

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1996

УДК 616.379-008.64-07:611.814.1]-092.9

Ю. М. Колесник, А. В. Абрамов, О. В. Мельникова

## ВЗАИМООТНОШЕНИЯ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-НАДПОЧЕЧНИКОВОЙ И ПЕПТИДЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМ ГИПОТАЛАМУСА У ЖИВОТНЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Кафедра патофизиологии (зав. — проф. Ю. Н. Орестенко) Запорожского медицинского института

Известно, что кортикотропин-релизинг-фактор (КРФ) синтезируется в основном в медиальном мелкоклеточном субъядре паравентрикулярного ядра гипоталамуса (ММ ПВЯ) [7]. По классическим представлениям, состояние синтетической и секреторной активности этих нейронов прежде всего зависит от уровня в крови глюкокортикоидов и АКТГ, а также ряда метаболитов, в частности глюкозы [24]. Известно также, что КРФ сам по себе является мощным регулятором аппетита [8] и секреции инсулина [20]. В последние годы показана важная роль в регуляции состояния гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГНС), ее центрального звена, группы регуляторных нейропептидов, синтезирующихся в нейронах ММ ПВЯ, тем более, что именно эти пептидергические нейроны содержат рецепторы к глюкокортикоидам [12]. Кроме того, установлено [10], что КРФ и ряд нейропептидов синтезируются в одних и тех же нейронах. Учитывая эти сведения, мы решили изучить взаимоотношения ГНС и группы регуляторных нейропептидов, синтезирующихся в зоне ММ ПВЯ, при сахарном диабете у крыс линии Вистар для выяснения их возможной роли в патогенезе данного заболевания и регуляции эндокринной функции поджелудочной железы.

### Материалы и методы

Исследования проведены на 36 крысах-самцах линии Вистар массой 230—250 г в осенне-зимний период. Животные находились в условиях естественного освещения, на стандартном рационе питания и были разделены на три экспериментальные группы (по 10—12 крыс в каждой): 1-я группа — контрольная, 2-я группа — животные с сахарным диабетом продолжительностью 15 дней, 3-я группа — животные с продолжительностью заболевания 36 дней. Сахарный диабет (легкое течение) моделировали при помощи введения стрептозотоцина (50 мг/кг в 0,5 мл цитратного буфера внутривенно) [1]. Контрольным животным вводили 0,5 мл цитратного буфера внутривенно. Определение глюкозы и тест толерантности, а также забор животных для извлечения органов и взятия крови проводили в 10 ч после 16-часового голодания животных. Концентрацию глюкозы в крови определяли ортотолуидиновым методом. Состояние ГНС оценивали с помощью радиоиммунологического определения в периферической крови концентраций КРФ, АКТГ, кортикостерона и кортизола наборами RENINSULA LABORATORIES INC (США), CIS INTERNATIONAL (Франция), РИН-В-<sup>3</sup>H (СНГ) и СТЕРОН-К-<sup>125</sup>I (Беларусь) соответственно, а также по данным морфистохимических (площади нейронов и их ядрышек и содержание в них нуклеиновых кислот) исследований нейронов ММ ПВЯ.

Для изучения системы регуляторных нейропептидов использовали метод непрямой иммунофлюоресценции. Для идентификации иммуноположительных нейронов животным (не менее 4 из каждой экспериментальной группы) вводили 120 мкг колхицина в 20 мкл физиологического раствора на 100 г массы тела под эфирным наркозом за 48 ч до забора с

целью блокирования аксоплазматического транспорта нейропептидов в левый латеральный желудочек микроинъектором с помощью стереотаксического прибора. Контролем служили интактные животные и крысы с различными сроками заболевания сахарным диабетом, которым вместо колхицина вводили физиологический раствор в том же объеме или же проводили такую же операцию, но без введения объема жидкости. В качестве первичных антител применяли кроличьи антисыворотки к холецистокинину (ХЦК), вазоактивному intestinalному пептиду (ВИП), бомбезину (Б), нейротензину (НТ), кальцитонин-ген-родственному пептиду (КГРП), лей-и мет-энкефалину (л- и м-ЭНК) производства фирмы "Amersham" (Англия), а вторичных — козы IgG, конъюгированные с FITC ("Amersham", Англия). Время инкубации серийных срезов гипоталамуса толщиной 12 мкм с первичными антителами составляло 48 ч на холоду, а со вторичными — 45 мин, после чего срезы изучали под микроскопом. Для исследования каждого пептида использовали по 5—6 срезов из различных отделов ММ ПВЯ.

Изучение распределения иммуноположительных нейронов в зоне ММ ПВЯ и их количества, определение содержания в них нейропептидов проводили на компьютерной цитофлуориметрической системе на базе микроскопа ЛЮМАМ-И2 по описанной ранее методике [1]. Содержание пептидов в нейронах, прямо пропорциональное интенсивности флуоресценции, выражали в условных микроединицах (ул. мкел).

Для морфогистохимических исследований гипоталамус крыс фиксировали в жидкости Карнуа, а затем после стандартной гистологической обработки готовили срезы толщиной 4 мкм и окрашивали их для выявления нуклеиновых кислот галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону [4]. Изучение препаратов как в видимом спектре, так и спектре флуоресценции проводили также на компьютерной системе анализа изображения VIDAS-2.5 ("Zeiss-kontron-elektronik", Германия), связанной посредством высокочувствительной телекамеры СОНУ 4722 (США) с микроскопом АХИОСКОП ("Zeiss", Германия). Все полученные данные обрабатывали статистически с применением *t*-критерия Стьюдента.

### Результаты и их обсуждение

После введения животным стрептозотоцина отмечались характерные для сахарного диабета изменения в виде гипергликемии, нарушения теста толерантности к глюкозе, деструкции островков Лангерганса, гипoinsулинемии, гиперглюкагон-гиперсоматостатинемии, описанные нами в предыдущих работах [1—3].

В ММ ПВЯ отмечалось увеличение площади нейронов и увеличение содержания в них нуклеиновых кислот (табл. 1). В плазме крови возрастила концентрация КРФ ( $21,51 \pm 0,49$  пг/мл против  $19,81 \pm 0,62$  пг/мл в контроле;  $p < 0,05$ ), АКТГ ( $144,6 \pm 32,7$  пг/мл против  $58,9 \pm 7,69$  пг/мл в контроле;  $p < 0,05$ ), кортикостерона ( $271,4 \pm 34,0$  пг/мл против  $72,8 \pm 4,56$  пг/мл в контроле;  $p < 0,001$ ) и кортизола ( $14,86 \pm 0,88$  нг/мл против  $9,95 \pm 1,17$  нг/мл в контроле;  $p < 0,001$ ). Таким образом, при развитии сахарного диабета повышалась активность ГНС, что отмечено и другими авторами в условиях как эксперимента, так

Таблица 1

Морфогистохимические показатели состояния нейросекреторных клеток ММ ПВЯ при сахарном диабете ( $M \pm m$ )

Ядра гипоталамуса	Контроль	Диабет	
		15 дней	36 дней
ММ ПВЯ:			
клетка	$63,9 \pm 1,25$	$82,9 \pm 0,79^{**}$	$81,3 \pm 0,74^{**}$
	$738,4 \pm 13,2$	$978,5 \pm 18,4^{**}$	$836,1 \pm 20,0^{**}$
ядрышко	$2,34 \pm 0,13$	$1,89 \pm 0,08^*$	$2,39 \pm 0,11$
	$75,0 \pm 1,13$	$86,4 \pm 1,48^{**}$	$73,4 \pm 1,23$

Примечание. В числителе — морфометрические показатели, в знаменателе — содержание нуклеиновых кислот. Здесь и в табл. 2 достоверность различий к контролю: одна звездочка —  $p < 0,005$ , две —  $p < 0,001$ .

и клиники [15, 22]. Вместе с тем обращали на себя внимание особенности состояния ГНС в этих условиях, которые проявлялись в том, что, несмотря на высокий уровень глюкокортикоидов и АКТГ, торможения активности КРФ-синтезирующих нейронов не наблюдалось. Не влияло на состояние ГНС и развитие гипергликемии, которая, как известно, также тормозит секрецию КРФ в гипоталамусе [24]. Особенности состояния ГНС при сахарном диабете у экспериментальных животных и людей в виде нарушения чувствительности центральных звеньев этой системы как к стимулирующим, так и к угнетающим влияниям отмечены и другими авторами [9, 17]. Вместе с тем, при данной патологии, как показано рядом исследователей, возрастает чувствительность ГНС к другим стимулирующим влияниям, например к окситоцину [25]. Анализ наших собственных данных и литературных сведений о состоянии ГНС при сахарном диабете позволяет предположить, что в условиях сахарного диабета изменяется принцип функционирования ГНС и в регуляцию ее состояния включаются новые факторы, напри-

мер катехоламины и пептидергическая система. Подтверждением этого предположения стали результаты наших исследований нейропептидов в зоне ММ ПВЯ.

Без предварительного введения колхицина пептидсодержащие нейроны не идентифицировались. На этот процесс не влияли также операция или введение в латеральный желудочек физиологического раствора. После введения колхицина у интактных животных в зоне ММ ПВЯ в количественном отношении преобладали ХЦК-иммуноположительные нейроны (табл. 2), а максимальное содержание в клетке нейропептида было характерно для НТ.

У животных 2-й экспериментальной группы с длительностью заболевания 15 дней реакция пептидергической системы в зоне ММ ПВЯ была неоднозначной. Значительно возросло количество идентифицированных НТ и КГРП-иммуноположительных нейронов, хотя содержание в них самих нейропептидов достоверно уменьшалось (см. табл. 2). В то же время концентрация этих нейропептидов в срединном возвышенном гипоталамусе, так же как и количество иммунореактивных волокон, значительно возросло, отражая процесс активной их секреции из нейронов. Количество идентифицированных ХЦК-, л-ЭНК и Б-иммуноположительных нейронов в этот период уменьшалось, а м-ЭНК и ВИП-иммуноположительных нейронов практически не изменялось. При этом содержание в клетках этих нейропептидов достоверно увеличивалось, так же как количество иммунореактивных волокон в срединном возвышении и концентрация в них нейропептидов.

Дальнейшее развитие сахарного диабета вызвало к 36-му дню значительное (в несколько раз) увеличение количества идентифицированных иммуноположительных нейронов, содержащих изучаемые нейропептиды, по сравнению как с контролем, так и с предыдущим сроком (см. табл. 2). Однако содержание в клетках нейропеп-

Таблица 2

Содержание нейропептидов в нейронах ММ ПВЯ (1) и срединном возвышении (2) гипоталамуса крыс ( $M \pm m$ )

Нейропептид	Контроль		Диабет			
			15 дней		36 дней	
	1	2	1	2	1	2
НТ	$1369,5 \pm 25,8$ 170	$762,3 \pm 18,3$ 47	$1072,3 \pm 15,2^{**}$ 570	$1387,0 \pm 19,9^{**}$ 291	$992,4 \pm 19,3^{**}$ 529	$805,7 \pm 17,3$ 123
КГРП	$1057,9 \pm 26,6$ 139	$452,9 \pm 31,8$ 34	$906,6 \pm 16,8^{**}$ 328	$1477,0 \pm 25,0^*$ 171	$930,2 \pm 12,1^{**}$ 824	$992,0 \pm 26,4^{**}$ 64
ХЦК	$987,9 \pm 17,6$ 422	$365,5 \pm 20,6$ 29	$1194,6 \pm 29,2^{**}$ 243	$1142,3 \pm 28,5^{**}$ 171	$988,2 \pm 12,4$ 895	$589,8 \pm 20,1^{**}$ 87
л-ЭНК	$986,3 \pm 20,6$ 249	$349,4 \pm 15,9$ 31	$1206,2 \pm 23,9^{**}$ 191	$1123,6 \pm 32,4^{**}$ 105	$1092,4 \pm 20,3^{**}$ 621	$1337,0 \pm 16,1^{**}$ 94
м-ЭНК	$883,8 \pm 23,6$ 195	$548,8 \pm 17,5$ 44	$1192,9 \pm 30,3^{**}$ 205	$1160,6 \pm 17,4^{**}$ 105	$691,0 \pm 14,0^{**}$ 309	$1484,0 \pm 20,9^{**}$ 141
Б	$893,1 \pm 19,1$ 219	$451,5 \pm 25,1$ 46	$1247,3 \pm 26,0^{**}$ 162	$1646,3 \pm 39,6^{**}$ 154	$1006,3 \pm 15,5^{**}$ 591	$1542,9 \pm 35,4^{**}$ 75
ВИП	$936,4 \pm 24,7$ 181	$469,4 \pm 27,2$ 29	$1074,1 \pm 24,3^{**}$ 171	$1744,6 \pm 32,4^{**}$ 124	$892,4 \pm 19,5$ 335	$1396,0 \pm 27,9^{**}$ 56

Примечание. В числителе — содержание нейропептидов (в усл. мкд), в знаменателе — количество идентифицированных нейронов и иммунореактивных волокон.

тидов в основном снижалось, за исключением уровня л-ЭНК и Б, который был достоверно увеличен по сравнению с контролем, но не с предыдущим сроком развития диабета. В среднем возвышении снижалась концентрация НТ, КГРП и ХЦК, по сравнению с предыдущим сроком, оставаясь достоверно выше, чем в контроле. Концентрация же л-, м-ЭНК и Б в среднем возвышении увеличивалась еще в большей степени, отражая процесс активной секреции этих пептидов.

Проведенные нами исследования свидетельствуют о том, что развитие сахарного диабета характеризуется повышением активности ГНС на всех уровнях. При этом в процесс регуляции ее центрального звена — КРФ-синтезирующих нейронов, а также передней доли гипофиза — активно вовлекается пептидергическая система гипоталамуса, о чем свидетельствуют приведенные выше данные.

Возникает естественный вопрос о значении выявленных нами изменений ГНС и пептидергической системы гипоталамуса.

В работах S. Ceccatelli и соавт. [10] показано, что изучаемые нами нейропептиды локализованы преимущественно в КРФ-синтезирующих нейронах ММ ПВЯ, что уже само по себе предполагает их участие в регуляции состояния ГНС. Кроме того, установлено [14, 18, 19], что нейроны ММ ПВЯ, в которых идентифицируются л- и м-ЭНК, ВИП, КГРП, нейротензин, направляют свои аксоны в наружную и в меньшей мере во внутреннюю зоны срединного возвышения, откуда пептиды попадают в переднюю долю гипофиза, принимая участие в регуляции его гормональной функции. В частности, волокна, содержащие энкефалины и КГРП, имеют тесные контакты с кортикотропоцитами гипофиза [14, 19], что свидетельствует об их роли в регуляции секреции АКТГ. С другой стороны, эти факторы могут самостоятельно или опосредовано оказывать влияние на процессы, имеющие отношение к регуляции углеводного обмена и эндокринной функции поджелудочной железы.

Известно, что в условиях нормы основным регулятором функции В-клеток являются глюкоза и некоторые аминокислоты. Влияние же других факторов, таких, как нервная и эндокринная система, нейропептиды и медиаторы, невелико. Однако в условиях патологии (сахарный диабет) и действия чрезвычайных факторов (стресс) их эффекты значительно возрастают, что подчеркивают в своих обзорах В. П. Федотов и соавт. [6], E. Widmaier [26], а также показано в наших работах [4, 5]. При этом они могут действовать на процессы синтеза и секреции инсулина, на его взаимодействие с рецепторами, на метаболизм глюкозы и липидов, а также синтез и секрецию контринсулярных гормонов. О возможной роли нейропептидов в регуляции ГНС мы уже говорили выше. Однако эффекты КРФ не ограничиваются его влиянием на переднюю долю гипофиза. Данные литературы показывают [8, 20], что этот нейрогормон является мощным регулятором аппетита и обладает способностью стимулировать секрецию инсулина. Установлено [11], что КГРП, синтезируясь в ММ ПВЯ, оказывает влияние на синтез АКТГ и СТГ в аденогипофи-

зе. При этом данный нейропептид вызывает развитие инсулинорезистентности, а также ряд контринсулярных эффектов, характерных для глюкокортикоидов. Такие пептиды, как ВИП, ХЦК, м-ЭНК, могут оказывать прямое стимулирующее действие на секрецию инсулина [6, 11, 16], а НТ аналогичное действие может осуществлять через n. vagus [13], влияния которого на состояние В-клеток хорошо известны. В свою очередь Б оказывает защитное действие на В-клетки в ответ на влияние диабетогенных факторов как in vivo, так и in vitro [21].

Следовательно, реализация эффектов нейропептидов на уровне гипоталамуса и гипофиза, а также на уровне периферии может иметь своим следствием развитие как патологических, так и компенсаторных механизмов при сахарном диабете, знание которых в перспективе позволит использовать эти факторы с целью коррекции данного заболевания.

## Выводы

1. Развитие экспериментального сахарного диабета характеризуется повышением активности ГНС, что проявляется гипертрофией нейронов ММ ПВЯ и их ядрышек, а также увеличением в крови концентрации КРФ, АКТГ и глюкокортикоидов.

2. У животных с экспериментальным сахарным диабетом отмечаются выраженные изменения состояния пептидергической системы в зоне ММ ПВЯ и срединном возвышении гипоталамуса, что свидетельствует об ее участии в патогенезе данного заболевания<sup>1</sup>.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Колесник Ю. М., Василенко Г. В., Абрамов А. В. // Арх. пат. — 1992. — Т. 54, № 12. — С. 24—27.
2. Колесник Ю. М., Абрамов А. В. // Пробл. эндокринолог. — 1993. — Т. 39, № 5. — С. 37—40.
3. Колесник Ю. М., Орестенко Ю. Н., Абрамов А. В. // Там же. — Т. 39, № 1. — С. 45—48.
4. Колесник Ю. М., Орестенко Ю. Н., Абрамов А. В. // Физиол. журн. им. И. М. Сеченова. — 1993. — Т. 79, № 9. — С. 34—41.
5. Колесник Ю. М., Абрамов А. В. // Укр. биохим. журн. — 1993. — Т. 65, № 3. — С. 99—104.
6. Федотов В. П., Садовникова Н. В., Чернушкина А. В. // Пробл. эндокринолог. — 1992. — Т. 38, № 5. — С. 12—17.
7. Antoni F. A., Fink G., Sheward W. J. // J. Endocr. — 1990. — Vol. 125, N 2. — P. 175—183.
8. Arase K., Shargill N. S., Bray G. A. // Amer. J. Physiol. — 1989. — Vol. 256, N 3. — P. R751—R756.
9. Bellush L. L., Henley W. N. // Physiol. Behav. — 1990. — Vol. 47, N 2. — P. 231—238.
10. Ceccatelli S., Eriksson M., Hokfelt T. // Neuroendocrinology. — 1989. — Vol. 49. — P. 309—323.
11. Choi S. B., Frontoni S., Sloan L. et al. // Diabetologia. — 1990. — Vol. 33. — Suppl. — P. 113.
12. Cintra A., Fuxe K., Solfsini V. et al. // J. Steroid Biochem. — 1991. — Vol. 40, N 1—3. — P. 93—103.
13. Duan Shu-Min, Shimizu Nobuaki // Acta Physiol. sin. — 1992. — Vol. 44, N 5. — P. 427—433.
14. Gond J. U., Zhang X. U. // J. comp. Neurol. — 1992. — Vol. 326, N 1. — P. 101—111.
15. Guillaume-Gentil C., Rohner-Jeanrenaud F., Jeanrenaud B. // Diabetologia. — 1989. — Vol. 32, N 7. — P. 494A.

<sup>1</sup> Изучение распределения нейропептидов у животных выполнено по гранту N UDE000 Международного научного фонда Дж. Сороса.

16. Karlsson S., Ahren B. // Acta physiol. scand. — 1991. — Vol. 2. — P. 397—403.
17. Kopelman P. G., Grossman A., Lavender P. et al. // Clin. Endocrin. — 1988. — Vol. 28, N 1. — P. 15—18.
18. Larsen P. J., Mikkelsen J. D. // J. comp. Neurol. — 1992. — Vol. 326, N 2. — P. 180—192.
19. Merchenhaller I. // Ibid. — N 1. — P. 112—120.
20. Rohner-Jeanrenaud F., Jeanrenaud B. // Neuroendocrinology. — 1990. — Vol. 52, N 1. — P. 52—56.
21. Song Yu, Yu Ji-Ren // Acta physiol. sin. — 1991. — Vol. 43, N 4. — P. 428—435.
22. Tsigos C., Crosby S., Gybson S. et al. // Diabetologia. — 1989. — Vol. 32, N 7. — P. 550A.
23. Uah M. A., Straub S., Ierspohl E. J. // Ibid. — 1991. — Vol. 34. — Suppl. 2. — P. 64.
24. Widmaier E. P., Plotsky P. M., Sutton S. W., Vale W. W. // Amer. J. Physiol. — 1988. — Vol. 225, N 3, Pt 1. — P. 287—292.
25. Widmaier E. P., Shah P. R., Lee G. // Regul. Peptid. — 1991. — Vol. 34, N 3. — P. 235—249.
26. Widmaier E. P. // Molec. cell. Endocr. — 1991. — Vol. 75, N 1. — P. C1—C6.

Поступила 30.05.95

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ. 1996

УДК 616.45-089.871-07:616.154:577.175.53

Н. П. Гончаров, Г. В. Кацня, В. Ю. Бутнев, В. М. Горлушкин

## ВЛИЯНИЕ ПРОЛОНГИРОВАННОГО ГЕСТАГЕНА ЛЕВОНОРГЕСТРЕЛА БУТАНАТА НА СПЕРМАТОГЕНЕЗ И ЭНДОКРИННУЮ ФУНКЦИЮ ПОЛОВЫХ ЖЕЛЕЗ И НАДПОЧЕЧНИКОВ У ПАВИАНОВ ГАМАДРИЛОВ<sup>1</sup>

Эндокринологический научный центр (дир.— акад. РАМН И. И. Дедов) РАМН, Москва; Приматологический центр, Сухуми

Введение гестагенов вызывает частичное подавление процесса сперматогенеза в результате угнетения секреции гонадотропных гормонов [3, 4, 10, 11].

Для предупреждения развития возможных побочных эффектов (нарушение либидо, сексуальной потенции) гестагены в качестве индукторов азооспермии вводятся совместно с андрогенами. Однако до настоящего времени ни одна из применяемых комбинаций гестагенов и андрогенов не обеспечивает 100% индукции азооспермии у людей. Так, медроксипрогестерона ацетат в комбинации с тестостерона энантатом вызывает азооспермию в 14—79% случаев [10]. Аналогичные результаты получены в комбинации данного гестагена с 19-нортестостерон-гексилпропионатом [8].

Для поиска более эффективных пролонгированных препаратов стероидов в рамках специальной программы ВОЗ был осуществлен синтез ряда эфиров гестагенов и андрогенов [5].

В результате их скрининга по фармакодинамическим показателям был отобран левоноргестрела бутанат и тестостерон-транс-4-н-бутилциклогексил-карбоксилат (тестостерона будиклат) [9, 12].

Преждеклинические испытания комбинации этих препаратов в качестве средства индукции азооспермии проводились на модели обезьян самцов павианов гамадрилов. В настоящей работе представлен первый этап исследований по оценке эффективности различных доз гестагена в ин-

Yu.M. Kolesnik, A.V. Abramov, O.V. Melnikova - RELATIONSHIPS BETWEEN THE HYPOTHALAMO-PITUITARY-ADRENAL AND PEPTIDERGIC SYSTEMS OF THE HYPOTHALAMUS IN ANIMALS WITH EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

**Summary.** The status of the hypothalamo-pituitary-adrenal system (HPAS) and the group of regulatory neuropeptides synthesized in the zone of the medial small-cell hypothalamic subnucleus, the principal site of production of corticotropin-releasing factor, were studied in Wistar rats. HPAS was studied by radioimmunological and morphohistochemical methods, the neuropeptidergic system by indirect immunofluorescence which helps measure the levels of neurotensin, bombesin, vasoactive intestinal peptide, leu- and met-enkephalines, calcitonin-gene-related peptide, and cholecystokinin in the neurones and medial eminence of the hypothalamus. Development of diabetes mellitus in rats was found to be associated with an increase of HPAS activity and alteration of the peptidergic system presenting as an increase of the number of identified immunoreactive neurones and changed content of neuropeptides in neurones and of their concentration in the medial eminence.

дукции азооспермии и сопутствующих изменений гонадотропной функции гипофиза и эндокринной функции надпочечных и половых желез.

### Материалы и методы

Работа выполнена на 18 половозрелых самцах павианов гамадрилов (*Papio hamadryas*) в возрасте 7—14 лет, массой тела 20—25 кг, родившихся и выросших в Сухумском приматологическом центре.

Исследование включало три этапа: контрольный период — 6 мес, период введения препарата — 6 мес (0—24 нед) и восстановительный период — 6 мес (24—48 нед).

Суспензию левоноргестрела бутаната в персиковом масле вводили дважды, с интервалом 3 мес, глубоко внутримышечно в глутеус максимум.

Обезьянам ( $n = 6$ ) 1-й группы препарат вводили в дозе 1 мг/кг (1-я инъекция) и 8 мг/кг (2-я инъекция), 2-й группы ( $n = 6$ ) — в дозе 2 мг/кг (1-я и 2-я инъекции), 3-й группы ( $n = 6$ ) — в дозе 4 мг/кг (1-я и 2-я инъекции).

Образцы крови (10 мл) брали из локтевой вены в 9 ч 30 мин—10 ч 30 мин. Сразу же после взятия крови животных наркотизировали кетамина гидрохлоридом в дозе 2 мг/кг ("Калпесол", "Гедеон Рихтер", Венгрия) и получали образцы спермы методом электроэякуляции.

В контрольном периоде и в период введения препарата образцы крови и спермы брали с интервалом 2 нед, а в восстановительный период с интервалом 4 нед.

Анализ спермы (объем семенной жидкости, концентрация сперматозоидов, их подвижность) проводили в соответствии с руководством ВОЗ [14].

Плазму крови хранили при  $-20^{\circ}\text{C}$  до проведения анализа гормонов.

Лютеинизирующий гормон (ЛГ) определяли биорадиоиммунологическим методом в условиях *in vitro* с использованием дозозависимой реакции дисперсионной культуры клеток Лейдига мышцей в ответ на стандарт ЛГ 69/104 [13].

Чувствительность метода составляла 0,015 мЕД/проба, коэффициент вариации в пределах одной реакции — 11%, между реакциями — 14,5%.

Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) определяли биорадиоиммунологическим методом с использованием ароматазной активности гранулезных клеток яичников неполовозрелых крыс [6, 7]. Чувствительность метода составляла 0,06

<sup>1</sup> Работа выполнена при поддержке Программы репродукции человека ВОЗ (консультант — д-р Дж. Вейтс).