

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. Merchenthaler 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., Jerspohl 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. Кация, 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 и в комбинации данного гестагена с 19-нортестостерон-гексилоксифенилпропионатом [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].

Прежде чем приступить к клиническим испытаниям 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 максимус.

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 контрольный период 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].

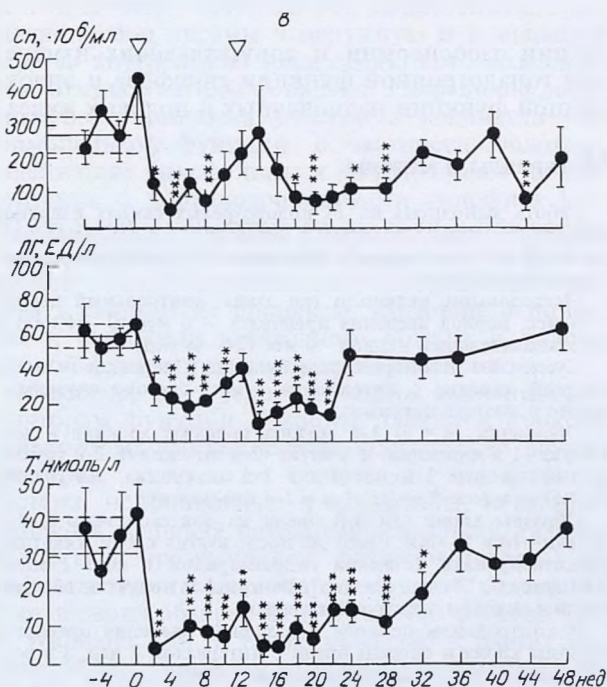
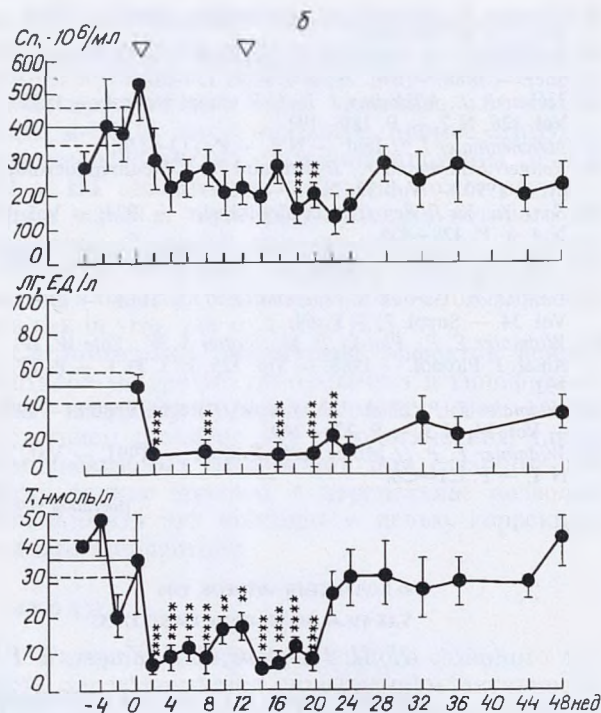
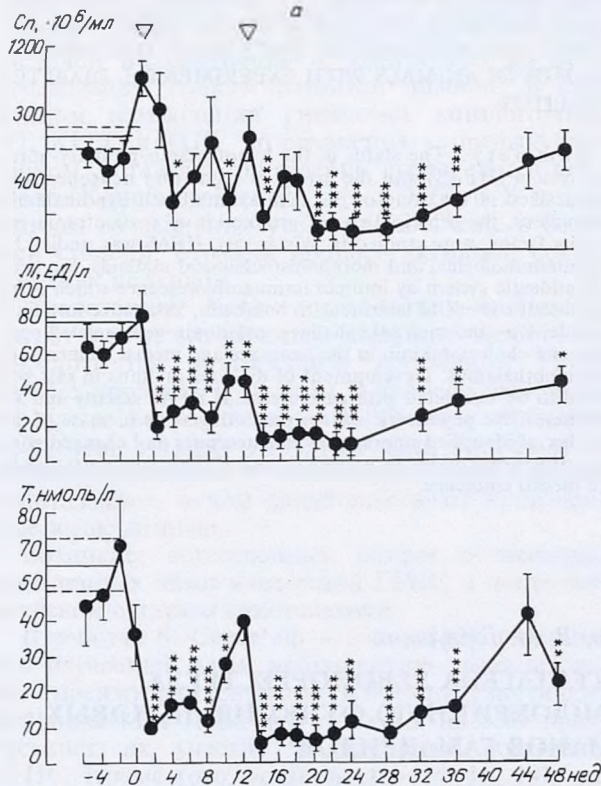
Плазму крови хранили при  $-20^{\circ}\text{C}$  до проведения анализа гормонов.

Лютенизирующий гормон (ЛГ) определяли биорадиомунологическим методом в условиях *in vitro* с использованием дозозависимой реакции дисперсионной культуры клеток Лейдига мышей 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 биорадиомунологическим 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).



Динамика средних значений количества сперматозоидов ( $Sp$ ), уровня ЛГ и Т у обезьян при введении левоноргестрела бутаната последовательно в дозах 1 и 8 мг/кг (а), в дозе 2 мг/кг (б) и в дозе 4 мг/кг (в).

Пунктиром обозначены пределы средних значений ( $M \pm m$ ) показателей в контрольном периоде обследования; одна звездочка —  $p < 0,05$ , две —  $p < 0,02$ , три —  $p < 0,01$ , четыре —  $p < 0,001$ .

мЕД/проба, коэффициент вариации внутри реакции — 13%, между реакциями — 18%.

Содержание тестостерона (Т) и кортизола (F) определяли радиоиммунологическим методом с использованием стандартизованных наборов реактивов ВОЗ. Радиоиммунологическое определение прегненолона ( $\Delta^5$ -Пр) и дегидроэпиандростерона (ДЭА) проводили с предварительным хроматографическим выделением стероидов на целите [1]. Коэффициент вариации в пределах одной реакции составляет 9,7% (Т), 7,4% (F), 9% ( $\Delta^5$ -Пр), 8% (ДЭА), а между реакциями 11% (Т), 10% (F), 12 ( $\Delta^5$ -Пр) и 11% (ДЭА).

## Результаты и их обсуждение

В контрольном периоде у животных, которым вводили последовательно 1 и 8 мг/кг левоноргестрела бутаната, количество сперматозоидов составляло  $632 \pm 65 \cdot 10^6/\text{мл}$ , из них  $70 \pm 2\%$  активно подвижных форм. Введение 1 мг гестагена вызывало резкие колебания в содержании сперматозоидов в пределах 40—130% от контрольных значений. Количество активно подвижных форм снижалось при этом в среднем на 40% (см.

рисунок, а). Последующее введение гестагена в дозе 8 мг/кг оказывало выраженное ингибирующее действие на количество сперматозоидов и их подвижность, соответствующие показатели снижались в среднем на 60–70% по сравнению с контрольными величинами.

Содержание Т и ЛГ у этих животных в контрольном периоде составляло  $55 \pm 8$  нмоль/л и  $77 \pm 7$  ЕД/л соответственно. Введение обеих доз гестагена вызывало значительное снижение содержания гормонов: меньшая доза — в среднем на 60%, а большая — на 80% (см. рисунок). Нормализация уровня гормонов наблюдалась на 5-й месяц восстановительного периода, когда уровень Т и ЛГ достигал  $32 \pm 7$  нмоль/л и  $49 \pm 18$  ЕД/л соответственно, что достоверно не отличалось от контрольных величин (см. рисунок, а).

Содержание сперматозоидов и активно подвижных форм перед введением гестагена в дозе 2 мг/кг составляло соответственно  $383 \pm 53 \cdot 10^6$ /мл и  $69 \pm 3\%$ . После введения препарата количество сперматозоидов уменьшилось в среднем на 50%, а их подвижность — на 40% (см. рисунок, б).

Процесс восстановления показателей спермограммы протекал неравномерно. У отдельных животных нормализация показателей наблюдалась в течение первых 3 мес восстановительного периода, а у 1 животного процесс сперматогенеза оставался подавленным на протяжении 6 мес.

Средний базальный уровень ЛГ и Т у животных этой группы составлял соответственно  $49 \pm 7$  ЕД/л и  $36 \pm 5$  нмоль/л. Введение гестагена вызывало снижение уровня Т в среднем на 65%, а уровня ЛГ — на 75% с последующим восстановлением на протяжении первых 3 мес восстановительного периода (см. рисунок, б).

У обезьян 3-й группы, которым вводили левоноргестрел бутанат в дозе 4 мг/кг, концентрация сперматозоидов и количество активно подвижных форм в контрольном периоде составляли  $315 \pm 51 \cdot 10^6$ /мл и  $64 \pm 3\%$  соответственно (см. рисунок, в). Введение гестагена вызывало выраженное снижение количества сперматозоидов (на 60%) и их подвижности (40–50%). Восстановление показателей регистрировалось на 2–4-й месяцы восстановительного периода. Исходный уровень Т и ЛГ у животных данной группы составлял  $35 \pm 5$  нмоль/л и  $59 \pm 6$  ЕД/л соответственно. Под действием препарата уровень Т и ЛГ снижался в среднем на 75 и 60% соответственно по сравнению с контрольным периодом. Нормализация содержания ЛГ наступала на 2-м месяце восстановительного периода, а Т — на 3-м месяце.

Содержание ФСГ в плазме снижалось в меньшей степени и без выраженного дозозависимого эффекта. В ответ на введение гестагена последовательно в дозах 1 и 8 мг/кг содержание ФСГ снижалось с  $15,5 \pm 1,3$  ЕД/л в контрольном периоде до  $8,8 \pm 1,3$  и  $9,5 \pm 2,3$  ЕД/л, т. е. в среднем на 40–48%. При двукратном введении гестагена в дозе 2 мг/кг средний уровень ФСГ на протяжении 6 мес экспериментального периода составлял  $14 \pm 1,5$  ЕД/л, что на 37% ниже контрольного уровня. Введение гестагена в дозе 4 мг/кг вызывало снижение уровня ФСГ с  $37 \pm 8$  ЕД/л в контрольном периоде до  $21 \pm 2$  ЕД/л, т. е. в среднем на 45%.

Для оценки возможного влияния длительного воздействия избытка гестагена на функциональную активность надпочечных желез у животных,

которым вводили 4 мг/кг гестагена, регистрировали динамику концентрации надпочечниковых гормонов в периферической крови. В контрольном периоде содержание F в крови составляло  $996 \pm 156$  нмоль/л, ДЭА —  $14,7 \pm 1,6$  нмоль/л,  $\Delta^5$ -Пр —  $6 \pm 1,3$  нмоль/л. Введение левоноргестрела бутаната не вызывало достоверных изменений в показателях функциональной активности коры надпочечников: содержание F находилось в пределах 990–1200 нмоль/л, ДЭА — 12–17 нмоль/л,  $\Delta^5$ -Пр — 3–6 нмоль/л.

Таким образом, двукратное введение левоноргестрела бутаната с интервалом 3 мес в диапазоне доз 1–8 мг/кг вызывает длительное (до 6 мес) подавление процесса сперматогенеза различной интенсивности, но не до стадии азооспермии. Последнее обстоятельство связано с недостаточным подавлением уровня ЛГ и ФСГ и секреции Т, поскольку показано, что экспериментальная индукция азооспермии у обезьян развивается на фоне полного подавления гонадотропной функции гипофиза [2]. Увеличение дозы гестагена с 4 до 8 мг не приводило к усилению ингибирующего действия препарата на секрецию гонадотропинов и процесс сперматогенеза. В связи с этим для дальнейших испытаний эффективности левоноргестрела бутаната в комбинации с тестостерона буциклатом была рекомендована доза гестагена 4 мг/кг.

## Выводы

1. Левоноргестрел бутанат в диапазоне доз 1–8 мг/кг оказывает ингибирующее действие на процесс сперматогенеза, усиливающееся с увеличением дозы, но не до стадии азооспермии.
2. В зависимости от дозы гестагена содержание ЛГ снижается на 35–80%, ФСГ — на 35–60%, Т — на 60–85%.
3. Использование дозы и режим введения гестагена не оказывают воздействия на секреторную функцию коры надпочечников.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Гончаров Н. П., Антоничев А. В., Кацян Г. В. и др. // *Вопр. мед. химии.* — 1979. — № 1. — С. 92–95.
2. Achter F. B., Marshall G. R., Wickings E. J., Nieschlag E. // *J. clin. Endocr.* — 1983. — Vol. 56. — P. 534–540.
3. Barbieri R. L., Ryan K. J. // *Acta endocr. (Kbh.).* — 1980. — Vol. 94. — P. 419–423.
4. Brache V., Alvarez-Sanchez F., Lean P. et al. // *Contraception.* — 1982. — Vol. 25. — P. 591–603.
5. Crabbe P., Archer S., Benagiano G. et al. // *Steroids.* — 1983. — Vol. 44. — P. 243–253.
6. Huhtaniemi I. T., Fahl K., Rannikko S., Hsueh A. J. // *J. clin. Endocr.* — 1988. — Vol. 66. — P. 308–313.
7. Jia X. C., Hsueh A. J. // *J. Endocr.* — 1986. — Vol. 119. — P. 1570–1577.
8. Knuth U. A., Yeung C.-H., Nieschlag E. // *Fertil. and Steril.* — 1989. — Vol. 51. — P. 1011–1018.
9. Rajalakshmi M., Ramakrishnan Pr. // *Contraception.* — 1989. — Vol. 40. — P. 399–412.
10. Schearer S. B., Alvarez-Sanchez F., Anselmo J. et al. // *Int. J. Androl.* — 1978. — Suppl. 2. — P. 680.
11. Setty B. S., Kar A. B. // *J. exp. Biol.* — 1969. — Vol. 7. — P. 49–51.
12. Weinbauer G. F., Marshall G. R., Nieschlag E. // *Acta endocr. (Kbh.).* — 1986. — Vol. 113. — P. 128–132.
13. Wickings E. J., Qasi M. H., Nieschlag E. // *J. Reprod. Fertil.* — 1979. — Vol. 57. — P. 497–504.
14. World Health Organisation. WHO Laboratory Manual for the examination of Human Semen and Semen-Cervical Mucus Interaction. — 2nd Ed. — Cambridge, 1987.

**Summary.** The efficacy of levonorgestrel butanate in doses 1, 2, 4, and 8 mg/kg in spermatogenesis suppression was studied in adult male *Papio hamadrias*. The drug was injected intramuscu-

larly twice with 3 month interval. All gestagen doses had an inhibitory effect of spermatogenesis, this effect increasing with the dosage build-up. None of the animals developed azoospermia, which was due to incomplete suppression of the pituitary gonadotropic function and of testosterone secretion. Hormonal concentration in the peripheral blood was 55-60% reduced in response to the minimal dose and 60-80% reduced in response to the maximal dose. Injection of long-acting gestagen did not influence the secretion of adrenocortical hormones hydrocortisone, dehydroepiandrosterone, and pregnenolone.

## ОБЗОРЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1996

УДК 616.154:577.175.328]-008.61-06:616.441-008.64]-008.6

В. А. Олейник, Е. В. Эпштейн, Е. В. Савран

### ГИПЕРПРОЛАКТИНЕМИЯ И ГИПОТИРЕОЗ (СИНДРОМ ВАН ВИКА—РОССА—ГЕННЕСА)

Институт эндокринологии и обмена веществ (дир.— член-корр. АМН Украины Н. Д. Тронько)  
АМН Украины, Киев

В последние годы внимание врачей различных специальностей все больше привлекают заболевания и синдромы, связанные с нарушенной секрецией пролактина (ПРЛ). Выделение ПРЛ как самостоятельного гормона из гипофиза человека произошло относительно недавно — в 1970 г. [50]. Это событие в последующие годы существенно изменило представление о регуляции репродуктивной функции и происхождении бесплодия у женщин и мужчин. Выяснилось, что избыточная секреция ПРЛ, которому ранее отводилась скромная роль регулятора лактации в послеродовом периоде, ответственна более чем за 25% случаев нарушений менструального цикла, гипогонадизма и бесплодия. Накопленные клинические и экспериментальные данные показали, что нарушение секреции ПРЛ и связанный с этим нарушением симптомокомплекс возникает как при первичном поражении пролактинсекретирующих структур, так и при различных других эндокринных и неэндокринных заболеваниях, а также при приеме некоторых фармакологических препаратов. Эти данные легли в основу современного представления о первичной гиперпролактинемии как самостоятельной нозологической единице и ее вторичных формах, наблюдаемых при других заболеваниях [5].

Одним из таких заболеваний является первичный гипотиреоз (ПГ).

Впервые взаимосвязь лактореи и гипотиреоза отметил W. Jackson [44], который описал случай развития стойкой лактореи у больной после тиреоидэктомии. Им также было высказано предположение, что тиреоидэктомия стимулирует секрецию "лактогонного" гормона.

Сочетание ПГ с лактореей-аменореей известно в литературе под названием синдрома Ван Вика—Росса—Геннеса. Обособление данного клинического варианта было основано на общем представлении о связи гиперпролактинемии, индуцированной ПГ, с нарушениями в половой сфере, доминирующими в этом симптомокомплексе.

J. Van Wyk и M. Grumbach [77] описали необычный симптомокомплекс у 3 девочек с декомпенсированным ПГ, когда, в отличие от сопутствующего этому заболеванию отставания в половом развитии, они наблюдали у больных (7, 8 и 12 лет) макромастию, лакторей, преждевременное менархе и меноррагии. У всех больных была выявлена аденома гипофиза. Назначение заместительной терапии тиреоидными гормонами и достижение компенсации гипотиреоза привело к регрессу признаков преждевременного полового развития, прекращению лактореи и уменьшению размеров гипофиза. Авторы также предложили патогенетическую концепцию неспецифического гормонального перекрестия (overlap), согласно которой первичное поражение органа-мишени, по принципу обратной связи, приводит к гипоталамическим расстройствам, сопровождающимся увеличением продукции не одного, а двух гормонов, имеющих общие регуляторные механизмы. Они также указали на вторичный генез аденомы гипофиза при длительно нелеченой микседеме.

Следует отметить, что в литературе 60-х годов неоднократно встречались сообщения о сочетании ПГ с лактореей-аменореей, однако авторы ошибочно расценивали их как случаи сочетания ПГ с синдромом Чигари—Фроммеля [22, 53, 64].

A. Hennes [40], F. Ross и соавт. [63] наблюдали первичный гипотиреоз с лактореей и аменореей, развившимися после родов. Обобщая литературные сведения и собственные наблюдения, а также обсуждая механизмы гормонального "перекрестия" на уровне гипофиза, F. Ross и соавт. [63] пришли к выводу, что дефицит тиреоидных гормонов приводит к ингибированию гипоталамических центров, регулирующих выделение ПРЛ, а также, возможно, гонадотропинов. Они также впервые указали на необходимость обособления этого синдрома от синдрома Чигари—Фроммеля, а также на то, что клиническое улучшение в большинстве случаев было достигнуто применением тиреоидных гормонов.

Таким образом, сочетание ПГ с лактореей, аменореей или другими нарушениями менструального цикла не совсем правильно во всех случаях называют синдромом Ван Вика—Росса—Геннеса, поскольку ювенильный вариант синдрома (Van Wyk—Grumbach) по своим клиническим проявлениям отличается от такового у взрослых. Кроме того, в литературе можно встретить и обособление послеродового варианта синдрома (Ross—Hennes), когда суммируется патологическая лакторей, вызванная гипотиреозом, который мог длительное время протекать скрыто, и физиологическая послеродовая лакторей. Беременность и роды, с одной стороны, приводят к манифестации гипотиреоза, а с другой стороны, часто маскируют истинную природу заболевания, затрудняя его диагностику.

К 1970 г. в литературе описано 17 случаев сочетания ПГ с синдромом лакторей-аменорей и 2 случая, в которых гипотиреоз сочетался только с лактореей, а менструальный цикл сохранялся регулярным. Сообщалось также о наличии у 9 больных рентгенологических признаков аденомы гипофиза и об успешном лечении данного симптомокомплекса тиреоидными гормонами у 5 из 19 больных [15, 23, 24, 34].

Идентификация ПРЛ человека как отдельного гормона и внедрение в клиническую практику радиоиммунологического метода его определения [43] позволило установить, что такие патологические состояния, как лакторей, синдром лакторей-аменорей, другие нарушения менструального цикла, бесплодие, а также снижение либидо и потенции у мужчин являются проявлениями гиперпродукции ПРЛ. Тогда же впервые С. Edwards и соавт. [29] обнаружили у 3 больных ПГ женщины с синдромом лакторей-аменорей повышенные базальные уровни ПРЛ в крови. Им же было показано, что лечение тиреоидными гормонами нормализует повышенное содержание ПРЛ в плазме крови у этих больных, что приводит к исчезновению лакторей и восстановлению менструального цикла. Годом позже L. Jakobs и соавт. [46] обнаружили умеренное повышение концентрации ПРЛ в крови у 2 боль-