

Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Трениаки Л.К., Черярина Н.Д.

УРОВЕНЬ НЕКОТОРЫХ ГОРМОНОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МЕТАСТАЗИРОВАНИИ В ПЕЧЕНЬ

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, 344037, г. Ростов-на-Дону

Изучение биологии злокачественных опухолей и их метастазов является важной задачей и биологии, и медицины, так как только в эксперименте можно получить знания о тонких механизмах патогенеза этих процессов. В данной работе на разработанной нами модели метастатического поражения печени у крыс, исключая токсическое влияние канцерогенов, острого оперативного влияния и наркоза, была проанализирована динамика гормонов сыворотки крови. Установлено, что метастазирование в печень сопровождается: 1) сменой гипертиреоза, развивающегося на ранних этапах метастазирования, на латентный гипотиреоз, возникающий через 5 нед канцерогенеза вследствие аутоиммунного тиреоидита; 2) увеличением содержания прогестерона, лютеинизирующего гормона и пролактина через 5 нед метастазирования в печень после их предварительного снижения через 2 нед; 3) активацией метаболизма половых гормонов: через 1 нед увеличение уровня свободного тестостерона, через 2 нед – эстрогена и общего тестостерона с уменьшением уровня эстрогенов через 5 нед канцерогенеза; 4) активацией надпочечников с ростом в сыворотке крови концентрации стрессреализующего гормона кортикостерона и его антагониста ДГЭА.

Ключевые слова: гормоны; сыворотка; метастазы; печень; крысы.

Для цитирования: Российский онкологический журнал. 2015; 20 (3): 49–52.

LEVEL OF CERTAIN SERUM HORMONES IN EXPERIMENTAL LIVER METASTASIS

Frantsiyants E.M., Kaplieva I.V., Trepitaki L.K., Cheryarina N.D.

Rostov Cancer Research Institute, 344037, Rostov-on-Don, Russian Federation

Studying tumor and metastasis biology is an important challenge of both biology and medicine, since only an experiment may reveal fine mechanisms of pathogenesis. We analyzed the dynamics of serum hormones in a model of rat liver metastases designed by our group, which excluded toxic carcinogen effects, sharp surgical influence and narcosis. The results showed that liver metastases were associated with the following: 1) hyperthyroidism developing at early stages of metastatic process was replaced by latent hypothyroidism after 5 weeks of the carcinogenesis as a result of autoimmune thyroiditis; 2) the increase of progesterone, LG and prolactin levels after 5 weeks of tumor metastasis in liver after the 2 weeks' initial decrease; 3) sexual hormones metabolism activation: after a week – increase of free testosterone level, after 2 weeks – rise of estrone and total testosterone and the decrease of estrogen levels after 5 weeks of carcinogenesis; 4) adrenal gland activation leading to the enhancement of serum stress hormone corticosterone and its antagonist DHEA.

Key words: hormones; serum; metastasis; liver; rats.

Citation: Rossiiskii onkologicheskii zhurnal. 2015; 20 (3): 49–52. (In Russ.)

Correspondence to: Irina Kaplieva – MD, PhD; e-mail: super.gormon@yandex.ru.

Received 30.01.15

Метастазы в печени – очень распространенная онкологическая патология, которая возникает при раке разной локализации, но наиболее часто – при колоректальном раке [1, 2]. Опасность этого состояния в том, что к моменту диагностики резекция печени возможна только у 5–30 % пациентов [3,4]. Исходя из сказанного, основной задачей, стоящей сейчас перед онкологами, является всестороннее и детальное изучение патогенеза метастазирования в печень с целью дальнейшей разработки способов профилактики и консервативного лечения этой патологии. Такие глобальные задачи можно решать, только применяя экспериментальные модели животных. За последнее время появился ряд работ, посвященных исследованию гормонального фона при метастазах в печени. Опыт

показывает, что в этих процессах участвуют эстрогены, андрогены, пролактин и другие гормоны [5, 6].

Поскольку сыворотка крови является связующим звеном всех органов и систем организма, целью настоящего исследования явилось изучение динамики ряда гормонов в сыворотке крови крыс при воспроизведении метастатического процесса в печени в эксперименте.

Материал и методы

Эксперимент поставлен на 34 белых беспородных крысах-самцах массой 220–270 г. Модель экспериментального метастазирования в печень воспроизводили по следующей схеме. Предварительно за 3–4 нед до перевивки саркомы 45 (С-45) под кожу живота выводили селезенку. Затем путем интралиенальной инъекции помещали опухолевые клетки в орган (0,1 мл взвеси С-45 в физиологическом растворе в разведении $1 \cdot 10^6$), где впоследствии развивался первичный опухолевый узел, метастазирующий в печень.

Для корреспонденции: Каплиева Ирина Викторовна – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. изучения патогенеза злокачественных опухолей; 344037, г.Ростов-на-Дону, ул. 14-линия, д. 63; e-mail: super.gormon@yandex.ru.

Содержание стероидов в сыворотке крови крыс в динамике экспериментального метастатического процесса в печени

Гормон	Интактные крысы	Крысы с подкожно выведенной селезенкой	Уровень гормонов у крыс с метастазами в печени через			
			1 нед	2 нед	5 нед	
АКТГ, пг/мл	8,64 ± 0,43	8,57 ± 1,17	8,61 ± 0,99	6,28 ± 0,69	7,86 ± 1,25	
Кортикостерон, нг/мл	65,21 ± 5,87	65,87 ± 10,67	52,07 ± 14,25	25,01 ± 5,16*.*	↓ 78,59 ± 9,15 ^{4*}	↑
ДГЭА, нмоль/мл			1,12 ± 0,22	0,58 ± 0,34	1,54 ± 0,16 ^{4*}	↑
ЛГ, МЕ/л	0,04 ± 0,05	0,32 ± 0,11*	↑ 0,19 ± 0,09*	↑ 0,08 ± 0,04	0,18 ± 0,05*	↑
ФСГ, МЕ/л	14,30 ± 3,95	14,66 ± 2,57	13,98 ± 1,31	9,19 ± 1,13	2,74 ± 0,46*.*.* ^{3*,4*}	↓
Прогестерон, нг/мл	21,83 ± 2,93	16,81 ± 3,22	14,81 ± 3,85	8,05 ± 1,67*.*	↓ 17,35 ± 2,37 ^{4*}	↑
Пролактин, нг/мл	0,24 ± 0,05	2,14 ± 0,43*	↑ 1,37 ± 0,45*	↑ 0,54 ± 0,06*.*	*↑**↓ 1,07 ± 0,22*.*.* ^{4*}	*↑**↓ ^{4*} ↑
Эстрадиол, нмоль/л	0,08 ± 0,00	0,21 ± 0,02*	↑ 0,16 ± 0,02*	↑ 0,20 ± 0,01*	↑ 0,13 ± 0,02*.*.* ^{4*}	↓
Эстрон, пг/мл	8,84 ± 1,33	9,22 ± 0,28	25,85 ± 9,65	60,89 ± 0,29*.*.* ^{3*}	↑ 10,29 ± 3,17 ^{4*}	↓
Тестостерон общий, нг/мл	1,19 ± 0,35	0,78 ± 0,11	1,61 ± 0,57	3,25 ± 1,46**	↑ 1,12 ± 0,18	
Тестостерон свободный, нг/мл	2,44 ± 1,22	0,09 ± 0,05	3,77 ± 1,13**	↑ 5,41 ± 3,18	1,85 ± 0,53**	↑

Примечание. Здесь и в табл. 2: * – достоверное отличие от интактных крыс; ** – достоверное отличие от крыс с подкожно выведенной селезенкой; *** – достоверное отличие от крыс с метастазами в печени через 1 нед; ** – достоверное отличие от крыс с метастазами в печени через 2 нед.

1-ю группу – контроль 1 (К1) – составили интактные самцы ($n=7$). 2-ю группу – контроль 2 (К2) – составили крысы с выведенной под кожу селезенкой не ранее чем через 3–4 нед после оперативного вмешательства ($n=7$). 3-ю группу – основную 1-ю группу (МТС 1) составили крысы через 1 нед после введения взвеси саркомы 45 (С-45) в селезенку ($n=7$). 4-ю группу – основную 2-ю группу (МТС 2) составили крысы через 2 нед после введения взвеси С-45 в селезенку ($n=6$). 5-ю группу – основную 3-ю группу (МТС 5) составили крысы через 5 нед после введения взвеси С-45 в селезенку ($n=7$). 1-я и 2-я недели нас интересовали как ранний этап, предшествующий «выходу» первичной опухоли в селезенку; 5-я неделя – этап появления метастатических очагов в печени.

Крыс умерщвляли путем декапитации на гильотине. Кровь собирали без консерванта в пробирки, центрифугировали и выделяли сыворотку. В сыворотке определяли следующие гормоны: адренокортикотропный гормон (АКТГ), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), лютеинизирующий гормон (ЛГ), тиреотропный гормон (ТТГ), пролактин, прогестерон, свободные формы трийодтиронина (T_3 св) и тироксина (T_4 св), антитела к ТРО, общий и свободный тестостерон, эстрон, эстрадиол, кортикостерон, дегидроэпиандростерон (ДГЭА) у крыс основных групп. ЛГ, ФСГ, пролактин, АКТГ определяли с помощью ИФА-наборов фирмы Biovendor, кортикостерон – IDC, ТТГ – USCN для крыс. Прогестерон, тестостерон – с помощью наборов для иммуноферментного анализа фирмы Nema для людей. T_3 св, T_4 св, антитела к ТРО исследовали методом радиоиммунологического анализа при помощи наборов фирмы Immunotech.

Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи параметрического критерия Стьюдента на персональном компьютере посредством программы Statistica 10.0, а также непараметрического критерия Вилкоксона – Манна-

Уитни. Достоверными считали различия между двумя выборками при $p<0.05$.

Результаты и обсуждение

Выведение селезенки под кожу (К2). Через 3–4 нед после выведения селезенки под кожу компоненты первой стресс-реализующей гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС) находились в пределах нормальных величин, что, по всей видимости, свидетельствовало о процессах компенсации стресс-реакции на оперативное воздействие и наркоз (табл. 1). Составляющие второй стресс-реализующей гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы (ГГТС), напротив, были значительно отклонены от нормальных значений: ТТГ увеличился в 1,7 раза, T_3 св – в 1,8 раза, T_4 св – в 1,2 раза (табл. 2). Полученные изменения указывали на «напряженное» состояние ГГТС, сопровождающееся усилением синтетических процессов в щитовидной железе. Кроме того, активировалась система, ответственная за синтез половых гормонов: в сыворотке крови увеличилось содержание пролактина в 8,9 раза, ЛГ в 8 раз, эстрадиола в 2,6 раза (см. табл. 1).

Метастазы печени

МТС1. Через 1 нед от начала введения клеток С-45 в селезенку в сыворотке крови сохранялись нормальные концентрации гормонов первой стрессорной оси (ГГНС), в то время как концентрация гормонов тиреоидной оси несколько увеличивалась за счет роста в 1,2 раза содержания T_3 св, на фоне нормализации уровня ТТГ (см. табл. 1, 2). У крыс этой группы в процесс канцерогенеза, по всей видимости, вовлекались мужские половые гормоны. Так, концентрация свободного тестостерона в сыворотке крови самцов увеличивалась в 41,9 раза по сравнению с К2. Известно, что андрогены стимулируют TGF- α -опосредованный канцерогенез в печени [7]. Причиной роста тестостерона могла быть стимуляция его синтеза в клетках Лейдига ЛГ, содержание которого в крови было в 4,6 раза больше, чем у ин-

Таблица 2

Содержание тиреоидных гормонов в сыворотке крови крыс в динамике экспериментального метастатического процесса в печени

Гормон	Интактные крысы	Крысы с подкожно выведенной селезенкой-	Уровень гормонов у крыс с метастазами в печени через		
			1 нед	2 нед	5 нед
ТТГ, мМЕ/л	0,06 ± 0,01	0,10 ± 0,02* ↑	0,05 ± 0,01** ↓	0,06 ± 0,02** ↓	0,20 ± 0,04*.*.*.3*.4* ↑
T ₃ св, пмоль/л	5,00 ± 0,59	8,81 ± 0,47* ↑	10,97 ± 0,83*.*.* ↑	11,34 ± 1,25*.*.* ↑	8,96 ± 1,64
T ₄ св, пмоль/л	17,39 ± 1,46	21,73 ± 1,31* ↑	23,43 ± 0,81* ↑	24,16 ± 1,04* ↑	20,79 ± 2,76* ↑
Антитела к ТРО, МЕ/мл	20,81 ± 2,97	16,56 ± 0,67	13,24 ± 1,18	16,15 ± 0,44	24,46 ± 3,34*.*.*.4* ↑

тактных животных (см. табл. 1). В сыворотке крови сохранялись высокие концентрации пролактина и эстрадиола – они были соответственно в 5,7 и 2,0 раза выше, чем у интактных животных (см. табл. 1). Значительное количество 17β-эстрадиола выявлено в плазме крови и у трансгенных самцов-мышей CD-1MT42, имеющих высокую частоту возникновения спонтанной гепатоцеллюлярной карциномы [8].

МТС2. Через 2 нед метастатического роста в печени наряду с сохранением повышенной активности тиреоидной системы в процесс канцерогенеза вовлекалась ГГНС (см. табл. 1, 2). Происходило уменьшение концентрации кортикостерона в сыворотке крови: его уровень был в 2,6 раза ниже, чем у контрольных крыс (см. табл. 1). Этот процесс мог быть вызван изменением активности некоторых ферментов, участвующих в стероидогенезе, что приводило к накоплению одного гормона в ущерб другому. Известно, что прогестерон может являться предшественником и кортикостерона, и эстрогена, уровень которого в этот период был в 2,4 раза выше, чем у крыс из МТС1. Сохранялось высокое содержание эстрадиола. Возрастала концентрация общего тестостерона. Его содержание в сыворотке было в 4,2 раза выше, чем у крыс с подкожно выведенной селезенкой. Уровни пролактина и прогестерона, напротив, снижались и становились соответственно в 4 и 2 раза ниже, чем у К2 (см. табл. 1). Увеличение концентрации эстрогена и общего тестостерона на фоне сохранения высокого уровня эстрадиола и уменьшения содержания пролактина и прогестерона косвенно указывало на активный рост опухоли. Известно, что эстрогены относятся к числу важных стимуляторов роста не только репродуктивных, но и нерепродуктивных тканей организма и оправданно сохраняют ведущую роль модификаторов или инициаторов гормонального канцерогенеза [9]. Фактором, устраняющим стимулирующее влияние эстрогенов, считают прогестерон. При злокачественном росте эти механизмы считаются ведущими в системе многофакторной регуляции пролиферативной активности клеток органов репродуктивной системы [10].

МТС5. Через 5 нед восстановления метастатического процесса в печени на фоне снижения общей массы тела животных происходили рост первичного опухолевого узла в селезенке и изменение окраски ткани печени, предшествующие появлению метастатических узлов. Выход опухолей сопровождался активацией ГГНС, о чем свидетельствовало увеличение концентраций кортикостерона и ДГЭА в сыворотке крови соответственно в 3,1 и 2,7 раза по сравнению с МТС2 (см. табл. 1). Тиреоидная система в этот пе-

риод работала на пределе своих возможностей. Ее повторная активация приводила к напряжению щитовидной железы с возможным аутоиммунным повреждением органа. Отмечалось увеличение уровня ТТГ, его содержание было в 3,3 раза больше, чем у крыс из МТС2. T₄ св оставался высоким. Увеличивался уровень антител: их содержание было в 1,5 раза больше, чем у крыс из группы МТС2 (см. табл. 2). Вновь возрастала концентрация ЛГ, она становилась в 4,5 раза выше, чем у интактного контроля. Резко снижалось содержание ФСГ. Его величина была ниже, чем в К1, К2, МТС1 и МТС2 соответственно в 5,2, в 5,4, в 5,1 и в 3,4 раза (см. табл. 1). Концентрации эстрадиола и эстрогена резко уменьшались и достигали интактных значений. В 20,5 раза увеличивался по сравнению с крысами с подкожно выведенной селезенкой уровень свободного тестостерона. Прогестерон восстанавливался до исходных цифр. Пролактин вновь возрастал до значений у крыс МТС1 (см. табл. 1). Известно, что уровень пролактина увеличивается в сыворотке крови у больных со злокачественными поражениями печени [11].

Таким образом, патогенетическими моментами метастазирования злокачественной опухоли в печень являлись: 1) смена гипертиреоза, развивающегося на ранних этапах метастазирования (рост T₃ св, T₄ св и снижение ТТГ), на латентный гипотиреоз, возникающий через 5 нед канцерогенеза (снижение T₃ св, увеличение ТТГ), вследствие аутоиммунного тиреоидита (рост антител); 2) увеличение содержания прогестерона, ЛГ и пролактина через 5 нед метастазирования в печень после их предварительного снижения через 2 нед; 3) активация метаболизма половых гормонов: через 1 нед увеличение уровня свободного тестостерона, через 2 нед – эстрогена и общего тестостерона с уменьшением уровня эстрогена через 5 нед канцерогенеза; 4) активация надпочечников с ростом в сыворотке крови концентрации как стресс-реализующего гормона кортикостерона, так и его антагониста ДГЭА.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бондарь Г.В., Думанский Ю.В., Седаков И.Е., Ищенко Р.В. Внутриаартериальная полихимиотерапия при колоректальном раке с метастазами в печени. *Онкология*. 2011; 13 (1): 37–9.
2. Берштейн Л.М., Барук А.С., Гершфельд Э.Д. и др. Ароматаза и её ингибиторы при различных онкологических заболеваниях помимо рака молочной железы. *Вопросы онкологии*. 2007; 53 (1): 7–13.
3. Кит О.И., Козлова М.Б., Франциянц Е.М., Никипелова Е.А. и др. Колоректальный рак и половые гормоны: содержание в крови больных с одиночным, рецидивным и первично-мно-

- жественным процессом. *Фундаментальные исследования*. 2014; 7 (ч. 3): 517–21.
4. Ковалев А.А., Ковалев К. А., Смирнов Л. Ю., Семенова Т. А., Колесник И. Ф., Котелевец Н. В., Рябошапка А. Н. Радиочастотная термоабляция в лечении метастатического рака печени. *Сучасні медичні технології*. 2009; 1: 41–9.
 5. Федосов А.В., Семейкин А.В. Прогестины: молекулярные механизмы контроля пролиферации и апоптоза клеток чувствительных тканей. *Вопросы онкологии*. 2003; 49 (1): 9–20.
 6. Bigsby R.M., Caperell-Grant A. The role for estrogen receptor-alpha and prolactin receptor in sex-dependent DEN-induced liver tumorigenesis. *Carcinogenesis*. 2011; 32 (8): 1162–6.
 7. Hilakivi-Clarke L.A., Arora P.K., Clarke R., Wright A., Lippman M.E., Dickson R.B. Opposing behavioural alterations in male and female transgenic TGF alpha mice: association with tumour susceptibility. *Br. J. Cancer*. 1993; 67 (5): 1026–30.
 8. Jemal A., Bray F., Center M.M., Ferlay J., Ward E., Forman D. Global cancer statistics. *CA. Cancer J. Clin.* 2011; 61 (2): 69–90.
 9. Matsumoto T., Takagi H., Mori M. Androgen dependency of hepatocarcinogenesis in TGFalpha transgenic mice. *Liver*. 2004; 24 (3): 275.
 10. Nordlinger B., Van Cutsem E., Rougier P., Kuhne C.H. et al. European Colorectal Metastases Treatment Group: Does chemotherapy prior to liver resection increase the potential for cure in patients with metastatic colorectal cancer? A report from the European Colorectal Metastasis Treatment Group. *Eur. J. Cancer*. 2007; 43 (14): 2037–45.
 11. Wang W.W., Ang S.F., Kumar R., Heah C. et al. Identification of serum monocyte chemoattractant protein-1 and prolactin as potential tumor markers in hepatocellular carcinoma. *PLoS One*. 2013; 18 (8): 7.
2. Bershteyn L.M., Baruk A.S., Gershfel'd E.D. et al. Aromatase and its inhibitors in various cancers besides breast cancer. *Vo-prosy onkologii*. 2007; 53 (1): 7–13. (in Russian)
 3. Kit O.I., Kozlova M.B., Frantsiyants E.M., Nikipelova E.A. et al. Colorectal cancer and sex hormones: the content in the blood of patients with a single, recurrent and pervichnomnozhestvennym process. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2014; 7 (chast' 3): 517–21. (in Russian)
 4. Kovalev A.A., Kovalev K.A., Smirnov L.Yu., Semenova T.A., Kolesnik I.F., Kotelevets N.V., Ryaboshapka A.N. Thermoablation radiofrequency in the treatment of metastatic liver cancer. *Suchasni medichni tekhnologii*. 2009; 1: 41–9. (in Russian)
 5. Fedosov A.V., Semeykin A.V. Progestins: molecular mechanisms controlling cell proliferation and apoptosis-sensitive tissues. *Vo-prosy onkologii*. 2003; 49 (1): 9–20. (in Russian)
 6. Bigsby R.M., Caperell-Grant A. The role for estrogen receptor-alpha and prolactin receptor in sex-dependent DEN-induced liver tumorigenesis. *Carcinogenesis*. 2011; 32 (8): 1162–6.
 7. Hilakivi-Clarke L.A., Arora P.K., Clarke R., Wright A., Lippman M.E., Dickson R.B. Opposing behavioural alterations in male and female transgenic TGF alpha mice: association with tumour susceptibility. *Br. J. Cancer*. 1993; 67 (5): 1026–30.
 8. Jemal A., Bray F., Center M.M., Ferlay J., Ward E., Forman D. Global cancer statistics. *CA. Cancer J. Clin.* 2011; 61 (2): 69–90.
 9. Matsumoto T., Takagi H., Mori M. Androgen dependency of hepatocarcinogenesis in TGFalpha transgenic mice. *Liver*. 2004; 24 (3): 275.
 10. Nordlinger B., Van Cutsem E., Rougier P., Kuhne C.H. et al. European Colorectal Metastases Treatment Group: Does chemotherapy prior to liver resection increase the potential for cure in patients with metastatic colorectal cancer? A report from the European Colorectal Metastasis Treatment Group. *Eur. J. Cancer*. 2007; 43 (14): 2037–45.
 11. Wang W.W., Ang S.F., Kumar R., Heah C. et al. Identification of serum monocyte chemoattractant protein-1 and prolactin as potential tumor markers in hepatocellular carcinoma. *PLoS One*. 2013; 18 (8): 7.

REFERENCES

Поступила 30.01.15