

трольной группах. Для надпочечников стероиды были оценены в соответствии с зоной, в которой они синтезируются. При анализе андрогенов пучковой зоны не было выявлено существенных различий в уровне 11-дезоксикортизола как в исследуемой, так и в контрольной группе. В сетчатой зоне — уровень ДГЭА значительно снизился во время лечения только в исследуемой группе ($p=0,007$). При ретроспективном анализе более высокие уровни ДГЭА были зафиксированы на 2-м и 8-м визитах. Отношение ДГЭАС/ДГЭА значительно увеличилось во время лечения только в группе, получающей препарат. Что касается клубочковой зоны надпочечников, уровень кортикостерона существенно изменился в ходе визитов как в исследуемой, так и в контрольной группе ($p<0,001$). При ретроспективном анализе в обеих группах уровень кортикостерона был значительно выше на 2, 8 и 10-м визитах ($p=0,028$, $p=0,003$ и $p=0,044$ соответственно), т.е. в соответствии с полным клинико-инструментальным обследованием, которое выполнялось только на этих визитах в соответствии с протоколом исследования.

Выводы. Это первое двойное слепое плацебо-контролируемое клиническое исследование, в котором стероидогенез подробно исследован методом жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии при СД2 у мужчин, получавших варденафил в течение 6 мес, и последующим периодом наблюдения 6 мес. Длительное применение варденафила снижает уровень ДГЭА и увеличивает соотношение ДГЭАС/ДГЭА, возможно, вследствие модуляции ферментов стероидогенеза, а именно цГМФ и/или цАМФ в тканях. Повышение кортикостерона, возможно, стресс-индуцированное, отмечено однократно.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

Сахарный диабет 2-го типа, надпочечниковые стероиды, половые стероиды, ингибитор фосфодиэстеразы.



doi: 10.14341/probl201662540-41

MRNA ANALYSIS OF GENES RESPONSIBLE FOR IDIOPATHIC HYPOGONADOTROPHIC HYPOGONADISM

A.S. Loktionova¹, N.G. Eneva², K.A. Khusniyarova,
L.N. Nefedova, A.I. Kim, A.V. Dreval¹,
I.A. Ilvayskaya¹

¹Moscow Regional Research and Clinical Institute named after M.F. Vladimirov, Moscow, Russian Federation

²Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Background. Hypogonadotropic hypogonadism (HH) is a disorder characterized by delayed or absent pubertal development due to pathology of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. HH may be both congenital (Kallmann's syndrome) and sporadic. Congenital or isolated HH is divided into with anosmia/hyposmia (KS) and with normal olfaction (nHH). Nowadays several tens of genes involved in the functioning of the reproductive axis are known. However DNA lesions can be found just in 5—15% of such cases of HH.

Aim. So we decided to measure mRNA expression of several genes which can be found in leukocytes of peripheral blood

— namely GNRHR and GNRH1 (are necessary for adequate biological effect of GnRH); PROK2 and CHD7 (are responsible for the migration of GnRH neurons), WDR11 and DUSP6 (are involved in normal sexual development).

Material and methods. A quantitative determination of mRNA expression of these genes were completed in the fresh peripheral blood sample by PCR in real time.

Results. Examined patients: 9 women with hypogonadotropic hypogonadism (age from 18 to 28 y.o.); duration of the disease from 2 to 15 years; 3 of them — amenorrhea I and 6 — amenorrhea II. Reasons of amenorrhea II were: stress, excessive exercises, rapid body weight loss, past use of oral contraceptives. The control group: 19 healthy women; age from 19 to 37 y.o.; with regular ovulatory menstrual cycle, some of them have children. mRNA expression of examined genes differed from normal patterns in each case of hypogonadotropic hypogonadism. Changes in GNRHR, GNRH1 and DUSP6 mRNA expression were found in most of cases. However variations of mRNA expression were multidirectional in each case and there was no similarity among expression profiles of patients according to amenorrhea type or anamnestic factors.

Conclusions. According to our preliminary results, in women with hypogonadotropic hypogonadism the functional activity damage of «reproductive-responsible» genes could be found in each case. Probably mRNA expression measuring could be a perspective method for proving hypothalamo-pituitary level of reproductive disorders and may help to determine which genes should be tested for DNA impairment.

KEYWORDS

mRNA, gene expression, hypogonadotrophic hypogonadism.

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, ОТВЕТСТВЕННЫХ ЗА РАЗВИТИЕ ИДИОПАТИЧЕСКОГО ГИПОГОНАДОТРОПНОГО ГИПОГОНАДИЗМА

A.C. Локтионова¹, Н.Г. Енева², К.А. Хусниyarova,
Л.Н. Неведова², А.И. Ким², А.В. Древал¹,
И.А. Иловайская¹

¹ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва, Российская Федерация

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация

Обоснование и цель. Гипогонадотропный гипогонадизм (ГГ) — синдром, характеризующийся задержкой либо отсутствием полового созревания вследствие нарушения функционирования гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси. ГГ может быть как наследственным (например, синдром Кальмана), так и спорадическим. На сегодняшний день известно несколько десятков генов, продукты которых вовлечены в становление и нормальное функционирование репродуктивной оси. Повреждения ДНК обнаруживаются только в 5—15% случаев ГГ. По этой причине в нашем исследовании мы использовали количественное измерение экспрессии некоторых известных генов, ответственных за репродуктивную функцию, РНК которых обнаруживается в лейкоцитах периферической крови. Это гены *GNRHR* и *GNRH1* (необходимы для обеспечения нормального биологического эффекта ГнРГ); *PROK2* и *CHD7* (ответственны за миграцию ГнРГ-нейронов из места их образования в носовой плакоде к месту функционирования в

гипоталамусе), *WDR11* и *DUSP6* (вовлечены в процесс нормального полового развития).

Материал и методы. 9 женщин, страдающих синдромом гипогонадотропного гипогонадизма (возраст от 18 до 29 лет, длительность заболевания от 2 до 15 лет), у 3 из них ГГ сопровождался первичной аменореей, у 6 — вторичная аменорея. Контрольная группа: 19 здоровых женщин (в возрасте от 19 до 37 лет) с регулярным овуляторным менструальным циклом, некоторые из них имеют детей. У всех пациентов и субъектов контрольной группы были взяты образцы периферической венозной крови, далее проводилось разделение крови на фракции, после чего из лейкоцитов экстрагировалась РНК. Затем была проведена ПЦР в реальном времени, обладающая точностью количественного измерения.

Результаты. Количественная экспрессия вышеуказанных генов отличалась от нормальных паттернов экспрессии у каждого из пациентов. Изменения экспрессии *GNRHR*, *GNRH1* и *DUSP6* были найдены в большинстве случаев. В то же время отклонения экспрессии генов были разнонаправленными и не было найдено сходств в экспрессионных профилях пациентов в соответствии с типом аменореи, анамнестическими факторами и т.д.

Выводы. Согласно нашим предварительным результатам, отклонения от нормальной функциональной активности генов, ответственных за репродуктивную ось, могут быть обнаружены у всех женщин с гипогонадотропным гипогонадизмом. Возможно, измерение РНК-экспрессии может стать перспективным методом диагностики гипоталамо-гипофизарного уровня нарушений при репродуктивных расстройствах, а также сможет помочь определить гены, имеющие структурные нарушения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

мРНК, экспрессия генов, гипогонадотропный гипогонадизм.



doi: 10.14341/probl201662541-42

PHYSIOLOGICAL CHANGES OF ADIPOKINES DURING THE MENSTRUAL CYCLE

M. Šrámková^{1,2}, M. Dušková¹, J. Vítků¹, J. Včelák¹, P. Matucha¹, O. Bradnová¹, J. Cordeiro², L. Stárka¹

¹Institute of Endocrinology, Prague, Czech Republic

²Charles University, Prague, Czech Republic

Background. The cyclical effects of hormones during the menstrual cycle (MC) are responsible for driving ovulation. The information about roles of adipokines within the scope of MC are not definite. Leptin plays a role in sexual function and regulating the onset of puberty. Thin girls often fail to ovulate or release an egg from an ovary during menstruation cycles. Leptin also acts on specific receptors in the hypothalamus to inhibit appetite. Levels of leptin are increased in women suffering from premenstrual syndrome.

Aim — the aim of our study was to describe physiological changes of selected steroids and adipokines at healthy women during the MC.

Material and methods. Twenty-seven women with regular menstrual cycles were included in the study. Each sample was collected in cooled EDTA tubes, centrifuged at 2000 rpm in a refriger-

ated centrifuge, and stored at -80°C . For all samples we measured luteinizing hormone (LH), follicularstimulating hormone (FSH), sex hormone-binding globulin (SHBG), testosterone, dehydroepiandrosterone (DHEA), estradiol, 7α -DHEA, 7β -DHEA, 7-oxoDHEA, 17-hydroxyprogesterone (17-OH P), progesterone, cortisol, adrenocorticotrophic hormone (ACTH) by RIA and IRMA. Levels in plasma of hormones associated with food intake (c-peptide, ghreline, GIP, GLP, GLP-1, glucagon, insulin, leptin, PAI-1, resistin and visfatin) were measured using magnetic bead-based multiple assays (x-MAP technology, «Luminex Corporation»). Two kits were used: the 10-plex Bio-Plex Pro Human Diabetes assay and the 2-plex Bio-Plex Pro Human Adiponectin and Adipsin assay (both «Bio-Rad Laboratories»).

Patients. Twenty-seven women with regular menstrual cycles (cycle length 28 ± 2 days) were included in the study. The average age of the women was 31.8 ± 3.56 , and average BMI 22.9 ± 2.8 . The women used no hormonal contraceptives or other medicines influencing the production of steroid hormones, and were non-smokers. Before enrollment in the study, all signed informed consent that was approved by the local ethical committee of the Institute of Endocrinology.

Intervention. Fasting blood samples were taken in the morning between 7 and 8 am. The first sampling was done at the start of the menstrual cycle (1st or 2nd day). Subsequent samples were taken at regular intervals every three days, for a total of 10 samples taken during the study.

Main outcome measures. During the MC we found increased levels of testosterone, estradiol, progesterone, and 17-hydroxyprogesterone during ovulation. SHBG gradually increased after ovulation. There was a significant decrease in resistin levels during ovulation, followed by an increase in the latter part of the cycle. Adipsin showed a notable increase during ovulation, but this increase was not statistically significant.

Results. Classical changes in gonadotropins, estrogens and progesterone during the menstrual cycle are accompanied by less striking but significant changes in 17-hydroxyprogesterone and testosterone. No significant changes show dehydroepiandrosterone and its 7-oxygenated metabolites. Adipokines show a tendency to increase during ovulation, while ghrelin and resistin decrease. There is also a remarkable association of sex hormone binding globuline (SHBG) on the day of the cycle.

Conclusions. Our results demonstrate that changes to adipokines during the menstrual cycle are not substantial. Differing leptin levels are characteristic for premenstrual syndrome. Precise descriptions of physiological changes in healthy women are important in helping us understand the significance of the changes accompanying various pathological states.

KEYWORDS

Adipokines, menstrual cycle.

ACKNOWLEDGEMENT

The project was supported by grants GAUK 1254314.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ АДИПОКИНОВ В ТЕЧЕНИЕ МЕНСТРУАЛЬНОГО ЦИКЛА

M. Šrámková^{1,2}, M. Dušková¹, J. Vítků¹, J. Včelák¹, P. Matucha¹, O. Bradnová¹, J. Cordeiro², L. Stárka¹

¹Institute of Endocrinology, Прага, Чехия

²Charles University, Прага, Чехия

Обоснование. Циклические эффекты гормонов во время менструального цикла (МЦ) ответственны за на-