

ПРОФИЛЬ ПОЛОВЫХ ГОРМОНОВ, ПРОЛАКТИНА И ССГ НА ПОЗДНИХ ЭТАПАХ МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ САРКОМЫ 45 В ПЕЧЕНЬ У САМЦОВ КРЫС

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

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Ростовский научно-исследовательский онкологический институт»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Ростов-на-Дону, Россия

Контактная информация:
Каплиева Ирина Викторовна
ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России
14-я линия, д.63,
Ростов-на-Дону, Россия, 344037
E-mail: kaplirina@yandex.ru

*Статья поступила в редакцию 17.03.2017
и принята к печати 15.06.2017.*

Резюме

Актуальность. Метастазирование в печень является важной, но до конца не исследованной проблемой. **Цель.** Изучение метаболизма гормонов, пролактина и секс-стероид связывающего глобулина в семенниках, предстательной железе, опухоли, метастазах и сыворотке крови на этапе сформированных метастазов в печени. **Материалы и методы.** Работа выполнена на 23 белых беспородных крысах-самцах. В ткани печени методом РИА определяли содержание эстрадиола (E_2), общего тестостерона (Тобщ), пролактина (ПРЛ), прогестерона (P_4), методом ИФА — свободного тестостерона (Тсв), эстрона (E_1), секс-стероид связывающего глобулина (ССГ) через 5 недель (до появления метастазов в печени) и через 7 недель (в период сформированных метастазов в печени) без/с отдаленными метастазами в легких. **Результаты.** Период сформированных метастазов в печени характеризовался накоплением E_1 , больше — в метастазах (более чем в 6,0 раз), P_4 (более чем в 2,0 раза), Тобщ (более чем в 3,0 раза) и уменьшением уровня ПРЛ (более чем в 2,1 раза) и Тсв (более чем в 3,3 раза) в метастазах и тканях их окружающих. Отличительными признаками метастазов печени, сочетающихся с отдаленными метастазами в легких, являлись: большее (в 5,2 раза) увеличение содержания P_4 , большее (в 2,2 раза) увеличение уровня E_1 в метастатических узлах, большее (почти в 2 раза) содержание Тсв.

Выводы. Профиль половых гормонов в сформированных метастазах печени зависит от наличия или отсутствия отдаленных метастазов.

Ключевые слова: метастазы в печени, половые гормоны, крысы-самцы

Для цитирования: Трансляционная медицина. 2017; 4 (2): 78–87.

////////////////////////////////////

PROFILE OF SEX HORMONES, PROLACTIN AND SSH AT LATE STAGES OF LIVER METASTASIS FROM SARCOMA 45 IN MALE RATS

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

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Corresponding author:

Irina V. Kaplieva
Rostov Research Institute of Oncology
14 line, 63,
Rostov-on-Don, Russia, 344037
E-mail: kaplirina@yandex.ru

Received 17 March 2017 ; accepted 15 June 2017.

////////////////////////////////////

Abstract

Background. Liver metastasis is an important but poorly studied problem. **Aim.** Study of metabolism of sex hormones, prolactin and sex steroid-binding globulin in the testes, prostate, tumor, metastases (MTS) and blood serum at the later stages of liver metastasis from sarcoma 45. **Material and methods.** The study included 23 white outbred male rats. Levels of estradiol (E_2), total testosterone (T), prolactin (PRL) and progesterone (P_4) were studied in the liver by radioimmunoassay, and free testosterone (fT), estrone (E_1) and sex steroid-binding globulin (SSBG) were studied by ELISA in 5 weeks (before MTS occurrence in the liver) and in 7 weeks (at formed liver MTS) without/with distant metastases to the lungs. **Results.** The time of formed liver MTS was characterized by the accumulation of E_1 , especially in MTS (by more than 6.0 times), P_4 (more than twice), T (by more than 3 times), and lower levels of PRL (by more than 2.1 times) and fT (by more than 3.3 times) in MTS and surrounding tissues. Liver MTS with distant lung MTS were characterized by a higher (by 5.2 times) content of P_4 , higher (by 2.2 times) increase of E_1 in MTS and greater content (by almost 2 times) of fT. **Conclusions.** Sex steroid profile in the formed liver MTS depends on the presence or absence of distant MTS.

Key words: liver metastasis, sex steroids, male rats.

For citation: Translyatsionnaya meditsina= Translational Medicine. 2017; 4 (2): 78–87.

Список сокращений: P_4 — прогестерон, ССГ — секс-стероид связывающий глобулин, Тобщ — общий тестостерон, Тсв — свободный тестостерон, E_2 — эстрадиол, E_1 — эстрон.

Введение. Метастазирование злокачественных опухолей — давняя и до сих пор злободневная проблема, над которой бьются учёные по всему миру. Несмотря на долгое и всестороннее исследование, механизм этого явления до конца неясен. Одним из главных нерешенных вопросов на сегодняшний день остается дилемма: могут ли метастазы вторично метастазировать или нет. Одни ученые являются сторонниками параллельной модели метастазирования, согласно которой метастатические отсевы происходят одновременно в начале развития первичной опухоли и являются конечной точкой опу-

холевой прогрессии [1, 2]. Другие — сторонники линейной модели, при которой первичная опухоль проходит несколько этапов генетических изменений перед тем, как злокачественные клетки приобретут способность метастазировать, поэтому появившиеся метастазы — как максимально злокачественные, в свою очередь, приобретают способность давать метастатические отсевы в другие органы [3, 4, 5]. Впрочем, не исключено, что в реальности могут существовать обе модели метастазирования, зависящие от биологии первичной опухоли. В то же время на сегодняшний день нет абсолютных подтверждений как одному утверждению, так и другому.

Известно, что семейство половых стероидов, включающее не только гормоны, но и промежуточные продукты их синтеза и метаболизма, выступает в качестве инициаторов и промоторов канцеро-

генеза опухолей, привычно относимых к гормонозависимым: опухоли яичников, матки, простаты, молочной железы. Однако, как оказалось, при такой злокачественной патологии как колоректальный рак, который прежде не причисляли к гормоночувствительным, изменяется уровень половых стероидов: регистрируется гиперэстрогения, резко сниженный или высокий, в зависимости от варианта течения рака, уровень циркулирующего тестостерона [6]. Как в эксперименте, так и в клинике обнаружено участие половых стероидов и в патогенезе меланомы [7, 8]. Установлено, что наиболее опасным в плане канцерогенеза является E_1 , который, как предполагается, оказывает стимулирующее действие на экспрессию факторов роста и их рецепторов при меланоме B16/F10 у мышей [8]. Мы не нашли работ, в которых была бы исследована динамика половых гормонов в организме при метастатической болезни печени.

Целью работы явилось изучение особенностей динамики половых гормонов, пролактина и ССГ в семенниках, предстательной железе, первичной опухоли, локализованной в селезенке, метастазах печени и крови у самцов крыс.

Материал и методы. Работа выполнена на 23 белых беспородных крысах-самцах массой 180–250 грамм. Крысы содержались на стандартном водно-пищевом режиме. Первая группа (контроль) — крысы с селезенкой, выведенной под кожу ($n=7$), вторая группа (МТС5) — крысы через 5 недель после введения клеток саркомы 45 (С45) в селезенку ($n=7$), третья группа (МТС7) — крысы через 7 недель после введения клеток С-45 в селезенку: она подразделяется на 2 подгруппы: МТС7А — крысы с регионарными метастазами в печени ($n=6$) и МТС7Б — крысы с регионарными метастазами в печени и отдаленными метастазами в легких ($n=3$). Метастазы в печени у крыс получены по методике предложенной нами ранее [9]. Выбраны следующие сроки исследования: 5 недель — срок предшествующий визуальному появлению метастазов в печени и 7 недель — период сформированных метастазов в печени.

Крыс декапитировали на гильотине, все процедуры проводили в соответствии с международными правилами работы с животными (European Communities Council Directive, 86/609/ЕЕС). Семенники, простату, опухоль селезенки и её паратуморальную зону, печень (при отсутствии визуализации в ней метастазов), метастазы и параметастатические зоны выделяли на льду и готовили цитозольную фракцию на 0,1М калий-фосфатном буфере рН 7,4. Туловищную кровь собирали в сухие стерильные пробирки без консерванта и путем центрифугиро-

вания в холодной центрифуге при 2 тыс. об. в мин в течение 10 мин выделяли сыворотку. В полученных образцах биологического материала исследовали: радиоиммунным методом — уровни эстрадиола (E_2), общего тестостерона (Тобщ), пролактина, прогестерона (P_4) (Иммунотех, Чехия); ИФА методом — содержание свободного тестостерона (Тсв) (ХЕМА, Россия), эстрогена (E_1) (DBC, Канада), секс-стероидсвязывающего глобулина (ССГ) (Алкор-Био, Россия). Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи параметрического критерия Стьюдента на персональном компьютере посредством программы STATISTICA 10.0 и непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни. Достоверными считали различия между двумя выборками при $p<0.05$.

Результаты исследования.

Печень. Перед выходом метастазов (МТС5), в печени уменьшалось содержание P_4 (в 3,1 раза) и увеличивалось количество E_2 , Тсв и Тобщ соответственно в 1,1 раза, в 3,4 раза и в 15,0 раз (Табл. 1).

Величина E_1 в сформированном метастазе и его параметастатической зоне (МТС7А) увеличивалась и становилась больше контрольных значений ткани печени соответственно в 6,0 раз и в 1,6 раза и значений крыс из группы МТС5 соответственно в 8,3 раза и в 2,2 раза (Табл. 1). Следовательно, в параметастатической зоне уровень E_1 был в 3,7 раза ниже, чем в метастатическом узле. E_2 сохранялся на прежнем высоком уровне только в параметастатической зоне, а в метастазе — снижался в 1,2 раза — до контрольных значений (Табл. 1). Содержание пролактина и Тсв уменьшалось: в метастазе — в 2,1 раза и в 3,3 раза соответственно, в параметастатической зоне — в 2,3 раза и в 3,8 раза соответственно. Концентрации P_4 и Тобщ, напротив — увеличивались: в метастазе — в 2,2 раза и в 13,3 раза соответственно, в параметастатической зоне — в 2,1 раза и в 14,7 раза соответственно, при этом, изначально низкий уровень P_4 возвращался к контрольным цифрам (Табл. 1).

Концентрация E_1 в параметастатической зоне печени у крыс, имеющих, наряду с регионарными метастазами в печени — отдаленные метастазы в лёгких (МТС7Б), была умеренно высокой, как и у крыс из группы МТС7А, в то время как в самом метастазе увеличивалась более значительно — в 18,1 раза по сравнению с группой МТС5 и, в результате, становилась в 8,1 раза больше, чем в собственной параметастатической зоне, и в 2,2 раза больше, чем в метастазе у крыс из группы МТС7А (Табл. 1). Содержание E_2 в метастазе и параметастатической зоне было таким же низким, как и в метас-

Таблица 1. Содержание половых гормонов и пролактина в метастазах печени и их параметастатических зонах (на 1 грамм ткани) на этапе сформированных метастазов в печени

	контроль	MTC5	MTC7A		MTC7B	
			метастаз	параметастатическая зона	метастаз	параметастатическая зона
пролактин (нг)	5,57 ±0,72	6,62 ±1,05	3,10 ⁵ ±0,51	2,90 ⁵ ±0,15	2,60 ⁵ ±0,22	5,80 ^{7A,м} ±0,63
прогестерон (нг)	2,31 ±0,30	0,73 ⁺ ±0,15	1,60 ⁵ ±0,20	1,50 ⁵ ±0,28	8,30 ^{+,5} ±0,95	26,10 ^{+,5,7A,м} ±0,31
эстрон (нг)	75,45 ±9,59	54,74 ±4,84	454,5 ^{+,5} ±53,21	122,13 ^{+,5,м} ±8,23	993,42 ^{+,5,7A} ±70,25	122,84 ^{+,5,7A,м} ±13,45
эстрадиол (нг)	1,70 ±0,10	1,92 ⁺ ±0,03	1,62 ⁵ ±0,05	1,91 ^{+,м} ±0,05	1,62 ⁵ ±0,04	1,52 ^{5,7Aп} ±0,05
тестостерон свободный (нг)	1,31 ±0,10	4,45 ⁺ ±1,01	1,34 ⁵ ±0,21	1,18 ⁵ ±0,18	2,42 ^{7Am} ±0,28	2,34 ^{7Aп} ±0,54
тестостерон общий (нг)	0,01 ±0,00	0,15 ⁺ ±0,03	2,00 ^{+,5} ±0,10	2,20 ^{+,5} ±0,16	2,30 ^{+,5} ±0,42	2,00 ^{+,5} ±0,31

Примечание: ⁺ — достоверные отличия от контроля, ⁵ — достоверные отличия от крыс из группы MTC5, ^{7A} — достоверные отличия и от метастазов и от параметастатической зоны крыс из группы MTC7A, ^{7Am} — достоверные отличия от метастазов крыс из группы MTC7A, ^{7Aп} — достоверные отличия от параметастатической зоны у крыс из группы MTC7A, ^м — достоверные отличия метастазов от параметастатической зоны в пределах одной группы.

тазе у крыс из группы MTC7A. Поэтому неизменившийся уровень E₂ в параметастатической зоне у крыс из группы MTC7A был в 1,3 раза больше, чем уровень E₂ в параметастатической зоне у крыс из группы MTC7B. Количество пролактина в метастазе у крыс из группы MTC7B было низким, как и в группе MTC7A, а в параметастатической зоне — не отличалось от предыдущего периода исследования и двукратно превышало уровень пролактина в параметастатической зоне у крыс из группы MTC7A и в собственном метастазе (Табл. 1). Концентрации P₄ и Тобщ увеличивались: в метастазе — в 11,4 раза и в 7,0 раз соответственно, в параметастатической зоне — в 35,8 раза и в 13,3 раза соответственно. При этом количество P₄ в параметастатической зоне было в 3,1 раза больше, чем в метастазе, а количество Тобщ — одинаковым. Содержание Тсв в метастазе и в параметастатической зоне двукратно превышало значения крыс, не имеющих метастазы в лёгких (Табл. 1).

Селезёнка. В селезенке у крыс из группы MTC5 определялась сформированная опухоль, в гормональном спектре которой преобладал E₁ — его концентрация превышала контрольные величины в 8,2 раза, в то время как в паратуморальной зоне его количество не изменялось (Табл. 2). Уровни E₂

в опухоли и паратуморальной зоне были в 2,3 раза ниже контроля. Содержание Тсв в опухолевом узле было в 1,7 раза больше, чем в паратуморальной зоне, вследствие менее выраженной его редукции. Количество P₄ только в паратуморальной зоне было достоверно в 18,7 раза меньше контроля и в 3,4 раза меньше, чем в опухоли (Табл. 2).

У крыс из группы MTC7A — в период сформированных метастазов в печени, содержание E₁ между опухолью селезёнки и её паратуморальной зоной выравнивалось: в опухоли — уменьшалось в 2,6 раза, в паратуморальной зоне — увеличивалось в 3,5 раза по сравнению с предыдущим периодом исследования (Табл. 2). Уровень E₂ в опухоли оставался более чем в 2,0 раза ниже соответствующего контрольного показателя, при этом концентрация E₂ в паратуморальной зоне была в 1,4 раза меньше, чем в опухоли (Табл. 2). В опухоли уменьшалось содержание P₄ и Тсв соответственно в 2,6 раза и в 4,0 раза, по сравнению с группой MTC5, в то время как в паратуморальной зоне уменьшалось содержание не только P₄ и Тсв, но и пролактина, соответственно в 3,4 раза, в 2,2 раза и в 2,6 раза. В результате количество пролактина и P₄ в паратуморальной зоне становилось меньше, чем в опухоли, соответственно в 1,7 раза и в 4,5 раза (Табл. 2). На фоне одинако-

Таблица 2. Содержание половых гормонов и пролактина в опухоли селезенки и её паратуморальной зоне (на 1 грамм ткани) на этапе сформированных метастазов в печени

	контроль	МТС5		МТС7А		МТС7Б	
		опухоль	паратуморальная зона	опухоль	паратуморальная зона	опухоль	паратуморальная зона
пролактин (нг)	4,38 ±0,40	8,30 ±2,33	6,86 ±1,05	4,30 ± 0,25	2,60 ^{+,5,о} ±0,20	3,60 ^{5о} ±0,44	5,10 ^{7А} ±0,65
прогестерон (нг)	12,51 ±2,60	2,30 ±0,76	0,67 ^{+,о} ±0,20	0,90 ^{+,5} ±0,08	0,20 ^{+,5,о} ±0,03	6,20 ^{5,7А} ±0,54	3,70 ^{5,7А,о} ±0,41
эстрон (нг)	141,37 ±1,00	1164,5 ⁺ ±108,76	132,60 ^о ±10,92	454,50 ^{+,5о} ±65,18	586,84 ^{+,5п} ±66,18	100,65 ^{5о,7А} ±34,16	642,11 ^{+,5п,о} ±75,12
эстрадиол (нг)	3,80 ±0,47	1,63 ⁺ ±0,27	1,54 ⁺ ±0,23	1,60 ⁺ ±0,09	1,14 ^{+,о} ±0,16	1,88 ^{+,7А} ±0,03	1,46 ^{+,о} ±0,14
свободный тестостерон (нг)	6,58 ±0,87	3,99 ⁺ ±0,20	2,29 ^{+,о} ±0,24	1,00 ^{+,5} ±0,15	1,04 ^{+,5} ±0,11	4,61 ^{+,7А} ±0,21	0,97 ^{+,5,о} ±0,12
общий тестостерон (нг)	0,28 ±0,09	0,50 ±0,05	-	2,00 ^{+,5} ±0,25	2,20 ^{+,5} ±0,44	1,90 ^{+,5} ±0,14	1,80 ^{+,5} ±0,12

Примечание: + — достоверные отличия от контроля, ⁵ — достоверные отличия от крыс из группы МТС5, ^{7А} — достоверные отличия и от крыс из группы МТС7А, ^{7Ао} — достоверные отличия от опухоли крыс из группы МТС7А, ^{7Ап} — достоверные отличия от паратуморальной зоны у крыс из группы МТС7А, ° - достоверные отличия опухоли от паратуморальной зоны в пределах одной группы.

во низких цифр Тсв в опухоли и паратуморальной зоне регистрировался равнозначно высокий уровень Тобщ: величина Тобщ становилась более чем в 7,0 раз больше по сравнению с контрольной тканью селезенки и более чем в 4,0 раза больше по сравнению с тканью опухоли крыс из группы МТС5 (Табл. 2).

Содержание E₁ в паратуморальной зоне у крыс из группы МТС7Б увеличивалось также, как и у крыс из группы МТС7А — в 3,9 раза по сравнению с МТС 5, а в опухоли, напротив — уменьшалось, в 11,6 раз и становилось в 6,4 раза меньше, чем в собственной паратуморальной зоне, и в 4,5 раза меньше, чем в опухоли у крыс из группы МТС7А (Табл. 2). Уровень E₂ в опухоли оставался низким, но в 1,2 раза превышал аналогичный показатель крыс из группы МТС7А и в 1,3 раза — величину E₂ в собственной паратуморальной зоне (Табл. 2). В отличие от крыс из группы МТС7А, содержание P₄ увеличивалось: в опухоли — в 2,7 раза, в паратуморальной зоне — в 5,5 раза, по сравнению с МТС5. Таким образом, у крыс из группы МТС7Б уровень P₄ был больше: в опухоли — в 6,9 раза, в паратуморальной зоне — в 18,5 раза, по сравнению с группой МТС7А. Однако во всех группах P₄ преобладал в опухолях. Концентрация пролак-

тина в опухоли у крыс из группы МТС7Б уменьшалась в 2,3 раза, но достоверно не отличалась от крыс из группы МТС7А, а в паратуморальной зоне не изменялась и была в 2,0 раза больше, чем у крыс из группы МТС7А (Табл. 2). Количество Тсв у крыс из группы МТС7Б уменьшалось только в паратуморальной зоне (в 2,4 раза), а в опухоли не изменялось. В результате содержание Тсв в опухоли в 4,6 раза превышало аналогичный показатель у крыс из группы МТС7А. Уровень Тобщ увеличивался одинаково и в опухоли, и в паратуморальной зоне, как и у крыс из группы МТС7А (Табл. 2).

Репродуктивные органы. Накануне появления метастазов в печени (МТС5) в репродуктивных органах уменьшалось содержание E₂: в семенниках — в 1,3 раза, в простате — в 1,2 раза (табл. 3). Количество P₄ в простате у 60% крыс уменьшалось (в 22,0 раза), а у 40% — увеличивалось (в 2,4 раза). Эти изменения сочетались с пятикратным увеличением концентрации E₁ в органе (табл. 3).

В период сформированных метастазов в печени (МТС7А) в репродуктивных органах нарастало содержание P₄ и ССГ. Так, количество P₄ в семенниках становилось в 12,3 раза больше, чем у крыс из группы МТС5. В простате уровень P₄ у всех крыс

Таблица 3. Содержание половых гормонов и ССГ в репродуктивных органах (на 1 грамм ткани) на этапе сформированных метастазов в печени

	Семенник					Предстательная железа			
	конт-роль	МТС 5	МТС 7А	МТС 7Б		конт-роль	МТС 5	МТС 7А	МТС 7Б
прогестерон (нг)	0,88 ±0,26	1,44 ±0,24	17,7^{+,5} ±2,50	8,8^{+,5,7А} ±0,99	прогестерон (нг)	1,76 ±0,70	1,87±0,87 0,08 4,27 ±0,05 ±0,48 60% 40%	3,60⁵ ±0,05	11,50^{+,5,7А} ±0,12
эстрон (нг)	0,71 ±0,12	1,15 ±0,22	0,90 ±0,15	0,11^{+,5,7А} ±0,05	эстрон (нг)	0,33 ±0,09	1,65⁺ ±0,15	1,41⁺ ±0,09	0^{+,5,7А}
эстрадиол (нг)	1,99 ±0,10	1,49⁺ ±0,14	1,96⁵ ±0,22	2,03⁵ ±0,18	эстрадиол (нг)	1,84 ±0,08	1,56⁺ ±0,08	1,47⁺ ±0,08	1,86^{7А} ±0,05
свободный тестостерон (нг)	0,72 ±0,02	0,67 ±0,07	0,05^{+,5} ±0,00	0,20^{+,5,7А} ±0,01	свободный тестостерон (нг)	31,95 ±9,55	17,16 ±4,90	4,31^{+,5} ±0,24	0,51^{+,5,7А} ±0,24
общий тестостерон (нг)	17,64 ±3,22	10,77 ±1,13	1,70^{+,5} ±0,20	5,00^{+,5,7А} ±0,67	общий тестостерон (нг)	0,26 ±0,07	0,13 ±0,04	2,10^{+,5} ±0,18	2,00^{+,5} ±0,25
ССГ (нмоль)	5,36 ±0,80	5,00 ±0,26	12,40^{+,5} ±1,16	2,80^{+,5,7А} ±0,52	ССГ (нмоль)	5,36 ±0,80	5,75 ±0,46	12,43^{+,5} ±2,22	1,40^{+,5,7А} ±0,35

Примечание: ⁺ — достоверные отличия от контроля, ⁵ — достоверные отличия от крыс из группы МТС5, ^{7А} — достоверные отличия от крыс из группы МТС7А.

достигал высоких значений крыс из группы МТС5: низкий уровень гормона у 60% животных увеличивался в 45 раз (Табл. 3). Уровень ССГ увеличивался примерно одинаково и в семенниках, и в простате соответственно в 2,5 раза и в 2,2 раза. Содержание эстрогенов практически не изменялось, за исключением уровня E₂ в семенниках, который становился в 1,3 раза больше, чем в предыдущем периоде исследования, и достигал контрольных показателей. Уровень андрогенов уменьшался: Тсв — в 13,4 раза в семенниках и в 4,0 раза в простате, Тобщ — в 6,3 раза в семенниках. Исключение — рост Тобщ в простате в 16,2 раза относительно группы МТС5 (Табл. 3).

У крыс с отдаленными метастазами в легких (МТС7Б), также, как и у крыс, их не имеющих, нарастало содержание P₄ в семенниках — в меньшей степени, чем у крыс из группы МТС7А, в простате — в большей степени (Табл. 3). Так, уровень P₄ в семенниках был в 2,0 раза меньше, чем у крыс из группы МТС7А и в 6,1 раза больше, чем у крыс из группы МТС5; уровень P₄ в простате был в 3,2 раза больше, чем у крыс из группы МТС7А и в 2,7 раза больше, по сравнению с максимальным уровнем гормона у крыс из группы МТС5 (Табл. 3). Количество E₁, напротив, резко уменьшалось: в семенниках — в 10,5 раз, в простате — до 0. Концентрация E₂ в семенниках увеличивалась также, как и в груп-

пе МТС7А, в простате — соответствовала контролю и была в 1,3 раза больше, чем у крыс из группы МТС7А. Содержание андрогенов в семенниках уменьшалось в меньшей степени, чем в группе МТС7А: Тсв — в 3,4 раза, Тобщ — в 2,2 раза, по сравнению с предыдущим периодом, и было соответственно в 4,0 раза и в 2,9 раза больше, чем в группе МТС7А (Табл. 3). В простате концентрация Тсв уменьшалась значительно — в 33,6 раза по сравнению с МТС5 и в 8,5 раза по сравнению с МТС7А. Так же, как и в группе МТС7А в простате регистрировался рост Тобщ — в 15,4 раза относительно группы МТС5. В отличие от крыс из группы МТС7А, уменьшалось содержание ССГ: в семенниках — в 1,8 раза, в простате — в 4,1 раза по сравнению с предыдущим периодом исследования. Таким образом, уровень ССГ в семенниках становился в 4,4 раза, а в простате — в 8,9 раза ниже, чем у крыс из группы МТС7А (Табл. 3).

Кровь. В крови крыс из группы МТС5 концентрации пролактина и E₂ были меньше контроля соответственно в 1,7 раза и в 1,4 раза, а содержание Тсв — больше в 46,3 раза (табл.4).

У крыс с регионарными метастазами в печени (МТС7А) сывороточные уровни пролактина, P₄, Тсв и Тобщ уменьшались соответственно в 3,1 раза, в 2,3 раза, в 9,7 раза и в 2,7 раза, в то время, как содержание E₂ увеличивалось в 2,3 раза (Табл.

Таблица 4. Содержание половых гормонов, пролактина и ССГ в сыворотке крови (в 1 миллилитре) на этапе сформированных метастазов в печени

	контроль	МТС5	МТС7А	МТС7Б
пролактин (нг)	1,79 ±0,27	1,07 ⁺ ±0,22	0,34 ^{+,5} ±0,02	0,36 ^{+,5} ±0,04
прогестерон (нг)	11,08 ±1,47	17,35 ±2,37	7,50 ⁵ ±0,09	28,67 ^{+,5,7А} ±3,11
эстрон (пг)	9,22 ±0,29	12,79 ±1,34	12,52 ±1,05	14,66 ⁺ ±1,69
эстрадиол (нг)	61,78 ±2,62	43,60 ⁺ ±4,95	100,0 ^{+,5} ±6,50	155 ^{+,5,7А} ±7,89
свободный тестостерон (пг)	0,04 ±0,01	1,85 ⁺ ±0,53	0,19 ^{+,5} ±0,02	0,10 ^{+,5,7А} ±0,01
общий тестостерон (нг)	0,79 ±0,11	1,12 ±0,17	0,42 ^{+,5} ±0,05	0,35 ^{+,5} ±0,04
ССГ (нмоль)	0,62 ±0,03	-	0,95 ⁺ ±0,05	0,47 ^{+,7А} ±0,03

Примечание: ⁺ — достоверные отличия от контроля, ⁵ — достоверные отличия от крыс из группы МТС5, ^{7А} — достоверные отличия и от МТС7А.

4). При этом концентрации пролактина и Тобщ становились ниже контроля — в 5,3 раза и в 1,9 раза соответственно, Р₄ — не отличался, а Е₂, Тсв и ССГ — были больше контроля в 1,6 раза, в 4,8 раза и в 1,5 раза соответственно (Табл. 4).

В крови крыс с отдаленными метастазами в лёгких (МТС7Б) уменьшалось содержание: пролактина и Тобщ — так же, как и у крыс, не имеющих лёгочных метастазов, и Тсв — в большей степени, его уровень был в 1,9 раза ниже, чем у крыс из группы МТС7А (Табл.4). Сывороточная концентрация эстрогенов увеличивалась значительно: уровень Е₂ возрастал в 2,5 раза по сравнению с МТС5 и становился в 1,6 раза больше, чем в группе МТС7А, а содержание Е₁, хотя достоверно и не отличалось от МТС7А, становилось в 1,6 раза больше, чем в контрольной группе (Табл.4). В отличие от крыс из группы МТС7А, концентрация Р₄ увеличивалась в 1,7 раза и становилась в 3,8 раза больше, чем у группы сравнения (МТС7А). В сыворотке, как и в простате у крыс из группы МТС7Б, уменьшался уровень ССГ — он был в 1,3 раза меньше контроля и в 2 раза меньше крыс из группы МТС7А (Табл. 4).

Обсуждение результатов.

На 5-й неделе эксперимента (МТС5) основным гормональным фактором сформированной опухоли,

локализованной в селезенке, оказался Е₁, значительный уровень которого пополнялся, видимо, из нескольких источников: за счет синтеза Е₁ de novo преимущественно в паратуморальной зоне (редукция Р₄ в паратуморальной зоне и накопление Е₁ — больше в опухоли); за счет Е₁, синтезируемого в большом количестве в других тканях, например, простате; за счет ароматизации тестостерона в опухоли и её паратуморальной зоне (редукция Тсв, больше — в паратуморальной зоне).

В печени, накануне выхода в ней метастазов, регистрировалась повышенная продукция андрогенов и активировался синтез Е₂, при этом уровень Е₂ в других органах и крови — уменьшался. Увеличение концентрации Е₂ и тестостерона, в совокупности с обнаруженным нами ранее ростом кортизола в печени [10], создавали условия для формирования метастатического поля, в рамках которого в последующем развивались метастазы. Причем Е₂ и кортизол на этом этапе синтезировались непосредственно в ткани печени de novo из холестерина. Известно, что синтезируемые локально в тканях стероиды, не попадая в кровоток, могут оказывать местный иммуносупрессивный эффект, тем самым способствуя инвазии опухолевых клеток и метастазированию [11, 12].

На 7-й неделе эксперимента — в период сформированных метастазов в печени (МТС7А), в мета-

стазе (в большей степени) и параметастатической зоне (в меньшей степени) происходило накопление E_1 . Этот факт был обусловлен, как и в опухоли селезенки у крыс из группы МТС5, несколькими механизмами. Во-первых, синтезом E_1 в метастазе и параметастатической зоне (увеличение содержания E_1 и P_4). Причем пополнение уровня E_1 в метастазе происходило и за счет его местного синтеза и за счет его синтеза в параметастатической зоне и последующим поступлением в метастаз (большой уровень E_1 в метастазе на фоне одинакового увеличения P_4 в метастазе и параметастатической зоне). Второй механизм увеличения количества E_1 в метастазах печени — ароматизация андрогенов, синтезированных в репродуктивных органах, а, возможно, и в других тканях. Этот механизм подтверждает, с одной стороны — низкий уровень Тсв и высокий уровень Тобщ и в метастазе, и в параметастатической зоне, с другой стороны — особенность стероидогенеза в гонадах. Так, в семенниках на фоне увеличения содержания P_4 и E_2 , свидетельствующего об усилении синтетических процессов в органе, регистрировалось резкое уменьшение содержания всех фракций тестостерона. Факт дефицита андрогенов в семенниках, по всей видимости, был обусловлен тем, что вновь синтезированный тестостерон сразу образовывал транспортные комплексы с белками-переносчиками, которые поступали в кровь и направлялись к тканям-мишеням: метастазам в печени и опухоли в селезенке; такой мишенью могла быть и простата (увеличение количества Тобщ, на фоне редукции, как и в семенниках, Тсв).

При анализе стероидогенеза в опухоли селезенки обращает на себя внимание сохраняющееся накопление E_1 , которое мы выявили на предыдущем этапе, что способствовало перенапряжению системы синтеза половых стероидов с истощением уровня P_4 и Тсв — в опухоли и её паратуморальной зоне; E_2 — в паратуморальной зоне. Однако, в отличие, от предшествующего этапа злокачественного роста, регистрировалось перераспределение E_1 с равнозначным его содержанием в опухоли и паратуморальной зоне, причиной чего, по нашему мнению, могло являться уменьшение процессов синтеза E_1 в паратуморальной зоне вследствие истощения субстрата (P_4) и/или торможение поступления E_1 из паратуморальной зоны, где он синтезировался, в опухоль.

Снижение уровня пролактина в метастазе, опухоли и паратуморальной зоне могло указывать на ослабление иммунной противоопухолевой защиты организма. Известно, что пролактин путём увеличения пролиферации и дифференцировки

лимфоцитов, может стимулировать местный иммунитет и защищать организм от злокачественного роста [13].

У крыс, имеющих наряду с регионарными метастазами в печени — отдаленные метастазы в легких (группа МТС7Б), отмечалось большее накопление E_1 в метастазах печени, чем у крыс из группы МТС7А. Причиной такой динамики эстрогенов, вероятно, мог быть более активный синтез E_1 в метастазе *de novo* и превращение большего количества Тсв, поступающего из репродуктивной системы (большой, чем в группе МТС7А, уровень Тсв, на фоне такого же высокого уровня Тобщ в метастазе и в параметастатической зоне), вследствие большего напряжения тестостерон-синтезирующей функции семенников (меньшая степень увеличения P_4 , значительное снижение E_1 , большее, хотя и низкое содержание Тобщ и Тсв, уменьшение уровня ССГ). В параметастатической зоне более низкое, чем в метастазе, содержание E_1 в сочетании с более высоким уровнем P_4 могло быть обусловлено меньшей активностью ферментов, участвующих в синтезе E_1 *de novo*.

Большая активация синтеза тестостерона в семенниках у крыс с отдаленными метастазами (МТС7Б) сочеталась с уменьшением содержания ССГ в репродуктивных органах и крови, в то время, как у крыс без отдаленных метастазов (МТС7А) меньшая тестостерон-синтезирующая активность семенников сочеталась с увеличением содержания ССГ в репродуктивных органах и крови на фоне практически равнозначного увеличения концентрации Тобщ в простате у крыс обеих групп. Тестостерон, синтезируемый в семенниках, в норме связывается как с альбумином, так и с ССГ. Увеличение концентрации ССГ у крыс без отдаленных метастазов указывало на преобладающее связывание тестостерона с альбумином, в то время, как у крыс с отдаленными метастазами — на преобладающее связывание тестостерона с ССГ. Установлено, что альбумин связывает стероиды с ограниченной специфичностью и низкой аффинностью, поэтому легко теряет с ними связь, тем самым, пополняя их концентрацию в крови. ССГ, напротив, связывает стероиды с высоким сродством и специфичностью, труднее с ними расстается и целенаправленно доставляет их в органы-мишени, «не теряя по дороге» [14]. По всей видимости, именно этот механизм и обуславливал более высокую концентрацию Тсв в крови у крыс из группы МТС7А и более высокую концентрацию Тсв в метастазе и параметастатической зоне печени у крыс из группы МТС7Б. Более низкая концентрация Тсв в крови у крыс из группы МТС7Б

Таблица 5. Гормональный профиль метастазирования в печень на этапе сформированных метастазов

	Общие признаки	Отличия	
		метастазы в печени	метастазы в печени в сочетании с метастазами в легких
Печень	1. Накопление E_1 , больше — в метастазе, вследствие усиления его местного синтеза из поступившего из крови тестостерона и/или де ново; 2. Уменьшение уровня пролактина в метастазе.	1. Умеренное накопление E_1 в метастазе, вследствие меньшего поступления тестостерона из крови и умеренной активации его синтеза, больше — в метастазе (незначительный рост P_4); 2. Уменьшение уровня пролактина в параметастатической зоне.	1. Значительное накопление E_1 в метастазе, вследствие большего поступления тестостерона из крови и выраженной активации его синтеза, больше — в параметастатической зоне (значительный рост P_4); 2. Стабильный уровень пролактина в параметастатической зоне.
Селезенка	1. Уменьшение накопления E_1 в опухоли и умеренное увеличение уровня E_1 в паратуморальной зоне; 2. Большее содержание E_2 в опухоли; 3. Меньшее содержание $T_{св}$ в паратуморальной зоне; 4. Уменьшение уровня пролактина.	1. Умеренное уменьшение накопления E_1 в опухоли; 2. За счёт уменьшения содержания E_2 в паратуморальной зоне; 3. Низкий уровень $T_{св}$ в опухоли; 4. В паратуморальной зоне.	1. Значительное уменьшение накопления E_1 в опухоли; 2. За счёт увеличения содержания E_2 в опухоли; 3. Увеличение содержания $T_{св}$ в опухоли; 4. В опухоли.
Репродуктивные органы	Активация синтеза тестостерона и увеличение его связывания с белками-переносчиками.	Умеренное увеличение синтеза тестостерона в семенниках с последующим его низкоаффинным связыванием с альбумином, приводящее к большому содержанию $T_{св}$ в крови и, как следствие — меньшему поступлению $T_{св}$ к опухолям и метастазам.	Выраженная активация синтеза тестостерона в семенниках с последующим его высокоаффинным связыванием с ССГ, приводящим к меньшему содержанию $T_{св}$ в крови и, как следствие — большому поступлению $T_{св}$ к опухолям и метастазам
Кровь	Гипер- E_2 -емия, гипо- $T_{св}$ -емия, гипопролактинемия.	Умеренное увеличение E_2 , меньшее снижение $T_{св}$, гипер-ССГ-емия, уменьшение уровня P_4 .	Значительное увеличение E_2 , большее снижение $T_{св}$, гипо-ССГ-емия, гипер- P_4 -емия

косвенно указывала на бóльшую степень повреждения у них эндотелия сосудов, что могло являться одним из факторов отдаленного метастазирования в легкие [15]. Обобщенные особенности профиля половых гормонов, пролактина и ССГ при метастазировании в печень представлены в таблице 5.

Выводы. Таким образом, метастазирование в печень сопровождается увеличением тестостерон-синтезирующей функции семенников, усилением процессов ароматизации тестостерона в ор-

ганизме с преимущественным накоплением E_1 в метастазах печени и особенностями, зависящими от наличия или отсутствия отдаленных метастазов в других органах.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

- Chernova YV, Artamonova EV, Khailenko VA, Komov DV. Theoretical prerequisites and results of removal of primary tumor in patients with first detected stage IV breast cancer. *Women Reproductive System Tumors*. 2012;(2): 11-18. In Russian [Чернова Е.В., Артамонова Е.В., Хайленко В.А. и др. Теоретические предпосылки и результаты удаления первичной опухоли у больных с впервые выявленным раком молочной железы IV стадии. Опухоли женской репродуктивной системы. 2012; 2: 11-18].
- Osinsky DS, Gumenyuk LD, Vakulenko GA, et al. About distinctions of angiogenesis in primary gastric cancer and krukenberg tumor: confirmation of hypothesis of parallel metastasis. *Oncology*. 2014; 3(16): 199-202. In Russian [Осинский Д.С., Гуменюк Л.Д., Вакуленко Г.А. и др. О различиях ангиогенеза в первичном раке желудка и опухоли Крукенберга: подтверждение гипотезы параллельного метастазирования. Онкология, 2014. 3(16):199-202].
- Aksenenko MB, Shestakova LA, Ruksha TG. Features of metastasis transplanted b16 melanoma after inhibition mmp-9. *The Siberian Journal of Oncology*. 2012; 1(49): 31-34. In Russian [Аксёненко М.Б., Шестакова Л.А., Рукша Т.Г. Особенности метастазирования перевиваемой меланомы В16 после ингибирования активности ММП-9. Сибирский онкологический журнал, 2012; 1(49): 31-34].
- Bethge A, Schumacher U, Wree A, Wedemann G. Are Metastases from Metastases Clinical Relevant? *Computer Modelling of Cancer Spread in a Case of Hepatocellular Carcinoma PLoS One*. 2012; 7(4): e35689.
- Matsuda Y, Yoshimura H, Ueda J, et al. Nestin Delineates Pancreatic Cancer Stem Cells in Metastatic Foci of NOD/Shi-scid IL2R^{γnull} (NOG) Mice. *Am J Pathol*. 2014; 184(3): 674-685.
- Kit OI, Kozlova MB, Frantsiyants EM, et al. Colorectal cancer and sex hormones: their content in blood of patients having single, recurrent and multifocal processes. *Fundamental research*. 2014; 7-3: 517-521. In Russian. [Кит О.И., Козлова М.Б., Франциянц Е.М. и др. Колоректальный рак и половые гормоны: содержание в крови больных с одиночным, рецидивным и первично-множественным процессом. Фундаментальные исследования. 2014, 7-3: 517-521].
- Frantsiyants EM, Bandovkina VA, Komarova EF, et al. Hormonal pattern of melanoma and its surrounding tissues. *Molecular medicine*. 2014; 6: 48-51. In Russian. [Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Комарова Е.Ф. и др. Гормональный профиль меланомы и окружающих ее тканей. Молекулярная медицина. 2014; 6: 48-51].
- Bandovkina VA, Frantsiyants EM, Cheryarina ND, et al. Regulatory role of estrogens in activation of angiogenesis and lymphogenesis growth factors in pathogenesis of b16/f10 melanoma. *Modern problems of science and education*. 2015; 4: 320. In Russian [Бандовкина В.А., Франциянц Е.М., Черярина Н.Д. и др. Регуляторная роль эстрогенов в активации факторов роста ангио- и лимфогенеза в патогенезе меланомы В16/Ф10. Современные проблемы науки и образования. 2015; 4: 320].
- Kit OI, Frantsiyants EM, Kaplieva IV, et al. A method for reproduction of metastases in the liver. *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2014; 157(6): 745-747. In Russian [Кит О.И., Франциянц Е.М., Каплиева И.В. и др. Способ получения метастазов печени в эксперименте. Бюл.экспер.биол. и мед. 2014; 157(6): 745-747].
- Kaplieva IV, Frantsiyants EM, Trepitaki LK, et al. Characteristics of steroid metabolism in male rats during experimental liver metastasis. *Russian journal of oncology*. 2017; 2 (22): 93-101. In Russian [Каплиева И.В., Франциянц Е.М., Трепитаки Л.К. и др. Особенности стероидного метаболизма у самцов крыс на этапах экспериментального метастазирования в печень. Российский онкологический журнал. 2017; 2 (22): 93-101].
- Goncharov NP, Katsiya GV. Dehydroepiandrosterone biosynthesis, metabolism, biological effects, and clinical use (analytical review). *Andrology and Genital Surgery*. 2015; 1: 13-25. In Russian [Гончаров Н. П., Кацья Г. В. Дегидроэпиандростерон: биосинтез, метаболизм, биологическое действие и клиническое применение (аналитический обзор); Андрология и генитальная хирургия. 2015; 1: 13-25].
- Ruksha TG. The enzymes of the metabolism of steroids in melanocytic neoplasms of the skin. *The Siberian Journal of Oncology*. 2009; Suppl 2: 166-167. In Russian [Рукша Т.Г. Ферменты метаболизма стероидов при меланодитарных новообразованиях кожи. Сиб. Онкол. Журн. 2009; Приложение 2: 166-167].
- Kosheleva ON, Francijanc EM, Komarova EF, et al. Role of changes in the hormonal status and the aminergic system of the pituitary gland of rats in the formation of the metabolic "tumor field" in the early periods of transplantation of the tumor into the lung. *The Siberian Journal of Oncology*. 2009; Suppl 1: 106-107. In Russian [Кошелева О. Н., Франциянц Е. М., Комарова Е. Ф. и др. Роль изменения гормонального статуса и аминергической системы гипофиза крыс в формировании метаболического «опухолевого поля» в ранние сроки перевивки опухоли в легкое. Сиб. Онкол. Журн. 2009; Прил.1:106-107].
- Hammond GL. Plasma steroid-binding proteins: primary gatekeepers of steroid hormone action. *J Endocrinol*. 2016; 230(1): R13-25.
- Empen K, Lorbeer R, Dörr M, et al. Association of testosterone levels with endothelial function in men: results from a population-based study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012; 32(2): 481-486.

Информация об авторах:

Каплиева Ирина Викторовна, к.м.н., с.н.с., лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ;

Франциянц Елена Михайловна, д.б.н., профессор, руководитель лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ;

Трепитаки Лидия Константиновна, н.с., лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ;

Черярина Наталья Дмитриевна, врач-лаборант, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ.

Author information:

Irina V. Kaplieva, PhD, senior researcher, laboratory of Malignant tumor pathogenesis study, Rostov Research Institute of Oncology;

Elena M. Frantsiyants, Dr. Sci., Prof, Head of the laboratory of Malignant tumor pathogenesis study, Rostov Research Institute of Oncology;

Lidia K. Trepitaki, researcher, laboratory of Malignant tumor pathogenesis study, Rostov Research Institute of Oncology;

Natalia D. Cheryarina, laboratory doctor, laboratory of Malignant tumor pathogenesis study, Rostov Research Institute of Oncology.