

Экспериментальное обоснование инноваций в профилактике и лечении андрогензависимой патологии

А.Г. Резников

Государственное учреждение «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко НАМН Украины»

Резюме. В статье представлены итоги экспериментальных исследований автора и сотрудников, направленных на создание и усовершенствование методов профилактики и лечения эндокринных, гинекологических и онкологических заболеваний, в патогенезе которых существенная роль принадлежит функциональной гиперандрогении или дефициту андрогенов в организме. В частности, обосновано применение некоторых фармакологических препаратов для предотвращения нарушений половой дифференциации нейроэндокринной системы. Предложено и одобрено МЗ Украины использование антиандрогена флутамида (таблетки флутафарма) для лечения синдрома поликистозных яичников и повышения эффективности вспомогательных репродуктивных технологий. Обоснована и внедрена в медицинскую практику методика низкодозовой эстроген-антиандрогенной терапии рака предстательной железы. Проводится доклиническое изучение рекомбинантного цитокина ЕМАР-II как потенциального средства лечения этой болезни.

Ключевые слова: андрогены, нейроэндокринная система, половая дифференциация мозга, синдром поликистозных яичников, рак предстательной железы, антиандрогены, ЕМАР-II.

Фармакологическая защита импринтинговой патологии нейроэндокринной системы и полового поведения.

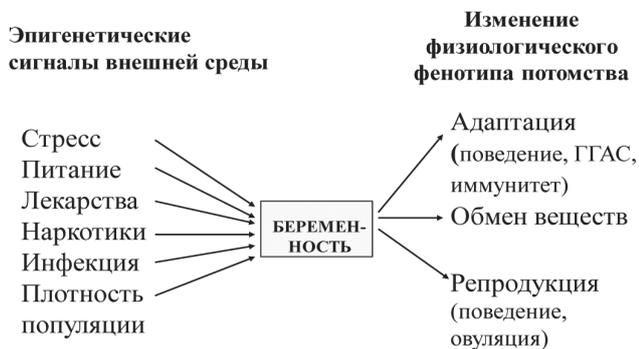
В современной медицине утвердилось представление о том, что развивающийся внутриутробный плод чрезвычайно чувствителен к изменениям гомеостаза материнского организма и воздействиям на него разнообразных

факторов внешней среды. Эти влияния передаются от матери к плоду гуморальным путем через плаценту и способны изменять программу индивидуального развития организма. Результатом этого являются изменения фенотипа потомства (**схема**).

Это научное направление получило название «функциональная тератология», в отличие от традиционной тератологии, описывающей анатомические аномалии (уродства) развития. Функциональную тератологию характеризуют следующие положения. 1) Функциональные

* адреса для листування (Correspondence): ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», вул. Вишгородська, 69, м. Київ, 04114, Україна; e-mail: zdovado@ukr.net

КЛІНІЧНІ ТА ФУНДАМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ



нарушения возникают на фоне отсутствия анатомических аномалий развития. 2) Они обнаруживаются в постнатальном периоде, чаще после полового созревания. 3) Функциональная патология является долговременной или пожизненной. 4) Функциональные нарушения являются результатом эпигенетического программирования индивидуального развития по типу импринтинга (запечатления).

Классическим примером эпигенетического импринтинга является андрогензависимая половая дифференциация гипоталамуса и других отделов мозга, которые связаны с нейроэндокринной регуляцией репродуктивных функций и поведения [1]. В репродуктивном возрасте имеются отчетливые признаки половых различий этих физиологических процессов – мужской и женский типы поведения, циклическая секреция гонадотропинов и, соответственно, гормонов половых желез у особей женского пола и относительно монотонный тип секреции у мужских особей. Однако и те, и другие генетически запрограммированы на развитие по женскому типу. Однако в критические периоды развития (у плода человека – с 13-й по 18-ю неделю гестации, у крыс – в самом конце беременности и в первую неделю после рождения) у мужского плода под влиянием андрогенов, вырабатываемых семенниками, происходит перепрограммирование развития мозга по мужскому типу. В итоге многолетних исследований нашего научного коллектива выяснены основные нейрохимические механизмы этого процесса. Главный парадокс состоит в том, что маскулинизацию осуществляют не сами мужские половые гормоны, а женские половые гормоны – эстрогены, синтезируемые в гипоталамусе путем ароматизации андрогенов, то есть их конверсии в эстрогены (рис. 1). Там же они превращаются в гидроксильрованные продукты – катехолэстрогены, кото-

рые замедляют метаболизм норадреналина по катехол-О-трансферазному пути, и тем самым способствуют его накоплению в гипоталамусе. Катехолэстрогены и норадреналин совместно программируют дифференциацию мозга по мужскому типу, изменяя реактивность нейронов и нейросекреторных клеток по отношению к половым стероидам. В этом процессе участвуют также ионы кальция. Исследованиями последнего времени показано, что раннее программирование андрогенами мужского фенотипа нейроэндокринной регуляции половой системы связано с ослаблением клеточной кальциевой сигнализации, а связанное с этим снижение реакции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГАС) на острый стресс и норадренергические стимулы, напротив, с усилением кальциевой сигнализации.

Таким образом, дефицит андрогенов в системной циркуляции внутриутробного плода мужского пола в среднем триместре беременности может вызвать нежелательные отдаленные последствия в виде феминизации поведения и нейроэндокринных функций, в то время как для плода женского пола опасным является избыток андрогенов. Клиническими проявлениями этого у женщин могут быть поликистоз яичников, аменорея, бесплодие, усиление полового влечения, нарушение сексуальной ориентации. Ниже перечислены этиологические варианты данной патологии.

- Неадекватное назначение беременным лекарственных средств с сопутствующей ан-

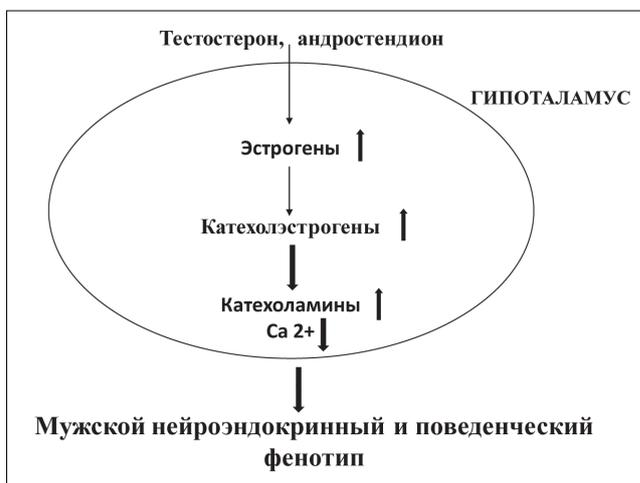


Рисунок 1. Нейрохимические механизмы «маскулинизации» развивающегося гипоталамуса в результате раннего действия андрогенов

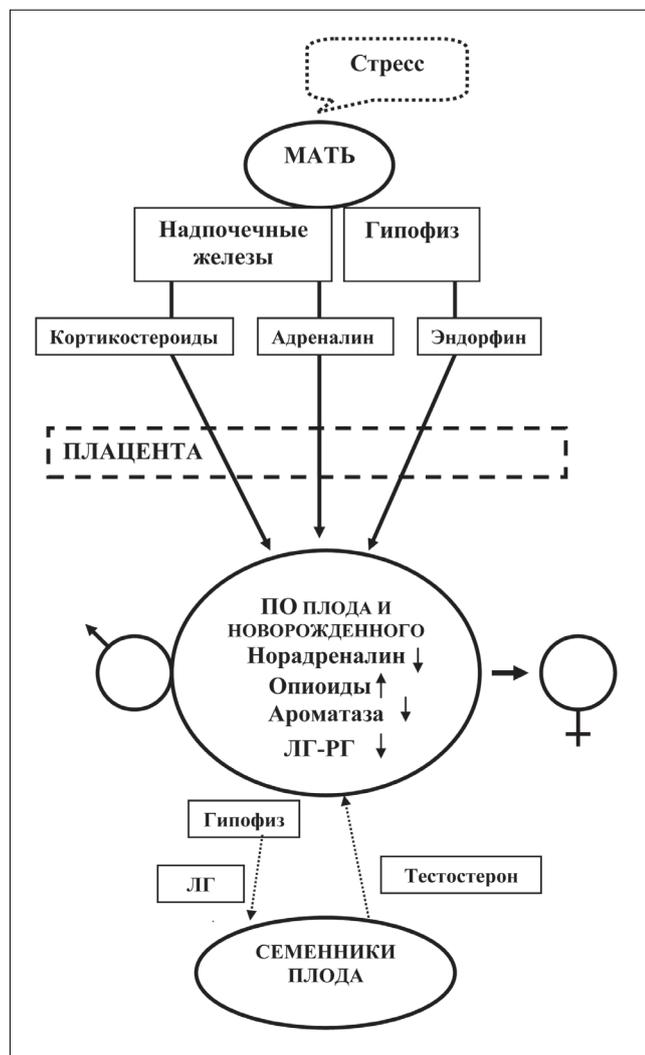


Рисунок 2. Гормональные медиаторы феминизирующего влияния пренатального стресса на половую дифференциацию преоптической области (ПО) гипоталамуса самцов

дрогенной активностью (синтетические прогестины и др. стероиды).

- Усиление секреции надпочечниковых андрогенов при стрессе.
- Другие варианты функциональной гиперандрогении (надпочечниковая – при врожденной гиперплазии коры надпочечников матери или плода; овариальная – при синдроме поликистозных яичников – СПКЯ).

Изучая с помощью фармакологических препаратов роль кальциевой сигнализации в половой дифференциации мозга, мы получили настораживающие результаты в аспекте функциональной тератологии лекарственных средств. В экспериментах на крысах использовали нимодипин – дигидропиридиновый бло-

катор кальциевых каналов медленного типа. Его вводили беременным крысам перорально в суточной дозе 20 мг/кг м.т. на протяжении последней недели беременности – с 15-го до 21-го дня гестации. При тестировании полового поведения у взрослого потомства были обнаружены аномалии, выражающиеся в появлении признаков женского полового поведения (лордозная реакция) и активного гомосексуального поведения у значительной части самцов при контакте их с нормальными самцами. С другой стороны, у части самок выявлены признаки гомосексуального поведения при контакте с нормальными самками [2]. Кроме того, у самок запаздывало половое созревание, а также нарушалась регулярность эстральных циклов у 20% потомков.

Биохимическим коррелятом нарушения половой дифференциации мозга было извращение половых различий относительного содержания в преоптической области гипоталамуса 10-дневных крыс белка с м.м. 66 кДа, уровень которого в норме выше у самцов. Отмечены нарушения и в отношении 5-альфа-редуктазной активности стероидов в преоптической области и медиобазальном гипоталамусе самцов и самок.

В связи с этим следует подчеркнуть, что нимодипин разрешен для применения во время беременности при артериальной гипертензии, то есть по медицинским показаниям. Считают, что польза от его применения превышает риск для матери и плода.

Совершенно очевидно, что вопрос о безопасности лекарственных средств, рекомендованных для применения у беременных женщин при генитальной или экстрагенитальной патологии, а также для сохранения беременности при угрозе ее прерывания, в отношении нейроэндокринной системы и поведения потомства должен решаться на этапе доклинического изучения [3]. Технология таких исследований изложена нами в методических рекомендациях Государственного фармакологического центра МЗ Украины.

Естественным продолжением наших исследований в области функциональной тератологии стали поиски способов фармакологической защиты нейроэндокринной системы от воздействия модифицирующих пренатальных факторов. Получены доказательства протекторной способности ингибиторов синтеза катехоламинов, центральных адренолитиков, ингибиторов ароматазы стероидов в отно-

шении андрогензависимой маскулинизации (дефеминизации) мозга самок, а также верапамила – в качестве протектора нарушений функции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы.

Возможности фармакологической профилактики импринтинговой патологии нейроэндокринной системы и поведения мы продемонстрировали на примере синдрома пренатального стресса [4-6]. Его симптомами являются нарушения полового поведения у самцов, фертильности самок и стресс-реактивности у животных обоего пола, рожденных самками крыс, перенесшими длительный стресс во время беременности. Клинические исследования подтверждают обоснованность выводов о нарушениях половой дифференциации мозга, сделанных на основании экспериментов на животных.

Нами были выявлены основные гормональные механизмы патогенеза синдрома пренатального стресса (рис. 2). Главную роль играет усиление секреции опиоидов в организме беременной матери и повышение их уровня в мозгу плода, вызванное иммобилизацией по схеме: ежедневная одночасовая иммобилизация крысы с 15-го до 21-го дня беременности. Опиоиды ингибируют секрецию гонадотропинов и, следовательно, синтез тестостерона в семенниках внутриутробного плода. Транзиторный дефицит циркулирующих в крови андрогенов и является причиной нарушения половой дифференциации мозга самца. С другой стороны, стрессирование матери приводит к усилению секреции андростендиона – относительно «слабого» андрогена. Проникая через плаценту, он программирует нарушения формирования нейроэндокринной системы репродукции у плодов-самок, что впоследствии находит выражение в снижении плодовитости. Это подтверждается изменением 5-альфа-редуктазной активности в медиобазальном гипоталамусе новорожденных пренатально стрессированных самок.

У пренатально стрессированных самцов крыс в первые дни после рождения обнаружены такие признаки феминизации (демаскулинизации), как уменьшение относительного содержания маркерного белка половой дифференциации мозга (66 кДа) в цитозольной фракции гомогената преоптической области гипоталамуса до уровня такового у нормальных самок, изменение ароматазной активно-

сти в этой же области. По достижении половой зрелости у самцов отмечено достоверное увеличение (в четыре раза) латентного периода садок при контакте с нормальными рецептивными самками, двукратное уменьшение числа эякуляций. Также обращает на себя внимание ослабление реакции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы на стресс-тест у самцов и на норадренергическую стимуляцию гипоталамуса – у самок.

Все перечисленные нарушения нейроэндокринной регуляции репродуктивной системы и стресс-реактивности можно было предотвратить введением нимодипина беременным крысам перед их стрессированием в последнем триместре беременности. Аналогичным образом превентивный эффект оказывало заместительное введение тестостерона, блокада стресса дексаметазоном или антагонистом опиоидных рецепторов налтрексоном. Эти данные могут служить базисом для разработки клинически приемлемых методов профилактики описанной исследованной патологии.

Флутамид в лечении андрогензависимой патологии у женщин

Функциональная гиперандрогения встречается довольно часто – у 10-15% представителей женской популяции. Она имеет разнообразные клинические проявления:

- Гинекологическая патология: СПКЯ, нарушения менструального цикла, ановуляция, бесплодие и др.
- Дерматиты: гирсутизм, себорея, акне, алопеция.

Общепризнано, что функциональная гиперандрогения сопряжена с повышенным риском развития инсулинорезистентности, сахарного диабета типа 2, ожирения, сердечно-сосудистой патологии, рака матки и яичников. Все это побуждает уделять особенное внимание гиперандрогенным состояниям у женщин [7].

Существуют различные патогенетические варианты гиперандрогении, связанные с повышением секреции андрогенных гормонов овариального или адренкортикального происхождения, снижением уровня в плазме глобулина, связывающего половые гормоны, что ведет к увеличению свободной фракции активных андрогенов, а также с повышением рецепции андрогенных стероидов (обычно

при акне) или активности 5-альфа-редуктазы (обычно при гирсутизме) в придатках кожи. Однако независимо от патогенеза, ослабить биологические эффекты андрогенов можно при помощи агонистов андрогенных рецепторов (антиандрогенов).

У нас накоплен большой опыт работы с нестероидным антиандрогеном флутамидом. Это вещество, в отличие от антиандрогенов стероидного строения, не имеет сопутствующей гестагенной или иной гормональной активности, не подавляет секрецию собственных гонадотропинов. Фармацевтическая и фармакологическая разработка препарата, первоначально названного нифтолидом, была начата много лет тому назад и завершилась клиническим применением таблеток нифтолида при раке предстательной железы (РПЖ) в бывшем СССР. В последние годы совместно с ОАО «Фармак» (г. Киев) была усовершенствована рецептура препарата, проведены необходимые доклинические исследования его антиандрогенной активности и безопасности, налажен промышленный выпуск таблеток под названием «Флутафарм».

На экспериментальной модели поликистоза яичников, вызванного у крыс имплантацией под кожу силиконовых капсул с тестостероном, было обнаружено, что введение нифтолида или флутафарма восстанавливает прерванный андрогенами эстральный цикл и овуляцию, восстанавливает фертильность животных. После выполнения нами в полном объеме доклинических исследований и проведения клинических испытаний [7-9] Государственный фармакологический центр МЗ Украины рекомендовал, по нашему предложению, дополнить медицинскую инструкцию по применению флутафарма новыми показаниями. В соответствии с приказом МЗ Украины № 750 от 23.11.2007 г., флутамид (флутафарм) было разрешено применять не только у мужчин

(рак простаты, диагностика мужского гипогонадизма), но и у женщин – для лечения функциональной гиперандрогении, сопровождаемой нарушением овариально-менструального цикла, гирсутизмом, СПКЯ и бесплодием.

Развивая это направление исследований, мы экспериментально установили, что прегравидарная подготовка флутафармом в суточной дозе 375 мг, нейтрализуя избыточный андрогенный фон, повышает эффективность гонадотропных индукторов овуляции – рекомбинантного ФСГ (в субтерапевтической дозе) и ХГЧ, которые вводят последовательно [10]. Отражением этого являются данные о количестве свежих желтых тел в яичниках, которые образуются после овуляции (табл.).

Применение этого метода в клинических условиях дало позитивные результаты при проведении циклов вспомогательных репродуктивных технологий – фертилизации *in vitro* у женщин с бесплодием, обусловленным СПКЯ [11]. Кроме некоторого повышения процента успешных циклов, отмечена возможность уменьшения расхода рекомбинантного ФСГ в полтора раза, что заметно удешевляет данные процедуры. Методика и результаты описаны в информационном письме МЗ Украины № 250 (2011 г.).

Особенностью применения флутафарма (флутамида) у женщин является необходимостью негормональной контрацепции (желательно барьерной) и контроль функции печени.

Рак предстательной железы

Гормональная (андрогенная) зависимость роста РПЖ (аденокарциномы) имеет место в 80-85 случаев болезни. Чаще всего РПЖ диагностируется в поздней стадии, когда выявляются ближайшие или отдаленные метастазы, и паллиативная гормональная или химиотерапия является методом выбора [12].

Таблица. Количество постовуляторных желтых тел в яичниках крыс с экспериментальной гиперандрогенией

Группа животных	Диапазон количества желтых тел	Среднее количество желтых тел
Контроль (норма)	14 - 23	19,7
Андрогенизация	0 - 3	1,0
Андрогенизация + флутамид, 1,0 мг/кг м.т.	3 - 8	5,7
Андрогенизация + менопур (ФСГ), 0,01 МЕ + хорагон (ХГЧ), 5,0 МЕ	0 - 3	1,0
Андрогенизация + флутамид, 1,0 мг/кг м.т., + менопур (ФСГ), 0,01 МЕ + хорагон (ХГЧ), 5,0 МЕ	15 - 20	18,0

КЛІНІЧНІ ТА ФУНДАМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

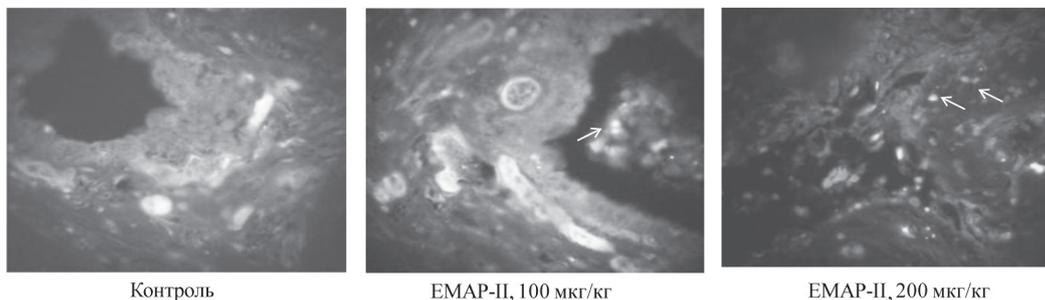


Рисунок 3. EMAP-II индуцирует апоптоз в малигнизированных эпителиальных клетках ксенографтов рака предстательной железы человека у мыши-реципиента. Метод TUNEL с докрасиванием эпителия пропидиума йодидом, люминесцентная микроскопия. Об. $\times 40$. Апоптотические тельца указаны стрелками

Самым распространенным методом эндокринной терапии РПЖ является максимальная андрогенная блокада, осуществляемая орхиэктомией или применением агонистов ЛГ-рилизинг-гормонов в сочетании с агонистами андрогенных рецепторов. Использование последних преследует цель устранить биологическую активность андрогенных стероидов надпочечникового происхождения. Нами была теоретически обоснована концепция оптимальной андрогенной блокады и на ее основе предложен и экспериментально обоснован метод низкодозовой эстроген-антиандрогенной терапии РПЖ [13]. Было установлено, что эстрогены подавляют антиандрогенную активность гипофиза в значительно меньших дозах, чем при стандартной эстрогенной монотерапии РПЖ. Это позволило заменить дорогие агонисты ЛГ-РГ минидозами гексэстрола (синэстрола) в схемах комбинированной гормональной терапии (эстроген плюс флутамид). Помимо значительного удешевления лечения, в клинических условиях удалось резко снизить количество и тяжесть осложнений стандартной эстрогенной терапии.

В последние годы усилия нашего коллектива были направлены на изучение противоопухолевых эффектов некоторых цитокинов, в основном, полипептида, активирующего эндотелий и моноциты (EMAP-II). В опытах использовали рекомбинантный EMAP-II, полученный в Институте молекулярной биологии и генетики НАН Украины (чл.-корр. НАНУ А.И. Корнелюк). Обнаружено, что EMAP-II при подкожном введении значительно тормозит рост ксенографтов РПЖ человека, пересаженных под капсулу почки мыши [14]. Одним из механизмов такого эффекта является усиление апоптоза злокачественного эпителия

(рис. 3). Препарат не оказывал общетоксического действия на организм мыши-реципиента. Продолжение доклинического изучения EMAP-II может привести к созданию нового лекарственного средства лечения РПЖ.

Литература

1. Резников А.Г. Половые гормоны и дифференциация мозга // К.: Наукова думка, 1982. 252 с.
2. Резніков О.Г., Носенко Н.Д., Тарасенко Л.В. та ін. Ранні та віддалені нейроендокринні ефекти перинатального застосування блокаторів кальцієвих каналів // Журнал НАМН України. 2011, 17, 3, 208-217.
3. Резніков О.Г., Носенко Н.Д. Доклінічне вивчення впливу лікарських засобів, що застосовуються під час вагітності, на нейроендокринні системи регуляції репродукції та адаптації у нащадків // Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації; за ред. О.В. Стефанова. – К.: ДФЦ України, 2001, 153-165.
4. Носенко Н.Д. Пренатальне застосування налтрексону запобігає порушенням стресової реактивності гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи у щурів із синдромом пренатального стресу // Ендокринологія. 2008, 13, 1, 146-150.
5. Nosenko N.D., Limareva A.A., Reznikov A.G. Preventive effect of Nimodipine on early postnatal modifications of the protein spectrum in the brain of rats subjected to prenatal stress // Neurophysiology. 2012, 44, 1, 20-25.
6. Резников А.Г., Пишак В.П., Носенко Н.Д. и др. Пренатальный стресс и нейроэндокринная патология // Черновцы: Изд-во Медакадемия, 2004. 320 с.
7. Татарчук Т.Ф., Ганжий И.Ю., Березовская Е.И., Шевчук Т.В. Лечение гиперандрогении как причины нарушения репродуктивного здоровья женщины // Здоровье женщины. 2009, 6 (42), 118-122.
8. Голота В.Я., Усевич І.А., Тарасенко Л.В., Борис О.М. За-

стосування Флутафарму для лікування гіперандрогенії за наявності синдрому склерополікістозних яєчників // Репродуктивное здоровье женщины. 2008, 3(37), 139-142.

9. Борис О.М. Застосування флутафарму у монотерапії гіперандрогенних станів у жінок з синдромом склерополікістозних яєчників: клінічний досвід та перспективи використання // Зб. наук. праць Асоціації акуш.-гінекол. України, Київ: Інтермед. 2008, 709-715.
10. Reznikov A.G., Boris Ye.N., Nosenko N.D. et al. Use of the androgen receptor antagonist for the enhancement of the gonadotrophic inductors of ovulation action in rats with polycystic ovaries // Int. J. Phys. Pathophys. 2010, 1, 1, 53-64.
11. Борис О.М., Ільїн І.Є. Сучасні підходи до лікування хронічної гіперандрогенної ановуляції та неплідності у жінок з яєчникомовою гіперандрогенією // Зб. наук. праць Асоціації акуш.-гінекол. України, Київ: Інтермед. 2009, 66 -70.
12. Vozianov O., Reznikov A., Klimenko I. Androgen deprivation strategy in prostate cancer. Kyiv: Naukova Dumka, Ternopil: Ukrmedknyga, 2001. 240 p.
13. Vozianov A.F., Reznikov A.G., Varga S.V. et al. Endocrine changes underlying clinical effects of low-dose estrogen-antiandrogen treatment of prostatic cancer // Endocrine Regulations. 1995, 29, 25-28.
14. Reznikov A.G., Chaykovskaya L.V., Polyakova L.I., Kornelyuk A.I. Antitumor effect of endothelial monocyte-activating polypeptide-II on human prostate adenocarcinoma in mouse xenograft model // Exper. Oncol. 2007, 29, 4, 267-271.

Експериментальне обґрунтування інновацій у профілактиці та лікуванні андрогензалежної патології

О.Г. Резніков

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

Резюме. У статті наведено підсумок експериментальних досліджень автора та співробітників, спрямованих на створення та удосконалення методів профілактики та лікування ендокринних, гінекологічних та онкологічних захворювань, у патогенезі яких суттєва роль належить функціональній гіперандрогенії або дефіциту андрогенів в організмі. Зокрема, обґрунтовано застосування деяких фармакологічних препаратів для попередження порушень статевої диференціації нейроендокринної системи.

Запропоновано та схвалено МОЗ України використання антиандрогену флутаміду (таблетки флутафарму) для лікування синдрому полікістозних яєчників і підвищення ефективності допоміжних репродуктивних технологій. Обґрунтована та впроваджена в медичну практику методика низькодозової естроген-антиандрогенної терапії раку передміхурової залози. Проводиться доклінічне вивчення рекомбінантного цитокіну ЕМАР-II в якості потенційного засобу лікування даної хвороби.

Ключові слова: андрогени, нейроендокринна система, статевая диференціація мозку, синдром полікістозних яєчників, рак передміхурової залози, антиандрогени, ЕМАР-II

Experimental background of the innovations for prophylaxis and treatment of androgen-dependent pathological conditions

A.G. Reznikov

State Institution "V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, Natl Acad. Med. Sci. of Ukraine"

Summary. Presented is a summary of animal research by author and co-workers that are aimed at development and advancing of the prophylaxis and treatment modalities for endocrine, gynecological and oncological diseases, which pathogenetically are associated essentially with functional hyperandrogenicity or androgen deficit in the body. Particularly, it is substantiated administration of some pharmacological preparations for prevention of the disorders of sexual differentiation of the neuroendocrine system. There was proposed and approved by the medical authority administration of flutamide (flutafarm tablets) for treatment of polycystic ovary syndrome and enhancement of efficacy of the assisting reproductive technologies. Low-dose estrogen and antiandrogen combined therapy of the prostate cancer is substantiated and implemented in clinical practice. There is carrying out pre-clinical study of the recombinant EMAP-II cytokine as potential remedy for treatment of this disease.

Keywords: androgens, neuroendocrine system, sexual brain differentiation, polycystic ovary syndrome, prostate cancer, antiandrogens, EMAP-II.