^d x 612.453-092.9:612.015.1:612.621.31

М.Д. Тронько, О.І. Ковзун, Н.М. Костюченко, Є.М. Грінченко, О.С. Лукашеня, О.С. Микоша

Естрогени як фактор регуляції адренокортикальної функції: деякі молекулярно-генетичні механізми і системи трансдукції сигналу

Відділ патофізіології Державної установи "Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України", Київ

Ключові слова: естрадіол, адренокортикоцити, протеїнкінази

Сьогоднішній стан в молекулярній ендокринології характеризується поступовим накопиченням фактів, які свідчать про суттєву участь факторів найрізноманітнішої природи (білкових і небілкових гормонів, нейротрансмітерів, факторів росту, цитокінів та ін.) у регуляції стероїдогенезу та проліферації адренокортикальної тканини. Проміж нових факторів регуляції функції кори надниркових залоз складністю та розмаїттям ефектів вирізняються естрогени. Впродовж ряду років ми вивчаємо молекулярні аспекти дії естрадіолу в адренокортикоцитах людини та експериментальних тварин.

Мета роботи - дослідження месенджерних механізмів, що забезпечують перенесення регуляторних сигналів естрогенів в корі надниркових залоз. Визначено вплив естрадіолу на секрецію кортикостероїдів, рівні cAMP і cGMP в корі надниркових залоз, активність протеїнкінази А (ПКА) і загальну активність протеїнкінази С (ПКС) у субклітинних фракціях адренокортикоцитів, рівні ERK1/2, JNK, p38 протеїнкіназ, що активуються мітогенами, факторів транскрипції c-jun та c-fos, а також експресію мРНК ферментів стероїдогенезу та апоптичних факторів.

Матеріали і методи. В дослідженнях in vitro використовували післяопераційну тканину надниркових залоз людини, яку одержували з хірургічного відділення інституту. Експерименти in vivo проведено на самцях щурів лінії Вістар. Визначення активності ПКС і ПКА проводили за методикою, що базується на оцінці фосфорилювання високоспецифічних субстратів цих ферментів - нейрограніну та кемптиду. Імунодетекцію ERK1/2, JNK, p38, c-jun, c-fos проводили методом Вестерн-блот аналізу. Визначення експресії мРНК цитохрому $P450_{scc}$, основного ферменту стероїдогенезу, та білка-регулятора гострої фази стероїдогенезу (StAR) проводили методом зворотної транскрипції – полімеразної ланцюгової реакції. Оцінку апоптичних змін проводили, визначаючи експресію мРНК проапоптичного фактора Bax та ступінь фрагментації ДНК, що є свідченням переходу клітини до завершальних етапів апоптозу.

Результати та їх обговорення. Естрадіол в умовах in vitro та in vivo спричиняє істотне дозозалежне збільшення продукції кортикостероїдів корою надниркових залоз. Внаслідок дії гормону in vitro спостерігається 7-разове збільшення рівня cAMP в адренокортикальній тканині, активність ПКА і ПКС значно зростає в мікросомальній фракції адренокортикальних клітин. В цих умовах рівень cGMP залишається без змін. Отримані дані доводять причетність cAMP-залежної ПКА і ПКС до перенесення сигналів естрадіолу в корі надниркових залоз людини.

Істотний ефект естрадіолу in vivo спостерігається у зміні рівня протеїнкінази, що активується мітогенами, ERK1/2, який зростає в 1,7 рази після тридобових ін'єкцій гормону щурам. Рівень p38 і JNK в цих умовах залишається без змін. Привертає увагу участь фактора транскрипції AP-1, що утворюється як гомо- або гетеродимер двох транскрипційних факторів - c-jun та c-fos, в перенесенні сигналу естрадіолу: рівень c-fos зростає під дією гормону в 1,8 рази. Отже, найбільш суттєва роль у трансдукції сигналу естрадіолу в адренокортикоцитах належить кіназі ERK1/2 і фактору транскрипції c-fos. До месенджерних шляхів, що опосередковують дію естрогенів, залучено як сигнальні каскади, пов'язані з протеїнкіназами А і С, так і системи, які використовують в якості вторинних посередників протеїнкінази, що активуються мітогенами.

Одним із можливих пояснень збільшення синтезу сумарних гідроксикортикостероїдів клітинами надниркових залоз під впливом естрадіолу у дослідах in vitro та in vivo може бути зміна рівня цитохрому P450, який забезпечує реакції гідроксилювання стероїдів. Методом зворотної транскрипції – полімеразної ланцюгової реакції встановлено, що експресія мРНК $P450_{scc}$ та StAR під впливом естрадіолу зростає майже вдвічі. Виходячи з отриманих даних, виявлені прямі стимулювальні ефекти естрадіолу на стероїдогенез в корі надниркових залоз можуть пояснюватись залученням цитохрому $P450_{scc}$ та StAR до реалізації дії естрогенів в адренокортикоцитах.

За оцінкою апоптичних змін в корі надниркових залоз людини, внесення естрадіолу до середовища інкубації викликає зниження експресії проапоптичного фактора Bax і зменшення інтенсивності фрагментації ДНК в адренокортикоцитах. Отже, отримані результати свідчать про помітну антиапоптичну дію естрадіолу в адренокортикоцитах.

Висновки.

1. У корі надниркових залоз естрадіол активує сигнальні каскади cAMP-залежної ПКА, ПКС та протеїнкінази, що активується мітогенами (ERK1/2).

2. Під впливом естрадіолу спостерігається збільшення вмісту ядерного транскрипційного чинника c-fos в адренокортикальних клітинах.

3. Посилення стероїдогенезу в адренокортикоцитах може пояснюватись впливом естрогенів на рівень мРНК цитохрому $P450_{scc}$ та StAR.

4. Естрадіол має помітну антиапоптичну дію в корі надниркових залоз, яка оцінювалась за зниженням рівня мРНК проапоптичного фактора Bax та зменшенням інтенсивності фрагментації ДНК.

© ¸.d . ´ ΥΣΡα=Σ, ɔ.‿ x ΣΖΛΨΡ, ¸.¸. x ΣΦΚγάΙ Ρ=Σ, ¸.¸. c ΥΚΡάΙ Ρ=Σ, ɔ.;. ´ Ψ=ΔέΙ Ρδ, ɔ.;. ¸ ΜΕΣέΔ 2008