотические индексы были меньше, чем у нестрессированных крыс введением эстрадиола. Видимо, это обусловлено наличием в предыдущем сроке наблюдения очень большого количества клеток в фазе митоза, которые за 12 часовой промежуток не успевают пройти все фазы клеточного цикла и вступить в следующее деление. Причем, в клетках стромы после такого снижения регистрируется новый подъем митотической активности к 48 часам. Вероятно, можно ожидать такую же ситуацию со стороны люминального и железистого эпителия, так как количество ДНК в этих клетках остается повышенным. Таким образом, все выявленные изменения однозначно свидетельствуют об активации морфологических проявлений эстрогенных влияний на матку.

Также как и в случае острого стресса, здесь мы имеем дело с прямой реакцией матки на стрессовое воздействие, которое не опосредованно изменениями функционирования яичников, потому что эксперименты выполнялись на овариэктомированных крысах, получавших стандартную дозу эстрогенов.

Условия проведения опытов в данном случае вряд ли могли сказаться на процесс всасывания эстрадиола из места инъекции, а само стрессовое воздействие, естественно, могло привести к изменениям в фармакокинетике введенного гормона и к изменению концентрации эстрогенов в организме. Доступность эстрадиола могла возрасти из-за наличия множества системных эффектов стресса на циркуляцию, например таких как, усиление кровоснабжения скелетной мышечной ткани, повышение сосудистой проницаемости, которые могли привести к усилению всасывания эстрадиола из места инъекции. Известно также, что стрессы приводят к возрастанию продукции эстрогенов в надпочечниках, а с другой стороны, нарушают процесс распада эстрогенов в печени [Nomura J et al, 1988]. Все это, возможно, способствовало повышению уровня эстрогенов в организме. Однако, данная ситуация вызвана самим стрессом и является одним из проявлений действия стресса, поэтому данные факторы следует рассматривать в качестве возможных механизмов повышения проявлений действия эстрогенов на матку. Хотя, на наш взгляд, все это вряд ли могло сыграть большую роль, так как доза вводимого эстрадиола была относительно большая. Еще большее повышение концентрации эстрогенов могло иметь неоднозначные последствия, так как является четко установленным, что эстрогены обладают ауто-понижающей регуляцией собственного действия [Орлов М.М., Савченко О.Н., 1983; Medlock KL et al, 1991, 1994]. Чем больше их доза или кратность введения, тем быстрее наступает торможение развития эффектов в матке [Орлов

М.М., Савченко О.Н., 1983; Medlock KL et al, 1991, 1994]. Таким образом, повышение концентрации эстрогенов в крови еще совсем не означает, что произойдет усиление выраженности проявлений их действия в тканях матки.

Однако, стресс-обусловленное повышение выраженности эффектов эстрогенов в матке крыс, хотя и не опосредованно сдвигами в секреции половых гормонов, но все же вызвано нейро-эндокринными сдвигами, возникающими во многих других системах, способных каким-либо образом повлиять на чувствительность матки к эстрогеновым гормонам.

Рассмотрим потенциальную роль гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси в обнаруженных изменениях, так как в этой системе наблюдаются серьезные стресс-обусловленные реакции. Как при остром, так и при хроническом стрессе имеет место активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, хотя в условиях хронического стресса степень активации может быть ниже, чем при остром [Корнева Е.А., Шхинек Э.К., 1988; Boranic M et al, 1982; Lopez-Calderon A et al, 1989; 1991; Armario A et al, 1993; Herman JP et al, 1995]. При такой же стрессовой модели, которая была использована в наших экспериментах, показано, что концентрация кортикостерона на 14 - 30 сутки содержания в условиях перенаселения превышает норму в 2.5 - 4 раза, что в данном случае вполне сопоставимо с острым иммобилизационным стрессом [Корнева Е.А., Шхинек Э.К., 1988]. Другими исследователями также установлено, что при хронических стрессах повышена концентрация глюкокортикоидных гормонов [Boranic M et al, 1982; Lopez-Calderon A et al, 1989; 1991; Armario A et al, 1993; Herman JP et al, 1995]. Таким образом, мы имеем уникальную ситуацию! Она заключается в том, что при анализе материала по острому стрессу высказывалось предположение о роли глюкокортикоидов в торможении реакций матки на эстрогены, вызванное острым стрессовым воздействием. А сейчас выясняется, что при хроническом стрессе концентрация кортикостерона в крови также повышена, но в матке имеет место усиление выраженности эффектов эстрогенов. Следовательно, в условиях хронического стресса, вероятно, возникают такие нейро-эндокринные нарушения, при которых глюкокортикоиды теряют свои свойства по торможению роста и деления клеток в матке, индуцируемые эстрогенами. Или мы просто переоцениваем возможности глюкокортикоидов по ингибированию данных процессов в матке при стрессах. В этой связи очень удобно привести заключения С. С. Лагучева (1970, 1975), автора двух монографий о гормональной регуляции пролиферации в репродуктивных органах, который считал, что органы репродукции в течение эволюции вышли из под контроля гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и процессами роста, дифференцировки и деления клеток в этих органах неплохо управляет гипоталамо-гипофизарно-гонадная система. Но с другой стороны, существуют убедительные данные об ингибировании пролиферации клеток матки глюкокортикоидами [Stewart PJ et al, 1983; Atkinson S, Adams NR, 1988; Rabin DS et al, 1990; Terada N et al, 1991; Zamorano P et al, 1992; Jo T et al, 1993; Bigsby RM, 1993]. Возможно также, что на фоне длительной гиперсекреции глюкокортикоидов, имеющейся при хроническом стрессе, происходит как бы компенсаторное снижение количества рецепторов для этих гормонов в матке. На это указывают данные, показывающие снижение количества мРНК рецепторов глюкокортикоидов в некоторых отделах мозга при хроническом стрессе [Herman JP et al, 1995]. Кроме того, эти авторы выявили наличие обратной корреляции между экспрессией мРНК кортиколиберина и мРНК рецепторов глюкокортикоидов в мозге в течение хронического стресса, на основании чего был сделан вывод о компенсаторном уменьшении синтеза рецепторов глюкокортикоидов [Herman JP et al, 1995]. Можно отметить, что в матке при длительном воздействии эстрогенов имеет место понижающая регуляция численности эстрогеновых рецепторов, которая наступает тем быстрее, чем выше доза вводимых эстрогенов [Орлов М.М., Савченко О.Н., 1983; Medlock KL et al, 1991, 1994]. Вероятно, что ситуация с понижающей регуляцией для стероидных гормонов является универсальным механизмом, предотвращающим избыточное действие этих гормонов. Одним словом, ситуация, сложившаяся с глюкокортикоидами при хроническом стрессе, не совсем понятна. Ясно одно, что на фоне достаточно высокого уровня глюкокортикоидов, имеющегося в условиях длительного перенаселения, происходит усиление реализации морфологических эффектов эстрогенов. Из этого следует, что либо глюкокортикоиды вообще не способны влиять на данные процессы в матке, либо совокупность нейро-эндокринных сдвигов хронического стресса лишает их возможности угнетать процессы роста и пролиферации тканей матки.

Другим гормоном, заслуживающим нашего внимания по поводу его возможной роли в эффектах хронического стресса на матку является пролактин. Четко доказано, что секреция пролактина снижена при различных вариантах хронических стрессов [Исмаилов Ю.Б., 1991; Kant GJ et al, 1987; Abererombie ED et al, 1989; Lopez-Calderon A et al, 1989; 1991; Gala RR, 1990; Johansson G et al, 1990; Muscat R et al, 1991; Bartha L et al, 1991; Maric D et al, 1991; Ceccatelli S et al, 1992; Galzigna L et al, 1992; Stephanou A et al, 1992]. Это положение согласуется со всеми результатами, полученными в настоящей работе, так как установлено тормозящее влияние этого гормона гипофиза на развитие эффектов эстрогенов в матке, просматривается роль пролактина в ингибировании действия эстрогенов в матке при остром стрессе, когда концентрация пролактина повышена. И наконец, в условиях хронического стресса имеется снижение уровня пролактина в организме и усиление выраженности морфологических эффектов эстрогенов в матке. Таким образом, можно не без оснований предполагать участие пролактина в изменениях реагирования матки на эстрадиол при хроническом стрессе.

Обсуждение роли нейро-эндокринных изменений, имеющих при хроническом стрессе, на матку видимо придется ограничить глюкокортикоидами и пролактином, так как во-первых, гормональный профиль хронического стресса изучен хуже, чем острого, а во-вторых, сведения о влиянии многих веществ,

концентрация которых изменяется при стрессе на процесс реализации эффектов эстрогенов в матке практически полностью отсутствуют.

Однако нужно прояснить еще один момент. Усиление выраженности морфологических проявлений действия эстрогенов в матке выявлено только у крыс с введением эстрадиола, а у контрольных животных, получавших оливковое масло не обнаружено сколько-нибудь существенных изменений. Исходя из этого ясно, что хронический стресс реализует свое действие на матку только на фоне эстрогенизации, когда имеется активизация течения многих биологических процессов в этом органе. И кроме того, эффекты хронического стресса опосредуются эстрогенами. Или, другими словами, хронический стресс реализует свое действие на матку путем изменения механизма действия эстрогенов в этом органе, возможно, увеличивая количество эстрогеновых рецепторов в тканях матки или изменяя свойства рецептора, либо удлиняя время связывания гормоно-рецепторного комплекса с ДНК, либо путем влияния на системы, регулирующие процесс действия эстрогенов на матку, что приводит к активизации действия этих гормонов в матке.

Таким образом, при хроническом стрессе происходит изменение течения эстроген-индуцированного гистогенеза в матке, что проявляется усиление выраженности морфологического выражения действия эстрадиола в матке овариэктомированных крыс. Эффекты хронического стресса на матку опосредуются эстрогенами и реализуются путем активации действия этих гормонов в матке. Хронический стресс оказывает влияние на матку не только за счет изменения функции яичников, но и обладает прямым влиянием на этот орган, так как влияние хронического стресса на матку было обнаружено у овариэктомированных крыс, получавших стандартную дозу эстрогеновых гормонов. Участие тех или иных нейро-эндокринных изменений, обеспечивающих эффект хронического стресса на матку, не совсем понятно, однако, возможно, что пролактин здесь играет не последнюю роль.

Обсуждению результатов исследований по проверке участия пролактина в гистогенетических изменениях в матке, вызванных эстрогенами и стрессами посвящены следующие разделы этой главы.

РОЛЬ ПРОЛАКТИНА В ИЗМЕНЕНИЯХ ЭСТРОГЕН-ИНДУЦИРОВАННОГО ГИСТОГЕНЕЗА В МАТКЕ ПРИ ОСТРОМ СТРЕССЕ

В наших экспериментах показано, что пролактин приводит к уменьшению морфологических проявлений действия эстрадиола в матке овариэктомированных крыс. Гиперпролактинемия, индуцированная введением метоклопрамида, имеет такой же эффект. А гипопролактинемия, вызванная введением бромокриптина, способствует усилению эстрогенных влияний на матку. Острый стресс вызывает снижение проявлений действия эстрогенов. Кроме того известно, что при острых стрессах наблюдается повышение содержания пролактина в крови [Demarest KT et al, 1985-1,2; Lookingland KJ et al, 1990].

Таким образом, для того чтобы доказать участие пролактина в тормозящем влиянии острого стресса на действие эстрадиола в матке, необходимо получить в экспериментах: 1) потенцирование действия острого стресса пролактином и метоклопрамидом; 2) ослабление проявлений стресса бромокриптином.

Поэтому были проведены эксперименты, в которых действие эстрадиола на фоне острого стресса развивалось в условиях еще большей гиперпролактинемии или гипопролактинемии. Для этого введение эстрадиола и острое стрессовое воздействие сочеталось с инъекциями пролактина, или метоклопрамида, или бромокриптина.

В условиях введения эстрадиола на фоне острого стресса и при введении пролактина было установлено, что стресс-индуцируемое угнетение выраженности эффектов эстрадиола потенцировалось только в ряде случаев. Но в то же время имеются примеры и полного отсутствия влияния пролактина на исследуемые параметры, и некоторого ослабления проявлений действия острого стресса. Все это говорит о том, что введение пролактина на фоне острого стресса не приводит к существенному потенцированию действия острого стресса. Кроме того, данные дисперсионного анализа свидетельствуют об отсутствии достоверного влияния пролактина на почти все изучаемые параметры в матке.

Аналогичная ситуация имеет место и при введении эстрадиола на фоне острого стресса в условиях гиперпролактинемии, вызванной метоклопрамидом, то есть однозначное потенцирование эффектов стресса отсутствует. Это подтверждают и результаты дисперсионного анализа.

При введении эстрадиола на фоне острого стресса в условиях гипопролактинемии, индуцированной бромокриптином почти во всех случаях наблюдается отмена тормозящего влияния острого стресса на выраженность морфологических эффектов эстрогенов в матке и даже происходит их усиление. В добавление к этому, дисперсионный анализ показывает наличие достоверного влияния бромокриптина во многих случаях.

Итак, при введении эстрадиола на фоне острого стресса и в условиях гиперпролактинемии не наблюдается усугубления, а в условиях гипопролактинемии происходит отмена стресс-индуцированного торможения в развитии морфологических эффектов эстрадиола в матке. Сложившееся положение, на первый взгляд, не может иметь однозначного заключения о роли пролактина в возникновении данных стресс-обусловленных изменений в матке, так как только часть результатов демонстрирует участие пролактина, а другая - нет. В качестве возможной причины этой неоднозначности результатов может быть является и без того высокий уровень пролактина при остром стрессе, который, вероятно, приводит к торможению развития эффектов эстрадиола в

матке. Но еще большее повышение уровня пролактина, индуцируемое либо введением самого гормона, либо инъекциями метоклопрамида не может способствовать дальнейшему прогрессированию стресс-обусловленного ингибирования эффектов эстрадиола в матке. То есть, при превышении какой-то определенной, может быть пороговой, концентрации эффект пролактина достигает максимума и перестает зависеть от дозы, или вообще действие этого гормона на изучаемую систему не является дозозависимым. Хотя это предположение очень дискуссионно, так как при введении пролактина или метоклопрамида в бесстрессовых условиях наблюдалось подчас большее торможение эффектов эстрогенов в матке, чем при остром стрессе, но тем не менее нельзя его полностью игнорировать, тем более, что сравнивать интенсивность эффектов этих препаратов при стрессе и без стресса не совсем корректно. В этом плане невозможно также исключить и тот факт, что в тканях матки имеется ограниченное количество рецепторов пролактина и поэтому возрастание концентрации гормона не имеет дальнейшего эффекта. Кроме того, само стрессовое воздействие могло повлиять на численность пролактиновых рецепторов в матке. С другой стороны, эффект бромокриптина, снижающего синтез и секрецию пролактина выглядит достаточно четким. Обсуждая эффект данного вещества, можно опять упомянуть о возможности его прямого действия на матку. Однако дальше предположений дело не идет, так как нет убедительных доказательств наличия рецепторов дофамина в матке, особенно, в эндометрии [Lee DW et al, 1986; Borgundvaag B et al, 1992; Estan L et al, 1988, 1993; Woolley DE et al, 1994]. Следовательно, действие бромокриптина опосредованно, в основном, пролактином и, скорее всего, связано не только со снижением базального уровня пролактина, но и с блокированием стресс-индуцированного повышения его уровня. Такое свойство бромокриптина описано в литературе, и само повышение уровня пролактина при остром стрессе объясняется с позиций снижения синтеза дофамина в гипоталамусе [Demarest KT et al, 1985-1,2; Marcou M et al, 1987; Lookingland KJ et al, 1990]. Поэтому, введение бромокриптина имеет выраженный эффект при стрессе [Demarest KT et al, 1985-1,2; Johnston JM et al, 1992], что и проявляется снятием пролактинового торможения на развитие эффектов эстрогенов в матке.

Таким образом, учитывая данные литературы о резком повышении концентрации пролактина в крови при остром стрессе, и принимая во внимание полученные нами результаты о тормозящем влиянии пролактина на эстроген-индуцированный гистогенез в матке, об угнетающем влиянии острого стресса данный тип гистогенеза, а также тот факт, что бромокриптин, способствующий снижению уровня пролактина в организме приводит к отмене стресс-обусловленных изменений в развитии эффектов эстрогенов в матке, можно говорить об участии пролактина в изменении хода эстроген-индуцированного гистогенеза в матке при остром стрессе. А отсутствие четких данных об усугублении стресс-индуцированного торможения в развитии эффектов эстрогенов в матке под влиянием пролактина и метоклопрамида, то есть при еще большей гиперпролактинемии не доказывает участия пролактина в данном процессе, но и полностью не отвергает. Поэтому, совокупность полученных данных позволяет лишь выдвинуть предположение о том, что торможение хода эстроген-индуцированного гистогенеза в матке при остром стрессе опосредуется хотя бы частично пролактином, что не является строго доказанным.

Заключая обсуждение результатов по поводу острого стресса отметим, что данная ситуация представляет собой хорошую почву для проведения дальнейших исследований в этом направлении.

Теперь переходим к анализу возможной роли пролактина в изменениях в развитии эффектов эстрогенов при хроническом стрессе.

РОЛЬ ПРОЛАКТИНА В ИЗМЕНЕНИЯХ ЭСТРОГЕН-ИНДУЦИРОВАННОГО ГИСТОГЕНЕЗА В МАТКЕ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

В проведенных экспериментах установлено, что пролактин приводит к уменьшению гистогенетических проявлений, вызванных эстрадиолом в матке овариэктомированных крыс. Гиперпролактинемия, индуцированная введением метоклопрамида, имеет тот же эффект. А гипопролактинемия, вызванная введением бромокриптина, способствует усилению эстрогенных влияний на матку. Хронический стресс вызывает снижение проявлений действия эстрогенов. Из литературы известно также, что при хронических стрессах имеет место снижение концентрации пролактина в крови [Исмаилов Ю.Б., 1991; Kant GJ et al, 1987; Lopez-Calderon A et al, 1989; 1991; Gala RR, 1990; Johansson G et al, 1990; Maric D et al, 1991; Ceccatelli S et al, 1992; Galzigna L et al, 1992; Stephanou A et al, 1992].

Поэтому, для того чтобы доказать участие пролактина в активирующем влиянии хронического стресса на действие эстрадиола в матке, необходимо получить в экспериментах: 1) ингибирование действия хронического стресса пролактином и метоклопрамидом; 2) усиление проявлений стресса бромокриптином.

С этой целью были проведены эксперименты, в которых действие эстрадиола на фоне хронического стресса развивалось в условиях гиперпролактинемии или еще большей гипопролактинемии. Для этого введение эстрадиола и хроническое стрессовое воздействие сочеталось с инъекциями либо пролактина либо метоклопрамида, или бромокриптина. Причем известно, что при хронических стрессах снижение уровня пролактина в организме обусловлено увеличением синтеза дофамина в мозге [Muscat R et al, 1992]. Эти факты подтверждают возможность использования дофаминергических препаратов для изменения синтеза и освобождения пролактина гипофизом при хронических стрессах [Muscat R et al, 1992].

В условиях введения эстрадиола на фоне хронического стресса и при введении пролактина было установлено, что стресс-индуцируемое стимулирование выраженности морфологических перестроек, вызванных эстрадиолом почти полностью ингибировалось. Данные дисперсионного анализа свидетельствуют о достоверном влиянии пролактина на большинство изучаемых параметров в матке.

Тот же результат наблюдается и при введении эстрадиола на фоне хронического стресса в условиях гиперпролактинемии, вызванной метоклопрамидом, то есть однозначное нивелирование эффектов стресса. Это подтверждают и результаты дисперсионного анализа.

При введении эстрадиола на фоне хронического стресса в условиях гипопролактинемии, индуцированной бромокриптином почти во всех случаях наблюдается усиление активирующего влияния хронического стресса на выраженность морфологических эффектов эстрогенов в матке, а дисперсионный анализ показывает наличие достоверного влияния бромокриптина во многих случаях.

Таким образом, при действии эстрадиола на фоне хронического стресса в условиях гиперпролактинемии происходит отмена стресс-индуцированного изменения хода эстроген-индуцированного гистогенеза в матке крыс. А с другой стороны, при действии эстрадиола на фоне хронического стресса и в условиях еще более сильной гипопролактинемии имеет место потенцирование данных эффектов стресса. Все это свидетельствует о том, что выявленные изменения в реакциях матки на эстрогены при хроническом стрессе реализуются с участием пролактина. Наиболее вероятно, что снижение уровня пролактина, имеющееся при хроническом стрессе, привело к усилению выраженности эффектов эстрогенов в матке, так как результатами настоящей работы показано тормозящее влияние пролактина на развитие эстрогенного действия в матке, и усиление выраженности эффектов эстрогенов при сниженной концентрации пролактина.

Итак, учитывая данные литературы о снижении концентрации пролактина при хроническом стрессе, и принимая во внимание полученные нами результаты о тормозящем влиянии пролактина на ход эстроген-индуцированного гистогенеза в матке, об активирующем влиянии хронического стресса на течение данного типа гистогенеза, а также тот факт, что пролактин и метоклопрамид, вызывающий гиперпролактинемию отменяют, а бромокриптин, способствующий снижению уровня пролактина в организме приводит к потенцированию стресс-обусловленных изменений в матке, можно считать доказанным участие пролактина в нарушении хода эстроген-индуцированного гистогенеза в матке при хроническом стрессе.

Подводя итог, можно сказать, что настоящая работа выявила новые гистогенетические изменения в матке при сочетанном влиянии эстрадиола и пролактина, а также препаратов, меняющих концентрацию пролактина в организме. Были раскрыты изменения в ходе эстроген-индуцированного гистогенеза в матке в условиях острого и хронического стрессов, а также получены доказательства участия пролактина в данных стресс-обусловленных изменениях. Кроме того, выяснение роли пролактина в изменениях хода эстроген-индуцированного гистогенеза в стрессовых условиях привело не только к констатации фактов об участии пролактина в выявленных изменениях, но и к раскрытию совершенно новых аспектов в наших воззрениях на механизмы действия стрессовых факторов на процессы роста и деления клеток. Раньше полагали, что влияние стрессов на пролиферацию тканей главным образом опосредуется глюкокортикоидами, а теперь стало ясно, что и пролактин может играть в этом весьма существенную роль, особенно, при хронических стрессовых ситуациях. Затрагивая практический выход исследования нельзя не упомянуть о том, эстрогены помимо своих нормальных эффектов в органах репродукции, обладают выраженной способностью индуцировать развитие в них злокачественных новообразований, и поэтому изучение любых механизмов, регулирующих действие эстрогенов в тканях-мишенях уже само по себе важно. В этой связи, установленный в нашей работе морфологический итог сочетанного действия пролактина и эстрадиола на структурные перестройки в матке как в нормальных, так и стрессовых условиях, представляется нам весьма существенным звеном в регуляции морфо-функционального состояния матки, тем более, что и эндокринные заболевания, связанные с нарушениями уровня пролактина, встречаются достаточно часто, и стрессы индуцируют серьезные сдвиги в секреции этого гормона. Хочется надеяться, что проделанная нами работа явится хотя бы одной ступенькой на лестнице, ведущей к пониманию биологических закономерностей возникновения и развития эстроген-зависимых злокачественных заболеваний женских репродуктивных органов, а значит и поможет в предупреждении и лечении этой патологии.

ВЫВОДЫ

1. Гистогенез, вызванный эстрадиолом и пролактином или метоклопрамидом, индуцирующим гиперпролактинемию в матке овариэктомированных крыс существенно отличается от гистогенеза, вызванного только эстрадиолом, что проявляется снижением объемов клеток, ядер, ядрышек, митотической активности и содержания ДНК, уменьшением ядерно-цитоплазматического отношения и увеличением ядрышково-ядерного соотношения в покровном эпителии, эпителии желез, клетках стромы эндометрия, миоцитах миометрия.

Гистогенез, вызванный сочетанным воздействием эстрадиола и бромокриптина, индуцирующего гипопролактинемию, в матке овариэктомированных крыс существенно отличается от гистогенеза, возникающего при введении только эстрадиола, что проявляется возрастанием величин вышеназванных показателей.

2. Не наблюдается изменений со стороны объемов клеток, ядер, ядрышек, митотической активности и содержания ДНК, ядерно-цитоплазматического и ядрышково-ядерного соотношений в покровном эпителии,

эпителии желез, клетках стромы эндометрия и миоцитах миометрия овариэктомированных крыс, которые не подвергались эстрогенизации, а получали инъекции оливкового масла и пролактина или препаратов, изменяющих его уровень в организме - метоклопрамида и бромокриптина.

3. Совокупность полученных данных об изменениях, возникающих в ходе гистогенетического процесса в матке при сочетанном введении эстрадиола и пролактина или метоклопрамида, или бромокриптина и об отсутствии изменений в матке овариэктомированных животных без эстрогенных воздействий под влиянием этих веществ свидетельствует о существенной роли пролактина в регулировании эстроген-индуцированного гистогенеза в матке.

4. Эстроген-индуцированный гистогенез в матке овариэктомированных крыс изменяется при действии острого стресса, что проявляется в снижении объемов клеток, ядер, ядрышек, митотической активности и содержания ДНК, увеличении ядерно-цитоплазматического отношения и уменьшении ядрышково-ядерного соотношения в покровном эпителии, эпителии желез, клетках стромы эндометрия и миоцитах миометрия.

Минимальные изменения, заключающиеся в некотором увеличении объемов клеток, ядер и ядрышек структур матки овариэктомированных крыс в условиях острого стресса и отсутствия эстрогенной стимуляции.

Совокупность обнаруженных изменений позволяют заключить, что действие острого стресса на матку овариэктомированных крыс, получавших эстрадиол, реализуется путем воздействия на механизм действия эстрогенов в матке, а при отсутствии эстрогенной стимуляции влияние стресса развивается по эстроген-независимым путям.

5. Эстроген-индуцированный гистогенез в матке овариэктомированных крыс изменяется при воздействии хронического стресса, что проявляется возрастанием объемов клеток, ядер, ядрышек, повышением митотической активности и содержания ДНК, уменьшением ядерно-цитоплазматического отношения и увеличением ядрышково-ядерного соотношения в покровном эпителии, эпителии желез, клетках стромы эндометрия и миоцитах миометрия. Не обнаружено изменений вышеназванных параметров матки при совместном воздействии хронического стресса и оливкового масла. Совокупность обнаруженных изменений позволяет заключить, что действие хронического стресса на матку овариэктомированных крыс реализуется путем воздействия на механизм действия эстрогенов в матке.

6. Обусловленные воздействием острого стресса изменения в ходе эстроген-индуцированного гистогенеза в матке овариэктомированных крыс не изменялись под влиянием пролактина или при гиперпролактинемии, вызванной метоклопрамидом, и блокировались при гипопролактинемии, индуцированной бромокриптином. Следовательно, только результаты с введением бромокриптина показывают участие пролактина в гистогенетических изменениях, зарегистрированных в матке при совместном влиянии эстрадиола и острого стресса, что не свидетельствует в полной мере о роли пролактина в этих процессах.

7. Обусловленные воздействием хронического стресса изменения эстроген-индуцированного гистогенеза в матке овариэктомированных крыс блокировались под влиянием пролактина или при гиперпролактинемии, вызванной метоклопрамидом, и еще более усиливались при гипопролактинемии, обусловленной введением бромокриптина. Следовательно, совокупность полученных данных свидетельствуют об участии пролактина в гистогенетических изменениях, происходящих в матке при действии эстрогенов и хронического стресса.