

А. В. Арутюнян,  
М. Г. Степанов, Г. О. Керкешко,  
Э. К. Айламазян

Научно-исследовательский институт  
акушерства и гинекологии  
им. Д. О. Отта РАМН, Санкт-Петербург

## НАРУШЕНИЕ ГИПОТАЛАМИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НЕЙРОТОКСИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ И МЕЛАТОНИНА\*

■ В настоящее время интенсивно изучаются механизмы регуляции репродукции, обуславливающие передачу сигнала от супрахиазматических ядер к преоптической области и срединному возвышению гипоталамуса, в которых осуществляется синтез и секреция гонадолиберина. Как установлено в экспериментах на самках крыс, важная роль в этих процессах принадлежит биогенным аминам и опиоидам гипоталамуса, которые имеют характерные суточные ритмы, исчезающие при старении и утрате репродуктивной функции. Проведенными нами экспериментами обнаружено, что в преоптической области, срединном возвышении и супрахиазматических ядрах гипоталамуса половозрелых самок крыс наблюдается суточная динамика биогенных аминов, нарушающаяся под влиянием нейротоксических соединений — толуола и 1, 2-диметилгидразина. Попытка использовать для синхронизации нарушенных биоритмов экзогенный мелатонин оказалась безуспешной, поскольку он сам по себе вызывал нарушения суточной динамики исследуемых показателей. На основе проведенных исследований и анализа литературных данных выдвигается гипотеза о роли имеющих противоположную направленность суточных ритмов этих нейромедиаторов в формировании проэстрального пика секреции гонадолиберина. Нарушение суточных ритмов исследуемых показателей под влиянием экзогенного мелатонина объясняется с позиций проявления побочных эффектов эпифизарного гормона при превышении его физиологического уровня.

■ **Ключевые слова:** гипоталамус, суточные ритмы, гонадолиберин, биогенные амины, нейротоксические соединения, репродуктивная функция

Загрязнение окружающей среды принимает все большие размеры в масштабах всей планеты. Нарушение экологических условий при этом заключается в появлении факторов, характеризующихся малой интенсивностью и большой длительностью воздействия, неблагоприятно влияющих на многие функции организма. Репродуктивная система является одной из наиболее чувствительных систем организма, реагирующих на загрязнение окружающей среды. Установлено, что экологически вредные факторы независимо от их природы вызывают сходные нарушения функционирования репродуктивной системы женского организма. Учитывая это, Э. К. Айламазян и соавт. [2] предлагают использовать показатели состояния репродуктивной системы женщин при оценке экологической ситуации в том или ином регионе. Проведенные нами исследования указывают на определенную неспецифичность ее реакции на присутствие в качестве загрязнителей различных химических соединений и физических факторов (бензола, толуола, стирола, формальдегида, диоксиана, свинца, электромагнитных полей и др.). Это свидетельствует о нарушении центральных механизмов регуляции репродуктивной функции под воздействием неблагоприятных факторов внешней среды независимо от их природы.

Многочисленными клиническими наблюдениями установлено, что нарушения репродуктивной системы организма, вызванные воздействием неблагоприятных факторов внешней среды на женский организм вне беременности, обусловлены дисфункцией гипоталамо-гипофизарно-гонадных отношений [1, 2].

Экспериментальные исследования, выполненные в лаборатории перинатальной биохимии НИИ АГ им. Д. О. Отта РАМН, показали, что одной из наиболее ранних и выраженных реакций репродуктивной системы при хроническом влиянии ряда неблагоприятных факторов внешней среды является нарушение суточных ритмов секреции гонадолиберина, а также контролирующих его секрецию нейромедиаторов в гипоталамусе [3, 5, 8].

У человека изучено более 900 физиологических функций, проявляющих суточную активность. В естественных условиях эти ритмы приурочены к 24-часовому периоду, так как они тесно связаны с внешними геофизическими циклами. Однако, если устранить влияние режима естественного освещения и, по возможности, других факторов внешней среды, таких как температура, влажность и т. п., часть суточных ритмов исчезает. Другие же ритмы, называемые циркадианными, проявляют свою уникальную способность сохраняться в течение неограниченно долгого времени. Величина периода циркадианных ритмов редко выходит за пределы 20–28 часов, поэтому они также называются околосоутчными ритмами.

Центральными биологическими часами, осуществляющими контроль над циркадианными ритмами организма млекопитающих,

\* Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 00-44-48967.

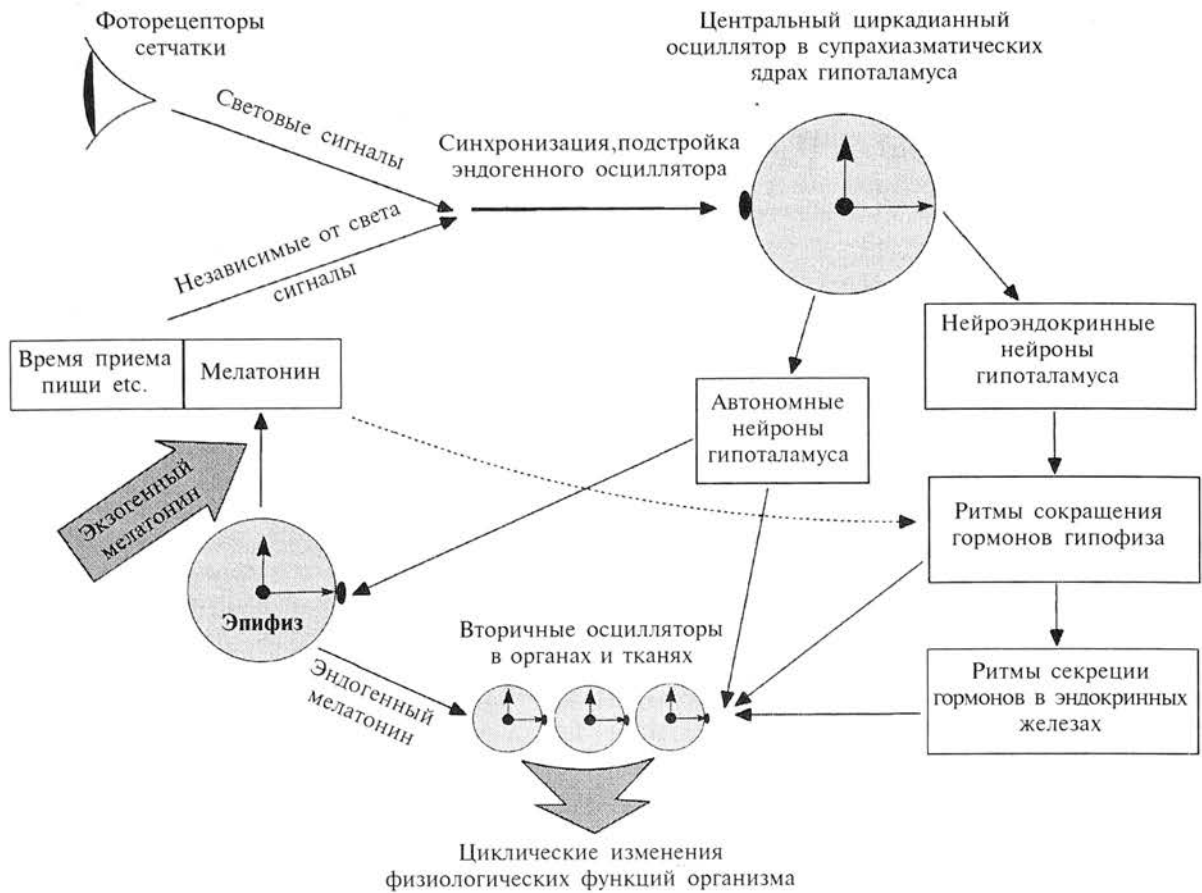


Рис. 1. Схема регуляции циркадианных ритмов у млекопитающих

являются супрахиазматические ядра гипоталамуса (рис. 1). В этих структурах обнаружены эндогенные, обусловленные генетическими механизмами, суточные изменения ряда показателей (уровень нейромедиаторов, электрическая и метаболическая активность нейронов) [24]. Поскольку эндогенные ритмы в СХЯ протекают с периодом, несколько отличающимся от 24 часов (либо большим, либо меньшим этого значения в зависимости от вида животных), требуется ежедневная синхронизация, подстройка биологических часов в соответствии с 24-часовым геофизическим дневным циклом. Основным стимулом, позволяющим осуществить такую подстройку, является уровень освещенности. Цикл свет/темнота вызывает сдвиг фазы циркадианного осциллятора в СХЯ таким образом, что генерируемые им колебания синхронизируются с циклом освещения. Вместе с тем в качестве синхронизаторов могут выступать и независимые от света сигналы, в частности, прием пищи и воды в определенное время суток. Синхронизацию суточных ритмов животных, находящихся в условиях постоянной темноты, вызывает также и ежедневное введение им гормона эпифиза мелатонина [17]. Синхронизирующее действие этого гормона проявляется только

при введении его в строго ограниченный период времени, соответствующий позднему вечерним и ранним ночным часам. В этот период времени в супрахиазматических ядрах наблюдается повышение плотности рецепторов мелатонина, через которые гормон и осуществляет подстройку ритмов циркадианного осциллятора.

Суточные колебания, генерируемые в супрахиазматических ядрах, передаются к другим органам и тканям, вызывая в них ритмические процессы, за счет интеграции которых осуществляется формирование суточных ритмов различных физиологических функций на уровне целого организма. Ранее в качестве основного передатчика суточных ритмов от супрахиазматических ядер к органам-мишеням рассматривался гормон эпифиза мелатонин [9]. Уровень синтеза и секреции этого гормона в эпифизе находится под контролем супрахиазматических ядер и имеет четко выраженный суточный ритм с пиком в ночные часы. Рецепторы мелатонина, через которые он мог бы осуществлять регуляцию суточных ритмов, найдены во многих периферических органах и тканях. Однако в дальнейшем было отмечено, что при удалении эпифиза большинство циркадианных ритмов млекопитающих сохраняется, в то

время как разрушение супрахиазматических ядер приводит к исчезновению практически всех известных суточных ритмов. Эти факты указывали на наличие других путей, помимо изменения уровня эпифизарного гормона, по которым циклические изменения в супрахиазматических ядрах передаются к другим отделам организма.

Несмотря на то, что супрахиазматические ядра осуществляют контроль над многими функциями организма, проекции нейронов этих ядер в основном ограничены пределами гипоталамуса [13]. Через контакты с гипоталамическими нейроэндокринными нейронами, содержащими релизинг-гормоны, в том числе с гонадолиберинергическими нейронами, супрахиазматические ядра регулируют суточные ритмы секреции гормонов гипофиза. Посредством же контактов с автономными нейронами гипоталамуса эти ядра посылают свои сигналы к расположенным на периферии эндокринным железам, таким, как надпочечники и поджелудочная железа, вызывая ритмиче-

ские изменения уровня синтезируемых в них гормонов. Таким образом, в качестве передатчика циркадианных ритмов от супрахиазматических ядер к органам и тканям в настоящее время может рассматриваться не только мелатонин, а весь комплекс гормонов, суточные ритмы которых контролируются циркадианным осциллятором.

Репродуктивная функция женского организма является одной из функций, находящихся под контролем циркадианной системы [23]. На рис. 2 представлена общая схема регуляции репродукции женского организма. Гонадолиберин, или ЛГ-релизинг гормон, продуцируемый гипоталамусом, стимулирует выработку гонадотропинов гипофизом, а они, в свою очередь, регулируют активность яичников, обратная связь от которых осуществляется посредством половых стероидов. В то же время женская репродуктивная система, в отличие от мужской, проявляет циклическую активность. Основному событию репродуктивного цикла, овуляции, предшествуют изменения

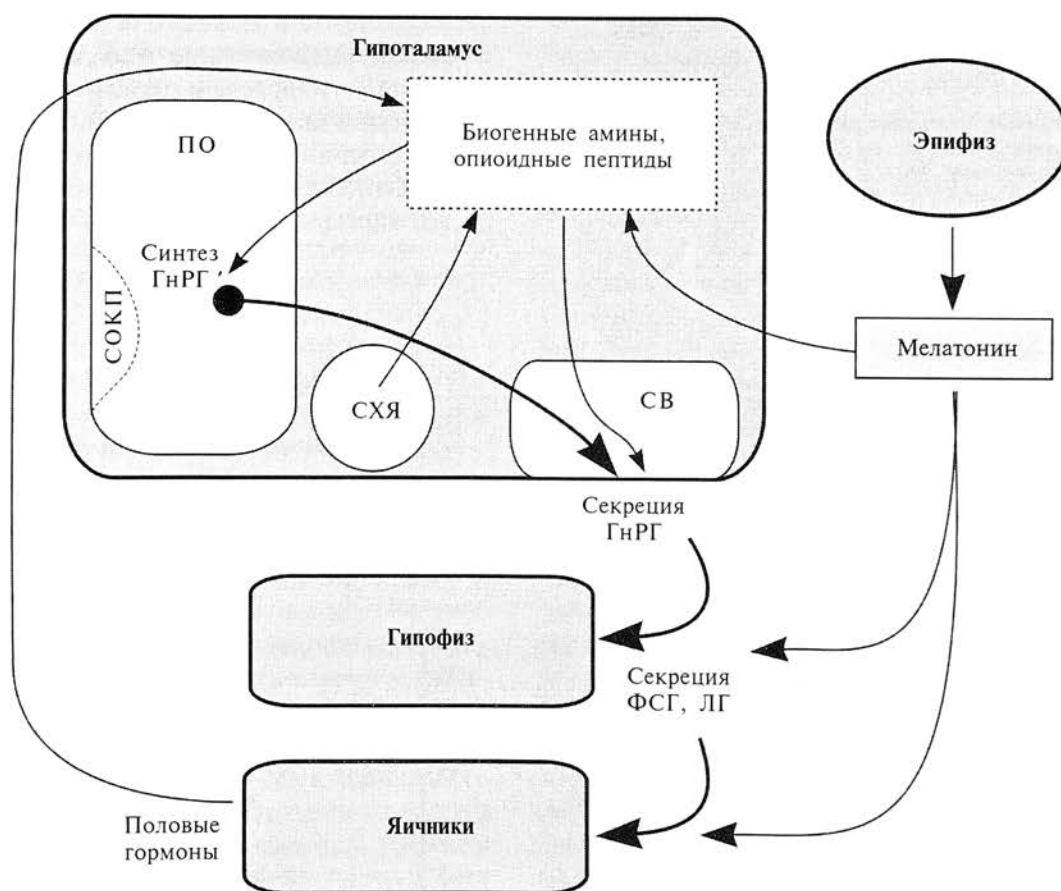


Рис. 2. Схема регуляции репродуктивной системы женского организма

ПО – преоптическая область, СОКП – сосудистый орган концевой пластинки, СВ – среднее возвышение, СХЯ – супрахиазматические ядра, ГнРГ – гонадотропин-релизинг гормон (гонадолиберин)

уровней гормонов. Из них наиболее значимым является подъем уровня гонадотропинов в крови, особенно преовуляторный пик ЛГ. Секретия ЛГ и ФСГ контролируется гонадолиберинем, который продуцируется гипоталамическими нейронами, расположенными в преоптической области. По их аксонам гонадолиберин поступает в срединное возвышение, где секретируется в порталный кровоток. Эта секретия импульсная, с интервалами 30–60 минут. Дискретный ее характер необходим для предотвращения десенсибилизации гонадотропцитов гипофиза к гонадолиберину и поддерживается специальным осциллятором, предполажи-

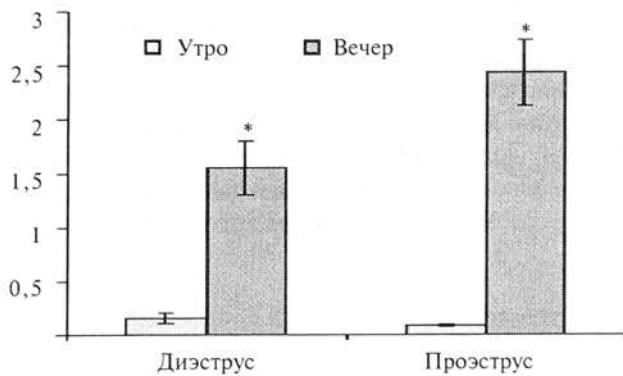


Рис. 3. Суточные изменения содержания гонадолиберина в сосудистом органе концевой пластинки самок крыс (нг/структуру,  $M \pm m$ ,  $n=8-10$ )

\*  $p < 0,001$  по сравнению с утренним уровнем ( $t$ -тест).

тельно использующим в качестве нейромедиатора норадреналин [16]. В процессе регуляции репродуктивной функции принимает участие также другой нейрогемальный орган — сосудистый орган концевой пластинки, расположенный в преоптической области в основании третьего желудочка мозга. Он окружен телами гонадолиберинергических нейронов, и его разрушение приводит к полному нарушению эстрального цикла. В сосудистом органе концевой пластинки нами был обнаружен циркадианный ритм содержания гонадолиберина с максимумом в вечернее время суток (17–18 ч) и минимальными значениями в утренние часы (10–11 ч) (рис. 3). В срединном возвышении такого ритма не существует, уровень гонадолиберина в нем в течение суток изменяется незначительно и составляет 2–5 нг/структуру. При изучении содержания биогенных аминов в преоптической области, срединном возвышении и супрахиазматических ядрах были обнаружены суточные ритмы с максимальным содержанием нейромедиаторов в утренние часы (рис. 4). В то же время данные литературы говорят о наличии в этих структурах суточных ритмов секреции опиоидных пептидов с максимумом в вечерние часы, имеющих противоположную направленность ритмам содержания биогенных аминов и однонаправленных с ритмом гонадолиберина [21]. Одно из возможных объяснений этого явления состоит в том, что суточные ритмы биогенных аминов могут быть обусловле-

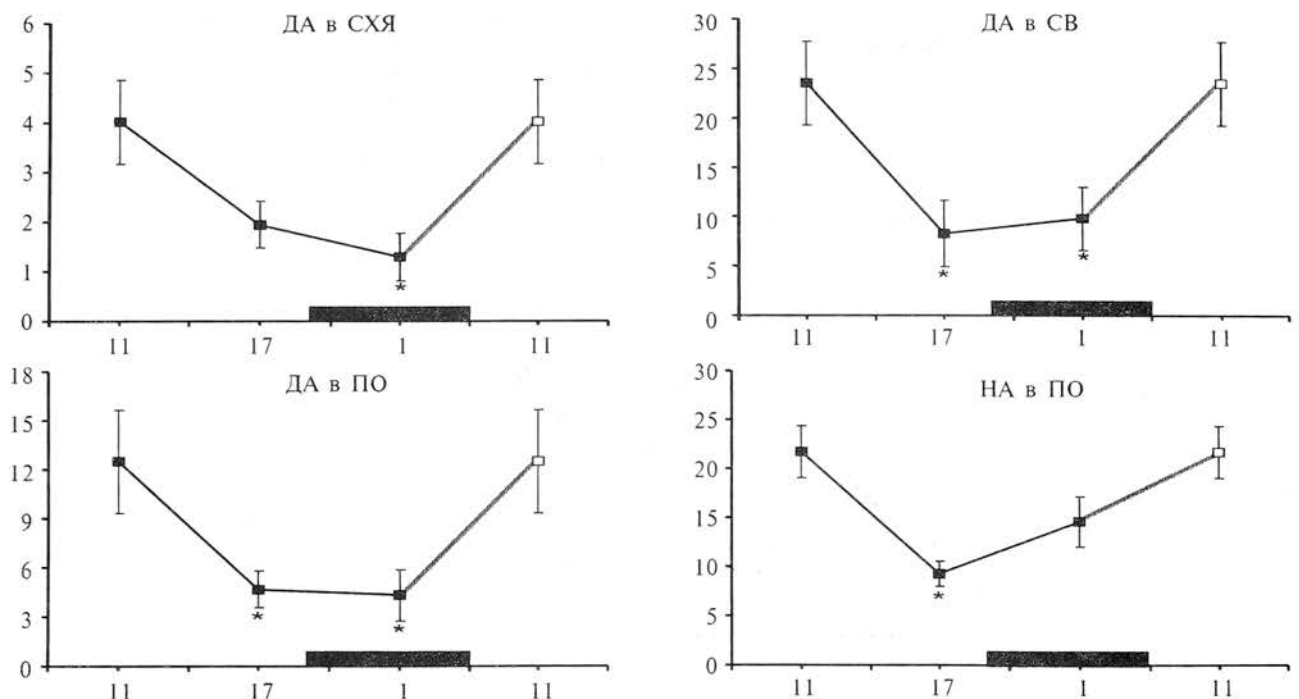


Рис. 4. Суточная динамика содержания дофамина (ДА) и норадреналина (НА) в преоптической области (ПО), срединном возвышении (СВ) и супрахиазматических ядрах (СХЯ) гипоталамуса intactных самок крыс (нг/мг белка,  $M \pm m$ ,  $n = 6-10$ )

По оси X — время суток (ч), □ — точки, повторяющие утренний уровень, ■ — темное время суток

\*  $p < 0,05$  по сравнению с утренним уровнем ( $t$ -тест).

ны снижением ингибиторной активности опиатной системы. Предполагается, что взаимодействие между катехоламинергическими, в частности, дофаминергическими и эндорфинергическими системами медиобазального гипоталамуса играет ключевую роль в регуляции секреции гонадолиберина в срединном возвышении [19]. Снижение уровня опиоидов и возрастание биогенных аминов в утреннее время может образовывать нейромедиаторный фон, необходимый для формирования предвультарного пика гонадолиберина. В вечернее время повышение уровня опиатов и снижение биогенных аминов может способствовать термации этого пика.

Регуляция репродукции в женском организме имеет одну отличительную черту — наличие положительной обратной связи между секрецией половых стероидов и гонадотропинов, которая необходима для реализации предвультарного пика ЛГ [23]. Известно, что повышенная секреция гонадолиберина у крыс в проэструсе является результатом взаимодействия двух сигналов: циркадианного и овариального, поступающего от гонад каждые 4–5 дней в виде повышенной концентрации эстрадиола и прогестерона, продуцируемых растущими фолликулами. Циркадианный контроль над секрецией гонадолиберина осуществляется супрахиазматическими ядрами посредством контактов между их нейронами и гонадолиберинергическими нейронами.

В реализации предвультарного увеличения секреции гонадолиберина участвуют различные нейрональные пути. Циркадианный сигнал поступает к гонадолиберинергическим нейронам преоптической области из супрахиазматических ядер [15]. Существует прямой путь, где в качестве нейромедиатора используется вазоактивный интестинальный пептид, а также непрямой вазопрессинергический путь, проходящий главным образом через медиальные преоптические ядра. Эти ядра играют особую роль как рецепторы овариального сигнала, поскольку гонадолиберинергические нейроны преоптической области и нейроны супрахиазматических ядер не имеют рецепторов эстрогенов. Таким образом, нейроны медиальных преоптических ядер модулируют активность гонадолиберинергических нейронов в зависимости от уровня эстрогенов. В значительной их части в качестве нейромедиатора используется дофамин [12]. Нейроны супрахиазматических ядер имеют также проекции к аркуатным ядрам, а нейроны последних имеют множественные аксо-аксональные контакты в срединном возвышении. Нейромедиаторами нейронах аркуатных ядер служат дофамин,  $\beta$ -эндорфин, нейропептид Y и некоторые другие. Имеются также проекции норадренерги-

ческих нейронов из медуллы и серотонинергических из среднего мозга к преоптической области и срединному возвышению. Биогенные амины играют важную роль в регуляции репродуктивной функции, но ее изучение в женском организме имеет определенные сложности, поскольку здесь имеет место взаимодействие циркадианного и овариального сигналов [11]. Поэтому сложилась ситуация, когда влияние различных уровней половых гормонов на катехоламинергические и серотонинергические системы оказались достаточно хорошо изученными на самках, в то время как циркадианная ритмичность изучалась хронобиологами главным образом на самцах, как на более удобном объекте, не имеющем репродуктивной цикличности.

В проведенных нами экспериментах на половозрелых самках крыс было показано наличие суточных изменений содержания гонадолиберина в сосудистом органе концевой пластинки, а также дофамина и серотонина в гипоталамических структурах, обеспечивающих синтез и секрецию гонадолиберина — преоптической области и срединном возвышении. В последующих экспериментах в этих зонах гипоталамуса были также обнаружены суточные изменения содержания норадреналина. Было показано, что они сохраняются при нахождении животных в условиях полной темноты, что свидетельствует об истинной циркадианной природе этого ритма [14]. Проведенными экспериментами было также установлено наличие суточных ритмов дофамина и 5-оксииндолилуксусной кислоты в супрахиазматических ядрах гипоталамуса. Хроническое воздействие нейротоксического ксенобиотика толуола приводило к нарушению привычных суточных ритмов содержания гонадолиберина [5], а также нейромедиаторов дофамина и серотонина и их метаболитов 3, 4-диоксифенилуксусной кислоты и 5-оксииндолилуксусной кислоты [3]. Эти сдвиги могут рассматриваться как наиболее ранние признаки дисфункции репродуктивной системы. Аналогичные результаты были получены в остром эксперименте после однократной инъекции обладающего нейротоксическим действием 1, 2-диметилгидразина (ДМГ). Обнаруженные нарушения затрагивали все исследуемые нейромедиаторные системы в гипоталамических структурах. При исследовании влияния времени введения ДМГ на среднесуточное содержание биогенных аминов было установлено, что ДМГ оказывает более сильное влияние при вечернем введении [7], когда в печени повышена активность метаболизирующих его ферментов.

В процессе метаболизма гидразинов, к числу которых относится ДМГ, также как и толуола,

образуются свободные радикалы, в том числе активные формы кислорода (АФК). Наряду с этим АФК в медиобазальном гипоталамусе, как и в других отделах мозга, могут образовываться из катехоламинов при их аутоокислении или окислительном дезаминировании под влиянием моноаминоксидазы [22]. Нами была обнаружена суточная динамика генерации АФК в гипоталамусе, противоположная той, которая была характерна для биогенных аминов. Нарушение суточных ритмов содержания биогенных аминов под влиянием нейротоксических ксенобиотиков сопровождалось исчезновением суточной динамики генерации АФК в гипоталамусе.

В последние годы пристальное внимание исследователей привлекает роль эпифиза и продуцируемого им гормона мелатонина в синхронизации циркадианных и сезонных биоритмов, в антистрессовой защите, а также его участие в нейроэндокринной регуляции репродуктивной системы, в частности, ее гипоталамо-гипофизарного звена.

Наиболее важной функцией мелатонина у млекопитающих является регуляция сезонных ритмов [25]. Гормон осуществляет передачу информации об изменении светового режима дня, что позволяет организму вовремя адаптироваться к изменению температурных, пищевых и прочих условий существования. Показана способность мелатонина регулировать сезонные изменения репродуктивной активности, терморегуляции, пищевого поведения у многих видов животных. У всех видов концентрация мелатонина в крови претерпевает значительные суточные изменения, связанные с повышением синтеза гормона в эпифизе в ночные часы. Эффект мелатонина на репродуктивную функцию зависит от времени года, а также от вида животных. Так, у хомяков короткий период повышенного уровня мелатонина в летнее время оказывает прогонадотропный эффект, длительный период в зимнее время — антигонадотропный, тогда как у овец наблюдается обратная картина. Однако у видов, отличающихся независимым от сезона циклом размножения (крысы, приматы), роль мелатонина изучена значительно слабее. На новорожденных крысах показано его ингибирующее действие на стимулированную гонадолиберинем секрецию гонадотропинов, но этот эффект к 15-дневному возрасту исчезает. В то же время хроническое введение мелатонина неполовозрелым крысам (как самкам, так и самцам) приводит к большему антигонадотропному эффекту и задержке полового созревания, чем сокращение световой фазы фотопериода.

После того, как в первой половине 80-х годов XX в. было показано, что мелатонин практически не влияет на репродуктивную функцию взрослых

самцов крыс, участие эпифизарного гормона в регуляции репродукции изучалось недостаточно интенсивно. Однако более поздние исследования на самках показали, что мелатонин обладает эффектом синхронизации эстрального цикла с циклом «свет—темнота». У пинеалэктомированных крыс наблюдался больший разброс времени возникновения проэстрального пика ЛГ, чем у контрольных животных. Кроме того, было показано, что экзогенный мелатонин при введении в дневные часы проэструса способен предотвращать появление пика ЛГ [19]. Поскольку у взрослых крыс мелатонин не оказывает влияния на стимуляцию гонадотропоцитов гипофиза гонадолиберинем, он должен оказывать воздействие на секрецию самого гонадолиберина. Однако до последнего времени не было данных о влиянии экзогенного мелатонина на уровень гонадолиберина. Следует отметить еще одну особенность мелатонина. У старых самок крыс, имеющих нерегулярный эстральный цикл, а также сниженный и растянутый во времени проэстральный пик ЛГ, вечернее введение мелатонина способно восстановить величину и форму пика ЛГ и регулярность эстрального цикла [10]. Таким образом, мелатонин обладает антигонадотропным эффектом у новорожденных животных и прогонадотропным — у старых.

Воздействие мелатонина на гипоталамическую регуляцию репродукции может осуществляться как за счет непосредственного воздействия на гонадолиберинергические нейроны, так и опосредованно через нейромедиаторные системы, регулирующие синтез и секрецию этого нейропептида. Первое было продемонстрировано сравнительно недавно на культуре гонадолиберинергических нейронов. Выяснилось, что мелатонин подавляет транскрипционную активность гена гонадолиберина, и этот эффект опосредован рецепторами мелатонина, находящимися на мембране этих клеток [20]. Однако это явление требует дальнейшего изучения. Относительно опосредованной регуляции синтеза и секреции гонадолиберина имеется множество противоречивых данных, но находящих, тем не менее, вполне разумное объяснение. Например, показано, что в опытах *in vitro* мелатонин снижает уровень дофамина в срединном возвышении, ответственном за секрецию гонадолиберина [19]. Но его эффект на секрецию гонадолиберина оказывается различным в зависимости от того, содержит препарат изолированное срединное возвышение, или в нем присутствуют также аркуатные ядра. В первом случае секреция гонадолиберина снижается, во втором — увеличивается. В основе этих различий лежит тот факт, что изолированное срединное возвышение содержит только аксоны гонадолиберинергических и моноаминергических нейронов, тогда как

препарат с аркуатными ядрами содержит целостную тубероинфундибулярную дофаминергическую и  $\beta$ -эндорфинергическую нейромедиаторные системы. В первом случае мелатонин снижает прямую дофаминергическую стимуляцию секреции гонадолиберина, а во втором — снижение секреции дофамина приводит к ослаблению тормозного тонического влияния интактной опиоидной системы. Однако эти данные были получены на самцах крыс среднего возраста. Гипоталамическая регуляция репродукции у самок и влияние на нее мелатонина изучены значительно слабее. В ряде исследований было показано, что возрастные изменения предвulatoryного пика секреции гонадолиберина и гонадотропинов могут происходить вследствие ослабления активности нейромедиаторных систем, прежде всего в супрахиазматических ядрах. В то же время мелатонин, введенный старым самкам крыс, способен снизить степень старения нейрональных систем, участвующих в регуляции репродукции. Наличие эффекта мелатонина на активность моноаминергических систем позволяет предположить, что суточные ритмы биогенных аминов в структурах, ответственных за регуляцию репродуктивной функции, в той или иной степени связаны с циркадианными ритмами секреции мелатонина.

Такова общая картина взаимосвязи репродуктивной функции биогенных аминов и мелатонина. Наши собственные исследования в этом направлении показали, что введение животным мелатонина не приводит к восстановлению суточной динамики исследуемых показателей в гипоталамусе. Оказалось, что экзогенный мелатонин, независимо от времени введения (утро или вечер), вызывает резкое снижение содержания гонадолиберина в преоптической области и срединном возвышении, на фоне которого практически не проявляются эффекты ксенобиотиков, в частности ДМГ (рис. 5). Наряду с этим было обнаружено, что под влиянием мелатонина наблюдается нарушение суточных ритмов биогенных аминов и АФК, причем более выраженное по сравнению с действием нейротоксических соединений (толуол, ДМГ) [7].

Установлено, что потребление мелатонина в вечерние и ночные часы приводит к синхронизации циркадианных ритмов в супрахиазматических ядрах (или по крайней мере не вызывает их десинхронизацию) [17]. Обнаруженное нами значительное снижение под действием мелатонина содержания гонадолиберина в преоптической области и срединном возвышении свидетельствуют о сильном ингибирующем влиянии гормона на репродуктивную систему взрослых самок крыс. В то время, как антигонадотропный эффект гормона эпифиза наблюдался у неполовозрелых самок и самцов крыс, у взрослых особей сильного эф-

фекта мелатонина на репродуктивную систему ранее отмечено не было [25]. Потребление гормона в утренние часы, когда не наблюдается чувствительности супрахиазматических ядер к воздействию мелатонина, в проведенных экспериментах вызывало такой же эффект, что и вечернее его введение. Это служит еще одним подтверждением того, что воздействие мелатонина на гипоталамические механизмы регуляции синтеза и секреции гонадолиберина осуществляется не через его влияние на супрахиазматические ядра гипоталамуса.

Неожиданной особенностью воздействия гормона эпифиза, являющегося сильным антиоксидантом, явилось повышение после его потребления уровня свободнорадикальных процессов в гипоталамусе самок крыс. Индукция под воздействием мелатонина генерации АФК в гипоталамусе могла явиться следствием активации различных биохимических реакций, сопровождающихся образованием свободных радикалов, в том числе процессов синтеза и метаболизма биогенных аминов. Таким образом, полученные нами результаты

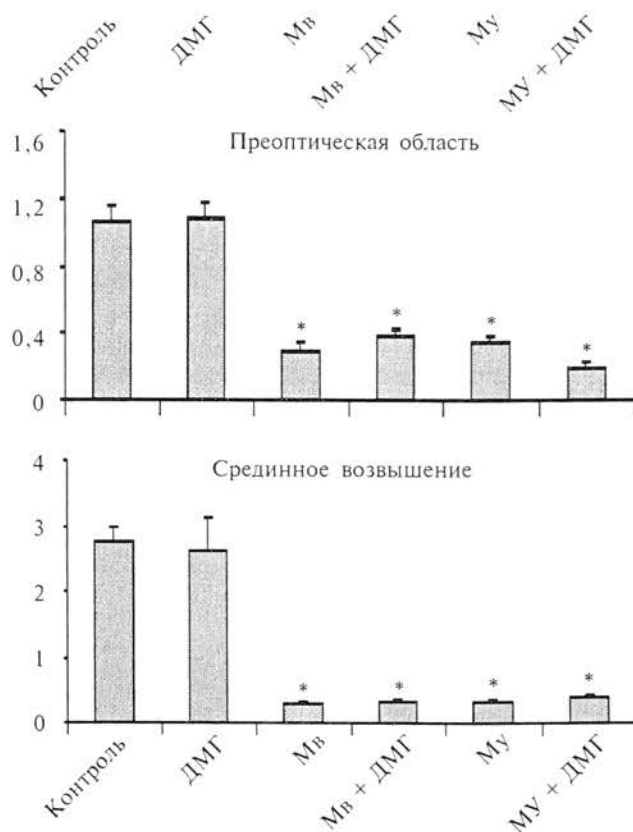


Рис. 5. Влияние хронического потребления мелатонина и однократного введения ДМГ на содержание гонадолиберина в преоптической области и срединном возвышении гипоталамуса самок крыс (нг/структуру,  $M \pm m$ ,  $n = 8-10$ )

Mv, Mu — вечернее и утреннее потребление мелатонина; Mv+DMG, Mu+DMG — введение ДМГ на фоне вечернего и утреннего приема мелатонина;

\* —  $p < 0,001$  по сравнению с контролем (*t*-тест).

свидетельствуют о малоизученных сторонах негативного воздействия экзогенно вводимого мелатонина на гипоталамическое звено регуляции репродуктивной функции. Они соответствуют описанным в литературе клиническим данным о подавлении продукции гонадотропинов у женщин после приема в дневное время мелатонина и сезонном ановуляторном синдроме в арктической зоне, связанном с высоким дневным уровнем содержания мелатонина [6].

Показано, что эффекты мелатонина, опосредуемые через его рецепторы, сильно зависят от амплитуды ночного пика секреции гормона, а также от продолжительности его повышенного содержания в крови на протяжении суток [4]. Любое отклонение от нормальных физиологических значений вышеуказанных показателей может привести к нежелательным последствиям. Использование экзогенного введения мелатонина в условиях недостаточной функции эпифиза, что наблюдается при старении и при различных заболеваниях, приводит к положительным результатам за счет восстановления нормального уровня гормона в крови [18].

Приведенные факты дают основание полагать, что применение этого гормона на фоне нормального уровня его синтеза может повлечь ряд негативных последствий в результате повышения содержания мелатонина в крови по сравнению с его физиологическим уровнем.

### Литература

1. Айламазян Э. К. Показатели репродуктивного здоровья женщины в системе экологической экспертизы и биомониторинга окружающей среды// Медицина и экология, 1991. — С. 39–43.
2. Айламазян Э. К. Репродуктивное здоровье женщины как критерий биоэкологической диагностики и контроля окружающей среды//Журн. акуш. и женских болезней. — 1997. — № 1. — С. 6–10.
3. Арутюнян А. В., Степанов М. Г., Корневский А. В. Нарушение нейромедиаторного звена гипоталамической регуляции репродуктивной функции под влиянием нейротоксических ксенобиотиков//Нейрохимия, 1998. — Т. 15. — № 4. — С. 264–270.
4. Комаров Ф. И., Малиновская Н. К., Рапопорт С. И. Мелатонин и биоритмы организма//Хронобиология и хрономедицина/Комаров Ф. И., Рапопорт С. И., ред. М.: Триада-Х, 2000. — С. 82–90.
5. Степанов М. Г. Циркадианный ритм колебаний уровня гонадолиберина в гипоталамусе крыс и влияние на него различных ксенобиотиков// Физиол. журн. — 1994. — Т. 80. — № 4. — С. 12–16.
6. Arendt J. Safety of melatonin in long-term use?//J. Biol. Rhythms, 1997. — Vol. 12. — P. 673–689.
7. Arutjunyan A. V., Kerkeshko G. O., Anisimov V. N., Stepanov M. G., Prokopenko V. M., Pozdeyev N. V., Korenevsky A. V. Disturbances of diurnal rhythms of biogenic amines contents in hypothalamic nuclei as an evidence of neurotropic effects of enterotropic carcinogen 1, 2-dimethylhydrazine//Neuroendocrinology Letters, 2001. — Vol. 22. — P. 229–237.
8. Arutjunyan A. V., Stepanov M. G., Korenevsky A. V., Prokopenko V. M., Oparina T. I. The disturbances of the circadian rhythm hypothalamic regulation in female rats under the influence of xenobiotics//Neurochemistry: Molecular, Cellular and Clinical Aspects/Eds Teelken A and Korf J. N. Y.: Plenum Press, 1997. — P. 529–534.
9. Cassone V. M., Warren W. S., Brooks D. S., Lu J. Melatonin, the pineal gland, and circadian rhythms//J. Biol. Rhythms. — 1993. — Vol. 8. (Suppl.). — P. S73–81.
10. Diaz E., Fernandez C., Castrillon P. O., Esquifino A. I., Marin B., Diaz Lopez B. Effect of exogenous melatonin on neuroendocrine-reproductive function of middle-aged female rats//J. Reprod. Fert., 1999. — Vol. 117. — N 2. — P. 331–337.
11. Herbison A. E. Multimodal influence of estrogen upon gonadotropin-releasing hormone neurons//Endocrine Rev. — 1998. — Vol. 19. — № 3. — P. 302–330.
12. Horvath T. L. Suprachiasmatic efferents avoid plexified capillaries but innervate neuroendocrine cells, including those producing dopamine//Endocrinology. — 1997. — Vol. 138 — N 3. — P. 1312–1320.
13. Kalsbeek A., Buijs R. M. Output pathways of the mammalian suprachiasmatic nucleus: coding circadian time by transmitter selection and specific targeting//Cell Tissue Res. — 2002. — Vol. 309 — N 1. — P.109–118.
14. Kerkeshko G. O. The diurnal rhythms of biogenic amines in hypothalamic structures and their possible role in regulation of estrous cycle in rats//54. Mosbacher Kolloquium «The rhythm of life: molecular mechanisms of circadian clock»/Abstract booklet. Mosbach, 2001. — P. 33.
15. Palm I. F., van der Beek E. M., Wiegant V. M., Buijs R. M., Kalsbeek A. The stimulatory effect of vasopressin on the luteinizing hormone surge in ovariectomized, estradiol-treated rats is time-dependent// Brain Res. — 2001. — Vol. 901. — N 1–2. — P. 109–116.
16. Pau K. Y., Lee C. J., Cowles A., Yang S. P., Hess D. L., Spies H. G. Possible involvement of norepinephrine transporter activity in the pulsatility of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone release: influence of the gonad//J. Neuroendocrinol. — 1998. — Vol. 10. — N 1. — P. 21–29.
17. Pevet P., Bothorel B., Slotten H., Saboureaux M. The chronobiotic properties of melatonin//Cell Tissue Res. — 2002. — Vol. 309 — N 1. — P. 183–191.
18. Pierpaoli W., Bulian D., Dall'Ara A., Marchetti B., Gallo F., Morale M. C., Tirole C., Testa N. Circadian melatonin and young-to-old pineal grafting postpone aging and maintain juvenile conditions of reproductive functions in mice and rats//Exp. Gerontol., 1997. — Vol. 32. — N 4–5. — P. 587–602.
19. Rasmussen D. D. The interaction between mediobasohypothalamic gonadotropin-releasing hormone release by melatonin in vitro//J. Endocrinol. Invest. — 1993. — Vol. 16. — N 1. — P. 1–7.
20. Roy D., Angelini N. L., Fujieda H., Brown G. M., Belsham D. D. Cyclical regulation of gnRH gene expression in gt 1–7 gnRH-secreting neurons by melatonin// Endocrinology, 2001. — Vol. 142. — N 11. — P. 4711–4720.
21. Sarkar D. K., Minami S. Diurnal variation in luteinizing hormone-releasing hormone and beta-endorphin release in pituitary portal plasma during the rat estrous cycle//Biol. Reprod. — 1995. — Vol. 53 — N 1. — P. 38–45.
22. Schulz J. B., Lindenau J., Scyfried J., Dichgans J. Glutathione, oxidative stress and neurodegeneration//Eur. J. Biochem. — 2000. — Vol. 267. — P. 4904–4911.
23. van der Beek E. M. Circadian control of reproduction in the female rat//Prog. Brain Res. — 1996. — Vol. 111. — P. 295–320.
24. van Esseveldt K. E., Lehman M. N., Boer G. J. The suprachiasmatic nucleus and the circadian time-keeping system revisited//Brain Res. Rev. — 2000. — Vol. 33 — N 1. — P. 34–77.
25. Vanecek J. Cellular mechanisms of melatonin action// Physiol. Rev. — 1998. — Vol. 78. — P. 687–721.



## DISTURBANCES OF HYPOTHALAMIC REGULATION OF REPRODUCTION UNDER THE INFLUENCE OF NEUROTOXIC COMPOUNDS AND MELATONIN\*

\* Supported by RFBR grant 00-04-48967.

Arutjunyan A. V., Stepanov M G., Kerkeshko G. O., Ailamazyan E. K.

■ **The summary:** Diurnal rhythms of the contents of biogenic amines in the hypothalamus are considered to play an important role in regulation of many functions such as motor activity, feeding behaviour, sleep-awake cycle formation as well as hormonal and immune statuses. Mechanisms of regulation of reproduction that participate in a circadian signal transmission from the suprachiasmatic nuclei (SCN) of the hypothalamus to hypothalamic structures responsible for gonadoliberein (GnRH) synthesis and secretion (the preoptic area – PA, and the medial eminence – ME) are at present being intensively studied. It has been shown that the aging caused disturbances of estrous cycles in female rats are accompanied by a disappearance of diurnal rhythms of activity of monoaminergic and opioid hypothalamic systems playing a key role in regulation of GnRH synthesis and secretion.

The experiments carried out have revealed diurnal rhythms of the contents of the studied biogenic amines in the PA, ME and SCN of the hypothalamus. The rhythms are due to the amines increasing in the morning hours when compared to their evening and night levels. The neurotoxic compounds used disturbed the rhythms of the amines. Chronic inhalation of toluene caused a disappearance of the dynamics of all the studied neurotransmitters that was typical of the control group. Meanwhile, a single administration of 1,2-dimethylhydrazine resulted in either a complete disappearance of the diurnal rhythms of the biogenic amines contents found in control, or their phase shifts. Severe disturbances of the GnRH content and of the ROS diurnal dynamics were also observed in the studied hypothalamic areas.

The literature allowed supposition that melatonin possessing entraining and antioxidant properties can be used as a protector of disturbances of central mechanisms of regulation of reproduction. However, our experiments have shown that exogenous melatonin does not only eliminate the neurotoxic compounds caused disturbances of diurnal rhythms of the studied indices, but it itself causes deep changes in their dynamics. The effect of melatonin has been found to result in a significant decrease of the

catecholamines contents in all the studied hypothalamic structures, particularly of the norepinephrine content, that is accompanied by a profound decrease of the GnRH content and by a disturbance of the diurnal dynamics of reactive oxygen species (ROS) in the PA and ME. The effect of 1,2-dimethylhydrazine on the studied indices was less pronounced when compared to that of melatonin, whereas an injection of the xenobiotic on the background of the pineal gland hormone administration resulted in a predominant effect of the latter.

Both the data obtained and the literature review allow to offer a hypothesis for a possible mechanism of involvement of diurnal rhythms of biogenic amines in central regulation of reproduction. It is known that synthesis and secretion of endogenous opioid peptides in the mediobasal hypothalamus undergo diurnal oscillations with minimum in the morning and maximum in the evening and/or at night. The revealed diurnal rhythms of the biogenic amines contents had opposite oscillations. This fact allows a supposition that these rhythms are due to the opioid system activity changing. Both decreased endogenous opioids contents and simultaneously increased morning biogenic amines levels in proestrus can create a neurotransmitter background that is necessary for GnRH surge formation.

An evaluation of diurnal rhythms of the biogenic amines contents, GnRH and ROS in the studied hypothalamic structures can be used for an assessment of disturbances of central mechanisms of regulation of reproduction that are caused by other neurotoxic compounds or developed in some diseases and in aging when the functional activity of the pineal gland is altered. The data obtained testify to possible negative side effects of melatonin on hypothalamic regulation of reproduction in therapeutic use of the hormone. The effects of melatonin realized via its receptors are known to highly depend on amplitude of its nocturnal surge and on duration of its increased blood level during a day. Therefore administration of melatonin on the background of its normal synthesis can lead to a number of negative effects due to its increased blood level when compared to its physiological level. Elucidation of the exogenous melatonin caused disturbance of the studied diurnal rhythms of central regulation of reproduction is of great practical use in development of prophylactics helping to eliminate or decrease an effect of damaging factors in unfavourable environmental conditions.

■ **Key words:** hypothalamus, diurnal rhythms, gonadoliberein, biogenic amines, neurotoxicants, reproduction