

612.6
С137

О. Н. САВЧЕНКО

ГОРМОНЫ
ЯИЧНИКА

И

ГОНАДО-
ТРОПНЫЕ
ГОРМОНЫ

612.6

С 137

АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК СССР

О. Н. САВЧЕНКО

ГОРМОНЫ ЯИЧНИКА
И ГОНАДОТРОПНЫЕ
ГОРМОНЫ

Под редакцией
действительного члена АМН СССР
профессора В. Г. БАРАНОВА



ИЗДАТЕЛЬСТВО «МЕДИЦИНА» ЛЕНИНГРАДСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ

1967

В монографии приведены данные о физико-химических, биологических свойствах, биосинтезе и метаболизме гонадотропинов, эстрогенов и прогестерона, а также сведения о содержании этих гормонов в биологических жидкостях и тканях человека. Вопросы регуляции функции половых желез и продукции половых гормонов, а также методы их определения рассматриваются в 3 и 4 частях. Книга рассчитана на биохимиков, физиологов, патофизиологов, а также клиницистов (акушеров-гинекологов, эндокринологов, терапевтов, педиатров).

The monograph contains data on physico-chemical and biological properties, biosynthesis and metabolism of gonadotropins, estrogens and progesteron as well as information about their content in human fluids and tissue. Regulation mechanism of sexual function and production of sexual hormones and methods of hormonal determination are considered in chapters 3 and 4. The book is intended for biochemists, physiologists, pathophysiologists as well as for clinicists (gynecologists, endocrinologists, internists and pediatricians).

In dieser Monographie werden die Vorstellungen über die physiko-chemischen und biologischen Wirkungen der Gonadotropen, Oestrogenen und Progesteron sowie Angaben über die Hormonwerte im Blut, Harn und Gewebe des Menschen berichtet. Die Vorstellungen über die Steuerung des Sexualfunktion und Produktion des Sexualhormones und Methoden ihrer Bestimmungen werden in den 3. und 4. Teilen berichtet. Diese Monographie ist für Biochemiker, Physiologen, Pathophysiologen und für Kliniker (Frauenärzte, Endokrinologen, Internisten, Kinderärzte) vorausbestimmt.

Издание одобрено и рекомендовано к печати редакционно-издательским советом Академии медицинских наук СССР

ПРЕДИСЛОВИЕ

В течение последнего десятилетия появилось много новых данных о путях биосинтеза и метаболизма эстрогенов и прогестерона, разработаны более совершенные методы определения эстрогенных гормонов, прогестерона и их метаболитов и созданы новые представления о центральной нервной регуляции гонадотропных гормонов, обеспечивающей циклическую их секрецию и циклическую деятельность яичников. Достижения последнего времени обеспечили также создание современных представлений о физиологии яичников — овуляторной и гормональной их функции, о продукции эстрогенов и прогестерона корой надпочечников. Без знания этих процессов нельзя понять пути возрастного становления и угасания деятельности половых желез и становление и угасание репродуктивной функции организма, нельзя

также уточнить особенности изменения функции яичников, центральной нервной и гипофизарной их регуляции, а также эстрогенопродуцирующей функции коры надпочечников при патологических процессах. Знание физиологии функции яичников необходимо для понимания многих сторон патогенеза ряда заболеваний, их диагностики и лечения.

Монография О. Н. Савченко, посвященная гонадотропным и половым гормонам, дает обобщение отечественной и зарубежной литературы по затрагиваемым в ней вопросам. В этой монографии отражена также личная точка зрения автора, много работавшего в области определения эстрогенов и изучения регуляции их продукции при различных физиологических и патологических состояниях. Эта монография будет полезна физиологам, патофизиологам, а также клиницистам различных специальностей — терапевтам, акушерам-гинекологам, эндокринологам, педиатрам и другим специалистам.

Действ. чл. АМН СССР
проф. В. Г. Баранов

ЧАСТЬ I. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА, БИОСИНТЕЗ И МЕТАБОЛИЗМ ГОНАДОТРОПИНОВ, ЭСТРОГЕНОВ, ПРОГЕСТЕРОНА

ГОНАДОТРОПИНЫ

Роль гипофиза в стимуляции деятельности гонад была показана еще в 1912 г. в опытах с его экстирпацией у собак, у которых при этом наблюдалась атрофия яичников и семенников, а также вторичных половых признаков [234, 465]. В 1926 г. Smith [1300] показал, что введение экстракта гипофиза неполовозрелым крысам приводит к ускоренному развитию половых органов и появлению эструса. Одновременно с ним Zondek [1508] наблюдал подобное же явление у неполовозрелых мышей при подсадке им ткани передней доли гипофиза коров. В дальнейшем исследования Цондека внесли очень многое в понимание природы и характера действия активного начала гипофиза, которое было названо гонадотропным гормоном.

Вскоре после открытия гонадотропинов они уже были выделены из гипофиза [600] в виде белковых препаратов, причем было показано, что имеется два гонадотропных фактора. Один из них стимулировал развитие фолликулов и потому получил название фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), другой вызывал лютеинизацию зрелых фолликулов и потому был назван лютеинизирующим гормоном (ЛГ).

К числу гонадотропных гормонов гипофиза относят также и лютеотропный гормон (ЛТГ). Этот гормон был

открыт давно, но вначале было известно лишь его лакто-тропное действие [455, 1177]. Лишь дальнейшие исследования установили, что этот гормон у некоторых видов животных необходим для поддержания существования и активности желтого тела [499, 582, 239, 509].

Кроме гипофизарных, существуют еще гонадотропны другого происхождения, вырабатываемые у беременных животных и людей. К ним относятся: хорионический гонадотропин (ХГ) и гормон сыворотки жеребых кобыл (СЖК).

ФОЛЛИКУЛОСТИМУЛИРУЮЩИЙ ГОРМОН
(ФСГ; ПРОЛАН А; ТИЛАКЕНТРИН) И ЛЮТЕИНИЗИРУЮЩИЙ
ГОРМОН (ЛГ, ГОРМОН, СТИМУЛИРУЮЩИЙ ИНТЕРСТИЦИАЛЬНЫЕ
КЛЕТКИ, — ГСИК; ПРОЛАН Б; МЕТАКЕНТРИН)

Физико-химические свойства

После открытия Fevold и др. [600] двух гонадотропных факторов в препаратах из гипофиза много работ было посвящено разделению ФСГ и ЛГ в экстрактах гипофиза, способам их очистки, описанию их физико-химических и биологических свойств.

Получаемые вначале препараты ФСГ содержали довольно значительную примесь ЛГ [581, 951, 1414, 953, 650], хотя по некоторым физико-химическим константам они были гомогенны (константа диффузии, седиментации, электрофоретические показатели).

В настоящее время при комбинации многих способов очистки гонадотропинов стали получать более очищенные препараты, содержащие лишь небольшую примесь ЛГ, но препаратов ФСГ, полностью лишенных примеси ЛГ, получить не удалось [225]. Это относится к препаратам как из гипофизов животных [557, 1347, 1166], так и из гипофизов человека [1271, 411].

Используя комбинацию методов очистки ФСГ на карбоксиметилцеллюлозе, диэтиламиноэтилцеллюлозе и электрофорез в крахмальном геле, Butt и др. [409, 408], Wolf [1482], Ely и др. [562] получили настоящие препараты, что с их помощью удалось получить специфические антисыворотки, титр которых лишь немного снижался при адсорбции хорионическим гонадо-

тропином, что указывало на очень незначительную примесь ЛГ.

Ряд авторов выделил из гипофизов животных препараты ЛГ, совершенно не обладающие ФСГ-активностью [1347, 1450, 1163]. Высокоочищенные препараты ЛГ, почти совсем лишённые ФСГ-активности, были получены также и из гипофизов человека [1347, 953, 731, 1165, 1166]. Однако даже наиболее очищенный из существующих до сих пор препаратов ЛГ из гипофизов человека, полученный Reichert и др. [1166], все же имел некоторую ФСГ-активность. Поэтому авторы считают, что проблема получения «истинно биологически чистого» ЛГ еще не может считаться решенной.

Трудности получения достаточно чистых препаратов ФСГ и ЛГ привели некоторых авторов к выводу, что не существует двух отдельных гормонов — ФСГ и ЛГ, а что это единый гормон с различными активностями. Такая точка зрения была высказана Frank (цит. по [1512]) на заре изучения гонадотропных препаратов (в 1932 г.), но она поддерживается и до настоящего времени некоторыми авторами [1000, 1179, 746]. Однако неотделимость примеси ЛГ от ФСГ даже при использовании современных методов очистки может объясняться еще и тем, что оба эти гормона имеют некоторую общность в строении и чередовании аминокислот, что и обеспечивает некоторое сходство их свойств.

В табл. I приводятся некоторые сведения о физико-химических константах и составе ряда препаратов ФСГ и ЛГ. Как ФСГ, так и ЛГ являются глюкопротеидами, причем углеводный компонент является необходимым для проявления их биологической активности, так как при обработке препаратов ферментом такадиастазой, отщепляющим углеводный компонент, биологическая активность исчезает.

Gröschel и Li [697] в препаратах ФСГ и ЛГ из гипофизов человека и овец обнаружили, кроме других углеводов, также и сialовую кислоту, содержание которой в ФСГ было значительно выше, чем в ЛГ. В дальнейшем было показано, что сialовая (нейрамниновая) кислота является необходимым компонентом для сохранения биологической активности ФСГ, но не ЛГ, так как при обработке ферментом нейрамнидазой, отщепляющей

Таблица 1

Физико-химические свойства ФСГ и ЛГ,
полученных из гипофизов человека и животных

Физико-химические константы	ФСГ			ЛГ		
	овечий (Li и др., цит. по [837])	свиной (Steelman и др. [1347])	человека (Segaloff и др. [1271])	овечий (Squire и др. [1336])	свиной (Li и др., цит. по [837])	человека (Li и др. [953, 1337])
Молекулярный вес	{67 000 130 000	29 000	30 000	30 000 25 000— 33 000 ⁺	100 000 25 000— 33 000 ⁺	30 000 25 000— 33 000 ⁺
Константа диффузии	$6 \cdot 10^{-7}$	$7,43 \cdot 10^{-7}$	—	$7,54 \cdot 10^{-7}$	$5,9 \cdot 10^{-7}$	—
Константа седиментации	4,7	2,49	—	2,47	5,4	—
Изоэлектрическая точка . . .	4,5	5,1—5,2	—	7,3	7,45	—
Аминокислоты (% от веса)	85,9	80,7	—	—	—	—
Углеводы (% от веса)	2,74	7,4	—	10,3	5,0	4,38 ⁺⁺
Гексоза ⁺⁺⁺	2,30	—	2,10	3,23	—	1,12
Фукоза ⁺⁺⁺	0,43	—	0,45	0,74	—	0,35
Гексозамин ⁺⁺⁺	3,55	—	2,80	6,26	—	1,95
Сиаловая кислота ⁺⁺⁺	2,44	—	1,89	0,80	—	0,86

Примечание. ⁺ — данные из работы Reichert и Jiang [1168];
⁺⁺ — выражено в мг на 100 г белка; ⁺⁺⁺ — данные по составу углеводов приведены из работы Gröschel и Li [697] и выражены в мг на 100 г белка.

сиаловую кислоту, биологическое действие ФСГ исчезает почти полностью, а ЛГ не изменяется [559, 697, 195].

Характерной особенностью ФСГ, получаемого из разных источников, является высокое содержание цистинистеина (6,5%). Для проявления биологической активности как ФСГ, так и ЛГ необходимо наличие дисуль-

фидных связей ($-S-S-$), так как при обработке препаратов цистеином их биологическая активность сильно снижается [634]. Потеря биологической активности ФСГ и ЛГ наблюдается также и при окислении периодатом [655]. В то же время ЛГ является значительно более лабильным, чем ФСГ. Его биологическая активность разрушается очень многими агентами, которые еще не разрушают ФСГ: протеолитическими ферментами [1347, 1348], тиомочевинной [1260]. Это может указывать на то, что для биологического действия ЛГ особенно важно сохранение вторичной и третичной структуры белковой молекулы, которая разрушается указанными агентами.

При детальном изучении свойств высокоочищенных препаратов как ФСГ, так и ЛГ оказалось, что они не являются гомогенными. При хроматографии ЛГ на карбоксиметилцеллюлозе Ward и др. [1450] обнаружили две фракции, каждая из которых обладала биологической активностью. Julisz и др. [842] получили пять биологически активных фракций ЛГ. При использовании электрофореза в крахмальном геле Fergusson и др. [598] обнаружили 5 биологически активных фракций ЛГ и 5 фракций ФСГ. По их мнению, часть из них является, вероятно, артефактами, возникшими в процессе очистки, но часть фракций, несомненно, отражает гетерогенность строения этих гормонов в гипофизе. Возможно, гетерогенность препаратов гипофиза отражает различные этапы их синтеза, а может быть, наоборот, деградации. Возможно, что различные фракции ФСГ и ЛГ имеют несколько разное биологическое действие и в организме могут нести не вполне сходную функцию, но эти вопросы пока остаются нерешенными.

В свете этих данных гетерогенность высокоочищенных препаратов ФСГ и ЛГ, определяемая при электрофорезе или по выявлению нескольких полос преципитации при иммунологических реакциях, уже не может рассматриваться как признак их загрязнения какими-то примесями. По-видимому, в некоторой степени и физико-химические константы для препаратов ФСГ и ЛГ, приведенные выше, являются условными, так как ввиду их гетерогенности различные фракции ФСГ и ЛГ будут иметь несколько отличные друг от друга физико-химические свойства.

Биологическое действие

Одним из очень распространенных приемов изучения биологического действия гонадотропных гормонов является их испытание на гипофизэктомированных животных. При этом решающее значение имеет чистота препарата. Испытывавшиеся вначале препараты ФСГ и ЛГ не были достаточно чистыми, и при исследовании их биологического действия были сделаны не вполне правильные заключения, приводимые ниже.

Считалось, что чистый ФСГ у самок вызывает лишь развитие фолликулов, превращая их в большие зрелые графовы пузырьки, но не может вызвать овуляции. Полагали также, что чистый ФСГ не приводит к секреции эстрогенов, поэтому под влиянием ФСГ не может происходить увеличения веса матки, а наблюдается только увеличение веса яичников и что ФСГ не может поддерживать жизнеспособности интерстициальных клеток в яичниках, поэтому у гипофизэктомированных животных наступает их атрофия, которая не снимается введением ФСГ [694, 1430, 1432]. Специфическое действие ЛГ у самок сводили к вызыванию овуляции, а также к поддержанию активности интерстициальной ткани в яичниках.

Однако когда были получены препараты ФСГ с минимальной примесью ЛГ, а препараты ЛГ, почти полностью лишены ФСГ-активности, то было установлено, что развитие фолликулов обусловлено совместным действием ФСГ и ЛГ, а овуляция не вызывается специфическим действием только ЛГ, а может явиться результатом действия и ФСГ, даже содержащим минимальное количество ЛГ, при наличии нормально развитого фолликула [427].

О том, что овуляция правильно развитого фолликула может вызываться и ФСГ, свидетельствуют опыты Döbner [539], в которых показано, что при персистирующем эструсе у крыс введение ФСГ приводит к овуляции. Автор приходит к выводу, что и ФСГ является «овуляционным гормоном».

В последнее время получил распространение новый прием испытания биологической активности гонадотропинов — введение ФСГ совместно с антисывороткой к ЛГ. Таким образом, уничтожается влияние даже следов ЛГ в препарате ФСГ. При этом было обнаружено, что вве-

дение чистого ФСГ (без влияния минимальных примесей ЛГ) не вызывает даже увеличения веса яичников, в которых почти полностью отсутствовали при этом рост и развитие фолликулов [320, 1318].

Поскольку сейчас показано, что ЛГ не является специфическим овуляционным гормоном, то само название «лютеинизирующий гормон» не является точным. Многие авторы предпочитают называть его гормоном, стимулирующим интерстициальные клетки (ГСИК), так как это наиболее постоянное его действие, проявляющееся у самок и у самцов. Некоторые авторы, правда, приводят соображения в пользу того, что ЛГ и ГСИК являются разными гормонами, так как в некоторых условиях, например при парабиозе кастрированных самцов с нормальными самками, происходит сохранение интерстициальных клеток в яичниках, но не происходит овуляции, несмотря на наличие развитых больших фолликулов [1379]. Однако эта точка зрения не находит широкого признания, так как в большинстве случаев ЛГ и ГСИК-эффекты проявляются одновременно.

Секреция эстрогенов яичниками, о чем у животных судят по увеличению веса матки, является следствием совместного действия ФСГ и ЛГ [599, 694, 1430, 1474, 901].

Секреция прогестерона яичниками у крыс осуществляется под воздействием лютеотропного гормона (ЛТГ), на чем и основан метод его определения по появлению децидуальных изменений в травмированной матке [238, 901]. Но у большинства других видов животных ЛТГ не вызывает секреции прогестерона желтым телом. Существовало мнение о необходимости совместного действия ЛГ и ЛТГ для секреции прогестерона [1430]. Но данные последних лет показывают, что секреция прогестерона у многих животных — кроликов [865, 738, 1222], свиней [345], собак [1393, 1394, 1395] — происходит под влиянием одного ЛГ (причем применялись достаточно очищенные его препараты, не содержащие примесей ЛТГ) или хорионического гонадотропина (ХГ). У людей активность желтого тела также можно поддерживать одним лишь введением ХГ. Способность очищенного препарата ЛГ из гипофизов овец увеличивать синтез прогестерона срезами желтого тела коров была показана также и при добавлении ЛГ к инкубационной среде в опытах *in vitro* [1248].

Теперь рассмотрим данные о влиянии гонадотропинов на семенники. У самцов так же, как и у самок, стимуляция интерстициальной ткани в семенниках осуществляется лишь под воздействием ЛГ, а ФСГ не обладает таким влиянием. Поэтому после гипофизэктомии при введении только одного ФСГ клетки Лейдига атрофируются, секреции андрогенов не происходит, вследствие чего атрофируются предстательная железа и семенные пузырьки. Ранее считалось [692, 1430], что при введении только ФСГ сперматогенез сохраняется. Полагали, что ЛГ у самцов вызывает секрецию андрогенов интерстициальной тканью, поэтому под влиянием ЛГ восстанавливаются вес добавочных половых органов — простаты, семенных пузырьков [692, 694, 1430, 1159], на чем и был основан широко применявшийся метод определения ЛГ по увеличению веса передней доли простаты у гипофизэктомированных крыс. У мужчин хорионический гонадотропин, действие которого приравнивалось к действию ЛГ, вызывал увеличение секреции андрогенов, о чем судили по увеличению выделения 17-кетостероидов с мочой.

Однако в свете последних данных влияние ФСГ и ЛГ на семенники также должно быть несколько пересмотрено. По данным Woods и др. [1485], очищенный ФСГ в дозах, в которых небольшая примесь ЛГ оказывается неэффективной, не способен восстановить и поддержать сперматогенез у гипофизэктомированных самцов крыс. Но при совместном действии с ЛГ даже значительно более низкие дозы ФСГ вызвали появление сперматогенеза у таких животных. Очень хорошо очищенный препарат ЛГ, хотя и поддерживал функцию интерстициальных клеток, но вызывал лишь слабое выделение андрогенов, которое значительно усиливалось при совместном действии ФСГ и ЛГ [977, 978]. Эти выводы были подтверждены Hayashida [735] в опытах с введенным крысам ФСГ совместно с антисывороткой к ЛГ. Такое воздействие приводило к уменьшению веса семенников, простаты и семенных пузырьков, следовательно, и к уменьшению секреции андрогенов, а также к полному прекращению сперматогенеза.

В работе Parkoff [1107], вопреки общепринятому мнению о том, что стимуляция секреции андрогенов в семенниках является функцией ЛГ, но не ФСГ, было показано, что очищенный препарат ФСГ с ничтожной при-

месью ЛГ обладал значительным стероидогенным действием. Примесь ЛГ была настолько мала, что сама по себе не могла вызвать такую продукцию андрогенов. Автор считает, что этот стероидогенный эффект является либо свойством самого ФСГ, либо следствием примеси какого-то другого гормона, но не ЛГ.

О синергическом действии гипофизарных гормонов ФСГ и ЛГ, а также гипофизарных гормонов и ХГ было известно давно [600, 581, 1293, 539]. Этот принцип лежит в основе ряда методов биологического тестирования гонадотропинов (увеличение веса матки, яичников). Но только в самое последнее время выяснилось, что в сущности почти все биологические эффекты гонадотропных гормонов — развитие фолликулов, овуляция, секреция эстрогенов, сперматогенез, секреция андрогенов — являются результатом синергического влияния ФСГ и ЛГ. Поэтому Nalbandou [1068] считает, что раздельное изучение очищенных препаратов ФСГ и ЛГ может иметь смысл лишь при анализе их химического строения, а при биологическом испытании следует учитывать, что в естественных условиях все органы реагируют лишь на комплекс ФСГ и ЛГ, но только в различных соотношениях.

Об интимном механизме действия гонадотропинов на половые железы почти ничего не известно. Имеются отрывочные сведения о биохимических изменениях в яичниках под влиянием гонадотропинов, но они настолько неполны, что не позволяют высказать никакой определенной гипотезы. Гонадотропины увеличивают вес яичников и, следовательно, синтез и обмен белков [105, 293], а также содержание РНК в яичниках [414]. Под влиянием гонадотропинов усиливается активность ряда ферментов, участвующих в процессах обмена энергии, а также в углеводном и белковом обмене — аденозинтрифосфотазы, сукциндегидразы, дегидразы изолимонной кислоты, фосфорилазы, трансминазы глутаминовой и щавелевоуксусной кислот [105, 548, 1223, 1342]. Известно, что ЛГ вызывает снижение содержания аскорбиновой кислоты в яичниках [1110, 1082, 619]. Строго параллельно падению аскорбиновой кислоты идет увеличение поглощения глюкозы тканью яичников [229, 436], что заставляет предположить наличие тесной связи между этими процессами. Одновременно с увеличением поглощения глюкозы идет накопление молочной кислоты в яичниках,

причем в анаэробных условиях способность ЛГ стимулировать накопление молочной кислоты в яичниках проявляется сильнее, чем в аэробных [228, 436]. Стимуляция образования молочной кислоты из глюкозы вызывается уже малыми дозами ЛГ [230]. В то же время ЛГ не увеличивает поглощения кислорода яичниками [201]. В работе Bell и др. [276] показано, что уже очень малые дозы ЛГ (в 5 млн. раз меньше, чем те, которые вызывают падение аскорбиновой кислоты в яичниках) приводят к значительному снижению содержания холестерина в яичниках. ФСГ не оказывает влияния на уровень ни холестерина, ни аскорбиновой кислоты, ни на поглощение глюкозы и кислорода яичниками крыс.

По данным Mc Kerks и др. [1032], гонадотропины увеличивают активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, тем самым активируя превращение глюкозо-6-фосфата через пентозо-фосфатный путь. В активации этого энзима, по мнению авторов, и заключается механизм действия гонадотропинов, что затем приводит к увеличению роста яичников и усилению стероидогенеза в них. Активный энзим, возможно, представляет собой комплекс предшественника энзима с гонадотропином.

Под влиянием ФСГ и ЛГ, а также СЖК и ХГ увеличивается активность ряда ферментов, участвующих в стероидогенезе, в частности такого важного фермента, как 3β -ол-стероиддегидрогеназы [1222, 1223].

Механизм действия ЛГ на усиление биосинтеза в семенниках заключается в том, что он усиливает $20\text{-}\alpha$ -гидроксилирование и отщепление боковой цепи от холестерина, способствуя превращению его в прегненолон [1037].

Подобное же влияние ЛГ, а возможно, и ФСГ оказывает на биосинтез стероидов в желтом теле [677], при этом авторы полагают, что гонадотропины имеют 2 точки приложения — кроме отщепления боковой цепи от холестерина и превращения его в прегненолон, они также усиливают образование прогестерона из прегненолона.

Клеточные структуры гипофиза, продуцирующие гонадотропины

Вопрос о клеточных структурах гипофиза, ответственных за образование и секрецию гонадотропных гормонов, явился предметом изучения многих исследователей.

Так, Severinghaus [1273] пришел к выводу, что базофилы ответственны за продукцию ФСГ, а ацидофилы — ЛГ. В дальнейших исследованиях было показано, что ацидофилы продуцируют лютеотропный гормон [263], а ФСГ и ЛГ образуются в базофилах [37, 586]. Кроме того, клетки, расположенные на периферии передней доли гипофиза, продуцируют или накапливают ФСГ, а клетки, расположенные в центральных зонах, — ЛГ [1148, 745].

При более дифференцированных методах окраски было установлено [591, 592], что базофильные клетки не являются однородными. Согласно классификации Ezrin [591, 592] в гипофизе можно различить следующие виды клеток: ацидофилы — альфа-клетки, продуцируют ЛТГ и соматотропный гормон; базофилы — бета₁-клетки, продуцируют меланоцитостимулирующий гормон и АКТГ, бета₂-клетки — продуцируют тиреотропный гормон, дельта₁-клетки — продуцируют ЛГ, дельта₂-клетки — продуцируют ФСГ; хромофобы — гамма-клетки, не продуцируют гормонов.

Правда, Ezrin указывает, что разделение на дельта₁- и дельта₂-клетки, продуцирующие ФСГ и ЛГ, не является окончательно установленным. Продукция гонадотропинов дельта-клетками была подтверждена в работе Kgasier и др. [903] прямым определением гонадотропинов в участках гипофиза, богатых и бедных дельта-клетками. Однако в работе Bahn и др. [255] не было получено полного соответствия между данными гистологического исследования гипофиза и содержанием гонадотропинов в нем. Так, по гистологической картине гипофизы постменопаузальных женщин не отличались от гипофизов лиц молодого возраста, а содержание гонадотропинов в них было резко увеличено. Некоторые авторы до сих пор придерживаются мнения, что в гипофизе нет специальных клеточных структур, ответственных за продукцию одного вида тропных гормонов [5, 98].

В ряде работ изучалось распределение гонадотропной активности в субклеточных структурах при центрифугировании гомогенатов гипофиза в сахарозе. При этом было показано, что ЛГ-активность обнаруживается в крупнозернистых гранулах, а ФСГ-активность распределяется по нескольким фракциям, хотя наибольшая активность определяется в надосадочной жидкости, и в мелкозернистых гранулах [1506, 383, 384, 385, 1048].

Метаболизм гонадотропных гормонов, гонадотропины в крови и в моче

Содержание гонадотропинов в крови даже после удаления гонад и наступления менопаузы не является высоким, поэтому еще не удалось их получить в достаточном количестве, чтобы можно было подвергнуть тщательной очистке и изучить их физико-химические свойства. Как уже упоминалось выше [598], в гипофизе существует гетерогенность как ФСГ, так и ЛГ. Существует ли такая гетерогенность гонадотропинов в крови — неизвестно.

Исследования по изучению ФСГ- и ЛГ-активностей в крови как у людей [223, 1021], так и у животных [1026, 1155, 797] проводились главным образом биологическими методами тестирования целой плазмы. Но в последнее время McArthur и др. [1021, 1022], фракционируя по методу Кона белки плазмы крови женщины, находящейся в постменопаузальном периоде, обнаружили, что ФСГ-активность сосредоточивается главным образом в V и VI фракциях (т. е. во фракциях альфа₁- и бета₂-глобулинов), а ЛГ-активность — во II и III фракциях (т. е. во фракциях альбуминов и бета₁-глобулинов). Однако это разделение было лишь частичным, так как и ФСГ и ЛГ обнаруживались во всех белковых фракциях, только в разном количестве.

Соотношение ФСГ- и ЛГ-активностей в гипофизе и в крови различается. В гипофизе относительное содержание ФСГ ниже, чем в крови. У крыс содержание ФСГ в гипофизе всего в 6—7 раз больше, чем ЛГ, а в крови в 93—115 раз [1114]. Чем объясняется эта разница — пока неизвестно. Она может быть следствием различной скорости секреции этих гормонов, поскольку выделение как ФСГ, так и ЛГ в кровь не является простой диффузией, а регулируется соответствующими гипоталамическими факторами. Но относительное преобладание ФСГ в крови по сравнению с гипофизом может быть следствием также разницы метаболизма ФСГ и ЛГ. Как было показано выше, ЛГ значительно более лабилен, чем ФСГ, и разрушается теми агентами, которые еще не разрушают ФСГ, в частности протеолитическими ферментами [1347, 1348]. Поэтому быстрое разрушение ЛГ в тканях и более быстрое исчезновение его из кровяного русла

может объяснить относительно более низкую его концентрацию в крови.

Гонадотропины относительно долго циркулируют в крови. Это показано С. М. Штамлером [176] в опытах с введением ХГ собакам и мерину, Kulungaga и др. [910], вводившим кроликам ХГ, меченый сульфанилхлоридом (что позволяло его флуорометрическое определение).

Apostalakis и др. [226] изучали содержание гонадотропинов в крови женщин, страдавших аменореей, при введении им внутримышечно человеческого гипофизарного гонадотропина. Через 24 ч после последней инъекции сохранялся еще высокий уровень (13—22 мг/100 мл), и лишь через 4 дня уровень гонадотропинов в плазме снизился до величины ниже чувствительности метода.

Гонадотропная активность у людей обнаруживается также и в моче. Эта особенность — наличие достаточно высокой, вполне измеримой активности гонадотропинов в моче — свойственна всем приматам. Положительная реакция на гонадотропины в моче была обнаружена у макак, причем в середине цикла активность увеличивалась. У здоровых женщин и мужчин репродуктивного возраста гонадотропная активность определяется уже в 1—2-часовых эквивалентах мочи, а при овариэктомии и после менопаузы — даже в 15—30-минутном эквиваленте.

При изучении почечного клиренса гонадотропинов у женщин после менопаузы Apostolakis и др. [224] обнаружили, что он равен 0,17—0,01 мл/мин. Почечный клиренс вычисляется по формуле:

Концентрация гонадотропинов \times объем мочи, экскретиремый
в минуту

Концентрация гонадотропинов в плазме

В среднем содержание гипофизарных гонадотропинов в плазме крови было в 6,4 раза выше, чем в моче (в расчете на концентрацию в мл). Следовательно, выделение гипофизарных гонадотропинов из плазмы крови в мочу происходит довольно медленно. Для ХГ почечный клиренс был значительно выше, а отношение концентрации его в плазме и моче было значительно ниже, следовательно, хорионический гонадотропин выводится почками гораздо быстрее, чем гипофизарные гонадотропины.

Johannisson и др. [826] при однократном внутримы-



шечном введении женщинам, страдавшим аменореей, гипофизарного ФСГ (с большой примесью ЛГ) показали, что выведение его с мочой продолжается 5—6 дней. По данным Apostolakis и др. [226], при внутримышечном введении гипофизарного человеческого гонадотропина с мочой выделяется в среднем 15% активности от введенной дозы.

После окончания введения экскреция гонадотропинов возвращается к исходному уровню только через 4 дня. Эти данные также свидетельствуют об относительно медленном выведении гипофизарных гонадотропинов с мочой.

Очистке мочевых метаболитов гипофизарных гонадотропинов, изучению их физико-химических и биологических свойств было посвящено большое количество исследований.

Впервые о получении ФСГ и ЛГ в виде отдельных препаратов из мочи сообщили Segaloff и др. [1270, 1271]. Последующие исследователи [209, 210, 528, 529] получали лишь препараты с относительным преобладанием ФСГ-активности, но не могли получить препаратов с преобладанием ЛГ-активности. В последнее время ФСГ и ЛГ из мочи мужчин и женщин (после наступления менопаузы) удалось отделить друг от друга при использовании диэтиламиноэтилцеллюлозы и карбоксиметилцеллюлозы [211, 220, 221, 1167]. Эти препараты также не были абсолютно чистыми, но содержали лишь небольшую примесь соответственно ФСГ или ЛГ.

По данным Butt [404], химический состав препарата гонадотропинов с преимущественным ФСГ-действием, полученного из мочи очисткой на трикальцийфосфате, применением электрофореза и противоточного распределения, был следующим (табл. 2).

Bougillon и др. [392] для препарата из мочи женщины в постменопаузальном периоде, полученного очисткой на пермутите и дауэкс-2, приводят несколько более высокий процент гексоз (13,5%) и гексозамина (10,5%), а также указывают на наличие 8,5% сиаловой кислоты.

По данным Klungsoög и др. [887], в состав гексоз в препаратах из мочи мужчин входили галактоза, манноза, причем согласно исследованиям Donini и др. [527] преобладала галактоза.

Химический состав препаратов, полученных одинаковым методом из мочи женщин после наступления мено-

Состав препарата гонадотропинов,
полученного от разных групп исследуемых

Группы исследуемых	Состав препарата гонадотропинов				Биологическая реакция на дозу, эквивалентную 50 мкг глицина
	гексоза в %	гексоза- мин в %	фруктоза в %	глицин в мкг/мг	
Женщины в постмено- паузе	5,0—7,4	4,8—6,2	0,3—0,8	32—46	Положи- тельная Отрица- тельная Отрица- тельная
Мужчины	6,7	7,3	0,2	30	
Дети	6,7	5,8	0,3	28	

паузы, детей и мужчин, был примерно одинаковым, несмотря на громадные различия биологической активности [404]. А. И. Минкина и О. Е. Дубов [106] также не нашли разницы физико-химических свойств препаратов, полученных из мочи девочек различного возраста и женщин, находящихся в постменопаузальном периоде, несмотря на резкое различие биологических свойств. В последующих работах А. И. Минкина [100, 101, 102, 103, 104, 105] при более детальном исследовании не нашла различия в химическом составе и иммунологических свойствах препаратов, полученных из мочи девочек, женщины репродуктивного возраста и постменопаузального периода. Такое совпадение химического состава и физико-химических свойств препаратов с совершенно разной биологической активностью не дает пока возможности использовать химический метод определения гонадотропинов для клинических целей. Это обстоятельство привело некоторых авторов к предположению о том, что, возможно, мукопротеиды одинакового состава являются общими для всех гонадотропинов носителями, а активное начало гонадотропинов имеет совсем другое строение [827, 830, 887]. А. И. Минкина также считает, что гонадотропины являются относительно низкомолекулярными веществами, так как во фракциях очищенных препаратов гонадотропинов, выделенных из мочи, обладающих ФСГ- и ЛГ-активностями, содержание белков было

невелико. Путем использования сефадекса Г-75 ей удалось выделить фракцию с ФСГ-активностью, которая оказалась веществом с относительно небольшим молекулярным весом.

Б. М. Завадовский [64, 65] давно поднимал вопрос о том, что в процессе метаболизма в организме гонадотропины подвергаются изменениям и что мочевые гонадотропины сильно отличаются от циркулирующих в крови и выделяемых гипофизом, однако доказать этого он не смог в силу ограниченности методических средств того времени. В последующем неоднократно проводилось сравнение физико-химических и биологических свойств препаратов из мочи и гипофиза. При этом отмечается, что мочевые гонадотропины имеют значительно более низкую активность, даже при весьма тщательной их очистке [1179, 102, 105]. По данным Rigas и др. [1179], физико-химические свойства мочевых и гипофизарных гонадотропных препаратов мало различались между собой, несмотря на громадное различие биологической активности. Steelman и др. [1347] обнаружили, что молекулярный вес ФСГ, полученных из мочи и из гипофизов человека, был примерно одинаковым (30 000), несмотря на большую разницу биологической активности.

В процессе метаболизма гонадотропинов в организме принимают участие многие органы, в частности печень. По данным Dasgupta и др. [482], в печени происходит инактивация гонадотропинов. Введение тиреоидных гормонов задерживает этот процесс, а тиреоидэктомия, наоборот, усиливает. Неоднократно выдвигалась гипотеза о том, что гонадотропины в процессе действия на яичники подвергаются инактивации, но это положение до настоящего времени еще не доказано.

ЛЮТЕОТРОПНЫЙ ГОРМОН (ЛТГ; ЛАКТОГЕННЫЙ ГОРМОН; ЛАКТОТРОПНЫЙ ГОРМОН, ПРОЛАКТИН)

Еще в 1930 г. Corner [455] показал, что введение экстракта гипофиза непарным самкам кроликов вызывает у них сильную пролиферацию молочных желез и лактацию.

В очищенном виде лактогенный гормон из гипофизов был выделен Riddle и др. [1177]. Было показано, что он стимулирует развитие молочных желез и лактацию у

млекопитающих и развитие зоба у птиц [1178]. Гормон был назван пролактином.

В опытах на крысах Astwood [238] показал, что пролактин поддерживает функциональную активность желтых тел. Примененный им пролактин из овечьих гипофизов был лишен ФСГ- и ЛГ-активностей, но разделить лютеотропную и лактотропную активность не удавалось. Поэтому Astwood [238] предположил, что это один и тот же гормон. Evans и др. [582] также показали, что именно пролактин поддерживает активность желтых тел у крыс. В дальнейшем было полностью доказано, что маммотропная, лактотропная и лютеотропная активность у крыс связаны с одним и тем же гормоном [239, 509]. На этом основании пролактин стали считать третьим гонадотропным гормоном — лютеотропным. Но в дальнейшем было обнаружено, что у многих животных и у человека пролактин не способен поддерживать морфологическую структуру и функциональную активность желтых тел.

Hisaw (цит. по [817]), Bradbury и др. [326] показали это у женщин и обезьян, Armstrong и др. (цит. по [865]) — у коров, Kilpatrick и др. [865], Renni и др. [1172] — у гипофизэктомированных кроликов. Telegdy и др. [1394] не смогли выявить прогестерон в вене яичников лактирующих собак. Еще в 1937 г. Foster [620] показал, что у гипофизэктомированных кроликов активность желтых тел может поддерживаться лютеинизирующим гормоном. Эти опыты были проведены с недостаточно очищенным препаратом, но в 1964 г. Kilpatrick и др. [865] подтвердили это наблюдение, применив высокоочищенный препарат ЛГ из гипофизов овец. Brinkley и др. [345] обнаружили, что для поддержания активности желтого тела достаточно одной инъекции хорионического гонадотропина, приводящей к овуляции. В дальнейшем для нормального существования и функционирования желтого тела в течение цикла больше не потребовалось никакой дополнительной стимуляции. Эти исследования заставляют сомневаться в том, действительно ли для функции желтых тел нужен третий гонадотропин — лютеотропин. Показано, что если и нужна какая-то лютеотропная стимуляция, то у большинства животных она осуществляется не пролактином.

По данным Li [951], лютеотропин из гипофизов овец имеет следующие физико-химические константы и химический состав: изоэлектрическая точка pI — 5,73; константа диффузии — 9×10^{-7} молекулярный вес — 24 200 — 32 000, аминокислотный состав: аланин 4,33%, аргинин — 7,95%, цистин — 2,99%, аспарагиновая кислота — 10,50%, глутаминовая кислота — 13,43%, глицин — 3,74%, гистидин — 4,51%, лейцин-изолейцин — 20,15%, лизин — 6,07%, метионин — 4,33%, фенилаланин — 5,48%, пролин — 6,69%, серин — 7,85%, треонин — 5,44%, валин — 5,83%, тирозин — 5,26%, триптофан — 1,69%.

В противоположность другим гонадотропным гормонам ЛТГ не содержит в своем составе сахаров и, следовательно, не является глюкопротеидом. Он является протеидом, состоящим из единой полипептидной цепи с петлями, образованными дисульфидными мостиками в С-концевых группах, которые имеют следующее чередование аминокислот: тирозин — лейцин — аспарагиновая кислота (NH_2) — цистин — SH. В N-концевых группах последовательность чередования аминокислот другая: тирозин — пролин — валин — тирозин — пролин [447, 951, 954]. Восстановление дисульфидных связей концевых остатков приводит к потере биологической активности пролактина [954]. Для проявления активности пролактина необходимо также наличие свободных аминогрупп, так как реагенты, связывающие аминогруппы, приводят к потере биологической активности. Йодирование также приводит к инактивации гормона, следовательно, для его активности необходимо наличие свободных групп тирозина. Потеря биологической активности наблюдается и при обработке гормона пепсином или трипсином.

В 1938 г. для измерения активности ЛТГ была введена международная единица и стандартный его препарат. 1 международная единица (МЕ) равна активности 0,1 мг стандартного препарата.

ХОРИОНИЧЕСКИЙ ГОНАДОТРОПИН (ХГ, ХОРИАЛЬНЫЙ ГОНАДОТРОПИН, ХОРИОН-ГОНАДОТРОПИН)

В 1927 г. Aschheim и др. [232] в моче беременных женщин, а Murata и др. [1063] в крови беременных женщин обнаружили высокую гонадотропную активность. А. Н. Егоров [61] также подтвердил наличие высокой го-

надотропной активности в крови беременных женщин. Вначале полагали, что этот гонадотропин гипофизарного происхождения [1513], однако в дальнейшем было показано, что он вырабатывается в плаценте [1133, 597, 181, 43, 107, 158]. Путем прямого определения гонадотропинов в гипофизе беременных женщины П. А. Вундер и К. Г. Вилбе [44] пришли к заключению о прекращении продукции гонадотропных гормонов гипофизом при беременности. В дальнейшем это было подтверждено другими исследователями [406, 463]. В гипофизе беременных животных также установлено более низкое их содержание, чем в гипофизе небеременных.

Источником гонадотропина при беременности у человека является хорион, отсюда и название его «хорионический гонадотропин». По мнению Weber [1453], местом образования ХГ являются клетки трофобласта в базальной пластинке плацент. При фракционировании плаценты на субклеточные элементы Такауанаги [1380] обнаружил гонадотропин в митохондриях, микросомах и надосадочном слое, что указывает на возможное участие всех этих фракций в биосинтезе ХГ.

ХГ вырабатывается только у приматов. Zuckerman [1520] наблюдал положительную реакцию Ашгейм—Цондека у беременных шимпанзе, а Hamlet [719] — положительную реакцию Фридмана у беременных самок обезьян *macaca mulata*. У других видов животных ХГ при беременности не образуется [1067].

По биологическим свойствам ХГ очень близок к ЛГ — он также стимулирует интерстициальные клетки [507, 344, 755, 760], способен вызывать овуляцию созревших фолликулов. На этом основании Ашгейм и Цондек еще в 1927 г. предложили метод диагностики беременности — по появлению геморрагических точек и желтых тел в яичниках неполовозрелых мышей после введения им мочи беременных женщин. На способности ХГ вызывать овуляцию подобно ЛГ основан и тест Фридмана для диагностики беременности (вызывание овуляции у кроликов).

Близость свойств ЛГ и ХГ в последнее время показана и иммунологически — ЛГ из гипофизов и из мочи человека дает перекрестные реакции с антисывороткой к ХГ [1469, 1466, 1390]. Но в дальнейшем при более детальном исследовании высокоочищенных препаратов ЛГ

из гипофизов человека и ХГ было обнаружено, что существует некоторое отличие их иммунологических свойств, причем оно несущественно, а основной, интимный компонент у них одинаковый [680].

Ввиду близости свойств ЛГ и ХГ некоторые авторы при определении ЛГ выражают его в единицах ХГ, так как международной единицы для ЛГ не существует [1468, 979]. В то же время ХГ обладает и некоторой ФСГ-активностью [1513, 64, 65, 207, 1, 2]. Антисыворотка к ХГ после обработки ФСГ несколько снижала свою активность. Zondek [1513], Б. М. Завадовский [64, 65], Н. С. Агаджанов [1, 2] полагали, что ФСГ-активность является внутренним свойством самого ХГ. Но в последнее время было показано, что при тестировании чистых препаратов ХГ на гипофизэктомированных животных почти не удается выявить в них ФСГ-активность, а она проявляется лишь при испытании ХГ на интактных животных. Следовательно, ФСГ-активность не присутствует в самом ХГ, а обеспечивается интактным гипофизом животных-реципиентов [1292, 918]. Отсутствие ФСГ-активности в истинном ХГ была показана и иммунологически. Goss и др. [679] обнаружили, что препараты ХГ из мочи пациентов с удаленным гипофизом или из ткани трофобласта не содержали антигенов, реагирующих с антисывороткой к ФСГ, полученному из мочи.

Имеются сведения и о наличии лютеотропной активности в ХГ, так как введение одного ХГ способно было поддерживать существование и гормональную активность желтого тела.

В последнее время получены данные о том, что из плаценты был выведен и очищен препарат, который вызывал лютеотропный эффект,—рост зоба у голубей, поддержание активности желтого тела у крыс, но по свойствам своим он отличался от ХГ. При электрофоретическом исследовании он обладал совершенно иной подвижностью, чем ХГ. Он не давал перекрестных реакций с антисывороткой к ХГ, но давал перекрестные реакции с антисывороткой к человеческому гормону роста [839, 639].

ХГ у некоторых видов земноводных (лягушки, жабы) способен вызывать выделение сперматозоидов. На этой способности ХГ основаны тесты для диагностики беременности [645, 173, 9, 40].

Наряду с воздействием на яичники и семенники, ХГ, по данным ряда авторов, оказывает влияние и на гипофиз. Так, Tsumuji [1410] обнаружил, что уже через 15—30 мин после внутривенного введения ХГ, меченного йодом-131, максимальная его концентрация была в гипофизе. Stamler [1338, 1339] также считает, что у людей с неповрежденным гипофизом ХГ вначале действует на гипофиз, как «стартер» (пусковой механизм), стимулируя выделение гипофизарных гонадотропинов. Этим объясняется, почему у гипофизэктомированных животных для вызывания овуляции при помощи ХГ требуются значительно большие его дозы, чем у интактных животных.

Данные о физико-химических свойствах ХГ показывают, что это особое вещество, отличное от ЛГ, ФСГ и ЛТГ гипофиза. Наиболее очищенные препараты ХГ, полученные разными авторами, вели себя как гомогенные вещества [321, 682, 681]. В 1938 г. была принята международная единица для ХГ, которая равняется 0,1 мг стандартного препарата. Однако в последнее время были получены препараты, обладающие значительно большей активностью, чем стандартный препарат ХГ. Но даже препараты с активностью 2500—10 000 МЕ в 1 мг еще не являются полностью очищенными. Это было доказано путем образования антисывороток к этим препаратам, которые в тестах прешипитации в геле и при иммуноэлектрофорезе давали более чем одну полосу [987, 352]. Schumacher и др. [1266] при испытании препарата ХГ с активностью 10 000 МЕ/мг, используя высоковольтный электрофорез, обнаружили, что образуется более чем одна полоса. При очистке ХГ, полученного из трофобластических опухолей, Reisfeld и др. [1170] получили препарат с активностью 15 000 МЕ/мг. Этот препарат был гомогенным при электрофоретическом исследовании, если время экспозиции не превышало 2 ч. Однако при удлинении времени до 3—4 ч обнаруживалась его гетерогенность. Объясняется ли это наличием примесей или сам по себе ХГ существует в нескольких формах, пока остается невыясненным.

ХГ не растворим в органических растворителях, но растворим в воде. Однако при хранении водного раствора даже при 0° он быстро теряет активность [704].

Протеолитические ферменты — трипсин, папаин, химотрипсин [194, 321], а также окислители (перодат

[655]) — полностью разрушают биологическую активность ХГ.

По своему строению ХГ является гликопротеидом. Высокоочищенный препарат ХГ из мочи женщины с нормальной беременностью, активность которого равнялась 10 000 МЕ/мг, имел следующие физико-химические свойства [1266]: молекулярный вес 25 000, константа седиментации 2,35—2,65, константа диффузии $7,6—11 \times 10^{-7}$, изоэлектрическая точка рН 3,8—4,0, гексозы — 10%, аминоксозы 12%, фукоза — следы.

Аминокислоты (триптофан разрушен кислотным гидролизом): лизин — 5,1%, гистидин — 2,8%, аргинин — 6,2%, аспарагин — 10,3%, треонин — 7,6%, серин — 8,6%, глутамин — 10,5%, пролин — 9,6%, глицин — 9,1%, аланин — 7,7%, валин — 7,0%, метионин — 1,5%, изолейцин — 2,8%, тирозин — 2,0%, фенилаланин — 3,0%.

Характерной особенностью ХГ является низкое содержание фукозы и отсутствие цистина и цистеина. По-видимому, —S—S—группы не нужны для его биологической активности (в противоположность ЛГ, которому он близок по биологической активности), так как инкубация ХГ с цистеном не приводит к потере его биологической активности [634]. В препаратах ХГ так же, как и в других гонадотропинах, были обнаружены сиаловые кислоты [321, 1153], при этом в отличие от ЛГ для ХГ присутствие сиаловых кислот в молекуле необходимо для сохранения биологической активности.

Высокоочищенный препарат из трофобластических опухолей с активностью 15 000 МЕ/мг, полученный Reisfeld и др. [1169], имел несколько отличные физико-химические свойства. Так, изоэлектрическая точка его равнялась 2,95 в отличие от 3,8 для «нормального» ХГ, отношение гексозы к гексозамину составляло 2,5 против 1,26 для «нормального» ХГ. Но эти данные для «нормального» (полученного из мочи здоровых беременных женщин) ХГ и для ХГ, полученного из трофобластических опухолей, приводятся разными авторами, выявлены несколько различными методами, поэтому нельзя с уверенностью пока говорить, различаются ли они между собой по физико-химическим свойствам.

С. Е. Фаермарк [162], Н. С. Агаджанов [1, 2] считают, что ХГ из мочи здоровых женщин и из мочи беремен-

ных, больных токсемикозом, и ХГ из трофобластических опухолей — это разные вещества, так как «нормальный» ХГ является термолабильным, как и гипофизарные гонадотропины, а ХГ при указанных патологических состояниях — до некоторой степени термостабилен, так как после кипячения в течение нескольких минут он еще сохраняет главным образом ФСГ-активность. Эти данные были получены при исследовании мочи или очень неочищенных препаратов. Для подтверждения точки зрения о различии этих видов гонадотропинов требуются дальнейшие исследования. В ряде работ [950, 1055] показано, что по иммунологическим свойствам гонадотропины, извлеченные из мочи здоровых женщин и из хорионэпителиомы, одинаковы, но это еще не является доказательством их полной идентичности. Так, ХГ дает перекрестные реакции с ЛГ из гипофизов человека, хотя по строению они различны. Hobson и др. [771] показали, что иммунологическая и биологическая активности ХГ из мочи здоровых беременных женщин не совпадают, а в моче больных пузырным заносом имеется такое совпадение. Эти данные свидетельствуют, что вопрос о качественном различии ХГ у здоровых беременных женщин и у беременных, страдающих различной патологией, еще не может считаться окончательно решенным.

Значение ХГ при беременности и регуляция его продукции остаются до настоящего времени окончательно не выясненными. Большинство исследователей считали, что физиологическая роль ХГ заключается в поддержании функции желтого тела при беременности. В то же время имеются данные о том, что ХГ регулирует биосинтез эстрогенов в плаценте. Он способствует переходу эстрона и эстрадиола в эстриол [1407], усиливает ароматизацию андрогенов в плаценте, способствуя их превращению в эстрогены [1427], увеличивает продукцию в коре надпочечников плода дегидроэпандростерона-сульфата (который в плаценте превращается в эстрогены) [934]. Graetz [685] полагает, что основная роль ХГ заключается в трофическом влиянии на имплантированное яйцо и прилегающие ткани. Развивающийся плод (примерно с 12-й недели беременности) начинает выделять антигонадотропный фактор, тормозящий активность ХГ, чем нейтрализуется трофическое влияние ХГ, и рост плода замедляется. Появлением этого фактора автор объясняет

уменьшение содержания ХГ в моче и крови после 50—80 дней беременности.

В опытах с переживающей тканью трофобласта Lajos и др. [914] установили, что кровь и ткань аденогипофиза беременных женщин способны оказывать стимулирующее действие на синтез хорионического гонадотропина. Авторы на этом основании предположили, что в аденогипофизе беременных женщин продуцируется и выделяется в кровь какой-то фактор, регулирующий образование ХГ в плаценте.

В дальнейшем авторам удалось выделить этот фактор в относительно чистом виде из аденогипофиза беременных, а затем — из крови и мочи беременных [1044]. Вновь обнаруженному гипофизарному гормону авторы дали название плацентотропин.

Выделенный из мочи плацентотропин при ультрацентрифугировании и электрофорезе вел себя как гомогенное вещество. По химическому составу плацентотропин, как и другие гонадотропины, является глюकोпротендом.

В железистой ткани аденогипофиза небеременных женщин плацентотропин не был обнаружен, но при введении больших доз эстрогенов (в течение 2—3 недель) его удалось найти в крови и в гипофизе и у небеременных женщин [1044].

Однако вопрос о существовании плацентотропина и его физиологическом значении на разных этапах беременности требует еще дальнейшего изучения. Karlap [849] наблюдал нормальное прогрессирование беременности, закончившейся нормальными родами, у женщины, у которой на 12-й неделе беременности была произведена гипофизэктомия, при этом у нее сохранялся высокий уровень ХГ. Этот факт говорит в пользу того, что для успешного развития беременности на определенных этапах не обязательно наличие гипофиза, а следовательно, и гипофизарного фактора — плацентотропина.

**ГОНАДОТРОПИН СЫВОРОТКИ ЖЕРЕБЫХ КОБЫЛ (СИНОНИМЫ:
СЖК; СЫВОРОТОЧНЫЙ ГОНАДОТРОПИН)**

Впервые этот гонадотропин был обнаружен в 1930 г. в сыворотке жеребых кобыл Cole и др. [446] и независимо от них в том же году — Zondek [1510]. Он появляется в сыворотке кобыл между 37-м и 47-м днями и дости-

гает максимума на 50-й день беременности. Из других видов животных он встречается лишь у беременных слоних (цит. по [1067]).

Catchpole и др. [429] считали, что сывороточный гонадотропин, так же как и хорионический гонадотропин у приматов, вырабатывается клетками трофобласта. Более поздние работы показали, что он образуется не в хорионе, а в миометрии [1067].

Биологическое действие СЖК очень похоже на действие ФСГ из гипофизов, т. е. он преимущественно вызывает рост фолликулов [1290]. Но он обладает также и слабой ЛГ-активностью [64, 65]. При введении одного только СЖК можно вызвать овуляцию у гипофизэктомированных мышей, но для этого нужны гораздо более высокие дозы, чем при совместном введении СЖК и ХГ [917].

При определении по методу падения содержания аскорбиновой кислоты в яичниках Schmidt — Elmendorf и др. [1260] в препаратах СЖК обнаружили довольно высокую ЛГ-активность. Отношение ФСГ- к ЛГ-активности было равно 2,11.

Stamler [1338, 1339] считает, что для проявления гонадотропной активности СЖК необходимо присутствие неповрежденного гипофиза. По его мнению, СЖК действует на гипоталамус, который стимулирует собственный гипофиз к продукции гонадотропинов, а они уже оказывают влияние на яичники. Целый ряд авторов [780, 1365, 1505, 1151] поддерживают мнение о том, что при вызывании овуляции СЖК, возможно, действует через гипоталамус или другие нервные звенья.

СЖК подобно другим гонадотропинам является глюкoпpотеидом. Состав и физико-химические свойства СЖК следующие: молекулярный вес — 30 000, однако в последнее время появились данные о том, что молекулярный вес СЖК выше — около 80 000 [1056], изоэлектрическая точка рН — 2,6—2,65, азот — 10,6%, сера — 0,85%, аминокислоты — 0,46%, галактоза — 14,1—17,6%, гексозамин — 8,4%, тирозин — 3,54%, лизин — 8,8%, гистидин — 3,85%, триптофан — 1,37%, аргинин — 2,1%.

Rafelson и др. [1153] обнаружили в СЖК слаловые кислоты, отщепление которых снижало биологическую активность СЖК.

Характерным является отсутствие цистин-цистена. Инкубация с цистеном не разрушает активности СЖК в противоположность гипофизарным гонадотропинам [634], следовательно, наличие —S—S— групп не нужно для проявления активности СЖК. Однако окисление периодом разрушает активность сывороточного гонадотропина [655].

Сывороточный гонадотропин хорошо растворим в воде, но в водных растворах нестойк. Он теряет свою активность даже при хранении в сухом виде.

Для измерения активности СЖК существует международная единица, равная 0,25 мг стандартного препарата.

Один из наиболее очищенных препаратов СЖК содержал 12 500 МЕ в 1 мг.

АНТИГОНАДОТРОПИНЫ

Длительное введение животным или человеку гонадотропных препаратов, полученных из гипофизов или из мочи другого вида животных, вызывает развитие рефрактерности к ним вследствие образования антител. Это явление было известно давно [249]. Оно наблюдается и в клинике при лечении нарушений менструального цикла гонадотропинами из гипофизов животных или сыворотки жеребых кобыл [836, 490], а также при попытках вызвать овуляцию у животных [763, 1405]. Подобный антигонадотропный эффект часто используется в эксперименте, когда животным вместе с гонадотропинами вводится сыворотка, содержащая антитела к ним, и наблюдается нейтрализация биологического действия гонадотропинов [561, 450]. Однако образование подобных антигонадотропинов наблюдается в искусственных условиях (в ответ на введение экзогенного препарата гонадотропинов) и пока нет данных о том, что в естественных условиях могут образовываться антитела к эндогенным гонадотропинам.

В то же время в недостаточно очищенных препаратах, полученных из мочи или ткани гипофиза, а также в сыворотке крови у людей, присутствуют эндогенные антагонисты гонадотропного эффекта. Наиболее отчетливо проявляется действие антигонадотропинов в препаратах гонадотропинов, выделенных из мочи детей [924,

1319, 103, 104]. Антигонадотропины были обнаружены и в моче мужчин [642, 1321], а также в моче лиц обоего пола разных возрастов от 6 до 60 лет [1320].

Однако в работе Rosenberg и др. [1206] было показано, что антигонадотропная активность в препаратах гонадотропинов, выделенных из мочи мужчин и детей, обнаруживалась лишь в том случае, если препараты обладали токсическим действием.

У женщин в середине нормального менструального цикла наблюдалось резкое снижение активности антигонадотропного фактора [1323], так что увеличение гонадотропной активности мочи в момент овуляции, обнаруживаемое многими авторами, может быть в какой-то мере обусловлено падением титра антигонадотропинов.

В цитированных выше работах было показано, что эти антагонисты (из мочи) не оказывают влияния на проявление ФСГ-эффекта. При одновременном введении ингибиторов и ФСГ из гипофизов овец или пергонала (препарата из мочи постменопаузальных женщин, преимущественно с ФСГ-активностью) не наблюдалось снижения активности гормональных препаратов. В то же время антигонадотропины резко снижали эффект ЛГ гипофизарного происхождения и ХГ [1321, 642].

Природа антигонадотропинов, присутствующих в препаратах, полученных из мочи людей, неизвестна. В отличие от гонадотропинов антигонадотропины являются термостойкими [1320]. Имеются предположения о том, что эти антагонисты мукопротеидной природы.

Антигонадотропины были обнаружены и в недостаточно очищенных препаратах ФСГ и ЛГ из гипофиза [1484, 1162].

Физиологическое значение антагонистов гонадотропинов пока неизвестно, хотя, возможно, в организме они являются одним из средств регуляции гонадотропной функции. Какова роль эндогенных антигонадотропинов в возникновении патологических состояний, связанных с нарушением гонадотропной регуляции деятельности гонад, пока тоже неясно. Имеется сообщение Giargolla и др. [656] о том, что в сыворотке крови женщины при некоторых формах аменореи повышено содержание антигонадотропного фактора, тормозящего сперматозондную

реакцию самцов лягушки на введение гонадотропинов.

Reiss и др. [1171] обнаружили, что в сыворотке крови и спинномозговой жидкости у большинства умственно отсталых мальчиков 8—16 лет (гипогонадизм, крипторхизм) обнаруживается высокая концентрация антигонадотропинов, угнетающих ответ матки мышей на ХГ. Но на гонадотропины, выделенные из мочи этих же больных, антигонадотропины не оказывают влияния [1494]. У здоровых же мальчиков того же возраста наличие антигонадотропинов в сыворотке крови встречается значительно реже. У здоровых взрослых мужчин антигонадотропины в сыворотке крови не обнаружены. Soffer и др. [1322] нашли, что у больных с синдромом Штейн — Левенталя очень сильно снижена активность антигонадотропных факторов. Авторы полагают, что это может служить фактором патогенеза заболевания, развивающегося как следствие нерегулируемой стимуляции яичников гонадотропинами. В то же время иногда не обнаруживается корреляции между уровнем эндогенных гонадотропинов и содержанием антигонадотропного фактора в моче [1494], что, по мнению авторов, свидетельствует о том, что регуляция выделения гонадотропинов и антигонадотропинов осуществляется различными механизмами.

Механизм действия антигонадотропинов не изучен. Однако показано, что подавление гонадотропного эффекта не является следствием простой токсичности недостаточно очищенных препаратов гонадотропинов, так как антигонадотропный эффект проявляется уже в тех дозах, в которых еще не отмечалось никакого токсического действия препарата.

Антигонадотропины подавляют, видимо, действие гонадотропинов на уровне гонад, так как они не оказывали влияния на увеличение матки под влиянием эстрогенов, что также свидетельствует о том, что их эффект нельзя объяснить общетоксическим действием на организм [1319, 642].

Reiss и др. [1170] обнаружили, что антигонадотропным эффектом обладает экстракт эпифиза людей. Наличие гонадотропного ингибитора в безбелковых экстрактах эпифиза быков показано также Sofer и др. [1324].

ЭСТРОГЕНЫ

БИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭСТРОГЕНОВ

Наличие внутренней секреции половых желез было показано Броун Секаром в 1889 г., но его данные касались семенников. Вскоре это представление было распространено и на яичники. Таблетки или порошки из яичников коров под названием оофорина в медицине стали применяться в конце XIX в. При их применении удавалось вызвать менструацию у женщин после установления менопаузы или у женщин с удаленными яичниками.

Уже в то время (в начале XX в.), когда изучение гормональной функции яичников находилось в самой начальной стадии, высказывалось предположение о том, что гормоны яичника оказывают не только местное действие на половые органы, а и на весь организм [27].

Первыми методами, давшими возможность изучать влияние гормонов яичников на организм, были трансплантация и экстирпация яичников [1325, 889, 714]. Затем стали использовать введение экстрактов яичников и плаценты [595, 114].

Большое значение для прогресса в этой области имело выделение овариальных гормонов (эстрогенов и прогестерона) из биологических объектов, а затем и синтез их в чистом (кристаллическом) виде.

Влияние эстрогенов на матку и влагалище

Морфологические изменения. Эстрогены действуют как фактор роста на ткани, происходящие из мюллерова протока и урогенитального синуса. Еще в 1896 г. А. Соколов [1325] показал, что удаление яичников у собак приводит к атрофии матки и эндометрия. Кнауег [889], проводя трансплантацию яичников, обнаружил рост матки у кастрированных кроликов. Такой же эффект получался и при введении спиртовых экстрактов из яичников [114].

Позднее, когда эстрогены были выделены в чистом виде, изучение их биологической активности в отношении роста матки показало, что наиболее активным является эстрадиол. Эстрон оказался в 10, а эстриол в 50 раз

менее активным, чем эстрадиол [534]. Эстриол, кроме того, угнетал действие эстрадиола на рост матки при совместном введении. Подобной особенностью (угнетением эффекта сильных эстрогенов) обладают многие другие слабые эстрогены как натуральные, например 16-эпиэстриол, так и синтетические.

Несмотря на слабую активность эстриола в отношении увеличения веса матки, его нельзя назвать вообще «слабым» эстрогеном. Ему присуще специфическое влияние на половые органы. Так, он является очень активным веществом, вызывающим накопление воды в матке [764]. Оказывая слабое влияние на тело матки, эстриол вызывает активный рост шейки матки и ее расслабление. Он активен также в отношении ускорения роста влагалища и наружных половых органов [1145, 1100, 308, 661].

Эстрон и эстрадиол вызывают рост матки главным образом за счет гипертрофии [349, 350]. Однако в целостном организме действие эстрогенов никогда не бывает изолированным, а наблюдаемый эффект роста матки является следствием взаимного действия эстрогенов, прогестерона, тестостерона и адренокортикальных гормонов [1431], гормона роста [932]. При этом эффект их действия может изменяться. Так, действие эстрогенов после прогестерона вызывает не только гипертрофию, но и гиперплазию миометрия [349, 350], гормон роста потенцирует действие эстрогенов на матку [932].

Еще А. Соколов [1325] описал гистологическую картину атрофического эндометрия после удаления яичников у собак. Давно отмечено также исчезновение течки при кастрации животных и появление ее при подсадке яичников или при введении их экстракта. На основе этого эффекта — способности эстрогенов вызывать корнизацию влагалищного эпителия — был предложен первый метод количественного определения эстрогенов [216], а затем и его многочисленные модификации.

Более углубленное изучение показало, что под влиянием эстрогенов, как естественных, так и синтетических, происходит усиление митозов в эндометрии и эпителии влагалища [1013, 1014]; в результате чего происходит их утолщение, разрастание. В эпителии влагалища это приводит к ороговению верхнего слоя, а в эндометрии — к пролиферации и интенсивной продукции слизи [42].

По влиянию на рост и пролиферацию эндометрия и корнификацию влагалищного эпителия самым активным из эстрогенов является эстрадиол. Эстроин оказывается слабее в 5—10 раз, а эстриол обладает лишь 0,01—0,001 активности эстрадиола [1100]. Таким образом, в отношении пролиферации эндометрия и вагинального эпителия эстриол оказывается примерно в 20 раз слабее, чем в отношении увеличения веса матки.

Эстрогены, приводя к пролиферации эндометрия, вызывают разрастание сосудов в нем [1001, 1002]. При снижении уровня эстрогенов в организме происходит замедление кровотока в сосудах, повышение давления внутри капилляров, что приводит к разрыву их стенок и появлению кровотечения. Это кровотечение носит название *withdrawal bleeding* [1520, 1521, 766].

Однако кровотечение может наступать из пролиферативного эндометрия и без снижения уровня эстрогенов [215, 1091]. При этом происходит ослабление реакции эндометрия на эстрогенную стимуляцию. Прежний уровень эстрогенов оказывается недостаточным для поддержания разросшегося эндометрия, для этого требуется уже большая их доза. Поэтому при непрерывном введении даже небольшой постоянной дозы эстрогенов могут наблюдаться циклические изменения эпителия влагалища и эндометрия, что приводит к кровотечению [1106]. Для прекращения кровотечения необходимо увеличить дозу эстрогенов. На этом эффекте основана быстрая остановка кровотечения большими дозами эстрогенов при геморрагической метропатии [811, 1306, 164].

Эстрогены усиливают сокращения матки, повышают чувствительность и напряжение его [469]. Они повышают также чувствительность матки к окситоцину [1441, 1442, 434, 97]. Эстрогены повышают уровень трубной секреции [143].

Биохимические изменения. Морфологическим изменениям в матке и влагалище, вызванным эстрогенами, предшествует целый ряд биохимических изменений. Уже в первые часы после введения эстрогенов в эндометрий и миометрий наблюдается гиперемия. По мнению Boscott [317], механизм этого эффекта осуществляется при участии аденозинтрифосфорной кислоты, которая обладает сильным вазодилаторным действием. Накопление АТФ

в матке под влиянием эстрогенов [304, 1036, 1439] способствует усилению гиперемии.

Увеличенный приток крови к матке сопровождается гидратацией, накоплением натрия, хлоридов, причем эти явления наблюдаются уже в первые часы действия эстрогенов [237, 297, 1396, 1221, 846, 938, 1334].

К ранним этапам действия эстрогенов относится и усиление энергетического обмена в матке. Уже через час после однократного введения эстрогенов увеличивается поглощение кислорода тканями матки, которое достигает максимума через 16—20 ч, усиливается аэробный и анаэробный гликолиз [862, 1445, 1182, 1183]. При этом усиливается активность ферментов, участвующих в процессе дыхания и гликолиза, — дегидрогеназы молочной кислоты [288, 790], дегидрогеназы изолимонной кислоты [1437, 1438, 790] и других ферментов дыхательного цикла [1397, 1268, 775, 664].

Введение эстрогенов приводит к активации углеводного обмена — увеличивается накопление гликогена в матке, поглощение глюкозы [766, 297, 243, 1396, 785, 348, 938, 1381, 790, 16].

Доказательством усиления углеводного обмена является также и тот факт, что эстрогены увеличивают активность ферментов углеводного обмена — щелочной фосфатазы, которая облегчает перенос глюкозы из крови в ткани [242, 847, 496, 1033, 938, 993, 790], глюкозо-6-фосфатазы [346], фосфорилазы [790]. Усиление углеводного обмена влечет за собой активацию фосфорного обмена. Многими исследователями показано увеличение содержания макроэргических фосфатов в матке — АТФ, фосфокреатина — и скорости их обновления [1036, 305, 1439, 16].

По данным Aaronson и др. [193], под влиянием эстрогенов содержание АТФ в матке снижается. Это снижение авторы связывают с усиленным расходом ее для синтеза информационной рибонуклеиновой кислоты.

Параллельно с этим (уже с первых часов после введения эстрогенов) увеличивается содержание фосфолипидов в матке с одновременным увеличением скорости обновления их фосфатного компонента [938, 204].

Изменение углеводного и энергетического обмена ведет к изменению мышечной активности — усилению подвижности и сократительной способности матки вслед-

ствие накопления актомнозного комплекса и АТФ-азной активности [467].

Под влиянием эстрогенов происходит увеличение β -глюкуронидазной активности в матке и молочной железе [938], а также в гипофизе [1033]. Некоторые авторы высказали даже мнение, что увеличение β -глюкуронидазной активности связано с механизмом действия эстрогенов [1241].

По данным Conchie и др. [448], усиление β -глюкуронидазной активности шло параллельно с активацией маннозидазы, β -галактозидазы, β - и N-ацетилглюкозаминидазы. Все эти ферменты выполняют сходную функцию в организме, очевидно, в области катаболизма мукополисахаридов.

Влияние эстрогенов на матку тесно связано с действием медиаторов симпатической и парасимпатической нервной системы. В работах Н. Л. Гармашевой [48, 49] показано, что чувствительность матки к эстрогенам зависит от состояния вегетативной нервной системы, при возбуждении парасимпатических нервных окончаний действие эстрогенов на матку усиливается. По данным Reynolds [1174], введение эстрогенов приводит к увеличению содержания ацетилхолина в матке. Автор приходит к выводу, что эстрогены являются холинэргическими стимуляторами. Обмен адреналина в матке также связан с эстрогенами, так как в период эструса увеличивается количество эндогенного адреналина в матке крыс и накопление введенного извне радиоактивного адреналина [1492]. Chamru и др. [433] показали, что введение ацетилхолина и адреналина морским свинкам дает такой же эффект, как введение эстрогенов. Sterescu [1351] при введении ацетилхолина или эзерина кастрированным женщинам наблюдал повышение эозинофильного индекса во влагалищных мазках, что свидетельствовало об эстрогенном влиянии. Автор считает, что действие эстрогенов на матку осуществляется через медиаторы нервной системы.

Ряд исследований был посвящен изучению роли витаминов в обеспечении эстрогенного влияния. В работе Kline и др. [876] было показано, что недостаток рибофлавина и никотиновой кислоты в пище сильно снижает рост яйцеводов у цыплят. Но этот эффект является неспецифическим, так как введение эстрогенов ускоряет рост

яйцевода даже сильнее, чем в контроле. Herz и др. [756] обнаружили подобное явление в отношении пантотеновой кислоты. Недостаток фолевой кислоты также замедляет рост яйцеводов, однако фолевая кислота оказывает принципиально другое действие — при ее недостатке эстрогены, как естественные, так и синтетические, не способны ускорять рост яйцеводов. Следовательно, фолевая кислота очень тесно связана с механизмом действия эстрогенов и совершенно необходима для их влияния на пролиферативные процессы в тканях, зависящих от эстрогенов.

Одним из наиболее важных аспектов влияния эстрогенов, вероятно, ближе всего связанных с основной механизма их действия, является влияние эстрогенов на обмен нуклеиновых кислот и белка в матке. Овариэктомия снижает содержание рибонуклеиновой кислоты (РНК) в миометрии и эндометрии [847, 347], введение же эстрогенов повышает содержание РНК в этих тканях [1396, 305]. Эффект увеличения содержания РНК обнаруживается лишь через 12 ч, а дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) — через 24 ч после введения эстрогенов, т. е. позднее, чем отмеченные выше изменения обмена фосфорных соединений и углеводов [1061]. К тому же подъем содержания ДНК под влиянием эстрогенов выражен значительно меньше, чем подъем РНК. Однако это не значит, что обмен нуклеиновых кислот меняется позже, чем углеводно-фосфорный обмен. В опытах с меченым серином показано, что в первые же часы действия эстрогенов ускоряется его внедрение в основания РНК — аденин и гуанин [1059], ускоряется также обмен фосфорного компонента нуклеиновых кислот [305].

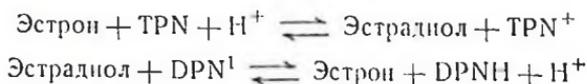
Современные данные показывают, что в синтез белков вовлекаются по крайней мере 3 РНК — растворимая (транспортная) РНК, рибосомная (структурная) РНК и информационная (мессенджер) РНК, зависящая от ДНК. В работе Wilson [1476] показано, что введение эстрадиола усиливает сначала синтез хромосомной РНК, в результате чего усиливается активность растворимой и информационной РНК. Увеличение рибосомной РНК (которая составляет основную массу РНК в клетке) — более позднее явление. Оно является следствием увеличения информационной и хромосомной РНК, и, может быть, поэтому увеличение общей РНК наблюдается отно-

сительно поздно (через 12 ч). В работе Ui и др. [1411] также показано, что эстрогены стимулируют в первую очередь образование РНК, зависимой от ДНК. К подобному же выводу приходит Hamilton [718].

Белковый обмен ускоряется с первых же часов действия эстрогенов. Уже через 6 ч после инъекции эстрогенов наблюдается ускорение внедрения в белки меченых аминокислот — глицина [1060, 637, 1185], триптофана, лизина, I-валина и других [1060, 1083, 1059, 961]. Ускорением синтеза белка и объясняется анаболический эффект эстрогенов. Начальный этап всякого белкового синтеза включает в себя активацию карбоксильной группы аминокислоты энергией АТФ. Активированная аминокислота затем уже при помощи РНК внедряется в белки. Mueller и др. [1061] считают, что ускорение внедрения аминокислот в белки под влиянием эстрогенов объясняется тем, что они повышают активность тех ферментов, которые активируют аминокислоты. Было обнаружено, что эстрогены возбуждают активность серинальдолазы [754], которая катализирует образование серина из глицина и формальдегида.

Эстрогены вызывают накопление в матке в основном функционально активных белков, содержание же коллагена, составляющего основу веса матки после овариэктомии, снижается под влиянием эстрогенов, когда происходит активный рост матки [1313, 1054].

Как видно из приведенного обзора, эстрогены оказывают влияние почти на все биохимические процессы в матке. Однако каков тот первичный процесс, на который влияют эстрогены, до сих пор окончательно не установлено. Ряд исследователей считает, что эстрогены оказывают влияние на какой-то «ключевой» фермент. Были попытки показать, что этот «ключевой» фермент находится среди трансгидрогеназ и механизм действия эстрогенов объяснялся тем, что эстрогены, являясь коэнзимом, активируют трансгидрогеназу, связанную с трифосфорпиридин-нуклеотидом (ТРН), которая катализирует реакции в следующей системе:



¹ DPN — дифосфорпиридиннуклеотид.

[1437, 775, 1334]. Однако в последнее время большинство авторов считает, что эта реакция не имеет отношения к механизму действия эстрогенов [1397, 1059, 1411, 718, 823].

Поскольку в настоящее время показано, что пуromин, блокирующий синтез белков, снимает также и все метаболические эффекты эстрогенов (усиление углеводного, фосфорного, водного и других видов обмена), то ряд исследователей полагает, что первичное действие эстрогенов связано с активацией обмена белков. Mueller считает, что это особые белки, возможно, энзимы или проэнзимы, обеспечивающие синтез РНК, зависимой от ДНК [1059, 1411]. Однако Hamilton [718] полагает, что первичным все-таки является синтез информационной РНК или растворимой РНК (ядерных РНК), так как пуromин не блокирует полностью синтез РНК. Szego и др. [1378] не согласны ни с той, ни с другой точкой зрения, так как ускорение синтеза РНК и белков — сложный процесс, требующий наличия энзимов, обеспечения энергией. Авторы воспроизвели начальные этапы действия эстрогенов — ускорение внедрения меченых аминокислот в белки и амиды, аденина и гуанина в нуклеиновые кислоты — при действии гистамина на матку в отсутствие эстрогенов. На этом основании они полагают, что действие эстрогенов опосредуется через гистамин и первичное влияние эстрогенов состоит в освобождении гистамина из центров его локализации в клетке.

Привлекая внимание исследователей к тому факту, что механизм действия эстрогенов до сих пор остается неразрешенным, Jensen [823] указывает, что большинство авторов ищет механизм действия эстрогенов в активации какого-то энзима или процесса, который пускает в ход весь метаболический процесс, связанный с пролиферацией и ростом тканей. Однако, по мнению автора, возможно, действие эстрогенов заключается в том, что они снимают тормозящее влияние гипотетического фактора, который сдерживает все эти процессы.

Так, по данным Talwar и др. (цит. по [870]), в цитоплазме клеток эндометрия имеется протенин, являющийся акцептором эстрадиола, который тормозит активность РНК-полимеразы. После соединения этого акцептора с эстрадиолом тормозящее влияние его на РНК-полимеразу снижается.

Поскольку в клетках энзиматические системы, катализирующие различные реакции, находятся в состоянии полуизоляции (одни локализованы в ядре, другие — в рибосомах, третьи — с саркоплазме) и продукты, образующиеся в одной системе, имеют ограниченный доступ к энзиматическим системам, локализованным в другом месте, то весьма вероятно, что действие эстрогенов состоит в снятии этих «барьеров». Roberts и др. [1183] давно писали, что первичное действие эстрогенов состоит в увеличении проницаемости мембран, но они полагали, что увеличение проницаемости активирует в первую очередь ферменты углеводно-фосфорного обмена. В более поздней работе эти авторы [1378] приходят к заключению, что эстрогены посредством освобождения гистамина приводят к увеличению проницаемости капилляров. В свете современных данных можно также полагать, что эстрогенами снимается барьер для информационной РНК, а это приводит к синтезу специфических энзимов, ускоряющих синтез белков, фосфолипидов, активирующих углеводный обмен и прочие метаболические процессы.

Известно, что накопление эстрогенов в органах, рост которых зависит от них, несколько больше, чем в других тканях [1358, 1361, 823, 824]. По данным Davis и др. [489], поглощение меченого эстрадиола тканями матки и труб у небеременных женщин было в 2—5 раз выше, чем кожей, жиром или мышцами. Поглощение эстрогенов тканями наступает очень быстро. При внутривенном введении эстрогенов снижение концентрации их в крови начинается уже через 8 мин [1361], а при внутримышечном — через 15 мин. Распределение эстрогенов в матке неравномерно: наибольшая концентрация определяется в дне матки с постепенным уменьшением ее по направлению к шейке, где концентрация в 4 раза ниже [489].

Эстрогены оказывают влияние на матку в очень небольших концентрациях. Для мышей и крыс разовая физиологическая доза эстрогенов, вызывающая рост матки, равна 0,01—0,1 мкг эстрадиола. В матку попадает всего 0,1—0,5% от введенной дозы. При этом эстрадиол в клетках адсорбируется определенными цитоплазматическими акцепторами, где концентрация эстрогенов составляет 10^{-12} [823]. При изучении внутриклеточного распределения эстрогенов в матке было обнаружено, что вначале

эстрогены концентрируются в основном в ядре и на ядерной мембране [802, 869, 1088] в противоположность печени, где они равномерно распределены в цитоплазме.

Однако в дальнейшем между ядром и цитоплазмой происходит свободный обмен эстрогенов, причем равновесие сдвинуто в сторону цитоплазмы [869]. По данным Noteboon и др. [1088], King и др. [870], эти акцепторы эстрогенов являются белками, так как связанной эстрадиол освобождается при инкубации ядерной фракции с протеазами. При этом белки являются стереоспецифичными для эстрогенов, естественных и синтетических, но не для других стероидов.

Jensen [823] полагает, что специфическое влияние на матку оказывает только эстрадиол. По его данным, ткань матки способна поглощать только эстрадиол, но не эстрон. Эстрадиол оказывает специфическое действие в матке, не изменяя своей структуры. Эстрон, по его мнению, может влиять на рост матки, лишь превращаясь в эстрадиол. В более ранних работах высказывалось мнение, что в эндометрии и миометрии происходят взаимные превращения эстрогена и эстрадиола [1305, 1228]. Однако Jensen и др. [824] на основании своих данных считают, что эстрадиол не способен превращаться в эстрон ни в растущей, ни в атрофической матке, а реакция идет лишь в направлении эстрон → эстрадиол. Более слабое действие эстрогена на рост матки (по сравнению с эстрадиолом) Jensen [823] объясняет тем, что эстрон оказывает свой эффект, только превратившись в эстрадиол. По данным Stone [1358, 1359], эстрадиол в матке не превращается в эстрон, хотя он наблюдал поглощение эстрогена маткой, при этом значительная часть эстрогена переходила в эстрадиол.

Однако точку зрения о том, что только эстрадиол является активным эстрогеном, трудно примирить с данными о влиянии эстриола на метаболизм матки, так как эстриол не может превращаться в эстрадиол. Между тем, согласно данным многих авторов, эстриол не может рассматриваться только как неактивный метаболит эстрадиола и эстрогена. Как было указано выше, эстриол обладает специфическим действием на матку. На раннем этапе действия эстрогенов (увеличение веса матки в первые часы после их введения, что в основном объясняется накоплением воды в ней) эстриол почти равен по

активности эстрадиола [764]. Эти данные находят подтверждение в работе Hamilton [718], который определил минимальную действующую дозу различных эстрогенов в отношении самых ранних этапов их действия — синтеза РНК и белков. Оказалось, что эта доза для эстрадиола (0,03 мкг) и эстриола (0,05 мкг) почти одинакова, а для эстрона (0,6 мкг) — значительно выше. Судя по этим данным, начальное действие эстрадиола почти одинаково с эстриолом, а действие эстрона почти в 20 раз слабее. Между тем, по конечному действию — росту матки через 72 ч и более эстриол резко отличается от эстрадиола, а эстрон приближается по активности к эстрадиолу. Кроме того, эстриол на более поздних этапах своего действия обладает специфическим влиянием на рост шейки матки, а эстрон и эстрадиол почти лишены этого действия. Следовательно, как нам кажется, нельзя считать, что действие эстрогенов в матке ограничивается только тем, что они пускают в ход какой-то начальный механизм, а затем процесс может идти уже автоматически и в отсутствие эстрогенов, как это считал Jensen [823]. Недостаточно изучать лишь ранние этапы действия эстрогенов, которыми, по всей вероятности, являются синтез или активация действия информационной или растворимой РНК, но нужно проследить и дальнейший ход метаболизма. Вероятно, эстрогены оказывают влияние и на дальнейших этапах, причем где-то у эстрадиола и эстриола оно будет различным, что приведет к различному конечному их действию. Однако данных по изучению действия эстрогенов в таком аспекте нам в литературе не встретилось.

Ткани влагалища способны поглощать как эстрон, так и эстрадиол, причем, по данным Martin [1013], начальные скорости их поглощения одинаковы (85% через 1—3 мин), но в дальнейшем эстрадиол долго удерживается в ткани, а концентрация эстрона быстро падает. Этим автор объясняет разницу биологического действия эстрона и эстрадиола на слизистую влагалища, полагая, что прочно удержанный тканевыми акцепторами эстроген (будь то эстрон или эстрадиол) в дальнейшем одинаково способен пустить в ход все метаболические процессы во влагалище и вызвать рост его слизистой. Одновременное введение эстрадиола и сильного антиэстрогена — диметилстильбэстрола — сильно снижает

способность стенки вагины удерживать эстрадиол. Martin [1013] полагает, что диметилстильбэстрол конкурирует с эстрадиолом за активные акцепторы ткани, чем и объясняется его антиэстрогенное действие.

Влияние эстрогенов на половые железы, процессы оплодотворения и на молочные железы

Присутствие эстрогенов необходимо для роста granulosa-клеток в яичнике. Введение эстрогенов гипопитуитаризированным животным предотвращает быструю атрофию яичников [1475], вызывая даже некоторое увеличение их веса. Кроме того, введение эстрогенов вместе с гонадотропинами значительно увеличивает ответ яичников на влияние сывороточного [1475] и хорионического [1128], а также гипофизарных гонадотропинов [325] у гипопитуитаризированных животных. По данным Smith [1317], эстрогены в больших дозах могут вызывать рост фолликулов до средних размеров. Малые же дозы эстрогенов не обладают способностью даже поддерживать вес яичников после удаления гипофиза [460].

Эстрогены способны поддерживать структуру и секреторную активность желтых тел [1191, 724, 1464].

Эстрогены, оказывая сложное воздействие на половые органы, способствуют продвижению сперматозоидов по женским половым путям [1090].

В то же время большие дозы эстрогенов препятствуют оплодотворению. Введение эстрогенов на самых ранних этапах беременности вызывает отслойку хориона, гибель и рассасывание зародышей [167, 1012].

Имеются данные о том, что количество продуцируемых в организме матери эстрогенов имеет значение для формирования пола потомства. По данным А. Н. Буйко [32], у кобыл с высоким содержанием эстрогенов в моче до овуляции, что свидетельствует об активном процессе созревания фолликулов, и при высокой продукции эстрогенов в первые 2—3 дня существования зиготы формируется потомство женского пола. При более низкой продукции эстрогенов образуется мужской пол. Однако вопрос о формировании пола, несомненно, является очень сложным и роль гормонов, в том числе и эстрогенов, еще до оплодотворения в формировании пола требует дальнейшего более углубленного изучения.

Влияние эстрогенов на мужские половые органы противоположно их влиянию на женские. Большие дозы вызывают сначала отек и гиперемии придаточных органов, инфильтрацию стромы, а затем атрофию и дегенерацию их. Клетки сперматогенного эпителия и часть клеток Лейдига дегенерируют, наступает коллапс и атрофия канальцев [29]. Однако даже самые глубокие стадии атрофии оказываются обратимыми, но восстановление происходит медленно. Эстрогены могут вызывать и необратимое угнетение сперматогенеза, бесплодие и атрофию придаточных половых органов у самцов, но такой эффект наблюдается при однократном введении больших доз эстрогенов неполовозрелым животным вследствие необратимого повреждения гипоталамических центров, регулирующих продукцию гонадотропинов [867].

Эстрогены как у женщин, так и у мужчин вызывают пролиферацию молочных желез. Еще в ранние периоды изучения яичника как органа внутренней секреции было отмечено, что его гормоны вызывают рост молочных желез, а кастрация приводит к их атрофии [713, 714, 114]. В дальнейшем было показано, что под влиянием эстрогенов происходит лишь рост протоков, а не альвеол в молочных железах [615, 812]. Механизм действия эстрогенов на пролиферацию молочных желез еще недостаточно изучен. Известно, что действие их не проявляется у гипофизэктомированных животных. По-видимому, для осуществления влияния эстрогенов на молочные железы необходимы какие-то гипофизарные факторы, которыми могут быть пролактин, ФСГ или гормон роста. Не случайно, что у мужчин с гинекомастией уровень выделения эстрогенов с мочой часто бывает не выше, чем у здоровых мужчин.

Gardner [647] показал, что длительное введение больших доз эстрогенов, значительно превышающих физиологический уровень, приводит (после периода пролиферации) к угнетению роста молочных желез.

Экстрагенитальное влияние эстрогенов

Эстрогены оказывают влияние не только на половые органы, а и на многие другие функции целостного организма. При инъекции радиоактивных эстрогенов многие авторы [1371, 1361, 823, 824, 1412] обнаружили широкое

их распространение во многих органах и тканях, при этом ткани, зависящие от эстрогенов (матка, влагалище), поглощали несколько большее количество эстрогенов и дольше их удерживали, чем другие. Malinow и др. [994] при введении 4 больным (незадолго перед смертью) радиоактивных эстрогенов и последующей ауторадиографии тканей после смерти обнаружили наличие радиоактивности в стенках сосудов, в паренхиме печени, почек, щитовидной железы, в матке, придатке семенника, предстательной железе, селезенке, пищеводе, поджелудочной железе, легких. Широкое распространение в организме введенных эстрогенов может служить косвенным доказательством их влияния на функции многих тканей и органов.

Введенные в организм эстрогены вызывают задержку воды и натрия не только в матке, но и во многих других тканях — коже, поперечнополосатой мускулатуре, поджелудочной железе, мозгу [1523]. Задержка воды и натрия сопровождается снижением диуреза. Отмена гормона приводит к усилению экскреции натрия и воды [1400, 1126]. Возможно, что этот аспект действия эстрогенов имеет значение в проявлении синдрома предменструального напряжения, тем более, что прогестерон действует в том же направлении.

Эстрогены обладают анаболическим действием, увеличивают синтез белков и вызывают задержку азота в организме. Под влиянием эстрогенов изменяется соотношение белковых фракций в сыворотке крови [1256]. У небеременных животных эстрогены не влияли на включение 1-валина в белки печени, а у беременных животных достоверно увеличивалось включение этой аминокислоты [961]. Под воздействием эстрогенов не меняется общее содержание белков в мышце сердца, но увеличивается содержание актомиозинового комплекса, что приводит к повышению напряжения сердечной мышцы, увеличивает ее чувствительность к АТФ [868].

При введении эстрадиол-бензоата женщинам с недостаточностью функции яичников Landau и др. [921] получили анаболический эффект, а при введении вместе с прогестероном — уменьшение катаболического действия прогестерона.

Эстрогены оказывают существенное влияние на обмен веществ в костях. Budy [395] показал, что после вве-

дения радиоактивного эстрогена мышам в костной их ткани эстрон обнаруживается уже через 4 ч и задерживается там до 96 ч и более, когда он уже исчезает из многих тканей, в том числе и из матки. Наибольшее содержание эстрогенов отмечено в губчатой кости, и меньшее — в плотной ее части. По-видимому, эстрогены могут оказывать влияние на некоторые клеточные элементы кости, например на остеогенетические клетки соединительной ткани костного мозга. В костной ткани эстрогены вызывают лишь небольшую задержку кальция [200] и фосфора, причем главным образом малообменивающегося фосфора, а на быстрообменивающуюся фракцию фосфора их влияние невелико. Многие авторы, например Albright и др. [213], считают, что главное действие эстрогенов — это влияние на белковую основу кости. Эти выводы были сделаны на основе клинических наблюдений — появления остеопороза у женщины после кастрации или после менопаузы — и на том, что лечение эстрогенами ведет к задержке азота, кальция, фосфора и снижает симптомы остеопороза. В конечном итоге влияние эстрогенов на обмен веществ в кости приводит к усилению окостенения. У неполовозрелых животных и у детей это вызывает задержку роста [907, 1465].

Эстрогены могут оказывать влияние и на развитие хряща, но только в молодом растущем организме. Так, введение эстрогенов неполовозрелым мышам задерживало у них развитие остеоартроза при повреждении суставов, что Silberberg и др. [1291] частично объясняли влиянием эстрогенов на хрящ.

В тканях матки и влагалища эстрогены вызывают усиление тканевого дыхания, а в других тканях — наоборот, его уменьшение. Так, например, в стенках аорты [758] и в тканях печени эстрогены вызывают замедление тканевого дыхания при окислении тех веществ, где необходимо присутствие кодегидразы I и II, а на цитохромную систему они не оказывают никакого влияния [699].

Эстрогены вызывают повышение содержания меди в сыворотке крови [1369]. Поскольку ионы меди оказывают влияние на метаболизм кератина и коллагена, то эстрогены, регулируя уровень ионов меди, могут оказывать влияние на метаболические процессы в коже [317].

Введение эстрогенов в малых и умеренных дозах вызывает повышение сопротивляемости к инфекциям. Foley и др. [616] наблюдали, что единичная инъекция стильбэстрола мышам делает их устойчивыми к гемолитическому стрептококку. Frazier и др. [636] наблюдали более легкое течение и меньшую генерализацию экспериментального сифилиса у кроликов-самцов, получавших эстрогены, по сравнению с контрольной группой животных. Т. И. Бонашевская [30] отметила благоприятный эффект введения эстрогенов на течение экспериментального туберкулеза у морских свинок. У животных, получавших эстрогены, отмечены более выраженные репаративные реакции, с частичным рассасыванием участков поражения и замещением их фиброзной тканью. Vroom и др. [355] отметили, что эстрогены усиливают бактерицидность матки, однако они не нашли увеличения бактерицидных свойств крови животных под влиянием эстрогенов. Nicol и др. [1075] также наблюдали повышение устойчивости крыс к различным грамположительным и грамотрицательным микроорганизмам. Авторы объясняют увеличение устойчивости организма по отношению к инфекциям тем, что синтетические и натуральные эстрогены стимулируют ретикулоэндотелиальную систему, увеличивая активность фагоцитов, усиливая продукцию антител, что приводит к повышению фракций гамма-глобулинов в сыворотке крови. Увеличение всех этих показателей авторы наблюдали при экзогенном введении эстрогенов, а также при естественном колебании уровня эстрогенов в организме — наибольшее их увеличение было в проэструсе и метэструсе и при беременности, кастрация снижала их содержание до уровня диэструса. Авторы полагают, что стимулирующая ретикулоэндотелиальная система является одной из основных функций эстрогенов у мужчин. У женщин увеличение продукции эстрогенов наблюдается как раз тогда, когда необходимо увеличить защитные силы организма, — перед менструацией, перед родами.

Большие дозы эстрогенов, резко превышающие физиологические уровни, не только не повышают сопротивляемость к инфекциям, но, наоборот, снижают ее. Так, в опытах Н. Л. Гармашевой [50] с введением кошкам больших доз эстрогенов показано, что реакция животных на инфекцию была более бурной, с резким повышением

температуры и лейкоцитоза, при этом создавались условия для генерализации инфекции. В исследованиях Л. И. Чарквиани [158] было обнаружено появление катарально-гнойного воспаления матки у крыс при введении больших доз эстрогенов.

Большие, нефизиологические дозы эстрогенов оказывают повреждающее действие не только на эндометрий [122, 154], но и на многие другие органы и ткани. Особенно сильное повреждение с дегенерацией и некрозом наблюдается в почках и печени [900].

Эстрогены, активно влияя на метаболические процессы в организме, в частности на обмен липидов, оказывают защитное действие по отношению к атеросклерозу. Исследования ряда авторов показали, что имеется отчетливая зависимость между функциональным состоянием яичников и проявлениями атеросклероза. Так, атеросклероз у кастрированных женщин чадородного возраста, так же как и у женщин с ранней менопаузой, встречается чаще, чем у женщин с нормальной функцией яичников того же возраста [1335, 1189]. По данным ряда авторов [1132, 852, 1340, 110], эстрогены не только предотвращали развитие атеросклероза у экспериментальных животных, но и приводили к рассасыванию атеросклеротических бляшек. Многочисленные литературные данные показывают, что эстрогены занимают важное место в терапии атеросклероза [555, 259, 852, 1098, 283, 51, 28, 488, 1099, 126]. Вопрос о влиянии эстрогенов на липидный обмен явился предметом большого числа исследований, а поэтому достаточно разносторонне изучен. Удаление яичников у женщин приводит к повышению содержания холестерина в сыворотке крови и увеличению коэффициента холестерин—фосфолипиды [84, 1188, 488]. Введение эстрогенов снижает уровень холестерина в крови как при экспериментальном (кормление холестерином) атеросклерозе у животных [109, 110], так и при лечении гиперхолестеринемии у людей [555, 259, 1188, 28, 126]. В экспериментах на животных установлено, что эстрогены уменьшают содержание холестерина в надпочечниках [1137]. Показано также, что под влиянием эстрогенов снижается синтез холестерина в печени из ацетата [323], из мевалоновой кислоты [794]. Dingman и др. [523] считают, что эстрогены тормозят синтез холестерина путем снижения активности 3β -гидроксилазы в

печени, которая необходима для образования 3- β -ол-группы холестерина. В опытах на петушках было показано, что эстрогены увеличивают содержание фосфолипидов в крови [1132, 542, 994, 576]. Такой же эффект наблюдается при лечении гиперхолестеринемии у людей [283, 1190, 1341], причем увеличение происходит только за счет лецитина [712]. По данным Rappey и др. [1160], эстрогены увеличивают скорость обмена фосфолипидов в печени. Авторы считают, что эстрогены активируют как синтетические, так и катаболические системы метаболизма фосфолипидов в печени, а также ускорение их выхода в кровь, особенно фракции лецитинов. Параллельно изменению липидного обмена изменяется и метаболизм липопротеинов — эстрогены снижают содержание β -липопротеинов и повышают содержание α -липопротеинов в крови [259, 283, 1341, 1190].

В целостном организме эстрогены подавляют эритропоэз. Это было показано в опытах на самцах крыс. Нормальная скорость эритропоэза, по мнению Dukes и др. [545], поддерживается постоянным выделением эритропоэтина, а контролирует этот процесс негативное действие эстрогенов на костный мозг. Влиянием эстрогенов авторы объясняют более низкий уровень эритроцитов у самок, чем у самцов. По данным Campbell [419], введение эстрогенов приводило к увеличению объема плазмы крови, что, по его мнению, являлось причиной уменьшения процентного содержания гемоглобина в крови.

Эстрогены оказывают влияние и на другие эндокринные железы, в частности, они вызывают увеличение веса надпочечников у кастрированных животных и компенсаторную гипертрофию надпочечников при односторонней адреналэктомии [426, 425]. Действие эстрогенов распространяется также на синтез и метаболизм гормонов коры надпочечников. Под влиянием эстрогенов содержание кортикостероидов крови повышается. Но это происходит за счет связывания кортизола с транскортином и перевода его в неактивную форму. При этом процент свободного, активного кортизола снижается, но количество его остается без изменения [1047, 1130, 99, 191]. Выделение 17-оксикортикостероидов с мочой при этом уменьшается. Это происходит потому, что эстрогены уменьшают скорость обращения кортизола и увеличивают

время его нахождения в крови. Скорость же синтеза кортизола надпочечниками при этом снижается [686, 1047]. Авторы полагают, что связывание кортизола с транскортином является защитной мерой от разрушения его в печени. Н. А. Юдаев и сотрудники [191] считают, что наблюдающееся увеличение веса надпочечников на 25% под влиянием эстрогенов является вторичным, это— реакция на снижение синтеза кортизола и на увеличение связывания его транскортином.

Активное воздействие оказывают эстрогены и на щитовидную железу, причем данные разных авторов в этом отношении противоречивы. Одни исследователи находят, что эстрогены стимулируют функцию щитовидной железы [17, 732, 698, 387, 388, 861], другие, наоборот, находят увеличение функции щитовидной железы после удаления яичников. Об активном влиянии эстрогенов на функцию щитовидной железы говорит и тот факт, что они задерживают зобогенный эффект пропилтиоурацила у крыс [580]. Существует взаимодействие и между эстрогенами и гормонами щитовидной железы. Под влиянием эстрогенов увеличивается содержание йода, связанного с белками крови [594, 566, 1465]. Этот эффект объясняется многообразным действием эстрогенов: а) увеличением выделения тиреотропного гормона и усилением функции щитовидной железы; б) изменением обмена тиреоидных гормонов на периферии, что сопровождается уменьшением их утилизации, и в) увеличением тироксин-связывающей способности крови за счет увеличения тироксин-связывающего белка в ней. Для осуществления двух последних эффектов не обязательно наличие щитовидной железы, так как увеличение йода, связанного с белками крови, наблюдается и у атиреоидных пациентов при адекватной заместительной терапии. Однако в нормальном здоровом организме имеют значение все аспекты действия эстрогенов [566]. В свою очередь, гормоны щитовидной железы влияют на метаболизм эстрогенов, задерживая превращение эстрона и эстрадиола в эстриол. При беременности, когда содержание эстрогенов резко увеличивается, повышается содержание йода, связанного с белками в крови, в основном вследствие повышения тироксин-связывающей способности плазмы [863].

Под влиянием эстрогенов снижается содержание гормона роста в гипофизе [219]. Возможно, что замедление

роста при наступлении половой зрелости связано с тормозящим влиянием эстрогенов на гормон роста.

Механизм действия эстрогенов на многие перечисленные обменные процессы вне половых органов совершенно не изучен. Возможно, что он не является одинаковым для всех органов и тканей, а в каждом случае имеется свое специфическое воздействие. Существуют данные, что эстрогены, конъюгированные с сульфатами (а основной формой циркулирующих в крови эстрогенов является именно эстрон-сульфат), тормозят активность транскрипционной системы [1017, 1180] путем конкуренции эстрадиол-дисульфата (или диэтилстильбэстрол-дисульфата) и фосфопиридоксаля, являющегося коферментом многих ферментативных систем, за апофермент.

Антиэстрогены

Как было показано выше, эстрогены в организме обладают очень широким диапазоном действия как на половые органы, так и на многие процессы во всем организме. Эстрогены применяются при лечении ряда заболеваний, причем их использование в каждом случае имеет целью какой-либо определенный аспект их действия, а другие стороны их влияния при этом часто являются нежелательными. Чаще всего это касается прямого специфического действия их на пролиферацию органов половой сферы и молочных желез. Поэтому уже давно проводились работы по изучению антагонизма этому основному влиянию эстрогенов. В настоящее время изучение веществ с антиэстрогенным действием проводится более широко, испытываются все новые синтетические и естественные препараты.

Вопрос об антиэстрогенном действии некоторых стероидов изучался уже давно. В первых же работах по изучению действия эстрогенов было выяснено, что прогестерон и тестостерон [1192, 1193] являются антагонистами эстрогенов. В последнее время эти данные были подтверждены с использованием новых синтетических стероидов, обладающих андрогенным и прогестативным влиянием [1120, 549, 551, 535]. Тестостерон (и другие андрогены), прогестерон (и другие прогестагены) блокируют основное действие эстрогенов на рост матки и ороговение влагалищного эпителия. В то же время андро-

генные стероиды (тестостерон, 19-нортестостерон, 17 α -этинил-17-гидроксандростерон, метиландростендион, метилтестостерон и другие) угнетают и другое проявление действия эстрогенов — увеличение веса яичников, вызываемое диэтилстильбэстролом [1120]. Показано, что кортикостероиды (кортизол, дезоксикортикостеронацетат) также обладают антиэстрогенным действием, хотя и более слабым, чем прогестерон, в отношении подавления роста матки и корнификации эпителия влагалища [1193, 1429, 551]. Антиэстрогенное действие альдостерона значительно сильнее, чем кортизола и дезоксикортикостеронацетата. Антиэстрогенным действием обладают также некоторые производные эстрогенов (3-аминоэстратриенол, 3-гидроксиэстратриен, 3-гидрокси-17-аминоэстратриен). Эти вещества являются сами по себе слабыми эстрогенами, но при введении совместно с эстрадиолом тормозят его действие подобно эстриолу, очевидно, по типу конкуренции [742].

К группе антиэстрогенов типа дифеноловых эстрогенов относятся этилстильбэстрол, *n*-пропилстильбэстрол, мезобутэстрол, рацеминбутэстрол. Самым сильным из них является диметилстильбэстрол, который даже в небольших дозах полностью подавляет действие диэтилстильбэстрола и естественных эстрогенов в отношении корнификации влагалищного эпителия [564]. Martin [1013] полагает, что его антиэстрогенное влияние объясняется конкуренцией за целлюлярные акцепторы клеток, которые он блокирует и препятствует адсорбции на них активных эстрогенов. Многие из этих веществ сами являются слабыми эстрогенами, но подавляют действие сильных эстрогенов. К ним относится описанный в 1963 г. новый препарат из этой группы — флоретин (β -*n*-гидроксифенил, 2, 4, 6-тригидроксипропиофенол) [944].

К веществам третьей группы антиэстрогенов, не имеющих по строению сходства ни естественными, ни синтетическими эстрогенами, относится препарат, условно называемый MER-25. Этот препарат обладает широким диапазоном действия — подавляет вес матки, корнификацию влагалища, нарушает нормальную беременность, устраняет подавление эстрогенами гонадотропной функции гипофиза (чего не наблюдается при действии большинства других антиэстрогенов), снимает влияние эстрогенов на липидный обмен [943]. При клиническом

испытании MER-25 у женщин Kistner и др. [872] обнаружили, что дозы от 1 до 2 г в день приводят к подавлению эндогенного эстрогенного эффекта (исчезновению гиперплазии эндометрия, снижению корнификации влагалищного эпителия). Однако количество продуцируемых эндогенных эстрогенов и гонадотропинов при этом не снижается, а, наоборот, увеличивается, снимается лишь их периферическое действие. В то же время меньшие дозы MER-25 (0,750 г в день) вызывали появление овуляции у женщин с ановуляторными циклами. В настоящее время для лечения различных нарушений цикла получил широкое распространение аналог MER-25-кломифен, причем в основном используется его стимулирующее овуляцию действие при введении небольших доз.

Вещества с антиэстрогенным действием встречаются и в растениях; в экстрактах иголок желтой сосны (*pinus ponderosa*) [451], овсяной соломе и клеверном сене [199]. Многие растительные антиэстрогены (кумэстрол, генистеин) обладают слабым эстрогенным эффектом, но тормозят действие активных эстрогенов, чем объясняется в конечном итоге их антиэстрогенная активность [617].

Поскольку эстрогены обладают очень широким спектром действия в организме, то и антиэстрогенный эффект должен рассматриваться конкретно по каждому виду действия. В большинстве исследований об антиэстрогенном действии веществ судят по угнетению веса матки, вызываемого эстрадиолом или диэтилстильбэстролом [549, 551, 535, 1429]. Угнетение корнификации влагалищного эпителия также довольно часто используется в эксперименте как показатель антиэстрогенного действия [1192, 1429, 742]. В этом отношении особенно интересна работа Emmens и др. [564], в которой авторы показали, что различные по строению группы антиэстрогенных веществ различаются по характеру своего антиэстрогенного действия. Антиэстрогены стероидной природы (тестостерон, прогестерон, 19-нортестостерон, 17-этил-19-нортестостерон, 17-этинил-19-нортестостерон) тормозят лишь самый конечный этап действия эстрогенов — именно корнификацию влагалищного эпителия, но не влияют на ранний этап действия эстрогенов — на увеличение активности дегидраз, число митозов и утолщение эпителия. Авторы полагают, что стероиды блокируют лишь проникновение лейкоцитов во влагалище, при этом эпителий

реагирует на эстрогены, но отсутствие лейкоцитов мешает появлению корнифицированных клеток в мазке. Нестероидные же антагонисты эстрогенов типа дифеноловых эстрогенов (диметилстильбэстрол, этилстильбэстрол, n-пропилстильбэстрол и другие) оказывают более глубокое действие — подавляют метаболический эффект эстрогенов, число митозов, утолщение эпителия и в конечном итоге корнификацию эпителия.

Но вопрос об антагонизме между различными стероидами и эстрогенами на более ранних этапах их действия, судя по различным биохимическим реакциям, пускаемым в ход эстрогенами, является очень сложным. Так, например, прогестерон, блокируя увеличение веса матки и корнификацию влагалищного эпителия, не является антагонистом эстрогенов в отношении накопления воды в матке [1221, 1523] и в других тканях [790], в увеличении содержания гликогена в миометрии и эндометрии, в увеличении активности β -глюкуронидазы [895], щелочной фосфатазы [242, 847] и ряда других ферментов. В некоторых же сторонах влияния эстрогенов прогестерон потенцирует их действие, например, в отношении накопления макроэргических соединений в матке [1439]. В ряде сложных сторон влияния эстрогенов на метаболизм в матке прогестерон является их антагонистом. По Little и др., прогестерон тормозит ускорение внедрения аминокислот в белки, вызываемое эстрогенами.

Кортизол является антагонистом эстрогенов не только по конечному этапу — корнификации влагалищного эпителия и росту матки, но и по самому раннему их действию — накоплению воды в матке. 11-дезоксикортикостерон, хотя и тормозит рост матки, все же не подавляет накопление воды в ней под влиянием эстрогенов [317].

Таким образом, изучение антиэстрогенного влияния различных веществ должно проводиться с изучением возможно большего числа сторон их действия. Если будет известен характер антиэстрогенного влияния тех или иных веществ, тогда можно будет избирательно применять их для подавления определенного нежелательного в данном конкретном случае компонента действия эстрогенов с сохранением других, очень важных и полезных, например, важно подавить влияние эстрогенов на пролиферативные процессы в эндометрии и сохранить их анаболический эффект и влияние на липидный обмен.

Однако работ с таким комплексным подходом к изучению антиэстрогенного действия пока немного. Так, в работе Nicol и др. [1076] показано, что тестостерон-пропионат, угнетающий вагинальный ответ на эстрогены, тормозит также стимуляцию ретикуло-эндотелиальной системы, вызванную эстроном, эстриолом, эстрадиолом-монобензоатом, этинилэстрадиолом, но потенцирует стимулирующий эффект эстрадиола-17 α .

СТРУКТУРА И СВОЙСТВА ЭСТРОГЕНОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ЖИДКОСТЕЙ И ТКАНЕЙ ЧЕЛОВЕКА

Уже в самом начале изучения внутрисекреторной функции яичников предпринимались попытки изучения биологической активности их экстрактов. Применявшаяся вначале водная вытяжка из ткани яичников [825] была неактивна, и лишь применение органических растворителей (спирта, эфира) позволило получить активный экстракт яичников и плаценты [595, 114]. Эти опыты показали, что гормоны яичника по своему строению являются липоидными веществами.

Первым источником получения эстрогенов в кристаллическом виде была моча беременных, так как Zondek и др. [1515] показали, что содержание эстрогенов в ней очень велико. Эстрон был первым эстрогеном, выделенным из мочи беременных женщин [526], вторым был эстриол [1004]. Эстрадиол-17 β был впервые получен из яичников свиней [1028], а из мочи беременных позднее [788]. Впоследствии эти три эстрогена были идентифицированы и в моче небеременных женщин [569].

Долгое время это были единственные эстрогены, обнаруженные у человека. Была изучена их структура и показано, что они содержат в своей основе циклический углеводород — циклопентанпергидрофенантрен, т. е. относятся к стероидам. В отличие от других стероидных гормонов эстрогены являются С-18-стероидами, т. е. не имеют ангулярной метильной группы при С-10, и содержат в своей основе фенольную группировку, так как кольцо А у них ароматизировано. Вследствие этого они называются также фенолстероидами.

В соответствии с Женевской номенклатурой рациональные названия для этих основных эстрогенов, выделенных в чистом виде из биологических жидкостей организма человека, следующие:

Эстрон: 3 β -гидрокси-эстра-1, 3, 5, (10) триен-17-он.

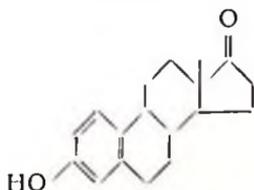
Эстрадиол: эстра-1, 3, 5 (10) триен-3 β , 17 β -диол.

Эстриол: эстра-1, 3, 5 (10) триен-3 β , 16 α , 17 β -триол.

В 1954—1955 гг. был открыт в моче человека 4-й эстроген — 16-эпиестриол [1007] и с тех пор начался быстрый прогресс в изучении новых метаболитов эстрогенов.

Не касаясь хронологической последовательности их открытия, мы приведем в следующей главе все обнаруженные в настоящее время у человека эстрогены с кратким описанием их свойств.

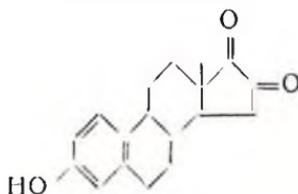
ЭСТРОН



Температура плавления +257° С. Впервые был выделен из мочи беременных [526]. Затем в 1930—1931 гг. Butenandt (цит. по [516]) и Thayer и др. [1398] установили его структурную формулу. Название «эстрон» было предложено Maggian и Hasselwood [1006] в 1932 г.

Впоследствии эстрон был идентифицирован в моче небеременных женщин [569], в крови беременных [1095], в желчи беременных [198] и небеременных [197] женщин, в яичниках свиней [1460], кобыл [1279], коров [1282]. В яичниках человека эстрон был впервые обнаружен Zander и др. [1500]. Наличие эстрона было доказано в плаценте [1050, 508] и в эякуляте человека [504]. При биологическом тестировании эстрон в 10 раз слабее эстрадиола по феномену корнификации влагалищного эпителия и в 5 раз — по эффекту увеличения веса матки.

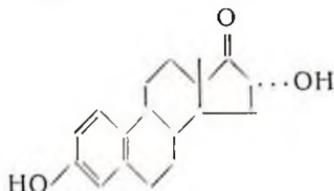
16-КЕТОЭСТРОН



Температура плавления $+212^{\circ}\text{C}$. Впервые был обнаружен Slaunwhite и др. [1295] в моче женщины при введении им радиоактивного эстрона. Lewitz и др. [948] обнаружили, что 16-кетоэстрон является также метаболитом эстриола, так как образуется в моче после введения радиоактивного эстриола. Затем наличие его в моче было подтверждено Migeon и др. [1043].

По биологической активности 16-кетоэстрон примерно равен эстриолу (при испытании по тесту ороговения слизистой влагалища), но почти не обладает активностью по тесту веса матки (в 400 раз слабее эстрона).

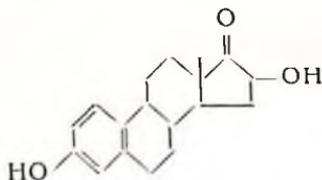
16 α -ГИДРОКСИЭСТРОН



Температура плавления $+238-240^{\circ}\text{C}$. Обнаружен в моче беременных женщин [1008, 1009] и новорожденных детей [1402].

В щелочной среде он очень неустоек и даже при комнатной температуре превращается в 16-кетоэстрадиол-17 β . По биологической активности равен эстриолу (по тесту корнификации слизистой влагалища).

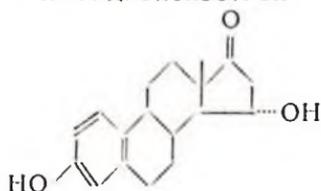
16 β -ГИДРОКСИЭСТРОН



Температура плавления $+219-221^{\circ}\text{C}$. Впервые изолирован из мочи беременных Laune и др. [936, 937]. Одновременно с ним Brown и др. [368] получили это соединение из мочи небеременных женщин в качестве метаболита введенного эстрадиола-17 β -16-C¹⁴. Среди метаболитов эстрогенов в количественном отношении занимает довольно существенное место — $1/3$ от общей фракции и 3% от общей радиоактивности мочи.

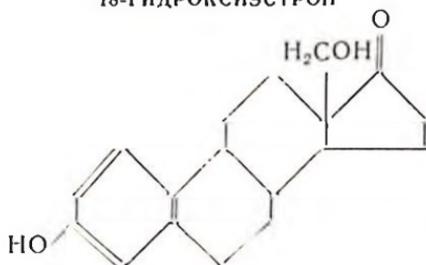
Биологическая активность его очень низкая — в 5—10 раз слабее эстрола (по тесту корнификации).

15-ГИДРОКСИЭСТРОН



Впервые это соединение было получено из эстрона при инкубации его со срезами надпочечников крупного рогатого скота [890], а затем изолировано из мочи беременных женщин [892], причем по количеству содержание его было равно 16 α -гидроксиэстроу.

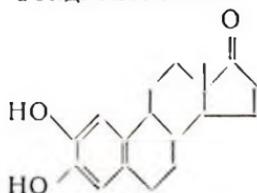
18-ГИДРОКСИЭСТРОН



Двойная температура плавления +220 и +255 — +257°С. Обнаружен Locke и др. [965, 966] в моче беременных женщин. Содержание его в моче невелико — из 100 л мочи авторам удалось выделить всего 2—4 мг. Данные о биологической активности отсутствуют.

Местом его образования, по всей вероятности, являются надпочечники, так как реакция 18-гидроксилирования известна лишь для коры надпочечника (при образовании альдостерона). Это подтверждается данными Кнуррен и др. [891], наблюдавших образование 18-гидроксиэстрола из эстрола в срезах надпочечников человека.

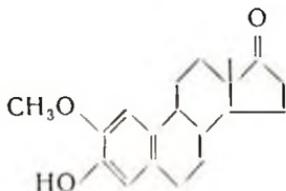
2-ГИДРОКСИЭСТРОН



Температура плавления $+200^{\circ}\text{C}$. Выделен из мочи людей Fishman и др. после введения эстрадиола-17 β -16- C^{14} [605], а затем и без введения радиоактивных изотопов [608]. По своим физико-химическим свойствам очень близок к эстрадиолу.

В целом ряде хроматографических систем движется вместе с фракцией эстрадиола. Является промежуточным продуктом образования 2-метоксиэстрона. Данных о биологической активности нет.

2-МЕТОКСИЭСТРОН

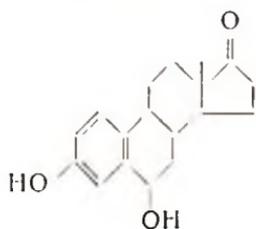


Температура плавления $+194-191^{\circ}\text{C}$. Обнаружен был в моче небеременных женщин после введения радиоактивного эстрадиола-17 β [904, 570], а также после введения 2-гидроксиэстрадиола-17 β [244].

Показано его наличие в моче беременных женщин [623, 770] и в плаценте [1406]. 2-метоксиэстрон обнаружен в качестве метаболита 2-гидроксиэстрадиола при инкубации его со срезами печени и надпочечников человека [245]. 2-метоксиэстрон обладает несколько отличными от других фенолстероидов свойствами — он не экстрагируется щелочью из органических растворителей, не дает реакции с серной кислотой и не флуоресцирует. При определении эстрогенов по методу Brown [357] попадает во фракцию метилового эфира эстрадиола, но в реакции Кобера дает иной спектр поглощения с максимумом при 550 *мк* [608]. В количественном отношении составляет около 30% фракции эстрадиола. Среди метаболитов эстрогенов ему принадлежит довольно значительное место — на его долю приходится около 8% всей радиоактивности мочи, при введении эстрадиола-17 β -16- C^{14} .

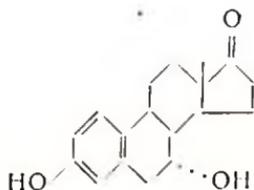
Биологически очень слабый эстроген — в 20 000 раз слабее эстрадиол-17 β (по тесту увеличения веса матки).

6-ГИДРОКСИЭСТРОН



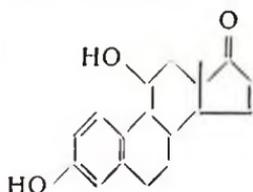
Был выделен из мочи беременных женщин Locke и др. [965, 966].

7 α -ГИДРОКСИЭСТРОН



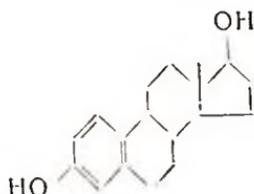
Был получен Starka и др. [1344] при инкубации культуры тканей яичников человека с 7 α -гидроксидегидроэпиандростероном.

11 β -ГИДРОКСИЭСТРОН



Температура плавления +227°С. Изолирован Chang и др. [435] из мочи адrenaлэктомированной и оофорэктомированной женщины (по поводу рака молочной железы) после введения радиоактивного кортизола и кортизон-ацетата. Следовательно, это вещество является метаболитом кортикоидов и может, вероятно, образовываться при ароматизации 11-кето-андрост-4-ен-3, 17-диона или 11-гидроксиандрост-4-ен-3, 17-диона. При определении биологической активности оказался в 20 раз слабее эстрогена.

ЭСТРАДИОЛ-17 β

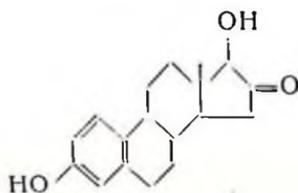


Температура плавления +227° С. Вначале был получен химическим путем из эстрона David и др. [483], которые и предложили название «эстрадиол».

Из биологических объектов впервые был изолирован из яичников свиней [1028]. Позднее был выделен и из яичников человека [1500]. Из мочи беременных эстрадиол был получен в 1940 г. [788]. Эстрадиол идентифицирован также и в крови беременных женщин [1095]. Доказано его наличие и в плаценте [788, 1050, 508], в семенниках человека [669], в эякуляте, в желчи беременных [198] и небеременных [197].

Эстрадиол — самый активный эстроген при биологическом тестировании.

16-КЕТОЭСТРАДИОЛ-17 β

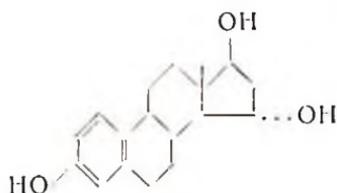


Температура плавления +236,5—238,5° С. Впервые был выделен из мочи людей в качестве метаболита эстрадиола-17 β -16-С¹⁴ [948], затем и эстриола [949].

Лаупе и др. [936, 937] выделили его из мочи беременных женщин. Впоследствии он был выделен и идентифицирован из плаценты человека [504], из мочи новорожденных детей [1402].

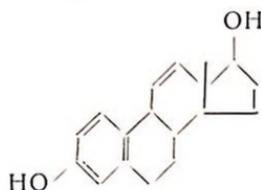
При испытании его биологической активности обнаружено, что он слабее эстрадиола-17 β по тесту корнификации влагалищного эпителия всего в 20 раз, а по тесту веса матки — в 1000 раз.

15 α -ГИДРОКСИЭСТРАДИОЛ-17 β



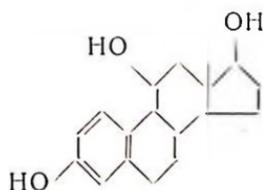
Был выделен в качестве метаболита эстрадиола-17 β при инкубации срезов ткани надпочечника человека [891], а также при перфузии печени плода человека радиоактивным эстроном и эстрадиолом [1267].

11-ДЕГИДРОЭСТРАДИОЛ-17 β



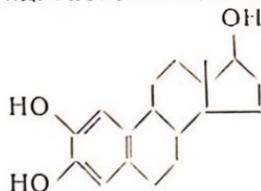
Изолирован из мочи беременных женщин [985]. При определении эстрогенов по методу Brown он попадает во фракцию эстрадиола. По количественному содержанию в моче беременных женщин равен или даже больше эстрадиола-17 β .

11 β -ГИДРОКСИЭСТРАДИОЛ-17 β



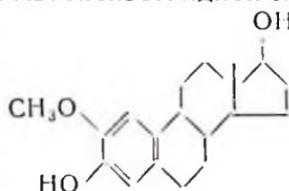
Выделен из мочи адrenaл- и оофорэктомированной женщины в качестве метаболита радиоактивного кортизола и кортизон-ацетата [435]. Его образование, вероятно, осуществляется прямой ароматизацией оксигенированного в 11 положении андростендиона.

2-ГИДРОКСИЭСТРАДИОЛ-17β



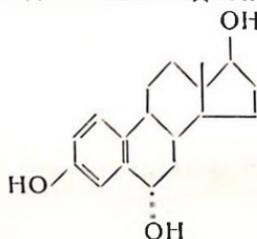
Обнаружен в моче при введении людям радиоактивного эстрадиола-17β в качестве его метаболита [605].

2-МЕТОКСИЭСТРАДИОЛ-17β



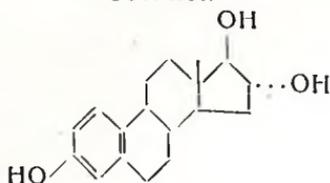
Был идентифицирован в моче беременных женщин Frandsen [623]. Врегер и др. [340] обнаружили его при инкубации срезов печени человека с 2-гидроксиэстрадиолом. Diczfalussy и др. [519] нашли 2-метоксиэстрадиол в тканях плода человека после инъекции в амниотический мешок радиоактивного эстрадиол-17β.

6α-ГИДРОКСИЭСТРАДИОЛ-17β



Этот эстроген не выделен пока из мочи людей, но получен в качестве метаболита эстрадиола при инкубации его со срезами печени плода человека [337, 339], а также со срезами яичника человека.

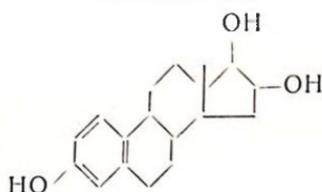
ЭСТРИОЛ



Температура плавления $+281,2^{\circ}\text{C}$. Впервые был обнаружен в моче беременных [1004, 525], затем и в моче небеременных женщин [569]. Эстриол идентифицирован также и в крови беременных [1095], в плаценте [1050, 508], в желчи беременных [198] и небеременных [197], в яйцниках человека [1304, 856].

При биологическом тестировании по весу матки и по корнификации влагалищного эпителия эстриол в 50—100 раз слабее эстрона, но обладает специфическим действием на рост шейки матки, на интенсификацию ранних стадий метаболизма матки под влиянием эстрогенов (ускорение синтеза РНК, белков, накопление воды).

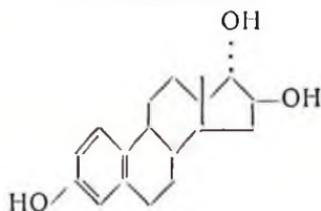
16-ЭПИЭСТРИОЛ



Температура плавления $+274—+276^{\circ}\text{C}$. Впервые его обнаружили в моче беременных женщины Margian и др. [1007], а затем было показано наличие его и в моче небеременных [1086]. Содержание его в моче женщин с нормальным менструальным циклом примерно в 5 раз меньше, чем эстриола [1086]. Кроме того, 16-эпиэстриол идентифицирован в плаценте [514, 1407], и в желчи [197]. Вгеер и др. [330, 332] обнаружили 16-эпиэстриол в качестве метаболита 16β -гидроксистерона при инкубации его со срезами печени человека.

По биологической активности он примерно равен эстриолу (по тесту корнификации). У женщин вызывает корнификацию вагинального эпителия и появление симптома зрачка, но неактивен в отношении пролиферации эндометрия.

16,17-ЭПИЭСТРИОЛ

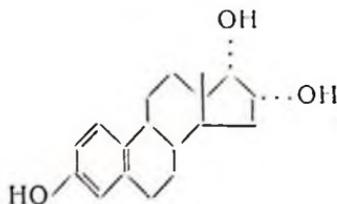


Температура плавления +248—+250° С.

Был идентифицирован как метаболит 16 α -гидроксиэстрона в печени человека [330] при инкубации ее с 16 α -гидроксиэстроном, а также в моче беременных [335, 338].

По тесту корнификации вагины слабее эстриола. У женщины вызывает пролиферацию вагинального эпителия, но не приводит к пролиферации эндометрия и росту матки.

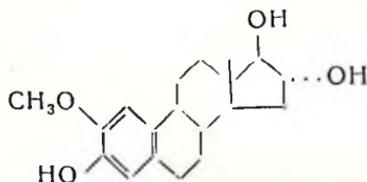
17-ЭПИЭСТРИОЛ



Температура плавления +235,5—+237° С. Обнаружен в качестве метаболита при инкубации срезов печени человека с 16 α -гидроксиэстроном [330, 331], а также в моче мужчин после инъекции 16 α -гидроксиэстрона [1086] и в моче беременных женщин [338].

Биологически он в 2 раза активнее эстриола по тесту корнификации слизистой влагалища и равен эстриолу по тесту открытия влагалища у неполовозрелых самок лабораторных мышей. По влиянию на вагинальный эпителий, эндометрий и миометрий у женщины аналогичен 16-эпиэстриолу и 16, 17-эпиэстриолу.

2-МЕТОКСИЭСТРИОЛ



Температура плавления +215—+218° С. Frandsen [623] обнаружил его в моче беременных женщин. В моче небеременных 2-метоксиэстриол определялся после инъекции женщинам 17 β -эстрадиола [604]. Он обнаружен также при инкубации эстриола со срезами печени крыс [336].

Биосинтез эстрогенов в яичниках

К клеткам, ответственным за продукцию эстрогенов яичниками, относили клетки гранулезы фолликула. Такое заключение было основано на том, что в фолликулярной жидкости содержится много эстрогенов, а также на обнаружении эстрогенов в гранулезоклеточных опухолях яичника [177, 1089, 1105, 1235, 389, 810]. Однако уже давно появились возражения против этого. Westman [1464] при выжигании всех фолликулов, кроме одного, у которого он также выжигал гранулезные клетки и оставлял лишь тека-клетки, наблюдал эстральные изменения у подопытных животных. Следовательно, по его мнению, именно тека-клетки продуцируют эстрогены. Продукция эстрогенов при тека-клеточных опухолях яичника у людей обычно бывает более высокой, чем при гранулезоклеточных опухолях [893, 857, 810]. Но поскольку опухоли яичников в большинстве случаев бывают смешанными, лишь с преобладанием того или иного вида клеток, определение количества эстрогенов в них не может служить окончательным доказательством места продукции эстрогенов в яичниках. Short [1283] на том основании, что в фолликулярной жидкости кобыл содержатся эстрогены, а в желтом теле, которое у кобыл состоит из чистых клеток гранулезы, он их не обнаружил, пришел к выводу, что клетки гранулезы не способны синтезировать эстрогены, а что таким свойством обладают лишь клетки теки. Наличие эстрогенов в желтом теле человека и других животных объясняется, по его мнению, присутствием там тека-клеток. Однако Falk [593], который производил пересадку тека или гранулезных клеток из фолликулов яичников крыс в переднюю камеру глаза вместе с кусочками влагалница, показал, что чистые системы, состоящие только из клеток теки или гранулезы, не продуцируют эстрогенов, и что для выработки эстрогенов необходимо действие этих двух видов клеток. К такому же заключению приходят и Diczfalusy и Lauritzen [516], которые считают, что в гранулезных клетках образуются, вероятно, или сами эстрогены, или их предшественники, которые в тека-клетках подвергаются дальнейшему превращению. Ввиду большой васкуляризации тека-клеток,

возможно, именно через них и происходит поступление эстрогенов в кровь. Инкубированием *in vitro* срезов яичников человека с 4-С¹⁴-прогестероном было показано, что активный синтез предшественников эстрогенов и самих эстрогенов (реакция 17-гидроксилирования С-21 стероидов) идет только в фолликулярных и лютеиновых тканях яичников, а соединительная ткань, клетки стромы и капсулы способны осуществлять лишь реакцию С-20 гидроксилирования, которая ведет к появлению побочных продуктов (20-гидроксн-4-преген-3-он), не являющихся предшественниками эстрогенов [1451].

В недавней работе Ryan и др. [1233], инкубируя с прегненолоном и с прогестероном отдельно ткани тека интерна и гранулезы, выделенные из фолликулов или фолликулярных кист яичников человека, показали присутствие эстрогенов в инкубационной среде. Этим авторы доказали возможность биосинтеза эстрогенов обеими видами ткани яичников.

После наступления менопаузы, когда в яичниках исчезает фолликулярный аппарат, продукция эстрогенов в них осуществляется, по-видимому, гиперплазированными клетками стромы яичников. Это заключение основано на том, что в случае постклимактерических кровотечений и гиперплазии эндометрия в яичниках при полном отсутствии фолликулов находят лишь гиперплазию лютеиновых клеток стромы яичника и иногда гиперплазию клеток хилуса [1089, 915, 916, 362]. Способность интерстициальных клеток яичников к продукции эстрогенов была показана в экспериментах с облучением яичников. Jopek [834] показал наличие эстрона и эстрадиола, а также прогестерона в интерстициальных клетках яичников кроликов, причем их содержание зависело от стадии полового цикла и от возраста животных. Falk [593] в опытах с пересадкой ткани яичников в переднюю камеру глаза крысы показал, что интерстициальные клетки способны продуцировать эстрогены, как и клетки теки, но только в контакте с клетками гранулезы или тканью желтого тела. В работе Rice и Savard [1176] показано, что клетки стромы яичников способны продуцировать эстрон и эстрадиол как при нормальном цикле, так и после менопаузы, но основными стероидами, продуцируемыми клетками стромы, являются андрогены (андростендион и тестостерон).

Эстрогены были обнаружены в тканях яичника давно. Mc Corquodale и др. [1028] еще в 1936 г. идентифицировали выделенный из яичников свиней эстрадиол, Westergfeld и др. [1460] — эстрон. В яичниках человека также были найдены эстрон и эстрадиол как в фолликулярной жидкости [1304, 1285, 1311], так и в желтом теле [1500]. Что касается эстриола, то некоторые авторы не могли обнаружить его в яичниках [1500]. Другие исследователи не находили эстриола в фолликулиновую фазу цикла, но обнаруживали его в лютеиновую [1304, 1311]. Однако Kecskes и др. [856] находили в яичниках, наряду с эстроном и эстрадиолом, также и эстриол в довольно большом количестве, как в фолликулиновую, так и в лютеиновую фазы цикла.

Для решения вопроса о том, какие же из продуцируемых яичником эстрогенов поступают в кровь, т. е. являются истинными гормонами, большое значение имеют работы о содержании эстрогенов в крови, оттекающей от яичника. По данным Mahesh и др. [991], у женщин с нормальными яичниками в плазме крови, взятой из яичниковой вены, обнаружен только эстрадиол. Эстрон и эстриол не обнаружены ни до, ни после стимуляции фолликулостимулирующим гормоном. Следовательно, основным, если не единственным, истинным гормоном яичника является эстрадиол.

Кроме эстрогенов, в яичниках различных животных и человека был идентифицирован ряд других стероидных веществ, которые являются промежуточными этапами биосинтеза эстрогенов: прогестерон, прегненолон, 17α -гидроксипрогестерон, 17α -гидроксиpregненолон, андростендион, дегидроэпиандростерон, 19 -гидроксиандростендион, тестостерон [991, 1282, 1281].

Основные пути биосинтеза эстрогенов в яичниках изучаются путем инкубации ткани яичников *in vitro*, правда, при этом всегда возникает вопрос о том, насколько правомочно переносить эти данные на биосинтез *in vivo*. Образование эстрона и эстрадиола было обнаружено при инкубации срезов яичников человека и животных с ацетатом- C^{14} [741, 1247, 1374, 1230, 721, 1175], с холестерином [1311], с прогестероном, 17α -гидроксипрогестероном или прегненолоном [1374, 1231, 246, 1227], с тестостероном [250, 1493, 1356], с андростендионом [1374, 1310, 783]. При этом выход эстрогенов увеличивался

по мере того, как для инкубации брался все более близкий их предшественник. Так, Smith и др. [1311] показали, что инкубация срезов яичников нормально менструирующей женщины (после предварительного введения ей ФСГ) с ацетатом дает выход суммы эстрона и эстрадиола всего 0,03%, с холестерином — 0,1%, с прогестероном — 5,5%, с андростендионом — 15%. Следовательно, наиболее близкими предшественниками эстрогенов являются андрогены, именно тестостерон и андростендион. Если тестостерон в тканях яичников здоровых женщин еще не удалось обнаружить [1496, 1285, 1281, 991], то андростендион обнаружен в довольно больших количествах [1281, 991]. В то же время при инкубации яичников *in vitro* с различными предшественниками андрогенов доказано образование как андростендиона, так и тестостерона [1327, 1046, 926, 1247, 940, 991, 1176].

Стимуляция яичников гонадотропинами приводит к усилению продукции андростендиона и тестостерона [981, 1311], наряду с увеличением продукции эстрогенов. Это также свидетельствует о том, что андрогены являются промежуточным звеном в биосинтезе эстрогенов. При этом увеличивается не только содержание андрогенов в яичнике, но и выход их в кровь [991]. В вене яичников нормально менструирующих женщин не было обнаружено ни андростендиона, ни тестостерона, стимуляция же ФСГ привела к появлению в венозной крови, оттекающей от яичника, небольших количеств андростендиона.

По данным Seeman и др. [1269], в крови, оттекающей от яичников, содержание суммарных 17-кетостероидов значительно выше, чем в периферической крови. Удаление яичников у женщин приводит к значительному снижению 17-кетостероидов в периферической крови. Все это, по мнению авторов, свидетельствует о том, что яичники продуцируют андрогены и выделяют их в кровяное русло.

Поскольку тестостерон и андростерон являются С-19-стероидами, то для их превращения в эстрогены, являющиеся С-18-стероидами, необходимо отщепление девятнадцатого атома углерода, а также ароматизация кольца А. Показано, что ароматизация С-19-стероидов включает в себя сначала гидроксирование углерода в 19-положении с образованием 19-гидрокси- и 19-альдо-

дериватов тестостерона и адростен-3,17-диона с последующим удалением этих 19-оксигенированных атомов углерода и внедрением двойных связей в кольцо А [1039, 250, 967, 247].

Современные данные дают возможность привести следующую схему стероидогенеза (биосинтеза) эстрогенов в яичниках (стр. 72).

Из ацетата образуется сначала холестерин, из него — прегненолон. Обязательно ли образование холестерина — не известно, но прегненолон является необходимым предшественником при биосинтезе эстрогенов. Начиная с прегненолона, существуют два пути их биосинтеза. Один из них приводит к образованию прогестерона и 17α -гидроксипрогестерона, а другой — к образованию 17α -гидроксиpregненолона, а из него — дегидроэпиандростерона.

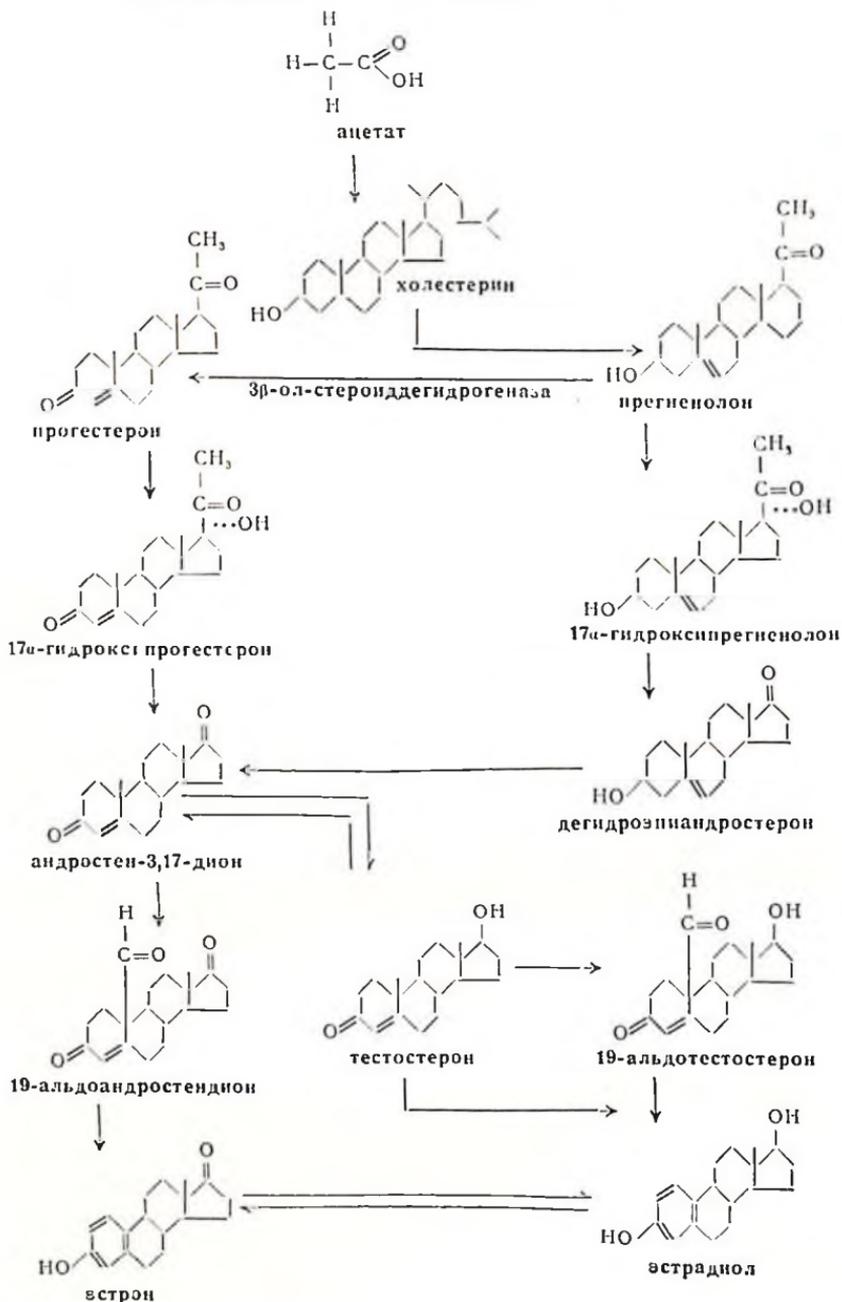
При этом путь через прогестерон и 17 -гидроксипрогестерон является основным, а путь через 17 -гидроксиpregненолон в количественном отношении менее важен, хотя его существование подтверждается идентификацией дегидроэпиандростерона в фолликулярной жидкости [1282, 991] или в инкубационной среде при инкубации ткани яичников с радиоактивными предшественниками [1230, 1311].

В работе Ryan и др. [1233] при инкубации отдельных клеток гранулезы и тека интерны фолликулов человека было показано, что путь через прогестерон является преобладающим в гранулезных клетках фолликулов, а в клетках тека интерна был более выражен второй путь биосинтеза — через Δ^5 -соединения (т. е. через 17α -гидроксиpregненолон и дегидроэпиандростерон).

Затем оба пути вновь сходятся на образовании андростендиона. Андростендион частично превращается в тестостерон, причем эта реакция обратима. В дальнейшем через продукцию гидроксипроизводных из тестостерона образуется эстрадиол, а из андростендиона — эстрон.

В последнее время было показано, что существенную роль при биосинтезе эстрогенов играет дегидроэпиандростерон-сульфат [1096]. При его внутривенном введении синтез эстрогенов происходит намного интенсивнее, чем при введении неконъюгированного дегидроэпиандростерона. Ранее считалось, что конъюгирование стероидов, в том

Схема биосинтеза эстрогенов в яичниках



числе и образование дегидроэпиандростерона-сульфата не может происходить в эндокринных железах, но в последнее время доказано образование дегидроэпиандростерона-сульфата непосредственно в яичниках и надпочечниках, что свидетельствует об его участии в биосинтезе эстрогенов. Однако соотношение этого пути биосинтеза с другими, описанными выше, пока еще не выяснено. Существование подобного пути биосинтеза с несомненностью доказано в плаценте, но у небеременных женщин он, возможно, не имеет большого значения [995].

В последнее время появились данные [611] о том, что в гранулезоклеточных опухолях (в которых были также и нормальные овариальные клетки) и в кистозной жидкости содержится в большом количестве эстрон-сульфат и что, возможно, этот конъюгат эстрона может играть важную роль в биосинтезе и метаболизме овариальных эстрогенов.

Для синтеза эстрогенов, не насыщенных в кольце В (эквилина, эквиленина), которые в яичниках человека не образуются, а являются характерными для яичника кобыл, существует, вероятно, другой путь биосинтеза — не через андрогены [741].

Биосинтез эстрогенов в плаценте

Наличие эстрогенов в плаценте было доказано давно. Присутствие эстрона, эстрадиола и эстриола в плаценте было подтверждено впоследствии с более точной идентификацией фракций [1050, 508].

Diczfalusy и др. [514] обнаружили в плаценте также 16-кетоэстрадиол. Все эти эстрогены в плаценте находятся в свободном состоянии, а не в конъюгированном виде.

В работе Dancis и др. [479] было показано, что плацента осуществляет быстрый переход свободных эстрогенов от матери к плоду и наоборот. Но конъюгированные эстрогены проникать через плаценту не могут.

Большинство исследователей придерживались той точки зрения, что плацента является основным местом синтеза эстрогенов при беременности. Он происходит в плодовой части плаценты. Подтверждением этого является исследование Cassmer [428], который при пере-

вязке пуповины, что приводило к гибели плода, и оставлении плаценты *in situ* наблюдал резкое падение экскреции эстрогенов с мочой (более чем на 50%) и почти полное исчезновение их в плаценте. Но если после такой операции и удаления плода производить перфузию плаценты материнской кровью, то содержание эстрогенов в плаценте сохраняется на том уровне, что и в интактной плаценте. Автор делает вывод, что перевязка пуповины нарушает гемодинамику плодовой части плаценты, что является причиной резкого снижения синтеза эстрогенов, а восстановление кровообращения возобновляет их продукцию. Способность плаценты к продукции эстрогенов доказывается и в опытах *in vitro*. Declerk (цит. по [516]) обнаружил продукцию эстрогенов в культуре ткани плаценты.

Продукция эстрогенов была обнаружена также при перфузии раствором Рингера и цитратной кровью плаценты, извлеченной через 30 мин после изгнания плода [430, 1427].

О месте продукции эстрогенов при беременности существовала и другая точка зрения. Многие авторы считали, что основная масса эстрогенов при беременности образуется в коре надпочечников плода [623, 628, 86]. Это предположение обосновывалось тем, что при рождении анэнцефалов, у которых наблюдалось резко выраженная атрофия коры надпочечников, выделение эстрогенов у матери на протяжении всей беременности было очень низким [623, 628, 1041]. При сопоставлении уровня экскреции эстрогенов у матери и морфологического исследования плаценты очень часто не находили между ними корреляции [328], тогда как уровень эстриола в моче матери в большинстве случаев очень хорошо отражал функциональное состояние плода. Однако работами последних лет обе эти точки зрения полностью примирены. Было показано, что плацента и плод в отношении синтеза и обмена эстрогенов представляют собой единое целое — фетоплацентарную единицу [302, 328, 1427]. Было показано, что в коре надпочечников плода образуется основная масса предшественников эстрогенов, которые затем уже превращались в эстрогены в плаценте.

По мнению Hammerstein и др. [722], в образовании эстрогенов при беременности принимает участие и кора

надпочечников матери, где образуются какие-то предшественники эстрогенов, возможно, дегидроэпиандростерон-сульфат, которые в плаценте или у плода превращаются в эстрогены. К этому выводу авторы пришли на основании обследования беременной женщины с удаленными обоими надпочечниками, у которой в течение всей беременности и особенно в конце ее наблюдалась очень низкая экскреция эстрогенов с мочой.

Пути биосинтеза эстрогенов плацентой имеют много общего с таковыми в яичниках, но имеются и существенные отличия. В отличие от яичников в плаценте путь биосинтеза через прогестерон \rightarrow 17α -гидроксипрогестерон \rightarrow андростендион \rightarrow эстрогены не имеет существенного значения [814]. Авторы полагают, что основной путь биосинтеза эстрогенов в плаценте осуществляется через прегненолон \rightarrow 17α -гидроксипрегненолон \rightarrow дегидроэпиандростерон-сульфат \rightarrow эстрогены. Именно дегидроэпиандростерон-сульфат является основным предшественником эстрогенов у беременных женщин. Основная масса его образуется в коре надпочечников плода, а превращение в эстрогены завершается в плаценте. В первые дни жизни ребенка в моче его содержится большое количество дегидроэпиандростерона, причем стимуляция ХГ увеличивает его выделение в несколько раз [933]. Это, по мнению автора, указывает на то, что ХГ при беременности регулирует синтез эстрогенов путем стимуляции продукции дегидроэпиандростерона надпочечниками плода.

Плацента обладает очень активными ферментативными системами, осуществляющими ароматизацию. Это было доказано в опытах с инкубацией срезов ткани плаценты с 19-гидроксиандростен-3, 17-дионом [1038, 967], тестостероном [251], а также при перфузии плаценты *in situ* [300, 301, 1427] и при введении дегидроэпиандростерона и его сульфата в пупочную вену и маточную артерию [302].

Энзимы, катализирующие эту реакцию с участием трифосфопримидиннуклеотида, содержатся в микросомной фракции плаценты [1226]. По мнению Varangot и др. [1427], ХГ активизирует реакции гидроксирования и таким образом стимулирует процессы ароматизации с образованием эстрогенов. По данным Smith и др. [1314], ароматизация тестостерона и андростендиона плацентой

усиливается после добавления кломифена (MRL-41), который приводит также и к гиперсекреции эстрогенов яичниками. Вещества, подавляющие активность 19-гидроксилазы (SU-4885), приводят к торможению превращения тестостерона в эстрогены препаратами плаценты человека [591].

В более ранних работах было показано, что в плаценте может происходить взаимное превращение эстрона и эстрадиола, но они не могут превратиться в эстриол [948]. Однако впоследствии было показано, что для превращения эстрадиола в эстриол в перфузируемой плаценте необходимо присутствие хорионического гонадотропина, при этом, кроме эстриола, образуется также 2-метоксиэстрон и 16-эпиэстриол [1407]. При беременности основным эстрогеном мочи является эстриол. Возникло сомнение в том, что вся продукция эстриола происходит из эстрона и эстрадиола. Brown [360] рассчитал, что если метаболизм эстрогенов у беременных такой же, как у небеременных женщины, то весь эстриол, обнаруживаемый в моче, не может происходить из эстрона и эстрадиола, а поэтому, вероятно, плацента способна непосредственно продуцировать эстриол. К такому же выводу пришли Fishman и др. [608]. Вводя беременной женщине радиоактивный эстрадиол, авторы обнаружили, что удельная активность эстриола была значительно ниже, чем эстрона и эстрадиола, что свидетельствовало об ином пути его образования. Подобное же заключение сделали и Baulieu и др. [267], обнаружив, что после инъекции беременным женщинам меченого тритием дегидроизоандростерона и меченых по углероду тестостерона и андростендиона соотношение T^3 (тритий) и C^{14} активностей для эстриола было иное, чем для эстрона и эстрадиола. следовательно, эстриол образуется из дегидроизоандростерона каким-то иным путем, не через тестостерон и андростендион.

Ryan [1224, 1225] выдвинул предположение о том, что эстриол в плаценте может образовываться прямой ароматизацией Δ^5 -андростен-3 β , 16 α , 17 α -триола, без предварительного превращения в эстрон и эстрадиол, возможно, через промежуточное образование 16 α -гидроксиэстрона. Из мочи беременных и из плацентарной крови был изолирован 16 α -гидроксипрогестерон [1501], 16, 17-дигидроксиандрост-4-ен-3-он, Δ^5 -андростен-3 β , 16 α ,

17 β -триол — гипотетические промежуточные продукты этого пути биосинтеза эстриола. Little и др. [962] доказали образование гомогенатами плаценты человека 16 α -гидроксипрогестерона и андростендиона при инкубации их с прогестероном. Возможно, что этот путь прямого образования эстриола в какой-то мере присущ, хотя и в ограниченной степени, яичникам.

Биосинтез эстрогенов в надпочечниках

Ранее считалось, что половые гормоны образуются только в сетчатой зоне надпочечников.

Но последние данные [1451] показали, что андрогены могут синтезироваться как пучковой, так и сетчатой зонами. Однако до настоящего времени неясно, продуцируются ли в надпочечниках сами эстрогены или их предшественники (андрогены), которые затем превращаются в эстрогены уже в других частях организма.

Доказательства секреции надпочечниками эстрогенов в основном базируются на косвенных данных. К ним относятся: 1) наличие эстрогенов в моче после удаления яичников [477, 789, 1245, 515]; 2) снижение экскреции эстрогенов после удаления надпочечников [476, 477, 789, 370, 400, 1459] или при подавлении функции надпочечников препаратами типа кортизола [1081]; 3) высокое выделение эстрогенов с мочой при некоторых опухолях надпочечников и падение их экскреции после удаления опухоли [1458, 1213, 730, 1275].

Прямым доказательством продукции эстрогенов надпочечниками являются работы о выделении эстрогенов из ткани самого надпочечника. Однако до сих пор эстрогены были выделены только из ткани надпочечников быка [574, 269] и надпочечников плодов человека [1109, 424, 1477, 489]. Именно последние работы дали основание ряду авторов утверждать, что эстрогены при беременности продуцируются не плацентой, а надпочечниками плода. Однако высокое содержание эстрогенов в надпочечниках плода еще не является убедительным доказательством продукции их надпочечниками, так как содержание эстрогенов у плода довольно высокое и в других тканях и органах (печень, почки, легкие) и является, по-видимому, следствием их поглощения из крови, насыщенной эстрогенами.

Из ткани надпочечников взрослых людей еще никому не удалось выделить эстрогены [568].

При инкубации ткани надпочечников *in vitro* с непосредственными предшественниками эстрогенов — 19-гидроксиандростендионом — Meyer [1039] обнаружил продукцию эстрогенов, а Grueter и др. (цит. по [516]) и Engel и др. [573] не смогли их выявить в инкубационной среде.

Hardy и др. (цит. по [516]) показали, что содержание эстрогенов в крови из вены надпочечников выше, чем в периферической крови, но Grueter (цит. по [516]) не мог этого подтвердить. Возможно, что в надпочечниках продуцируются особые эстрогены, которые не образуются в яичниках. Так, Salhanik и др. [1239] в ткани карциномы надпочечников обнаружили эквиллины.

Ввиду того, что в надпочечниках имеется 11- и 18-гидроксилазы, необходимые для синтеза кортикостероидов, а в яичниках этих энзимных систем нет, в надпочечниках возможно образование 11-гидроксилированных эстрогенов, что и было доказано Chang и др. [435].

Loke и др. [966] считают, что 18-гидроксиэстрон также продуцируется лишь в надпочечниках при гидроксилировании эстрона в положении 18.

Биосинтез эстрогенов в семенниках

Впервые в ткани семенников эстрогены были обнаружены у жеребцов [269]. В семенниках человека также было показано наличие эстрадиола-17 β в количестве 5,7 мкг на 1 кг веса ткани, а эстрон и эстриол не были обнаружены [669]. В то же время в опытах *in vitro* было установлено, что в семенниках имеются энзиматические системы, способствующие превращению эстрона в эстрадиол [1228]. Биосинтез эстрогенов в семенниках, по-видимому, протекает по тому же пути, что и в яичниках. Rabinovitz [1152] обнаружил образование эстрогенов в опытах с инкубацией семенников человека с ацетатом. В тестикулярной ткани происходит также реакция ароматизации — превращение тестостерона в эстрадиол при инкубации *in vitro* [251]. По-видимому, разница между биосинтезом эстрогенов в семенниках и яичниках не качественная, а количественная.

Место продукции эстрогенов в семенниках окончательно не выяснено. По мнению одних исследователей, эстрогены образуются в клетках герминативного эпителия [1029, 1252], по мнению других, — в клетках Сертоли [1392, 1097]. Но более вероятно, что местом образования эстрогенов в семенниках являются клетки Лейдига, так как при стимуляции семенников ХГ увеличивается продукция эстрогенов и одновременно наблюдается гиперплазия клеток Лейдига. Фермент 3β -ол-дегидрогеназа, абсолютно необходимый для биосинтеза стероидов, также обнаружен лишь в клетках Лейдига [256].

Суточная продукция эстрогенов в организме человека

Продукцию эстрогенов в организме можно вычислять различными путями. В более старых работах было показано, что для образования предменструального эпителия у кастрированных женщин нужно ввести 84 000 ИЕ за 21 день, т. е. в сутки 4000 ИЕ эстрадиола, следовательно, примерно такое же количество эстрогенов (4000 ИЕ = 400 мкг) продуцируется в организме женщины за сутки.

Wagon [360] вычислял количество эстрогенов, продуцируемых в организме за сутки, по величине их суточной экскреции, учитывая, что мочой выводится в среднем 16% от введенной дозы эстрогена или эстрадиола. Если такой же процент и эндогенных эстрогенов попадает в мочу, то, по его данным, в фолликулярную фазу цикла яичник секретует от 70 до 340 мкг/24 ч, в лютеиновую — 160—200 мкг/24 ч.

По мнению Kaufman [853], у женщин в течение цикла образуется 2—10 мг эстрогенов, что соответствует примерно 70—330 мкг/24 ч. Zander и др. [1500] на основании содержания эстрогенов в желтом теле рассчитали, что в лютеиновую фазу цикла у женщин образуется 200—300 мкг эстрогенов в сутки.

Guprido и др. [703] использовали для вычисления продукции эстрогенов определенную радиоактивность эстрогена, эстрадиола и эстриола в моче после введения следовых доз меченого тритием эстрадиола с тем, чтобы существенно не изменять количества циркулирующих эстроге-

нов в крови и тем не изменить процент их выведения мочой. По их данным, у женщин в течение цикла в сутки продуцируется 200—500 мкг эстрадиола. Применяв подобный же метод, Morse и др. [1058] обнаружили, что у женщины 36-летнего возраста на 6-й день 29-дневного цикла продуцировалось 61 мкг эстрона и эстрадиола, на 19-й день — 227 мкг.

Goering и др. [665], применив разработанный ими метод определения скорости секреции эстрогенов методом изотопного разведения, обнаружили, что в постменструальной фазе скорость секреции эстрогенов составляет 35—100 мкг в день, в середине цикла наблюдается увеличение до 288 мкг в день, в лютеиновой фазе — 60—187 мкг в день.

Как видно, данные о продукции эстрогенов у женщин, полученные различными авторами при неодинаковых подходах к решению вопроса, в основном совпадают между собой. Продукция эстрогенов (60—400 мкг/24 ч) в организме женщины осуществляется главным образом яичниками; надпочечники у женщин продуцируют, по мнению Diczfalusy и др. [516], всего 15—30 мкг/24 ч, а возможно и еще меньше, так как часть эстрогенов поступает в организм из пищи, а этот расчет произведен на основании определения выделения эстрогенов с мочой. Nohlweg (цит. по [516]) рассчитал, что ежедневно с пищей человек получает 50—400 МЕ (5—40 мкг) эстрон-эквивалента, что составляет 2—20% от продукции эстрогенов в организме женщины.

Если принять, что у мужчин в среднем выделяется с мочой около 9—10 мкг эстрогенов в сутки, и применить тот же расчет, что и для женщин, то продукция эстрогенов в организме мужчин составит 60—70 мкг за 24 ч, из них 5—20 мкг происходят из надпочечников, а остальное — из семенников. По данным Callow и др. [415], 80% эстрогенов у мужчин образуется в семенниках и лишь 20% — в надпочечниках.

При беременности продукция эстрогенов резко возрастает. В конце беременности, по данным Brown [360], продуцируется около 25 мг эстрона и эстрадиола и 65 мг эстриола в сутки. Diczfalusy и др. [516] приводят величину 40—100 мг эстрогенов в сутки на 38—40-й неделе беременности.

Как видно, у небеременных женщин, а тем более у мужчин, продукция эстрогенов за сутки очень небольшая, значительно меньшая, чем всех остальных стероидных гормонов. Например, при нормальном менструальном цикле продукция прогестерона равна 200 мг в сутки [854]. Даже суточная продукция тестостерона у женщины, составляющая, по данным Kogeman и др. [899], 940—280 мкг, выше, чем продукция эстрогенов.

МЕТАБОЛИЗМ ЭСТРОГЕНОВ

Экстрагенитальные превращения эстрогенов

Как было показано выше, эстрогены у небеременных образуются в яичниках, причем первичными гормонами являются эстрадиол и эстрон. Все же остальные эстрогены, которые были идентифицированы в моче и в других тканях, образуются путем преобразования этих первичных эстрогенов, причем, согласно данным Fishman и др. [606, 607], именно эстрона, а не эстрадиола.

Превращение эстрона в эстрадиол и обратно совершается не только в ткани яичника, но и в других тканях организма — плаценте, семенниках, печени, молочных железах, кишечнике [1228, 947, 925], эритроцитах [687, 291, 386]. Даже превращение предшественников эстрогенов — андрогенов в эстрогены в целостном организме может происходить, правда, в ограниченной степени, вне овариальной ткани. Это было доказано путем инъекции андрогенов мужчинам [1350, 415, 533, 782, 540], женщинам с удаленными яичниками и надпочечниками [1069, 1071, 1457, 1074, 843, 752], у которых при этом происходило повышение выделения эстрогенов, что было обнаружено как при биологическом, так и при химическом методах их определения.

В печени реакция превращения эстрона в эстрадиол выражена довольно слабо [416]. В остальных тканях эта реакция сдвинута в сторону образования эстрона [606], лишь в матке — в сторону эстрадиола [1359]; некоторые авторы считают даже, что в матке эстрадиол вообще не способен превращаться в эстрон [823, 824]. Дальнейшие превращения молекул эстрона и эстрадиола, приводящие к образованию целого ряда упомянутых выше метаболитов эстрогенов, начинаются с их гидроксипирования в различных положениях стероидного кольца.

Гидроксигирование 16-го углеродного атома приводит в конечном итоге к образованию эстриола, проходя через ряд промежуточных этапов.

Превращение эстрона и эстрадиола в эстриол является необратимой реакцией [1305, 1228].

Smith и др. [1305] полагали, что переход эстрона в эстриол совершается в матке, вероятно, в эндометрии, но доказательств в пользу такого предположения ими не было представлено. Такой же точки зрения придерживаются Vagangot и др. [1425].

Ryan и др. [1228] не могли подтвердить этого предположения, так как при инкубации мнотетрия и эндотетрия с эстроном или эстрадиолом они не обнаружили их перехода в эстриол. В более поздних работах было показано, что ферменты, катализирующие эту реакцию, находятся в плаценте [1407], печени плода [571, 572], печени взрослых [197], в яичниках [536], но для их действия необходим целый ряд условий.

Smith и др. [1302] еще на основании своих ранних работ, показавших, что введение прогестина увеличивает содержание эстрогенов в моче, пришли к заключению, что прогестерон влияет на метаболизм эстрогенов. Позднее, когда уже были идентифицированы среди фракций эстрогенов эстрон, эстрадиол и эстриол, они сформулировали гипотезу о том, что прогестерон сдвигает равновесие в реакции эстрадиол \rightleftharpoons эстрон вправо и способствует переходу эстрона в эстриол [1302, 1305, 1309]. Такой же точки зрения придерживаются Vagangot и др. [1423, 1425], обнаружившие эстриол в крови только в лютеиновую фазу цикла или после инъекции прогестерона, а также Е. А. Какушкина [73, 74].

Вопрос о влиянии прогестерона на превращение эстрона и эстрадиола в эстриол до сих пор остается спорным, так как многие авторы не находят увеличения доли эстриола в общей сумме фракций во время лютеиновой фазы цикла [358, 362, 132, 974]. Brown [361] не наблюдал усиления превращения эстрогенов в эстриол даже при одновременном введении эстрадиола и прогестерона. Reaghtan и др. [1125] не обнаружили разницы в проценте превращения введенного эстрона, меченого дейтерием, в эстриол у беременных и небеременных женщин. Поэтому они считают, что гипотеза о влиянии прогестерона на обмен эстрогенов не соответствует действительности.

Образование эстриола и других его эпимеров (16-эпистриола, 16, 17-эпистриола, 17-эпистриола) идет с выходом в качестве промежуточных продуктов 16 α - и 16 β -гидроксиэстронов [688, 1005, 330]. Эти соединения были выделены из мочи людей после введения им эстрона или эстрадиола [948, 949, 368], а также при инкубации эстрона и эстрадиола со срезами печени [329, 333] или с кровью [1406] *in vitro*. Восстановление 16 α -гидроксиэстронов приводит к образованию эстриола и в меньшем количестве — 17-эпистриола, а восстановление 16 β -гидроксиэстронов — к образованию 16-эпистриола и 16, 17-эпистриола. Все эти соединения были выделены из мочи мужчин и женщин при введении им 16 α - и 16 β -гидроксиэстронов [365, 274]. Такие же результаты получаются при инкубации 16 α - и 16 β -гидроксиэстронов с различными тканями человека и животных (печень, почки, эритроциты, плацента) [330, 331].

Превращение эстрона и эстрадиола в эстриол (и его эпимеры) является необратимым процессом, однако реакции превращения эстриолов в 16 α - и 16 β -гидроксиэстроны, 16-кетозэстроны и 16-кетозэстрадиолы — обратимы. Это доказано тем, что при введении людям меченого эстриола в моче обнаруживаются все эти соединения [949]. При введении 16, 17-эпистриола в моче обнаруживаются все 4 эпимера эстриола — 17-эпистриол, 16-эпистриол, 16, 17-эпистриол и эстриол [342], что доказывает возможность превращения их друг в друга.

Laune и др. [936, 937] считали, что 16-кетозэстрадиол является промежуточным продуктом превращения эстриола в 16-эпистриол (эстриол \rightleftharpoons 16-кетозэстрадиол \rightleftharpoons 16-эпистриол). Однако Вгеуег [330] полагает, что 16-кетозэстрадиол не является существенно важным метаболитом эстрогенов и образование всех видов эстриолов совершается в основном через образование 16 α - и 16 β -гидроксиэстронов.

Кроме реакции 16-гидроксилирования, в 1964—1965 гг. открыт новый путь метаболизма эстрогенов — гидроксилирование в 15-м положении молекул эстрона и эстрадиола с образованием 15 α -гидроксиэстронов и 15 α -гидроксиэстрадиола [890, 891, 892, 1267]. Эти метаболиты образуются в основном в надпочечниках и печени и выделяются с мочой. В количественном отношении 15 α -гидроксилированным производным принадлежит значитель-

ное место среди других метаболитов эстрогенов. Так, по данным Кипурен и др. [892], концентрация 15α -гидроксиэстрона в моче беременных равна концентрации 16α -гидроксиэстрона.

В организме возможны также реакции 6-гидроксилирования с образованием 6-гидроксиэстрона, который может превращаться в 6-кетоэстрон, в 6-гидроксиэстрадиол и 6-кетоэстрадиол. Такого рода реакции были найдены в печени животных и человека [331, 334, 337, 1102]. Врегер и др. [343] при введении людям 6-кетоэстрона обнаружили в моче 6α - и 6β -гидроксиэстрон, 6-кетоэстрон и 6-кетоэстрадиол. Следовательно, у человека имеется как 6α -, так и 6β -гидроксистероиддегидрогеназы.

Гидроксилирование эстрогенов в положении 2 приводит к образованию 2-гидроксиэстрона [605], который затем может превращаться в 2-гидроксиэстрадиол и 2-гидроксиэстриол [245]. Образование подобных производных, вероятно, в организме имеет большое значение, так как 2-гидроксилированные производные служат промежуточным звеном образования 2-метоксипроизводных [623, 336, 604, 340, 245, 608]. В свою очередь, 2-метоксипроизводные, по мнению Греен и др. [688], являются промежуточным звеном для глубокого расщепления молекулы эстрогенов, с разрушением кольца А. Jellinick [821], наоборот, считает, что метилирование 2-гидроксипроизводных эстрогенов защищает молекулу эстрогенов от разрушения. По его данным, разрушение молекулы эстрона начинается с кольца А, а не с кольца Д. При этом вначале образуются соединения типа катехолов (2-гидроксипроизводные), которые затем переходят в хиноны с последующим разрушением кольца А. Эта гипотеза подтверждается в работе Вгуса и др. [392], в которой показано, что образование радиоактивного углекислого газа при катаболизме эстрогенов наблюдается лишь в том случае, если эстрадиол содержал меченый углерод в 4-м положении, т. е. в кольце А, но не наблюдается, если C^{14} был в 16-м положении, т. е. в кольце Д. Согласно данным Вгрон [362], реакция метилирования в организме обратима. Автор вводил людям метиловые эфиры эстрона, эстрадиола и эстриола и обнаруживал в моче увеличение неметилованных эстрогенов. Степень деметилирования эстрогенов у разных лиц варьирует. Так, Нобкirk и др. [770] при введении двум мужчинам 2-метоксиэстрона у

одного не обнаружили его в моче, а у другого он составлял 6% от введенной дозы. Около 14% от введенного 2-метокснэстрона в организме превращается в 2-гидрокснэстрон.

Кроме указанных выше основных путей метаболизма эстрогенов, в последнее время показано, что незначительная часть молекул эстрона и эстрадиола (или их предшественников) может подвергаться гидроксилированию в 4-, 7-м и 10-м положениях с образованием соответствующих кето- и гидроксипроизводных эстрона и эстрадиола [743, 744, 1344].

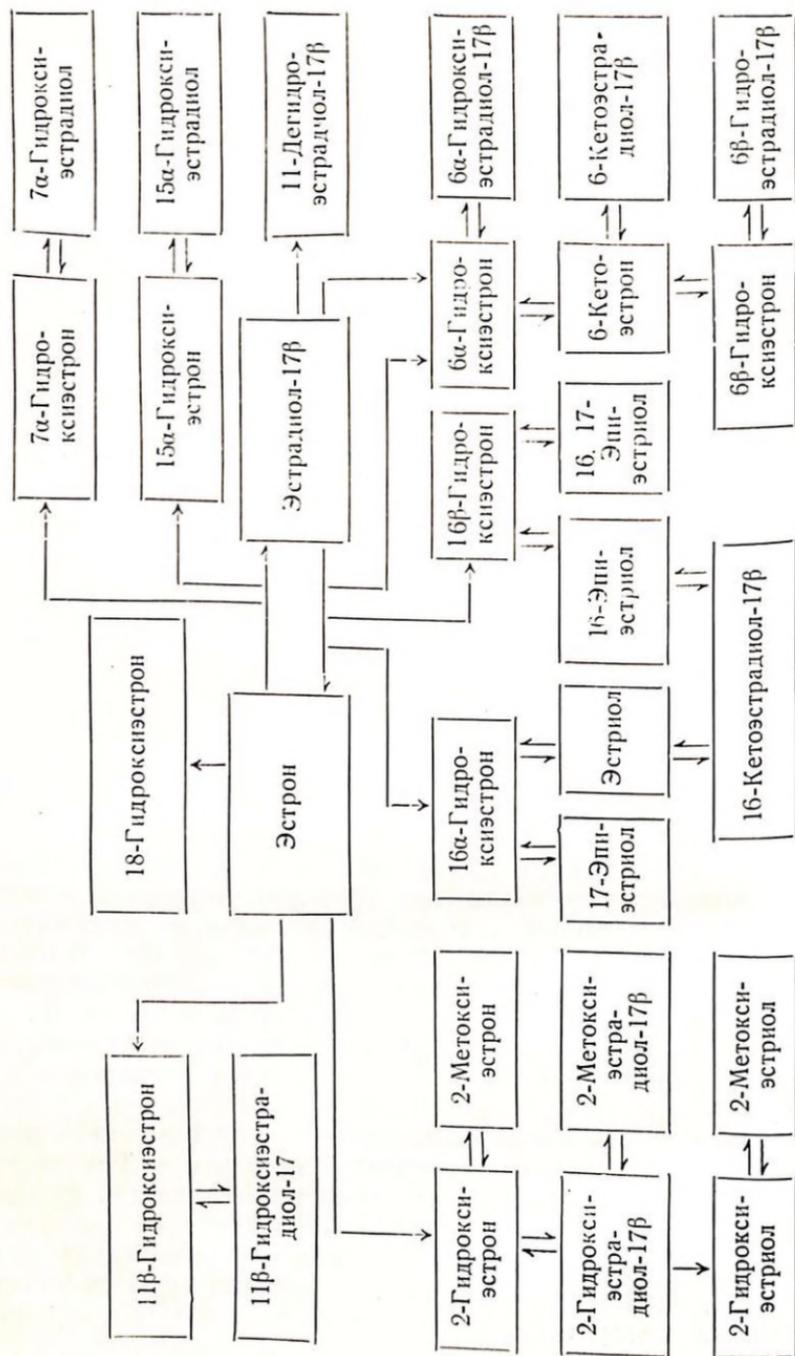
Кроме реакций гидроксилирования, эстрогены могут подвергаться и дегидрированию. Так, Luikkainen [985] показал возможность образования нового пути превращения эстрадиола—дегидрирования эстрадиола в 11-м положении с образованием 11-дегидроэстрадиола, которому в количественном отношении принадлежит важное место.

Современные данные о превращении в организме дают возможность представить следующую схему экстраовариального метаболизма эстрогенов (стр. 86).

Существенную роль в метаболизме эстрогенов играет печень. Инактивирующая роль печени в отношении эстрогенов впервые была показана Zondek (цит. по [197]) в опытах на мышах и с тех пор является прочно установленной. Печень человека также способна инактивировать эстрогены. Kirgis и др. [871] при подсадке шариков эстрадиола в прямую кишку овариэктомированными женщинам не наблюдали появления симптомов кастрационного невроза, при подсадке же шариков эстрадиола между слоями брыжейки действие эстрогенов не проявлялось и наступали симптомы кастрационного невроза. В первом случае эстрогены всасывались прямо в общий кровоток, а во втором случае—через систему *v. portae* в печень, где и происходила инактивация эстрогенов. Способность печени инактивировать эстрогены была показана в опытах *in vitro* [774].

Инактивирующая роль печени в отношении эстрогенов зависит от общего состояния организма. Так, при голодании (особенно белковом) инактивирующая функция печени резко снижается [1428]. Недостаток в пище витаминов, в частности аскорбиновой кислоты [1428], витамина А [1349] также снижает способность печени инактивировать эстрогены.

Схема экстраварнального превращения эстрогенов



По мнению Holmes [776], печень осуществляет не только инактивацию, но и активацию эстрогенов, так как при частичной экстирпации печени у крыс (на 75%) интенсивность действия эстрогенов, вводимых сразу после удаления печени, снижается для эстрона на 61%, для эстрадиола — на 68% и для эстриола — на 30%. Автор объясняет это тем, что при частичной экстирпации печени нарушается синтез липопротеидов в ней, которые необходимы для активации эстрогенов.

Механизм инактивации и активации эстрогенов печенью сложен. В печени происходит большинство реакций превращения эстрогенов, указанных в вышеприведенной схеме. Печень является основным местом, где происходит превращение эстрона в эстриол. Кроме того, в печени происходит и более глубокое разрушение молекулы эстрогенов с утратой ею фенольной структуры и разрушением кольца А [821]. В клетках печени в противоположность матке эстрогены не концентрируются в определенных акцепторах, а распределяются равномерно в цитоплазме [802, 869]. Это, вероятно, облегчает протекание многочисленных метаболических процессов с участием множества ферментов.

Большая роль принадлежит печени в процессах конъюгации эстрогенов. Печень способна к образованию парных соединений глюкуроновой кислоты со многими веществами, например с ментолом, с фенолом [959], с уробилиноидными пигментами [726]. Образование конъюгатов — это энзиматический процесс, и для него необходимо сопряженное окисление [959]. Ферментативная система для синтеза глюкуроноидов отлична от β -глюкуронидазы, которая вызывает их расщепление [850]. По данным Stevenson и др. [1353], этим ферментом является уридин-дифосфат-трансглюкуронидаза, которая переносит глюкуроновую кислоту от уридин-дифосфата глюкуроновой кислоты на акцептор-субстрат. Кроме глюкуроноидов, в печени образуются также и конъюгаты с серной кислотой. При инкубации гомогенатов или микросом клеток печени с эстрогенами *in vitro* обнаружено образование сульфатов эстрона, эстрадиола, а также и синтетических эстрогенов — диэтилстильбэстрола [493, 1122].

Перфузируя печень телят, Cameron [417] обнаружил наличие конъюгатов эстрогенов с глюкуроновой и

серной кислотами в перфузате. При введении людям эстрадиола и эстрогена, а также и без введения эстрогенов Adlercreutz [197] обнаружил в желчи глюкурониды и сульфаты эстриола, эстрогена, эстрадиола. Имеется некоторая последовательность в образовании парных соединений при введении эстрогенов. Так, при введении эстрогенов парентерально и per os Adlercreutz [197] и Cameron [417] показали, что в желчи сначала появляются сульфаты, а затем уже и глюкурониды. Эстриол и эстрадиол преобразуются главным образом в глюкурониды, а эстроген — в сульфаты.

Конъюгация эстрогенов может происходить и в других тканях, хотя и не столь интенсивно, как в печени. Diczfalussy и др. [520], вводя человеку в двенадцатиперстную кишку эстриол, обнаружили образование в основном глюкуронидов эстриола и почти полное отсутствие сульфатов. В стенках кишечника человека авторы обнаружили эстриол-16 (17[?])-глюкозидуронат и, возможно, ди- и триглюкозидуронаты. При введении эстрадиола-17 β и эстриола в изолированный участок тонкой кишки у человека в крови, отекающей от изолированных отрезков кишки, обнаружены эстрогены только в конъюгированной форме, в основном в виде глюкозидуронатов (эстроген-глюкозидуронат, 17 β -эстрадиол-3-глюкозидуронат или 3,17-диглюкозидуронат, эстриол-16-(17)-глюкозидуронат), но почти не обнаружены сульфаты [521]. Stevenson и др. [1353] также обнаружили процессы конъюгации эстрогенов у людей в слизистой кишечника и желудка, в корковом слое почек.

В настоящее время показано, что конъюгация эстрогенов является не их инактивацией [516, 197, 273], а частью их метаболизма, а возможно, и биосинтеза, о чем свидетельствует наличие эстрогена-сульфата в яичниках [611].

Различным тканям организма присущ свой тип конъюгации. Так, в печени, наряду с глюкуронидами, образуются и сульфаты, в кишечнике — главным образом глюкурониды. Свообразные формы и распределение конъюгатов наблюдается у плодов человека [518, 519] и новорожденных [1408], что, несомненно, связано с особенностями метаболизма эстрогенов и их роли в общем обмене веществ у плода.

Молекулы эстрогенов могут подвергаться различным превращениям в конъюгированной форме [273]. Эстро-

гены крови как связанные, так и не связанные с белками находятся в основном в виде конъюгатов [475, 1147].

Таким образом, по современным воззрениям, конъюгированные эстрогены — это водорастворимые формы эстрогенов для биосинтеза, метаболизма, транспорта кровью и для экскреции.

Особенности метаболизма эстрогенов у беременных женщин и у плода

Если у небеременных женщины весь эстриол мочи является результатом превращения эстрона и эстрадиола [360, 1058], то у беременных часть эстриола непосредственно продуцируется плацентой [360, 608]. Некоторые авторы полагают, что характер дальнейшего метаболизма образовавшихся эстрогенов у беременных и небеременных одинаков, т. е. одинаковый процент эстрона и эстрадиола превращается в эстриол [1125, 608]. Другая точка зрения, которую выдвинули Smith и др. [1305], состоит в том, что у беременных под влиянием прогестерона значительно больший процент эстрона и эстрадиола превращается в эстриол. Davis и др. [488] при введении беременным женщинам радиоактивного эстрадиола установили, что до 12 недель беременности метаболизм эстрогенов у беременных и небеременных одинаков, а при более позднем сроке беременности (15—19 недель) усиливается превращение эстрона и эстрадиола в эстриол.

Важность эстрогенов для развития плода подтверждается тем, что высокое содержание эстрогенов обнаруживается во многих органах плода (гипофизе, печени, кишечнике, желчи, надпочечниках, почках, легких) [1109, 519].

Содержание эстрогенов в пупочной вене и артерии плода существенно не различается [875, 1215]. Это указывает на то, что в организме плода не происходит синтеза эстрогенов. Об этом же свидетельствует тот факт, что общее количество эстрогенов, а также концентрация эстрона и эстрадиола в периферической крови матери выше, чем в пупочной вене или артерии плода. В то же время содержание эстриола в крови плода в 10—18 раз выше, чем в крови матери [1422, 1215, 809, 997]. Следовательно, плод принимает активное участие в метаболизме

эстрогенов, причем метаболизм эстрогенов у плода, по-видимому, отличен от их обмена у беременных и небеременных женщин. Так, Diczfalusy и др. [512] обнаружили, что при введении новорожденным 500 мкг эстрадиола-17 β в моче у них не обнаружено ни эстрона, ни эстрадиола и даже повышение эстриола было лишь у двух из пяти обследованных новорожденных. Haunes и др. [736], перфузируя 17—21-недельные плоды *in situ* и *in vitro* радиоактивным эстрадиолом, не обнаружили его превращения ни в эстрон, ни в 16-эпиэстриол, ни в 2-метоксиэстрон, что наблюдается при введении эстрадиола взрослым людям. Если у беременных основным $\text{D}\alpha$ -кетольным эстрогеном является 16 α -гидроксиэстрон, то в моче новорожденных его содержание невелико, а основную массу этой фракции составляет 16-кетозэстрадиол-17 β , который у взрослых не играет существенной роли в превращении эстрогенов [1402]. Hagen и др. [709] при введении новорожденным мальчикам меченого эстрадиола-17 β обнаружили в моче, кроме эстриола, 16 α -гидроксиэстрола, 16-кетозэстрадиола-17 β , которые в сумме составляли 20% радиоактивности, еще более полярный гидроксилированный метаболит, на долю которого приходилось около 16%. Авторы полагают, что метаболизм эстрогенов у плода и в раннем детстве характеризуется интенсивными реакциями гидроксилирования. Этим механизмом, возможно, плод защищает себя против стероидов с высокой биологической активностью.

У взрослых людей основной формой конъюгированных эстрогенов являются глюкозидуронаты [273, 197]. В меконии плода человека был идентифицирован эстриол-сульфат и эстриолглюкозидуронат [517, 518, 519]. При введении эстрадиола в амниотическую жидкость в экстрактах легких, печени, почек плода обнаружили только сульфаты (17 β -эстрадиол-3-сульфат, Na-эстрон-сульфат). При введении эстриола в указанных выше тканях также обнаружены лишь сульфаты эстриола (эстриол-3-сульфат) и лишь в кишечнике плода обнаружены как сульфаты, так и глюкозидуронаты. Эти данные были подтверждены и в более поздней работе, в которой авторы после введения в амниотический мешок эстриола в тканях плода смогли показать наличие только эстриол-сульфата [521]. В опытах с перфузией 17—21-недельных плодов человека радиоактивным эстрадиолом-17 β Haunes

и др. [736] обнаружили, что 80% радиоактивности находилось в тканях плода в виде конъюгатов (почти исключительно сульфатов).

Очевидно, именно сульфаты, и прежде всего эстриол-сульфат, необходимы плоду для его развития. При введении внутрь амниона эстриол- и эстрион-сульфата ткани плода поглощали сульфат эстриола в 10 раз больше, чем сульфат эстриона [521].

Скорость обращения и выведения эстрогенов из организма

По данным Lupaas [986], у свиней содержание эстрогенов в яичниках равно их содержанию в вене яичников. На этом основании автор делает вывод, что эстрогены в яичниках не накапливаются, а по мере выработки сразу поступают в кровь. Содержание эстрогенов в вене яичника намного выше, чем в периферической крови. Так, по данным Hardy и др. (цит. по [516]), содержание эстрогенов в вене яичников у женщин до 40 лет в среднем равно 9,1 мкг/100 мл крови, а после 40 лет — 2,8 мкг/100 мл крови, тогда как в периферической крови у всех содержалось менее 2 мкг/100 мл крови. Mahesh и др. [991] приводит несколько меньшую величину — до стимуляции гонадотропинами — 1,7 мкг эстрадиола на 100 мл плазмы, а после введения ФСГ — 5,6 мкг/100 мл. В крови вены яичников у животных (кошек, крыс, овец и обезьян) при биологическом определении обнаружены высокие величины — 100—200 мкг/100 мл в эквивалентах эстрадиола [480].

Кроме крови, в оттоке эстрогенов от яичника принимает участие также и лимфа. По данным Daniel и др. [480], содержание эстрогенов в лимфатических протоках яичников лишь в 2 раза ниже, чем в крови вены яичника. По данным Cziezel и др. [475], у собак содержание эстрогенов в лимфе равно их содержанию в крови — 3,6 мкг/50 мл. Авторы делают вывод, что лимфа играет существенную роль в транспорте эстрогенов.

Скорость обращения эстрогенов в организме очень велика. При внутримышечном введении эстрогенов в физиологическом растворе они очень быстро всасываются в кровь и уже через 15 мин их содержание в крови достигает минимума [489]. Эстрогены очень быстро

исчезают из крови. По данным Migeon и др. [1043], при внутривенном введении радиоактивного эстрогена мужчинам уже через 15 мин в крови остается только 5% радиоактивности. Pearlman [1123] рассчитал, что скорость обращения эстрогенов, т. е. время, за которое происходит полное обновление эстрогенов в крови, равно у человека 6 мин.

Siegel и др. [1289] в опытах на собаках установили, что исчезновение эстрогенов из крови происходит в две фазы — вначале очень быстро, а затем более медленно. Для первой фазы время полужизни эстрогенов в крови равно 10,5 мин, а для второй — 25 мин. Полное исчезновение эстрогенов из крови при внутривенном введении происходит за три часа.

Основная масса эстрогенов крови связана с белками. Согласно данным Szego и др. [1376] $\frac{2}{3}$ всего количества эстрогенов, а по данным Ryan и др. [1229] — 80% всех эстрогенов крови находится в связанном с белками состоянии. Эстрогены связаны с альбуминовой фракцией белков крови [1377, 1147, 1367], причем, по данным Eglanger и др. [578], на одну молекулу альбумина приходится двадцать молекул эстрогенов. По мнению Struck [1367], связывание с альбуминами — специфическая, избирательная реакция, а не простая адсорбция. Связанный с эстрогенами белок приобретает специфические свойства, и на этот комплекс могут быть выработаны специфические антитела. В работе Neri и др. [1073] показано, что при введении кроликам эстрогена, связанного с альбумином бычьей сыворотки, получается антисыворотка, которая нейтрализует действие эстрогена на увеличение веса матки у мышей при одновременном введении свободного эстрогена и антисыворотки. Специфичность антител обусловлена стероидным компонентом, так как антисыворотка на комплекс тестостерона с таким же альбумином бычьей сыворотки не способна нейтрализовать действие эстрогенов. Wotiz и др. [1489] показали, что связывание эстрогенов с белками крови происходит не очень быстро, так как через 15 мин после внутривенного введения эстрогенов они еще не были связаны с белками.

Согласно данным Roberts и др. [1184], Sandberg и др. [1244] существуют две формы связи эстрогенов с белками. Первая форма — обратимая, при этом ассоциация и

диссоциация происходят спонтанно и быстро. Именно такая форма связи преобладает в организме. Это — транспортная форма эстрогенов. Кроме того, существует другая — прочная связь эстрогенов с белками, для разрыва которой необходим гидролиз. В организме очень мало эстрогенов связано такой формой связи. Для образования обратимой связи с белками функция печени не имеет значения, образование же прочной связи с белками происходит в печени. По данным Szego и др. [1377], связанные с белками эстрогены сохраняют биологическую активность, а Sandberg и др. [1244] считают, что связывание эстрогенов с белками делает их биологически неактивными, но поскольку эта связь легко разрывается, то эстрогены очень быстро могут быть мобилизованы.

Связь эстрогенов с белками защищает их от быстрого выведения почками, так как тормозит фильтрацию в клубочках.

Основным эстрогеном крови, связанным с белками у небеременных женщин, является эстрон. По данным Ryan и др. [1229], среди связанных с белками эстрогенов 83,9% приходилось на эстрон, только 3,6% на эстрадиол и 6,6% на эстриол. При этом с белками связаны не свободные эстрогены, а их конъюгаты. 90% эстрогенов, по данным Migeon и др. [1043], находится в виде конъюгатов, которые не расщепляются β -глюкуронидазой, следовательно, не являются глюкуронидами. Purdy и др. [1147] показали, что основной формой эстрогенов, связанной с белками, является эстрон-сульфат.

У беременных женщины также основная масса эстрогена находится в крови в виде эстрон-сульфата. Эстрадиол в крови как у беременных, так и небеременных находится в основном ($2/3$) в свободной форме [666, 1315, 1312]. При беременности основная масса эстриола крови циркулирует в виде эстриола-3-глюкозидуроната, хотя в значительно меньших количествах находят и эстриол-3-сульфат, эстриол-16 (17[?])-глюкозидуронат и двойной конъюгат: эстриол-3-сульфат-16 (17[?])-глюкозидуронат [666, 1315].

Форменные элементы крови, в частности эритроциты, также имеют отношение к эстрогенам, циркулирующим в крови. Согласно данным большинства авторов [1447, 1043, 670, 292, 386], около 30% циркулирующих в крови эстрогенов связано с эритроцитами.

Из крови эстрогены очень быстро попадают в желчь (около 50% всех метаболитов эстрогенов), но в кишечнике происходит обратное всасывание конъюгированных эстрогенов в кровь. Siebke и др. [1288] при биологическом определении показали, что с калом выделяется почти столько же эстрогенов, сколько и с мочой, причем они отметили хорошую корреляцию между выделением эстрогенов этими двумя путями. При использовании более точного метода — измерения радиоактивности после введения меченого эстрадиола — было показано, что с калом выделяется лишь 10% всех метаболитов эстрогенов, причем более половины эстрогенов в кале находится в свободной неэстерифицированной форме [272, 416, 1043].

Основная масса метаболитов эстрогенов выделяется с мочой: согласно данным Beer и др. [272] — 65%, по Migeon и др. [1043] — 59—72%. Количество выводимых с мочой за сутки эстрогенов не зависит от величины диуреза в физиологических условиях. Однако при массивной водной нагрузке или при введении хлоралгидрата,

Метаболиты эстрона и эстрадиола, обнаруживаемые

Автор	Эстрогены и их			
	эстрон	эстрадиол-17 β	эстриол или более полярное соединение	16-кето-эстриол
Migeon, Wall, Bertrand [1043]	8,36—14,75	2,95—4,94	14,06—15,72	1,82—5,85
Brown [361]	10	5	30	—
Brown, Fischman, Gallagher [368]	—	—	30	—
Engel, Bagget, Garter [570]	—	—	—	—
Hobkirk, Nilsen [770]	—	—	—	—

увеличивающего диурез, содержание эстрогенов в моче повышается [1403]. Это указывает на то, что реабсорбция эстрогенов в почках происходит в области проксимальных канальцев.

Нейтральные и фенольные стероиды среди метаболитов эстрогенов в моче составляют 75% всей радиоактивности [272]. Среди них еще не все метаболиты идентифицированы. Идентифицированные метаболиты эстрона и эстрадиола, обнаруживаемые в моче, по данным опытов с введенным радиоактивных эстрогенов, представлены в табл. 3. На долю основных, наиболее изученных эстрогенов мочи (эстрона, эстрадиола и эстриола) приходится, по данным Pearlman и др. [1125], 5,6—12,7%, по данным Brown [360]—16%, по Migeon и др. [1043]—от 25,37% до 35,41% от введенной дозы эстрогенов.

Более половины метаболитов эстрогенов в моче находится в конъюгированной форме и освобождается после гидролиза [1043]. Существование эстрогенов в виде конъюгатов в моче впервые было показано Cohen и др. [443],

Таблица 3

в моче после введения радиоактивных эстрогенов

метаболиты						Примечание
16-эпи-эстриол	смесь 16-кето-эстрадиола и 16-гидроксиэстрона	2-гидрокси-эстрон	2-метоксис-эстрон	16 α -гидрокси-эстрон	2-метоксис-эстр-радиол	
1,40—3,15	1,53—1,94	1,37—3,97	—	—	—	Цифры обозначают процент от введенной дозы
6	7	—	3	3	1	Цифры обозначают процент от общей радиоактивности мочи
6	—	—	—	3	—	Цифры обозначают процент от общей радиоактивности мочи
—	—	—	8	—	—	Цифры обозначают процент от введенной дозы
—	—	—	6	—	—	Цифры обозначают процент от введенной дозы

которые изолировали из мочи беременных кристаллический эстриол-глиукуронид. В более поздних работах при идентификации конъюгатов эстрогенов из мочи беременных было показано, что эстриол существует по крайней мере в виде 2 глиукуронидов: эстриол-16 α -глиукозидуронат и эстриол-3-глиукозидуронат, причем последний является основным мочевым метаболитом эстриола [667]. Показано также наличие эстрона-3-глиукозидуроната. В моче присутствуют также конъюгаты эстрогенов с серной кислотой, но они еще полностью не идентифицированы [273, 708].

ПРОГЕСТЕРОН

БИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРОГЕСТЕРОНА

Влияние прогестерона на половые органы

Предположение, что яичники вырабатывают два вида гормонов, было сделано еще в конце XIX в. Beard в 1897 г. высказал мысль, что основная функция желтого тела заключается в подавлении овуляции. Это подтверждалось тем, что вокруг желтого тела подавлялся рост фолликулов.

А. А. Максимов [94] был первым, кто описал тонкие гистологические изменения в матке у кроликов, подготовленной для имплантации оплодотворенного яйца, но не связывал их с гормональным влиянием.

Позднее Vouin и др. [319] показали, что специфическая пролиферация желез эндометрия, предшествующая имплантации оплодотворенного яйца, развивается лишь при наличии желтого тела под влиянием выделяемого им гормона.

Fellner [596], Heggman [754] подтвердили эти данные, показав, что гиперемия и гипертрофия матки, развитие специфической пролиферации эндометрия появляются у кроликов под влиянием экстрактов желтого тела или плаценты человека, приготовленных с использованием органических растворителей. К таким же выводам пришли в 1911—1912 гг. Meyer [1038], Schröder, исследуя одновременно изменения яичников и эндометрия у женщин. Они показали, что именно гормоны желтого тела вызывают последовательные изменения эндометрия во

второй половине менструального цикла и при беременности.

В 1929 г. характерные гистологические изменения матки под влиянием гормонов желтого тела (специфическая прогестативная пролиферация) были детально изучены Согнер и др. [456], причем было показано, что указанные изменения эндометрия возникают лишь после предварительного действия эстрогенов. Характерная особенность влияния прогестерона на эндометрий заключается в появлении секрета в его железах. Эти данные легли в основу первого метода количественного определения прогестативных веществ.

Исследования Loeb [963, 964] показали, что если вскоре после овуляции или в начале беременности у морских свинок повредить матку, то в ней возникает плацентарная реакция — утолщение, образование на месте повреждения децидуального узла. Если же кастрировать животных, то децидуальная реакция не возникает. Это привело автора к выводу, что для образования децидуальной реакции необходима предварительная сенсбилизация матки гормонами желтого тела.

Еще в начале XX в. было показано, что наличие желтого тела необходимо не только для образования децидуомы или прогестативной пролиферации, что обеспечивает имплантацию оплодотворенного яйца, но и для жизнедеятельности эмбриона. Fгаепkel [633] первым показал, что кастрация кроликов на ранних стадиях беременности приводит к гибели зародышей. В дальнейшем такие наблюдения были сделаны и у людей. Asdell [235] указывает, что удаление яичников у женщины в ранние сроки беременности (до 8 недель) также приводит к прерыванию ее. В дальнейшем же функцию желтого тела берет на себя плацента.

Позднее Allen и др. [216] в опытах с введением кастрированным самкам кроликов (через 18 ч после случки) экстрактов желтого тела свиной подтвердили необходимость гормона желтого тела для сохранения беременности. Они установили, что доза, необходимая для поддержания беременности, выше, чем доза, достаточная для вызывания прогестативной пролиферации, а также что при длительном введении гормона желтого тела не наступает родовой деятельности и происходит внутриутробная гибель вполне созревших плодов. Это было

подтверждено и в работах более поздних лет [468, 1053].

В последнее время было получено очень много синтетических прогестативных веществ. Они делятся на 2 группы: замещенные прогестины, являющиеся производными прогестерона (17 α -гидроксипрогестеронкапроат, медроксипрогестеронацетат и другие) и 19-норстеронды (17 α -этинил-19-нортестостерон, 17 α -этинил, Δ^5 ,¹⁰-эстрен-17-ол, 3-он и др.). О наличии прогестативной активности судят по появлению специфической пролиферации эндометрия [998], по децидуальной реакции [1503], по способности поддерживать беременность у кастрированных после случки животных [1246]. Часто оказывается, что активность различных прогестагенов по различным тестам не совпадает, и не все вещества, вызывающие прогестативную пролиферацию эндометрия, способны поддерживать беременность [1368, 541]. Некоторые из новых синтетических прогестагенов в отличие от прогестерона обладают довольно сильными андрогенными свойствами (6-метил-17 α -гидроксипрогестерон-ацетат), другие — производные 19-норстерондов — эстрогенными свойствами, например эновид [1246, 541], так как в процессе метаболизма они превращаются в эстрогены [1117].

Механизм влияния прогестерона и других прогестативных веществ на матку и плод не вполне ясен. Известно лишь, что прогестерон является антагонистом действия эстрогенов на матку и вызывает релаксацию и иммобилизацию матки, уменьшение мышечной активности со снижением частоты электрической стимуляции, рефрактерность к окситоцину [469, 1442, 1483].

Антагонистическое действие прогестерона эстрогенному влиянию сказывается и на подавлении корнификации влагалищного эпителия [1192, 1193, 1120, 549, 550], на подавлении роста матки, вызванного эстрогенами. Введение прогестерона может задержать наступление кровотечения после продолжительного действия эстрогенов, но отмена прогестерона приведет к появлению кровотечения типа «withdrawal bleeding» [1522]. Однако длительное действие одного лишь прогестерона (при отсутствии эстрогенов) также может привести к гиперпластическим процессам в миометрии [350] и к появлению кровотечения, аналогичному withdrawal bleeding. Под влиянием прогестерона в матке происходит ряд метабо-

лических изменений. В отношении влияния прогестерона на накопление воды в матке данные противоречивы. Согласно исследованиям Zuckerman и др. [1523], прогестерон вызывает увеличение содержания воды в матке. Однако, по данным Leatham [938], прогестерон, наоборот, снижает содержание воды в матке. Имеются данные и о том, что при одновременном действии с эстрогенами прогестерон вызывает перераспределение воды, увеличивая содержание экстрацеллюлярной воды и уменьшая количество воды в клетках [318].

В более старых работах приводились данные о том, что гормон желтого тела — корпорин — увеличивает содержание гликогена в матке [939], причем усиливается не только его накопление, но и выделение [766]. С этим согласуются наблюдения об увеличении количества гликогена в эндометрии женщины в лютеиновую фазу цикла [307, 790]. Однако большинство исследователей при изучении влияния прогестерона у кастрированных животных не наблюдали увеличения гликогена в матке [297, 1396, 348, 785]. Очевидно, накопление гликогена в секреторном эндометрии обусловлено в первую очередь действием эстрогенов, происходящих из желтого тела.

Прогестерон усиливает активность некоторых ферментов, например угольной ангидразы у кроликов, которая вызывает разложение угольной кислоты [989]. Эта реакция даже была использована для количественного определения прогестерона [1135]. Но у некоторых животных (овец, свиней, кошек, собак) отсутствует зависимость угольной ангидразы от прогестерона, у других животных вообще нет угольной ангидразы в эндометрии и плаценте (крысы, морские свинки, хомяки) [989].

По данным Borglin [309], прогестерон не оказывает влияния на активность гистаминазы.

Под действием прогестерона усиливается синтез рибонуклеиновой кислоты в миометрии [1182, 1396], но это не ведет к синтезу белков в матке. В отношении влияния прогестерона на синтез дезоксирибонуклеиновой кислоты данные исследователей расходятся. Brody и др. [347] находили снижение ДНК в миометрии, а Telfer и др. [1396] — увеличение. По данным Borgell [304, 305], прогестерон вызывает усиление скорости обновления фосфора в нуклеиновых кислотах миометрия, фосфолипидах и лабильных фосфатах.

Как видно из изложенного, данные об изменении метаболизма матки под влиянием прогестерона довольно отрывочны, часто противоречивы и для более полного представления о состоянии метаболических процессов в половых органах, вызванных действием прогестерона, необходимы дальнейшие исследования.

Механизм действия прогестерона также пока остается невыясненным. Известно, что прогестерон не накапливается в зависимых от него органах (матке) в избыточных количествах.

При введении радиоактивного прогестерона в миометрии женщины содержалось лишь 0,18—0,28% от введенной дозы [1138]. Образование децидуомы не увеличивало накопления прогестерона в этой ткани [1473].

По данным Jongh и др., происходит «утилизация» прогестерона маткой, т. е. превращение его там в менее активные соединения.

Экстрагенитальное влияние прогестерона

Прогестерон оказывает влияние на рост молочных желез. Vouin и др. [319] первые отметили, что у псевдобеременных кроликов наблюдается развитие молочных желез. В дальнейшем было показано, что в отличие от эстрогенов, которые приводят к разрастанию протоков, прогестерон усиливает пролиферацию альвеол [812].

Хорошо известно свойство прогестерона повышать температуру тела. По мнению Lauritzen [930], механизм этого явления довольно сложен. Прогестерон вызывает торможение парасимпатической области нижнего отдела гипоталамуса, что приводит к преобладанию симпатических импульсов. В результате этого повышается тонус сосудодвигательных волокон кожи и значительно снижается теплоотдача. Повышение температуры тела в лютеиновую фазу цикла имеет большое значение для протекания ряда биохимических превращений в матке, необходимых для существования оплодотворенного яйца. Именно это свойство прогестерона лежит в основе применения широко используемого в клинике теста — измерения базальной температуры тела как показателя активности желтого тела.

У самцов длительное введение прогестерона приводит к атрофии семенных канальцев и клеток Лейдига,

что связано с подавлением им гонадотропной функции гипофиза [577].

Прогестерон обладает слабым катаболическим действием. По данным Landau и др. [923], при введении 50—100 мг прогестерона в день увеличивается экскреция азота мочой, главным образом за счет мочевины. Катаболический эффект прогестерона проявляется и у больных болезнью Аддисона и у гипофизэктомированных пациентов, следовательно, он не связан ни с действием надпочечников, ни гипофиза. По-видимому, прогестерон оказывает влияние на распад белков во многих тканях, иначе не было бы заметного повышения содержания азота в моче. Эстрогены, хотя и являются анаболиками, не устраняют катаболического эффекта прогестерона. Под влиянием прогестерона происходит накопление воды во всех тканях организма и усиление выделения натрия и хлоридов [1400, 1523, 920, 922, 1221]. После отмены прогестерона происходит компенсаторная задержка натрия и хлоридов в организме. По мнению Landau и сотр. [923], это объясняется тем, что прогестерон влияет на водно-солевой обмен путем антагонизма действию альдостерона и дезоксикортикостерона на уровне почечных канальцев.

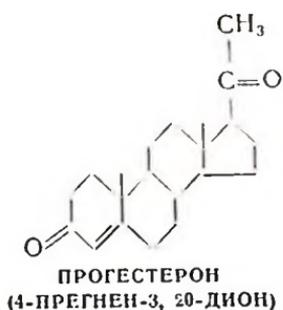
По мнению Thorn и др. [1400], способностью задерживать воду в организме и усиливать выделение натрия и хлоридов обладает не только прогестерон, но и прегнандиол. Поэтому нельзя, видимо, рассматривать прегнандиол лишь как неактивный продукт метаболизма прогестерона.

БИОСИНТЕЗ И МЕТАБОЛИЗМ ПРОГЕСТЕРОНА

Источники образования прогестерона, пути его биосинтеза

Химическое выделение и идентификация гормона желтого тела из яичников свиней были осуществлены в 1930 г. Hisaw и др. [765], а затем было подтверждено многими авторами [601, 602, 403, 1478].

Было показано, что этим гормоном является С-21 ненасыщенный стероидный дикетон, который был назван прогестероном.



Хотя прогестативная активность человеческого желтого тела была показана давно [440, 1140], химическая идентификация прогестерона из желтого тела человека была осуществлена лишь в 1954—1958 гг. [1495, 1498, 1499].

Одновременно Zander и др. [1499] показали, что, кроме прогестерона, в человеческом желтом теле и зрелом фолликуле находятся еще и Δ-4-прегнен-3-кето, 20β-ол и Δ-4-прегнен-3-кето, 20α-ол, которые также являются активными прогестагенами, но активность этих изомеров значительно меньше, чем самого прогестерона [1173].

Wiest [1469] показал, что реакция превращения прогестерона в Δ-4-прегнен-3-кето, 20α-ол осуществляется 20α-оксистероиддегидрогеназой. Этот фермент находится в растворимой фракции гомогенатов яичников и требует для проявления своей активности наличия трифосфопиридиннуклеотида.

Хотя прогестерон и Δ-4-прегнен-3-кето, 20α-ол и 20β-ол были найдены и в зрелом фолликуле, однако прогестерон в вене яичника обнаруживается лишь при наличии в нем желтого тела. Это было показано Telegdy и другими в опытах на собаках [1393, 1394, 1395]. У женщин в вене яичника прогестерон, 17α-прогестерон и Δ-4-прегнен-3-кето, 20α-ол также появляются только в лютеиновую

фазу цикла и отсутствуют при ановуляторных циклах [1045].

Naуward и др. [738] при различных состояниях яичников у кроликов в крови из вены яичников находили Δ -4-прегнен-3-кето, 20α -ол, причем в момент овуляции его количество увеличивалось.

Прогестерон, Δ -4-прегнен-3-кето, 20α - и 20β -ол были изолированы из периферической крови при беременности и из плаценты человека [1495, 1496, 1497].

Таким образом, местом образования прогестерона (и других прогестагенов) в организме являются яичники и плацента.

Согласно данным Falk [593], в яичниках прогестерон вырабатывается в гранулезных клетках, причем эти клетки способны к продукции прогестерона еще до их лютеинизации.

В плаценте окончательное место образования прогестерона не установлено, но косвенные данные свидетельствуют о том, что прогестерон секретируется клетками материнской части плаценты, так как в опытах Cassmer [428] при перевязке пуповины и гибели плода, но при интактной плаценте выработка прегнадиола почти не изменялась, тогда как продукция эстрогенов резко снижалась.

Как было показано ранее, прогестерон является необходимым промежуточным звеном в биогенезе и эстрогенов и андрогенов в яичниках, надпочечниках, плаценте и семенниках, хотя из ткани семенников прогестерон еще не был выделен [1280].

Пути биосинтеза самого прогестерона изучены менее подробно. При инкубации срезов яичников *in vitro* было показано, что прогестерон образуется из ацетата [1247, 1374, 1230, 783, 750], из мевалоната, холестерина [1379], прегненолона [1227], однако являются ли эти этапы необходимыми при синтезе прогестерона *in vivo* — неизвестно. Утилизация этих предшественников для синтеза прогестерона увеличивается под влиянием ЛГ [750].

Метаболизм прогестерона в тканях

В крови содержание прогестерона очень невелико. Почти весь прогестерон крови находится в плазме, а с эритроцитами он не связывается даже при длительной

инкубации в течение нескольких часов [1278]. Прогестерон не растворим в воде. Растворимость прогестерона в плазме обусловлена его связью с белками [290, 554]. Связанный с белками прогестерон служит транспортной его формой. У человека около 90% прогестерона переносится альбуминами [1461, 1462], причем с одной молекулой прогестерона реагирует более чем одна молекула альбуминов. Связь с белками является слабой и легко разрывается. В недавней работе Westphal и др. [1463] показали, что прогестерон имеет большое сродство к кислому глюкопротеиду (оросомуконду). Такой комплекс прогестерона с оросомукондом лишен биологической активности. Однако биологическая роль реакции образования этого комплекса неясна. Прогестерон в крови находится не в виде конъюгата, как полагали ранее. Теперь показано, что в конъюгированной фракции обнаруживаются лишь метаболиты прогестерона (5 β -прегнан-3 α , 20 α -диол, 5 β -прегнан-3 β , 20 β -диол, 5 β -прегнан-3 α -ол, 20-он). При внутривенном введении небеременным женщинам меченого прогестерона он очень быстро превращается в указанные метаболиты, и через 10 мин их концентрация уже равнялась концентрации прогестерона [1401].

Скорость обращения прогестерона большая — полное обновление его в крови достигается через 5—6 мин [1123, 1124, 1284]. Zander [1494], Kaufman и др. [853] при введении женщинам в постменопаузальном периоде большого количества прогестерона внутривенно (200 мг) обнаружили очень быстрое его исчезновение из крови: через 2 ч содержание его в крови снижалось примерно в 20 раз, а через 24 ч прогестерон обнаружить не удалось. Эти данные были подтверждены в опытах с введением следовых количеств радиоактивного прогестерона [1138, 486, 487]. Такое быстрое исчезновение прогестерона из крови объясняется тем, что он диффундирует из крови в ткани и особенно много его накапливается в жировой ткани, где его содержание может достигнуть 37,7% от введенной дозы [853, 486].

В молочной железе беременных крыс основная масса введенного радиоактивного прогестерона (80%) обнаруживается в жировом слое, плавающем на поверхности растворимой части гомогената [935], в которой оставалось около 15—20% прогестерона. В клеточных частицах гомогената молочной железы задерживалось совсем ма-

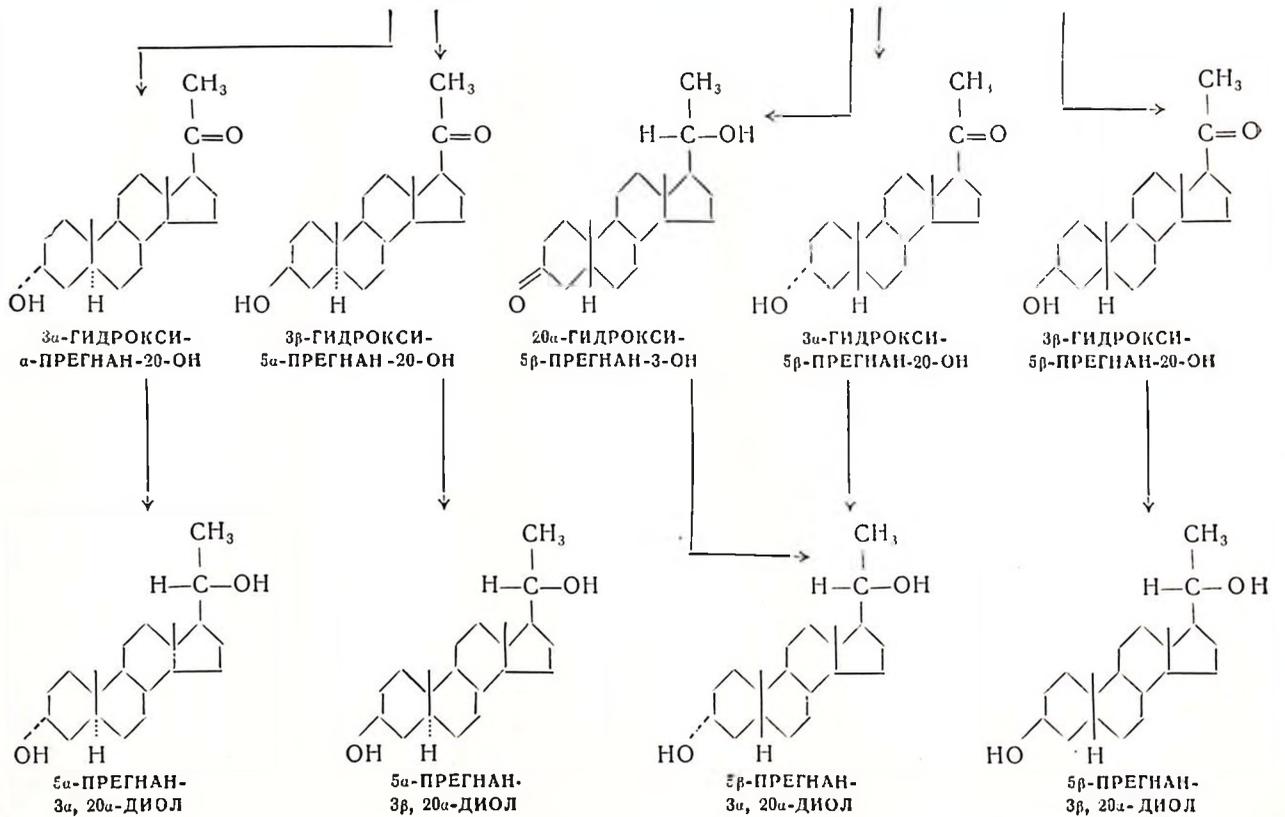
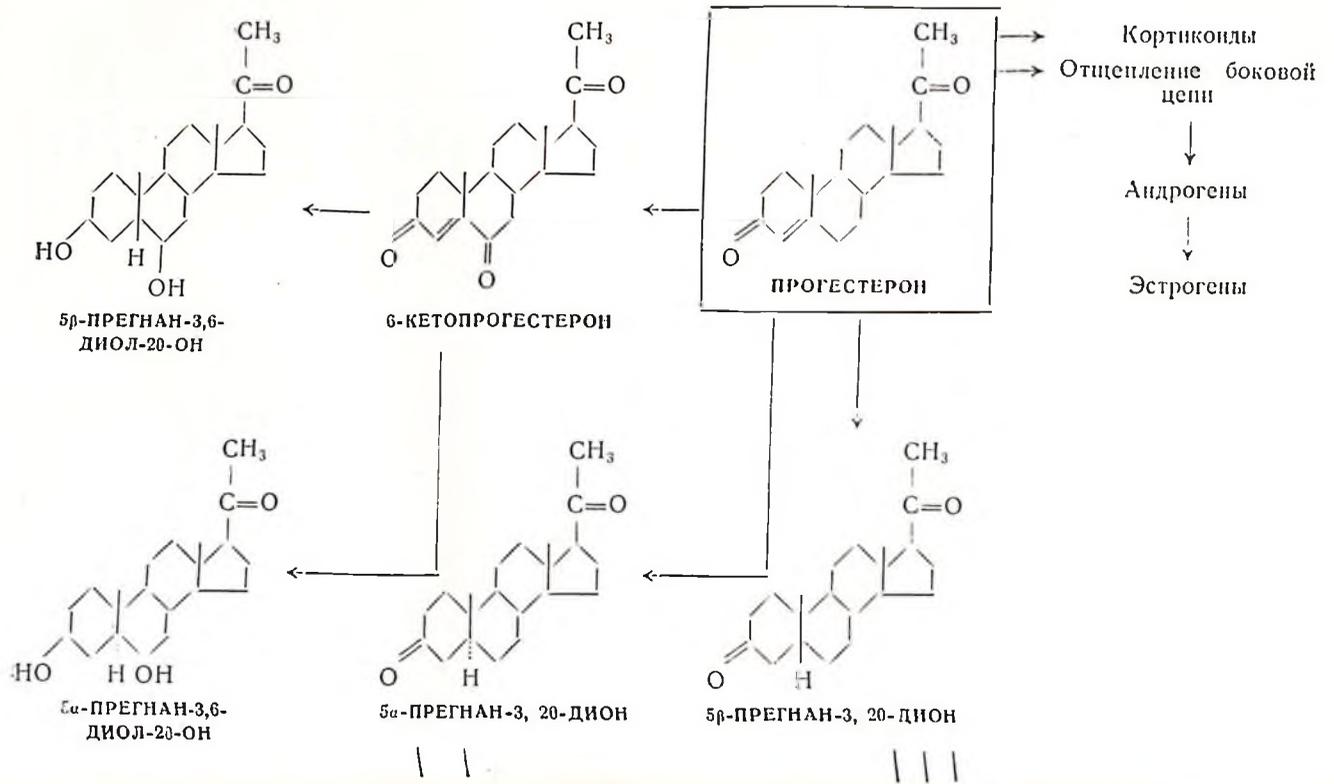
ло радиоактивности. В других органах, в том числе и тех, где он продуцируется (плацента, желтое тело) и в зависимых от него органах (эндометрии, миометрии), прогестерон не накапливается. Содержание прогестерона в миометрии и эндометрии было одинаковым, при этом около 60% его в матке находилось в виде конъюгатов. Основная масса прогестерона в матке находилась в растворимой части клеток, а в клеточных частицах задерживалось очень небольшое его количество (10—15%), хотя, возможно, именно этот адсорбированный прогестерон имеет большое значение в проявлении его биологического эффекта [935].

В моче прогестерона нет или почти нет. Loewe и др. (цит. по Cohen [444]) показали, что в 20 л мочи беременных содержится всего 1 ЕД (по тесту Corner — Allen) [456] прогестерона, но при этом обнаруживаются биологически неактивные метаболиты прогестерона. Так, содержание прегнандиола в этом же количестве мочи составляет 1 г. Отсутствие прогестерона в моче подтверждается и последними данными с использованием метода изотопного разведения [543].

В организме молекула прогестерона подвергается разнообразным превращениям. Поскольку прогестерон является промежуточным продуктом (этапом) биосинтеза кортикоидных гормонов, андрогенов и эстрогенов, то часть образующегося в организме прогестерона в конечном итоге превращается в эти соединения и их метаболиты. В опытах Davis и др. [487] при введении женщинам радиоактивного прогестерона меченого по 21-му атому углерода, было обнаружено около 18,5% радиоактивности в выдыхаемом воздухе. Это свидетельствует о том, что у значительной части молекул прогестерона отщепляется боковая цепь и окисляется до CO_2 и воды. Но, по их мнению, кольцевая структура молекулы не расщепляется на более мелкие части.

Часть радиоактивности мочи (правда, очень небольшая) после введения меченого прогестерона обнаруживается в фенольной фракции, что свидетельствует о превращении прогестерона в фенолстерониды [452]. Но, кроме этих путей превращения прогестерона, имеет место еще специфический ход метаболизма его. Этот путь обменных процессов может совершаться уже вне эндокринных желез, продуцирующих прогестерон или другие

Схема метаболизма прогестерона в организме человека



стероидные гормоны из прогестерона, и заключается в следующем: вначале происходит восстановление двойной связи при С-4 с образованием 5α - и 5β -прегнандионов. Эти соединения были получены при инкубации срезов печени человека с прогестероном [241] и выделены из мочи людей [955, 956]. У человека преобладает образование 5β -изомера, хотя в небольшом количестве образуется и 5α -прегнандион. У других животных (у кроликов, крыс) преобладают 5α -производные. Затем происходит восстановление преимущественно 3-кетогруппы с образованием 3α - и 3β -гидрокси- 5β -прегнан-20-он и 3α - 3β -гидрокси- 5α -прегнан-20-он. Эти соединения также были обнаружены при инкубации срезов печени человека с прогестероном [241] и некоторые из них изолированы из мочи (3α -гидрокси- 5β -прегнан-20-он [431], 3α -гидрокси- 5α -прегнан-20-он [955, 1413]).

Но в меньшей степени может происходить и восстановление сначала 20-кетогруппы с образованием небольшого количества 20α -гидрокси- 5β -прегнан-3-он [431].

Последний этап метаболизма прогестерона — превращение прегнандиолонов в прегнандиолы с восстановлением второй (20-й или 3-й) кетогруппы. При этом теоретически может образоваться 8 прегнандиолов.

Из мочи человека выделены 4 прегнандиола: 5α -прегнан 3α , 20α -диол, 5α -прегнан 3β , 20α -диол, 5β -прегнан, 3α , 20α -диол, 5β -прегнан 3β , 20α -диол [913, 1413, 1138, 432].

При наличии двойной связи в положении 4 не может происходить восстановления 3-кетогруппы. Поэтому обнаруживаемый в моче $\Delta 4$ -прегнандиол происходит не из прогестерона, а из $\Delta 4$ -прегнен-3 ол-20 она [227].

Кроме такого пути, превращение прогестерона может идти еще по пути образования 6 гидрокси-производных прогестерона. При инкубации человеческой плаценты с прогестероном из инкубационной среды (а также из мочи беременных женщин) ряд авторов [622, 816] выделили 3,6-диол-20-он-изомеры 5α - и 5β -прегнанов. Nagorian и др. [711] обнаружили в перфузате человеческой плаценты 6-кетопрогестерон. Acevedo и др. [196] наблюдали образование 6β -гидрокси-4-прегнен-3, 20 -диона при инкубации прогестерона с тканью гипертрофированной предстательной железы человека.

В метаболизме прогестерона, как и других стероидов, большую роль играет печень. Еще в 1939 г. Zondek [1514]

обнаружил, что при введении в организм крысы прогестерона в тканях происходит быстрая его инактивация (испытывались активности эстракта всей тушки после растирания ее в порошок). Позднее было показано, что инактивация прогестерона происходит в печени: активность прогестерона исчезала при интрапортальном его введении [567] или при инкубации с гомогенатами печени [618].

Механизм инактивации в значительной степени заключается в том, что в печени происходит образование конъюгатов, которые являются главным образом глюкуронидами и сульфатами [453, 1161]. Кроме того, в печени происходят превращения, приводящие к образованию неактивных метаболитов — прегнанолюнов и прегнадиолов.

Прегнадиол был выделен в большом количестве из желчи при введении прогестерона [1196, 884]. При инкубации срезов печени человека с прогестероном были выделены 5 α - и 5 β -прегнан-3,20-диол, 3 α - и 3 β -гидрокси-5 α -прегнан-20-он, 3 α -гидрокси-5 β -прегнан-20-он и 5 β -прегнан-3 α , 20-диол [241].

Однако указанные выше метаболические превращения прогестерона могут совершаться не только в печени.

Метаболиты прогестерона в моче и кале

При введении радиоактивного прогестерона в организм человека около 60% его метаболитов выделяется с мочой (22,6%) и калом (29,7%) [486, 487]. В моче почти все метаболиты прогестерона находятся в виде конъюгатов [452], а в кале — преимущественно в свободном виде [884]. В прямой кишке происходит гидролиз конъюгатов, а остатки негидролизированных конъюгатов всасываются обратно в кровь. По мнению Klorppег и др. [884], вариации в степени гидролиза, а следовательно, в степени удаления прегнадиола через кал, возможно, объясняют большие ежедневные колебания величин выделения прегнадиола с мочой. В моче радиоактивные метаболиты распределяются в кислой, водной, нейтральной (куда входят все прегнадионы, прегнанолюны и прегнадиолы) и фенольной фракциях.

Многие метаболиты прогестерона еще не идентифицированы, например, метаболиты, входящие в кислую

фракцию. Между тем, у кролика в эту фракцию попадает 75% всей радиоактивной мочи [452]. Доля этой фракции метаболитов прогестерона в моче человека еще неизвестна. Вероятно, у человека ее роль меньше, так как половину радиоактивности мочи у мужчин, по данным Romanoff и др. [1198], составляла нейтральная фракция. Как было указано выше (в разделе о метаболизме прогестерона), очень многие промежуточные продукты метаболизма прогестерона попадают в мочу. Но основным из них, составляющим наибольшую часть нейтральной фракции у человека, является 5 β -pregnan-3 α , 20 α -диол [1123, 1124, 431]. По данным Romanoff и др. [1198], этот pregnандиол составляет около половины нейтральной фракции.

О том, что pregnандиол является метаболитом прогестерона, было известно давно и это было подтверждено в опытах Vutepandt и др. [402], которые при окислении pregnандиола бромом, а затем реакцией с пиридином превратили pregnандиол в прогестерон.

При введении человеку прогестерона с мочой в виде pregnандиола выделяется около 6—27% от введенной дозы [217, 1409, 882, 1124, 1125, 1150]. При этом, по данным Romanoff и др. [1198], процент превращения прогестерона в pregnандиол зависит от возраста: у мужчин в возрасте 23—39 лет в виде pregnандиола выделяется 14%, а в возрасте 68—80 лет — только 10% от введенной дозы.

Но pregnандиол является метаболитом не только прогестерона. При введении людям дезоксикортикостерона около 1—7% его выводится мочой в виде pregnандиола [474, 1502].

По данным Argos и др. [227], в опытах с введением H³-pregненолона и C¹⁴-прогестерона установлено, что в основном pregnандиол мочи происходит из прогестерона, но, кроме того, хотя в меньшей степени, и из pregnенолона. Однако по аналогии с секрецией дегидроэпиандростерона-сульфата авторы допускают возможность секреции также и pregnенолон-сульфата, который также может принимать участие в продукции pregnандиола. Возможно, что 20 α - и 20 β -гидрокси-4-pregnen-3-оны также превращаются в pregnандиол. Поэтому авторы полагают, что по величине экскреции pregnандиола невозможно точно рассчитать скорость секреции прогестерона или

прегненолона. Однако хотя выделение прегнандиола точно и не отражает продукцию прогестерона, но поскольку все же основная масса прегнандиола происходит из прогестерона, по величинам экскреции прегнандиола можно со значительной степенью вероятности судить об образовании прогестерона в организме. Об этом свидетельствуют многочисленные клинические данные о резком увеличении прегнандиола мочи в лютеиновую фазу цикла [1435, 879, 115, 367, 139], а также при беременности [641, 886].

Ранее отмечалось, что почти весь прегнандиол мочи содержится только в виде натриевой соли глюкуронида [1434, 1435, 740]. Однако недавно появилась работа, где показано, что значительная часть прегнандиола мочи находится также и в виде сульфатов, которые составляют 6—28% от суммы глюкуронидов и сульфатов [1277]. Поэтому для точного определения прегнандиола недостаточно только β -глюкуронидазного гидролиза.

Часть II. СОДЕРЖАНИЕ ГОНАДОТРОПИНОВ, ЭСТРОГЕНОВ, ПРОГЕСТЕРОНА И ПРЕГНАНДИОЛА В ЖИДКОСТЯХ И ТКАНЯХ ЧЕЛОВЕКА

СОДЕРЖАНИЕ ГОНАДОТРОПИНОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ И ТКАНЯХ ЧЕЛОВЕКА

ВЫДЕЛЕНИЕ ГОНАДОТРОПИНОВ С МОЧОЙ У ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ

У детей до полового созревания выделение гонадотропинов с мочой очень низкое. При использовании большинства методов тестирования (по весу матки мышей, по весу передней доли предстательной железы) гонадотропины в моче детей обоих полов не удавалось обнаружить до 10—12-летнего возраста [851, 1070, 1127, 205, 1019]. Только при исследовании больших объединенных порций детской мочи в них удавалось обнаружить низкую специфическую гонадотропную активность, при этом было отмечено ее повышение с увеличением возраста детей [100, 423]. Однако Кпарре и др. [888] при синергическом методе с использованием ХГ обнаружили гонадотропины в индивидуальных порциях мочи у детей 3—9 лет, причем также наблюдалось некоторое повышение активности с увеличением возраста.

По данным А. И. Минкиной [105], гонадотропная активность в моче обнаруживается менее, чем у половины обследованных девочек 2—10 лет, но и у них она является очень низкой (4,5—8,0 мышино-маточных единиц на литр).

За 1—2 года до наступления полового созревания гонадотропины в моче детей определяются уже большинством принятых методов. Было показано, что в начале преобладает ФСГ-активность при сравнительно

низкой ЛГ-активности [378, 105]. По мере приближения девочек к сроку появления менструаций, по данным Brown [378], активность ФСГ снижается, а количество суммарных гонадотропинов возрастает, что автор объясняет увеличением ЛГ-активности. Увеличение ЛГ-активности в моче девочек 10—13 лет при приближении менархе наблюдали также А. И. Минкина [105], Soszka и др. [1331]. У мальчиков 10—11 лет Brown [378] нашел более низкие величины гонадотропинов, чем у девочек того же возраста, причем с возрастом у них возрастало содержание ФСГ в моче.

Ю. А. Крупко-Большова [85] у девочек в период полового созревания наблюдала повышенное выделение суммарных гонадотропинов в моче в середине цикла, к моменту овуляции. А. И. Минкина [100] также отмечала усиление выделения гонадотропинов у девочек в середине цикла и, что особенно интересно, иногда такой подъем обнаруживается даже при ановуляторных циклах.

У женщин с нормальным менструальным циклом при использовании менее совершенных методов определения закономерных изменений гонадотропной активности мочи в зависимости от фаз цикла не отмечалось [1127, 205, 660]. Однако в большинстве исследований, особенно при использовании более точных и чувствительных методов, был обнаружен циклический характер выделения гонадотропинов с мочой, при этом самым характерным является значительное повышение выделения гонадотропинов в середине цикла [160, 477, 707, 945, 1455, 367, 393, 1020, 829, 1491, 1131, 147, 139]. Правда, и в последнее время появляются работы о том, что при нормальном менструальном цикле средний пик выделения гонадотропинов удается обнаружить не у всех женщин [974, 278].

Средний пик выделения гонадотропинов, по мнению большинства авторов, связан с овуляцией. По данным McArthur и др. [1020], этот пик совпадал с точкой снижения базальной температуры, которую принято считать за момент овуляции. Таутог [1387] сообщил, что этот подъем наблюдался в день овуляции, что было подтверждено лапаротомией и определением возраста желтого тела. По данным Brown и др. [367], средний подъем выделения гонадотропинов совпадал с овуля-

ционным пиком выделения эстрогенов или следовал за ним, но никогда не предшествовал ему.

В исследованиях О. Н. Савченко и Г. С. Степанова в большинстве случаев эти пики совпадали, но один раз гонадотропный пик предшествовал эстрогенному [147, 139].

Величина срединного пика гонадотропинов у разных женщин очень сильно варьирует. У одних выделение гонадотропинов повышается в момент пика едва ли в 2 раза, а у других — в 10 раз. В среднем же это увеличение достигает 3—4-кратных размеров.

Кроме срединного повышения гонадотропинов, в цикле очень часто наблюдался еще один пик их экскреции — в начале менструального цикла, чаще всего в период менструального кровоотделения. Если же цикл короткий, то этот пик появляется еще в конце предыдущего цикла, до начала менструаций [147, 139].

Впервые этот пик выделения гонадотропинов был отмечен Smith и др. [1303], а затем был упомянут в работах Werner [1455] С. Е. Файермарк [160], McArthur и др. [1020]. Но исследователи, как правило, мало обращали на него внимания. В исследованиях О. Н. Савченко и Г. С. Степанова [147, 139] появление этого пика наблюдалось во всех изученных циклах. По величине это повышение экскреции гонадотропинов нередко даже превышало срединный пик или было равно ему. По-видимому, этот пик следует считать истинным началом менструального цикла, даже если он обнаруживается до появления следующей менструации. Указанный подъем гонадотропной активности, очевидно, следует рассматривать как толчок к развитию нового фолликула, который начинает созревать и в дальнейшем может овулировать.

Большой интерес представляют данные, в которых делались попытки раздельного определения ФСГ и ЛГ у женщин в течение менструального цикла. В период срединного пика повышение ЛГ было обнаружено различными, специфическими для ЛГ методами определения — по тесту простаты [393, 1020, 1387, 1388, 1389, 271], при помощи иммунологического теста [1468, 1055], по падению аскорбиновой кислоты в яичниках [640, 1352, 1207], по падению холестерина в яичниках крыс [278], причем это повышение совпадало с повышением суммарных гонадотропинов. Некоторые авторы находили повышение в это же время и ФСГ-активности, хотя преобладала

ЛГ-активность [1020, 1388, 1389, 278, 1207]. Это совпало с экспериментальными данными некоторых авторов [1294, 1292], обнаруживших в гипофизе обезьян в середине цикла увеличение и ЛГ и ФСГ, но ЛГ увеличивался в 10 раз, тогда как ФСГ только в 3 раза. В то же время другие авторы находили увеличение ФСГ лишь в начале цикла, а в его середине, когда ЛГ достигал максимума, содержание ФСГ, наоборот, снижалось до минимума [379, 640, 1440], хотя Stevens и др. [1352] отмечают, что подобное поведение ФСГ отмечалось не во всех нормальных овуляторных циклах. По данным Becker и др. [271], снижение выделения ФСГ с мочой наблюдалось лишь в конце цикла перед наступлением менструации. Видимо, вопрос о содержании ФСГ и ЛГ в различные фазы цикла еще требует уточнения.

Величина выделения гонадотропинов у женщин с нормальным менструальным циклом, по данным различных авторов, приведена в табл. 4.

Albert [205] находил повышение выделения гонадотропинов у женщин, имеющих нормальный менструальный цикл, с увеличением возраста. Но эти данные были получены на небольшом материале и повышение средних показателей, возможно, было лишь следствием появления отдельных завышенных величин. Между тем, по данным многих исследователей, не отмечено разницы в уровне выделения гонадотропинов с мочой у женщин с нормальным менструальным циклом в различные возрастные периоды [749, 1127, 367, 829, 147].

При первых возрастных нарушениях менструального цикла выделение гонадотропинов резко меняется. С первых же дней задержки менструаций обнаруживается резкое повышение выделения гонадотропинов в 10 и более раз по сравнению с величинами, наблюдаемыми при нормальном менструальном цикле, которое сохранялось в течение всего периода задержки месячных [149, 22, 137]. Это повышение было обусловлено увеличением ФСГ-активности, а ЛГ-активность сохранялась на уровне величин, соответствующих нормальному менструальному циклу [140, 141]. После периодов аменореи при возобновлении овуляторных циклов О. Н. Савченко, Г. С. Степанов, Е. Г. Соколов [140, 141] наблюдали снижение выделения гонадотропинов до величин, характерных для нормального менструального цикла, с во-

Выделение гонадотропинов у женщин с нормальным менструальным циклом
(по данным различных авторов)

Автор	Метод выделения из мочи	Метод биологического тестирования	Единица измерения	Количество ед./24 ч
Pedersen-Bjergaard Tonnesen [1127]	Осаждение танниновой кислотой	Яичник крыс	Крыс. ед.	9 (1—25)
Albert и др. [205]	Каолин-ацетоновый	» »	» »	5—30
Werner [1455]	Осаждение танниновой кислотой	Матка мышей	Мыш. ед.	5—78
Heller и др. [749]	Спирто — осадительный	» »	» »	20 (4—64)
Würterle и др. [1491]	Экстракция каола. Осажд. спиртом	» »	» »	10—70
Johnsen [829]	Осаждение танниновой кислотой	» »	» »	21,3 (3—125)
Степанов Г. С. [147]	Каолин-ацетоновый	» »	» »	7—157
Brown и др. [367]	То же	» »	мг HMG-IRP	13—40 (пик) 10 в начале и конце цикла
Hayward и др. [737]	» »	» »	» » »	1
Petersohn [1131]	» »	» »	» » »	9—378
Loraine и др. [974]	Каолин-ацетоновый	» »	» » »	3,0—31,6
Савченко О. Н., Соколов Г. Е. и Степанов Г. С., 1965—1966	То же	» »	HMG-IRP	14
		Яичник мышей, обработанных HCG (ФСГ)	HMG-IRP	17
		Падение аскорбиновой кислоты в яичниках крыс (ЛГ)	МЕ HCG	28
Fukushima и др. [640]	Каолин-ацетоновый с дополнительной очисткой	Яичник крыс, обработанных HCG (ФСГ)	мкг NIH-FSH-S1	150 в начале цикла 20 в период овуляции
		Падение аскорбиновой кислоты в яичниках крыс (ЛГ)	мкг NIH-FSH-S1	4 в начале и конце цикла 12 в период овуляции

Автор	Метод выделения из мочи	Метод биологического тестирования	Единица измерения	Количество ед./24 ч
Becker и др. [271]	Каолин-ацетоновый	Яичник крыс, обработанных HCG (ФСГ)	мкг NIH-FSH-S1	360 первая треть цикла 340 вторая треть цикла 180 третья треть цикла
		Вес вентральной простаты гипофизэктомированных крыс (ЛГ)	мкг NIH-LH-S1	210 первая треть цикла 400 вторая треть цикла 230 третья треть цикла
Wide и др., [1468]	—	Иммунологический метод определения ЛГ по антисыворотке к ХГ	МЕ HCG	20—200
Rosemberg и др., [1207]	Каолин-ацетоновый с дополнительной очисткой	Яичник крыс, обработ. HCG (ФСГ)	мкг NIH-FSH-S2	89—227 — в начале и в конце цикла 364 — в период овуляции
		Падение аскорбиновой кислоты в яичниках крыс (ЛГ)	мкг NIH-LH-S1	5,4—7,0 — в начале и в конце цикла 13,1 — в период овуляции

зобновлением обычной цикличности. При появлении ановуляторных циклов, несмотря на увеличение выделения эстрогенов, количество гонадотропинов продолжало возрастать как за счет ФСГ, так и за счет ЛГ, величины которого повышались в 3—4 раза. Таким образом, отсутствие овуляции нельзя было отнести за счет недостатка продукции и выделения ЛГ. Повышенное выделение суммарных гонадотропинов при ановуляторных циклах периода климактерия, несмотря на высокую продукцию эстрогенов наблюдал также Hammerstein [723].

Если же задержка менструаций переходила в менопаузу, то выделение гонадотропинов устанавливалось на стойко повышенном уровне. Увеличение гонадотропинов в моче у женщин постменопаузального периода наблюдали очень многие авторы [1509, 1511, 631, 747, 748, 1127, 695, 749, 1019, 1020, 829, 1200, 148, 137].

Средние величины выделения гонадотропинов у женщин после 70 лет несколько снижаются, но многие авторы даже в 9-м десятилетии жизни находили высокую их экскрецию [749, 1127, 829].

По более ранним данным, повышенное количество гонадотропинов у женщин в постменопаузальном периоде обуславливалось увеличением ФСГ, а ЛГ-активность мочи совсем отсутствовала или была очень небольшой. Однако в большинстве работ последних лет отмечается после менопаузы достаточно высокая продукция ЛГ, хотя значительно преобладает выделение ФСГ [695, 970, 717, 1436, 381]. Некоторые авторы находили у женщин, находящихся в постменопаузальном периоде, даже более высокие величины выделения ЛГ с мочой по сравнению с величинами, характерными для нормального менструального цикла [725, 1019, 1468, 271].

Величины выделения гонадотропинов с мочой в период климактерия и постменопаузальный период приведены в табл. 5.

У мужчин репродуктивного возраста выделение гонадотропинов с мочой находится примерно на том же уровне, что и у женщин [205, 829, 271]. Некоторые авторы находят у мужчин несколько более высокую величину экскреции, чем у женщин [407, 1019], однако эти различия не существенны.

Наши данные показывают [24], что у мужчин выделение гонадотропинов не достигает тех максимальных

Выделение гонадотропинов с мочой у женщин в постменопаузальном периоде
(по данным различных авторов)

Автор	Методы		Единица измерения	Количество ед./24 ч	Примечание
	выделения из мочи	биологического тестирования			
Frank и др. [631]	Спирто-осадительный	Яичник крыс	Крыс. ед.	56 ЕД ФСГ 40 ЕД ЛГ	Здоровые женщины
Pedersen-Bjerggaard [1127]	Осаждение танниновой кислотой	Матка крыс	» »	5—360	Здоровые женщины 38—79 лет
Albert [205]	Каолин-ацетонный	Яичник крыс	» »	60 60 75 100 50	Менопауза 0—4 года } » 5—9 лет } Здо- » 10—14 » } ровые » 15—19 » } жен- » 20—24 года } щины
Heller и др. [749]	Спирто-осадительный	Матка мышей	Мыш. ед.	90,7 35,2	Менопауза } менее 30 лет } Здоровые более 30 » } женщины
Johnsen [829]	Осаждение танниновой кислотой	То же	» »	210 (64—450) 142 (57—295) 143 (90—220)	60—64 года } 64—75 лет } Здоровые 75—87 » } женщины
О. Н. Савченко и Г. С. Степанов [137]	Каолин-ацетонный	» »	» »	222 ± 137 290 ± 131 270 ± 138	Менопауза } до 2 лет } Здоровые Менопауза } и с кли- 2—5 лет } мактери- Менопауза } ческим более 5 лет } неврозом
Loraine [968]	То же	» »	мг НМ20А	45,5 (13—123)	Здоровые женщины, 50—85 лет
Boyland и др. [324]	» »	» »	То же	4—192	Рак молочной железы, 31—72 года
Loraine и др. [973]	» »	» »	» »	55 (13—240) 42 (8—263)	Рак молочной железы. Ремиссия То же без ремиссии
Hayward и др. [737]	» »	» »	» »	19	Рак молочной железы
Peterson [1131]	» »	» »	» »	9—2300	Здоровые женщины, 48—73 лет
Martin и др. [1015]	» »	» »	мг НМГ-IRP	37,3 (20,8—61,3)	Рак молочной железы
Bell и др. [275]	» »	» »	То же	35—158	Женщины с различными неэндокринными заболева- ниями

Автор	Методы		Единица измерения	Количество ед./24 ч	Примечания
	выделения из мочи	биологического тестирования			
Brown [381]	Каолин-ацетонный	Яичник мышей после обработки хроническим гонадотропином (ФСГ)	мг HMG-IRP	10—200 ЕД общих гонадотропинов	Пациенты 48—72 лет с неэндокринными заболеваниями 22 года. Менопауза 6 месяцев
				10—1500 ЕД ФСГ	
О. Н. Савченко, Е. Г. Соколов и Г. С. Степанов, 1965, 1966	То же	Матка мышей (общие гонадотропины)	мг HMG-IRP	110 (41—185)	Здоровые женщины и с климактерическим неврозом в возрасте 45—62 лет с длительностью постменопаузального периода от 1 месяца до 27 лет
		Яичник мышей, обработанных ХГ (ФСГ)	То же	122 (53—227)	
		Падение аскорбиновой кислоты в яичниках (ЛГ)	МЕ ХГ	79 (7—250)	
О. Н. Савченко, Е. Г. Соколов и Г. С. Степанов, 1965—1966	Каолин-ацетонный	Матка мышей (общие гонадотропины)	мг HMG-IRP	40	Здоровые женщины 49—56 лет с возрастными нарушениями менструального цикла
		Яичник мышей, обработанных ХГ (ФСГ)	мг HMG-IRP	38	
		Падение аскорбиновой кислоты в яичниках (ЛГ)	МЕ ХГ	64	
Besker и др. [271]	Каолин-ацетонный	Яичник крыс (общие гонадотропины)	Крыс. ед.	172	Здоровые женщины 44—70 лет
		Яичник крыс, обработанных ХГ (ФСГ)	Крыс. ед. мг NIH-FSH-S1	33,7 3700	
		Вентральная простата гипофизэкт. крыс (ЛГ)	Крыс. ед. мг NIH-LH-S1	51 2100	
Wide и др. [1468]	Иммунологический метод определения ЛГ по антисыворотке к ХГ		МЕ ХГ	100—400	Здоровые женщины 55—63 лет

Таблица 6

Выделение гонадотропинов с мочой у здоровых мужчин различного возраста

Автор	Возраст обследуемых	Гонадотропины		
		суммарные	ФСГ	ЛГ
Schou [1263]	39—63	4—10 крыс. ед.		
Albert [205]	20—39	5—10 » »		
	40—69	10—12 » »		
Butt и др. [407]		45—47 мг		
Brown [379]	19—53	HMG-IRP	5,6—33 мг	HMG-IRP
		4,1—22 мг		
		HMG-IRP		
Johnsen [829]	25—44	29,5 (5—76) ММЕ		
	45—54	35,3 (11—105) »		
	55—64	42,7 (13—135) »		
	65—74	58,0 (17—150) »		
	75—96	37,1 (10—140) »		
Wide и др. [1467]	27—52	—	—	50—60 ЕД ХГ
Н. В. Вержниковская [34]	22—32	8,5 ± 2,1 ММЕ		
	50—59	8,6 ± 1,9 »		
	60—69	23,0 ± 2,1 »		
	70—79	13,7 ± 1,9 »		
	80—89	8,8 ± 3,1 »		
В. Г. Баранов, Я. В. Благо- склонная, Н. Ф. Никола- енко, И. Ю. По- дольская, Я. Д. Рафальский, И. Т. Розовская, О. Н. Савченко, Г. С. Степанов и Е. Г. Соколов [24]	30—49	29 ± 24 »		
	50—69	67,6 ± 59,8 »		
Демченко С. В. [58]	20—40	3,9 ± 0,56 »		
	41—60	9,7 ± 2,3 »		
		31,2 ± 9,8 »		
О. Н. Савченко, 1965—1966	24—36	11 ± 4 мг		
		HMG-IRP	13 ± 6 мг	2,5 ± 5,3
	50—59	23 ± 27 мг	HMG-IRP	ИЕ ХГ
	60—69	HMG-IRP	24 ± 20 мг	20,6 ± 27,3
		15 ± 20 мг		ИЕ ХГ
70	HMG-IRP	11 ± 8 »	5,7 ± 4,7	
	13 ± 14 мг		ИЕ ХГ	
	HMG-IRP	9 ± 8 »	—	

величин, которые наблюдаются у некоторых женщин в период пиков во время менструального цикла, а в остальные дни выделение гонадотропинов у женщин и мужчин находится на одинаковом уровне.

Grown [380] не отметил у мужчин существенные колебания в экскреции гонадотропинов в различные дни, в различное время суток и в зависимости от половой активности. Ежедневные колебания в уровне выделения гонадотропинов у обследованных нами мужчин [24] достигали значительных величин (иногда в 2—3 раза), но закономерности в этих колебаниях не было выявлено. Выделение гонадотропинов у мужчин, по данным различных авторов, приведено в табл. 6.

По мере увеличения возраста Schou [1263] не обнаружил изменения в экскреции гонадотропинов у мужчин.

Согласно данным других авторов [34, 58, 205, 829], у мужчин старше 50 лет наблюдается постепенное увеличение выделения гонадотропинов.

По нашим данным [24], также отмечалось статистически достоверное увеличение среднего уровня выделения гонадотропинов у мужчин 50—69 лет по сравнению с более молодой возрастной группой (30—39 лет). Однако все авторы отмечают, что это увеличение наблюдается не у всех мужчин, а лишь у некоторых. У отдельных лиц, даже в возрасте старше 60 лет, не наблюдается увеличения выделения гонадотропинов с мочой. Но даже у тех, у которых отмечалось увеличение, оно не было столь выраженным, как у женщин после прекращения менструаций и наступления менопаузы. У мужчин старше 74 лет наблюдалась тенденция к снижению уровня гонадотропинов в суточной моче [34, 829]. При определении фракций гонадотропинов нами отмечено, что при увеличении возраста нарастает количество как ФСГ, так и ЛГ, а после 60 лет и особенно после 70 лет выделение и ФСГ и ЛГ снижается.

СОДЕРЖАНИЕ ГОНАДОТРОПИНОВ В ГИПОФИЗЕ И КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ

В ранних работах гонадотропная активность определялась уже в гипофизах эмбрионов как человека [144, 1133], так и животных [56, 57]. В более поздних исследованиях в гипофизах новорожденных детей гонадотропины

не были обнаружены [1301, 252]. Однако в недавней работе А. И. Минкиной [105] заметная гонадотропная активность была отмечена в гипофизах как недоношенных детей, так и новорожденных. В первые годы жизни детей (2—10 лет) гонадотропная активность гипофиза сохраняется на низком уровне [751, 252, 492, 1480, 1232, 105], причем преобладает ФСГ-активность [105, 252].

А. А. Войткевич с сотр. [38, 41], проследив содержание гонадотропинов в гипофизе людей различного возраста, обнаружили, что оно падает по мере приближения к половому созреванию. В момент полового созревания, по их данным, содержание гонадотропинов в гипофизе наиболее низкое, а затем в половозрелом возрасте оно снова увеличивается, достигая максимума в 30 лет, на этом уровне содержание гонадотропинов в гипофизе держится длительное время, а после 60 лет резко падает. Другие исследователи, наиболее высокое содержание гонадотропинов в гипофизе наблюдали у женщин старше 50 лет [492, 181, 183, 751, 1084, 296, 473].

У женщин после установления менопаузы изменяется также и качественный состав гипофизарных гонадотропинов. По данным Simpson [1292], в гипофизе людей (без учета пола и возраста) отношение ФСГ:ЛГ равно 3:1, по данным И. А. Эскина [181, 183], у молодых женщин это отношение было равно примерно 1:1, а у женщин в постменопаузе — 5:1. Содержание ЛГ в гипофизе после менопаузы у женщин не снижается, а даже увеличивается по сравнению с его содержанием в гипофизе молодых женщин с нормальным менструальным циклом (по данным Ryan [1232], оно увеличивается в 3 раза), но соотношение ФСГ:ЛГ сдвигается в сторону ФСГ.

По данным Curgier и др. [473], содержание ЛГ в гипофизе молодых мужчин (0,072—2,46 мг/г) и женщин (0,24—5,14 мг/г) примерно одинаково. Но в отличие от женщин у мужчин с увеличением возраста не наблюдается повышения уровня гонадотропинов, поэтому после 50 лет количество ЛГ в гипофизе мужчин (0,72—3,99 мг/г) оказывается намного ниже, чем у женщин (2,04—15,13 мг/г). Curgier и др. [437] обнаружили, что соотношение между ФСГ и ЛГ у мужчин старше 50 лет равно 1:1.

В крови у большинства новорожденных детей гонадотропины не определяются, и лишь у немногих из них

обнаруживаются в очень низком титре — 75—750 ИЕ в литре [218, 934]. Но у детей, родившихся от матерей с токсикозом беременности, имевших высокий уровень хорионического гонадотропина, обнаруживается высокое содержание ХГ в крови, вплоть до 2250 ИЕ на литр.

Содержание гонадотропинов в крови у женщин с нормальным менструальным циклом и у мужчин настолько мало, что в большинстве работ не могло быть определено [614, 223]. Лишь у очень немногих женщин Loraine и др. [972] в середине цикла выявили гонадотропины в количестве 11—14 мкг НМГ-20А в 100 мл плазмы. Достоверное определение гонадотропинов в крови у женщин с нормальным менструальным циклом и у мужчин было возможным в больших (объединенных) порциях крови, взятых у доноров [860]. В работе Louchart и др. [980] в противоположность другим исследователям были

Таблица 7

Содержание гонадотропинов в крови людей

Автор	Группа лиц	Содержание гонадотропинов в мкг НМГ-IRP/100 мл		
		общие гонадотропины	ФСГ	ЛГ
Apostolakis [223]	Женщины после менопаузы	22—27	71—18	17—26
Loraine и др. [972]	То же	22 ± 2 (10—55)	—	—
McArthur и др. [1021]	» »	Около 23	—	—
Borth и др. [314]	» »	40	—	—
McArthur и др. [1022]	» »	— 42,9	23,4—28,3*	27,0—30,6*
Keller и др. [860]	Женщины с нормальным циклом	2,88	—	—
	Мужчины	3,14	—	—

* Данные были приведены авторами в мкг Pergonal-23, нами пересчитаны на мкг НМГ-IRP, учитывая, что 1 мкг Pergonal-23 равен 23 мкг НМГ-IRP.

обнаружены высокие величины содержания ЛГ в крови: у женщины в начале и в конце цикла — 5—15 мкг NIH-LH-S1 на 2,5 мл плазмы, в середине цикла — 13—25 мкг, у мужчин — 5—14 мкг на 2,5 мл плазмы. Однако эти данные еще требуют дальнейшей проверки.

После наступления менопаузы содержание гонадотропинов в крови увеличивается и определяется у большинства женщин [612, 613, 630, 614]. Для более точной оценки содержания гонадотропинов в крови многие авторы также использовали большие (объединенные) порции крови, полученные от доноров на станции переливания крови. Полученные таким образом величины содержания гонадотропинов в крови у людей приведены в табл. 7.

ГОНАДОТРОПИНЫ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ

При беременности продукция ФСГ гипофизом очень низка [44, 406, 463]. Гипофиз, видимо, не играет существенной роли в поддержании беременности. По наблюдению Карпан [849], беременность продолжала прогрессировать и закончилась нормальными родами у женщины после удаления гипофиза по поводу хромофобной аденомы на 12-й неделе беременности. Gemzell и др. [648] наблюдали наступление беременности у гипофизэктомированной женщины после экзогенного применения гонадотропинов из гипофизов человека. Беременность закончилась нормальными родами без лечения гонадотропинами во время нее.

Повышенный уровень ХГ при беременности обеспечивается плацентой. Экскреция ХГ повышается с первых недель беременности и достигает максимума (40—100 тыс. ИЕ в 1 л мочи) на 7—15-й неделе [1, 2, 351, 969, 626], а затем снижается до 10 тыс. ИЕ на литр. В дальнейшем этот уровень выделения гонадотропинов сохраняется до конца беременности. Однако Brody и др. [351, 353] при помощи иммунологического метода исследования гонадотропинов обнаружили второй их пик — на последнем месяце беременности, который был более чем в 3 раза ниже первого пика. Между экскрецией ХГ с мочой и содержанием его в крови имеется полный параллелизм.

В ряде работ обнаружена некоторая зависимость (которая, однако, находится на границе статистической достоверности) между уровнем ХГ в крови матери и полом

плода — при более низком уровне ХГ в крови в последнем триместре беременности чаще рождаются мальчики, чем девочки [353].

Имеются исследования о наличии ХГ в амниотической жидкости [53, 54, 1444]. Поскольку хорион пронизуем для ХГ только частично, содержание ХГ в амнионе значительно ниже (180—361 ИЕ/л), чем в крови и моче беременных женщин. По данным А. Б. Гиллерсона и Н. А. Вотяковой [53], наибольшее содержание гонадотропинов в амниотической жидкости наблюдается в ранние сроки беременности, а затем оно снижается, т. е. наблюдается параллелизм изменений ХГ в амниотической жидкости и в моче. Однако, по данным Wakuto [1444], содержание ХГ в амнионе не изменяется в процессе беременности в противоположность его содержанию в крови и в моче беременных.

По данным большинства авторов, при наступлении родовой деятельности продукция ХГ снижается [96, 15, 54, 91], лишь в работе Danielsson [481] определялся более высокий титр гонадотропинов в родах, чем в последний месяц беременности.

После родов содержание ХГ в моче сохраняется повышенным в первые 2 недели за счет выделения остаточного ХГ, а затем снижается в 2—6 раз. Начиная с третьей недели после родов выделение гонадотропинов с мочой достигает уровня, наблюдаемого при нормальном менструальном цикле.

Содержание эстрогенов в биологических жидкостях и тканях человека

СОДЕРЖАНИЕ ЭСТРОГЕНОВ В МОЧЕ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ

Эстрогены у новорожденных и у детей различного возраста

В первые 1—2 дня после рождения в моче детей содержится большое количество эстрогенов. Эти эстрогены материнского происхождения. Среди фракций эстрогенов преобладает эстриол, подобно тому, что наблюдается у беременных женщин. В дальнейшем выделение эстрогенов быстро снижается до нуля. Так, Diczfalusy

и др. [511, 512] обнаружили в суточной моче у новорожденных мальчиков на второй день жизни 7 мг эстрола и следы эстрона, а через 2 недели эстрогенов в моче не содержалось. По данным Jaule и др. [817], в моче новорожденных детей в первые дни содержится 229 мкг/24 ч суммарных эстрогенов, а к пятому дню жизни эстрогены исчезают совсем.

Падение эстрогенов в моче у новорожденных коррелирует с постнатальным падением веса. По мнению Вигпо и др. [391], это связано с тем, что эстрогены задерживают воду в организме, а при снижении их уровня у новорожденных количество воды в тканях уменьшается, что и является причиной падения их веса.

В первые годы жизни детей в моче сохраняется низкое содержание эстрогенов. При биологическом определении у детей обнаружены очень низкие величины выделения эстрогенов. Frank и др. [630] у детей до 12 лет или совсем не обнаруживали эстрогенов в моче или выявляли лишь их следы. Dogfman и др. [532] в суточной моче у девочек 7—12 лет определили от 5 до 20 ИЕ (что эквивалентно 0,5—2 мкг эстрона), у мальчиков 7—16 лет — от 5 до 95 ИЕ (0,5—9,5 мкг эстрона). Pedersen-Vjergaard и др. [1127] в суточной моче у девочек 3—12 лет обнаружили не более 3 мышинных единиц (0,3 мкг эстрона).

При использовании химических методов определения эстрогенов в моче детей различные авторы находили более высокие их величины.

А. С. Заводова и В. П. Юровская [67] приводят следующие величины содержания эстрогенов в суточной моче: у девочек 1—2 лет — 50—88 мкг, 2—6 лет — 35—40 мкг, 6 лет — 60 мкг, 15 лет — 133 мкг. Но эти величины завышены, так как авторы пользовались несовершенным методом Е. А. Какушкиной и В. Г. Орловой. По данным Stroe и др. [1366], у детей 6—14 лет содержание эстрогенов колеблется от 14 до 50 мкг/24 ч. Но авторы также использовали недостаточно совершенный метод определения суммарных фенолстероидов. Jaule и др. [817], применив тот же метод, приводят более низкую величину: у детей 10—15 лет содержание фенолстероидов колеблется от 4 до 15 мкг/24 ч.

Eberlein и др. [546] применили более специфичный метод определения эстрола и обнаружили у детей до 1 года — 0—1,0 мкг/24 ч, от 1 до 5 лет — 0,1—3,0 мкг/24 ч,

от 6 до 10 лет — 2,0—6,0 *мкг/24 ч*. Врук и др. [389] у здоровой девочки 3½ лет в суточной моче обнаружили 1,4 *мкг* эстрона, 2,0 *мкг* эстрадиола и 1,4 *мкг* эстриола; у девочки в возрасте 4,5 лет соответствующие количества были 1,7, 2,1 и 4,0 *мкг*. Кпогг [896] полагает, что у детей при низком содержании эстрогенов специфичность метода имеет большое значение. Так, при определении эстрогенов методом Брауна у мальчиков с крипторхизмом 7—13 лет он обнаружил от 0,6 до 4,0 *мкг* эстрона/24 *ч*, а при использовании более специфичного метода Brown и Blair [371] значительно более низкие величины — от 0,4 до 0,56 *мкг/24 ч* эстрона.

При появлении менструаций у девочек выделение эстрогенов возрастает. По данным А. С. Лесаковой и А. А. Поповой [88], у неменструирующих девочек 9—15 лет суточное выделение эстрогенов составляет 27,7 *мкг*, у нерегулярно менструирующих — 30,8 *мкг*, а у девочек с регулярными менструациями — 40,3 *мкг/24 ч*. Однако эти данные, полученные по методу Е. А. Какушкиной и В. Г. Орловой, несколько завышены.

В исследованиях Ю. А. Крупко-Большовой [85] при определении эстрогенов по методу Брауна у 5 девочек 14 лет обнаружены более низкие величины выделения эстрогенов с подъемом их экскреции с 7 *мкг* в конце цикла до 15,57 *мкг* в середине цикла. Эти величины значительно ниже, чем у взрослых женщин при определении по тому же методу. З. Я. Анничкова и др. [10] у девочек в период полового созревания (во время ановуляторных циклов) находили низкое выделение эстрогенов (7—15 *мкг/24 ч*), а во время овуляторных циклов (во время овуляции) подъем эстрогенов был значительно выше, почти как и у взрослых женщин (до 60—80 *мкг* за 24 *ч*).

ЭСТРОГЕНЫ У ЖЕНЩИН С НОРМАЛЬНЫМ МЕНСТРУАЛЬНЫМ ЦИКЛОМ

После достижения половой зрелости и установления правильного, регулярного менструального цикла у женщин определяется и характерный ритм выделения эстрогенов с мочой. В начале и в конце нормального цикла имеется низкое выделение эстрогенов. По мере развития фолликула выделение эстрогенов возрастает. В середине цикла (за 14—16 дней до менструации) наблюдается

резкое повышение выделения эстрогенов с мочой. Это повышение носит название овуляционного пика экскреции эстрогенов, так как по времени совпадает с овуляцией. Затем выделение эстрогенов резко падает, что, по мнению ряда авторов [1309], отражает момент «перелома» функции фолликула — время от разрыва до образования желтого тела. Затем наблюдается новое увеличение экскреции эстрогенов. Этот второй подъем обычно более продолжительный, связанный с продукцией эстрогенов желтым телом, называется лютеиновым пиком. Перед наступлением менструации выделение эстрогенов снова снижается.

Такой характер экскреции эстрогенов на протяжении цикла был впервые отмечен Gustavson и др. [705] при биологическом их тестировании, а затем был подтвержден многими авторами, использовавшими как биологический [707, 1455, 160, 179, 159], так и химический методы их определения [817, 358, 361, 1518, 1366, 367, 1491, 1149, 1309, 132, 25, 139, 974, 120, 121].

Если овуляционный пик выражен всегда резко, то лютеиновый пик может проявляться не столь отчетливо. Так, Smith и др. [1303] при биологическом определении эстрогенов не смогли отметить этого пика, а находили лишь один пик в течение цикла. При химических методах определения эстрогенов в моче этот пик также может быть не очень высоким. В исследованиях О. Н. Савченко и Г. С. Степанова [139] у половины женщин овуляционный пик выше лютеинового, у другой половины обследованных женщин он или равен лютеиновому, или ниже его.

Время появления указанных пиков выделения эстрогенов у разных женщин сильно варьирует и зависит от длительности цикла.

Ввиду такого изменчивого характера выделения эстрогенов в течение цикла, что является отражением физиологических процессов созревания фолликула и развития желтого тела в яичнике, однократное определение эстрогенов в течение цикла имеет очень ограниченное значение. Для характеристики функции яичников необходимо динамическое исследование выделения эстрогенов на протяжении цикла.

Величины выделения эстрогенов при биологических методах тестирования трудно сравнимы между собой, так как выражаются в различных единицах [178, 630, 1127, 1303, 1455].

Величины выделения эстрогенов при химическом определении также несколько варьируют в зависимости от использованных методик. При определении суммарного количества эстрогенов методом Jayle и Greer [817] авторы метода находили 57—130 мкг/24 ч, Stroe и др. [1366]—5—160 мкг/24 ч, Л. Г. Лейбсон [87]—15—127 мкг/24 ч, О. Н. Савченко [131, 132]—20—127 мкг/24 ч.

В дальнейшем при использовании методов определения эстрогенов по фракциям было установлено, что общее количество эстрогенов, вычисляемое как сумма эстрона, эстрадиола и эстриола за 24 ч немного ниже приведенных выше величин [358, 361, 367, 132, 139, 515, 819, 1426].

Выделение с мочой эстрона, эстрадиола и эстриола в различные фазы нормального менструального цикла приведено в табл. 8.

В прежних исследованиях [1305, 160, 161] на основании биологического определения недостаточно идентифицированных фракций эстрогенов находили существенное увеличение процента эстрадиола в сумме эстрогенов во время менструации. Но, как показывают современные исследования, приведенные выше (см. табл. 8), эти данные не подтвердились. Выделение эстрадиола, как и всех эстрогенов, является наиболее низким в период менструаций и наиболее высоким — в период овуляции, причем процентное содержание его существенно не меняется на протяжении цикла.

Как видно из приведенных в табл. 8 величины, по данным большинства авторов, на долю эстрадиола приходится минимальная часть из суммы эстрогенов. По данным Brown [356, 361], Pattarajugs и др. [1149] отношение эстрона к эстрадиолу равно 2, по данным О. Н. Савченко [132] — в среднем 2,5, хотя индивидуальные колебания довольно большие (от 1,5 до 4,0).

Количество эстриола в суточной моче или равно эстрону, или несколько выше его. По данным Brown, отношение суммы эстрона и эстрадиола к эстриолу равно 1. По данным О. Н. Савченко [132], в среднем оно равнялось 1,2 с колебаниями от 0,6 до 2,9 у разных лиц.

Е. А. Какушкина [74], З. Д. Савельева и В. Г. Орлова [130] опубликовали данные о падении содержания в моче эстрона и увеличении эстрадиола в лютеиновую фазу цикла. Но в других работах с использованием более

Содержание различных фракций эстрогенов в моче у женщины с нормальным менструальным циклом

Авторы	Метод	Фаза цикла	Эстрогены в мкг за 24 ч				
			эстрон	эстрадиол	эстриол	16-эпи-эстриол	16 β -гидроксиэстриол
Brown [358, 361, 367]	Brown [357]	Менструация	5 (4-7)	2 (0-3)	6 (0-15)	—	—
		Овуляция	20 (11-31)	9 (4-14)	27 (13-54)	—	—
		Середина лютеиновой фазы	14 (10-23)	7 (4-10)	22 (8-72)	—	—
Würterle и др. [491]	» »	Менструация	3,6 (2-5,0)	2 (0,8-3,5)	8,4 (5,5-12,5)	—	—
		Овуляция	10,3 (8,5-12,5)	5,6 (3-6,1)	31,9 (24,2-36,3)	—	—
		Середина лютеиновой фазы	10,5 (8,5-12,6)	5,3 (4,9-5,6)	19,5 (17,5-20,6)	—	—
Diczfalussy и др. [515]	» »	Фолликулиновая фаза	4,7	2,7	6,2		
		Лютеиновая фаза	8,7	4,4	14,8		
Lorraine и др. [974]	» »	Менструация	4,5 (1,2-11)	1,7 (0,0-7,7)	5,4 (2,1-12,5)		
		Фолликулиновая фаза	5,7 (1,4-18)	2,9 (0,0-13)	6,8 (1,5-17,6)		
		Овуляция	12,6 (2,5-24,6)	5,2 (1,0-23)	17,8 (2,7-73,8)		
		Лютеиновая фаза	9,6 (2,2-23,6)	3,6 (0,0-13,2)	0,0 (4,0-58,7)		

О. Н. Савченко, 1961 (131), О. Н. Савченко и Г. С. Степанов, [139]	Brown [357]	Фолликулиновая фаза	0,0-28,2	0,0-14,8	2,0-39,8		
		Лютеиновая фаза	0-18,9	0,0-9,5	1,5-35,6		
Noske и др. [1086]	Метод авторов	Овуляционный пик	9,0	16,0	20,0	3,1	—
Lorraine [970]	Brown [357]	В течение всего цикла	—	—	—	—	1,0-25,0
Dao [478]	Метод автора	14-й день цикла	10,0	5,4	5,0	5,0	
		7-й день цикла	3,5	0,7	6,0	7,2	
Е. И. Петранюк [120]	Brown [357]	Овуляционный пик	19,7 \pm 1,6 (12-27,2)	9,6 \pm 1,1 (4,0-15,3)	30,7 \pm 4,1 (10,2-55,3)		
		Лютеиновый пик	27,0-64,5	2,0-22,8	14,1-35,6		

совершенных методов не обнаружено изменений в соотношении фракций эстрогена и эстрадиола в течение цикла [132, 358, 1149, 1355, 1309, 1491].

Brown [358, 361] на основании своих данных считает, что отношение эстрогена и эстрадиола к эстриолу также не меняется в течение цикла. Однако Smith и др. [1309] полагают, что в лютеиновую фазу цикла увеличивается процент эстриола в сумме эстрогенов, что они рассматривают как следствие влияния прогестерона. В исследованиях О. Н. Савченко [132] в группе молодых женщин (25—33 лет) наблюдалось статистически достоверное увеличение процентного содержания эстриола в сумме эстрогенов. Но у женщин старше 40 лет с нормальным, овуляторным по всем признакам циклом такого увеличения обнаружить не удалось.

Как было показано выше (часть I), в моче определяются не только эстроген, эстрадиол и эстриол. Но в отношении количественных данных о содержании других фракций эстрогенов в моче у женщин с нормальным менструальным циклом сведения еще очень скудные. Logaine [970] в своей монографии привел предварительные данные относительно содержания в моче 16α -гидроксиэстрогена, величины которого колеблются от 1 до 25 $\mu\text{кг}$ в сутки. По мнению Logaine [970], этому эстрогену должна быть отведена немаловажная роль в общей доле выделяемых мочой эстрогенов. Проводилось также исследование 16 -эпиэстриола в моче. По данным Dao [477], у женщин с нормальным менструальным циклом, но больных раком молочной железы содержание эстриола и 16 -эпиэстриола почти одинаково — $5,0$ — $7,0$ $\mu\text{кг}/24$ ч. Однако в работе Noske и др. [1087], использовавших более совершенный метод определения 16 -эпиэстриола, показано, что содержание эстриола у женщин с нормальным циклом почти в 8 раз выше, чем 16 -эпиэстриола. По их данным, среднее отношение фракций эстрогенов в цикле является следующим: 17β -эстрадиол : эстроген : эстриол : 16 -эпиэстриол равно $1 : 2 : 4,4 : 0,6$. На долю 16 -эпиэстриола приходится около 7% от суммы всех эстрогенов.

Smith и др. [1309] проводили параллельное определение эстрогенов (эстрогена, эстрадиола и эстриола) в моче женщин с нормальным менструальным циклом методом Брауна и биологическим методом. Они обнаружили при биологическом тестировании более высокие величины,

чем при химическом методе определения, за счет присутствия 3 неидентифицированных фракций. Эти неизвестные эстрогеноподобные соединения не могут быть отнесены ни к одному из идентифицированных новых эстрогенов. Даже сами авторы полагают, что, возможно, некоторые из них не являются истинными эстрогенами, а лишь усиливают влияние последних. Одним из этих веществ может быть, например, 16 α -гидроксандростендион. Окончательное заключение об этом можно будет сделать лишь после идентификации этих добавочных фракций. Но хотя работа Smith и др. [1309] появилась в 1959 г., больше не было сообщений о дальнейших попытках химической характеристики этих фракций.

В исследованиях О. Н. Савченко [133] не было обнаружено разницы в экскреции эстрогенов с мочой у женщины 47 лет с нормальным менструальным циклом при сравнении биологического (по весу матки мышей) и химического (метод Брауна) методов их определения.

Часто для характеристики нормального менструального цикла и продукции эстрогенов в организме используется изучение цитологической картины влагалищных мазков. В исследованиях Patajarjurs и др. [1149] было установлено, что в большинстве случаев существует корреляция между степенью корнификации влагалищных мазков и уровнем экскреции эстрогенов у женщины в фолликулиновую фазу цикла. В лютеиновую фазу, несмотря на высокую продукцию эстрогенов, корнификация подавляется прогестероном. У одних женщин степень корнификации соответствовала уровню эстрогенов через 2 дня, у других — через 1 день. В некоторых нормальных овуляторных циклах автором не удалось обнаружить такого соответствия. Поэтому они делают вывод, что корреляция между корнификацией влагалищного эпителия и уровнем экскреции эстрогенов скорее статистическая, чем практическая.

Эстрогены в период становления менопаузы и в постменопаузальный период

Пока у женщины сохранен нормальный менструальный цикл, выделение эстрогенов с мочой не изменяется с возрастом. Это было обнаружено как при биологическом

исследовании [1127], так и при использовании более совершенных химических методов [367, 132].

Однако при наступлении менопаузы картина резко меняется. Уже первая задержка менструаций вызывает резкое падение выделения эстрогенов [137, 140, 141]. Во время нерегулярных менструаций периоды задержек с низким выделением эстрогенов могут сменяться периодами возобновления циклической деятельности яичников. При этом могут появляться нормальные овуляторные циклы. Выделение эстрогенов достигает величин, соответствующих пикам нормального менструального цикла, включая максимальные величины, но не превышая их. Характер экскреции эстрогенов в это время также напоминает нормальный менструальный цикл, только овуляционный пик выражен меньше, чем лютеиновый. При появлении (после задержки менструаций) ановуляторных циклов также наблюдается повышение выделения эстрогенов с мочой до величин пиков нормального менструального цикла, но характер экскреции изменяется — в середине цикла имеется лишь один, довольно долго сохраняющийся подъем, который затем сменяется падением. Как овуляторный, так и ановуляторный циклы заканчиваются менструальноподобным кровоотделением.

Величины выделения эстрогенов с мочой, полученные О. Н. Савченко у женщин с возрастным нарушением цикла, приведены в табл. 9.

Таблица 9

Выделение эстрогенов с мочой у женщин 45—56 лет в период возрастных нарушений менструального цикла

Состояние цикла и характер его	Эстрогены (мкг/24 ч)			
	сумма	эстрон	эстрадиол	эстриол
Период задержки . . .	1,6—14,5	0,0—4,1	0,0—4,2	0,0—7,5
Ановуляторный цикл	3,9—60,0	0,3—24,4	0,8—18,5	2,8—31
Овуляторный цикл	6,3—108,8	0,0—18	0,0—8,9	1,5—95,8

Появление овуляторных и ановуляторных циклов при нерегулярных менструациях в климактерическом возрастном периоде наблюдали также Е. М. Вихляева [36].

Н. В. Свечникова [142], однако величины выделения эстрогенов, приводимые этими авторами, завышены вследствие несовершенства использованных ими методов определения (метод Е. А. Какушкиной или метод Engel).

После окончательного прекращения менструаций и установления менопаузы выделение эстрогенов резко снижается с первых же месяцев менопаузы. При биологическом определении эстрогенов в моче их содержание было очень низким [630, 1309, 289, 1127, 1307, 1134].

В первых исследованиях, в которых были использованы недостаточно специфичные химические методы определения эстрогенов, получались завышенные величины, и некоторые авторы не отметили падения экскреции эстрогенов в постменопаузальный период [77, 52]. Однако и абсолютные величины, приводимые этими авторами, сильно завышены (689—155 $\text{мкг}/24 \text{ ч}$), поскольку не вво-дилось поправки на присутствие примесей.

При использовании метода Jayle и Сгеру [817] для суммарных эстрогенов различные авторы находили у женщин в постменопаузальном периоде в моче 30—140 $\text{мкг}/24 \text{ ч}$ [817, 87, 131].

По данным О. М. Уваровской [156], у женщин в период климакса выделение эстрогенов составляло от 1 до 14 мкг , в среднем 7 мкг за 24 ч.

Ввиду очень низкого содержания эстрогенов у женщин после установления менопаузы специфичность метода имеет особое значение. При использовании указанных выше методов результаты были значительно выше, чем при биологическом определении. Однако применение более специфичных методов химического определения эстрогенов, дающих значительно большую очистку и разделение эстрогенов на отдельные фракции, привело к тому, что величины суточной экскреции эстрогенов оказались более низкими. Величины выделения эстрогенов и соотношение их фракций при использовании современных методов определения эстрогенов приведены в табл. 10.

Некоторые авторы, например Nissen-Meyer и др. [1081], полагают, что метод Брауна тоже недостаточно специфичен для определения эстрогенов в моче женщин после наступления менопаузы, и использовали поэтому определение только эстрона, но с применением еще большей очистки.

Выделение различных фракций эстрогенов

Авторы	Метод	Эстрогены	
		сумма	эстрон
McBride [1023]	Brown [357]	1,4—22	2,0 (0—7,2)
Bulbrook и др. [399] Brown [369] О. Н. Савченко и Г. С. Степанов [138]	Brown и др. [364] То же » »	5 ± 2,5	1,8 ± 1,3
		5,5 ± 2,0	1,3 ± 0,6
		15,7 ± 11,3	5,4 (0—11)
		5,9 ± 3,7	1,8 (0—4,3)
		4,7 ± 3,1	1,3 (0—8,9)
Nissen-Meyer и др. [1080]	Brown и др. [371]		1,78
			1,48
			1,57
			1,11
			0,00
			0,77
Hobkirk [767]	Givner и др. [662]	10,0	1,08
		(5,1—21,5)	0,78 0,44 2,2
			(0,4—4,9)
Noske и др. [1087]	Метод авторов		0,5—1,5

* В фракцию «D-α-кетолы» входит 16-кетоэстрадиол, 16α-гидроксн

В большинстве работ проводится определение 3 фракций эстрогенов: эстрона, эстрадиола и эстриола. Среди этих фракций на долю эстрадиола приходится наименьший процент от суммы, и часто величины его ниже чувствительности метода. Эстриол относительно возрастает после наступления менопаузы и составляет примерно 2/3 в общей сумме 3 фракций эстрогенов, хотя и его величины иногда бывают ниже чувствительности метода [1023, 359, 338, 942, 138].

В последнее время появились работы, в которых определялись еще и другие фракции эстрогенов. Noske и др. [1087] определяли, кроме эстрона, эстрадиола и эстриола, еще и 16-эпиэстриол. Его количество относи-

Таблица 10

с мочой у женщин в постменопаузальном периоде

в моче в мкг/24 ч				длительность постменопаузального периода в годах
эстрадиол	эстриол	16-эпиэстриол	D- α -кетолы	
0,6 (0-5,6)	3,0 (0,0-10,8)			2-26
0,9 \pm 1,3	2,4 \pm 2,1			Более 2 лет
0,3 \pm 0,5	3,9 \pm 1,6			
2,4 (0-7,3)	10,4 (0-32,5)			0-2
0,4 (0-3,3)	3,6 (0-12,7)			2-5
0,6 (0-4,4)	2,8 (0-10,2)			Более 5
—	—			0,5-1
—	—			1-2
—	—			2-3
—	—			3-4
—	—			4-5
—	—			5-10
—	—			10-15
—	—			15-20
—	—			Больше 25
—	0,6 (1,5-14,9)	—	2,8 (1,3-4,2)	47-72 года (возраст обследованных)
0,5-3,6	0,9-8,3	0,8-2,0	—	55-58 (возраст обследованных)

эстрон и, возможно, 16 β -гидроксиэстрон.

тельно возрастает после менопаузы. Если у женщины с сохраненным менструальным циклом отношение эстриола к 16-эпиэстриолу равно примерно 8, то после менопаузы это отношение снижается до 2,9.

Novkirk [767], кроме эстрона и эстриола, исследовали экскрецию D- α -кетолов, куда входят в основном 16 α -гидроксиэстрон и 16-кетозэстрадиол. Содержание этих фракций по количеству равно примерно эстроновой фракции.

Smith и др. [1309] сообщили, что при биологическом тестировании вся активность эстрогенов в моче у женщин после менопаузы не может быть отнесена только за счет эстрона, эстрадиола и эстриола, а объясняется присутствием еще каких-то неидентифицированных фракций.

Однако в работе не приведено фактических данных, поэтому трудно судить об их достоверности. В исследованиях же Vulbbook и др. [398] содержание эстрогенов в моче (при определении по методу Брауна) совпало с результатами биологического определения. В исследованиях О. Н. Савченко [132] было сопоставлено биологическое тестирование неочищенных экстрактов мочи (по весу матки мышей) с определением фракций эстрогенов по Брауну. При этом было обнаружено, что как во время задержек менструаций и возобновления цикла, так и после установления менопаузы биологическая активность мочевых эстрогенов в основном соответствует количеству эстрона и эстрадиола. Следовательно, после наступления менопаузы в моче не появляются в заметном количестве какие-то другие активные эстрогены, иные, чем эстрон и эстрадиол. Поскольку повышенного количества эстрогенов в период нарушения цикла и в первые месяцы менопаузы отметить не удалось ни химическим, ни биологическим методами, то автор полагает, что представление Zondek [1509] о наличии гиперэстрогенной фазы как первой фазы климакса не соответствует действительности [23, 140].

Вопрос о дальнейшем изменении содержания эстрогенов в моче у женщины по мере увеличения срока постменопаузального периода изучался многими авторами. Ряд авторов не находили зависимости между сроком постменопаузального периода и уровнем эстрогенов в моче [1127, 1023, 87, 174, 175]. Однако длительность постменопаузального периода в этих исследованиях составляла более 2 лет. В исследованиях О. Н. Савченко и др. [131, 138] было установлено, что в первые 2 года постменопаузального периода среднее выделение эстрогенов достоверно выше, чем при более длительном сроке постменопаузального периода. Авторы объясняют это тем, что в первые 2 года после прекращения менструаций могут наблюдаться отдельные кратковременные ациклические подъемы выделения эстрогенов, происхождение которых трудно объяснить, но следствием этого является завышение средних величин выделения эстрогенов в первые 2 года после установления менопаузы. Падение среднего уровня выделения эстрогенов с мочой на 3—5-м году постменопаузального периода наблюдали также Н. В. Свечникова [142], Nissen-Meyer и др. [1081].

В исследованиях Brown и др. [375] обнаружена положительная корреляция между весом женщины после менопаузы и величиной выделения эстрогена и эстриола — у ожирелых женщин достоверно ($p < 0,001$) более высокое выделение эстрогенов.

Для клиницистов представляют интерес данные о соотношении экскреции эстрогенов с мочой и цитологической картины влагалищных мазков. Прямого соответствия между этими двумя тестами нет. В исследованиях М. Г. Арсеньевой и др. [12] при определении суммарных эстрогенов по методу Jayle и Сгеру [817] и оценке мазков по классификации Гейста и Сальмона у женщины после установления менопаузы не обнаружено соответствия между уровнем выделения эстрогенов и типом вагинального мазка. Н. А. Мануйлова [95] также не обнаружила соответствия между этими показателями у женщины после оофорэктомии.

При более совершенном методе окраски вагинальных мазков и более детальном изучении клеточных элементов мазка, а также при использовании более специфического метода определения эстрогенов в исследованиях Joung и др. [840] обнаружено, что у женщины после прекращения менструаций имеется соответствие между уровнем выделения эстрогенов и цитологической картиной вагинального мазка. В наших исследованиях совместно с М. Г. Арсеньевой при определении эстрогенов по методу Brown и др. [364] и при полихромной окраске мазков также была обнаружена корреляция между средним уровнем выделения эстрогенов и степенью пролиферации или атрофии вагинального эпителия у женщины после наступления менопаузы. Но это соответствие было лишь при расчете средних величин, в каждом же отдельном случае, особенно при однократном определении мазков и эстрогенов, его могло и не быть. Это вполне понятно, ибо реакция вагинального эпителия отражает ответ на сумму всех гормональных и негормональных воздействий, а не только уровень продукции эстрогенов в организме. Кроме того, имеет значение длительность воздействия. Так, в исследованиях Lajos и др. [916] пикнотический индекс в 70—80% наблюдался у одних женщин при экскреции всего 9—12 $\text{мкг}/24 \text{ ч}$, а у других при 50—74 мкг .

По-видимому, даже не очень высокий уровень эстрогенов при непрерывном воздействии и при очень слабом

влиянии антагонистов (например, прогестерона, кортикостероидов) может привести к повышенной пролиферации вагинального эпителия.

McBride [1023] не отметил соответствия величины выделения эстрогенов с гистологическим строением эндометрия у женщины после прекращения менструаций и даже нашел атрофический эндометрий при достаточно высокой экскреции эстрогенов (22 мкг/24 ч). При таком же уровне выделения эстрогенов с мочой у некоторых лиц автор обнаружил гиперплазию эндометрия.

В исследованиях Brown и др. [369] в большинстве случаев отмечалось соответствие гистологической картины соскоба эндометрия с уровнем выделения эстрогенов с мочой. Отдельные случаи расхождения авторы склонны объяснять тем, что эстрогены определялись однократно, а не систематически.

Эстрогены в моче у мужчин

Эстрогены в моче у мужчин были обнаружены еще при использовании биологических методов тестирования. Steinach и др. [1350] нашли у мужчин 0—36 крысиных единиц в суточной моче. По данным Pincus [1134], у мужчин в среднем выделяется 10 крысиных единиц. При определении на мышах обнаруженные величины составляли согласно Callow и др. [415] 1,5—4,0 мышинных единиц, по данным Hoskins и др. [782] — 0,3—5,0, а по данным Dorfman и др. [533] — 10—12 ME.

При использовании недостаточно совершенных химических методов определения эстрогенов в суточной моче у мужчин было обнаружено в среднем 40—50 мкг эстрогенов, при колебаниях от 25 до 100 мкг [817, 1517, 1333, 540]. Применение более специфических методов определения эстрогенов выявило значительно более низкие величины экскреции эстрогенов с мочой у мужчин — в среднем около 10 мкг/24 ч. Уровень выделения эстрогенов у мужчин при использовании современных методов определения и их фракционный состав приведены в табл. 11.

Эстрадиол в суточной моче у мужчин составляет наименьший процент от суммы эстрогенов. Содержание эстрогена примерно равно содержанию эстриола. Соотношение фракций эстрогенов в моче мужчин приблизительно

Выделение фракций эстрогенов с мочой у здоровых мужчин

Автор	Метод	Возраст	Эстрогены в мкг/24 ч					16 эпи-эстриол	D-э-кетолы
			сумма	эстрон	эстрадиол	эстриол			
Bloomberg и др. [295]	Brown [357]	Средний возраст	14,3 (9,2—21,3)	8,0 (5,1—11,6)	1,2 (0,0—2,9)	5,1 (2,9—7,4)			
Berson и др. [286]	То же	45—65	14,4 (5,6—17,8)	6,3 (2,8—12,5)	2,1 (0,8—3,8)	6,0 (1,3—12,7)			
Loraine [970]	»	—	10,3 (6,0—17,8)	3,5 (0,8—11,0)	5,4 (3,0—8,2)	1,5 (0,0—6,3)			
Brueer и др. [341]	»	—	17—22	1,0—8,0	2,0—4,0	8,0—10,0			
Nocke и др. [1087]	Метод авторов	—	—	1,5—4,8	0,5—1,3	1,2—4,2	Ниже 0,5		
Morse и др. [1057]	Bauld [266]	В среднем 26 В среднем 71	15,2±4,0 10,4±5,1	7,2±2,3 3,2±1,7	2,6±0,7 1,5±1,0	5,5±2,4 5,6±3,8			
В. Г. Баранов, Я. В. Благодная, Н. Ф. Николаенко, И. Ю. Подольская, И. Т. Розовская, Я. Д. Рафальский, О. Н. Савченко, Г. С. Степанов и Е. Г. Соколов [24]	Brown и др. [364]	30—49 50—69	9,6±4,4 8,6±3,9	2,5±2,0 1,9±1,0	1,4±0,8 1,4±2,0	5,8±3,6 4,7±2,9			
Hobkirk [767]	Givner и др. [662]	17—50	18,8 (8,6—26,3)	5,0 (1,5—8,3)	—	8,3 (3,9—13,5)	—	5,6 (2,3—10,1)	

такое же, как и у женщины, имеющих нормальный менструальный цикл. Общее количество эстрогенов у мужчин значительно ниже, чем в моче у женщин с нормальным менструальным циклом, но примерно в 2 раза выше, чем у женщин в постменопаузальном периоде.

Кроме 3 классических эстрогенов, в работе Вегнер и др. [342, 341] проводилось также определение и 16-эпиэстриола. Его содержание оказалось очень низким (менее 0,5 мкг в суточной моче) в противоположность его количеству в моче у женщин, у которых даже в постменопаузальном периоде определяется 0,8—2,0 мкг/24 ч.

Нобкирк [767] привел данные по содержанию в моче у мужчин D- α -кетолов, куда входят 16 α -гидроксэстрон и 16-кетоэстрадиол. Их содержание в моче мужчин было примерно равно содержанию эстрона. Такое же соотношение наблюдал автор и у женщин. При использовании специфического метода определения эстрона Exley и др. [589] обнаружили у мужчин наличие 8—10-дневных циклов в выделении эстрона и 17-кестостероидов, когда колебания их уровня достигали $\pm 20\%$. Это указывает, по мнению авторов, на возможную цикличность деятельности гонад у мужчин.

Поскольку эстрогены у мужчин вырабатываются в основном семенниками, то представляют интерес данные о динамике их изменения в процессе старения.

Ряд авторов не находит изменения экскреции эстрогенов с мочой у мужчин с увеличением возраста [1134, 1333]. В наших исследованиях [24] также не обнаружено изменения не только суммарных эстрогенов, но и соотношения их фракций у мужчин в процессе старения. Однако Morse и др. [1057] обнаружили у молодых мужчин в возрасте 26 лет статистически достоверное более высокое содержание эстрогенов в моче, главным образом за счет повышения фракции эстрона, чем в моче старых мужчин (средний возраст 71 год). Возможно, это объясняется тем, что в исследованиях этих авторов молодые мужчины были здоровыми, а мужчины старшей возрастной группы были тяжело больными (гипертония или рак предстательной железы). Однако можно отнести эти изменения за счет заболевания, неизвестно, так как в исследованиях Zimmermann и др. [1507] у мужчин, страдающих аденомой простаты, выделение эстрогенов было даже несколько выше, чем у здоровых.

Выделение эстрогенов с мочой после гонадэктомии

Удаление яичников у женщины в чадородном возрасте с сохраненным менструальным циклом приводит к резкому падению выделения эстрогенов, что было показано как биологическими [632, 478, 477], так и химическими методами [1245, 399, 515].

У женщины после наступления менопаузы удаление яичников, по данным большинства авторов, не изменяет содержания эстрогенов в суточной моче, если до операции наблюдалось низкое их выделение [1023, 619, 370, 369]. Однако в работе Nissen-Meyer и др. [1080] с применением более специфического метода определения эстрона (с дополнительной очисткой реактивом Жирана) обнаружено некоторое его снижение после оофорэктомии у женщины, больных раком молочной железы, в различные сроки постменопаузального периода. На основании этого авторы делают заключение, что и после менопаузы яичники продолжают продуцировать некоторое, правда, очень небольшое количество эстрогенов. В случае относительно высокого выделения эстрогенов после менопаузы, приводящего к гиперплазии эндометрия и появлению постменопаузальных кровотечений, удаление яичников (в которых обнаруживается гиперплазия текалютеиновых клеток) приводит к резкому снижению выделения эстрогенов, иногда до полного их отсутствия [369, 916].

Величины экскреции эстрогенов с мочой у женщины после удаления яичников, по данным различных авторов, приведены в табл. 12.

Некоторые авторы отмечают, что при удалении яичников у молодых женщин наиболее резко снижается фракция эстриола (более чем на 50%), а эстрон и эстрадиол менее резко [515]. В наших исследованиях у молодых женщин после удаления яичников в сумме эстрогенов на эстриол приходилось всего 21,8% (возраст этой группы колебался от 25 до 35 лет). У женщины старшей возрастной группы (39—51 года) на долю эстриола приходился 61% от общей суммы эстрогенов. Эта разница статистически достоверна ($p < 0,01$). Leonі и др. [942] также наблюдали преобладание эстрона и эстрадиола у молодых женщин после удаления яичников по сравнению с женщинами в постменопаузальном периоде,

Выделение с мочой эстрогенов у женщин после удаления яичников

Таблица 12

Авторы	Метод	Эстрогены в мкг/24 ч		
		сумма	эстрон	эстрадиол
Dao [477]	Биологический, на мышах	15—200 ME	—	—
Sandberg и др. [1245]	» » »	0,2 мкг	—	—
И. А. Мануйлова [95]	Е. А. Какушкина и В. Г. Орлова [76]	158 мкг — в первые три месяца после удаления яичников 40—100 мкг — через 1—8 лет после удаления яичников	—	—
Greenwood и др. [691]	Brown и др. [363]	—	0—18,6	0—12,0
Bulbrook и др. [399]	То же	5,3±2,6	1,8±1,0	0,6±0,8
Brown и др. [370]	» » »	6,9	1,1	—
Diczfalussy и др. [515]	» » »	7,1	2,9	2,4
Julл и др. [541]	» » »	3,7±1,4	2,2±1,7	1,4±0,8
О. Н. Савченко, 1964	» » »	4,6±1,4 ¹ 7,7±3,4 ²	2,0±0,77 2,0±0,83	1,6±1,23 1,0±0,81
Lajos и др. [916]	Kecskes и др. [856]	0—18,6	0—10,0	0—0
Nissen-Meyer и др. [1080]	Brown и др. [609]		0,87±13,0 0,94±0,12 0,57±0,20	—45—49 лет —50—59 » —60—69 »

¹ У женщин 23—35 лет.

² У женщин 39—51 года.

что авторы объясняют замедлением процессов метаболизма эстрогенов при старении. Jull и др. [841], однако, не находили разницы в количестве и качественном составе эстрогенов мочи у молодых женщин после удаления яичников и у женщин после менопаузы, находя во всех случаях преобладание эстрона и эстрадиола.

У мужчин после удаления семенников выделение эстрогенов существенно не изменяется [1057].

Тотальная гипофизэктомия у женщин и у мужчин приводит к резкому снижению выделения эстрогенов; эстрогены в моче часто совсем не обнаруживаются, но у части лиц продолжает выделяться некоторое их количество, что, возможно, объясняется неполным удалением гипофиза или добавочной эктопированной тканью гипофиза, остающейся после операции у таких пациентов [691, 1459].

СОДЕРЖАНИЕ ЭСТРОГЕНОВ В КРОВИ У ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ

Содержание эстрогенов в крови у женщин с нормальным менструальным циклом очень невелико, поэтому с достоверностью определить их трудно. При биологическом определении Н. А. Эскин и М. Э. Чабан [190] находили 12,5—50 крысиных единиц на 100 мл крови. При химическом определении различные авторы приводят несколько разные величины содержания эстрогенов в крови в течение цикла, причем решающее значение имеет степень очистки эстрогенов. Величины содержания эстрогенов в крови у женщин с нормальным менструальным циклом приведены в табл. 13.

Некоторые авторы [1214] с достоверностью могли определить лишь эстрон, да и то только в середине менструального цикла. Эстрадиол был обнаружен в крови всего 4 раза из 30, а величины эстриола всегда были ниже чувствительности метода. Varangot и др. [1424, 1425], а также Granjon и др. [684] также часто не обнаруживали всех фракций эстрогенов, особенно эстрадиола. Эстриол, по их данным, почти всегда отсутствовал в фолликулиновую фазу и появлялся в крови лишь во время лютеиновой. Очень низкие величины содержания эстрогенов в крови приводит также Svedsen [1373] при использовании метода обратного изотопного разведения. Между тем, данные Keller и др. [859], полученные

Содержание эстрогенов в крови у женщин с нормальным менструальным циклом
(в $\text{мкг}/100 \text{ мл}$ плазмы крови)

Автор	Фолликулиновая фаза			Лютеиновая фаза		
	эстрон	эстрадиол	эстриол	эстрон	эстрадиол	эстриол
Varangot и др. [1424]	$0,7 \pm 0,2$	$0,2 \pm 0,1$	0,0	$0,4 \pm 0,3$	$0,6 \pm 0,5$	$1,1 \pm 0,2$
Svedsen [1337]	$0,01 - 0,075$	$0,01 - 0,075$	—	—	—	—
Ittrich [805]	$0,6 - 1,7$	$0,5 - 1,1$	$0,3 - 1$	$0,6 - 0,9$	$0,5 - 0,6$	$0,3 - 0,4$
Granjon и др. [81]	$1,5 \pm 0,6$	0,5	0,5	$2,3 \pm 1,4$	$0,9 \pm 0,9$	$2,2 \pm 1,7$
Keller и др. [859]		$1,0 - 3,0$	$0,2 - 2,0$	$1,0 - 2,0$		$0,5 - 1,5$
Kroman и др. [908]				3,8	6,07	6,53
Roy [1214]	$0 - 0,11$	$0 - 0,03$	0	—	—	—

при флуорометрическом определении эстрогенов, и особенно данные Kroman и др. [908], использовавших метод газовой хроматографии, значительно выше, чем величины, приводимые другими авторами.

При динамическом определении эстрогенов крови в течение цикла и при сравнении содержания эстрогенов в крови и в моче отмечается хорошая корреляция между этими величинами. В крови также отмечается подъем концентрации эстрогенов в середине цикла и в лютеиновую фазу, причем он предшествует (на 1 день) пику выделения эстрогенов с мочой [805, 1214, 859].

После менопаузы у женщин содержание эстрогенов в крови очень низкое и лишь иногда обнаруживаются следы эстрогена и эстрадиола (эстрон — $0,5 \pm 0,1 \text{ мкг}/100 \text{ мл}$, эстрадиол меньше $0,5 \text{ мкг}/10 \text{ мл}$); эстриол всегда отсутствует [1424, 684, 908].

У мужчин также не обнаружен эстриол в крови [1425, 908]. По данным Kroman и др. [908], содержание эстрогена в крови у мужчин определялось в виде следов, а содержание эстрадиола было всегда высоким — $0,15 - 6,11 \text{ мкг}/100 \text{ мл}$. Но нужно отметить, что и для женщины данные Kroman и др. значительно выше, чем данные других авторов.

В работе Pochi и др. [1139] для мужчины приводятся значительно более низкие величины — $0,015 \pm 0,012$ мкг эстрогена и $0,042 \pm 0,009$ мкг эстрадиола на 100 мл крови.

В некоторых работах проводилось определение эстрогенов не только в периферической крови, но и в венозной крови, оттекающей от яичников. Hardy и др. (цит. по [516]) в периферической крови у женщины обнаруживали меньше 2 мкг/100 мл. В вене яичников у женщины моложе 40 лет они нашли 9,1 мкг/100 мл (3,3—14,1 мкг/100 мл), а у женщины старше 40 лет (средний возраст 57 лет) — 2,8 мкг/100 мл (1,2—6,8 мкг/100 мл). Mahesh и др. [991] в венозной крови, оттекающей от яичников у женщины с нормальным менструальным циклом, в период овуляции обнаружили только эстрадиол в количестве 1,7 мкг/100 мл плазмы. После стимуляции ФСГ количество эстрадиола в вене яичника возрастает до 5,6 мкг/100 мл, а эстрон и эстриол по-прежнему отсутствуют.

Приведенные выше данные о содержании эстрогенов в крови пока следует рассматривать лишь как ориентировочные до создания более чувствительных и совершенных методов определения.

СОДЕРЖАНИЕ ЭСТРОГЕНОВ В ЯИЧНИКАХ У ЖЕНЩИН

При определении эстрогенов в фолликулярной жидкости у женщины с нормальным менструальным циклом Smith [1304] обнаружил в пролиферативной фазе менструального цикла эстрадиол в количестве 32,4 мкг/100 мл и эстрон — 6,4 мкг/100 мл. Эстриол в это время в фолликулярной жидкости отсутствовал. В секреторной фазе цикла автор обнаруживал все три эстрогена, но среди них преобладал эстриол (эстрон — 4,6; эстрадиол — 10,4 и эстриол — 24,0 мкг в 100 мл).

При введении женщинам с нормальным менструальным циклом больших доз ФСГ в течение 10 дней до операции чревосечения Smith и др. [1311] нашли в фолликулярной жидкости повышенное количество эстрогенов (67—200 мкг/100 мл). Среди них преобладал эстрадиол (73—94%), а эстриол не был обнаружен совсем.

Кроме эстрогена и эстрадиола, Smith и др. [1304, 1311] обнаружили в фолликулярной жидкости как нормальных, так и стимулированных ФСГ яичников еще другие

биологически активные, но неидентифицированные эстрогены.

При определении эстрогенов в ткани яичников Zander и др. [1500] обнаружили в зрелом фолликуле 0,5—1,98 мкг/г эстрона, 0,1—0,91 мкг/г эстрадиола и очень мало — 0,05 мкг/г — эстриола. В желтых телах содержание эстрогенов, по их данным, было меньше и составляло 0,3 мкг/г для эстрона и эстрадиола, эстриол отсутствовал. Кроме этих эстрогенов, были обнаружены другие, неидентифицированные фенолстероиды.

По данным Kecskes и др. [856], в яичниках женщины с нормальным менструальным циклом содержится в среднем 0,54 (0,24—0,96) мкг/г эстрона, 0,62 (0,50—0,69) мкг/г эстрадиола и 0,24 (0,00—0,61) мкг/г эстриола. В отличие от приведенных выше авторов Kecskes и сотрудники нашли высокое содержание эстриола в яичниках в фолликулиновую фазу цикла. У женщины 55 лет в постменопаузальном периоде авторы не смогли обнаружить эстрогены в яичниках. Но при кровотечениях в период климактерия или после менопаузы, когда в яичниках была найдена гиперплазия текалютеиновых клеток, Lajos и др. [915, 916] обнаружили эстрогены в яичниках в количестве 0,3—3,3 мкг/г ткани яичников.

В ранние стадии беременности (до 2 месяцев) содержание эстрогенов в яичниках, по данным Kecskes и др. [856], повышено по сравнению с нормальным менструальным циклом (эстрон — 2,13, эстрадиол — 2,70 и эстриол — 5,0 мкг/г). Ткань яичников авторы получали во время операций по поводу внематочной беременности.

СОДЕРЖАНИЕ ЭСТРОГЕНОВ В ЖЕЛЧИ ЛЮДЕЙ

Определением эстрогенов в желчи людей занимались Adlercreutz и др. [198, 197]. Они показали, что в желчи содержатся только конъюгированные эстрогены. У беременных женщины обнаружено 6,98 мкг/100 мл эстрона, 2,21 мкг/100 мл эстрадиола и 372 мкг/100 мл эстриола. У беременных женщин в желчи, как и в моче, среди остальных фракций эстрогенов преобладает эстриол.

У небеременных женщин содержание эстрогенов в желчи значительно ниже: эстрона — 0,02—0,75, эстрадиола — 0,0—0,40, эстриола — 0,1—3,62 мкг/100 мл .

У мужчин содержание эстрогенов в желчи еще ниже, чем у небеременных женщин: эстрона — 0,01—0,18, эстрадиола — 0,00—0,13 и эстриола — 0,15—1,22 мкг/100 мл.

ЭСТРОГЕНЫ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ

Экскреция эстрогенов с мочой у беременных женщин

В первую неделю беременности экскреция эстрогенов с мочой сохраняется на том уровне, который был в середине лютеиновой фазы цикла [359, 108]. Затем начиная с 5—7-й недели беременности наблюдается медленное увеличение выделения эстрогенов [817, 359, 626, 1490]. На 10-12-й неделе беременности начинается новый крутой подъем выделения эстрогенов. Нарастание экскреции эстрогенов продолжается до самых родов, но в интервале 24—32-й недель беременности темп нарастания несколько замедляется, а с 32-й недели наступает новое ускоренное усиление выделения эстрогенов [817, 108, 885, 886, 654]. К пятому месяцу беременности выделение эстрогенов увеличивается в 30 раз, а перед родами превышает уровень эстрогенов при нормальном менструальном цикле примерно в 1000 раз.

Во время беременности отмечают большие колебания в выделении эстрогенов с мочой в различные часы суток, но в них не удается отметить определенной закономерности, поэтому результаты получаются точнее при определении эстрогенов в суточной моче, хотя Jасowicki и др. [815] считают, что для ориентировочной оценки состояния плода можно пользоваться и 6-часовыми порциями. Кроме того, ежедневные колебания эстрогенов даже у одной и той же женщины также очень значительны и могут достигать 60%. Поэтому при оценке состояния плода нельзя говорить о снижении выделения эстрогенов на основании однократных определений. Снижение можно считать достоверным лишь тогда, когда оно достигает 70% и продолжается систематически [1519, 689]. Еще более значительные колебания наблюдаются при сравнении экскреции эстрогенов у разных лиц.

Многие авторы отмечают, что имеется корреляция между уровнем выделения эстрогенов и количеством плодов. При многоплодной беременности наблюдаются более высокие величины экскреции эстрогенов на всем

протяжении беременности [180, 1518, 312, 458]. Более того, даже при одноплодной беременности имеется корреляция между весом плода и выделением эстрогенов. У женщин, родивших детей весом менее 2,9 кг, статистически достоверно более низкое выделение эстрогенов с 30 по 38-ую неделю беременности [629, 458].

Bentele [287] обнаружил, что у повторнородящих выделение эстрогенов более низкое. Такие же данные были получены и И. П. Мазюта [92]. Однако другие авторы [886, 458] не находят такой зависимости.

Не отмечалось также связи между уровнем выделения эстрогенов и весом, ростом и возрастом беременных женщин [458].

Klorreg и др. [885] отметили, что начиная с 20-недельного срока беременности можно с некоторой достоверностью предсказать ее длительность. При более низком выделении эстрогенов беременность будет более продолжительной (более 40 недель). Однако Fuguhjelm [641] не удалось найти такой корреляции при нормальной беременности и было отмечено некоторое снижение уровня эстрогенов лишь при переношенной беременности.

При суммарном определении эстрогенов в моче у беременных перед родами по методу Иттриха Bentele [287] обнаружил 10—20 $\mu\text{кг}$ в суточной моче, Igel и др. [799]—38,5 мг , Itrich и др. [807]—33, 5 мг . При определении эстрогенов по фракциям Brown [357] находил в это время в среднем 30 мг эстриола, 1,3 мг эстрона и 0,5 мг эстрадиола. Используя флуорометрический метод определения эстрогенов, Zondek и др. [1518] на 9-м месяце беременности обнаружили в среднем 11 мг эстриола и 17 мг эстрона и эстрадиола.

Logaine [970] в своей монографии приводит величины выделения с мочой не только трех «классических» эстрогенов, но и 16- α -гидроксиэстрона и 16-эпиэстриола, а Novkirk [769] и др. и величины 16-кетозэстрадиола и 2-метоксиэстриола (табл. 14).

Выделение всех фракций эстрогенов увеличивается по мере прогрессирования беременности. Исключением является лишь 2-метоксиэстрон, который является наименьшим компонентом среди других фракций эстрогенов. Его содержание на протяжении 20—30 недель беременности, по данным Novkirk и др. [769], колеблется от 0,25 до 1 мг . Выделение 2-метоксиэстрона подвержено

Выделение с мочой различных фракций эстрогенов
на 9-м месяце нормальной беременности
(мг/24 ч)

Авторы	Эстрон	16 α -гидрокси-эстрон	2-Метоксистерон	Эстрадиол	16-Кетоэстрадиол	Эстриол	16-Эни-эстриол
Lorraine [970]	2,0	2,0	—	0,75	—	30,0	0,75
Hobkirk и др. [769]	1,4	2,0	0,17	0,56	2,0	26,4	1,20

очень большим колебаниям. У одних женщин его экскреция увеличивается параллельно общим эстрогенам, у других не наблюдается его увеличения с прогрессированием беременности. Hobkirk и др. [769, 770] объясняют это различной степенью его деметилирования в 2-гидроксистерон у разных лиц.

Основной фракцией эстрогенов мочи при беременности является эстриол. Если содержание эстрона и эстрадиола к концу беременности увеличивается лишь в 100 раз, то эстриола — в 1000 раз. Следующее место среди фракций занимают эстрон, 16-кетострадиол и 16 α -гидроксистерон, которые по величине выделения примерно равны друг другу.

По данным Brown [357], Hobkirk [767], отношение эстрона к эстрадиолу не меняется на протяжении всей беременности, составляя 0,3—4,7.

Отношение же эстриола к сумме эстрона и эстрадиола при 20—25-недельной беременности составляло 7,0—9,0, а после 30 недель возрастало до 13,0.

Поскольку в количественном отношении основной фракцией при беременности является эстриол, то в последнее время для диагностических целей используют лишь определение эстриола. В табл. 15 приведены величины выделения эстриола в разные сроки нормальной беременности, по данным последних лет.

Поскольку синтез эстрогенов при беременности осуществляется плодовой частью плаценты при непосредственном участии плода, то выделение эстрогенов с мочой, особенно эстриола, является хорошим показателем функционального состояния плода.

Величины выделения эстриола с мочой при разных сроках
нормальной беременности
(мг/24 ч)

Срок беременности (недели)	Авторы				
	Klopffer и др. [1886]	Frandsen и др. [1626]	Wray и др. [1499]	Coyle и др. [458]	Stannwhite и др. [1298]
6	0,05				
7	0,06				
8	0,09				
9	0,15 ± 0,079				
10	0,16 ± 0,085	0,200			
11	0,23 ± 0,225				
12	0,28 ± 0,153				
13	0,58 ± 0,249				
14	0,70 ± 0,354				
15	1,15 ± 0,425				
16	1,95 ± 0,760	1,400	2,5		
17	2,40 ± 0,775				
18	3,65 ± 0,899				
19	4,35 ± 1,339	4,00			
20	5,59 ± 1,932				
21	6,70 ± 2,255		5,0		
22	7,59 ± 1,904				
23	9,36 ± 2,221				
24	10,04 ± 2,144	6,00			
25	10,57 ± 3,228		8,0		
26	12,98 ± 1,612				
27	13,75 ± 2,100			10,5 ± 3,4	
28	12,96 ± 3,465	10,00		10,8 ± 2,8	
29	14,67 ± 3,266			12,4 ± 2,8	
30	15,21 ± 3,450			12,5 ± 3,3	
31	15,24 ± 3,604		10,0	12,7 ± 3,1	
32	17,51 ± 4,265	11,00		13,3 ± 3,8	
33	18,12 ± 4,197			14,3 ± 3,8	
34	18,82 ± 3,571			16,3 ± 4,5	
35	22,55 ± 3,040			16,2 ± 4,7	
36	23,39 ± 3,928	16,00	20,00	19,7 ± 6,5	
37	28,61 ± 7,652			19,8 ± 6,4	
38	31,33 ± 5,565			20,0 ± 5,1	
39	33,34 ± 9,373			21,6 ± 7,6	
40	34,49 ± 9,352	24,00		23,1 ± 7,6	
41	33,22 ± 9,735	25,00	25,00	25,0 ± 7,4	

7—10

37—54

При внутривутробной гибели плода выделение эстрогенов очень резко снижается. Если на 33—38-й неделе беременности выделение эстриола достигает величин ниже $1 \text{ мг}/24 \text{ ч}$, то это указывает на то, что плод уже мертв [1519, 575, 689, 654]. В. Г. Орлова [118] указывает, что для всех сроков беременности при гибели плода выделение эстриола в 10—100 раз ниже нормального уровня для этих сроков.

При угрозе жизни плода выделение эстриола начинает неуклонно снижаться еще до появления клинических признаков ухудшения его состояния. При этом очень важна динамика выделения, а не однократные исследования, так как имеются очень большие ежедневные колебания, но важны также и абсолютные величины. Разные авторы приводят несколько различные нижние границы нормы, понижение показателей ниже которых уже указывает на угрозу жизни плода. Zondek и др. [1519] считают, что такой критической величиной в конце беременности является 3 мг эстриола в суточной моче. Между тем Frandsen и др. [626] сообщали, что при содержании 3 мг в суточной моче эстриола плод уже был мертв. Green и др. [689] считают нижней границей нормы $7—12 \text{ мг}/24 \text{ ч}$, при выделении $4—12 \text{ мг}$, по их мнению, уже желательное искусственное родоразрешение, а при выделении ниже 4 мг —совершенно обязательно.

Figuohjelm [641] при сроке беременности 33—38 недель нижней границей нормы считает $7,5 \text{ мг}/24 \text{ ч}$, а при сроке 39—42 недели — $4,9 \text{ мг}$.

Искусственное разрешение по показателям снижения эстриола часто приводило к рождению живых детей, особенно у матерей, больных диабетом [274, 689, 690].

При очень низком выделении эстрогенов в течение последнего месяца беременности очень велика перинатальная смертность [627, 689], а также часто встречаются различные уродства новорожденных [625, 689, 690].

Низкое выделение эстриола является плохим прогностическим признаком не только в последние недели беременности, но и в более ранние сроки, например при угрожающем выкидыше до 20 недель беременности [626, 689, 118]. Но в эти сроки беременности корреляция уровня выделения эстриола и исхода беременности менее тесна. При низком выделении эстрогенов в начале и середине беременности возможно их дальнейшее увеличение

до нормы, и беременность может закончиться рождением живого доношенного ребенка [575, 624, 626, 627].

Однако уровень выделения эстриола с мочой, хотя и является хорошим показателем функционального состояния плода, не может считаться абсолютным критерием. Смерть плода или перинатальная гибель его могут иногда наступать и при высоком выделении эстриола. Так, при резус-несовместимости уровень экскреции эстриола с мочой не отражает состояния плода. Выделение эстриола может быть в пределах нормы и все же наступает смерть плода, и только уже после внутриутробной его гибели уровень эстриола снижается [689]. В то же время описаны случаи выделения эстриола в последний месяц беременности ниже критической границы, после чего уровень эстриола в моче снова повышался и рождались живые дети [575, 999]. При некоторых инфекционных заболеваниях мочевыводящих путей, заболеваниях верхних дыхательных путей выделение эстриола с мочой резко снижается, но на развитии плода это не отражается.

Перед наступлением родов некоторые авторы наблюдали снижение выделения эстрогенов [180, 165, 108]. Особенно заметно падение было выражено при биологическом определении эстрогенов в опытах Smith и др. [1309], которые, кроме классических эстрогенов, находили в моче беременных еще и неидентифицированные фракции, особенно резко снижающиеся перед наступлением родов. Ряд авторов наблюдали лишь тенденцию к снижению выделения эстрогенов перед родами при рассмотрении средних величин, а у отдельных лиц этого падения не отмечалось [799, 808]. Некоторые авторы совсем не могли отметить падения экскреции эстрогенов перед родами [1519, 624]. Таким образом, даже если и имеется падение эстрогенов перед родами, то оно, видимо, очень небольшое, и родовая деятельность начинается на фоне высокого выделения эстрогенов с мочой [152, 808]. Возможно, что для наступления родов имеет значение изменение фракционного состава эстрогенов. По данным С. Х. Хакимовой [169, 166], наступление родов сопровождается увеличением эстрадиола и снижением эстрона и эстриола. К. Г. Степанковская и Т. Д. Фердман [150] наблюдали увеличение выделения не только эстрадиола, но и эстриола. На протяжении родов выделение эстрогенов снижается, однако после отделения плаценты наблюдает-

ся новый подъем эстрогенов в моче, который, по мнению Ittrich и др. [808], является следствием увеличения диуреза и попадания в мочу богатой эстрогенами крови из матки. При слабости родовой деятельности выделение эстрогенов с мочой снижено [202, 153].

После родов наступает резкое снижение выделения эстрогенов с мочой [359, 165, 287, 808]. Содержание эстрона и эстрадиола в моче возвращается к исходному уровню уже через 5 дней после родов, а эстриола — через 25 дней; эта разница объясняется тем, что эстриол выводится из организма более медленно, чем эстрон и эстрадиол. По данным Brown [359], во время аменореи периода лактации уровень выделения эстрогенов с мочой очень низок (эстрон — 3 мкг, эстрадиол — 0, эстриол — 1,0 мкг в сутки), значительно ниже, чем при нормальном менструальном цикле.

Содержание эстрогенов в крови во время беременности и родов

При наступлении беременности содержание эстрогенов в крови увеличивается. Это заметно уже с первых дней беременности. По данным Leone [951], оно выявляется уже к 28-му дню цикла, в котором наступила беременность. В дальнейшем, с прогрессированием беременности, наблюдается дальнейшее повышение содержания эстрогенов в крови, что согласуется с данными об увеличении эстрогенов в моче. Однако в крови это увеличение выражено меньше, чем в моче. По данным Ittrich и др. [806], концентрация эстрогенов в моче в конце беременности увеличивается в 500—1000 раз, а в крови лишь в 5—10 раз по сравнению с менструальным циклом.

Величины содержания эстрогенов в крови в разные сроки нормальной беременности, по данным различных авторов, приведены в табл. 16.

При одинаковом сроке беременности в отношении концентрации эстрогенов в крови между отдельными лицами имеется очень большая разница (в 5 раз, по данным Roy и др. [1217]), что затрудняет использование величин содержания эстрогенов в крови для диагностических целей. Но в течение суток или в течение последовательных дней у одной женщины колебания содержания эстрогенов

Таблица 16

Содержание эстрогенов в крови при нормальной беременности
в мкг на 100 мл плазмы

Авторы	Срок беременности (недели)	Эстрон	Эстрадиол	Эстриол	Сумма
Varangot и др. [1424]	4-8	1,9 ± 0,4	0,9 ± 0,3	1,1 ± 0,3	—
	8-12	2,8 ± 0,6	0,7 ± 0,2	1,4 ± 0,9	—
	12-16	2,2 ± 0,8	1,4 ± 0,2	2,6 ± 0,6	—
	16-24	2,5 ± 0,5	1,2 ± 0,3	3,0 ± 0,7	—
	24-32	2,9 ± 0,7	1,4 ± 0,4	3,5 ± 0,5	—
	32-36	4,2 ± 1,6	1,3 ± 0,3	3,6 ± 0,9	—
	36-40	5,1 ± 1,0	2,3 ± 1,1	4,7 ± 1,5	—
Stannwhite и др. [1296]	14-27	5,1	1,4	4,3	—
	28-35	3,1	1,0	5,1	—
	36-40	9,3	8,2	6,1	—
Oertel и др. [1095]	24-36	5,2	3,3	2,9	—
Roy и др. [1217]	12	0,20 ± 0,016 (0,0-1,25)	0,05 0,0-0,40	0,20 ± 0,16 (0-0,45)	
	16	0,66 ± 0,46 (0,30-1,85)	0,10 ± 0,007 (0,0-0,20)	0,075 ± 0,46 (0,35-0,4)	
	20	1,63 ± 0,50 (0,50-3,25)	0,27 ± 0,20 (0,10-0,90)	1,63 ± 0,50 (1,05-2,6)	
	24	2,8 ± 1,83 (0,7-6,05)	0,53 ± 0,34 (0,10-1,20)	2,43 ± 0,94 (1,1-4,4)	
	28	3,73 ± 2,06 (0,65-7,55)	0,65 ± 0,34 (0,10-1,15)	2,79 ± 0,91 (1,25-4,2)	
	32	3,92 ± 2,48 (1,75-8,3)	0,90 ± 0,20 (0,50-1,15)	3,26 ± 2,00 (1,3-7,4)	
	36	4,53 ± 2,58 (0,5-8,95)	0,89 ± 0,41 (0,20-1,65)	5,99 ± 3,56 (2,3-12,1)	
	40	5,44 ± 2,36 (1,05-8,35)	1,19 ± 0,41 (0,65-1,70)	9,71 ± 5,00 (3,75-19,6)	
Ittrich и др. [806] (на 100 мл цельной крови)	12	0,9 (0,6-1,2)	0,8 (0,6-0,9)	1,0 (0,9-1,2)	2,7
	16	0,9 (0,6-1,5)	0,8 (0,7-0,8)	1,3 (1,1-1,5)	3,0
	20	1,8 (1,3-2,8)	0,5 (0,2-0,8)	0,9 (0,2-1,5)	3,2
	24	2,7 (1,1-3,1)	1,0 (0,5-2,2)	1,1 (0,6-1,4)	4,8
	28	2,0 (1,8-2,1)	0,9 (0,7-1,0)	2,0 (1,9-2,1)	4,9
	32	3,1 (2,1-4,6)	1,4 (0,6-2,4)	3,0 (1,7-5,6)	7,5
	36	4,0 (2,8-5,0)	1,3 (0,5-2,3)	3,4 (2,8-6,5)	8,7

Авторы	Срок беремен- ности (недели)	Эстрон	Эстрадиол	Эстриол	Сумма
Aitken и др. [202]	38—42	2,65—10,3	1,25—2,93	4,29—17,5	
Aitken и др. [203]	38—41	3,4—17,8	0,6—3,7	15,3—18,8	
Кибл и др. [909]	30—32	8,3±2,6		7,4±1,8	
	30—35	8,4±2,9		7,5±2,7	
	36—38	9,2±3,2		8,1±3,5	
	39—42	10,8±3,7		9,3±3,9	

в крови невелики — не более 10—20% [1217, 859, 909], тогда как в моче эти вариации достигают 70%.

Соотношение фракций эстрогенов в крови иное, чем в моче. Эстрадиол в обоих случаях является наименьшим компонентом, но в содержании эстриола имеется большая разница: в моче эстриол очень сильно преобладает над остальными фракциями, а в крови его содержание примерно равно уровню эстрона или сумме эстрона и эстрадиола [1141, 806, 1424, 1217, 859, 909], а, по данным Oertel и др. [1095], содержание эстриола в крови даже ниже, чем других фракций.

В случае внутриутробной гибели плода содержание эстрогенов в крови и в моче резко падает [1219, 909]. Как правило, содержание эстрогенов в крови и в моче хорошо коррелирует между собой, но иногда отмечались случаи, когда в моче содержание эстриола было очень низкое при высоком его содержании в крови, что авторы объясняют нарушением почечной экскреции [1219]. Если имеется наилучшая корреляция клинической картины с содержанием эстриола в моче, то при анализах крови, наоборот, указанная корреляция лучше выражена для эстрона и эстрадиола [909].

В периоде родов уже во время появления схваток содержание эстрогенов снижается. Это обусловлено главным образом уменьшением эстрадиола и эстриола. Дальнейшее снижение эстрогенов продолжается и в период изгнания. К моменту отделения плаценты содержание

эстрадиола снижается до 25—65% от исходной величины. Изменения содержания эстриола в крови на всем протяжении родов недостоверны [1220, 909]. Снижение эстриола в крови на 50% достигается через 6 ч после родов, а до неопределяемых величин — через 42—60 ч, тогда как содержание эстрона до величин, ниже чувствительности метода, доходит через 18—24 ч, а эстрадиола — уже через 6 ч [1220].

Содержание эстрогенов значительно выше в вене матки, чем в периферической крови матери. Следовательно, беременная матка выделяет эстрогены, вероятно, за счет синтеза их в плаценте [1215, 809, 997, 1254]. Это подтверждено также в работе Klausner и др. [875], которые обнаружили, что в крови ворсинчатого пространства содержание эстрогенов было выше, чем в периферической крови, главным образом за счет свободного эстриола, тогда как содержание связанного эстриола в обоих источниках было одинаково. Таким образом, эстриол переходит в кровь из плаценты в свободном виде. В конце беременности перед родами содержание эстрогенов в вене яичника было выше, чем в периферической крови, но значительно ниже, чем в вене матки [1254]. Это свидетельствует о том, что даже в конце беременности яичники продолжают секретировать эстрогены, хотя их доля в общей продукции эстрогенов значительно меньше, чем плаценты.

В крови новорожденных в первый день жизни содержится мало эстрона и эстрадиола (2,1 мкг/100 мл плазмы) и много эстриола (25,5 мкг/100 мл), а на четвертый день эстрогены в крови детей не обнаруживаются [909]. Эти эстрогены, как и эстрогены в моче, по-видимому, материнского происхождения.

Содержание эстрогенов в плаценте

Изучению содержания эстрогенов в плаценте, полученной после нормальных родов, было посвящено много исследований. В табл. 17 приводятся данные содержания эстрогенов в плаценте, полученные в последние годы.

Величины содержания эстрона и эстриола в плаценте, приводимые разными авторами, близки между собой. Концентрация же эстрадиола, по данным Mitchell [1049]

Содержание эстрогенов в плаценте
(мкг/кг ткани)

Авторы	Эстрон	Эстрадиол	Эстриол	Примечания
Mitchell [1049]	30	10	100	Беременность и роды нормальные
Diczfalusy и др. [508]	37,3 (9,5—97,5)	170,2 (62,3—378,6)	314,2 (68,2—745,2)	То же
Loring и др. [576]	243	20	—	» »
Mutschler	67,3	33,3	340,5	» »
и др. [1064]	68,4	31,5	344,5	Токсикоз беременности

и Mutschler и др. [1064], довольно низкая, тогда как большинство других авторов приводит более высокие величины содержания эстрадиола в плаценте.

Даже в нормальной плаценте имеются очень большие вариации содержания эстрогенов. По данным Diczfalusy и др. [508], разница концентраций между разными плацентами может достигать 10-кратных размеров.

СОДЕРЖАНИЕ ПРОГЕСТЕРОНА И ПРЕГНАНДИОЛА В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ И ТКАНЯХ ЧЕЛОВЕКА

СОДЕРЖАНИЕ ПРЕГНАНДИОЛА В МОЧЕ И ПРОГЕСТЕРОНА В КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ

У детей до полового созревания в моче содержание прегнандиола очень низкое [284, 67, 60, 792]. По данным Huis [792], у девочек 2—14 лет среднее содержание прегнандиола в суточной моче равно 1,07 мг/24 ч, у мальчиков 3—12 лет — 1,0 мг/24 ч. Согласно данным Bergstrand и др. [284], содержание прегнандиола в моче у детей не зависит от возраста и для девочек оно равно 0,72, а для мальчиков — 0,75 мг/24 ч.

При наступлении половой зрелости у девочек первые менструальные циклы часто бывают ановуляторными, и

выделение прегнандиола в это время по-прежнему сохраняется на низком уровне — 1,0 мг/24 ч [88, 10], но даже при овуляторных циклах в первые годы после наступления менструаций желтое тело еще недостаточно активно и выделение прегнандиола в лютеиновую фазу оказывается ниже, чем у взрослых женщин [879, 367, 85, 10], в среднем около 2,0 мг/24 ч.

При использовании менее точных методов определения прегнандиола в моче у нормально менструирующих женщин его вообще не обнаруживали в I фазу менструального цикла, а находили лишь во II фазу, когда его экскреция повышалась до 3—9 мг/24 ч [1435, 115].

При использовании более точных специфических методов определения прегнандиол стали обнаруживать и в фолликулиновую фазу цикла, где его содержание составляло в среднем около 1,2 мг/24 ч с колебаниями от 0,5 до 3 мг [881, 879, 367, 792].

В начале фолликулиновой фазы выделение прегнандиола несколько выше, а затем снижается и достигает минимума на 4-й день. Klorrер [879] объясняет это тем, что в первые дни после менструаций еще сохраняется желтое тело предыдущего цикла, которое продуцирует некоторое количество прогестерона, а затем уже весь прегнандиол I фазы цикла происходит лишь из надпочечников. Это подтверждается тем, что у адреналэктомированных женщин с сохраненным циклом выделение прегнандиола находится на уровне ниже величин чувствительности метода [883, 621].

По данным О. Н. Савченко [132], О. Н. Савченко и Г. С. Степанова [139], у женщин в пролиферативную фазу цикла выделение прегнандиола колебалось от 0,044 до 2,122 мг/24 ч. У большинства обследованных женщин было обнаружено небольшое повышение выделения прегнандиола (0,9—2,12 мг/24 ч), совпадающее с овуляционным пиком эстрогенов или предшествующее ему на один день, затем выделение прегнандиола снова снижалось [132, 139]. Такое же повышение прегнандиола за 2—3 дня до снижения базальной температуры наблюдали и некоторые другие авторы [820, 25, 111].

Через 1—3 дня после овуляции начинается новый подъем выделения прегнандиола, максимальные величины лютеинового подъема наблюдаются через 5—7 дней после овуляции. Среднее выделение прегнандиола в лю-

тенновую фазу цикла, по данным различных авторов, составляет 3—4 мг/24 ч.

Перед наступлением менструаций выделение прегнандиола падает в среднем до 1,3 мг [879]. Ввиду очень больших индивидуальных колебаний величины выделения прегнандиола для определения функции желтого тела необходимо обязательно проводить исследования как в пролиферативную, так и в лютеиновую фазы цикла, так как такие величины, как 2 мг у одних женщин наблюдаются в I фазу цикла с резким повышением во II фазе, а у других женщин максимальное повышение прегнандиола в лютеиновую фазу составляет 2 мг/24 ч. По данным Клоппера, величины ниже 2 мг в лютеиновую фазу цикла свидетельствуют о недостаточности желтого тела. В табл. 18 представлены данные о содержании прегнандиола в суточной моче у женщин с нормальным менструальным циклом по его фазам.

Таблица 18

Выделение прегнандиола с мочой у женщин с нормальным менструальным циклом

Автор	Фаза цикла	Выделение прегнандиола (мг/24 ч)
Клоппер и др. [881]	Фолликулиновая Лютеиновая	1,12 (0,78—1,50) 3,30 (2,1—4,1)
Клоппер [879]	Фолликулиновая Лютеиновая Менструация	1,1 (0,4—1,9) 3,0—5,0 (у большинства) 1,3
Brown и др. [367]	Фолликулиновая Лютеиновая	0,5—2,0 2,0—8,0
Pzttarajurs и др. [1149]	Фолликулиновая Лютеиновая	1,0 2,0—4,0
Loraine и др. [974]	Менструация Фолликулиновая Овуляторная Лютеиновая	1,43 (0,3—2,6) 1,33 (0,5—2,8) 1,54 (0,4—3,8) 3,16 (0,7—6,6)
О. Н. Савченко	Фолликулиновая Лютеиновая	1,0 (0,060—2,12) 3,1 (1,800—7,766)

У рожавших женщин среднее выделение прегнандиола в лютеиновую фазу цикла выше, чем у нерожавших [879, 367].

Во время задержек менструаций и ановуляторных циклов периода климактерия выделение прегнандиола остается постоянно низким, а при появлении овуляторных циклов после задержки выделение прегнандиола может достигать величин, характерных для лютеиновой фазы нормального менструального цикла [137]. Следовательно, даже в периоде климактерия желтое тело при овуляторном цикле продуцирует достаточное количество прогестерона.

У женщин в постменопаузальном периоде наблюдается постоянно низкое выделение прегнандиола. По данным Klorrер и др. [367], оно колебалось в пределах от 0,28 до 0,86 мг/24 ч. По данным О. Н. Савченко, выделение прегнандиола у них составило 0,200—1,800 мг, причем отмечалось относительное постоянство для отдельных лиц, а ежедневные колебания выделения у одного человека были меньше, чем между разными лицами.

У мужчин среднее выделение прегнандиола равно 0,92 мг/24 ч [879].

В последнее время появились работы, в которых изучалось содержание в моче и других метаболитов прогестерона, в частности 6-оксигенированных производных. Показано, что у небеременных женщин выделение 6-оксигенированных метаболитов прогестерона составляет 0,1—0,6 мг за 24 ч [816]. При введении прогестерона здоровым женщинам в виде оксигенированных его производных выделяется с мочой 1,1—2,4% [622].

Определение прогестерона в крови у женщин с нормальным менструальным циклом и у мужчин стало возможным только недавно, после применения более чувствительных методов исследования: флуориметрии [1287, 1330], изотопных методов [1181], газовой хроматографии [982, 1072, 1417, 1418]. Данные этих исследований приведены в табл. 19. При этом динамика содержания прогестерона в плазме была такая же, как и прегнандиола в моче, — в фолликулиновую фазу менструального цикла наблюдались более низкие величины (0,1—2,3 мкг/100 мл), чем в лютеиновую фазу (1,8—3,7 мкг/100 мл).

У адреналэктомированных и кастрированных женщин содержание прогестерона в крови было значительно

Содержание прогестерона в плазме периферической крови у небеременных женщин и у мужчин

Автор	Группа обследованных лиц	Содержание прогестерона в мкг/100 мл плазмы
Van der Molen и др. [1417]	Женщины с нормальным менструальным циклом	
	За 22 дня до менструации	фолликулиновая фаза
	За 21—25 дней до менструации	
	За 8—14 дней до менструации	лютеиновая фаза
За 1—7 дней до менструации		
	Мужчины	
Van der Molen H. J. и др. [1418]	Женщины с нормальным менструальным циклом	
	1—10 дни цикла	0,10
	11—15 » »	1,16
	16—20 » »	1,25
	21 день до 1-го дня менструации	0,44
Riondel и др. [1181]	Адреналэктомированные и кастрированные женщины	0,0020 ± 0,0009
	Кастрированные женщины	0,039 ± 0,010
	Женщины с нормальным менструальным циклом:	
	фолликулиновая фаза	0,113 ± 0,049
	лютеиновая фаза	1,04 ± 0,39
	Мужчины	0,028 ± 0,013

ниже, чем у женщин с нормальным менструальным циклом. У мужчин также наблюдаются очень низкие величины содержания прогестерона в плазме — на уровне, близком к уровню у овариэктомированных женщин. Выделение же прегнандиола с мочой у них соответствовало уровню, наблюдаемому у женщин с циклом в первую его фазу. Следовательно, у мужчин источником мочевого прегнандиола является не только прогестерон, но и другие предшественники [1181].

СОДЕРЖАНИЕ ПРЕГНАНДИОЛА В МОЧЕ И ПРОГЕСТЕРОНА В КРОВИ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ

При наступлении беременности скорость образования прогестерона в организме женщины, как это было выяснено в опытах с введением мочевого прогестерона, значительно увеличивается. Если в середине беременности (19 недель) скорость образования прогестерона составляет 75,5 мг/24 ч [556], то в конце беременности она достигает 263 мг/24 ч [281].

Это находит отражение в увеличении выделения прегнандиола с мочой при нормальной беременности. В первые 3 месяца беременности это увеличение не очень большое, уровень его в моче почти такой же или немного выше, чем в лютеиновую фазу нормального менструального цикла [1276, 886], а затем начинается более интенсивное увеличение его экскреции. Особенно быстро кривая выделения прегнандиола идет вверх в период 24—32 недель, а затем уровень экскреции в последние недели беременности почти не меняется или даже (перед наступлением родов) слегка снижается [1276, 641], хотя это снижение и не является обязательным и у некоторых женщин не отмечается. Величины выделения прегнандиола с мочой в разные сроки беременности, по данным исследователей последних лет, использовавших достоверные методы определения прегнандиола, приведены в табл. 20.

У повторнородящих выделение прегнандиола с мочой несколько выше, чем у первородящих, особенно в первые месяцы беременности [1276]. Ряд авторов [1276, 1187] нашли положительную корреляцию уровня прегнандиола в моче матери с весом плода, а Klorperg и др. [886] — с весом и ростом матери.

Выделение прегнаднола с мочой в разные сроки
нормальной беременности (мг/24 ч)

Сроки беременности (недели)	Авторы		
	Shearman [1276]	Klopper и др. [836]	Furuhelm [641]
6	—	6,08	—
7	6,2±1,1	6,18	—
8	8,2±1,4	7,5 ± 1,169	—
9	8,1±2,2	7,91 ± 2,544	—
10	8,2±2,1	8,43 ± 1,825	—
11	9,9±2,0	10,06 ± 2,751	—
12	10,7±2,7	10,58 ± 2,239	—
13	11,4±4,4	11,94 ± 3,003	—
14	11,2±4,8	11,77 ± 3,019	—
15	13,8±4,2	12,91 ± 3,560	—
16	13,0±4,3	12,38 ± 5,116	—
17	14,9±4,7	14,88 ± 3,124	—
18	15,6±4,0	12,89 ± 3,729	—
19	15,1±4,7	14,27 ± 4,579	—
20	15,7±4,7	16,73 ± 5,079	—
21	17,5±4,9	18,47 ± 8,779	—
22	17,7±5,9	—	—
23	21,3±5,8	—	—
24	22,4±5,2	—	—
25	26,6±6,1	—	—
26	29,0±8,2	—	—
27	31,7±7,8	—	—
28	34,8±8,5	30,99 ± 10,720	—
29	34,5±9,0	30,66 ± 9,198	—
30	41,3±9,4	32,48 ± 10,0,0	—
31	41,6±2,5	40,45	—
32	44,0±10,6	—	—
33	42,5±15,6	44,0	—
34	44,1±12,0	—	—
35	42,7±13,1	43,29	—
36	45,1±15,8	49,96	—
37	45,8±18,7	42,59 ± 14,405	38,8 ± 15,1
38	46,2±15,3	43,52 ± 12,073	—
39	44,1±14,1	45,30 ± 13,304	—
40	43,0±10,3	49,51 ± 15,516	46,0 ± 19,4
41	—	38,32 ± 12,987	—

В работе Fotherby и др. [622] представлены данные о динамике выделения с мочой у беременных женщин других метаболитов прогестерона — 6-оксигенированных производных. В течение первого триместра беременности выделение 6-оксигенированных метаболитов прогестерона варьирует от 0,4 до 2,2 мг/24 ч, а в конце беременности

поднимается до 3,5—11,6 мг/24 ч. Динамика выделения 6-оксигенированных метаболитов прогестерона соответствовала выделению прегниандиола на протяжении всей беременности, за исключением последних 6 недель, когда экскреция прегниандиола оставалась постоянной, а выделение 6-оксигенированных продуктов продолжало возрастать. По-видимому, прегниандиол и 6-оксигенированные производные имеют одного предшественника — прогестерон, а 6-оксигенированный прогестерон не продуцируется плацентой или яичниками.

Содержание прогестерона в крови при беременности возрастает по мере ее прогрессирования (табл. 21). При беременности двойней, по данным Short и др. [1284], величины прогестерона в плазме выше, чем при одноплодной беременности.

Таблица 21

Содержание прогестерона в плазме периферической крови у беременных женщин

Сроки беременности	Автор	Прогестерон в мкг/100 мл
9—11 недель	Sommerville и др. [1339]	1,9—2,1
20—30 недель		7,3—8,7
39 недель		6,5—16,0
35—39 недель	Greig и др. [696]	5,0—27,0
Роды: I период	Sommerville и др. [1330]	11,3—16,5
II период		8,4—15,8
Кровь пупочной вены		44,3—60,5

В вене матки содержание прогестерона почти в 2 раза выше, чем в периферической крови [1498].

Высокое содержание прогестерона в крови сохраняется и во время родов [1284, 1330]. Высокое содержание прегниандиола в моче во время родов находили С. Х. Хакимова [165, 166], Л. В. Тимошенко [152], Л. В. Тимошенко и Т. Д. Фердман [153], причем при слабости родовой деятельности его содержание не изменяется по сравнению с нормой.

Short [1280] полагает, что снижение продукции прогестерона не может явиться причиной начала родового

акта, так как его содержание перед родами не падает ни в крови, ни в плаценте. Согласно теории Csaro и др. [469, 471], для наступления родов имеет значение соотношение двух факторов — снижения содержания прогестерона в миометрии и увеличение объема матки. Эта теория основана на том, что можно задержать наступление родов при наличии мертвого плода введенным экзогенного прогестерона, что наблюдалось как в клинике [280], так и в эксперименте [470]. Однако, вероятно, процесс развития родов значительно сложнее, так как в нем несомненное значение имеют как уровень содержания эстрогенов, так и соотношение их фракций, а также и другие факторы [1305, 165, 166].

Часть III. РЕГУЛЯЦИЯ ПРОДУКЦИИ ГОНАДОТРОПИНОВ, ЭСТРОГЕНОВ И ПРОГЕСТЕРОНА

ВЛИЯНИЕ НЕРВНЫХ И ГОРМОНАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ НА ОВУЛЯТОРНУЮ И ГОРМОНАЛЬНУЮ ФУНКЦИЮ ЯИЧНИКОВ

Специфическими стимуляторами роста и развития фолликулов в яичниках, овуляции, развития желтого тела и продукции гормонов — эстрогенов и прогестерона — являются гонадотропные гормоны, хотя некоторое развитие фолликулов и минимальная продукция эстрогенов, по мнению некоторых авторов, может наблюдаться и в отсутствие гонадотропинов [801]. В разделе о биологическом действии гонадотропинов подробно разбирался вопрос о влиянии гонадотропинов на яичники и семенники.

Чувствительность яичников к гонадотропинам у животных развивается очень рано — у крыс в возрасте 17—18 дней, у мышей — 14 дней [1504], а максимальная чувствительность достигается гораздо раньше, чем наступает половозрелость. Это подтверждает взгляд, что созревание яичников не является ведущим в ее появлении.

У женщин с нормальным менструальным циклом введение хорионического гонадотропина (ХГ), используемого как ЛГ, в лютеиновую фазу цикла приводило к увеличению выделения эстрогенов. Так, по данным Jaule и др. [818, 819], под влиянием введения 10 000—20 000 ЕД ХГ выделение эстрогенов в лютеиновую фазу цикла увеличивается с 20—40 мкг до 50—100 мкг/24 ч и прегнандиола — с 5,0 до 9,0 мг в сутки. Следовательно, хорио-

инической гонадотропии может усиливать продукцию эстрогенов и прогестерона желтым телом.

Применение фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) у женщины с нормальным менструальным циклом вызывает разный эффект. По данным Мапер и др. [1996], применявших ФСГ из гипофизов овец, у одних женщин выделение эстрогенов повышалось, у других, наоборот, понижалось. Понижение экскреции эстрогенов авторы объясняют тем, что влияние экзогенного ФСГ накладывается на эффект эндогенного ФСГ, в результате чего происходит неадекватная стимуляция яичника и яичник не реагирует повышением секреции эстрогенов.

У женщин, страдающих аменореей гипофизарного происхождения при наличии здоровых яичников, применение высокоочищенного ФСГ не приводит к увеличению секреции эстрогенов. Так, Dörner и др. [537] при использовании очищенного ФСГ из гипофизов свиней не получали увеличения секреции эстрогенов у женщины с аменореей, а применение одновременно малых доз ХГ дало резкое увеличение экскреции. Наилучшие результаты получаются при использовании ФСГ из гипофизов человека или высокоочищенных препаратов из мочи постменопаузальных женщин. Все эти препараты, хотя и обладают преимущественно ФСГ-активностью, все же имеют значительную примесь ЛГ-активности.

Если применяется неадекватная доза, то выделение эстрогенов может достигать колоссальных величин — 500—2000 $\mu\text{кг}/24 \text{ ч}$. Наибольшее увеличение претерпевает фракция эстриола [650, 652, 1202, 226, 522].

При подборе адекватных доз выделение эстрогенов по величине приближается к экскреции их при нормальном цикле [826, 464, 461, 1203].

Выделение прегнандиола также сильно увеличивается. При неадекватных дозах гонадотропинов оно достигает 50—60 $\text{мг}/24 \text{ ч}$, а при правильном подборе доз находится в пределах величин, характерных для лютеиновой фазы цикла.

Характер выделения эстрогенов и прегнандиола при избыточной дозе гонадотропинов указывал на созревание и овуляцию многих фолликулов, что было подтверждено при лапаротомии. Указанная овуляция была полноценной, так как давала возможность зачатия. Вначале, при применении неадекватных доз, частым было

появление двоен [650, 648, 412], затем после подбора соответствующих дозировок и выбора лучших препаратов увеличился процент наступления беременности, которая стала одноплодной [650, 826, 464].

В работе 1966 г. Gemzell и др. [652] указывали, что при первом курсе лечения человеческими гипофизарными гонадотропинами чаще наблюдается многоплодная беременность, поэтому первый курс желательно проводить для правильного подбора доз. Доза должна подбираться так, чтобы уровень экскреции эстрогенов приближался к нормальному менструальному циклу.

Дозы ФСГ сильно варьируют в зависимости от качества препарата и в некоторой степени от индивидуальной чувствительности. По данным Diczfalussy и др. [522], наилучший эффект давали препараты с наиболее высоким соотношением ФСГ : ЛГ-активностей.

Максимум увеличения экскреции эстрогенов наступает через 6—7 дней после начала введения гонадотропинов.

При полном отсутствии развития фолликулов один ХГ не дает никакого эффекта в отношении продукции эстрогенов, но введение его после ФСГ приводит к значительному увеличению экскреции эстрогенов.

При нарушенной функции яичников (аменорее с полным отсутствием фолликулов) ФСГ не приводил к увеличению выделения эстрогенов. При гистологическом исследовании яичников в них не было обнаружено также и гиперплазии стромы [651]. У женщины после лучевой кастрации ФСГ из гипофизов человека также не вызывал увеличения продукции эстрогенов [957].

Введение гонадотропинов женщинам в постменопаузальном периоде, согласно данным Paulsen и др. [1118, 1119], Caminiti [418], у части их вызывает некоторое увеличение выделения эстрогенов, что указывает на сохранение реакции яичников на введение гонадотропинов.

В исследованиях О. Н. Савченко [134] введение ХГ женщинам во время ановуляторного цикла в период климактерия, а также женщине с коротким постменопаузальным периодом не привело к увеличению выделения эстрогенов. Это можно объяснить или неадекватностью дозы гонадотропной стимуляции, или понижением чувствительности яичников к гонадотропинам в это время.

У женщин с удаленными яичниками ни ФСГ, ни ЛГ не оказывают влияния, следовательно, гонадотропины не усиливают синтез эстрогенов надпочечниками [310, 268].

У здоровых мужчин введение СЖК и ФСГ из гипофизов не приводило к увеличению выделения эстрогенов. В то же время введение ХГ вызывало усиление экскреции эстрогенов [990, 1057, 663]. У молодых здоровых мужчин это увеличение выражено более резко, главным образом за счет эстрона [1057].

В очень многих исследованиях изучалось влияние ХГ при гипогонадизме. При этом установлено, что при гипогонадизме тестикулярного происхождения эффекта нет, а при наличии способных функционировать семенников ХГ у мальчиков [896] и у взрослых мужчин приводит к увеличению эстрогенов и 17-кетостероидов [715, 449, 720, 506].

Препараты с преимущественной ФСГ-активностью вызывают у мужчин усиление сперматогенеза. Gemzell и др. [653] приводят случай успешного лечения гипогонадизма препаратом ФСГ из гипофизов человека. В результате лечения увеличилось число сперматозоидов до нормы, их подвижность и морфология не отличались от этих показателей у здоровых мужчин. Некоторое увеличение числа сперматозоидов у бесплодных мужчин наблюдали Huberman и др. [786] при введении им препарата ФСГ, полученного из мочи постменопаузальных женщин или кастрированных мужчин.

Sterescu [1351] считает, что в реализации влияния гонадотропинов на яичники принимает участие нервная система, хотя и известно, что яичник, пересаженный в селезенку и, следовательно, лишенный нервных связей, сохраняет реакцию на гонадотропины.

Чувствительность яичников к гонадотропному влиянию сохраняется и в опытах *in vitro*. При инкубации яичников добавление ХГ или ЛГ из гипофизов человека способно стимулировать стероидогенез в срезах желтых тел человека [1175, 1371, 677, 845].

В то же время несомненно, что нервная система принимает активное участие в регуляции функции яичников, ослабляя или усиливая их реактивность к гонадотропным гормонам [82, 170, 171, 90, 157]. Влияние нервной системы в ряде случаев может быть настолько сильным, что полностью блокирует действие гонадотропинов на

яичники [157]. Импульсы со стороны нервной системы могут изменять чувствительность яичников преимущественно к ФСГ или ЛГ.

Кроме нервной системы, на чувствительность яичников к гонадотропинам оказывают влияние также и гормональные факторы. Так, эстрогены у гипофизэктомированных животных повышают чувствительность яичников к ХГ, СЖК и гипофизарным гонадотропинам [1475, 1040, 325].

Увеличение чувствительности яичников к гонадотропинам наблюдается и под влиянием гормонов коры надпочечников. Особенно сильное влияние на усиление стероидогенеза оказывают кортизон и дегидроэпиандростерон [258].

Повышение чувствительности яичников к гонадотропинам наблюдается и под влиянием АКТГ [33, 258], однако, по мнению большинства авторов, АКТГ не оказывает прямого воздействия на яичники, а его влияние опосредуется через стимуляцию синтеза гормонов коры надпочечника, так как оно не проявляется у адреналэктомированных женщин.

Андрогены (тестостерон) не меняют чувствительность яичников к гонадотропным гормонам. У гипофизэктомированных крыс, у которых овуляция вызывалась введением гонадотропных гормонов, одновременное введение (длительное или однократное) малых и больших доз тестостерона не оказывало влияния на число яйцеклеток в рогах матки [635, 905], т. е. не подавляло овуляции.

РЕГУЛЯЦИЯ ПРОДУКЦИИ ЭСТРОГЕНОВ В НАДПОЧЕЧНИКАХ

Как было показано выше (в разделах о биосинтезе эстрогенов), эстрогены или их предшественники способны синтезироваться в надпочечниках. Регуляция этого процесса, как и всего стероидогенеза, в коре надпочечников осуществляется при помощи АКТГ. Ранее считали, что для этого необходимо совместное влияние АКТГ и ЛГ, но работы последних лет показывают, что ХГ и ЛГ не оказывают влияния на биосинтез эстрогенов у овариэктомированных женщин и не усиливают также действия АКТГ [268].

Ниже приводятся данные о выделении эстрогенов с мочой у людей различного возраста и при различных физиологических состояниях под влиянием АКТГ и при адrenaлэктомии.

Наиболее часто изучалось влияние АКТГ на экскрецию эстрогенов с мочой у женщины после удаления яичников или после прекращения менструаций [1459, 370, 1245, 1136, 268].

Почти все указанные выше авторы отмечают, что увеличение выделения эстрогенов под влиянием АКТГ происходит главным образом за счет эстриола и немного менее — за счет эстрона. Эстриол увеличивается меньше. А в работе West и др. [1459], проводивших идентификацию эстрогенов, эстриол в моче не был обнаружен ни до, ни после введения АКТГ.

Другая особенность, отмечаемая многими авторами, — запаздывание повышения эстрогенов в моче. Увеличение экскреции наблюдалось лишь через день после начала введения АКТГ и сохранялось таким в течение 1—2 суток после отмены препарата.

Третья особенность влияния АКТГ на экскрецию эстрогенов заключается в том, что повышение наблюдается лишь при использовании больших доз, далеко выходящих за пределы физиологических и при длительном введении.

Применение малых доз АКТГ, которые увеличивают продукцию 17-оксикортикостероидов, не сказывается на выделении эстрогенов. О. Н. Савченко [134], вводя 20—40 МЕ АКТГ в день женщинам, находящимся в постменопаузе (в течение 1—2 дней), не наблюдала повышения выделения эстрогенов.

Адреналэктомия у женщины с нормальным менструальным циклом не меняет характера выделения эстрогенов. При овуляторных циклах также наблюдаются два пика в их экскреции, при ановуляторных — один широкий подъем. Ни в одну из фаз цикла выделение эстрогенов не падает до нуля и по качеству существенно не отличается от нормального цикла [401, 621].

На этом основании авторы делают вывод, что при нормальном менструальном цикле надпочечники принимают небольшое участие в выработке эстрогенов. Stoа и др. [1362] при лечении женщины с нормальным менструальным циклом и с гирсутизмом — кортизоном,

который вызывал угнетение функции коры надпочечников, наблюдали некоторое снижение выделения эстрогенов в фолликулиновую фазу цикла. Они считают, что эстрогены частично вырабатываются корой надпочечников и при нормальном менструальном цикле.

Имеется ряд исследований, в которых изучалось выделение эстрогенов с мочой после адреналэктомии, произведенной у женщины с удаленными яичниками или после наступления менопаузы. Удаление надпочечников существенно снижало выделение эстрогенов, часто до нуля, однако стойкое отсутствие эстрогенов после адреналэктомии наблюдалось лишь у части женщин. У других женщин после некоторого периода отсутствия эстрогенов в моче они снова появлялись.

У ряда женщин после удаления надпочечников так и не наступало снижения выделения эстрогенов до нулевого уровня [478, 789, 1459, 397, 400].

Nissen-Meyer и др. [1080] при лечении кортизоном женщин, больных раком молочной железы и находящихся в менопаузе, наблюдали резкое падение выделения эстрогенов до величин, находящихся на грани чувствительности метода. Эти данные показывают, что основная масса эстрогенов в моче женщин в постменопаузе происходит из коры надпочечников.

У здоровых женщин с правильным менструальным циклом Barlow [258] обнаружил, что АКТГ усиливает выделение эстрогенов в фолликулиновую фазу цикла, а в лютеиновую фазу цикла эффекта не дает. Кроме того, эффективные дозы АКТГ у женщин, имеющих нормальный менструальный цикл, были значительно ниже, чем у оофорэктомированных женщин, и увеличение выделения эстрогенов шло за счет всех 3 фракций, а не только эстриола. Эти особенности действия АКТГ дали автору основание считать, что у женщин с нормальными яичниками и надпочечниками влияние АКТГ на усиление биосинтеза эстрогенов в яичниках опосредуется повышенным выходом кортизона и дегидроэпиандростерона.

У женщин, страдающих аменореей, также наблюдается увеличение экскреции эстрогенов под влиянием АКТГ [546]. По данным Varangot и др. [1426], у женщин с ановуляторным циклом это увеличение составляет примерно 10 мкг, но точно оценить его трудно из-за циклических колебаний в экскреции эстрогенов с мочой даже при от-

сутствии овуляции. West и др. [1457] наблюдали резкое увеличение выделения эстрогенов под влиянием АКТГ у 58-летней женщины с карциномой надпочечников и синдромом Кушинга.

Проводилось также изучение влияния АКТГ и у детей. Eberlein и др. [546] под влиянием 15 мг АКТГ (АСТНАР), вводимого ежедневно в течение 1—3 дней, наблюдали увеличение эстриола в моче в 2 раза у здоровых детей 5—13 лет, но не обнаружили повышения у ребенка 13 лет, страдавшего болезнью Аддисона.

У мужчин с гипогонадизмом Conti и др. [449] не обнаружили увеличения выделения эстрогенов после введения АКТГ, хотя экскреция 17-кетостероидов заметно увеличилась. По их мнению, это свидетельствует о том, что у мужчин надпочечники обычно почти не принимают участие в продукции эстрогенов, которые в основном продуцируются семенниками. Однако Givner и др. [662] у здоровых мужчин и у больных атеросклерозом наблюдали увеличение выделения эстрогенов с мочой под влиянием АКТГ.

В некоторых патологических случаях у мужчин надпочечники могут участвовать в синтезе эстрогенов. Slaughter и др. [1297] у мужчины с феминизирующей опухолью надпочечников находили в моче 72—202 мкг/24 ч эстрогенов, т. е. величина выше, чем у женщин в нормальном менструальном цикле; из них 76—86% составлял эстрон.

Л. П. Рябова [129] обнаружила под влиянием внутримышечного введения 20 ЕД АКТГ у больных с заболеванием желудка повышение выделения эстрогенов с 9,6 до 16,1 мкг/24 ч, тогда как у здоровых мужчин эта доза была неэффективна. Однако такое небольшое увеличение экскреции эстрогенов надо оценивать с большой осторожностью.

Введение АКТГ вызывало увеличение выделения прегнандиола с мочой; наибольшее увеличение вызывалось внутривенным его введением, а при внутримышечных инъекциях для достижения эффекта дозы должны быть достаточно большими — 120—400 ЕД и вводиться в течение 4 дней [883, 793, 1065, 1426, 1016]. Повышенный уровень выделения прегнандиола наблюдается в день введения АКТГ и еще в течение следующих 2 дней. В исследованиях с однократным введением 20—40 ЕД АКТГ

продолженного действия мы не обнаружили усиления экскреции прегнадиола у женщины, находившейся в постменопаузе, так как применявшаяся доза была слишком низкой.

При эндогенном повышении продукции АКТГ, вызванном, например, таким стрессорным фактором, как операция, также увеличивается выделение прегнадиола с мочой [883].

ВЗАИМОТНОШЕНИЯ МЕЖДУ ГИПОФИЗОМ И ПОЛОВЫМИ ЖЕЛЕЗАМИ

О том, что гонадотропная функция гипофиза находится под влиянием гормонов половых желез, стало известно почти сразу после открытия гонадотропинов. Был сформулирован так называемый принцип «плюс — минус взаимодействия» [1510, 186, 189, 62, 63], согласно которому гонадотропные гормоны стимулируют продукцию половых гормонов, а последние, в свою очередь, подавляют гонадотропную функцию гипофиза, создавая, таким образом, своего рода автоматизм в регуляции половой функции. Это представление базировалось на том, что удаление половых желез как у женщин, так и мужчин, а также у экспериментальных животных приводит к резкому повышению продукции гонадотропинов гипофизом [1511, 1272, 1481, 1238, 473].

Ранее относили это повышение в основном за счет ФСГ, но теперь показано, что при этом увеличивается и выделение ЛГ [725, 484, 1027]. Многочисленные исследования были направлены на уточнение того, какие стероидные гормоны и в каких дозах способны оказывать влияние на продукцию гонадотропинов, однако этот вопрос нельзя считать решенным и до настоящего времени.

Было показано, что большие дозы эстрогенов снижают содержание гонадотропинов в гипофизе и в крови и выделение их с мочой у человека и у животных [631, 212, 749, 1238, 394, 1200, 137, 497]. Подавляющий гонадотропины эффект оказывает как эстрадиол, так и эстриол, при этом эстрадиол в $2\frac{1}{2}$ раза активнее эстриола в этом отношении [661]. Средние дозы эстрогенов не оказывают влияния на выделение суммарных гонадотропи-

нов [748, 1238, 137]. Особенно большой интерес представляет изучение малых, приближающихся к физиологическим доз эстрогенов. Малые дозы эстрогенов, по мнению Ю. Б. Скебельской [145], Paesi и др. [1103], также подавляют выделение суммарных гонадотропинов, как и большие дозы. Однако, по данным большинства других авторов [205, 1200, 137], они не только не тормозят, а, наоборот, стимулируют выделение общих гонадотропинов. В более ранних работах указывалось, что эстрогены, подавляя выделение ФСГ, стимулируют выделение ЛГ. Эти заключения были основаны на косвенных данных — появлении желтых тел в яичниках подопытных животных. Для уточнения этого вопроса в последнее время проводятся определения раздельно ФСГ и ЛГ. Однако использование специфических методов прямого определения ФСГ и ЛГ в гипофизе не внесло ясности в этот вопрос. Gans и др. [646] обнаружили, что малые дозы эстрогенов, снижая содержание ФСГ в гипофизе крыс, не оказывают влияния на ЛГ. В противоположность этому мнению Parlow [1113], подбирая минимальные дозы эстрогенов, поддерживающие вес матки у кастрированных крыс, установил, что физиологические дозы эстрогенов (0,4 мкг эстрадиола) снижают содержание ЛГ в гипофизе и крови кастрированных крыс, но не влияют на содержание ФСГ. Лишь дозы в 2 мкг эстрадиола, что значительно выше физиологических, по его данным, снижали и ФСГ и ЛГ в гипофизе и крови кастрированных крыс. Поэтому Parlow [1113] считает, что в физиологических условиях эстрогены регулируют лишь продукцию и выделение ЛГ, а регуляция продукции и выделения ФСГ осуществляется не эстрогенами, а какими-то другими гонадальными факторами. В работе Schuetz и др. [1265] в опытах с парабиозом крыс и введением им стероидов также показано, что половые гормоны подавляют лишь продукцию ЛГ, но не ФСГ. Однако никак нельзя считать, что эстрогены лишь подавляют продукцию ЛГ. Несомненное их стимулирующее действие при однократном введении было доказано в более ранних работах по вызыванию овуляции у крыс [773] и у кроликов [182, 189].

В работе 1965 г. Swelheim [1375] показал, что однократное введение больших доз эстрогенов самкам крыс приводит через 29 ч к значительному увеличению

содержания ЛГ в крови, но не изменяет его содержания в гипофизе. Vogus и др. [1440] изучали влияние длительного введения различных доз и препаратов эстрогенов на выделение ФСГ и ЛГ с мочой у женщин с нормальным менструальным циклом. Они установили, что небольшие дозы эстрогенов или не оказывают влияния на выделение ФСГ или стимулируют ее, а большие дозы подавляют экскрецию ФСГ с мочой. В отношении ЛГ авторы обнаружили, что все эстрогены стимулируют его выделение, но в различной степени — в зависимости от препарата и дозы. Чем выше дозы, тем позднее проявлялось их стимулирующее действие. Возможно, что эстрогены оказывают этот эффект не сами по себе, а в синергизме с другими факторами. Облегчающее овуляцию действие эстрогенов показано при вызывании овуляции стимуляцией шейки матки [1250], введением солей меди [1372]. Ramirez и др. [1156] считают, что эстрогены действуют в синергизме с другими овариальными гормонами, такими, как прогестины, и это их действие является решающим в наступлении овуляции и в выделении ЛГ из гипофиза.

Значительное число исследований посвящено изучению влияния прогестерона на гонадотропную функцию гипофиза, но данные в этом отношении также очень противоречивы. Одни авторы нашли, что прогестерон не оказывает существенного влияния на гонадотропную активность [205, 306, 1108, 394]; другие обнаруживали подавление продукции как ФСГ, так и ЛГ под влиянием прогестерона и синтетических прогестагенов [583, 584, 187, 188, 494, 373]. Однако при изучении влияния прогестерона также нужно учитывать дозы препарата, так как некоторые авторы не получали эффекта при введении малых доз прогестерона, но обнаруживали снижение гонадотропинов при введении больших его доз. Kaufman и др. [855] показали, что большие дозы прогестерона подавляют выделение овуляционного комплекса гонадотропинов, но не подавляют тоническую (базальную) его продукцию. Поэтому длительное введение прогестерона, несмотря на блокаду овуляции, не вызывает атрезию фолликулов в яичниках крыс. В то же время показано, что малые дозы прогестерона оказывают стимулирующее влияние на выделение ЛГ [187, 188, 583, 586, 584].

По данным Ellington и др. [560], прогестерон оказывает стимулирующее действие на выделение из гипофиза в кровь как ФСГ, так и ЛГ, причем этот эффект сказывается как при появлении прогестерона, так и при его отмене и выявляется он через 5—6 дней после воздействия прогестерона.

В отношении действия андрогенов данные также очень противоречивы. В опытах на крысах и мышах при даче больших доз тестостерона и других андрогенов с более сильным анаболическим действием наблюдалось снижение гонадотропинов [1264, 1104, 1051, 800].

В то же время при введении андрогенов людям с повышенной продукцией гонадотропинов в дозах, вызывающих сильное вирилизующее действие, их эффект в подавлении гонадотропинов или совсем отсутствует или проявляется лишь в очень больших дозах у немногих лиц [394, 441, 1200, 540].

Целый ряд клинических наблюдений также свидетельствует о том, что андрогены в физиологических концентрациях не подавляют продукцию суммарных гонадотропинов. Так, у некоторых больных с резко выраженным вирилизмом вследствие различных причин (врожденной гиперплазии коры надпочечников [1249, 89], тестикулярной феминизацией [13], некоторых атипичных формах гонадальной дисгенезии [35]) выделение суммарных гонадотропинов не снижено, а находится в пределах нормы или даже повышено. В то же время у здоровых мужчин выделение гонадотропинов не выше, чем у женщин, а удаление семенников приводит к повышению выделения гонадотропинов. Поэтому некоторые авторы высказывают мнение, что у мужчин основная роль во взаимодействии гонад и гипофиза принадлежит не андрогенам, а кому-то другому, пока не известному гормону семенников, по всей вероятности, нестероидной природы [1029, 831].

Однако, несмотря на то, что при определении суммарных гонадотропинов часто не удавалось отметить снижения их активности под влиянием андрогенов, это еще не дает основания совершенно отвергать роль андрогенов в регуляции гонадотропной функции гипофиза в физиологических и некоторых патологических условиях у людей. Тот факт, что андрогены тормозят овуляцию у интактных животных и не влияют на ее появление под

влиянием экзогенных гонадотропинов, указывает на то, что андрогены действуют на центральный механизм, а не на гонады [905]. Для уточнения этого вопроса требуются исследования с изучением влияния андрогенов на ФСГ и ЛГ с применением специфических методов их определения. В недавней работе Ramirez и др. [1158] показали, что тестостерон вызывает снижение ЛГ в гипофизах и крови кастрированных самцов крыс в дозах, лишь немного превышающих минимальные физиологические (т. е. поддерживающие вес добавочных половых органов). Авторы делают вывод, что тестостерон подавляет как продукцию ЛГ в гипофизе, так и его выделение.

Сложность и противоречивость данных о влиянии стероидов на гонадотропную функцию гипофиза объясняются еще и тем, что продукция и выделение гонадотропинов — это два различных процесса, регуляция которых осуществляется различными влияниями. Так, Van Rees и др. [1420, 1419] на основании опытов на крысах считают, что тестостерон не влияет на синтез ФСГ, но тормозит его выделение из гипофиза, эстрогены же тормозят продукцию гонадотропинов, но могут усиливать их выделение из гипофиза. По мнению Rothchild и др. [1210], прогестерон также угнетает лишь выделение ЛГ, но не влияет на его синтез в гипофизе.

Многообразие действия стероидов на гонадотропную функцию гипофиза используется в клинике в различных целях. Там, где нужно подавить выделение ЛГ и овуляцию, вводят длительно большие дозы прогестерона и других стероидов. Этот принцип использован в ряде контрацептивных препаратов, многие из которых состоят из синтетических прогестеронов, часто с добавлением веществ с эстрогенным и андрогенным действием [1015, 1200, 866, 927, 1352]. В работе Stevens и др. [1352], а также других авторов [975, 1440, 1391] было показано, что под влиянием контрацептива, состоящего из смеси синтетического прогестагена и эстрогена, не происходит повышения выделения ЛГ в середине цикла, столь характерного для нормального менструального цикла в период овуляции.

Однако механизм действия этих веществ на подавление овуляции очень сложен. Некоторые авторы допускают прямое их воздействие на яичники [988, 844]. Антиовуляторная и антигонадотропная деятельность различ-

ных стероидов не совпадает [497]. Так, эстрогены сильнее всего подавляют продукцию гонадотропинов, а их антиовуляторное действие наиболее слабо, прогестагены же, обладая слабым антигонадотропным влиянием, являются очень активными антиовуляторными веществами. Но в то же время, по данным Krähenbühl и др. [905], антиовуляторное действие этих веществ не проявляется у гипофизэктомированных животных при вызывании овуляции экзогенными гонадотропинами, поэтому авторы считают, что все-таки антиовуляторное их действие у интактных животных в первую очередь осуществляется через нарушение гипоталамо-гипофизарной стимуляции.

Стимулирующий эффект прогестерона и эстрогенов на выделение ЛГ используется при введении так называемых ударных их доз для лечения кровотечений и последующей нормализации цикла у женщины с нерегулярным менструальным циклом [835, 231, 11]. В клинике часто используются также и ребаунд-эффект — усиление выделения гонадотропинов после их подавления. Подобный же ребаунд-эффект наблюдается и после прекращения приема контрацептивов [1352].

ВЛИЯНИЕ ДРУГИХ ВЕЩЕСТВ СТЕРОИДНОЙ И НЕСТЕРОИДНОЙ ПРИРОДЫ НА ГОНАДОТРОПНУЮ ФУНКЦИЮ ГИПОФИЗА

Среди стероидов, не относящихся к половым гормонам, наиболее сильное влияние на гонадотропную функцию гипофиза оказывает кортизон, а также его синтетические аналоги. При введении кортизона, дексаметазона повышается выделение гонадотропинов с мочой [376, 410]. В то же время имеются сведения о том, что дезоксикортикостерон [192] и преднизон, наоборот, снижают продукцию гонадотропинов.

Имеется целый ряд веществ нестероидной природы, которые могут выступать как гипофизарные ингибиторы (или стимуляторы). Способность угнетать продукцию гонадотропинов была показана в исследованиях с применением хлорамифена [777] дитиокарбамингидразина [275, 381].

Одним из наиболее сильных стимуляторов овуляции является кломифен, известный также под названием

MRL-41. Это вещество, близкое по строению к стильбэстролу и обладающее слабым эстрогенным действием, используется для вызывания овуляции при ановуляторных циклах и кровотечениях [1332, 1218, 838], при послеродовой галакторее. Механизм действия кломифена неизвестен. Roy и др. [1218], Dickey и др. [503] показали, что кломифен стимулирует выделение ФСГ и ЛГ из гипофиза. Smith [1316] также наблюдал увеличение выделения гонадотропинов у женщин и у мужчин под влиянием кломифена, но он считает, что это вторичный эффект, а первичное действие кломифена оказывает на яичники, семенники или плаценту, усиливая ароматизацию андрогенов и тем самым увеличивая биосинтез эстрогенов в них [1314, 1316]. Каков бы ни был механизм действия кломифена, вызываемая им овуляция является полноценной, т. е. может привести к наступлению беременности [844].

Стимуляторами овуляции, действие которых опосредуется через усиление гонадотропной функции гипофиза, является также каликреин [796], экстракт из листьев малины [46], экстракты из побегов некоторых злаков, липексол — полисахарид из *salmonella abortus equi* [658], вещества, содержащие медь, — хондротинсульфат и глюконат меди, соли меди [1372], а также йодистый калий [70, 151]. Действие йодистого калия, по мнению Ирд и др. [70], опосредуется через влияние на цитовидную железу. Стимулирующим действием на выделение гонадотропинов из гипофиза обладает также и окситоцин, так что его иногда даже используют для лечения аменореи и бесплодия [1456].

ЗНАЧЕНИЕ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ В РЕГУЛЯЦИИ ГОНАДОТРОПНОЙ ФУНКЦИИ ГИПОФИЗА

Гонадотропная функция гипофиза находится под непосредственным влиянием нервной системы. В. Ф. Снегирев в 1907 г. среди причин, вызывающих маточные кровотечения, одно из первых мест отводил сильным душевным потрясениям. Роль центральной нервной системы в регуляции полового цикла у животных показана в ряде экспериментальных исследований с применением

сильных раздражителей, приводящих к нарушению цикличности [3, 4, 125, 169]. Подобные же явления известны в клинической практике: аменорея военных лет [160, 1479], частые нарушения менструального цикла при психических заболеваниях [14].

Значение центральной нервной системы в изменении гонадотропной функции гипофиза отчетливо видно в опытах с различными стрессорными факторами (болевое раздражение, охлаждение животных, экспериментальная уремия), которые приводят к повышению продукции гонадотропинов гипофизом [68, 78, 80].

Регулирующее влияние высших отделов центральной нервной системы следует безоговорочно признать в здоровом организме в условиях воздействия постоянно меняющихся факторов внешней и внутренней среды. Однако основной механизм осуществления полового цикла протекает без участия коры больших полушарий. Это убедительно было показано в эксперименте на крысах [485, 127], собаках [69], у которых даже после полного удаления коры больших полушарий головного мозга сохранялась течка, наступала беременность и роды, нарушался только материнский инстинкт.

Вегетативная нервная система также принимает участие в регуляции гонадотропной функции гипофиза [79, 354, 182, 184, 185, 186, 189, 81, 82, 6, 113], однако импульсы со стороны вегетативной нервной системы могут лишь изменять — ускорять или задерживать появление овуляции, но не лежат в основе главного механизма осуществления полового и менструального цикла.

Основная роль в регуляции полового цикла принадлежит гипоталамическим центрам. Это положение, высказанное Hohlweg, Yunkman в 1932 г. [772], в дальнейшем получило многочисленные экспериментальные и клинические подтверждения. Marshall и др. [1010], Haggis [727] обнаружили появление овуляции у животных при стимуляции головного мозга электрическим током.

Многочисленные исследования были направлены на уточнение локализации ядер гипоталамуса, имеющих отношение к регуляции гонадотропной функции гипофиза. Изучение этого вопроса шло разными путями — разрушением определенных участков гипоталамуса и других отделов центральной нервной системы при помощи стереотаксических аппаратов [501, 757, 609, 610, 262, 530,

!421, повреждением гипоталамических центров путем введения неполовозрелым животным больших доз андрогенов [262, 675], прямым электрическим раздражением различных отделов гипоталамуса [733, 587, 31, 459, 157], а также применением лекарственных веществ (морфия, барбитуратов, аминазина, метамизила и других ганглиотиков, резерпина), действующих преимущественно на те или иные отделы центральной нервной системы [128, 260, 93, 8, 7, 45]. Вначале о нарушении регуляции гонадотропной функции гипофиза при указанных выше воздействиях на гипоталамус и другие отделы центральной нервной системы судили лишь по состоянию полового цикла (постоянный эструс, диэструс), по морфологическим изменениям в матке и яичниках (атрофия фолликулов или их усиленное развитие, наличие и отсутствие желтых тел). В дальнейшем, по мере совершенствования методов определения гонадотропинов, эти исследования были подтверждены опытами с непосредственным тестированием гонадотропинов в гипофизах таких животных [442, 1384, 674, 71, 72, 39, 299]. Все эти исследования позволили установить, что центры, регулирующие продукцию ФСГ и ЛГ, в основном расположены в переднем гипоталамусе — в супрахиазматической области, в области ядер аркуатных и вентромедиальных, в срединном возвышении и базальных структурах гипоталамуса [674, 500, 1384, 1025, 1421]. Было установлено, что регуляция выделения ЛГ из гипофиза осуществляется двумя путями. Центры, расположенные в области аркуатных и вентромедиальных ядер, регулируют тоническое постоянное выделение ЛГ, необходимое для развития фолликулов и секреции эстрогенов. В преоптической (супрахиазматической) же области находятся центры, ответственные за циклическое выделение ЛГ, приводящее к овуляции [262, 1025, 1384].

Под контролем гипоталамуса находится не только количественная сторона гонадотропной функции гипофиза, но и его циклическая деятельность. Это было обнаружено в опытах Haggis и др. [729], показавших, что пересадка гипофизов в различные области переднего мозга не восстанавливает точки у крыс, и лишь после пересадки его в срединное возвышение, где устанавливается сосудистая связь пересаженного гипофиза с гипоталамусом, наблюдалось восстановление цикла, наступ-

ление беременности и нормальных родов. Возможность восстановления циклической деятельности гипофиза была показана также и после ретрансплантации его из почки в *eminentia mediana* [1078], а также при пересадке гипофиза от крыс с перманентным эструсом и поврежденным гипоталамусом гипофизэктомированным крысам с нормальным гипоталамусом (в область срединного возвышения). Пересадка яичников от крыс с нормальным менструальным циклом крысам, имевшим ранее нарушенный цикл, не приводила у последних к появлению нормального цикла, а восстанавливался тот же характер цикла, который был до удаления яичников [233]. Следовательно, ритм половых циклов обеспечивается не яичниками, а гипоталамическими центрами.

У самцов выделение гонадотропинов также регулируется гипоталамусом, так как при разрушении гипоталамических центров у них наблюдается атрофия половых органов [26]. Хотя гипоталамусу самцов не свойственна циклическая деятельность в отношении регуляции выделения гонадотропинов, но при электрическом раздражении области, близкой к *eminentia mediana* или преоптической области, у кастрированных самцов с пересаженными яичниками также можно вызвать выделение ЛГ, о чем судили по появлению овуляции в пересаженных яичниках [1052].

Gorski и др. [676] полагают, что при рождении гипоталамус у самок и самцов не является дифференцированным: у обоих полов он является потенциально циклическим. Дифференциация гипоталамуса происходит в первые дни жизни, до появления активности яичников у самок (у крыс это происходит на 2—6 день после рождения). В этот период ядра преоптической области приобретают способность к циклической регуляции выделения ЛГ. Если в этот критический период животным ввести эстрогены или тестостерон, то ядра преоптической области теряют эту способность. Сохраняется лишь свойство вентромедиальных ядер к тонической стимуляции выделения ЛГ, что характерно для самцов. У самцов в критический период семенники уже начинают продуцировать андрогены, поэтому у них происходит «маскулинизация» гипоталамуса, исчезновение его потенциальной циклическости. У самок же продукция эстрогенов яичниками начинается позже критического периода, поэтому

цикличность гипоталамуса сохраняется у них на всю жизнь.

В регуляции полового цикла у животных могут принимать участие и другие отделы центральной нервной системы — задние отделы гипоталамуса, амгдалоидная область [454, 781], ретикулярная субстанция [459, 93], высшие обонятельные центры [59], мозжечок [47].

Хотя в гипофизе некоторые авторы находят нервные окончания как симпатической, так и парасимпатической природы [123, 354], но влияние центральной нервной системы, особенно гипоталамуса, на переднюю долю гипофиза осуществляется главным образом гуморальным путем. Это было обнаружено в опытах с перерезкой ножки гипофиза, что устраняло рефлекторное воздействие на овуляцию и половой цикл [354, 495]. Harris [728] показал, что стойкий эффект перерезки ножки гипофиза на подавление эстрального цикла проявляется лишь при предотвращении сосудистых связей гипофиза с гипоталамусом. В дальнейшем необходимость именно гуморальных, а не нервных связей гипоталамуса с гипофизом для сохранения гонадотропной функции была показана в работах многих исследователей.

В настоящее время установлено, что под контролем гипоталамуса находится выделение гонадотропинов из гипофиза. Оно осуществляется путем выработки ядрами гипоталамуса специальных факторов (releasing factors). Находится ли продукция гонадотропинов гипофизом также под контролем гипоталамуса, еще не установлено.

Было показано, что введение экстракта гипоталамуса, особенно экстракта срединного возвышения, вызывает выделение ЛГ из гипофиза. Этот эффект наблюдался при введении экстракта гипоталамуса в периферическое кровяное русло [71, 1025, 1027, 1155], при введении его прямо в гипофиз через специальную канюлю (для чего требуются значительно меньшие дозы — [420, 421, 1077], при добавлении его *in vitro* в инкубационную среду, содержащую гипофиз [1253]). Следовательно, гипоталамус вырабатывает специальное вещество, которое вызывает выделение ЛГ из гипофиза (LH-releasing factor-LH-rf). Этот фактор вызывает выделение ЛГ даже у крыс с разрушенным передним гипоталамусом [1255]. Выделение LH-rf в портальную систему гипофиза является частью нейрогормонального контроля ЛГ-секреции.

Наличие ЛГ и LH-гf было доказано также и в мозгу человека [929] и особенно в экстрактах из *eminentia mediana* [466], выделенных из трупного материала.

В настоящее время показано, что и выделение ФСГ из гипофиза также регулируется специфическим фактором (FSH-releasing factor), который был открыт в экстрактах гипоталамуса; особенно богата им *eminentia mediana* [502, 798, 911].

Факторы, вызывающие выделение ФСГ и ЛГ из гипофиза, являются термостабильными, относительно низкомолекулярными полипептидами с молекулярным весом 1400—2000 [702, 502]. При пропускании экстракта *eminentia mediana* через колонку с сефадексом g-25 удалось отделить фактор, вызывающий выделение ЛГ, от фактора, вызывающего выделение ФСГ [502], следовательно, это два разных вещества.

Большинство исследователей полагали, что влияние половых гормонов (эстрогенов, андрогенов, прогестерона) на гонадотропную функцию гипофиза осуществляется главным образом не прямо, а при участии центров гипоталамуса, стимулируя или тормозя выделение гонадотропинов из гипофиза [609, 610, 960, 848, 1251]. Такое заключение было сделано на основании того, что при разрушении указанных выше участков гипоталамуса половые гормоны не оказывали влияния на гонадотропную функцию гипофиза. Некоторые же авторы допускали и прямое действие эстрогенов и прогестерона на гипофиз (в больших дозах). Недавно в работе Döcke и др. [524] было показано, что все же первично эстрогены воздействуют на гипофиз, причем их функция заключается в повышении его чувствительности к гипоталамическим факторам, вызывающим выделение гонадотропинов, поэтому при разрушении гипоталамуса стероиды и не могли проявить своего эффекта.

В течение полового цикла наблюдаются колебания в содержании LH-гf в гипоталамусе, и при этом максимальное его количество, по данным одних авторов, обнаруживается в проэструсе [1157], по данным других — в позднем диэструсе [437]. Во время эструса содержание LH-гf в *eminentia mediana* резко падает. Существует предположение, что LH-гf имеет двойной механизм плюс — минус взаимодействия — со стороны половых гормонов и со стороны ЛГ гипофиза [1157, 437]. Сниже-

ние уровня как половых гормонов, так и ЛГ ведет к повышению выделения LH-гг; повышение уровня ЛГ и половых гормонов в крови тормозит выделение LH-гг.

Механизм регуляции гонадотропной функции гипофиза соответствующими половыми гормонами свойствен не только взрослому организму. У неполовозрелых животных в самом раннем возрасте гонады также продуцируют небольшое количество половых гормонов, которые оказывают подавляющее действие на гипоталамус, так как показано, что удаление гонад как у неполовозрелых самок, так и самцов приводит к увеличению содержания гонадотропинов в гипофизе и крови [1143, 1144, 1158].

У неполовозрелых, как и у взрослых живогных, существует LH-гг, действие которого также блокируется эстрогенами [1155] и тестостероном [1158]. Наличие LH-гг было обнаружено даже у новорожденных кроликов [644]. Продукция половых гормонов гонадами неполовозрелых животных очень низка, но чувствительность гипоталамических центров к половым гормонам у них значительно выше, чем у взрослых. Наступление половой зрелости определяется, в первую очередь, созреванием гипоталамических центров, чувствительность которых к стимулам со стороны половых желез резко падает. Прежний уровень половых гормонов оказывается недостаточным для подавления гонадотропной функции гипофиза, что приводит к увеличению продукции гонадотропинов и стимуляции гонад. Это предположение подкрепляется данными опытов с вызыванием искусственного полового созревания у животных [781, 906, 298], а также наблюдениями о появлении преждевременного полового созревания у детей при повреждениях переднего и заднего гипоталамуса [531, 172, 155, 833].

По мнению В. Г. Баранова [18, 19, 20, 21, 22, 23], угасание половой функции у женщин также в первую очередь обусловлено изменением функционального состояния гипоталамических центров. В период климактерия у женщин может происходить как бы нарушение принципа плюс — минус взаимодействия. Повышение выделения гонадотропинов наблюдается с первых же дней задержек менструаций при выделении эстрогенов, соответствующем их выделению в начале менструального цикла, т. е. до появления резкого и стойкого снижения

продукции эстрогенов [137, 140, 141]. В то же время повышенная продукция гонадотропинов в период климактерия может сохраняться, несмотря на высокую продукцию эстрогенов, и во время ановуляторных циклов [140, 141]. К точке зрения о ведущем значении нарушений гипоталамуса в наступлении менопаузы на основании клинических и экспериментальных данных пришли также Kushima и др. [912], Aschheim [233].

РЕГУЛЯЦИЯ ПРОДУКЦИИ И ВЫДЕЛЕНИЯ ЛЮТЕОТРОПНОГО ГОРМОНА

В гипофизах, пересаженных в почку у гипофизэктомированных крыс, прекращалась продукция ФСГ и ЛГ, поскольку для этого необходимо присутствие нейрогормональных гипоталамических факторов, а секреция лютеотропного гормона в этих условиях усиливалась [585, 498, 1079, 1209]. Если же одновременно с гипофизом в почку пересаживался кусочек гипоталамуса, то увеличения секреции ЛТГ не происходило. Было показано также, что разрушение гипоталамуса в области среднего возвышения приводило к резкому увеличению продукции ЛТГ. Эти наблюдения указывают, что гипоталамус оказывает тормозящее влияние на выделение ЛТГ. Длительное введение аминазина и резерпина, вызывая снижение содержания ФСГ и ЛГ в гипофизе, приводит к увеличению выделения ЛТГ [261]. Поскольку усиление продукции ЛТГ происходит всегда в тех случаях, когда угнетается выделение ЛГ, было сделано предположение, что один и тот же нейрогипоталамический фактор, который стимулирует выделение ЛГ, одновременно угнетает выделение ЛТГ; при недостатке этого фактора не происходит выделения ЛГ, зато усиливается выделение ЛТГ [734, 1025].

Усиление выделения ЛТГ, в свою очередь, угнетает продукцию ФСГ, поэтому при увеличении продукции ЛТГ, например у лактирующих животных, угнетается выделение ФСГ и развитие фолликулов, прекращается половой цикл [499].

Desclin [498] наблюдал при введении эстрогенов усиление продукции ЛТГ. Вначале он полагал, что влияние эстрогенов осуществляется через определенные центры гипоталамуса, но затем он пришел к выводу, что эстро-

гены могут воздействовать и прямо на гипофиз. Прогестерон не оказывал влияния на секрецию ЛГГ [1208].

Окситоцин, по мнению одних исследователей [282], усиливает выделение ЛГГ, однако другие авторы [1212] не подтверждают это представление.

• ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Осуществление полового цикла у животных и менструального цикла у женщин является сложным процессом, включающим в себя координированное действие многих органов и систем. В 1946 г. И. А. Эскин [188] дал следующее представление о механизме регуляции полового цикла. Во время течки (или на 13—15-й день цикла у женщин) растущие фолликулы усиленно секретируют эстрогены, которые вызывают торможение секреции ФСГ и одновременно стимулируют выделение ЛГ из гипофиза, что приводит к овуляции. Желтое тело, образовавшееся после овуляции, продуцирует прогестерон, который тормозит выделение ЛГ, но не препятствует выходу ФСГ, в результате чего в лютеиновую фазу происходит рост фолликулов. После инволюции желтого тела уменьшается содержание прогестерона в крови, что является стимулом для выделения ЛГ из гипофиза. Усиленный выход ЛГ совместно с ФСГ стимулирует преовуляционный рост фолликулов и выделение эстрогенов. Высокий уровень эстрогенов вновь тормозит выделение ФСГ и стимулирует выделение ЛГ, наступает овуляция, и цикл повторяется снова. В дальнейшем работами многих авторов были получены новые данные, которые внесли некоторые поправки в представление о механизме полового цикла. Факт циклического выделения гонадотропинов и половых гормонов и протекание полового цикла по принципу саморегулирующейся системы остается непреложным. Но, согласно современным данным, эта схема должна быть дополнена включением в нее гипогаламического звена, циклическим выделением факторов, вызывающих выделение ФСГ и ЛГ из гипофиза. Мнение о том, что выделение ФСГ постепенно снижается к моменту овуляции, когда ЛГ достигает максимума, является спорным. Имеется ряд работ, в которых наблюдалось снижение содержания ФСГ в период овуля-

ции [650, 1352], но имеются также исследования об увеличении содержания как ФСГ, так и ЛГ в гипофизе в середине цикла и резкое падение их в период эструса, что свидетельствует о выделении обоих этих гормонов во время овуляции [1186, 1157]. Существует даже мнение, что ФСГ, как и ЛГ, тоже может быть «овуляционным» гормоном, что главная роль ЛГ — в вызывании предовуляционного роста фолликулов, а для овуляции важен сильный гонадотропный толчок, который может быть осуществлен как при помощи ФСГ, так и ЛГ [427, 539]. Но в физиологических условиях во время овуляции все же преобладает выделение ЛГ. Поскольку, согласно современным взглядам, для функции желтого тела у многих видов животных имеет значение не лютеотропный гормон, а стимуляция, полученная фолликулом во время овуляции, то, видимо, для последующей функции желтого тела важно, чтобы овуляционный толчок осуществлялся при помощи ЛГ.

До настоящего времени нельзя еще с уверенностью сказать, какие стимулы приводят к овуляционному выделению гонадотропинов. Как было отмечено выше, одни только эстрогены не способны стимулировать выделение ФСГ и ЛГ [1113, 646]. Таким образом, предовуляционному подъему эстрогенов не может быть отведена роль единственного пускового механизма в появлении овуляционного гонадотропного толчка. Скорее всего, этот резкий подъем выделения гонадотропинов стимулируется синергическим действием эстрогенов и прогестерона. Так, еще в 1944 г. И. А. Эскин [187] показал стимулирующее действие на выход ЛГ малых доз прогестерона. В настоящее время известно, что фолликул еще до образования желтого тела секретирует прогестерон [1499, 738], а в моче одновременно с овуляционным пиком эстрогенов или за день до него наблюдается небольшой подъем прегнандиола [132, 139], что свидетельствует о повышении продукции прогестерона в это время. Поскольку стероидные гормоны оказывают влияние на гонадотропную функцию при участии гипоталамических центров, то для усиления выброса ЛГ из гипофиза в кровь, возможно, имеет значение изменение порога чувствительности соответствующих гипоталамических центров, продуцирующих факторы, вызывающие выделение гонадотропинов из гипофиза. В работах ряда исследова-

телей [1250, 1251, 1371] показано, что прогестерон и эстрогены значительно снижают порог возбудимости гипоталамических центров к нервным импульсам, облегчают вызывание овуляции различными агентами [1156].

Неясен также вопрос о том, чем определяется длительность существования и активности желтого тела в цикле. Согласно представлению Rothchild [1211], деятельность желтого тела у крыс сначала стимулируется ЛГ, но через определенный срок воздействия ЛГ вызывает в желтом теле такие изменения, которые приводят к его регрессии. Лютеолизис у крыс (снижение веса и гормональной активности желтых тел) под влиянием ЛГ отмечался и в других работах [1211, 1360].

Поскольку нервная система принимает активное участие в регуляции функции гипофиза, яичников, матки, то в осуществлении полового цикла может иметь значение изменение трофических влияний нервной системы на эти органы, чем может достигаться изменение порога их чувствительности к соответствующим гормональным стимулам.

В последнее время привлекается внимание к наличию в организме разнообразных эндогенных ингибиторов действия гормонов. Изменение активности этих ингибиторов в течение цикла также может принимать участие в регуляции полового и менструального цикла. Так, Sofer и Fogel [1323] нашли резкое снижение антигонадотропного фактора в моче женщин в середине цикла и полагают, что этот факт может иметь значение в облегчении наступления овуляции.

Учитывая многообразие факторов, могущих принимать участие в регуляции цикла, сложность и недостаточную изученность их взаимодействия, в настоящее время нельзя дать полной и законченной схемы регуляции полового цикла.

Нарушение цикла может быть вызвано изменением любого звена этой сложной цепи — изменением количества продуцируемых гормонов, изменением чувствительности и реактивности органов к гормональным стимулам, увеличением или уменьшением количества антигормональных факторов.

Этим можно объяснить тот факт, что часто при выраженных патологических состояниях обнаруживаются «нормальные» величины содержания гормонов в биоло-

гических жидкостях (крови, моче). При этом надо учитывать изменение не только количества гормонов, но и характера их продукции на протяжении цикла, а также реактивности организма на одинаковые гормональные стимулы. Так, при усиленной продукции андрогенов, даже при высоком уровне секреции эстрогенов, эстрогенное влияние не сказывается на периферических тканях. При недостатке же прогестерона, являющегося естественным антагонистом эстрогенов, даже при умеренной продукции эстрогенов, наблюдается их выраженный эффект. Хотя при синдроме Штейн — Левенталя не наблюдается увеличения выделения гонадотропинов, Sofer и Fogel [1322] придают значение в появлении этой патологии резкому уменьшению антигонадотропных факторов в моче.

Таким образом, при оценке роли гормональных факторов при клиническом обследовании больного необходимо также учитывать и реактивность органов и тканей на комплексные гормональные воздействия. Одним из способов этого может явиться изучение тестов функциональной диагностики яичников (изменение ректальной температуры, цитологической картины вагинальных мазков, симптомов «зрачка», «папоротника»), которые отражают реакцию организма на комплексные влияния многих факторов, параллельно с изучением уровня продукции гормонов.

Часть IV. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГОНАДОТРОПИНОВ, ЭСТРОГЕНОВ, ПРОГЕСТЕРОНА И ПРЕГНАДИОЛА

ГОНАДОТРОПИНЫ

МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ ГОНАДОТРОПИНОВ ИЗ МОЧИ

Основными этапами определения гонадотропинов является выделение их из биологической среды и затем количественное тестирование гонадотропной активности.

Для концентрации гонадотропинов из мочи основными методами являются следующие: спирто-осадительный метод [1516, 877], осаждение гонадотропинов танниновой кислотой [828, 946], метод ультрафильтрации [672], адсорбция гонадотропинов на гидроксид алюминия [992], адсорбция гонадотропинов на каолине с последующим осаждением ацетоном. Для каолин-ацетонового метода, являющегося наиболее широко распространенным, существует очень большое количество модификаций. Наиболее часто используются модификации Dekanski [491], Albert [205, 206], Logaine и др. [971], Г. С. Степанова [146]. Borth и др. [315] сравнили эффективность 5 методов выделения гонадотропинов — метода Johnsen [828] — осаждение танниновой кислотой с использованием гифлосуперселл, каолин-ацетонового метода в модификации Albert [205] и в модификации Logaine и др. [971], спирто-осадительного метода и метода осаждения вольфрамовой и бензойной кислотой по Butt [405]. При исследовании мочи с высоким титром гонадотропинов все методы, за исключением метода Butt [405], оказались одинаково эффективны и точны. При исследовании мочи с низким содержанием гонадотропинов методом Johnsen получены наиболее высокие величины, что авторы

объясняют наименьшей токсичностью препаратов, полученных этим методом. Авторы делают вывод, что все методы дают одинаково полную экстракцию гонадотропинов из мочи (кроме метода Butt). Но поскольку при использовании метода Johnsen [828] получается наименее токсичный продукт, то они рекомендуют именно его для широкого использования. Подобные же результаты были получены и в работе Wells [1454]. Однако нужно отметить, что в методе Johnsen используется дорогой и не всегда доступный материал — гифлосуперселл (Hyflo super-cell, Kiselgur). Поэтому для широкого клинического использования методом выбора является каолин-ацетоновый метод.

МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ ГОНАДОТРОПИНОВ ИЗ ПЛАЗМЫ КРОВИ

Apostolakis и др. [223] предложили осаждение гонадотропинов из плазмы проводить 5-кратным объемом ацетона с последующим диализом осадка перед тестированием с целью уничтожения токсичности. Но этот метод давал возможность увеличить концентрацию гонадотропинов всего лишь в 2 раза по сравнению с исходной плазмой. Подобный способ концентрирования гонадотропинов был применен и в работе Louchart [980], McArthur и др. [1021]. М. И. Прокофьев и Ю. Сильвестров [124] применили фракционирование плазмы крови по методу Кона с осаждением фракции ЛГ 40% сульфатом аммония и последующим диализом осадка. Keller и др. [860] предложили проводить осаждение гонадотропинов из плазмы крови 5-кратным объемом абсолютного этанола с последующей экстракцией осадка 10% ацетатом аммония. Из этого экстракта гонадотропины осаждаются повышением концентрации этанола путем добавления 2 объемов абсолютного этанола. Этот метод удобен тем, что исключает диализ, дает в конечном итоге небольшой осадок, что позволяет значительно концентрировать плазму.

ПОПЫТКИ ХИМИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГОНАДОТРОПИНОВ

Полученный любым из вышеописанных методов гонадотропный препарат подлежит в дальнейшем количественному тестированию. Исходя из глюкопротеидной

природы гонадотропинов, были сделаны попытки их химического определения по углеводному [1195, 462] или белковому компоненту [1262, 462]. Но уже в 1956 г. Butt [404] вынужден был отказаться от химического метода, так как химический состав гонадотропинов из мочи детей и постменопаузальных женщин был одинаков, а по биологической активности они сильно различались. Недавно Vanden Driesche и др. [1415] предложили использование определения сialовой кислоты для количественной оценки гонадотропинов. Но как в работе автора, так и в ряде других работ [105, 559] было показано, что нет строгой количественной корреляции между активностью ФСГ и количеством сialовой кислоты в различных препаратах; в ЛГ биологическая активность вообще не зависит от сialовых кислот. Поскольку существующие методы выделения гонадотропинов из мочи не позволяют получить достаточно очищенных препаратов, то химические методы определения гонадотропинов в настоящее время не применяются в силу крайней своей неспецифичности.

Beard [270] сделал попытку использовать антагонизм между некоторыми ферментами и гормонами для определения гонадотропинов по замедлению свертываемости молока, вызываемой хемотрипсином, под влиянием хорионического гонадотропина и ЛГ из гипофизов. Однако этот метод не нашел широкого распространения. Поэтому до настоящего времени наиболее надежным и широко распространенным является тестирование гонадотропинов по биологическим реакциям животных.

БИОЛОГИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ ГОНАДОТРОПИНОВ

Методы, основанные на выявлении совместного влияния ФСГ и ЛГ (определение общих, или суммарных, гонадотропинов)

Как было показано выше, почти все реакции яичников на гонадотропные препараты являются следствием совместного влияния ФСГ и ЛГ. Поэтому большинство широко распространенных методов определения гонадотропинов измеряет совместный эффект этих двух гормонов. Определяемые при этом гонадотропины называются общими, или суммарными.

Для количественного тестирования можно использовать различные реакции на вводимый гормон. Непосредственной точкой приложения гонадотропинов являются яичники. Поэтому одним из наиболее широко принятых методов является определение веса яичников [946, 491, 205] или изучение гистологических изменений в яичниках неполовозрелых или гипофизэктомированных животных, вызванных воздействием гонадотропинов [1515, 600, 581].

Ряд тестов основан не на прямом действии гонадотропинов, а на эффекте эстрогенов, выделяемых яичниками под действием гонадотропинов. К этой группе методов относятся учет открытия влагалища неполовозрелых мышей, корнификация слизистой влагалища и увеличения веса матки. Первые два теста удобны лишь для качественного установления наличия гонадотропной активности, тест же увеличения веса матки неполовозрелых мышей является наиболее широко распространенным для количественного определения гонадотропинов, так как он гораздо чувствительнее теста увеличения веса яичников. Ряд авторов [946, 112] считали увеличение веса матки результатом действия ФСГ. Однако сейчас с достоверностью показано, что этот эффект есть результат совместного действия ФСГ и ЛГ, причем процент увеличения веса матки будет различным в зависимости от соотношения ФСГ и ЛГ. В недавней работе van Hell и др. [1416] показано, что результаты мышино-маточного теста гораздо ближе совпадают со специфическим тестом на ЛГ, чем на ФСГ. Раупе и др. [1121] опубликовали метод, повышающий чувствительность этого теста путем введения животным эстрогенов, а Döbner и др. [538], Igarashy и др. [797] повысили его чувствительность совместным введением подпороговых доз хорионического гонадотропина и исследуемого препарата.

При определении гонадотропинов по мышино-маточному тесту за единицу активности наиболее часто принимают двухкратное увеличение веса матки по сравнению с контролем [946, 877, 992]. Однако эта величина выбрана произвольно. Поскольку работа на минимальной границе чувствительности метода приводит к большим неточностям, то некоторые авторы принимают за единицу увеличение веса матки в 3 раза против контроля [828, 314, 1292]. В известных, хотя довольно узких пределах (изменение дозы в 2—4 раза) имеется линей-

ная зависимость веса матки от дозы. По данным Borth и др. [314], имелась линейная зависимость между увеличением веса матки и логарифмом дозы вплоть до 6—7-кратного увеличения по сравнению с контролем. Наличие линейной зависимости веса матки от дозы дает возможность пользоваться стандартом при определении гонадотропинов, и в настоящее время наиболее часто результаты определения выражают в единицах относительного стандарта.

Другим тестом измерения гонадотропной активности является метод вызывания овуляции у крыс или мышей при предварительной обработке их СЖК, чтобы вызвать развитие фолликулов. Я. М. Кабак и Е. В. Соколова [71] считали этот тест специфичным для ЛГ, но в ряде работ [382, 472] показано, что этот метод является показателем общей (ФСГ+ЛГ) активности.

Методы определения ФСГ

Как было показано выше, методы, считавшиеся ранее показателем ФСГ-активности (вес матки, корнификация влагалищного эпителия), не являются специфичными для действия ФСГ. Одними из первых специфических методов определения ФСГ были гистологические тесты. Evans и др. [581] описали метод определения ФСГ по восстановлению нормальной гистоструктуры фолликулов в яичниках крыс, нарушенной после гипофизэктомии.

Steelman и др. [1346] предложили метод определения ФСГ после подавления ЛГ-эффекта изучаемого препарата путем одновременного введения исследуемого препарата и 20—40 ЕД ХГ. При этом увеличение веса яичников крыс отражает только ФСГ-активность изучаемого препарата. Brown [376, 377], а также Salhanik [1237] применили этот метод на мышах, получивший название метода «усиления»; он в настоящее время наиболее часто используется при изучении содержания ФСГ в препаратах гонадотропинов из мочи и гипофиза и считается одним из самых специфичных тестов на ФСГ. Igarashi и др. [797] предложили использовать тот же принцип аугментации при определении ФСГ, но по весу матки, а не по весу яичников. При этом доза хорионического гонадотропина уменьшается до 0,1—0,25 ЕД на мыш. Этот метод в 100—700 раз чувствительнее теста

аугментации веса яичников, но он является специфичным для ФСГ только при условии низкого содержания ЛГ в пробе. Увеличение количества ЛГ в препарате снижает ответную реакцию веса матки. Lamond и др. [919] предлагают новый тест определения ФСГ — по весу матки гипофизэктомированных мышей при аугментации ХГ. По их данным, этот тест более чувствителен, чем методы аугментации веса яичников у крыс и мышей, и более специфичен, чем тест Igarashi и др. [797].

Иммунологические методы для определения ФСГ пока еще не нашли применения, что связано с трудностью получения чистого антигена — препарата ФСГ, лишённого ЛГ-активности. Wolf [1482], Butt и др. [408, 409] получили препарат ФСГ из гипофизов человека, который не давал реакции на ЛГ по методу определения падения аскорбиновой кислоты в яичниках крыс. При иммунизации животных этим препаратом была получена антисыворотка, которая лишь слегка снижала свой титр после обработки ХГ. Авторы полагают, что она может быть использована для определения ФСГ у людей.

Методы определения ЛГ

Предложенный ранее для определения ЛГ тест — появление желтых тел и геморрагических фолликулов у неполовозрелых мышей — не является специфическим, так как для овуляции необходимо предварительное совместное действие ФСГ и ЛГ. Поэтому в настоящее время это метод как тест на ЛГ не применяется. Для специфического определения ЛГ предложено несколько методов. Evans и др. [581] описали метод определения ЛГ по восстановлению интерстициальной ткани в яичниках гипофизэктомированных крыс. Но гораздо большее распространение нашёл метод увеличения веса передней доли простаты у гипофизэктомированных крыс, в основе которого также лежит восстановление интерстициальной ткани в семенниках крыс и выработка ею андрогенов [693, 393, 1019, 1020]. Но поскольку в последнее время было показано, что для секреции андрогенов семенниками необходимо присутствие хотя бы малой примеси ФСГ, а в работе Rappkoff [1107] было показано, что и сам ФСГ обладает стероидогенным действием, которое не может быть объяснено примесью ЛГ, то некоторые

авторы [1112] не считают этот тест абсолютно специфичным для ЛГ. Однако в работе Rosemberg и др. [1205] было показано, что увеличение содержания ФСГ в гонадотропных препаратах, вплоть до 30-кратного преобладания ФСГ над ЛГ, не оказывает влияния на определение ЛГ этим методом. Поэтому до настоящего времени этот метод является одним из самых надежных тестов на ЛГ. Главным недостатком, ограничивающим его применение для определения ЛГ в индивидуальных порциях мочи людей, является его относительно низкая чувствительность.

Для определения ЛГ был использован также тест увеличения гиперемии яичников у мышей [66] и у крыс [311]. Еще более увеличилась чувствительность и точность гиперемийного теста в модификации Ellis [558], который предложил вводить меченный радиоактивным йодом альбумин через 2 ч после введения ЛГ, а через 15 мин производить измерение радиоактивности яичников. По данным Parlow и др. [1115], этот тест в 15 раз чувствительнее метода, основанного на увеличении веса простаты, но в 2¹/₂ раза менее чувствительный, чем метод падения аскорбиновой кислоты в яичниках. К тому же, по их же данным, влияние ФСГ изменяет ответ на ЛГ в этом тесте, следовательно, он не является полностью специфичным. Soliman [1326] предложил для определения ЛГ метод подсчета геморрагических фолликулов в яичниках неполовозрелых мышей после предварительной их обработки сывороткой жеребых кобыл, причем ФСГ в данном тесте не оказывал влияния на наклон кривой.

В настоящее время наиболее широкое распространение имеет метод, основанный на измерении падения аскорбиновой кислоты в яичниках крыс, предложенный Parlow [1110, 1111]. У неполовозрелых крыс вызывается ложная беременность введением им СЖК и ХГ, а затем через 5—9 дней проводится тестирование путем внутривенного или интритрибушинного [227] введения препарата ЛГ и последующего определения аскорбиновой кислоты в яичниках. В первоначальных модификациях метода учитывалась разница между содержанием аскорбиновой кислоты в яичнике, удаленном сразу после введения ЛГ и через 1 ч после его введения [1110, 1026, 700]. Однако впоследствии было показано, что более удобно производить удаление сразу обоих яичников через 3—4 ч после введения ЛГ и результаты выражать в мг% аскорбиновой кис-

лоты в яичнике [1111, 1258]. Этот метод является высокочувствительным — он в 33 раза чувствительнее метода, основанного на увеличении веса простаты, и в 2½ раза чувствительнее метода Ellis (поглощение яичниками меченого йодом альбумина) [1115]. Наименьшее количество хорионического гонадотропина, открываемое этим методом, равно 0,2—0,5 МЕ. В ранних работах отмечалось, что он является самым специфичным из всех методов для определения ЛГ, так как на него не оказывают влияния ФСГ, ЛТГ, АКТГ, гормон роста, тиреотропный гормон [1111, 1258]. Раркоф [1107] также указывал, что примесь ЛГ в препарате ФСГ была выявлена более точно методом определения падения аскорбиновой кислоты в яичниках, чем методом увеличения веса передней доли предстательной железы. Однако в последующих работах [390, 1205] было показано, что хотя сам ФСГ не снижает содержания аскорбиновой кислоты в яичниках, но в больших концентрациях потенцирует эффект ЛГ. Однако действие ФСГ проявляется лишь при 30-кратном преобладании над ЛГ.

В последнее время было показано, что недостаточная специфичность этого метода проявляется и в том, что некоторые гормональные препараты и негормональные вещества обладают свойством снижать содержание аскорбиновой кислоты в яичниках: пропиленгликоль, экстракты из крахмального геля, применяемого для электрофореза [657], кломифен [1018].

К недостаткам этого метода надо отнести его относительно небольшую точность [1236, 928]. Но не все авторы с этим согласны [1129]. К тому же точность метода зависит от линии используемых крыс. Так, Коed и др. [898] при использовании крыс линии Wistar наблюдали малую точность, а при работе на крысах линии Holzman — вполне удовлетворительную точность.

В работе Bell и др. [279] отмечается, что падение аскорбиновой кислоты в яичниках начинается с определенного уровня доз, а значительно более низкие дозы дают, наоборот, увеличение содержания аскорбиновой кислоты в яичниках по сравнению с контролем.

Perski и др. [1129] отмечают постоянство наклона кривой «доза — ответ», но некоторую вариабельность уровня. Другие авторы находили изменение и уровня, и наклона кривой.

Наиболее часто неудовлетворительная точность метода наблюдалась при определении достаточно токсических препаратов гонадотропинов в моче [1111, 795]. Но при дополнительной очистке препаратов из мочи или при высоком содержании гонадотропинов в моче [640, 795] метод давал удовлетворительные результаты.

Veil и др. [276] предложили метод определения ЛГ по падению содержания холестерина в яичниках псевдобеременных крыс, который был в 5 млн. раз чувствительнее метода, основанного на определении аскорбиновой кислоты, что является его большим достоинством, но точность и специфичность его относительно невелика.

В последнее время для диагностики беременности нашел широкое применение иммунологический метод [1467, 1031, 351]. Но в работах многих авторов было показано, что при использовании для иммунизации коммерческих препаратов хорионического гонадотропина, даже достаточно хорошо очищенных, антисыворотка содержит еще ряд неспецифических антител [351, 352, 987, 716], которые, по данным ряда авторов [351, 352, 1243], могут быть устранены обработкой антисыворотки мочой или сывороткой небеременных женщин. Однако Hamashige и др. [716] не удалось путем этих приемов сделать полученную ими антисыворотку специфичной для ХГ. Поскольку ХГ и ЛГ из гипофизов человека иммунологически очень близки, то Wide и др. [1466, 1467], а также Goss и др. [680] предложили использовать сыворотку к ХГ для определения ЛГ. При этом при определении ЛГ в гипофизе данные иммунологического и биологического методов совпадали [680], а при определении ЛГ в моче между ними не было соответствия. У небеременных Goss и др. [680] находили более высокое содержание ЛГ при биологическом тестировании, а Wide [1466], Hobson и др. [771] у беременных получали более высокие величины ЛГ при иммунологическом методе вследствие присутствия биологически неактивного, но иммунологически активного фактора в моче беременных. В последнее время появилось много работ, в которых показано, что иммунологические методы при определении гонадотропинов из мочи дают значительно более высокие величины, чем биологические. По-видимому, иммунологические методы пока еще не могут быть применены для количественного определения гонадотропинов [316, 761].

Недавно Wide и др. [1470] предложили радиоиммунологический метод с использованием меченных J^{131} высокоочищенных препаратов ХГ для определения ХГ у беременных и ЛГ в моче небеременных женщин.

Применение стандартных препаратов при определении гонадотропинов, выделяемых из мочи и гипофиза

Выражение результатов тестирования гонадотропинов в биологических единицах имеет ряд недостатков: несравнимость различных единиц между собой, колебания чувствительности животных к одному и тому же препарату в разные дни, которое может достигать 7-кратных размеров [313]. Для устранения этих недостатков необходимо иметь какой-то единый международный стандарт, в единицах которого можно выражать получаемые результаты. Но выбор стандарта наталкивается на большие трудности. В литературе были сообщения о том, что при использовании разных методов для получения гонадотропных препаратов из одного и того же источника получаются качественно разные результаты [1448, 831]. С другой стороны, имеются данные о том, что нет качественных различий как в препаратах из одного источника, так и в препаратах из разных источников, полученных как одинаковыми, так и разными методами [208, 971, 902, 1201]. В последнее время появились работы [1034, 1204], в которых было показано, что препараты, выделенные из большого количества мочи, полученной из разных источников (у женщин с нормальным менструальным циклом, в постменопаузе, у мужчин), совпадают между собою по наклону кривой «ответ — доза», но гонадотропины из индивидуальных 24-часовых порций мочи качественно отличаются как между собой, так и от препаратов, выделенных из большого количества мочи. Авторы полагают, что эти различия обусловлены не вариациями соотношения ФСГ и ЛГ, а наличием различных примесей. Какова бы ни была причина этих отклонений, качественно разный состав гонадотропных препаратов сказывается также и на проявлении активности в минимальном разведении, т. е. одна биологическая единица будет лишь формально одинакова в этих качественно разных препаратах. Применение единого стандарта в этом случае будет неточным.

но применение биологических единиц при этом также не исключит погрешности. В то же время использование стандарта позволит исключить влияние изменения чувствительности животных в разное время. Ввиду всех указанных выше трудностей нельзя пока установить окончательный международный стандарт и международную единицу. Поэтому было решено установить относительный стандарт, при этом степень его очистки не имела значения, поскольку при определении гонадотропинов в моче также не достигается высокой степени очистки. Вначале в качестве стандартов был широко распространен ряд препаратов, полученных из мочи постменопаузальных женщин: пергонал, полученный пермутитовым методом, и препараты HMG-20A и HMG-24, полученные каолин-ацетоновым методом с очисткой на трикальцийфосфате. В 1959 г. был принят единый международный относительный стандарт (HMG-IRPI), равный по активности HMG-24, 1 мг которого примерно равен 1—1.5 единицам по мышечно-маточному тесту. Пергонал-23 (Pergonal-23) был принят в качестве второго относительного международного стандарта. 1 мг пергонала по активности равен 23—24 мг HMG-IRP.

Для тестирования гонадотропинов в гипофизах, крови, а в последнее время и в мочевых экстрактах в качестве стандартов широко используются препараты ФСГ и ЛГ из овечьих гипофизов, изготавливаемые Национальным институтом здоровья в США (NIH-FSH-SI, NIH-LH-SI).

ДЕТАЛЬНОЕ ОПИСАНИЕ МЕТОДОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГОНАДОТРОПИНОВ

Ниже мы описываем методы определения гонадотропинов, как суммарных, так и ФСГ и ЛГ, которые используются в нашей лаборатории. Начальный этап метода — экстракция гонадотропинов из мочи — является одинаковым и в основном проводится так, как описано Г. С. Степановым [146] с некоторыми небольшими изменениями. Биологическое тестирование проводится по-разному при определении общих гонадотропинов, ФСГ или ЛГ.

Экстракция гонадотропинов из мочи

24-часовая порция мочи подкисляется концентрированной уксусной кислотой до pH 4,0, затем добавляется 20% суспензия каолина из расчета 5—10 г каолина на литр мочи. Производится энергичное встряхивание в течение 1—2 мин (мы убедились, что за этот

срок происходит полная экстракция гонадотропинов и нет необходимости встяхивать, в течение 1 ч). Затем суспензия центрифугируется в стаканах емкостью 0,5—1 л. К каолиновому осадку добавляется 70 мл 0,1 н. едкого натра, размешивается, рН доводится до 10 и раствор центрифугируется. Надосадочный слой сливается в охлажденный ацетон (350 мл) и оставляется на ночь в холодильнике. В большинстве существующих методов определения гонадотропинов осаждение проводится при рН 5—6,5. Мы сравнили результаты тестирования препаратов, осажденных при рН 5 и 10. В среднем из 6 опытов при рН 5 обнаружено 71 мг, а при рН 10—110 мг в суточной моче. Следовательно, при рН 10 активность получается более высокой, чем при рН 5.

На следующий день ацетоновый слой над осадком сливается сифоном, осадок центрифугируется, промывается 2 раза ацетоном и 2 раза эфиром (по 40—50 мл) и сохраняется в холодильнике до момента тестирования. Сухие остатки могут храниться в течение нескольких месяцев без потери активности.

Характеристика стандартного препарата

При определении общих гонадотропинов и ФСГ результаты выражаются в мг стандарта, приготовленного нами из 200 л мочи постменопаузальных женщин описанным выше методом. При сравнении нашего стандарта с международным относительным стандартом было обнаружено, что 3 мг нашего стандарта примерно равны по активности 1 мг международного стандарта (HMG-IRP-1)

Определение общих гонадотропинов по весу матки неполовозрелых белых мышей

Использовались неполовозрелые самки белых мышей весом 6—8 г, полученные из питомника АМН СССР в Рапполово.

Сухой осадок гонадотропинов растворялся в 10 мл физиологического раствора и центрифугировался. Из основного раствора делались разведения в 2, 4, 8, 16 раз. Одновременно отвешивался стандарт (60 мг) и растворялся в 6 мл физиологического раствора. Из основного раствора производились разведения с содержанием 2, 4 и 6 мг/мл. В препаратах из мочи не обязательно делать все указанные разведения. При ожидаемом низком содержании гонадотропинов тестируются основной раствор и разведение в 4 раза, при высоком — разведение 4 и 16 раз. На каждую дозу берется 3—5 животных. Раствор вводится по 0,3 мл 1 раз в день в течение 3 дней, на 4-й день проводится вскрытие. Матка извлекается и взвешивается на торсионных весах. Расчет проводится по калибровочной кривой стандарта, которая строится по данным веса матки и величины дозы. В широком диапазоне доз зависимость веса матки от дозы имеет S-образный характер (рис. 1). При низких концентрациях гонадотропинов (менее 1—2 мг/мышь) наблюдалось увеличение веса матки в 1¹/₂—2 раза по сравнению с контролем, но не было количественной зависимости от дозы (нижнее «плато»). Затем шел участок линейной зависимости веса матки от дозы в пределах от 2 до 6 мг/мышь, а иногда и до 8—10 мг. Но чаще всего при

концентрации выше 6 мкг уже не было дальнейшего увеличения веса матки (верхнее «плато»). Для расчета брались лишь те величины

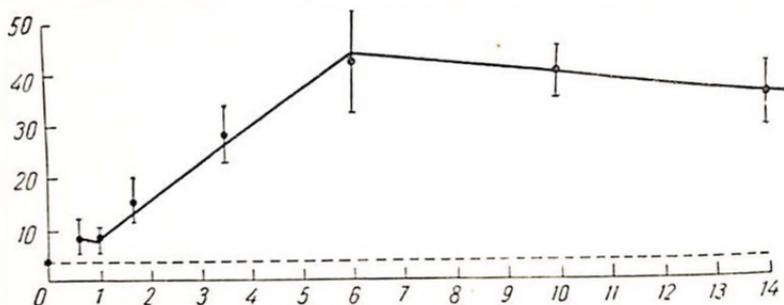


Рис. 1. Кривая зависимости веса матки от дозы при определении суммарных гонадотропинов по тесту веса матки неполовозрелых мышей.

Стандарт получен из мочи постменопаузальных женщин (3 мкг стандарта равны 1 мкг IRP-HMG). Для каждой дозы дана средняя величина и стандартное отклонение. По вертикали — P вес матки в мг; по горизонтали — микрограмм стандарта. Пунктир — контроль.

опытных проб, которые отражали вес матки, находящийся в линейной части кривой. Если оба разведения оказывались на линейном отрезке, то конечный результат рассчитывался как среднее из двух разведений.

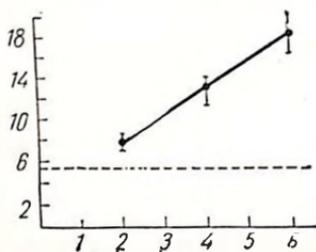


Рис. 2. Кривая зависимости веса яичников от дозы стандарта при определении ФСГ по весу яичников мышей при одновременной даче 40 ЕД ХГ.

Стандарт получен из мочи постменопаузальных женщин (3 мкг стандарта равны 1 мкг IRP-HMG). Для каждой дозы дана средняя величина и стандартное отклонение. Обозначения, как на рис. 1.

пробе проводится по калибровочной кривой с учетом разведений. Результаты выражаются в мкг стандарта/24 ч.

Определение ФСГ по методу Brown [377] (тест аугментации)

Инфантильные самки белых мышей весом 6—8 г получают по 1 разу в день (в течение 3 дней) подкожно по 0,3 мл тестируемого препарата и по 0,3 мл раствора ХГ, в концентрации 40 ед./мл. Контрольные животные получают только 40 ЕД ХГ. На 4-й день животные забиваются, яичники извлекаются и взвешиваются на торзионных весах. Стандарт (также при одновременном введении ХГ) тестируется в разведениях 2—8 мкг. В этих пределах имеется линейная зависимость веса яичников от дозы (рис. 2). Чувствительность теста примерно такая же, как обычного мышино-маточного теста. Опытные пробы тестируются в тех же разведениях, что и при определении суммарных гонадотропинов. Расчет содержания ФСГ в

Определение ЛГ по методу Parlow [1111] (падение содержания аскорбиновой кислоты в яичниках крыс)

Нами использовались беспородные самки белых крыс весом 40—50 г (из питомника АМН СССР в Рапполово). Вначале им вводили подкожно по 75 ед. СЖК, а через 56—72 ч — по 25 ед. ХГ. Тестирование неизвестных препаратов проводилось через 6—9 дней после введения ХГ.

В хвостовую вену животным вводилось исследуемое вещество в объеме 0,5 мл. Через 4 ч (с отклонениями ± 15 мин) животные за-

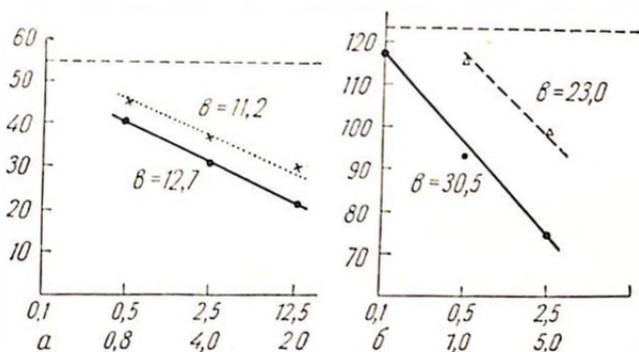


Рис. 3. Кривая зависимости содержания аскорбиновой кислоты в яичниках крыс от дозы препарата при определении ЛГ.

Сплошная линия — хорионический гонадотропин (ХГ) (Plysex), пунктирная линия — стандарт мочи постменопаузальных женщин (3 мг стандарта равны 1 мг IRP-НМГ), штриховая линия — ЛГ из гипофизов крупного рогатого скота NIH-LH-B₁; $b = \frac{A_1}{\log \frac{A_1}{A_2}}$ (отношение концентраций ЛГ)

где C_1 — содержание аскорбиновой кислоты в яичниках при одной дозе стандарта; C_2 — содержание аскорбиновой кислоты в яичниках при другой дозе стандарта; $\frac{A_1}{A_2} = 5$; по вертикали — содержание аскорбиновой кислоты в миллиграммах; по горизонтали верхняя строка — единицы ХГ, нижняя в графике *a* — миллиграмм стандарта из мочи; нижняя в графике *b* — микрограмм NIH-LH-B₁.

бываются, извлекаются яичники, взвешиваются на торсионных весах, а затем проводится определение содержания аскорбиновой кислоты в ткани яичника по методу Roe Kuether [1197]. Яичники растираются в ступке, содержащей 2 мл 4% трихлоруксусной кислоты (ТХУ) и небольшое количество песка. Затем объем ТХУ доводится до 10 мл и в ступку вносится 200—300 мг норита, перемешивается и фильтруется через бумажный фильтр. Из фильтрата отбираются 2 пробы по 2 мл, добавляется 0,5 мл 2% раствора 2,4-динитрофенилгидразина в 9 н. серной кислоте, 1 капля насыщенного раствора тиомочевины в этаноле. Пробы встряхиваются и ставятся на 45 мин в термостат при 56°. Затем добавляется 2,5 мл

85% серной кислоты (медленно, при охлаждении в ледяной воде). Пробы оставляются на 30 мин при комнатной температуре, а затем фотометрируются при длине волны 510 м μ против контроля на реактивы, где вместо ТХУ-экстракта берется 2 мл 4% ТХУ. Калибровочная кривая с аскорбиновой кислотой строится в пределах от 10 до 50 мкг в пробе. Вычисляется содержание аскорбиновой кислоты в яичниках в мг%, а затем по кривой зависимости \log дозы стандарта от содержания аскорбиновой кислоты в яичниках вычисляется содержание ЛГ в пробе, а затем и в суточной моче. Калибровочная кривая со стандартом ставится в каждом опыте, так как в разные дни меняется не только чувствительность животных к стандарту, но иногда и наклон кривой. В качестве стандарта при определении гонадотропинов в гипофизе использовался ЛГ из бычьих гипофизов (NIH-LH-B₁) в дозах от 0,2 до 5 мкг на крысу. При определении гонадотропинов в моче в качестве стандарта использовался ХГ в дозах 0,5—12,5 ЕД на крысу. Разница концентраций доз была пятикратная. В ряде опытов тестировался одновременно с ХГ полученный нами стандарт из мочи постменопаузальных женщин в дозах 1—25 мкг на крысу. Ход кривых для ХГ, гипофизарного ЛГ и мочевого ЛГ был параллельным (рис. 3). На каждую дозу бралось 5 животных. Яичники каждой крысы обрабатывались отдельно, а затем вычислялась средняя величина содержания аскорбиновой кислоты в яичниках (на данную дозу). При определении гонадотропинов в моче осадок из суточной мочи растворялся в 5—10 мл физиологического раствора, тестировалось основное разведение и иногда — разведение в 5 раз.

ЭСТРОГЕНЫ

БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭСТРОГЕНОВ

Биологические методы определения эстрогенов можно разбить на ряд групп, использующих различные эффекты действия эстрогенов.

Большая группа методов основана на изучении ороговения влажалищного эпителия под влиянием эстрогенов. Родоначальником этой группы методов является метод Allen и Doisy (цит. по [516]) — появление течки у кастрированных мышей после введения эстрогенов. Метод недостаточно точен, так как имеются большие колебания чувствительности животных. Кроме того, наблюдается большая разница в активности эстрона, эстрадиола и эстриола. Дальнейшая эволюция этого теста привела к созданию более чувствительных методов. Emmens (цит. по [516]) предложил использовать не подкожное, а внутривенное введение эстрогенов в 1% растворе яичного альбумина. При этом повысилась чувстви-

тельность метода до 0,0003 мкг эстрогена на дозу. В этой модификации данного теста биологическая активность всех трех эстрогенов оказалась почти одинаковой. Еще большее повышение чувствительности метода было достигнуто в модификации Maglin и др. [1014]. Авторы показали, что имеется линейная зависимость между числом митозов (или толщиной вагинального эпителия) и дозой эстрогенов в интервалах от 5 до 100 микрограмм ($5 \times 10^{-6} - 10^{-4}$ мкг), при этом также наблюдается примерно равный ответ на эстрон, эстрадиол и эстриол. Maglin [1011] предложил новую модификацию этого метода, основанную на усилении клеточного дыхания вагинального эпителия, которое измеряется по восстановлению 2,3,5-трифенилтетразолий-хлорида, являющегося акцептором водородных ионов клеточных редуктаз. Имеется линейная зависимость количества восстановленного продукта (формазана) от дозы эстрогенов в пределах $10^{-5} - 10^{-4}$ мкг, причем активность эстрогена и эстрадиола почти одинакова. По данным Lauritzen [932], активность всех эстрогенов эстриола (эстриола, 16-эпиэстриола, 16,17-эпиэстриола, 17-эпиэстриола) также одинакова. Новые модификации метода, основанные на характере реакции вагинального эпителия на эстрогены (число митозов, толщина эпителия, восстановление 2,3,5-трифенилтетразолий-хлорида), имеют много преимуществ по сравнению со старыми методами, в которых использовался учет корнификации влагалища — они гораздо чувствительнее, более специфичны, так как на процессы, лежащие в их основе, не оказывают влияния андрогены, кортикостероиды, которые вызывают подавление корнификации вагинального эпителия.

Другая большая группа методов биологического тестирования эстрогенов использует увеличение веса матки неполовозрелых или кастрированных животных. Существуют методы, учитывающие длительное действие эстрогенов (при введении их в течение 3—4 дней), приводящее к увеличению веса матки в несколько раз против контроля [534, 931]. В этих методах имеется большая разница в дозах различных эстрогенов (эстрон — 0,05—0,2 мкг, эстрадиол — 0,0125—0,05 мкг и эстриол — 12,5—50 мкг). Вторая разновидность методов, использующих характер ответа матки на эстрогены, предложена Astwood [236] — это короткий 6-часовой тест. При этом вес

матки возрастает примерно на 60% через 6 ч после введения эстрогенов неполовозрелым крысам, а затем падает, увеличение веса матки обусловлено накоплением в ней воды. Линейная зависимость веса матки от дозы наблюдалась для эстрадиола в пределах 0,006—0,1 мкг, для эстрона — 0,07—1,2 мкг.

Gordon и др. [673] предложили метод определения эстрогенов *in vitro* с использованием микросомной и супернатантной фракции человеческой плаценты. В этих фракциях содержится система изоцитрикодегидрогеназы, зависимой от дифосфопиридинуклеотида (DPN), который под действием эстрогенов восстанавливается в DPNH (восстановленная форма DPN). Количество образовавшегося DPNH измеряется на спектрофотометре при 340 мкм. Имеется линейная зависимость количества DPNH от логарифма дозы эстрогенов в пределах 0,1—0,5 мкг. Эстрон и эстрадиол почти равны по активности, а остальные стероиды, в том числе и эстриол, лишены активности в этом тесте.

Биологические методы имеют много существенных недостатков: 1) существуют большие различия при определении эстрогенов разными методами, особенно если не используется для сравнения стандарт, а определяется просто «эстрогенная активность»; 2) биологическая активность эстрогенов зависит не только от их специфического действия, но и от скорости их всасывания и распределения в организме, которые зависят от растворителя, способа введения, вида животного; кроме того, на биологическую активность может оказывать влияние присутствие других стероидных гормонов (андрогенов, прогестерона, кортикоидов); 3) в большинстве биологических методов различные эстрогены имеют неодинаковую биологическую активность; 4) ввиду небольшой точности биологических методов нужно использовать большое количество животных (15—20 на одно определение). Из-за этого теряет свои преимущества даже высокая чувствительность биологических методов, особенно последних модификаций. Таким образом, использование биологических методов для практического определения эстрогенов нецелесообразно. Но биологическое тестирование эстрогенов незаменимо для специальных целей исследования — для определения эстрогенной и антиэстрогенной активности различных веществ. Smith и др. [1309]

используют биологическое тестирование для определения еще не идентифицированных химически фракций эстрогенов.

ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭСТРОГЕНОВ

Определение эстрогенов в моче

Методы суммарного определения эстрогенов или, как их называют некоторые авторы [817, 1366], фенолстероидов, имевшие ранее широкое распространение, страдают рядом существенных недостатков (неудовлетворительная очистка экстрактов, что делает эти методы крайне мало специфичными, различная интенсивность окраски с разными фракциями эстрогенов). В настоящее время эти методы практически полностью вытеснены методами фракционного определения эстрогенов с последующей колориметрией или флуориметрией. Однако в 1965 г. появилась работа Eschaute и др. [553], в которой снова делается попытка создать специфический метод определения суммарных эстрогенов. Авторы применили новый способ очистки — после гидролиза эстрогены пропускаются через сефадекс G-25, что дает хорошую очистку от хромогенов. Конечное определение — флуориметрическое. Чтобы избежать ошибки от того, что степень флуоресценции у разных эстрогенов неодинакова, авторы для построения калибровочной кривой используют смесь эстрона, эстрадиола и эстриола в соотношении 2 : 1 : 2, т. е. в тех пропорциях, в которых они наиболее часто встречаются в моче.

Большинство существующих методов дает возможность определять только эстрон, эстрадиол и эстриол, хотя в последнее время появились методы, позволяющие исследовать содержание также и 16-эпиэстриола [478, 1086], D-альфа-кетолов и 2-метоксиэстрона [662, 663]. Однако в последнее время высказываются мнения, что для клинических целей излишне определение всех фракций эстрогенов, а достаточно исследование какой-либо одной, основной фракции, поскольку в большинстве случаев имеется параллелизм в изменении содержания фракций. Наиболее отчетливо эта тенденция выражена при определении эстрогенов в моче беременных, где исследуется только эстриол. Но и у небеременных Eberlein

и др. [546] предложили исследовать только эстриол, а Вгown и др. [372] — только эстрон.

Иногда определение только одной фракции — эстрогена применяется в высокоспецифичных методах, в которых, кроме обычных процедур, вводятся еще дополнительные этапы [371, 590].

В различных методах определения эстрогенов имеются некоторые общие этапы.

I этап — гидролиз конъюгатов эстрогенов. Проведение колориметрических или флуориметрических реакций возможно и с конъюгатами эстрогенов. Но, к сожалению, еще не разработаны методы достаточной очистки конъюгатов эстрогенов, поэтому в большинстве методов приходится проводить их гидролиз, так как свободные эстрогены поддаются значительно лучшей очистке. Имеется ряд работ, посвященных очистке конъюгатов эстрогенов на различных видах сефадекса, в том числе и ионообменного диэтиламиноэтил-сефадекса [273, 708], но они применимы лишь для мочи беременных женщин.

Известны два основные пути гидролиза — горячий кислотный и энзиматический. Наиболее широко распространен горячий кислотный гидролиз в течение 1 ч с 15% соляной кислотой. При этом, по данным некоторых авторов [1308], также еще не происходит полного гидролиза. Другие же авторы [396] сообщают, что гидролиз совершается полностью, но имеется некоторое разрушение эстрогенов примерно на 20—30%. Отмечено, что степень разрушения зависит от разведения мочи — чем более концентрированная моча, тем сильнее разрушение [363]. По-видимому, разрушение производит не кислота и высокая температура, а какие-то факторы, присутствующие в моче. Одним из них является глюкоза. Это нужно учитывать при определении эстрогенов в моче больных диабетом [768].

Некоторые эстрогены совершенно «не выносят» ни щелочного, ни горячего кислотного гидролиза, поэтому для их определения необходим более мягкий энзиматический гидролиз. Для гидролиза глюкуронидов наиболее часто применяется бета-глюкуронидаза из тканей крупного рогатого скота [272, 1043]. Однако так как в моче содержатся конъюгаты также и с серной кислотой, то лучшие результаты получаются при использовании энзиматических препаратов из моллюсков, обладающих как

бета-глюкуронидазной, так и фенилсульфатазной активностью [363]. В ряде методов после гидролиза мочи бета-глюкуронидазой применяется еще гидролиз другим энзиматическим препаратом, обладающим сульфатазной активностью [445, 479]. В некоторых работах после бета-глюкуронидазного гидролиза используется сольволизис сульфатов. Для этого моча подкисляется до pH 1, и расщепление происходит в течение 48 ч при непрерывной экстракции эфиром [1295, 1043], этил-ацетатом [244] или хлороформом [711]. Энзиматический гидролиз также имеет ряд недостатков, ограничивающих его широкое применение (наличие ингибиторов, длительность гидролиза, что приводит к нарушению соотношения фракций).

После гидролиза освободившиеся эстрогены экстрагируются различными растворителями, из которых самыми распространенными являются серный эфир, бензол, этил-ацетат. Общим для большинства методов определения эстрогенов является распределение эстрогенов между щелочью и органическими растворителями. При этом нейтральные липиды остаются в органической фазе, а эстрогены извлекаются щелочью. В методе Brown [357] для этого применяется смесь равных объемов петролейного эфира и бензола, что дает возможность при экстракции водой отделить эстриол (как наиболее гидрофильную фракцию) от эстрона и эстрадиола, вымывающихся щелочью. Для дальнейшего разделения эстрогенов на фракции и для очистки их существует ряд методов. Очень эффективным является применение противоточного распределения в специальных аппаратах [569, 505]. Тот же принцип противоточного распределения лежит в основе методов распределительной хроматографии на колонках из силикагеля, целита [266, 662, 1142], на бумаге [1049, 1050, 856, 1399]. Колоночная распределительная хроматография дает хорошие результаты не только в отношении полноты отделения различных фракций друг от друга, но и достаточно хорошей очистки их от примесей. Но для проведения распределительной хроматографии требуются довольно громоздкие аппараты и длительное время. Вариантом распределительной хроматографии является газо-жидкостная хроматография. В последнее время появилось много работ по использованию этого вида хроматографии для определения эстрогенов [1488, 983, 984, 1116, 908, 1066]. В этих работах

газовая хроматография применялась для разделения стандартов эстрогенов и в отдельных случаях — для мочи беременных, и лишь в работе Kroman и др. [908] этот метод был применен для определения эстрогенов в крови. Scazzazzo и др. [413] использовали газовую хроматографию и для анализа мочи на эстрогены у небеременных женщин. Они применили для этого приспособление для высушивания образца перед введением его в камеру для испарения, чтобы исключить неблагоприятное влияние слишком большого количества растворителя, который ранее приходилось вводить, чтобы внести достаточное количество эстрогенов при низкой их концентрации в пробе. В последнее время выяснилось, что газо-жидкостная хроматография для анализа мочи небеременных женщин на эстрогены может применяться лишь после тщательной очистки экстрактов. Так, в работе Menini [1035] моча после гидролиза подвергалась очистке, как в методах Brown [357], эстрогены метилировались, ацетилировались и только после этого проводилась газо-жидкостная хроматография. Большим преимуществом газовой хроматографии является ее высокая чувствительность. В зависимости от детектора возможно определение 0,1—0,01 мкг эстрогенов. Газо-жидкостная хроматография находит хорошее применение для идентификации эстрогенов, при анализе стероидов яичников [1032].

Бумажная хроматография имеет целый ряд как положительных качеств (она весьма чувствительна, так как весь материал собирается в одном пятне, легко выполняема), так и отрицательных (требует относительно чистых экстрактов, так как большие количества примесей мешают разделению компонентов; поскольку бумага не является только средством распределительной хроматографии, а обладает еще и сорбционными свойствами, то это мешает полноте элюции эстрогенов). Поэтому методы хроматографии на бумаге более пригодны для качественного анализа при идентификации эстрогенов.

Широкое распространение имеет адсорбционная хроматография. Наиболее часто в качестве адсорбента используется окись алюминия [1354, 358, 75, 76, 803, 136, 163]. Этот вид хроматографии удобен вследствие своей простоты и быстроты, но также имеет ряд недостатков (необходимость тщательной стандартизации окиси алюминия по кристаллическим эстрогенам и недостаточная

специфичность, вследствие чего не происходит полного отделения эстрогенов от сопутствующих примесей). Для увеличения специфичности метода при анализе мочи с очень низким содержанием эстрогенов Blair и др. [294] предложили комбинацию адсорбционной хроматографии на окиси алюминия с распределительной хроматографией на целлите.

Ионообменная хроматография для разделения эстрогенов на смолах дауэкс-2, амберлит IRC-50 [1404] не нашла широкого применения, так как степень разделения эстрогенов и их очистка от примесей были недостаточно полными.

Конечный этап определения эстрогенов — колориметрия, или флуориметрия (кроме методов газовой хроматографии). Однако все существующие колориметрические и флуориметрические реакции являются недостаточно специфичными и дают окраску, хотя и с другим спектром поглощения, и с примесями. Поскольку предыдущие этапы очистки эстрогенов не позволяют полностью отделить примеси, то для исключения их влияния необходимо применение тех или иных поправок. В современных методах для этого используется спектрофотометрическая поправка Аллена [214]. Она основана на фотометрировании в трех длинах волн, одна из которых та, где эстрогены дают максимум поглощения, а две другие — на равном расстоянии от максимума. Применение этой поправки возможно только в том случае, если в области выбранного отрезка длин волн неспецифические хромогены имеют линейный характер поглощения. Для большинства методов определения эстрогенов это положение справедливо [514].

Для колориметрического определения эстрогенов существует много методов. Некоторые из них являются специфичными только для отдельных эстрогенов. Так, реакция Bachman [248] специфична только для эстриола, реакция Циммермана — для эстрогенов с кетогруппой в 17-м положении. Emsum и др. [565] предложили реакцию с серной кислотой и свежеперегнанным этилацетатом, которая применима только для эстрона и эстрадиола, а эстриол при этом не выявляется. Наиболее специфичной для большинства эстрогенов является реакция Кобера [897], которая имеет много модификаций. Самой удачной и наиболее распространенной из них является

реакция, предложенная B Gowp [356] и усовершенствованная Bauld [265], где в качестве восстановителя применяется гидрохинон. Дальнейшим шагом к увеличению специфичности метода явились работы Ittrich [803, 804], который после проведения реакции с гидрохинонсернистым реагентом применил затем экстракцию окрашенного комплекса хлороформом, тетрачлор- или тетрабромэтаном. При этом значительная часть примесей оставалась в водном растворе, чем достигалась еще большая очистка эстрогенов. Кроме того, чувствительность метода повысилась при этом примерно на 20%. Salokan-gos и др. [1240] использовали экстракцию окрашенного комплекса метиловых эфиров эстрогенов, как это было предложено Ittrich для неметилированных эстрогенов. Применяв микрокюветы с толщиной слоя в 4 см, авторы увеличили чувствительность метода в 6 раз. Заслуживает внимания также модификация Bradshaw [327], который предложил сначала разводить окрашенный комплекс трихлоруксусной кислотой, а затем экстрагировать чистым хлороформом. Применение кюветы с объемом в 1 мл, что дало возможность уменьшить объем хлороформа, наряду с некоторым повышением интенсивности окрашивания, привело к повышению чувствительности метода в 4 раза по сравнению с методом B Gowp [357].

Флуориметрическое определение эстрогенов обладает значительно большей чувствительностью, чем колориметрическое. Эстрогены сильно флуоресцируют при нагревании с серной кислотой [264, 1142]. Эта реакция высоко чувствительная (0,006 мкг эстрогена), но недостаточно специфична, так как в экстрактах мочи присутствует много флуоресцирующих примесей, составляющих у небеременных 70—80% общей флуоресценции [1042]. Finkelstein [603] применил для флуоресценции нагревание эстрогенов с фосфорной кислотой. Хотя присутствие примесей в этой реакции сказывается меньше, но все же и при ее применении получают завышенные результаты, поэтому эта реакция не нашла широкого распространения. В последнее время для флуориметрии, как и для спектрофотометрии, наиболее часто используется нагревание с гидрохинонсернистым реагентом, а затем экстракция флуоресцирующего комплекса органическими растворителями [803, 804, 1216, 1363]. Лучшие результаты получаются при использовании для экстракции те-

трабромэтана. Применение этого метода приводит к значительной очистке экстракта от примесей, но все же полной очистки при этом не достигается. Как показывает работа Stöa и др. [1363], флуориметрия экстрагированного комплекса дает надежные результаты только при использовании спектрофлуориметра, с помощью которого можно проводить исследование при точной длине волны как возбуждающего, так и флуоресцирующего света. В настоящее время в связи с широким введением спектрофлуориметров в лабораторную практику флуориметрическое определение эстрогенов в моче стало применяться во многих методах [553, 590].

Метод Brown, Bulbrook и Greenwood [363] для фракционного определения эстрогенов

Метод был предложен Brown в 1955 г. [357]. В дальнейшем метод подвергся тщательной проверке в лабораториях разных стран и получил высокую оценку [510, 363, 1308, 643]. Brown и др. [363] предложили дальнейшее усовершенствование метода с использованием омыления, что сделало его более специфичным при низком содержании эстрогенов в моче. В другой работе [364] авторы дали подробный статистический анализ чувствительности, точности, воспроизводимости и специфичности метода. В основном метод дает возможность определять только эстрон, эстрадиол и эстриол. 16-эпиестриол может частично попадать во фракцию эстриола и эстрадиола [1086], но его содержание в моче очень невелико. 2-гидроксистерон и 2-метоксистерон, хотя при хроматографии и попадают во фракцию эстрадиола, но имеют иной максимум поглощения при цветной реакции, поэтому не мешают колориметрическому определению эстрадиола [608]. Кроме того, 2-метоксистерон вследствие плохой растворимости в щелочах теряется на более ранних этапах метода.

Ниже детально описывается метод Brown в той модификации, которая используется в нашей лаборатории.

Моча собирается без консерванта и хранится в холодильнике. Если суточный диурез меньше 1 л, то моча разводится до этого объема дистиллированной водой.

Для гидролиза берется 500 мл мочи, которая нагревается до кипения с обратным холодильником; затем добавляется 75 мл концентрированной соляной кислоты, и смесь кипит 60 мин.

Затем она быстро охлаждается под струей воды. Гидролизат мочи экстрагируется 1 раз 250 мл и 2 раза по 100 мл свежеперегнанного серного эфира. Объединенные эфирные экстракты промываются 80 мл концентрированного раствора карбоната натрия (приготовленные его смотри ниже), который отбрасывается. Эфирный экстракт сильно встряхивается с 20 мл 2 н. едкого натра. Щелочной экстракт в этой же делительной воронке нейтрализуется добавлением 80 мл 8% бикарбоната натрия и снова встряхивается с тем

же эфиром. Водный слой отбрасывается. Эфир промывается 20 мл 8% бикарбоната натрия, затем 20 мл воды, которая удаляется по возможности полно. Эфир сливается в колбу с нормальным шлифом и выпаривается досуха на водяной бане. Сразу же после извлечения колбы из водяной бани к пробе добавляется 1 мл этанола. Содержимое колбы переносится в делительную воронку, путем ополаскивания ее 25 мл бензола. Затем туда же добавляется 25 мл петролейного эфира, после чего дважды проводится экстракция 25 мл воды (водный экстракт сливается в одну бутылочку, в нем содержится эстриол) и дважды 25 мл 0,4 н. едкого натра (щелочной экстракт сливается в другую бутылочку, в нем содержится эстрон и эстрадиол).

К водному экстракту добавляется 2 г сухого едкого натра, к щелочному экстракту — 1,2 г едкого натра (чтобы концентрация его была 1 н.). Пробы нагреваются на кипящей водяной бане в течение 30 мин. Затем для нейтрализации добавляется 6 г сухого бикарбоната натрия. После охлаждения эстриоловая фракция экстрагируется 50 мл эфира. Водный слой отбрасывается, а эфир экстрагируется дважды 25 мл 0,4 н. едкого натра. После этого эфирный слой отбрасывается, а водный слой сохраняется. Фракция эстрона и эстрадиола экстрагируется 25 мл бензола. Бензольный экстракт промывается 5 мл воды, которая выливается. К бензолу добавляется 25 мл петролейного эфира, а затем дважды проводится экстракция (каждый раз 25 мл 0,4 н. едкого натра). К щелочным экстрактам как эстриола, так и эстрадиола с эстроном добавляется 0,9 г борной кислоты и 1 мл диметилсульфата (безопасной пиеткой!). Пробы помешаются в водяную баню с температурой 37° С, встряхиваются до полного растворения диметилсульфата, затем выдерживаются в бане еще 10 мин. После этого добавляется еще 1 мл диметилсульфата и 2 мл 5 н. едкого натра. Пробы встряхиваются и инкубируются при 37° С еще 30 минут. Затем добавляют 10 мл 5 н. едкого натра, 2,5 мл 28—30% перекиси водорода. Метилированная фракция эстриола экстрагируется 25 мл бензола, а метилированная фракция эстрона и эстрадиола — 25 мл гексана. Экстракты бензола и гексана промываются 5 мл воды. Вода удаляется по возможности полнее, чтобы при хроматографии она не попала в колонку.

Колонки для хроматографии представляют собой стеклянные трубки с внутренним диаметром 12—13 мм и длиной около 100 мм, переходящие сверху в небольшое расширение диаметром примерно 25 мм и длиной 50 мм. Внизу колонки имеют стеклянное впаянное дно с маленькими отверстиями. На дно кладется кусочек сухой ваты. В колонку наливается растворитель до расширения, а затем тонкой струей всыпается 2 г стандартизованной окиси алюминия. Осевшая на стенках окись алюминия после того, как пройдет растворитель, смывается небольшой порцией того же растворителя, а затем добавляется слой песка толщиной около 0,5 см. Скорость тока растворителей через колонку — 0,5—1 капля в секунду.

Колонка для эстриола готовится на бензоле. Когда бензол пройдет через колонку, в нее заливается бензольный экстракт метилового эфира эстриола, причем надо следить, чтобы в колонку не попала вода. После того как раствор метилового эфира пройдет через колонку, она элюируется 1) 12 мл смеси 1,4% этанола в бензоле, который не собирается; 2) 15 мл 3% этанола в бензоле.

В этом элюате содержится эстриол, и он собирается в пробирки диаметром 15—20 мм.

Колонка для метиловых эфиров эстрона и эстрадиола готовится на гексане. Затем в нее вносится гексановый раствор метиловых эфиров эстрона и эстрадиола, а после его прохождения через колонку проводится элюция: 1) 8 мл 40% бензола в гексане — не собирается; 2) 13 мл 60% бензола в гексане. Фракция содержит метиловый эфир эстрона и собирается в пробирки, такие же, как для эстриола; 3) 10 мл 60% бензола в гексане — не собирается; 4) 20 мл бензола собирается в пробирки, так как содержит метиловый эфир эстрадиола.

В каждую пробирку с фракциями эстрогенов добавляется 0,2 мл 2% гидрохинона в этаноле. Раствор выпаривается досуха на водяной бане. Высушенные таким образом пробы могут храниться в эксикаторе до проведения цветной реакции, которая проводится следующим образом.

В пробы с эстроном, эстрадиолом и эстриолом добавляется 3 мл соответствующих гидрохинон-сернистых реагентов. Затем пробы нагреваются на кипящей водяной бане в течение 20 мин, причем они встряхиваются через 1 и 5 мин после начала нагревания. По окончании нагревания пробы охлаждаются в ледяной воде. В пробирки с эстроном добавляется по 0,5 мл дистиллированной воды, с эстрадиолом — по 0,2 мл и с эстриолом — по 1,0 мл. Пробы тщательно перемешиваются, а затем вновь нагреваются на кипящей водяной бане в течение 10 мин и охлаждаются в ледяной воде. Фотометрирование проводится на спектрофотометре при следующих длинах волн: эстрон и эстриол — при 480, 516 и 552 мк, эстрадиол — при 480, 518 и 556 мк. В качестве контроля используется соответствующий гидрохинон-сернистый реагент. Для внесения поправки на неспецифические хромогены оптическая плотность корригируется формулой Аллена

$$2D_{516} - (D_{480} + D_{552}) - \text{для эстрона и эстриола,}$$

$$2D_{518} - (D_{480} + D_{558}) - \text{для эстрадиола,}$$

где D — оптическая плотность при данной длине волны.

Количество эстрогенов в пробе рассчитывается по калибровочной кривой. Если нет кристаллических метиловых эфиров эстрогенов, то эстрогены нужно сначала прометиловать. К 50 мл 0,4 н. едкого натра добавляется 200 мкг эстрогенов (отдельно эстрона, эстрадиола и эстриола). Затем проводится метилирование добавлением борной кислоты, диметилсульфата, как описано выше. Эстроин и эстрадиол экстрагируются 25 мл гексана и промываются 5 мл воды. Гексановый экстракт сливается в мерную колбу на 50 мл. Водный слой экстрагируется повторно 20 мл гексана, который также промывается 5 мл воды. Гексановые экстракты объединяются и доливаются до метки гексаном. Полученный раствор метиловых эфиров содержит 4 мкг/мл гексана. Для экстракции эстриола используется такая же процедура, только вместо гексана используют бензол. Для калибровочной кривой берут 0,5, 1 и 2,5 мл этих растворов (с содержанием 2,4 и 10 мкг), добавляют 0,2 мл 2% спиртового раствора гидрохинона, раствор выпаривают и ставят цветную реакцию.

Перед тем как начинать анализ эстрогенов в моче, необходимо тщательно стандартизировать окись алюминия по чистым кристаллическим эстрогенам. Так как в опыте на колонке разделяются метиловые эфиры эстрогенов, то при отсутствии метиловых эфиров чистые эстрогены необходимо прометилировать, как это описано в разделе о построении калибровочной кривой. В данном методе используется дезактивированная окись алюминия. Дезактивация проводится следующим образом. К продажной окиси алюминия для хроматографии мелкими каплями добавляется вода и тщательно размешивается для уничтожения комков. Затем окись алюминия встряхивается в течение 4—6 ч. Стандартизовать лучше сразу большую партию окиси алюминия (1 кг и более), так как стандартизованная окись алюминия не теряет своей активности в течение нескольких лет при хранении в плотно закрытых сосудах. Окись алюминия для эстриола должна содержать около 9—10% воды, окись для эстрона и эстрадиола — около 4,5% воды. После добавления воды и встряхивания активность окиси алюминия проверяется при помощи метилированных растворов эстрогенов.

Через колонку, приготовленную в гексане из окиси алюминия для эстрона и эстрадиола, пропускаются метиловые растворы этих эстрогенов в гексане. При стандартизации окиси необходимо выбрать все фракции (8 мл 40% бензола в гексане, 13 мл 60% бензола в гексане, еще 10 мл этого растворителя, 20 мл бензола и еще 5 мл бензола). Все фракции выпариваются, и проводится цветная реакция. Если активность окиси правильна, то эстрон будет во второй фракции, эстрадиол — в четвертой, а остальные фракции не должны содержать ничего. Если активность окиси недостаточна, т. е. окись содержит больше воды, чем нужно, то эстрогены начнут вымываться более ранними фракциями. Например, эстрон может обнаружиться во фракции 40% бензола в гексане, эстрадиол — во фракции 60% бензола в гексане. В таком случае дезактивированную окись можно просушить при температуре не выше 200° и заново прибавить уже меньшее количество воды. Но активность окиси алюминия можно повысить и добавленным к дезактивированной окиси некоторого количества исходной активной окиси, тщательно перемешать и повторить всю процедуру проверки сначала. Если, наоборот, полученная окись алюминия после добавления воды еще оставалась слишком активной, то эстрогены еще не обнаружатся в тех фракциях, в которых они уже должны быть. Например, эстрон появится во второй порции 60% бензола в гексане или даже во фракции бензола. В таком случае к окиси нужно добавить еще некоторое количество воды, тщательно перемешать и снова проверить ее активность. Такая процедура продолжается до тех пор, пока не получится окись с нужной активностью, при которой эстрогены будут обнаруживаться на своих местах. Окончательную подгонку при стандартизации можно проводить, несколько изменяя объем элюэнтов или несколько изменяя активность элюэнтов, т. е. меняя полярную силу растворителей. Если эстрон полностью не вымывается 60% бензолом в гексане, то 70% бензол в гексане может оказаться подходящим. Полярная сила растворителей увеличивается при увеличении в смеси количества бензола. Вначале при стандартизации окиси алюминия эстрон и эстрадиол пропускаются отдельно через разные колонки. Лишь когда активность окиси будет

уже подобрана, ее нужно проверить путем разделения смеси эстро-
на и эстрадиола.

Активность окиси алюминия для эстриола проверяется на ко-
лонке, приготовленной в бензоле, пропускаемом через ное ме-
тилового эфира эстриола в бензоле и сбора всех фракций, которые
затем выпариваются, и проводится цветная реакция. Подгонка ак-
тивности окиси проводится по тому же принципу, как и для эстро-
на с эстрадиолом. Полярную силу элюэентов можно усилить увеличе-
нием процента этанола в бензоле. Реактивы, используемые в методе:

1. Диметилсульфат химически чистый. Ядовит, отбирается без-
опасной шпателькой или при помощи груши, хранится в вытяжном
шкафу.

2. Эфир серный — перегоняется в день опыта или накануне.

3. Бензол и гексан — перегоняются.

4. Этанол — должен быть очищен от альдегидов, для чего 96%
этанол выдерживается в течение 1 месяца (или кипятится 24 часа
с обратным холодильником) с едким натром и цинковой пылью
(50 г того и другого на 1 л), затем отгоняется. Полученный этанол
является 98—99%.

5. Концентрированный раствор карбоната натрия: к 1 л 8%
бикарбоната натрия добавляется 100 мл 5 н. едкого натра (рН по-
лученного раствора должен быть около 10,5—11,5).

6. Гидрохинонсернистые реагенты для цветной реакции. Эст-
роповый реактив: в мерную колбу на 1 л наливается 340 мл ди-
стиллированной воды, 20 г гидрохинона, затем медленно, при ох-
лаждении добавляется 660 мл химически чистой концентрирован-
ной серной кислоты, выдерживающей пробу Савалля. Остывший
раствор доводится до метки дистиллированной водой и фильтруется
через стеклянный фильтр № 2. Эстрадиоловый реактив приго-
товляется таким же способом, только берется 15 г гидрохинона и
600 мл серной кислоты, эстриоловый реактив — 240 мл воды, 20 г
гидрохинона и 760 мл концентрированной серной кислоты. Раство-
ры хранятся в склянках из темного стекла. Использовать их мож-
но не раньше, чем через 3—5 дней после приготовления.

7. Песок для колонок. Обычный речной песок промывается сна-
чала водой, потом кипятится в течение 30 мин с разбавленной в
3 раза соляной кислотой, затем промывается водой, дистиллирован-
ной водой и высушивается. Можно использовать обработанное та-
ким же образом толченное стекло.

8. Элюэенты (этанол в бензоле, бензол в гексане) приготовля-
ются по объему, а не по весу (объемные проценты).

Метод определения эстриола в моче беременных по Brown и Coyle [374]

В нашей лаборатории используется несколько модифицирован-
ный вариант метода Brown и Coyle, наиболее близкого к методу
определения эстрогенов у небеременных.

Количество мочи, которое берется в анализ, зависит от срока
беременности: до 14 недель — 0,01 от суточного количества; при
14—20 неделях — $\frac{1}{400}$, далее — $\frac{1}{2000}$ или меньше. Конечный объем
мочи должен быть 10 мл. На поздних сроках беременности мы
обычно берем 1—0,5 мл мочи и разводим до 10 мл водой. Затем

добавляем 2 мл концентрированной соляной кислоты, перемешиваем и гидролизуем в течение 30 мин на кипящей водяной бане. После охлаждения эстриол экстрагируется 15 мл свежеперегнанного серного эфира. Эфирный экстракт промывается 4 мл концентрированного раствора карбоната натрия, который отбрасывается. После этого эфир в течение 1 минуты встряхивается с 1 мл 2 н. едкого натра, который затем прямо в делительной воронке нейтрализуется добавлением 4 мл 8% бикарбоната натрия. Смесь встряхивается с тем же эфиром в течение 1 мин, водный слой отбрасывается, а эфирный экстракт промывается еще 4 мл 8% бикарбоната натрия. Затем проводится экстракция эстриола из эфира 2 раза по 10 мл 0,4 н. едкого натра. Эфир отбрасывается, а в щелочном экстракте проводится метилирование. Для этого его помещают в баню температурой 37° С, добавляют 0,5 г борной кислоты и 0,5 мл диметилсульфата и встряхивают. Через 10 мин добавляют еще 0,5 мл диметилсульфата и 1 мл 5 н. едкого натра, встряхивают и выдерживают при 37° С еще 30 мин. Затем к пробам добавляют 1 мл пергидроля и 5 мл едкого натра и экстрагируют 15 мл бензола. Бензольный экстракт вносится на колонку, приготовленную на бензоле с 2 г окиси алюминия, стандартизованной для эстриола. Хроматография и цветная реакция проводятся как в основном методе Brown (стр. 232).

При указанной модификации метода расхождение параллельных проб было в среднем $\pm 3,7\%$. При добавлении эстриола к моче беременных, обработанной таким же образом, открывается в среднем $84 \pm 2,8\%$.

Определение эстрогенов в крови

Значительная часть эстрогенов крови, как было показано выше, находится в конъюгированном состоянии. Даже связанные с белками эстрогены являются конъюгатами. По данным Smith и др. [1312], в «свободной» форме, т. е. экстрагируемой эфиром до гидролиза, находится лишь 5,0% эстрона, 6,5% эстриола и 68,2% эстрадиола. Поэтому для полного извлечения эстрогенов из крови необходим гидролиз. Наиболее часто используется горячий кислотный гидролиз с 15% соляной кислотой в течение 1 ч.

В некоторых методах определение эстрогенов проводится в целой крови [1424, 804, 1214], но в большинстве методов используется определение эстрогенов в плазме крови [1141, 1142, 1095, 858, 1373, 1312, 908]. По данным Smith и др. [1312], из цельной крови экстракция происходит гораздо хуже, чем из плазмы. Наилучшие результаты авторы получили при использовании антикоагулянтов (оксалата) и взятии крови натошак.

После гидролиза проводится экстракция хороформом [1373], эфиром [804, 1214, 1312] или этилацетатом [908].

Дальнейшая очистка эстрогенов идентична той, которая используется в методах для эстрогенов из мочи. Наиболее часто для хроматографического разделения эстрогенов используется окись алюминия или целит.

Ввиду очень низкого содержания эстрогенов в плазме почти во всех методах используется флуориметрическое определение [1141, 1142, 1423, 858] и только в методе Roy и др. [1216] применяется микромодификация спектрофотометрического определения метиловых эфиров эстрогенов. Smith и др. [1312] показали, что флуориметрия дает несколько более высокие результаты, чем спектрофотометрические методы, ввиду своей меньшей специфичности. Но, к сожалению, спектрофотометрическое определение, даже в микромодификации, применимо лишь в последней трети беременности, т. е. при высоком содержании эстрогенов в крови. Возможно, что более перспективным для использования флуориметрии будет применение спектрофлуориметров с точной длиной волны возбуждающего света и измерение флуоресценции также в точной длине волны [1363]. Кроме флуориметрического и спектрофотометрического метода, для определения эстрогенов в крови применяется принцип образования двойных изотопных дериватов — образование пепсилатов эстрогенов, меченных серой-35 и йодом-131. Чувствительность этого метода — 0,002 мкг.

Газовая хроматография была также применена для определения эстрогенов в крови [908]. Для определения эстрогенов этим методом требовалось 90 мл крови (у беременных женщин и у мужчин), при этом величины содержания эстрогенов в крови были значительно выше, чем приводимые другими авторами при флуориметрическом определении. По-видимому, методы газовой хроматографии должны быть еще значительно усовершенствованы, прежде чем они найдут широкое применение для определения эстрогенов в крови.

ПРОГЕСТЕРОН И ПРЕГНАДИОЛ

БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОГЕСТЕРОНА

Существует большая группа методов, основанных на том, что прогестерон вызывает характерные изменения эндометрия после предварительного действия эстрогенов

(так называемая прогестативная пролиферация). Первым из них был тест Corner — Allen [456], в котором использовались половозрелые самки кроликов, кастрированные через 18 ч после копуляции. Тестируемое вещество вводилось ежедневно в течение 5 дней (подкожно). Одна кроличья единица равнялась 1—2 мг прогестерона. Clauberg [439] модифицировал этот тест и вместо половозрелых использовал неполовозрелых самок, которым предварительно в течение 8 дней вводились эстрогены. 1 единица равнялась 0,75 мг прогестерона. McGinty и др. [1030] значительно повысили чувствительность этого теста тем, что исследуемое вещество вводили не подкожно, а внутрь перевязанного сегмента рога матки, а затем изучали гистоструктуру этого сегмента. 1 единица соответствовала 0.125—0.5 мг прогестерона. Pincus и др. [1135] для объективной оценки результатов предложили планиметрическое измерение пролиферации эндометрия, вызванной прогестативными веществами. Эти же авторы предложили использовать для измерения прогестативной активности определение угольной ангидразы в матке, так как между активностью угольной ангидразы и количеством прогестерона в пределах от 0,5 до 4,0 мг существует линейная зависимость.

Одним из очень распространенных методов определения прогестативных веществ явился тест Hooker — Forbes [778, 779]. Кастрированным мышам вводился прогестерон в полость перевязанного рога матки без предварительной подготовки эстрогенами. Это приводило к гипертрофии клеток стромы эндометрия. В отличие от других биологических методов этот тест высоко чувствителен (0,0002 мкг прогестерона), что очень важно для определения прогестативных веществ в биологических жидкостях. Но, к сожалению, этот метод имеет ряд недостатков: отсутствие градуальной зависимости от дозы (а реакция стромы эндометрия проходит по типу «все или ничего»), трудоемкость, крайняя неспецифичность [1280].

Так, например, 17 α -гидроксипрогестерон, не обладающий прогестативной активностью у кроликов и человека, в этом тесте активнее прогестерона в 60 раз, 20 β -гидроксипрогестерон — в 2 раза. Поэтому этот тест дает сильное завышение прогестативной активности в исследуемых биологических жидкостях.

Существуют методы, основанные на способности прогестерона вызывать децидуальную реакцию в матке. Впервые такой метод был предложен Astwood [237]. Степень децидуальной реакции находится в зависимости от количества прогестерона в дозах 0,75—1,5 мг прогестерона.

Способность прогестерона поддерживать беременность у кастрированных крыс также была использована для создания методов определения прогестагенов [1246, 1368]. Однако не всегда существует параллелизм между степенью пролиферации эндометрия и способностью поддерживать беременность. Некоторые синтетические прогестагены (17 α -этинил-19-нортестостерон, 17 α -этинил-(5, 10)-эстрен-ол-он, 17 α -ацетоксипрогестерон) вызывают сильную пролиферацию, но не способны сохранить беременность.

В заключение нужно сказать, что в настоящее время нет биологического метода определения прогестерона, который был бы удовлетворительным по точности, чувствительности, воспроизводимости, специфичности. Большинство методов требует наличие очень больших количеств прогестерона (0,75—2 мг), а высокочувствительный метод Hooker — Forbes, к сожалению, слишком неспецифичен. Но биологические методы сохраняют свое значение для специальных исследований (определение прогестативной активности метаболитов прогестерона и синтетических прогестагенов).

ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОГЕСТЕРОНА

Первый химический метод определения прогестерона в крови и тканях был предложен Zander [1495]. Поскольку прогестерон в крови находится лишь в связи с белками, а связь эта непрочна и разрывается в процессе экстракции эфиром, метиленхлоридом и этилацетатом, то гидролиз не нужно при этом применять. Извлеченный прогестерон затем подвергается очистке при помощи хроматографии на бумаге [1495, 1278, 1287] или на колонках с окисью алюминия, или силикагеля [759, 1328, 1329, 1330].

Чувствительность методов ограничивается конечным этапом. В методах Zander [1495], Short [1280] использовалось измерение поглощения в ультрафиолетовых

лучах при длине волны 242 м.к. Но этот способ дает возможность определить лишь концентрацию не менее 1 мкг/мл, т. е. не является достаточно чувствительным. Sommerville и др. [1329] использовали реакцию образования производных прогестерона с изоникотиновой кислотой, имеющих максимум поглощения при 380 м.к. Но эта реакция еще менее чувствительна. Hinsberg и др. [759] предложили более чувствительную реакцию — реакцию образования бисдинитрофенилгидразона прогестерона. Но ее недостаток заключается в том, что после образования этого соединения перед колориметрией необходимо применение хроматографии на окиси алюминия. Очень чувствительной является реакция флуоресценции в щелочном растворе с использованием тербутоксидом калия [1287], что позволяет применить этот метод для определения прогестерона в крови у беременных женщины репродуктивного возраста. Sommerville и др. [1330] использовали образование бисдиосемикарбазона прогестерона с последующей спектрофотометрией в микрокуветках при 292, 302 и 312 м.к. и вычисленном результатов по формуле Аллена. При этом чувствительность метода повысилась до 0,1 мкг прогестерона в пробе, что также дало возможность использовать ее для определения прогестерона в крови небеременных женщин. Еще более чувствительная реакция описана в работе Нер [739] — флуоресценция прогестерона в этанолсернической кислоте реагенте (8—250 нг прогестерона). Большая чувствительность была достигнута также в методах определения прогестерона путем двойного изотопного разведения [1486, 1487, 579, 1181].

В последнее время широкое распространение получают методы тонкослойной хроматографии в комбинации с газовой хроматографией, что делает их быстрыми, высокочувствительными и пригодными для определения прогестерона в крови небеременных женщин и мужчин [982, 1416] и для определения прогестерона в крови и тканях экспериментальных животных [1072].

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРЕГНАДИОЛА В МОЧЕ

Так как в организме человека между уровнем экскреции прегнандиола и продукцией прогестерона имеется достоверная корреляция, то определение прегнандиола

уже давно используется как показатель секреции прогестерона.

Предложенные сначала методы определения прегнандиола основывались на весовом определении глюкуронидов [1433, 1434]. Однако, поскольку в процессе сбора мочи и ее хранения происходит частичный гидролиз конъюгатов, в дальнейшем были использованы методы определения свободного прегнандиола после гидролиза. Наиболее часто применяется горячий кислотный гидролиз (10 мин с добавлением соляной кислоты до 10%). При этом происходит полный гидролиз конъюгатов без разрушения прегнандиола. Но прегнантриол при этом разрушается и продукты его разрушения могут мешать определению прегнандиола. Примененное Клоппером окисление продуктов разложения прегнантриола перманганатом калия устраняло это затруднение, но лишь при низком содержании прегнантриола в моче. Duboff и др. [544] показали, что при кислотном гидролизе мочи с достаточно высоким содержанием прегнантриола продукты его разложения завышают величины прегнандиола при определении методом Клоппера и др. [881]. Поэтому в таких случаях более специфичным является использование энзиматического гидролиза, который применялся в ряде работ [1016, 1345, 958]. Поскольку раньше считали, что прегнандиол в моче присутствует лишь в виде конъюгатов с глюкуроновой кислотой, указанные авторы ограничивались лишь бета-глюкуронидазным гидролизом. В работе Shen и др. [1277] было показано, что часть мочевого прегнандиола находится в виде сульфатов. По мнению этих авторов, наличие более высоких величин прегнандиола после кислотного гидролиза объясняется не только присутствием продуктов разложения прегнантриола, но и частичным разложением при этом сульфатов прегнандиола. Чтобы избежать разложения прегнандиола, авторы сначала пользовались бета-глюкуронидазным гидролизом, а затем остаток мочи подкисляли до pH 0,7 и подвергали дальнейшему разложению сульфатов методом сольволиза с непрерывной экстракцией эфиром в течение 48 ч.

В первых методах выделенный свободный прегнандиол после гидролиза определялся весовым методом [240]. Однако весовые методы были слишком грубыми и не давали точного представления об уровне прегнандиола

в моче при его содержании менее 5 мг/24 ч. Для конечного этапа определения прегнандиола вместо весового метода Gutterman и др. [706] предложили использовать цветную реакцию Talbot и др. [1383] — образование окрашенного комплекса с концентрированной серной кислотой, причем авторы не изменили схему очистки прегнандиола, применявшуюся в весовых методах. В Советском Союзе метод Gutterman и др. [706] был широко распространен в модификации Г. В. Ордынец [115, 116, 117]. Однако при такой неспецифической реакции, как реакция с концентрированной серной кислотой, очистка, применявшаяся в весовых методах, оказалась недостаточной. По мнению Huber [784], Klorrer [880], этот метод стал менее специфичен, чем весовой. Для колориметрических методов требовались иные, более совершенные методы очистки прегнандиола.

Первым шагом в создании таких методов был метод Huber [784], в котором впервые было предложено использование хроматографии на окиси алюминия. В дальнейшем этот прием был применен и в других методах [303, 822, 881]. До появления метода Klorrer и др. [881] практически не существовало удовлетворительного метода определения прегнандиола в моче. Метод Klorrer сразу нашел широкое применение в клинике и в экспериментальных исследованиях. При определении прегнандиола этим методом при содержании его в моче выше 5 мг/24 ч в большинстве случаев получается настолько чистый продукт, что при инфракрасной спектрофотометрии он почти не отличается от кристаллического прегнандиол-диацетата [791, 820]. Ряд авторов [791, 820], сравнивая различные методы определения прегнандиола, пришли к выводу, что метод Klorrer и др. [881] является лучшим. В. Г. Орлова и Л. Г. Тумилович [119] также сообщили об успешном применении этого метода. Принципиальным отличием метода Клоппера от других является использование окисления продуктов разложения прегнандиола и других примесей перманганатом калия, а также ацилирование прегнандиола после хроматографии на окиси алюминия с последующей второй хроматографией прегнандиол-диацетата. Это дало возможность получать более надежные результаты при использовании цветной реакции с серной кислотой. Klorrer [881, 878] показал, что при использовании даже самых

чистых реактивов в них всегда имеются примеси, поэтому все методические опыты, построение стандартной кривой и опыты по определению прегнандиола в моче следует проводить в одинаковых условиях. Фотометрирование стандартов при построении калибровочной кривой проводится после выпаривания того же количества растворителя, что и в опыте, — 15 мл бензола. Показано, что даже в химически чистой серной кислоте содержатся какие-то окислители, снижающие интенсивность окраски. Чтобы устранить их влияние, Кюррег и др. [878, 881] рекомендовали добавлять в каждую пробу перед внесением серной кислоты восстановитель (около 10 мг сульфита натрия). В последующих работах некоторые авторы [1016, 1345] стали использовать сульфитсернистый реагент, который готовится заранее и хранится при комнатной температуре.

Для определения прегнандиола предложены также методы бумажной хроматографии [546, 1016, 1345]. Для особо точных определений небольших количеств прегнандиола в моче Lipp [958] предложил комбинацию метода Клоппера с последующей хроматографией на бумаге.

В последние годы для определения прегнандиола используются методы тонкослойной хроматографии, имеющие то преимущество, что для их выполнения нужно не много времени [1446, 1343, 1370].

Еще более перспективными являются методы газовой хроматографии прегнандиола, обладающие высокой специфичностью и быстротой выполнения [894, 813].

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанов Н. С. *Акуш. и гин.*, 1953, 1, 35.
2. Агаджанов Н. С. *Пробл. эндокр.*, 1955, 2, 27.
3. Алексеева Л. В. *Пробл. эндокр.*, 1959, 1, 55.
4. Алексеева Л. В. *Пробл. эндокр.*, 1959, 3, 11.
5. Алешин Б. В. *Успехи совр. биол.*, 1960, 50, 2, 211.
6. Алешин Б. В., Николайчук С. П. Тез. Всесоюзн. съезда физиол. биохим., фармакол., 1947, 571.
7. Алешин Б. В. и Ус Л. А. *Пробл. эндокр.*, 1960, 3, 32.
8. Алешин Б. В., Лисогор О. П., Озерная О. И. Тез. докл. конф. «Вопросы физиол. и патол. эндокринн. желез». Харьков, 1962, 17.
9. Алпатов В. В. *ДАН СССР*. 1950, 70, 6, 1097.
10. Анчикова З. Я., Лещинюк Г. М. Перинатальная охрана плода и вопросы гинекологии детского возраста. Л., 1965, 77.
11. Арсеньева М. Г. Тезисы докл. конф. «Вопросы физиологии и патологии эндокринной системы женщины». Душанбе, 1964, 10.
12. Арсеньева М. Г., Савченко О. Н., Степанов Г. С. *Акуш. гин.*, 1960, 2, 86.
13. Арсеньева М. Г., Соколов Е. Г., Либерман Л. Л., Савченко О. Н., Степанов Г. С. *Акуш. и гин.*, 1966, 6, 39.
14. Астахов С. Н. Дienceфало-гипофизарная система и функция яичников. Л., 1941.
15. Аширова З. П. Тез. докл. XI науч. конф. НИИ акуш. гин. М., 1952.
16. Бакшеев Н. С. Тез. докл. конф. «Вопросы физиол. патол. эндокринной системы женщины». Душанбе, 1964, 14.
17. Бакшеев Н. С., Ганич М. М. *Пробл. эндокр.*, 1964, 6, 86.
18. Баранов В. Г. *Клин. мед.*, 1957, 9, 54.
19. Баранов В. Г. *Клин. мед.*, 1960, 12, 18.
20. Баранов В. Г. (V. G. Baranov). I Int. Congress Endocrinol. Advance abstracts of short communications. ed. F. Fuchs. Cbh., 1960, 583.
21. Баранов В. Г., Дильман В. М. *Клин. мед.*, 1949, 7, 38.
22. Баранов В. Г., Савченко О. Н., Степанов Г. С. III Weltkongress. Int. Federation Geburtsh. Gynäkol., I. Wien, 1961, 210.
23. Баранов В. Г., Савченко О. Н., Степанов Г. С. Механизмы старения. Киев, 1963, 447.

24. Баранов В. Г. и сопр. Тер. арх., 1964, 3, 3.
25. Барнагян-Гадзиева А. М. Труды НИИ акуш. педиатрич. вып. 1. Ростов-на-Дону, 1961, 17.
26. Беленов Ю. Н. и Кабак Я. М. Пробл. эндокр., 1961, 1, 3.
27. Белов Н. А. Введение в учение внутренней секреции женских половых желез Харьков, 1910.
28. Благосклонная Я. В. Пробл. эндокр., 1959, 5, 6, 49.
29. Бобков А. Г. Бюлл. eksper. биол., 1960, 5, 123.
30. Бонашевская Т. Н. Пробл. эндокр., 1962, 2, 64.
31. Бордюшков Ю. Н. Бюлл. eksper. биол., 1963, 9, 102.
32. Буйко А. Н. Материалы Всесоюз. совещ. по теоретич. основам повышения продуктивности с/хоз. животных. Боровск, 1963, 22.
33. Вахнован П. С. Влияние надпочечников на чувствительность яичников к гонадотропным гормонам. Автореф. дисс. Донецк, 1963.
34. Вержиковская Н. В. Механизмы старения. Киев, 1963, 226.
35. Верлинская Д. К. и др. Тез. докл. XVI науч. конф. ИАГ АМН СССР. Л., 1964, 42.
36. Вихляева Е. М. В кн.: Физиология и патология менструальной функции. М., 1960, 139.
37. Войткевич А. А. Тез. докл. VII Всесоюз. съезда физиол. биохим. фармакол., 1947, 580.
38. Войткевич А. А. Изв. АН Казах. ССР (серия физиол.), 1954, 4, 112.
39. Войткевич А. А. Науч. докл. высшей школы. Биол. науки, 1964, 1, 73.
40. Войткевич А. А., Попова Н. К. Вестн. АН Казах. ССР, 1950, 12, 35.
41. Войткевич А. А., Науменко Е. В. ДАН СССР, 1953, 93, 1139.
42. Вольфсон Н. И. Акуш. гин., 1961, 4, 87.
43. Вундер П. А. Успехи совр. биол., 1936, 5, 1, 92.
44. Вундер П. А., Виббе К. Г. Бюлл. eksper. биол., 1939, 7, 6, 548.
45. Вязовская Р. Д. Труды Укр. Ин-та eksper. эндокринологии, т. 19. Харьков, 1964, 332.
46. Вязовская Р. Д. и сопр. Труды Укр. Ин-та eksper. эндокринологии, т. 19. Харьков, 1964, 341.
47. Гамбарян Л. С., Маркарян Л. П. (Gambaryan L. S., Markaryan L. P.) *Physiol. bohemosl.*, 1963, 12, 1, 76.
48. Гармашева Н. Л. В сб.: Механизмы патологических реакций, в. 2. Ред. В. С. Галкин. Л., 1940, 30.
49. Гармашева Н. Л. Акуш. и гин., 1947, 15, 12.
50. Гармашева Н. Л. Экспериментальный инфекционный эндометрит. Л., 1947.
51. Герасимова Н. Л. В сб. науч. трудов I терапев. конф. Леп. Ин-та усовершен. врачей. Л., 1958, 63.
52. Гершкарон С. И. Мед. журн. Узбекистана, 1959, 9, 65.
53. Гиллерсон А. Б., Вотякова Н. А. Акуш. и гин., 1958, 4, 87.
54. Гиллерсон А. Б., Вотякова Н. А. Акуш. и гин., 1960, 5, 16.
55. Глазунов М. Ф. Опухоли яичников. Л., 1961.

56. Дайнеко Л. Н. Бюлл. экспер. биол., 1936, 2, 455.
57. Дайнеко Л. Н. Синтез и обмен гормонов в животном организме, в. 5. Пермь, 1938.
58. Демченко С. В. Пробл. эндокр., 1965, 2, 36.
59. Дзидзигури Т. Д., Кобахидзе М. К. Пробл. эндокр., 1963, 5, 46.
60. Дроздовская Н. А. В сб.: Вопросы эндокринологии, в. I. Минск, 1960, 101.
61. Егоров А. Н. Журн. акуш. и женск. бол., 1934, 6, 34.
62. Завадовский М. М. Труды по динамике развития. М., 1939, 11, 313.
63. Завадовский М. М. Бюлл. экспер. биол., 1939, 7, 6, 541.
64. Завадовский М. М., ДАН СССР, 1942, 37, 9, 317.
65. Завадовский Б. М. Успехи совр. биол., 1946, 22, 3, 301.
66. Завадовский Б. М. Акуш. и гин., 1951, 4, 30.
67. Заводова А. С. и сотр. Тез. докл. I съезда акуш. гин. РСФСР. Л., 1960, 115.
68. Закс М. Г., Михельсон Н. Физиол. журн. СССР, 1941, 30, 3, 378.
69. Зеленый П. Г. Физиол. журн. СССР, 1949, 35, 5, 516.
70. Ирд Е. А., Макарьян Д. С. Пробл. эндокр., 1963, 5, 55.
71. Кабак Я. М., Соколова Е. В. Бюлл. экспер. биол., 1962, 7, 90.
72. Кабак Я. М., Соколова Е. В. ДАН СССР, 1962, 147, 6, 1516.
73. Какушкина Е. А. Акуш. и гин., 1958, 2, 55.
74. Какушкина Е. А. Акуш. и гин., 1959, 4, 6.
75. Какушкина Е. А., и Орлова В. Г. Биохимия, 1956, 21, 1, 27.
76. Какушкина Е. А., Орлова В. Г. Лаб. дело, 1958, 2, 11.
77. Каримова О. А. В сб. науч. трудов ИАГ Минздрава РСФСР, 1961, 157.
78. Карцева Т. А. Труды конф. «Вопросы физиол. и патол. эндокринных желез». Харьков, 1962, 89.
79. Кизельштейн М. Арх. биол. наук, 1935, 40, 1, 43.
80. Кимбаровская Е. М. Труды конф. «Вопросы физиол. патол. эндокринных желез». Харьков, 1962, 89.
81. Киршенблат Я. Д. Пробл. эндокр., 1956, 6, 108.
82. Киршенблат Я. Д. Тез. докл. юбилейной сессии ЦИАГ. Л., 1947, 67.
83. Киршенблат Я. Д. и сотр. Физиол. журн., 1961, 7, 1, 54.
84. Коган А. А. и сотр. Труды Моск. Ун-та, 1928, 1, 2, 481.
85. Крупко-Большова Ю. А. Педиатр., акуш. и гин. 1964, 2, 46.
86. Левина С. Е. Успехи совр. биол., 1963, 55, 3, 440.
87. Лейбсон Л. Г. Пробл. эндокр., 1958, 3, 60.
88. Лесакова А. С., Попова А. А. В кн.: Очерки гинекологической эндокринологии. Ред. А. А. Лебедев. М., 1962, 50.
89. Либерман Л. Л. и сотр. Пробл. эндокр., 1964, 4, 13.
90. Лисогор О. П. и сотр. В сб.: Эндокринопатии и лечение их гормонами. Киев, 1964, 311.
91. Литвинова Т. П. и сотр. В сб.: Гормональные исследования в гинекологии. М., 1960, 109.

92. Мазюта И. П. В сб.: Актуальные вопросы акуш. и гин. Ужгород, 1963, 208.
93. Майсурадзе Н. З. Тез. докл. конф.: «Вопросы физиол. патол. эндокрин. системы женщины». Душанбе, 1964, 46.
94. Максимов А. А. (Maximow A. A.). Arch. mikr. Anat., 1898, 51, 68.
95. Мануйлова Н. А. В сб. науч. трудов ИАГ Минздрава РСФСР. М., 1961, 163.
96. Маслова А. С и сотр. Акуш. и гин., 1957, 4, 24.
97. Месхи Т. А. В сб. трудов НИИ акуш. и гин. Груз ССР, X—XI. Тбилиси 1963, 247.
98. Микляев Ю. И. Врач. дело, 1963, 10, 8.
99. Микша А. С. Пробл. эндокр., 1963, 6, 15.
100. Минкина А. И. Тез. докл. съезда акуш. гин. РСФСР. Л., 1960, 116.
101. Минкина А. И. Рефер. сообщ. V Междунар. Биохим. Конгресса. М., 1961., 551.
102. Минкина А. И. Биохимия, 1962, 27, 5, 805.
103. Минкина А. И. Биохимия, 1964, 29, 2, 201.
104. Минкина А. И. Тез. докл. I Весесоюзн. биохим. съезда, т. 2. Л., 1964, 302.
105. Минкина А. И. Возрастные особенности биологических и химических свойств гонадотропных гормонов. Автореф. дисс. Л., 1966.
106. Минкина А. И. и сотр. Биохимия, 1960, 25, 2, 264.
107. Могилев М. В. Эстрогенный инкрет яичника и гонадотропные гормоны беременных. Л., 1939.
108. Наместникова В. И. В сб.: Гормональные исследования в гинекологии. М., 1960, 96.
109. Наследова И. Д. и сотр. Бюлл. exper. биол., 1962, 5, 32.
110. Наследова И. Д. и сотр. В сб.: Механизмы старения. Киев, 1963, 431.
111. Нестерова В. Н. В сб. науч. трудов НИИ акуш. и педиатрии, в. II. Ростов-на-Дону, 1961, 5.
112. Николайчук С. П. Врач. дело, 1951, 7, 633.
113. Николайчук С. П. Врач. дело, 1952, 1, 325.
114. Окшич Л. (Oksinschitz L.). Arch. Gynäk., 1914, 102, 333.
115. Ордынец Г. В. Акуш. и гин., 1950, 2, 24.
116. Ордынец Г. В. Акуш. и гин., 1950, 5, 27.
117. Ордынец Г. В. Акуш. и гин., 1952, 4, 62.
118. Орлова В. Г. Тез. докл. конф. «Вопросы физиол. патол. эндокринной системы женщины. Душанбе, 1964, 49.
119. Орлова В. Г. и сотр. В сб. науч. трудов ИАГ Минздрава РСФСР. М., 1961, 183.
120. Петранюк Е. И. Тез. докл. конф. «Вопросы физиол. патол. эндокринной системы женщины». Душанбе, 1964, 49.
121. Петранюк Е. И. Тез. докл. конф. «Вопросы физиол. патол. эндокринной системы женщины». Душанбе, 1964, 50.
122. Петров Е. Н. и сотр. Акуш. и гин., 1949, 2, 9.
123. Пинес Л. Я. Нервная система и внутренняя секреция. Л., 1932.
124. Прокофьев М. И. и Сильверстов Ю. В сб.: Методы племенной работы в животноводстве, в. II. Л., 1965, 209.
125. Пропп М. В. Пробл. эндокр., 1961, 6, 3.

126. Рафальский Я. Д. Пробл. эндокр., 1962, 8, 3, 52.
127. Ромодановская Н. В. В сб. трудов Лен. педиатр. мед. ин-та. Ред. Шутова Н. Т. Л., 1958, 115.
128. Рыженков В. Е. и Павлыш Е. Е. Пробл. эндокр., 1964, 3, 102.
129. Рябова Е. П. В кн.: Актуальные вопросы гастроэнтерологии. Ред. С. М. Рысс и З. Г. Безкоровайная. Л., 1964, 153.
130. Савельева З. Д., Орлова В. Г. Акуш. и гин., 1959, 4, 13.
131. Савченко О. Н. Пробл. эндокр., 1960, 6, 2, 76.
132. Савченко О. Н. Физиол. журн. СССР, 1961, 47, 11, 1423.
133. Савченко О. Н. Первая Всесоюз. конф. по вопросам физиол. патол. эндокринной системы женщины. Душанбе, 1965, 79.
134. Савченко О. Н. Акуш. и гин., 1965, 2, 86.
135. Савченко О. Н., Степанов Г. С. Пробл. эндокр., 1961, 7, 3, 42.
136. Савченко О. Н., Степанов Г. С. Пробл. эндокр., 1961, 7, 3, 38.
137. Савченко О. Н., Степанов Г. С. Пробл. эндокр., 1962, 5, 3.
138. Савченко О. Н., Степанов Г. С. Пробл. эндокр., 1963, 3, 54.
139. Савченко О. Н., Степанов Г. С. Пробл. эндокр., 1964, 4, 7.
140. Савченко О. Н., Степанов Г. С. Тезисы докл. X Всесоюз. съезда физиол. об-ва. Ереван, 1964, 2, 240.
141. Савченко О. Н. и др. Тез. докл. конф. «Вопросы физиол. и патол. эндокринной системы женщины». Душанбе, 1964, 55.
142. Свечникова Н. В. В сб.: Механизмы старения. Киев, 1963, 475.
143. Семаков В. Г. и Соколовская И. И. Пробл. эндокр., 1965, 5, 108.
144. Сидоров Н. Е. Казанск. мед. журн., 1933, 10, 813.
145. Скебельская Ю. Б. Бюлл. экспер. биол., 1947, 23, 5, 373.
146. Степанов Г. С. Пробл. эндокр., 1961, 7, 3, 49.
147. Степанов Г. С. Физиол. журн. СССР, 1961, 47, 12, 1466.
148. Степанов Г. С. Гонадотропная функция гипофиза при климаксе и климактерическом неврозе. Автореф. дисс. Л., 1962.
149. Степанов Г. С., Савченко О. Н. Рефераты сообщ. V—МБК, т. I. М., 1961, 561.
150. Степанковская Г. К., Фердман Т. Д. Педиатр., акуш. и гин., 1963, 1, 48.
151. Смирнова И. О. Бюлл. экспер. биол., 1964, 7, 5, 94.
152. Тимошенко Л. В. Педиатр. акуш. и гин., 1958, 5, 34.
153. Тимошенко Л. В. и сотр. Педиатр. акуш. и гин., 1959, 6, 49.
154. Топчнева О. И. Акуш. и гин., 1963, 6, 79.
155. Тумилович Л. Г. Вопр. охр. мат. и детст., 1963, 2, 74.
156. Уваровская О. М. Клин. мед., 1951, 3, 57.
157. Уколова М. А. Тез. докл. X съезда Всесоюз. об-ва физиологов, т. I. Ереван, 1964, 80.
158. Устиашвили А. Акуш. и гин., 1938, 1.
159. Уточникова Н. С., Сыч Л. Д. Акуш. и гин., 1959, 2, 16.
160. Фаермарк С. Е. Акуш. и гин., 1945, 1, 36.
161. Фаермарк С. Е. Акуш. и гин., 1946, 6.

162. Фаермарк С. Е. Бюлл. exper. биол., 1942, 3, 31.
163. Фердман Т. Д. Вопр. мед. химии, 1961, 7, 5, 546.
164. Фой А. М. Тез. докл. X Всесоюзн. съезда акуш. и гин. М., 1957, 143.
165. Хакимова С. Х. Некоторые особенности нейро-гуморальной регуляции сократительной деятельности матки в норме и патологии. Автореф. дисс. М., 1957.
166. Хакимова С. Х. Тез. докл. конф. «Вопросы физиол. патол. эндокриной системы женщины». Душанбе, 1964, 65.
167. Хузима Н., Хузима М. Акуш. и гин., 1958, 1, 58.
168. Чарквиани Л. И. Акуш. и гин., 1962, 3, 41.
169. Чернов В. М., Высоцкая Н. Б. Бюлл. exper. биол., 1950, 30, 412.
170. Чудновский Л. А. Физиол. журн. СССР, 1961, 47, 5, 638.
171. Чудновский Л. А. Физиол. журн. СССР, 1964, 50, 1, 112.
172. Шамов В. П. Вестн. хир., 1961, 87, 10, 30.
173. Шейкерман М. Д. и сотр. Акуш. и гин., 1949, 6, 31.
174. Шифман Л. М. Акуш. и гин., 1958, 6, 52.
175. Шифман Л. М. и сотр. В сб.: Вопросы акуш. и гин., т. 26. Харьков, 1959, 191.
176. Штамлер С. М. Бюлл. exper. биол., 1937, 3, 1, 37.
177. Шушанья П. Г. (Schuschania P. G.). Zöl. Gynäk., 1930, 54, 1924.
178. Шушанья П. Акуш. и гин., 1930, 42, 3, 394.
179. Шушанья П. Г. Акуш. и гин., 1950, 5, 13.
180. Шушанья П. Г. и сотр. Акуш. и гин., 1950, 2, 18.
181. Эскин И. А. Бюлл. exper. биол., 1936, 1, 2, 172.
182. Эскин И. А. Бюлл. exper. биол., 1939, 11, 180.
183. Эскин И. А. Труды по динамике развития, в. II. М., 1939, 180.
184. Эскин И. А. Бюлл. Моск. об-ва испытателей природы. М., 1940, 49.
185. Эскин И. А. Успехи совр. биол., 1941, 14, 1, 89.
186. Эскин И. А. Успехи совр. биол., 1944, 18, 2, 235.
187. Эскин И. А. Бюлл. exper. биол., 1944, 17, 6, 52.
188. Эскин И. А. Успехи совр. биол., 1946, 22, 3, 319.
189. Эскин И. А. Гормоны овариального цикла и первая система. М., 1951.
190. Эскин И. А., Чабан М. Э. Бюлл. exper. биол., 1954, 6, 41.
191. Юдаев Н. А. и сотр. Пробл. эндокр., 1964, 2, 73.
192. Юсфиня Э. З. Труды Укр. НИИ охраны материнства и детства, в. 26. Киев, 1959, 197.
193. Aaronson S. A. et al. Proc. soc. exp. biol. med., 1965, 120, 9.
194. Abramowitz A. A., Hisaw F. L. Endocrinology, 1939, 25, 633.
195. Adams-Mayne M., Ward D. M. Endocrinology, 1964, 75, 333.
196. Acevedo H. F. et al. Bioch. Biophys. acta, 1965, 111, 294.
197. Adlercreutz H. Acta Endocr., 1962, suppl., 67, 89.
198. Adlercreutz et al. Endocrinology, 1960, 66, 80.
199. Adler J. H. Acta Endocr., 1965, 49, 90.
200. Aho A. J., Herrala A. J. Acta Endocr., 1959, 31, 55.
201. Ahren K., Kostyo J. L. Endocrinology, 1963, 73, 81.
202. Aitken E. H., Preedy R. K. Ciba found. coll. Endocr., 1957, 1, 331.

203. Aitken E. H. a oth. *Lancet*, 1958, 2, 1096.
204. Aizawa Y., Mueller G. C. *J. biol. Chem.*, 1961, 236, 381.
205. Albert A. *Rec. progr. Hormone Res.*, 1956, 12, 227.
206. Albert A. *Fertil. Steril.*, 1959, 10, 60.
207. Albert A. a oth. *J. clin. Endocr.*, 1960, 20, 1411.
208. Albert A. a oth. *J. clin. Endocr.*, 1958, 18, 1117.
209. Albert A. a oth. *J. clin. Endocr.*, 1961, 21, 1260.
210. Albert A. a oth. *J. clin. Endocr.*, 1961, 21, 856.
211. Albert A. *J. clin. Endocr.*, 1965, 258, 119.
212. Albright F. *Endocrinology*, 1936, 20, 24.
213. Albright F. a oth. *Selected studies*, Baltimore, 1948.
214. Allen W. M. *J. clin. Endocr.*, 1950, 10, 71.
215. Allen W. M. *South med. J.*, 1951, 44, 817.
216. Allen W. M. a oth. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1930, 27, 403.
217. Allen B. J. a oth. *J. Endocr.*, 1955, 12, 159.
218. Aliterescu M. et al. *Studii și ceer. de enocr.*, 1954, 5, 276.
219. Amesburg O. F. et al. *Acta Endocr.*, 1965, 48, 355.
220. Andersen R. N., Albert A. *Endocrinology*, 1965, 77, 1085.
221. Andersen R. N., Albert A. *Endocrinology*, 1965, 77, 1149.
222. Andersen R. N. a Albert A. *Endocrinology*, 1965, 77, 1149.
223. Apostolakis M. *J. Endocr.*, 1959, 19, 377.
224. Apostolakis M., Lorraine J. A. *J. clin. Endocr.*, 1960, 20, 1437.
225. Apostolakis M., Lorraine J. A. *Hormones in blood*, 1961, 251.
226. Apostolakis M. et al. *Acta Endocr.*, 1962, 41, 14.
227. Arcos M. a oth. *J. clin. Endocr.*, 1964, 24, 237.
228. Armstrong D. T. *Endocrinology*, 1963, 72, 908.
229. Armstrong D. T., Greep R. O. *Endocrinology*, 1962, 70, 701.
230. Armstrong D. T. a oth. *Endocrinology*, 1963, 73, 165.
231. Artner I. u. a. III Weltkongress. *Int. Feder. Geburtsh. Gynäk.*, 2. Wien, 1961, 296.
232. Aschheim S., Zondek B. *Klin. Wschr.*, 1927, 6, 1322.
233. Aschheim P. *Gerontologia*, 1964—1965, 10, 65.
234. Aschner B. *Arch. Gynäk.*, 1912, 97, 200.
235. Asdell S. A. *Physiol. rev.*, 1928, 8, 313.
236. Astwood E. B. *Endocrinology*, 1938, 23, 25.
237. Astwood E. B. *J. Endocr.*, 1939, 1, 49.
238. Astwood E. B. *Endocrinology*, 1941, 28, 309.
239. Astwood E. B. *Ciba found. coll. Endocr.*, 1953, 5, 74.
240. Astwood E. B., Jones G. E. S. *J. biol. Chem.*, 1941, 137, 397.
241. Atherden L. M. *Biochem. J.*, 1959, 71, 411.
242. Atkinson W. B. et al. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1946, 62, 148.
243. Atkinson W. B. et al. *Anat. rec.*, 1952, 113, 101.
244. Axelrod L. R. et al. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1960, 87, 152.
245. Axelrod L. R. et al. *J. clin. Endocr.*, 1961, 21, 211.
246. Axelrod L. R. a oth. *J. clin. Endocr.*, 1962, 22, 431.
247. Axelrod L. R. a oth. *J. clin. Endocr.*, 1962, 22, 537.
248. Bachman C. *J. biol. Chem.*, 1939, 131, 463.
249. Bachman C. et al. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1934, 32, 344.

250. Baggett B. a oth. J. Biol. Chem., 1956, 221, 931.
 251. Baggett B. a oth. Endocrinology, 1959, 64, 601.
 252. Bahn R. C. a oth. Endocrinology, 1953, 52, 605.
 253. Bahn R. C. a oth. Endocrinology, 1953, 52, 135.
 254. Bahn R. C. a oth. Endocrinology, 1953, 53, 455.
 255. Bahn R. C. a oth. Human pituitary gonadotropins. Ed. Albert A. 1961, 3-43.
 256. Baillie A. H. a oth. J. Endocr., 1964, 29, 9.
 257. Banik U. K., Barua A. Ann. biochem. exp. med., 1960, 20, 217.
 258. Barlow J. J. J. clin. Endocr., 1964, 24, 586.
 259. Barr D. P. Circulation, 1953, 8, 641.
 260. Barraclough Ch. A. Fed. proc., 1955, 14, 9.
 261. Barraclough Ch. A., Sawyer C. H. Endocrinology, 1959, 65, 563.
 262. Barraclough Ch. A., Gorski R. A. Endocrinology, 1961, 68, 68.
 263. Barrnett R. I. a oth. Endocrinology, 1961, 69, 1047.
 264. Bates R., Cohen H. Endocrinology, 1950, 47, 182.
 265. Bauld W. S. Biochem. J., 1954, 56, 426.
 266. Bauld W. S. Biochem. J., 1956, 63, 488.
 267. Baulieu E. E., Dray F. J. clin. Endocr., 1963, 23, 1298.
 268. Bayer J. M. u. a. Klin. Wschr., 1960, 38, 1143.
 269. Beal D. Biochem. J., 1940, 34, 1293.
 270. Beard H. H. Enzymologia, 1957, 18, 309.
 271. Becker K. L. a. Albert A. J. clin. Endocr., 1965, 25, 962.
 272. Beer C. T., Gallagher T. P. J. biol. Chem., 1955, 214, 335.
 273. Beling C. G. Acta Endocr., 1962, supp. 67, 79.
 274. Beling C. G. a oth. Acta Endocr., 1963, 43, 87.
 275. Bell E. T. a oth. J. Endocr., 1962, 25, 221.
 276. Bell E. T. a oth. J. Endocr., 1964, 28, 321.
 277. Bell E. T. a oth. J. Endocr., 1965, 32, 1.
 278. Bell E. G. a oth. Acta Endocr., 1966, 51, 578.
 279. Bell E. G. a oth. J. Endocr., 1965, 33, 325.
 280. Bengtsson L. Ph. Biblioth. Gynaec., 1959, 20, 45.
 281. Bengtsson L. Ph. et al. Acta obstet. gynec. Scand., 1964, 43, 49.
 282. Benson G. K. et al. Proc. roy. Soc., 1958, 149, 330.
 283. Berezin D., Studnitz W. Acta Endocr., 1957, 25, 427.
 284. Bergstrand C. G. a oth. J. clin. Endocr., 1957, 17, 870.
 285. Berliner P. L. a oth. J. clin. Endocr., 1956, 16, 903.
 286. Bersohn J. et al. S. A. tydskr. genesesk. (S. Afric. Med. J.), 1958, 32, 979.
 287. Bentele W. Zbl. Gynäk., 1961, 83, 1429.
 288. Bever A. T. et al. Fed. Proc., 1953, 12, 15.
 289. Bingel A. Klin. Wschr., 1935, 14, 1827.
 290. Bischoff F. et al. J. biol. Chem., 1948, 174, 663.
 291. Bischoff F. a oth. Am. J. Physiol., 1957, 189, 447.
 292. Bischoff F. et al. J. appl. Physiol., 1960, 15, 515.
 293. Blackburn N. M. et al. Bioch. biophys. acta, 1965, 107, 168.
 294. Blair H. A. F. et al. J. Endocrinol., 1965, 32, 271.
 295. Bloomberg B. M. et al. J. Endocr., 1958, 17, 182.

296. Blumenthal H. T. Arch. Path., 1954, 57, 484
297. Boettlinger E. G. J. cell. comp. Physiol., 1946, 27, 9.
298. Bogdanove S., Schoen H. Proc. Soc. exp. Biol., 1959, 100, 661.
299. Bogdanove E. M. a oth. Endocrinology, 1964, 74, 114.
300. Bolte E. a oth. Acta Endocr., 1964, 45, 535.
301. Bolte E. a oth. Steroids, 1964, 4, 613.
302. Bolte E. a oth. Acta Endocr., 1964, 45, 560.
303. Bongiovanni A. M. Bull. Johns. Hopk. Hosp., 1954, 94, 180.
304. Borell U. Acta Endocr., 1951, 8, 131.
305. Borell U. Acta Endocr., 1952, 9, 141.
306. Borell U. III Weltkongress Int. Feder. Geburtsh. Gynäkol., Bd. I. Wien, 1961, 5.
307. Borell U. et al. Acta obstet. gynec. Scand., 1959, 38, 364.
308. Borglin N. E. Acta obstet. gynec. Scand., 1959, 38, 157.
309. Borglin N. E. Acta obstet. gynec. Scand., 1961, 40, 379.
310. Borth R. a oth. Acta Endocr., 1953, 14, 316.
311. Borth R. a oth. Acta Endocr., 1957, 24, 119.
312. Borth R. a oth. Acta obstet. gynec. Scand., 1959, 38, 417.
313. Borth R. a oth. Human pituitary gonadotropins. Ed. A. Albert, 1961, 72.
314. Borth R. a oth. Human pituitary gonadotropins. Ed. A. Albert, 1961, 199.
315. Borth R. a oth. Acta Endocr., 1964, 45 suppl., 90, 17.
316. Borth R. a oth. Acta Endocr., 1965, 50, 335.
317. Boscott R. J. The ovary, v. 2. Ed. S. Zuckerman. N. Y. — London, 1961, 1.
318. Boscott R. J. The ovary, v. 2. Ed. S. Zuckerman. N. Y. — London, 1961, 47.
319. Bouin P., Ancel P. J. Physiol. Path. gen., 1910, 12, 1.
320. Bourdel G., Li Ch. H. Acta Endocr., 1963, 42, 473.
321. Bourrillon R. a oth. Acta endocr., 1959, 31, 553.
322. Bourrillon R. a oth. Acta endocr., 1960, 35, 225.
323. Boyd G. Biochem. J., 1956, 62, 19 p.
324. Boyland E. a oth. Endocrine aspects of breast cancer. Edinburgh — London, 1958, 170.
325. Bradbury J. T. Endocrinology, 1961, 68, 115.
326. Bradbury J. T. a oth. Rec. progr. hormone res., 1950, 5, 151.
327. Bradchow L. Nature, 1961, 190, 809.
328. Breborowicz H. a oth. Am. J. Obst. gynec., 1965, 91, 1107.
329. Breuer H. Arzneimittel-Forsch., 1959, 9, 667.
330. Breuer H. Acta Endocr., 1962, 41, suppl. 67, 31.
331. Breuer H. u. a. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chemie, 1958, 311, 275.
332. Breuer H. a oth. Biochem. J., 1959, 71, 260.
333. Breuer H. a oth. Acta Endocr., 1959, 30, 247.
334. Breuer H. u. a. Hoppe-Seuler's Z. Physiol. Chemie, 1959, 315, 72.
335. Breuer H. et al. Biochim. biophys. Acta, 1959, 36, 572.
336. Breuer H. u. a. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chemie, 1960, 319, 136.
337. Breuer H. u. a. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chemie, 1960, 321, 57.

338. Breuer H. u. a. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chemie, 1960, 322, 177.
339. Breuer H. et al. Biochim. biophys. Acta, 1960, 40, 560.
340. Breuer H. a. oth. J. clin. Endocr., 1961, 21, 1331.
341. Breuer H. a. oth. Acta Endocr., 1963, 42, 135.
342. Breuer J. A. a. oth. Acta endocr., 1963, 44, 67.
343. Breuer J. A. u Breuer H. Acta endocr., 1965, 49, 541.
344. Brinck-Johnsen T. a oth. Endocrinology, 1957, 61, 676.
345. Brinkley H. J. a. oth. Endocrinology, 1964, 74, 14.
346. Brody S. Biochim. biophys. Acta, 1958, 27, 318.
347. Brody S. a. oth. Acta Endocr., 1957, 28, 493.
348. Brody S. a. oth. Acta endocr., 1958, 28, 39.
349. Brody S. et al. Acta obstet. gynec. Scand., 1960, 39, 557.
350. Brody S. a. oth. Endocrinology, 1961, 68, 971.
351. Brody S. a. oth. J. clin. Endocr., 1962, 22, 564.
352. Brody S. et al. Acta endocr., 1963, 42, 485.
353. Brody S. a. oth. J. clin. Endocr., 1965, 25, 792.
354. Brooks C. McC. Am. J. Physiol., 1938, 123, 25.
355. Broom A. W. J. a. oth. J. Endocr., 1959, 18, 209.
356. Brown J. B. J. Endocr., 1952, 8, 198.
357. Brown J. B. Biochem. J., 1955, 60, 185.
358. Brown J. B. Lancet, 1955, 1, 320.
359. Brown J. B. Lancet, 1956, 1, 704.
360. Brown J. B. J. Endocr., 1957, 16, 202.
361. Brown J. B. Rec. progr. endocr., reproduction. N. Y. — London, 1959.
362. Brown J. B. J. Endocr., 1962, 24, 251.
363. Brown J. B. a. oth. J. Endocr., 1957, 16, 49.
364. Brown J. B. a. oth. J. Endocr., 1957, 16, 41.
365. Brown J. B. a. oth. J. Endocr., 1957, 15, 307.
366. Brown J. B. a. oth. J. Endocr., 1958, 17, 411.
367. Brown J. B. a. oth. J. Endocr., 1958, 17, 401.
368. Brown J. B. a. oth. Nature, 1958, 182, 50.
369. Brown J. B. a. oth. J. obstet. gynaec. Brit. Emp., 1959, 66, 177.
370. Brown J. B. a. oth. J. Endocr., 1959, 19, 52.
371. Brown J. B. a. oth. J. Endocr., 1960, 20, 331.
372. Brown J. B. a. oth. Rec. Progr. hormone res., 1962, 337.
373. Brown J. B. a. oth. J. Endocr., 1962, 25, 331.
374. Brown J. B. a. oth. J. obstet. gynaec. Brit. Comm., 1963, 70, 219.
375. Brown J. B. a. Strong J. A. J. Endocr., 1965, 32, 107.
376. Brown P. S. J. Endocr., 1955, 13, 59.
377. Brown P. S. J. Endocr., 1956, 14, 257.
378. Brown P. S. J. Endocr., 1958, 17, 329.
379. Brown P. S. J. Endocr., 1959, 18, 46.
380. Brown P. S. Acta Endocr., 1959, 32, 272.
381. Brown P. S. J. Endocr., 1963, 26, 425.
382. Brown P. S. a. oth. J. Endocr., 1965, 33, 507.
383. Brown J. H. U., Hess M. Am. J. Physiol. 1957, 188, 25.
384. Brown J. H. U. a. oth. Endocrinology, 1960, 66, 1.
385. Brown J. H. U., Ulvedal F. Endocrinology, 1960, 66, 175.
386. Brown B. T. a. oth. Austral. J. exp. biol. med. Sci., 1961, 39, 345.

387. Brown-Grant K. J. *Endocr.*, 1962, 25, 405.
388. Brown-Grant K. J. *Endocr.*, 1963, 26, 299.
389. Bruk I. a. oth. *Brit. med. J.*, 1960, 191, 26.
390. Brüggeman J. a. oth. *Acta Endocr.*, 1965, 48, 569.
391. Bruno G. et al. *Proc. roy. Soc. Med.*, 1957, 50, 929.
392. Brusca D. R. a. oth. *Steroids*, 1964, 3, 209.
393. Buchholz R. Z. *ges. exp. Med.*, 1957, 128, 219.
394. Buchholz R. *Geburtsh. Frauenheilk.*, 1959, 19, 851.
395. Budy A. M. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1956, 64, 428.
396. Bugge S. et al. *Canad. J. Biochem. Physiol.*, 1961, 39, 1501.
397. Bulbrook R. D. a. oth. *Brit. med. J.*, 1957, 1, 622.
398. Bulbrook R. D. a. oth. *J. Endocr.*, 1957, 15, 206.
399. Bulbrook R. D. a. oth. *Brit. med. J.*, 1958, 5, 7.
400. Bulbrook R. D. a. oth. *Brit. med. J.*, 1958, 5, 12.
401. Burger H. C. a. oth. *Acta Endocr.*, 1963, 43, 95.
402. Butenandt A. u. a. *Berl. dtsh. chem. Ges.*, 1934, 67, 1901.
403. Butenandt A. u. a. *Z. Physiol. Chem.*, 1934, 227, 84.
404. Butt W. R. *J. Endocr.*, 1956, 13, 167.
405. Butt W. R. *J. Endocr.*, 1958, 17, 143.
406. Butt W. R. a. oth. *J. Endocr.*, 1957, 16, 107.
407. Butt W. R. a. oth. *J. Endocr.*, 1958, 17, i.
408. Butt W. R. a. oth. *J. Endocr.*, 1963, 25, 541.
409. Butt W. R. a. oth. *Nature*, 1963, 197, 388.
410. Butt W. R. a. oth. *J. Endocr.*, 1963, 26, 303.
411. Butt W. R. a. oth. *Proc. roy. Soc. Med.*, 1964, 57, 107.
412. Buxton C. L. et al. *Am. J. Obstet. Gynec.*, 1961, 81, 584.
413. Cagnazzo G. et al. *Chromatography*, 1965, 19, 185.
414. Callantine a. oth. *Endocrinology*, 1965, 76, 332.
415. Callow N. H. a. oth. *J. Endocr.*, 1939, 1, 99.
416. Cameron C. B. *C. R. Soc. franc. gynec.*, 1959, 29, 222.
417. Cameron C. B. *J. Endocr.*, 1962, 24, 1.
418. Caminiti T. *Monit. Obstet. gynec.*, 1957, 28, 85.
419. Campbell E. A. *Am. J. Physiol.*, 1959, 197, 1181.
420. Campbell E. A. a. oth. *J. Physiol.*, 1961, 157, 30 p.
421. Campbell H. J. a. oth. *J. Physiol.*, 1964, 170, 474.
422. Carcatzoulis S. *Presse méd.*, 1961, 69, 2437.
423. Carletti B. et al. *Minerva pediat.*, 1962, 14, 786.
424. Carnes W. H. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1940, 45, 502.
425. Carter S. B. *J. Endocr.*, 1956, 13, 150.
426. Carter S. B. *J. Endocr.*, 1956, 13, 161.
427. Carter F. a. oth. *Control of ovulation*, 1961, 1.
428. Cassmer O. *Acta Endocr.*, 1959, 32, suppl. 45.
429. Catchpole H. R. *Цит. no Hanc O.*, 1959.
430. Cedard L. et al. *C. R. Soc. Biol.*, 1961, 155, 458.
431. Chamberlain J. a. oth. *Endocrinology*, 1963, 26, 367.
432. Chamberlain J. a. oth. *J. Endocr.*, 1964, 28, 235.
433. Champy et al. *Цит. no Sterescu N.*, 1963.
434. Chan W. Y. a. oth. *Endocrinology*, 1963, 72, 279.
435. Chang E. a. oth. *Biochim. biophys. Acta*, 1962, 57, 609.
436. Channing C. P. et al. *Biochim. Biophys. Acta*, 1966, 115, 205.
437. Ghowers J., McCann S. M. *Endocrinology*, 1965, 76, 700.
438. Claringbold P. J. a. oth. *J. Endocr.*, 1957, 16, 86.
439. Clauberg C. *Zbl. Gynäk.*, 1930, 54, 2757.

440. Clauberg C. et al. Arch. Gynäk., 1932, 152, 61
441. Clayton B. E. a. oth. J. Endocr., 1958, 17, 29.
442. Clegg M. T. a. oth. Endocrinology, 1960, 67, 179.
443. Cohen S. L. J. biol. Chem., 1951, 192, 147.
444. Cohen S. L. a. oth. Biochem. J., 1936, 30, 2250.
445. Cohen H. a. oth. Endocrinology, 1949, 45, 86.
446. Cole H. H. a. oth. Am. J. Physiol., 1930, 93, 57.
447. Cole R. D. a. oth. J. biol. Chem., 1957, 224, 399.
448. Conchie J. a. oth. J. Endocr., 1959, 18, 132.
449. Conti C. et al. Rassegna fisiopatol. clin. terap., 1957, 29, 1030.
450. Contopoulos A. N. a. oth. J. Endocr., 1963, 25, 451.
451. Cook H. et al. Acta endocr., 1964, 45, 33.
452. Cooke A. M. a. oth. J. Endocr., 1963, 27, 299.
453. Cooke B. A. a. oth. Biochem. J., 1963, 86, 365.
454. Corbin A. a. oth. Am. J. Physiol., 1961, 201, 1176.
455. Corner G. W. Am. J. Physiol., 1930, 95, 43.
456. Corner G. W. a. oth. Am. J. Physiol., 1929, 88, 326.
457. Courrier R. Acta endocr., 1964, 45, suppl. 90, 29.
458. Coyle M. a. oth. +. obstet. gynec. Brit. Comm., 1963, 70, 225.
459. Critschlow V. Endocrinology, 1958, 63, 596.
460. Croes-Buth S. et al. Acta Physiol. Pharmacol. Neerl., 1960, 9, 303.
461. Crook A. C. Proc. roy. Soc. Med., 1964, 57, 111.
462. Crook A. C. a. oth. Lancet, 1954, 266, 379.
463. Crook A. C. a. oth. J. Obstet. gynaec. Brit. Emp., 1959, 66, 297.
464. Crook A. C. a. oth. J. obstet. gynaec. Brit. Comm., 1963, 70, 604.
465. Crowe S. J. a. oth. Bull. John Hopk. Hosp., 1912, 21, 127.
466. Croxatto H. a. oth. Nature, 1964, 204, 584.
467. Csapo A. Am. J. Physiol., 1950, 162, 406.
468. Csapo A. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1959, 75, 790.
469. Csapo A. a. oth. Endocrinology 1952, 51, 378.
470. Csapo A. a. oth. Am. J. obstet. gynec., 1963, 85, 806.
471. Csapo A. a. oth. Am. J. obstet. gynec., 1963, 85, 819.
472. Cunningham F. J. J. Endocr., 1962, 24, 215.
473. Currie A. R. a. oth. Acta Endocr., 1961, 36, 185.
474. Cuyler W. K. a. oth. Endocrinology, 1940, 27, 177.
475. Czeizel E. u. a. Endocrinologie, 1963, 45, 142.
476. D'Amour F. E. a. oth. Am. J. obstet. gynec., 1939, 37, 940.
477. Dao T. Science, 1953, 118, 21.
478. Dao T. L. Endocrinology, 1957, 61, 242.
479. Dancis J. a. oth. J. clin. Invest., 1958, 37, 1373.
480. Daniel P. M. a. oth. Lancet, 1963, 1, 1232.
481. Danielson M. Am. J. obstet. gynec., 1965, 91, 895.
482. Dasgupta P. R. a. oth. Proc. Soc. exp. Biol., 1964, 116, 253.
483. David K. a. oth. Biochem. J., 1934, 28, 1360.
484. Davidson J. M. a. oth. Endocrinology, 1960, 66, 735.
485. Davis C. D. Am. J. Physiol., 1939, 127, 374.
486. Davis M. E. a. oth. Am. J. obstet. gynec., 1958, 76, 982.
487. Davis M. E. a. oth. Fertil. Steril., 1960, 11, 18.
488. Davis M. E. a. oth. Am. J. obstet. gynec., 1961, 82, 1003.
489. Davis M. E. a. oth. Am. J. obstet. gynec., 1963, 8, 979.

490. Daume E. u. a. III Weltkongress Int. Feder. Geburtsh. Gynäk., Bd2. Wien, 1961, 292.
491. Dekanski J. Brit. J. exp. Path., 1949, 30, 272.
492. Dekanski J. B. Human pituitary gonadotropins. Ed. Albert A. 1961, 346.
493. De Meio R. H. a. oth. Biochem. J., 1958, 68, 1.
494. Dempsey E. W. Am. J. Physiol., 1937, 120, 126.
495. Dempsey E. W. a. oth. Endocrinology, 1940, 27, 573.
496. Dempsey E. W. a. oth. Endocrinology, 1949, 44, 88.
497. Desaulles P. A. a. oth. Acta Endocr., 1964, 47, 444.
498. Desclin L. Ann. Endocr., 1950, 11, 656.
499. Desclin L. a. oth. C. R. Soc. Biol., 1937, 126, 250.
500. Desclin L. a. oth. Endocrinology, 1962, 70, 429.
501. Dey F. L. Цит. по Velardo, 1958.
502. Dhariwal A. P. S. a. oth. Endocrinology, 1965, 76, 290.
503. Dickey R. P. a. oth. Fertil. Steril., 1965, 16, 485.
504. Diczfalusy E. Acta endocr., 1954, 15, 317.
505. Diczfalusy E. Acta endocr., 1955, 20, 216.
506. Diczfalusy E. Rec. Progr. hormone Res., 1958, 14, 389.
507. Diczfalusy E. a. oth. Acta Endocr., 1950, 5, 43.
508. Diczfalusy E. a. oth. Acta Endocr., 1956, 22, 203.
509. Diczfalusy E. a. oth. Arch. Gynäk., 1956, 187, 556.
510. Diczfalusy E. a. oth. Acta Endocr., 1956, 21, 321.
511. Diczfalusy E. a. oth. Acta Endocr., 1957, 26, 303.
512. Diczfalusy E. a. oth. Acta Endocr., 1957, 26, 313.
513. Diczfalusy E. a. oth. Acta Endocr., 1958, 27, 303.
514. Diczfalusy E. a. oth. Acta Endocr., 1959, 32, 195.
515. Diczfalusy E. a. oth. J. clin. Endocr., 1959, 19, 1230.
516. Diczfalusy E. u. a. Estogene beim Menschen, Springer-Verlag, 1961.
517. Diczfalusy E. a. oth. Endocrinology, 1961, 68, 492.
518. Diczfalusy E. a. oth. Acta Endocr. 1961, 38, 31.
519. Diczfalusy E. a. oth. Rec. Progr. hormone Res., 1961, 17, 547.
520. Diczfalusy E. a. oth. Acta endocr., 1961, 38, 59.
521. Diczfalusy E. a. oth. J. clin. Endocr., 1963, 23, 503.
522. Diczfalusy E. a. oth. Acta Endocr., 1964, 45, suppl. 90. 35.
523. Dingman J. F., Lim N. Y. JAMA, 1963, 186, 316.
524. Döcke F. et al. J. Endocr., 1965, 33, 491.
525. Doisy E. Цит. по Diczfalusy u. a., 1961.
526. Doisy E. A., a. oth. Am. J. Physiol., 1929, 90, 329.
527. Donini P. et. al. Цит. по Apostolakis et al., 1961.
528. Donini P. a. oth. Acta endocr., 1964, 45, 321.
529. Donini P. a. oth. Acta endocr., 1964, 45, 329.
530. Donovan B. T. a. oth. J. Physiol., 1959, 147, 93.
531. Dorff G. B. a. oth. Am. J. Dis. Child., 1937, 53, 481.
532. Dorfman R. I. a. oth. Endocrinology, 1937, 31, 741.
533. Dorfman R. I. a. oth. Endocrinology, 1939, 25, 33.
534. Dorfman R. I. a. oth. Ciba found. coll. endocr., 1952, 2, 146.
535. Dorfman R. I. a. oth. Endocrinology, 1960, 68, 43.
536. Dowben R. M. a. oth. Nature, 1956, 178, 696.
537. Dörner G. u. a. Klin. Wschr., 1961, 39, 1260.
538. Dörner G. u. a. Klin. Wschr., 1960, 38, 878.

539. Dörner G. Zbl. Gynäk. 1962, 84, 237.
540. Dörner G. u. a. Endocrinologie, 1963, 45, 121.
541. Drill V. A. Fed. Proc., 1959, 18, 1040.
542. Drill V. A. a. oth. Rec. Progr. hormone Res., 1958, 14, 29.
543. Drosdovsky M. A. a. oth. Acta Endocr., 1965, 49, 553.
544. Duboff G. S. a. oth. Clin. chem., 1961, 7, 30.
545. Dukes P. P. a. oth. Endocrinology, 1961, 69, 21.
546. Eberlein W. R. a. oth. J. clin. Endocr., 1958, 18, 1274.
547. Eckstein B. Acta endocr., 1962, 41, 35.
548. Eckstein B. a. Paster Z. Acta endocr., 1965, 49, 379.
549. Edgren R. A. Endocrinology, 1958, 62, 689.
550. Edgren R. A. Endocrinology, 1961, 68, 639.
551. Edgren R. A. a. oth. Proc. Soc. exp. Biol., 1960, 103, 294.
552. Echaute W. a. oth. Ann. endocr., 1963, 24, 746.
553. Echaute E. a. oth. J. clin. Endocr., 1965, 25, 480.
554. Eik-Ness K. a. oth. J. biol. Chem., 1954, 206, 411.
555. Eilert L. Am. Heart J., 1949, 38, 472.
556. Ejarque P. M. a. oth. Acta Endocr., 1962, 41, 521.
557. Ellis S. J. biol. Chem., 1958, 233, 63.
558. Ellis S. Endocrinology, 1961, 68, 334.
559. Ellis S. In: Human pituitary gonadotrophins. Springfield, Illinois, 1961, 378.
560. Ellington E. F. a. oth. Endocrinology, 1964, 75, 401.
561. Ely C. A. Proc. Soc. exp. Biol., 1960, 105, 111.
562. Ely C. A. a. oth. Endocrinology, 1964, 74, 314.
563. Emmens C. W. a. oth. J. Endocr., 1959, 18, 372.
564. Emmens C. W. a. oth. J. Endocr., 1960, 20, 198.
565. Emsun K., Åras K. Acta Endocr., 1964, 46, 507.
566. Enbring N. H. a. oth. J. clin. Endocr., 1959, 19, 783.
567. Engel P. Endocrinology, 1946, 38, 215.
568. Engel L. The human adrenal cortex. Edinburg-London, 1962, 98.
569. Engel L. L. a. oth. Ciba found. coll. endocr., 1952, 2, 104.
570. Engel L. L. a. oth. Endocrinology, 1957, 61, 113.
571. Engel L. L. a. oth. Biochim. Biophys. Acta, 1958, 30, 435.
572. Engel L. L. a. oth. Endocrinology, 1962, 70, 907.
573. Engel L. L. a. oth. J. Endocr., 1963, 26, 233.
574. Engelhart E. Klin. Wschr., 1930, 9, 2114.
575. Erb H. u. a. Zbl. Gynäk., 1962, 84, 474.
576. Ercoli A. a. oth. Endocrinology, 1962, 71, 593.
577. Ericsson R. J. a. Dutt R. H. Endocrinology, 1965, 77, 203.
578. Erlanger B. O. a. oth. J. biol. Chem., 1959, 234, 1090.
579. Erlich E. N. J. Lab. Clin. Med., 1965, 65, 869.
580. Erskin B. A. a. oth. Endocrinology, 1961, 69, 195.
581. Evans H. M. a. oth. Endocrinology, 1939, 25, 529.
582. Evans H. M. a. oth. Proc. Soc. exp. Biol., 1941, 46, 586.
583. Everett J. W. Endocrinology, 1940, 27, 681.
584. Everett J. W. Endocrinology, 1948, 43, 389.
585. Everett J. W. Endocrinology, 1954, 54, 685.
586. Everett J. W. Clinical Endocrinology. Ed. Astwood E. B. N. Y. — London, 1960, 482.
587. Everett J. W. Control of ovulation, 1961, 101.
588. Everett J. W. Endocrinology, 1965, 76, 1195.
589. Exley D. a. oth. Bioch. J., 1965, 95, 54 P.

590. Exley D. a. oth. *Bioch. J.*, 1965, 96, 818.
591. Ezrin C. *JAMA*, 1958, 168, 2292.
592. Ezrin C. Ciba corporation, 1963.
593. Falk B. *Acta Physiol. Scand.*, 1959, 47, suppl. 163.
594. Feldman J. *Endocrinology*, 1956, 59, 289.
595. Fellner O. *O. Zbl. allg. Path. path. Anat.*, 1912, 23, 673.
596. Fellner O. *Arch. Gynäk.*, 1913, 100, 641.
597. Fels B. *Zbl. Gynäk.*, 1930, 54, 2191.
598. Fergusson K. A. a. oth. *Rec. progr. hormone Res.*, 1963, 19, 1.
599. Fevold H. L. *Endocrinology*, 1941, 28, 33.
600. Fevold H. L. a. oth. *Am. J. Physiol.*, 1931, 97, 291.
601. Fevold H. L. a. oth. *J. Am. Chem. Soc.*, 1932, 54, 254.
602. Fevold H. L. et al. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1934, 26, 620.
603. Finkelstein M. *Acta endocr.*, 1952, 10, 149.
604. Fishman J. a. oth. *Arch. Biochem.*, 1958, 77, 511.
605. Fishman J. a. oth. *Arch. Biochim. Biophys.*, 1960, 90, 318.
606. Fishman J. a. oth. *J. biol. Chem.*, 1960, 235, 3104.
607. Fishman J. a. oth. *Acta endocr.*, 1961, 37, 57.
608. Fishman J. a. oth. *J. biol. Chem.*, 1962, 237, 1489.
609. Flerko B. *Endocrinologie*, 1957, 34, 202.
610. Flerko B. et al. *Acta endocr.*, 1957, 26, 121.
611. Flikinger G. L. a. oth. *J. clin. endocr. metabol.*, 1965, 25, 1231.
612. Fluhman C. F. *JAMA*, 1929, 93, 627.
613. Fluhman C. F. *Am. J. obstet. gynec.*, 1930, 20, 1.
614. Fluhman C. F. a. oth. *Am. J. obstet.*, 1939, 38, 778.
615. Folley S. J. *Brit. med. Bull.*, 1955, 11, 145.
616. Foley G. F., Aycock W. L. *Endocrinology*, 1944, 35, 139.
617. Follman Y. a. Pope G. S. J. *Endocr.*, 1966, 34, 215.
618. Forbes T. R. a. oth. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1962, 109, 642.
619. Foreman D. *Endocrinology*, 1962, 72, 693.
620. Foster M. A. a. oth. *Endocrinology*, 1937, 21, 249.
621. Fotherby K. a. oth. *J. Endocr.*, 1964, 29, 55.
622. Fotherby K. a. oth. *J. Endocr.*, 1965, 33, 133.
623. Frandsen V. A. *Acta endocr.*, 1959, 31, 603.
624. Frandsen V. et al. *Danish. med. bull.*, 1960, 7, 95.
625. Frandsen V. A. a. oth. *Acta endocr.*, 1961, 38, 383.
626. Frandsen V. A. a. oth. *Acta endocr.*, 1963, 44, 183.
627. Frandsen V. A. a. oth. *Acta endocr.*, 1963, 44, 196.
628. Frandsen V. A. a. oth. *Acta endocr.*, 1964, 47, 265.
629. Frandsen V. A. a. oth. *Acta endocr.*, 1964, 47, suppl. 90, 81.
630. Frank R. T. a. oth. *JAMA*, 1934, 103, 393.
631. Frank R. T. a. oth. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1935, 33, 311.
632. Frank R. T. a. oth. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1936, 33, 615.
633. Fraenkel L. *Arch. Gynäk.*, 1903, 68, 438.
634. Frankel-Conrat H. L. a. oth. *J. Biol. Chem.*, 1939, 130, 243.
635. France E. a. oth. *Endocrinology*, 1964, 75, 359.
636. Frazier C. N. a. oth. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1935, 33, 65.
637. Frieden E. H. a. oth. *Endocrinology*, 1957, 60, 270.
638. Friedman M. H. *Am. J. Physiol.*, 1929, 90, 617.
639. Friesen H. *Endocrinology*, 1965, 76, 369.

640. Fukushima M. a. oth. J. clin. Endocr., 1964, 24, 205.
 641. Furuholm M. Acta obstet. gynec. Scand., 1962, 41, 370.
 642. Futterweit W. a. oth. Endocrinology, 1963, 72, 903.
 643. Gallagher T. F. et al. J. biol. Chem., 1958, 233, 1093.
 644. Gallaro E. et al. J. Endocr., 1965, 33, VII.
 645. Galli-Mainini C. J. Clin. Endocr., 1947, 7, 653.
 646. Gans E. a. oth. Acta Endocr., 1962, 39, 245.
 647. Gardner W. U. Endocrinology, 1941, 28, 53.
 648. Gemzell C. Acta Endocr., 1962, suppl. 67, 49.
 649. Gemzell C. A. Fertil. Steril., 1962, 13, 153.
 650. Gemzell C. A. a. oth. J. clin. Endocr., 1958, 18, 1333.
 651. Gemzell C. A. et al. Acta obstet. gynec. scand., 1959, 38, 465.
 652. Gemzell C. A. a. oth. Am. J. Obstet. gynec., 1966, 94, 490.
 653. Gemzell C. A. a. oth. Lancet, 1964, 1, 644.
 654. Georgokopoulos P. A. Acta Endocr., 1965, 49, 221.
 655. Geschwind I. I. a. oth. Endocrinology, 1958, 63, 449.
 656. Giarola A. a. oth. Gynecol. prat., 1960, 11, 125.
 657. Gibson W. R. a. oth. Proc. Soc. exp. Biol., 1965, 120, 143.
 658. Giglio F. A. a. oth. Fertil. Steril., 1962, 13, 57.
 659. Giles C. a. oth. J. Endocr., 1964, 28, 343.
 660. Gilse H. A. a. oth. Acta endocr., 1957, 24, 91.
 661. Gitsch E. u Golob E. Acta endocr., 1964, 47, 574.
 662. Givner M. L. a. oth. Biochem. J., 1960, 77, 400.
 663. Givner M. L. et al. Canad. J. Biochem., 1960, 38, 213.
 664. Glass K. a. oth. Endocrinology, 1961, 68, 327.
 665. Goering R. W. a. oth. Am. J. Obstet. Gynec., 1965, 92, 441.
 666. Goebelsman U. a. oth. Acta Endocr., 1965, 50, 273.
 667. Goebelsman U. a. oth. Acta Endocr., 1965, 50, 261.
 668. Goldberg B. a. oth. J. clin. Endocr., 1948, 8, 357.
 669. Goldzieher J. W. a. oth. J. clin. Endocr., 1952, 12, 143.
 670. Goldzieher J. W. a. oth. Endocrinology, 1959, 65, 310.
 671. Goldzieher J. W. a. oth. Acta Endocr., 1960, suppl. 51, 617.
 672. Gorbman A. Endocrinology, 1945, 37, 177.
 673. Gordon E. E. a. oth. J. biol. Chem., 1955, 216, 215.
 674. Gorski R. A. a. oth. Acta Endocr., 1962, 39, 13.
 675. Gorski R. A. a. oth. Endocrinology, 1963, 73, 210.
 676. Gorski R. A. a. Wagner J. W. Endocrinology, 1965, 76, 226.
 677. Gospodarowicz G. Biochem. Biophys. Acta, 1965, 107, 363.
 678. Goss D. A. a. oth. Endocrinology, 1962, 71, 321.
 679. Goss D. A. a. oth. J. clin. Endocr., 1963, 23, 986.
 680. Goss D. A. a. oth. Endocrinology, 1964, 74, 83.
 681. Got R. et al. Bull. Soc. Chim. Biol., 1960, 42, 31.
 682. Got R. a. oth. Biochim. Biophys. Acta, 1960, 42, 505.
 683. Gottschalk A. a. oth. Bioch. Biophys. Acta, 1960, 38, 183.
 684. Granjon A. et al. Presse méd., 1961, 69, 2191.
 685. Graetz A. Lancet, 1965, 1, 1283.
 686. Grant S. D. a. oth. J. clin. Endocr., 1965, 25, 1057.
 687. Gray C. L. a. oth. Am. J. Physiol., 1955, 180, 279.
 688. Green J. W. a. oth. Am. J. med. Sci., 1959, 238, 772.
 689. Green J. W. a. oth. Am. J. obstet. gynec., 1963, 85, 1.

690. Green J. W. a. oth. Am. J. obstet. gynec., 1965, 91, 684.
 691. Greenwood F. C. a. oth. Brit. med. J., 1957, 1, 666.
 692. Greep O. R. a. oth. Endocrinology, 1937, 21, 661.
 693. Greep R. O. a. oth. Proc. Soc. exp. Biol., 1941, 46, 644.
 694. Greep R. O. a. oth. Endocrinology, 1942, 30, 635.
 695. Greep R. O. a. oth. Rec. Progr. hormone Res., 1950, 5, 197.
 696. Greig M. a. oth. J. obstet. gynaec. Brit. Emp., 1962, 69, 772.
 697. Gröschel U. a. oth. Biochem. Biophys. Acta, 1960, 37, 2, 375.
 698. Grosvenor C. E. Endocrinology, 1962, 70, 673.
 699. Guidry M. A. a. oth. Endocrinology, 1952, 50, 29.
 700. Guillian G. a. oth. Acta Endocr., 1961, 38, 1.
 701. Guillemin R. a. oth. Endocrinology, 1963, 73, 564.
 702. Guillemin R. et al. Acad. sci. (Paris), 1963, 256, 504.
 703. Guprido E. a. oth. J. clin. Endocr., 1962, 22, 935.
 704. Gurin S. a. oth. J. biol. Chem., 1939, 128, 525.
 705. Gustavson R. G. a. oth. Am. J. obstet. Gynec., 1938, 35, 115.
 706. Guterma n H. S. a. oth. J. Lab. clin. Med., 1948, 33, 356.
 707. Haam E. a. oth. Proc. Soc. Exp. Biol., 1940, 44, 369.
 708. Hähnel R. Anal. Biochem., 1965, 10, 184.
 709. Hagen A. A. a. oth. Acta Endocr., 1965, 49, 207.
 710. Hagerman D. D. a. oth. Acta Endocr., 1966, 51, 591.
 711. Hagopian M. a. oth. Biochim. Biophys. Acta, 1958, 30, 641.
 712. Hagopian M. a. oth. J. clin. Endocr., 1965, 25, 283.
 713. Halban J. Mschr. Geburtsh. Gynäk., 1900, 12, 496.
 714. Halban J. Arch. Gynäk., 1905, 75, 353.
 715. Halkerston Y. D. K. a. oth. J. Endocr., 1957, 16, 156.
 716. Hamashige S. a. oth. J. clin. Invest., 1963, 42, 546.
 717. Hamburger C. a. oth. Acta Endocr., 1957, 26, 1.
 718. Hamilton T. H. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1963, 49, 373.
 719. Hamlet G. W. D. Am. J. Physiol., 1937, 118, 664.
 720. Hammerstein J. a. oth. Acta Endocr., 1959, 31, 505.
 721. Hammerstein J. a. oth. J. clin. Endocr., 1964, 24, 597.
 722. Hammerstein J. a. oth. Acta Endocr., 1965, 48, 375.
 723. Hammerstein J. Arch. Gynäk., 1965, 200, 638.
 724. Hammond J. a. oth. Endocrinology, 1951, 49, 384.
 725. Haour P., Puilett S. C. R. Soc. Biol., 1957, 151, 742.
 726. Harper K. H. a. oth. Nature, 1959, 183, 463.
 727. Harris G. W. J. Physiol., 1937, 88, 360.
 728. Harris G. W. Acta Endocr., 1960, 34, suppl. 50, 15.
 729. Harris G. W. a. oth. Proc. roy. Soc. Biol. Sci., 1951, 139, 236.
 730. Harrison M. T. a. oth. J. Endocr., 1966, 34, 61.
 731. Hartree A. S. a. oth. J. Endocr., 1964, 29, 61.
 732. Hasselblatt A. a. oth. Acta Endocr., 1960, 34, 176.
 733. Hatterius H. O. Am. J. Physiol., 1937, 119, 329.
 734. Haun C. K. a. oth. Endocrinology, 1960, 67, 270.
 735. Hayashida T. J. Endocr., 1963, 26, 75.
 736. Haynes R. C. a. oth. Acta Endocr., 1964, 45, 297.
 737. Hayward J. L. a. oth. Progress in endocrinology, II. Cambridge, Univ. Press, 1961, 144.
 738. Hayward J. N. a. oth. Endocrinology, 1964, 74, 108.
 739. Heap R. B. J. Endocr., 1964, 30, 293.

740. Heard R. D. a. oth. J. biol. Chem., 1944, 155, 607.
741. Heard R. D. H. a. oth. Rec. Progr. hormone Res., 1956, 12, 45.
742. Hecker E. a. oth. Biochim. biophys. Acta, 1963, 71, 196.
743. Hecker E. u. a. J. physiol. Chem., 1965, 340, 229.
744. Hecker E. u. a. Biochem. Zschr., 1965, 343, 211.
745. Hellbaum A. A. a. oth. Endocrinology, 1961, 68, 144.
746. Heller C. Rec. Progr. hormone Res., 1959, 15, 134.
747. Heller C. G. a. oth. J. clin. Invest., 1939, 18, 171.
748. Heller C. G. a. oth. Endocrinology, 1942, 30, 309.
749. Heller C. G. a. oth. J. clin. Endocr., 1951, 11, 945.
750. Hellig H. R. a. oth. J. biol. Chem., 1965, 240, 1957.
751. Henderson W. R. a. oth. Brit. med. J., 1938, 1, 1094.
752. Henry R. a. oth. J. Endocr., 1958, 16, 310.
753. Herranen A. a. oth. Biochim. biophys. Acta, 1957, 24, 223.
754. Herrmann E. Mschr. Geburtsh., 1915, 41, 1.
755. Herrmann M. Endocrinologie, 1956, 33, 139.
756. Hertz R. a. oth. Science, 1944, 100, 293.
757. Hillarp N. A. Acta Endocr., 1949, 2, 11.
758. Hilz K., Utermann D. Biochem. Z., 1960, 332, 376.
759. Hinsberg K. u. a. Biochem. Z., 1956, 328, 117.
760. Hinsey J. C. a. oth. Am. J. Physiol., 1933, 106, 48.
761. Hipkin L. J. Acta Endocr., 1965, 50, 224.
762. Hisaw F. L. Lit. no Kilpatric a. oth., 1964.
763. Hisaw F. L. Physiol. rev., 1947, 27, 95.
764. Hisaw F. L. Endocrinology, 1959, 64, 276.
765. Hisaw F. L. u. a. Physiol. zool., 1930, 3, 135.
766. Hisaw F. L. a. oth. Endocrinology, 1938, 23, 1.
767. Hobkirk R. J. clin. Endocr., 1963, 23, 279.
768. Hobkirk R. a. oth. J. clin. Endocr., 1959, 19, 1352.
769. Hobkirk R. a. oth. J. clin. Endocr., 1962, 22, 134.
770. Hobkirk R. a. oth. J. clin. Endocr., 1963, 23, 274.
771. Hobson B. a. oth. Acta Endocr., 1964, 46, 632.
772. Hohlweg W. u. a. Klin. Wschr., 1932, 11, 321.
773. Hohlweg W. Klin. Wschr., 1934, 13, 92.
774. Hohlweg W. u. a. Acta biol. med. germ., 1958, 1, 540.
775. Hollander V. P. a. oth. Endocrinology, 1960, 66, 39.
776. Holmes W. N. Acta Endocr., 1956, 23, 39.
777. Holtkamp D. E. a. oth. Proc. Soc. exp. Biol., 1960, 105, 197.
778. Hooker Ch. W. Proc. Soc. exp. Biol., 1941, 46, 698.
779. Hooker C. W., Forbes T. R. Endocrinology, 1947, 41, 158.
780. Hopkins T. F. a. Pincus G. Endocrinology, 1965, 76, 1177.
781. Horowitz S. a. oth. Acta Endocr., 1962, 11, 301.
782. Hoskins W. H. a. oth. Endocrinology, 1939, 24, 702.
783. Huang W. Y. a. oth. J. biol. Chem., 1962, 237, 1060.
784. Huber D. Biochem. J., 1947, 41, 609.
785. Huber A. Gynaecologia, 1958, 146, 111.
786. Huberman J. a. oth. Endocrinology, 1937, 21, 67.
787. Huebner C. F. a. oth. J. biol. Chem., 1944, 155, 615.
788. Huffman R. a. oth. J. biol. Chem., 1940, 134, 591.
789. Huggius C. a. oth. JAMA, 1953, 151, 1388.
790. Hughes E. a. oth. Am. J. obstet. gynec., 1963, 85, 594.
791. Huis in't Veld L. G. Acta Endocr., 1959, 31, 65.
792. Huis L. G. Bull. Soc. roy. Belg. Gynec. Obstet., 1960, 30, 286.

793. Huis in't Veld L. G. et al. *Nederl. tijdschr. geneesk.*, 1957, 101, 1186.
794. Humber L. G. et al. *Biochem. pharmacol.*, 1962, 11, 755.
795. Hutchinson J. S. M. a. oth. *J. Endocr.*, 1964, 29, 47.
796. Igarashi M. a. oth. *Endocrinol. Japon.*, 1962, 9, 81.
797. Igarashi M. a. oth. *Endocrinology*, 1964, 74, 440.
798. Igarashi M. a. oth. *Endocrinology*, 1964, 74, 446.
799. Igel H. u. a. *Zbl. Gynäk.*, 1961, 83, 518.
800. Igel H. *Zbl. Gynäk.*, 1962, 84, 1227.
801. Ingram D. L. a. oth. *J. Endocr.*, 1958, 17, 13.
802. Inman D. R. a. oth. *J. Endocr.*, 1965, 32, 17.
803. Ittrich G. *Hoppe-Seyl. Z.*, 1958, 312, 1.
804. Ittrich G. *Z. physiol. Chem.*, 1960, 320, 103.
805. Ittrich G. *Zbl. Gynäk.*, 1960, 82, 1732.
806. Ittrich G. u. a. *Zbl. Gynäk.*, 1960, 82, 1772.
807. Ittrich G. u. a. *Zbl. Gynäk.*, 1962, 84, 1921.
808. Ittrich G. u. a. *Zbl. Gynäk.*, 1962, 84, 1928.
809. Ittrich G. u. a. *Zbl. Gynäk.*, 1963, 85, 353.
810. Jacobovits A. *Am. J. obstet. gynec.*, 1962, 85, 90.
811. Jacobs W. M. a. oth. *Obstet. a. Gynecol.*, 1957, 10, 274.
812. Jacobson D. *Proc. roy. Soc.*, 1958, 149, 325.
813. Jansen A. P. *Clin. Chim. Acta*, 1963, 8, 785.
814. Jaffe R. a. oth. *Acta Endocr.*, 1965, 48, 413.
815. Jacowicki T. K. et al. *Ginecologia Polska*, 1965, 36, 1399.
816. James F. U. *Bioch. J.*, 1965, 95, 459.
817. Jayle M. F., Crepy O. *Ciba foud. coll. Endocr.*, 1952, 2, 84.
818. Jayle M. F. et al. *Presse méd.*, 1956, 64, 1965.
819. Jayle M. F. et al. *Bull. Acad. Nat. med.*, 1958, 142, 235.
820. Jayle M. F. et al. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1959, 41, 1441.
821. Jellinick P. H. *Biochem. J.*, 1959, 71, 665.
822. Jensen C. C. *Acta Endocr.*, 1955, 23, 281.
823. Jensen E. V. *Dtsch. med. Wschr.*, 1963, 88, 1229.
824. Jensen E. V. a. oth. *Rec. Progr. hormone assay*, 1962, 18, 387.
825. Jentzner A. u. a. *Z. Geburtsh. Gynäk.*, 1900, 42, 66.
826. Johannisson E. J. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1961, 21, 1068.
827. Johnsen S. G. *Acta Endocr.*, 1955, 20, 106.
828. Johnsen S. G. *Acta Endocr.*, 1958, 28, 69.
829. Johnsen S. G. *Acta Endocr.*, 1959, 31, 209.
830. Johnsen S. G. *Human pituitary gonadotropins*. Ed. Albert A. 1961, 186.
831. Johnsen S. G. *Acta Endocr.*, 1964, suppl. 90, 99.
832. Johnsen S. C. a. oth. *Acta Endocr.*, 1959, 32, 497.
833. Jolly H. *Sexual precocity*. Blackwell scientific publication. Oxford, 1955.
834. Jonek J. *Ginekol. polska*, 1959, 30, 671.
835. Jones G. E. S. a. oth. *Am. J. obstet. gynec.*, 1949, 57, 854.
836. Jones G. S. a. oth. *Fertil. Steril.*, 1961, 12, 217.
837. Jones G. S. et al. *The ovary*, v. I. Ed. Zuckerman S. N. Y. — London, 1961, 361.
838. Jones G. S. a. oth. *Fertil. Steril.*, 1965, 16, 461.
839. Josimovich J. B. a. oth. *Endocrinology*, 1963, 73, 410.
840. Young S. a. oth. *Lancet*, 1957, 272, 350.
841. Jull J. W. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1963, 23, 433.

842. Jutisz M. a. oth. *Acta Endocr.*, 1961, 37, 96.
 843. Kaiser R. *Dtsch. med. Wschr.*, 1960, 85, 1457.
 844. Kaiser R. *Dtsch. med. Wschr.*, 1963, 88, 2235.
 845. Kaiser J. *Acta Endocr.*, 1964, 47, 676.
 846. Kalman S. M. a. oth. *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 1958, 122, 163.
 847. Kamell S. A. a. oth. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1948, 68, 537.
 848. Kanematsu S. a. oth. *Endocrinology*, 1963, 73, 687.
 849. Kaplan N. M. *J. clin. Endocr.*, 1961, 21, 1139.
 850. Karunairatnam M. C. a. oth. *Biochem. J.*, 1949, 45, 496.
 851. Katzman P. A. a. oth. *J. biol. Chem.*, 1934, 106, 125.
 852. Katz L. H. a. oth. *Experimental atherosclerosis*, 1953.
 853. Kaufman C. u. a. *Klin. Wschr.*, 1956, 34, 7.
 854. Kaufman C. *Klin. Wschr.*, 1958, 36, 1145.
 855. Kaufman A. B. a. oth. *Acta Endocr.*, 1966, 51, 231.
 856. Keeskes L. a. oth. *Acta Endocr.*, 1962, 39, 483.
 857. Keeskes L. u. a. *Zbl. Gynäk.*, 1963, 85, 325.
 858. Keller M. *Gynaecologia*, 1960, 150, 275.
 859. Keller M. u. a. *Arch. Gynäk.*, 1963, 197, 605.
 860. Keller P. J. a. Rosemberg E. J. *J. clin. Endocr.*, 1965, 25, 1050.
 861. Kennedy G. C. a. oth. *J. Endocr.*, 1964, 29, 97.
 862. Kerly M. *Biochem. J.*, 1940, 34, 814.
 863. Kerr G. R. *J. Endocr.*, 1962, 24, 137.
 864. Kahzan N. a. oth. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1960, 105, 201.
 865. Kilpatrick R. a. oth. *Endocrinology*, 1964, 74, 453.
 866. Kincl F. A. a. oth. *Acta Endocr.*, 1961, 36, 83.
 867. Kincl F. A. a. oth. *Endocrinology*, 1963, 72, 966.
 868. King T. M. a. oth. *Am. J. Physiol.*, 1959, 196, 1282.
 869. King R. J. B. a. oth. *J. Endocr.*, 1965, 32, 9.
 870. King R. J. B. a. oth. *J. Endocr.*, 1965, 33, X.
 871. Kirgis H., Rothchild I. *Endocrinology*, 1952, 50, 269.
 872. Kisiner R. W. a. oth. *Fertil. Steril.*, 1961, 12, 121.
 873. Kiyoshi I. a. oth. *J. Japan. Zootechnica Sci.*, 1962, 33, 58.
 874. Kiyoshi I. a. oth. *J. Japan. Zootechnica Sci.*, 1962, 33, 64.
 875. Klausner D. A. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1964, 24, 101.
 876. Kline I. T. a. oth. *Endocrinology*, 1951, 48, 345.
 877. Klinefelter H. F. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1943, 3, 529.
 878. Klopper A. I. *J. Endocr.*, 1956, 13, 291.
 879. Klopper A. I. *J. obstet. gynaec. Brit. Emp.*, 1957, 64, 504.
 880. Klopper A. I. *Methods in hormone Res.*, 1962, 1, 139.
 881. Klopper A. I. a. oth. *J. Endocr.*, 1955, 12, 209.
 882. Klopper A. I. a. oth. *J. Endocr.*, 1956, 13, 360.
 883. Klopper A. I. a. oth. *J. Endocr.*, 1957, 15, 180.
 884. Klopper A. I. a. oth. *J. Endocr.*, 1959, 18, 319.
 885. Klopper A. I. a. oth. *J. Endocr.*, 1961, 22, XIV—XV.
 886. Klopper A. I. a. oth. *J. obstet. gynaec. Brit. Emp.*, 1963, 70, 1024.
 887. Klugsöyr L. a. oth. *Acta Endocr.*, 1955, 18, 288.
 888. Knappe G. u. a. *Klin. Wschr.*, 1961, 39, 971.
 889. Knauer E. *Arch. Gynäk.*, 1900, 60, 322.
 890. Knuppen R. u. a. *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, 1964, 337, 159.
 891. Knuppen R. a. oth. *J. Endocr.*, 1965, 33, 529.
 892. Knuppen R. a. oth. *Bioch. J.*, 1965, 96, 330.

893. Knight W. R. *Am. J. obstet. gynec.*, 1948, 56, 311.
 894. Knights B. A. a oth. *J. Endocr.*, 1962, 24, III—IV.
 895. Knobil E. *Endocrinology*, 1952, 50, 16.
 896. Knorr D. *Acta Endocr.*, 1963, 44, suppl. 84.
 897. Kober S. *Biochem. J.*, 1938, 32, 357.
 898. Koed H. J. a. oth. *Acta Endocr.*, 1965, 50, 1.
 899. Korenman S. G. a. oth. *J. clin. Invest.*, 1963, 42, 1753.
 900. Korte W. u. a. *Endocrinologie*, 1963, 45, 253.
 901. Kovacic N. *Proc. roy. Soc. Med.*, 1964, 57, 108.
 902. Kovacic N. a. oth. *Endocrinology*, 1961, 68, 356.
 903. Kraicer J. a. oth. *Endocrinology*, 1961, 69, 381.
 904. Kraychy S. a. oth. *J. Am. Chem. Soc.*, 1957, 79, 754.
 905. Krähenbühl C. a. oth. *Acta Endocr.*, 1964, 47, 457.
 906. Krejci M. E. a. oth. *Anat. rec.*, 1959, 133, 300.
 907. Krohn P. L. *J. Endocr.*, 1948, 5, XCI—XCII.
 908. Kroman H. S. a. oth. *Clin. chim. Acta*, 1964, 9, 73.
 909. Kubli F. u. a. *Klin. Wachr.*, 1963, 41, 861.
 910. Kulangara A. C. a. oth. *Endocrinology*, 1962, 71, 179.
 911. Kuroshima A. a. oth. *Endocrinology*, 1965, 76, 614.
 912. Kushima K. a. oth. *Tohoku J. Exp. Med.*, 1961, 74, 113.
 913. Kyle T. I. a. oth. *Biochem. J.*, 1951, 49, 80.
 914. Lajos L. et al. *Kiserl. orvostud.*, 1958, 10, 359.
 915. Lajos L. u. a. *Z. Geburtsh. Gynäk.*, 1962, 159, 308.
 916. Lajos L. a. oth. *J. obstet. gynaec. Brit. Comm.*, 1963, 70, 1016.
 917. Lamond D. R. *J. Endocr.*, 1960, 20, 277.
 918. Lamond D. R. a. oth. *Human pituitary gonadotropins*. Ed. Albert A. 1961, 121.
 919. Lamond D. R. a. oth. *J. Endocr.*, 1966, 34, 365.
 920. Landau R. L. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1955, 15, 1194.
 921. Landau R. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1957, 17, 177.
 922. Landau R. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1958, 18, 1237.
 923. Landau R. L. a. oth. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1958, 71, 588
 924. Landau B. a. oth. *Metabol. clin. exp.*, 1960, 9, 85.
 925. Langer L. J. a. oth. *J. biol. Chem.*, 1958, 233, 583.
 926. Lantbier A. a. oth. *Metabolism*, 1960, 9, 861.
 927. Laron Z. a. oth. *Acta endocr.*, 1963, 44, 75.
 928. Larsen J. F. a. oth. *Acta endocr.*, 1963, 43, 155.
 929. Lastra de la M. a. oth. *Nature*, 1964, 204, 583.
 930. Lauritzen Ch. *Z. Geburtsh. Gynäk.*, 1961, 157, 46.
 931. Lauritzen Ch. *Acta endocr.*, 1964, 45, 509.
 932. Lauritzen Ch. *Arch. Gynäk.*, 1965, 200, 495.
 933. Lauritzen Ch. a. oth. *Arch. Gyn.*, 1965, 200, 699.
 934. Lauritzen Ch. a. oth. *Arch. Gynec.*, 1965, 200, 578.
 935. Lawson D. E. M. a. oth. *Bioch. J.*, 1965, 96, 21P.
 936. Layne D. S. a. oth. *Nature*, 1958, 182, 50.
 937. Layne D. S. a. oth. *Biochem. J.*, 1958, 70, 244.
 938. Leatham J. H. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1959, 75, 463.
 939. Lendrum F. C. a. oth. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1936, 34, 394.
 940. Leon N. a. oth. *Acta Endocr.*, 1962, 39, 411.
 941. Leone U. *Monit. obstet. Gynec.*, 1963, 34, 258.
 942. Leoni R. a. oth. *Excerpta med.*, X, 1962, 15, 539.
 943. Lerner L. J. a. oth. *Endocrinology*, 1958, 63, 295.
 944. Lerner L. J. a. oth. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1963, 144, 115.

945. Levin L. *Endocrinology*, 1941, 28, 378.
946. Levin L. a. oth. *Endocrinology*, 1937, 21, 619.
947. Levitz M. a. oth. *Endocrinology*, 1956, 58, 376.
948. Levitz M. a. oth. *J. biol. Chem.*, 1956, 222, 981.
949. Levitz M. a. oth. *J. biol. Chem.*, 1958, 231, 787.
950. Lewis J. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1964, 24, 197.
951. Li Ch. H. *J. biol. Chem.*, 1957, 229, 153.
952. Li Ch. H. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1958, 98, 839.
953. Li C. H. *Human pituitary gonadotropins*. Ed. Albert A 1961, 364.
954. Li C. H. a. oth. *J. biol. Chem.*, 1958, 233, 73.
955. Lieberman S. a. oth. *J. biol. Chem.*, 1948, 172, 263.
956. Lieberman S. a. oth. *J. biol. Chem.*, 1950, 182, 299.
957. Lindell A. *Acta Endocr.*, 1964, 47, 277.
958. Lipp G. *Acta Endocr.*, 1960, 33, 501.
959. Lipschütz W. L. a. oth. *J. biol. Chem.*, 1939, 129, 333.
960. Lisk R. D. a. oth. *Science*, 1963, 139, 223.
961. Little B. a. oth. *Endocrinology*, 1964, 74, 1.
962. Little B. a. oth. *Acta Endocr.*, 1963, 43, 510.
963. Loeb L. *Zbl. allg. Path.*, 1907, 18, 563
964. Loeb *Zbl. Physiol.*, 1909, 23, 73.
965. Loke K. H. a. oth. *Biochim. Biophys. Acta*, 1957, 26, 230.
966. Loke K. H. a. oth. *Biochem. J.*, 1959, 71, 43.
967. Longchampt J. E. a. oth. *Endocrinology*, 1960, 66, 416.
968. Loraine J. A. *Endocrine aspects of breast cancer*. Ed. Currier. Edinburg — London, 1957, 158.
969. Loraine J. A. *Ciba found. coll. Endocr.*, 1957, 11, 19.
970. Loraine J. A. *Clinical application of hormone assay*. Edinburg — London, 1958.
971. Loraine J. A. a. oth. *J. Endocr.*, 1959, 18, 77.
972. Loraine J. A. a. oth. *Human pituitary gonadotropins*. Ed. Albert A., 1961, 196.
973. Loraine J. A. a. oth. *Progress in endocrinol.*, 11. Cambridge Univ. Press., 1961, 150.
974. Loraine J. A. a. oth. *Lancet*, 1963, 1, 1340.
975. Loraine J. A. a. oth. *Acta Endocr.*, 1965, 50, 15.
976. Loring J. M. a. oth. *Acta Endocr.*, 1957, 25, 371.
977. Lostroh A. J. *Acta Endocr.*, 1963, 43, 592.
978. Lostroh A. a. oth. *Acta Endocr.*, 1963, 44, 536.
979. Lostroh A. J. a. oth. *J. Endocr.*, 1963, 26, 215.
980. Louchart J. a. oth. *Acta Endocr.*, 1965, 49, 293.
981. Loufti G. a. oth. *Endocrinology*, 1962, 71, 983.
982. Luisi M. a. oth. *J. Chromatography*, 1965, 18, 278.
983. Luukkainen T. a. oth. *Biochim. Biophys. Acta*, 1962, 62, 153.
984. Luukkainen T., Adlercreutz H. *Biochim. Biophys. Acta*, 1963, 70, 700.
985. Luukkainen T. a. oth. *Biochim. Biophys. Acta*, 1965, 107, 579.
986. Lunaas T. *Acta endocr.*, 1963, 44, 529.
987. Lunenfeld B. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1962, 22, 555.
988. Lunenfeld B. a. oth. *J. Endocr.*, 1962, 24, XXXI.
989. Luitwak-Mann C. J. *Endocr.*, 1955, 13, 26.
990. Maddock W. O. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1951, 11, 769.
991. Mahesh V. B. a. oth. *Fertil. Steril.*, 1962, 13, 513.

992. Malburg R. F. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1954, 6, 666.
993. Malinov M. R. a. oth. *J. Endocr.*, 1960, 21, 1.
994. Malinov M. R. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1963, 23, 306.
995. Mancuso S. a. oth. *Acta Endocr.*, 1965, 49, 248.
996. Maner F. D. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1962, 22, 525.
997. Maner F. D. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1963, 23, 445.
998. Maqueo M. a. oth. *Am. J. obstet. gynec.*, 1963, 85, 427.
999. Marais W. D. a. oth. *South Afric. J. obstet. Gynec.*, 1965, 3, 41.
1000. Marescaux J. a. oth. *C. R. Soc. Biol.*, 1957, 151, 988.
1001. Markee J. E. *Am. J. Physiol.*, 1932, 100, 32.
1002. Markee J. E. *Am. J. Physiol.*, 1932, 100, 374.
1003. Marmorston J. a. oth. *Proc. Symp. atherosclerosis. Ed. Keys*, 1955.
1004. Marrian G. F. *Biochem. J.*, 1929, 23, 1090.
1005. Marrian G. F. *Progr. in endocr.*, 1961, 2, 1.
1006. Marrian G. F. a. oth. *Biochem. J.*, 1932, 26, 25.
1007. Marrian G. F. a. oth. *Biochem. J.*, 1955, 59, 136.
1008. Marrian G. F. a. oth. *Biochem. J.*, 1957, 66, 60.
1009. Marrian G. F. a. oth. *Biochem. J.*, 1957, 65, 12.
1010. Marshall F. H. A. a. oth. *J. Physiol.*, 1936, 86, 327.
1011. Martin L. J. *Endocr.*, 1960, 20, 187.
1012. Martin L. J. *Endocr.*, 1963, 26, 31.
1013. Martin L. J. *Endocr.*, 1964, 30, 337.
1014. Martin L. a. oth. *Nature*, 1958, 181, 620.
1015. Martin L. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1960, 20, 529.
1016. Martin M. M. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1961, 21, 923.
1017. Mason M. a. oth. *J. biol. Chem.*, 1960, 235, 1312.
1018. Mayfield J. D. a. oth. *Acta Endocr.*, 1966, 51, 557.
1019. McArthur J. W. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1958, 18, 460.
1020. McArthur J. W. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1958, 18, 1186.
1021. McArthur J. W. a. oth. *Human pituitary gonadotropins Ed. Albert A.* 1961, 201.
1022. McArthur J. W. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1964, 24, 425.
1023. McBride J. M. *J. clin. Endocr.*, 1957, 17, 1440.
1024. McCann S. M. *Am. J. Physiol.*, 1962, 202, 395.
1025. McCann S. M. *Am. J. Med.*, 1963, 34, 379.
1026. McCann S. M. a. oth. *Am. J. Physiol.*, 1960, 199, 847.
1027. McCann S. M. a. oth. *Endocrinology*, 1961, 68, 1071.
1028. McCorquodale D. W. a. oth. *J. biol. Chem.*, 1936, 115, 435.
1029. McCullagh P. *J. clin. Endocr.*, 1951, 11, 403.
1030. McGinty D. A. a. oth. *Endocrinology*, 1939, 24, 829.
1031. McKean C. M. *Am. J. obstet. gynec.*, 1960, 80, 596.
1032. McKerns K. W. a. oth. *Biochim. Biophys. Acta*, 1965, 104, 237.
1033. Melchior J. B. a. oth. *Cancer res.*, 1956, 16, 520.
1034. Mellinger R. C. a. oth. *Acta endocr.*, 1963, 42, 214.
1035. Menini E. *Bioch. J.*, 1965, 91, 15P.
1036. Menkes J. H. a. oth. *Endocrinology*, 1952, 50, 37.
1037. Menon K. M. a. oth. *Steroids*, 1965, suppl. I, 95.
1038. Meyer R. *Arch. Gynäk.*, 1911, 93, 354.
1039. Meyer A. S. *Biochim. Biophys. Acta*, 1955, 17, 441.
1040. Meyer J. E. a. oth. *Endocrinology*, 1960, 66, 121.

1041. Michie E. A. *Acta Endocrinol.*, 1966, 51, 535.
 1042. Migeon C. J. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1955, 15, 775.
 1043. Migeon C. J. a. oth. *J. clin. Invest.*, 1959, 38, 619.
 1044. Mihaly S. u. a. III Weltkongress Int. Feder. Geburtsch. Gynäk. B. I, Wien, 1961, 133.
 1045. Mikhail G. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1963, 23, 1267.
 1046. Mills I. H. a. oth. *Proc. roy. Soc. Med.*, 1959, 52, 1051.
 1047. Mills J. a. oth. *Endocrinology*, 1961, 69, 544.
 1048. Minoru Koima. III. Weltkongress Int. Feder. Geburtsh. Gynäk. B. 2. Wien, 1961, 293.
 1049. Mitchell F. L. *Nature*, 1952, 170, 621.
 1050. Mitchell F. L., Davis R. E. *Biochem. J.*, 1954, 56, 690.
 1051. Miyake T. *Endocrinology*, 1961, 69, 547.
 1052. Moll J. a. oth. *Acta Endocr.*, 1966, 51, 281.
 1053. Moore H. C. J. *obstet. gynaec. Brit. Comm.*, 1963, 70, 151.
 1054. Morgan C. F. *Endocrinology*, 1963, 73, 11.
 1055. Moritz P. M. a. oth. *J. Endocr.*, 1965, 33, VIII.
 1056. Morris C. G. O. R. *Acta Endocr.*, 1964, suppl. 90, 163.
 1057. Morse W. J. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1962, 22, 678.
 1058. Morse W. A. a. oth. *J. Endocr.*, 1963, 26, 25.
 1059. Mueller G. C. *The human adrenal cortex*. Edinburg — London, 1962, 129.
 1060. Mueller G. C. a. oth. *Fed. Proc.*, 1953, 12, 249.
 1061. Mueller G. C. a. oth. *Rec. Progr. hormone Res.*, 1958, 95.
 1062. Mueller G. C. a. oth. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1961, 47, 164.
 1063. Murata M. a. oth. *Litt. no Hamburger C.*, 1957.
 1064. Mutschler F. u. a. *Zbl. Gynäk.*, 1963, 85, 762.
 1065. Nabarro J. D. N. a. oth. *Lancet*, 1957, 273, 624.
 1066. Nair P. P. a. oth. *Anal. biochim.*, 1964, 7, 96.
 1067. Nalbandov A. V. *Reproductive physiology*. S. Francisco, 1958.
 1068. Nalbandov A. V. *Human pituitary gonadotropins*. Ed. Albert A. 1961, 339.
 1069. Nathanson I. T. a. oth. *Endocrinology*, 1939, 25, 754.
 1070. Nathanson I. T. a. oth. *Endocrinology*, 1941, 28, 851.
 1071. Nathanson I. T. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1952, 12, 1172.
 1072. Neil J. D. a. oth. *Steroids*, 1964, 4, 699.
 1073. Neri R. O. a. oth. *Endocrinology*, 1964, 74, 593.
 1074. Netter A. a. oth. *Ann. Endocr.*, 1958, 19, 789.
 1075. Nicol T. a. oth. *J. Endocr.*, 1964, 30, 277.
 1076. Nicol T. a. oth. *J. Endocr.*, 1966, 34, 163.
 1077. Nikitovich-Winer M. B. *Endocrinology*, 1962, 70, 350.
 1078. Nikitovich-Winer M. a. oth. *Nature*, 1957, 180, 1434.
 1079. Nikitovich-Winer M. a. oth. *Endocrinology*, 1958, 62, 522.
 1080. Nissen-Meyer R. a. oth. *Acta Endocr.*, 1963, 44, 334.
 1081. Nissen-Meyer R. a. oth. *Acta Endocr.*, 1963, 44, 325.
 1082. Noach E. L. a. oth. *Acta endocr.*, 1958, 27, 502.
 1083. Noall M. W. *Biochim. Biophys. Acta*, 1960, 40, 180.
 1084. Noble R. L. a. oth. *J. Endocr.*, 1939, 1, 22.
 1085. Nocke W. *Biochem. J.*, 1961, 78, 593.
 1086. Nocke W. a. oth. *Acta Endocr.*, 1961, 36, 393.
 1087. Nocke W. a. oth. *Acta endocr.*, 1963, 44, 67.

1088. Noteboom W. D., Gorski J. Arch. Biochem. Biophys., 1965, 111, 559.
1089. Novak E. a. oth. JAMA, 1933, 101, 1057.
1090. Noyes R. W. a. oth. J. Endocr., 1959, 18, 165.
1091. Ober K. G. Geburtsh. Frauenklinik, 1949, 10, 726.
1092. Ober K. G. Biologie u. Pathologie des Weibes, B. II. München, 1952, 725.
1093. Odell A. D. a. oth. Biochem. J., 1936, 30, 1533.
1094. O'Donnell V. a. oth. In: Hormones in blood. N. Y.-London, 1961, 303.
1095. Oertel G. et. al. J. Clin. endocr., 1959, v. 19, 1619.
1096. Oertel G. W. a. oth. Acta Endocr., 1965, 49, 533.
1097. Oestergaard E. J. clin. Endocr., 1947, 7, 438.
1098. Oliver M. F. a. oth. Lancet, 1956, 271, 1273.
1099. Oliver M. F. a. oth. Lancet, 1961, 2, 499.
1100. Overbeek G. A. a. oth. Acta Endocr., 1958, 27, 73.
1101. Overholser M. D. a. oth. Proc. Soc. exp. Biol., 1936, 34, 839.
1102. Ozon R. u. a. Hoppe-Seyl. Z. Physiol. Chemie., 1963, 333, 282.
1103. Paesi F. J. A. a. oth. Acta Endocr., 1951, 8, 251.
1104. Paesi F. J. A. a. oth. Acta Endocr., 1960, 35, 235.
1105. Palmer A. Am. J. obstet. gynec., 1939, 37, 492.
1106. Paola G. Am. J. obstet. gynec., 1963, 85, 421.
1107. Pappkoff H. Acta Endocr., 1965, 48, 439.
1108. Parada J. a. oth. Acta Endocr., 1960, 35, 211.
1109. Parker F. a. oth. Endocrinology, 1938, 23, 492.
1110. Parlow A. F. Fed. Proc., 1958, 17, 402.
1111. Parlow A. F. In Human pituitary gonadotropins. Ed. Albert A. 1961, 300.
1112. Parlow A. F. Endocrinology, 1963, 73, 456.
1113. Parlow A. F. Endocrinology, 1964, 75, 1.
1114. Parlow A. F. Endocrinology, 1964, 74, 489.
1115. Parlow A. F. a. oth. Endocrinology, 1963, 72, 955.
1116. Patti A. A. a. oth. Acta Endocr., 1963, 42, suppl. 77.
1117. Paulsen C. A. Metabolism, 1965, 14, 313.
1118. Paulsen C. A. a. oth. J. clin. Endocr., 1955, 15, 846.
1119. Paulsen C. A. a. oth. J. Am. Geriatr. Soc., 1958, 6, 803.
1120. Payne R. W. a. oth. Endocrinology, 1956, 59, 306.
1121. Payne R. W. a. oth. Endocrinology, 1959, 65, 389.
1122. Payne A. H. a. oth. Biochim. Biophys. Acta, 1963, 71, 719.
1123. Pearlman W. H. Ciba found. coll. Endocr., 1957, 11, 233.
1124. Pearlman W. H. Biochem. J., 1957, 67, 1.
1125. Pearlman W. H. a. oth. J. biol. Chem., 1954, 209, 803.
1126. Pearson O. H. Arch. intern. Med., 1957, 100, 724.
1127. Pedersen-Bjergaard K., Tønnesen M. Acta Endocr., 1948, 1, 38.
1128. Pencharz R. I. Science, 1940, 91, 554.
1129. Persky H. a. oth. J. clin. Endocr., 1964, 24, 319.
1130. Peterson R. a. oth. J. clin. Endocr., 1960, 20, 495.
1131. Petersohn K. L. Z. Geburtsh. Gynäk., 1961, 157, 296.
1132. Pick R. J. a. oth. Circulation, 1951, 4, 468.
1133. Philipp E. Zbl. Gynäk., 1930, 54, 1858.
1134. Pincus G. Hormone and ageing process. Ed. Engl a. Pincus, 1956, 1.
1135. Pincus G. a. oth. Endocrinology, 1957, 61, 528.

1136. Piotti L. E. a. oth. *Folia Endocr.*, 1959, 12, 573.
1137. Piroth M. *Endocrinology*, 1961, 40, 280.
1138. Plotz E. J. a. oth. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1957, 95, 92.
1139. Pochi P. E. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1965, 26, 1660.
1140. Pratt J. P. *Endocrinology*, 1927, 11, 195.
1141. Preedy J. R. K. a. oth. *Lancet*, 1957, 1, 191.
1142. Preedy J. R. K. a. oth. *J. biol. Chem.*, 1961, 236, 1300.
1143. Presl J. a. oth. *J. Endocr.*, 1963, 26, 287.
1144. Presl J. a. oth. *J. Endocr.*, 1965, 31, 293.
1145. Puck A. *Arch. Gynäk.*, 1957, 189, 278.
1146. Puebla R. A. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1964, 24, 863.
1147. Purdy R. H. a. oth. *J. biol. Chem.*, 1961, 236, 1043.
1148. Purves H. D. a. oth. *Endocrinology*, 1955, 56, 374.
1149. Puttarajurs B. V. a. oth. *J. Endocr.*, 1959, 18, 67.
1150. Quilligan E. J. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1957, 17, 595.
1151. Quinn D. L. a. oth. *Endocrinology*, 1964, 74, 309.
1152. Rabinowitz J. L. *Am. J. Chem. Soc.*, 1955, 77, 1295.
1153. Rafelson M. E. a. oth. *Bioch. Biophys. Acta*, 1961, 47, 406.
1154. Rakha A. M. a. oth. *J. Endocr.*, 1965, 31, 245.
1155. Ramirez D. V. a. oth. *Endocrinology*, 1963, 72, 452.
1156. Ramirez D. V. a. oth. *Endocrinology*, 1965, 76, 1158.
1157. Ramirez D. V. a. oth. *Endocrinology*, 1965, 76, 282.
1158. Ramirez D. V. a. oth. *Endocrinology*, 1965, 76, 412.
1159. Randolph P. W. a. oth. *Endocrinology*, 1959, 65, 433.
1160. Ranney R. E. a. oth. *Endocrinology*, 1958, 62, 828.
1161. Rao L. G. S. a. oth. *Biochem. J.*, 1965, 96, 172.
1162. Reichert L. E. *Biochim. Biophys. Acta*, 1961, 53, 586.
1163. Reichert L. E. *Endocrinology*, 1962, 71, 729.
1164. Reichert L. E. a. oth. *Endocrinology*, 1963, 73, 224.
1165. Reichert L. E. a. oth. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1964, 115, 286.
1166. Reichert L. E. a. oth. *Endocrinology*, 1964, 75, 815.
1167. Reichert L. E. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1964, 24, 1040.
1168. Reichert L. E. a. oth. *Endocrinology*, 1965, 77, 78.
1169. Reisfeld R. A. a. oth. *Biochim. Biophys. Acta*, 1960, 43, 541.
1170. Reiss M. a. oth. *J. Endocr.*, 1963, 27, 107.
1171. Reiss M. a. oth. *J. Endocr.*, 1964, 29, 83.
1172. Rennie P. a. oth. *Endocrinology*, 1964, 75, 622.
1173. Rennie P. a. oth. *J. Endocr.*, 1965, 76, 535.
1174. Reynolds S. R. M. *Science*, 1938, 87, 537.
1175. Rice B. F. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1964, 24, 606.
1176. Rice B. F. a. Savaard K. J. *clin. Endocr.*, 1966, 26, 593.
1177. Riddle O. a. oth. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1932, 29, 1211.
1178. Riddle O. a. oth. In: *Sex and internal secretion*. Ed. Allen. 1939, 1088.
1179. Rigas D. A. a. oth. *Endocrinology*, 1958, 62, 738.
1180. Riggs T. R. a. oth. *Endocrinology*, 1964, 74, 483.
1181. Riondel A. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1965, 25, 229.
1182. Roberts S. a. oth. *Physiol. rev.*, 1953, 33, 593.
1183. Roberts S. a. oth. *J. biol. Chem.*, 1953, 201, 21.
1184. Roberts S. a. oth. *Rec. Progr. hormone Res.*, 1957.
1185. Robertson G. L. a. oth. *Science*, 1961, 134, 1986.
1186. Robertson H. A. a. *Hatchinson J. J. Endocr.*, 1962, 24, 143.
1187. Robertson J. G. J. *Obst. Gyn. Brit. Commonw.*, 1963, 70, 422.

1188. Robinson R. W. a. oth. Arch. intern. med., 1957, 100, 739.
 1189. Robinson R. W. a. oth. Arch. intern. med., 1959, 104, 908.
 1190. Robinson R. W. a. oth. New Engl. J. Med., 1960, 263, 828.
 1191. Robson J. M. J. Physiol., 1937, 90, 435.
 1192. Robson J. M. J. Physiol., 1938, 92, 371.
 1193. Robson J. M. J. Physiol., 1939, 96, 21 P.
 1194. Robson J. M. a. oth. Brit. med. J., 1934, 1, 888.
 1195. Robey M. a. oth. Bull. Fédér. Soc. Gynec. Obstet., 1955, 7, 530.
 1196. Rodgers J. a. oth. J. clin. Endocr., 1951, 11, 247.
 1197. Roel H. a. oth. J. biol. Chem., 1943, 174, 399.
 1198. Romanoff L. P. a. oth. J. clin. Endocr., 1963, 23, 286.
 1199. Rosemberg E. a. oth. Endocrinology, 1957, 61, 337.
 1200. Rosemberg E. a. oth. J. clin. Endocr., 1960, 20, 1576.
 1201. Rosemberg E. a. oth. J. clin. Endocr., 1962, 22, 953.
 1202. Rosemberg E. a. oth. Fertil. Steril., 1962, 13, 220.
 1203. Rosemberg E. a. oth. J. clin. Endocr., 1964, 24, 105.
 1204. Rosemberg E. a. oth. J. clin. Endocr., 1964, 24, 644.
 1205. Rosemberg E. a. oth. Endocrinology, 1965, 76, 1150.
 1206. Rosemberg E. a. oth. J. clin. Endocr., 1965, 25, 1609.
 1207. Rosemberg E. a. oth. J. clin. Endocr., 1965, 25, 1262.
 1208. Rothchild I. Endocrinology, 1960, 67, 54.
 1209. Rothchild I. Endocrinology, 1960, 67, 1.
 1210. Rothchild I. Endocrinology, 1962, 70, 303.
 1211. Rothchild I. Acta Endocr., 1965, 49, 107.
 1212. Rothchild I. a. oth. Endocrinology, 1960, 67, 122.
 1213. Routier M. M. G. et al. Ann. Endocr. (Paris), 1964, 26, 680.
 1214. Roy E. G. J. Endocr., 1962, 25, 361.
 1215. Roy E. I. J. Obstet. Gynaec. Brit. Emp., 1962, 69, 196.
 1216. Roy E. I. a. oth. J. Endocr., 1960, 21, 9.
 1217. Roy E. I. a. oth. J. Obstet. Gynaec. Brit. Comm., 1962, 69, 13.
 1218. Roy S. a. oth. Fertil. Steril., 1963, 14, 575.
 1219. Roy E. I. a. oth. J. Obstet. Gynaec. Brit. Comm., 1963, 70, 597.
 1220. Roy E. I. a. oth. J. Obstet. Gynaec. Brit. Comm., 1963, 70, 1034.
 1221. Röttger H. u. a. Gynäkologie, 1957, 190, 95.
 1222. Rubin B. L. a. oth. Steroids, 1965, Suppl. 1, 121.
 1223. Rubin B. L. a. oth. Endocrinology, 1965, 76, 382.
 1224. Ryan K. J. Endocrinology, 1958, 63, 393.
 1225. Ryan K. J. J. biol. Chem., 1959, 234, 268.
 1226. Ryan K. J. J. Biol. Chem., 1959, 234, 2006.
 1227. Ryan K. Acta Endocr., 1963, 44, 81.
 1228. Ryan K. J. a. oth. Endocrinology, 1953, 52, 287.
 1229. Ryan K. J. a. oth. Endocrinology, 1956, 59, 499.
 1230. Ryan K. J. a. oth. J. biol. Chem., 1961, 236, 705.
 1231. Ryan K. J. a. oth. J. biol. Chem., 1961, 236, 710.
 1232. Ryan K. J. J. clin. Endocr., 1962, 22, 300.
 1233. Ryan K. J. a. oth. J. clin. Endocr., 1966, 26, 46.
 1234. Ryan G. M. a. oth. Am. J. obstet. Gynec., 1966, 94, 515.
 1235. Saameli K. u. a. Gynaekologia, 1959, 148, 108.
 1236. Sakiz E. a. oth. Endocrinology, 1963, 72, 804.
 1237. Salhanick H. A. In: Human pituitary gonadotropins. Ed. Albert A. 1961, 90.

1238. Salhanick H. A. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1952, 12, 310.
 1239. Salhanick H. A. a. oth. *J. biol. Chem.*, 1957, 227, 583.
 1240. Salokangas R. A. A. a. oth. *J. Endocr.*, 1961, 22, 47.
 1241. Salmi H. A. a. oth. *Acta Endocr.*, 1959, 30, 154.
 1242. Salvadori B. et al. *Riv. obstet. ginec.*, 1957, 12, 446.
 1243. Salzberger M. a. oth. *Am. J. obstet. gynec.*, 1963, 86, 899.
 1244. Sandberg A. A. a. oth. *Rec. Progr. hormone Res.*, 1957, 13, 209.
 1245. Sandberg H. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1958, 18, 1268.
 1246. Saunders E. J. a. oth. *Rec. progr. endocrinol. reproduction*, ed. Lloyd. 1959, 227.
 1247. Savard K. a. oth. *J. biol. Chem.*, 1958, 231, 765.
 1248. Savard K. a. oth. *Endocrinology*, 1964, 74, 599.
 1249. Southren A. L. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1961, 21, 675.
 1250. Sawyer C. H. a. Markee. *Endocrinology*, 1959, 65, 614.
 1251. Sawyer C. H. a. oth. *Endocrinology*, 1959, 65, 644.
 1252. Schaffnungburg J. a. oth. *Endocrinology*, 1954, 54, 296.
 1253. Schally A. V. a. Bowers C. Y. *Endocrinology*, 1964, 75, 312.
 1254. Schild W. u. a. *Arch. Gynäk.*, 1966, 203, 39.
 1255. Schiavi R. a. oth. *Proc. soc. exp. bio. med.*, 1963, 114, 426.
 1256. Schmidt W. *Zbl. Gynäk.*, 1962, 84, 179.
 1257. Schmidt-Elmendorff H. W. *Acta Endocr.*, 1961, 38, 527.
 1258. Schmidt-Elmendorff H. W. a. oth. *J. Endocr.*, 1962, 23, 413.
 1259. Schmidt-Elmendorff H. W. a. oth. *J. Endocr.*, 1962, 24, 349.
 1260. Schmidt-Elmendorff H. a. oth. *J. Endocr.*, 1962, 24, 349.
 1261. Schmidt-Elmendorff H. a. oth. *Arch. Gynäk.*, 1965, 200, 182.
 1262. Schneider W. G. a. oth. *Acta Endocr.*, 1955, 20, 286.
 1263. Schou H. I. *Acta Endocr.*, 1951, 8, 149.
 1264. Schuetz A. W. a. oth. *Endocrinology*, 1964, 75, 383.
 1265. Schuetz A. W. a. oth. *Fed. proc.*, 1964, 23, 410.
 1266. Schumacher G. *Naturwissenschaften*, 1960, 47, 517.
 1267. Schwers I. a. oth. *Bioch. Biophys. Acta*, 1965, 100, 313.
 1268. Scott D. B. M. a. oth. *Biochem. J.*, 1960, 77, 52.
 1269. Seeman A. et al. *Ann. Endocr.*, Paris, 1964, 25, 2, 131.
 1270. Segaloff A. In: *Human pituitary gonadotropins*. Ed. Albert A. 1961, 184.
 1271. Segaloff A. a. oth. *Rec. Progr. hormone Res.*, 1959, 15, 127.
 1272. Severinghaus A. E. *Am. J. Physiol.*, 1932, 101, 309.
 1273. Severinghaus A. E. *Physiol. rev.*, 1937, 17, 556.
 1274. Severinghaus A. E. In: *Sex and internal secretion*. Ed. Allen, 1939, 1045.
 1275. Sharma D. C. a. oth. *Acta Endocr.*, 1965, 50, 439.
 1276. Shearman R. P. *J. Obstet. Gynaec. Brit. Emp.*, 1959, 66, 1.
 1277. Shen N. H. *Ch. J. Lab. clin. Med.*, 1963, 61, 174.
 1278. Short R. V. *J. Endocr.*, 1958, 16, 415.
 1279. Short R. V. *J. Endocr.*, 1960, 20, 147.
 1280. Short R. V. In: *Hormones in blood*. N. Y. — London, 1961, 379.
 1281. Short R. V. *J. Endocr.*, 1962, 24, 359.
 1282. Short R. V. *J. Endocr.*, 1962, 23, 401.

1283. Short R. V. J. *Endocr.*, 1962, 24, 59.
1284. Short R. V. a. oth. *J. Endocr.*, 1959, 18, 418.
1285. Short R. V. a. oth. *Brit. med. J.*, 1961, 241, 1724.
1286. Short R. V. a. oth. *J. Endocr.*, 1961, 22, 15.
1287. Short R. V. a. oth. *J. Endocr.*, 1962, 25, 239.
1288. Siebke P., Schuschania P. *Zbl. Gynäk.*, 1930, 54, 1734.
1289. Siegel E. T. a. oth. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1961, 111, 533.
1290. Siegler S. L. a. oth. *Am. J. obstet. gynec.*, 1939, 38, 1021.
1291. Bilberberg M. a. oth. *Endocrinology*, 1963, 72, 449.
1292. Simpson M. E. In: *Human pituitary gonadotropins*. Ed. Albert A. 1961, 352.
1293. Simpson M. E. a. oth. *Endocrinology*, 1951, 48, 370.
1294. Simpson M. E. a. oth. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1956, 91, 6.
1295. Slaunwhite W. R. a. oth. *Arch. Biochem.*, 1956, 63, 478.
1296. Slaunwhite W. R. a. oth. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1959, 101, 544.
1297. Slaunwhite W. R. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1960, 20, 786.
1298. Slaunwhite W. R. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1964, 24, 263.
1299. Slaunwhite W. R. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1964, 24, 638.
1300. Smith P. E. *Anat. rec.*, 1926, 32, 221.
1301. Smith P. E. In: *Sex and internal secretion*. ed. Allen et al. Baltimore, 1939, 931.
1302. Smith G. V. a. oth. *Am. J. Physiol.*, 1931, 98, 578.
1303. Smith G. V. a. oth. *New Engl. J. Med.*, 1936, 215, 908.
1304. Smith O. W. *Endocrinology*, 1960, 67, 698.
1305. Smith G. V. a. oth. *Am. J. obstet. gynec.*, 1938, 36, 769.
1306. Smith O. W. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1946, 6, 483.
1307. Smith O. W. a. oth. *Proc. Soc. exp. Biol.*, N. Y., 1954, 85, 264.
1308. Smith O. W. a. oth. *Acta Endocr.*, 1957, 25, 133.
1309. Smith O. W. a. oth. *Am. J. obstet. gynec.*, 1959, 78, 1028.
1310. Smith O. W. a. oth. *Endocrinology*, 1961, 69, 869.
1311. Smith O. W. a. oth. *Am. J. obstet. Gynec.*, 1962, 84, 141.
1312. Smith O. W. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1963, 23, 1141.
1313. Smith O. W. a. oth. *Endocrinology*, 1963, 73, 619.
1314. Smith O. W. a. oth. *Acta Endocr.*, 1963, 44, 519.
1315. Smith O. W. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1965, 25, 732.
1316. Smith O. W. *Am. J. obstet. gynec.*, 1966, 94, 440.
1317. Smith B. D. *Endocrinology*, 1961, 69, 238.
1318. Snook R. a. oth. *Endocrinology*, 1964, 74, 52.
1319. Soffer L. J. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1961, 21, 1267.
1320. Soffer L. J. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1963, 22, 532.
1321. Soffer L. J. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1963, 23, 870.
1322. Soffer L. J. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1964, 24, 656.
1323. Soffer L. J. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1964, 24, 651.
1324. Soffer L. a. oth. *Acta Endocr.*, 1965, 48, 561.
1325. Sokoloff A. *Arch. Gynäk.*, 1896, 51, 286.
1326. Soliman F. A. *Nature*, 1960, 185, 321.
1327. Solomon S. a. oth. *J. Am. Chem. Soc.*, 1956, 78, 5453.
1328. Sommerville I. F. *J. clin. Endocr.*, 1957, 17, 317.
1329. Sommerville I. F. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1958, 18, 1223.
1330. Sommerville I. F. a. oth. *Acta Endocr.*, 1963, 43, 101.
1331. Soszka S. *Endocrinologie*, 1964, 46, 97.
1332. Southam A. L., Janovski N. A. *JAMA*, 1962, 181, 443.

1333. Spain D. M. a. oth. Am. J. Med. Sci., 1959, 238, 584.
1334. Spaziani E. a. oth. Am. J. Physiol., 1959, 197, 355.
1335. Spitzer R. S. a. oth. Am. Heart J., 1957, 53, 805.
1336. Squire Ph. G., Li C. H. Science, 1958, 127, 32.
1337. Squire Ph. G. a. oth. Biochemistry, 1962, 1, 412.
1338. Staemmler H. J. Klin. Wschr., 1960, 38, 940.
1339. Staemmler H. J. Z. Geburtsh. Gynäk., 1961, 156, 144.
1340. Stamler J. a. oth. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1956, 64, 596.
1341. Stamler J. a. oth. JAMA, 1963, 183, 632.
1342. Stanfield D. A., Robinson J. W. Endocrinology, 1965, 76, 390.
1343. Starka L. a. oth. Endocrinology, 1962, 43, 201.
1344. Starka L. a. oth. J. Endocr., 1966, 34, 57.
1345. Staub M. C. a. oth. J. clin. Endocr., 1962, 22, 87.
1346. Steelman S. L., Pohley F. M. Endocrinology, 1953, 53, 604.
1347. Steelman S. L. a. oth. Rec. Progr. hormone Res., 1959, 15, 115.
1348. Steelman S. L. a. oth. Endocrinology, 1955, 56, 216.
1349. Stegmann H. Geburtsh. Gynäk., 1960, 154, 200.
1350. Steinach E. a. oth. Lancet, 1937, 233, 845.
1351. Sterescu N. Studii cercet. endocr., 1963, 14, 175.
1352. Stevens V. C. a. oth. Metabolism, 1965, 14, 327.
1353. Stevenson I. H. a. oth. Biochem. J., 1962, 82, 330.
1354. Stimmel B. J. biol. Chem., 1946, 165, 73.
1355. Stimmel B. F. Fertil. Steril., 1959, 10, 91.
1356. Stitch S. R. a. oth. Biochem. J., 1963, 88, 70.
1357. Stora C. Ann. Endocr., 1961, 22, 830.
1358. Stone G. M. J. Endocr., 1963, 27, 281.
1359. Stone G. M. Acta Endocr., 1964, 47, 433.
1360. Stormshok F., Casida L. E. Endocrinology, 1964, 75, 321.
1361. Stone G. M. a. oth. J. Endocr., 1963, 27, 271.
1362. Stöa K. F. a. oth. Acta Endocr., 1957, 24, suppl. 31, 209.
1363. Stöa K. F. a. oth. Acta Endocr., 1962, 41, 481.
1364. Straup J. Acta Endocr., 1966, 51, 469.
1365. Strauss W. F. a. oth. Science, 1962, 137, 860.
1366. Stroe E. et al. Studii cercet. endocr., 1957, 3, 343.
1367. Struck H. Hoppe-Seyl. Z. physiol. Chemie, 1963, 333, 89.
1368. Stucki J. C. Proc. Soc. exp. Biol., 1958, 99, 500.
1369. Studnitz W. a. oth. Acta Endocr., 1958, 27, 245.
1370. Sulimovici S. a. oth. Acta Endocr., 1965, 49, 97.
1371. Suzuki M. a. oth. Tonoku J. exp. Med., 1962, 76, 89.
1372. Suzuki M. a. oth. Endocrinology, 1965, 76, 1205.
1373. Svedsen R. Acta Endocr., 1960, 35, 161.
1374. Sweat M. L. a. oth. Biochim. Biophys. Acta, 1960, 40, 289.
1375. Swelheim T. Acta Endocr., 1965, 49, 231.
1376. Szego C. a. oth. Proc. Soc. exp. Biol., 1946, 61, 161.
1377. Szego C. M. a. oth. J. biol. Chem., 1956, 221, 619.
1378. Szego C. M. a. oth. Endocrinology, 1964, 74, 372.
1379. Taira A. M., Tarkhan A. A. Acta Endocr., 1962, 40, 175.
1380. Takayanagi M., Shikoku Acta med., 1964, 20, 87.
1381. Talaat M. a. oth. Arch. intern. pharmacodyn., 1960, 123, 490.
1382. Talalay P. a. oth. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1958, 44, 15.
1383. Talbot N. B. a. oth. J. clin. Endocr., 1941, 1, 668.

1384. Taleisnic S. a. oth. *Endocrinology*, 1961, 68, 263.
1385. Tamaoki B. I., Pincus G. *Endocrinology*, 1961, 69, 527.
1386. Taylor E. S. a. oth. *Am. J. obstet. gynec.*, 1963, 85, 10.
1387. Taymor M. L. In: *Rec. progr. endocr. reproduction*, 1959, 80.
1388. Taymor M. L. III Weltkongress Int. Feder. Geburtsh. Gynäk., B. I. Wien, 1961, 176.
1389. Taymor M. L. *J. clin. Endocr.*, 1961, 21, 976.
1390. Taymor M. L. a. oth. *Fertil. Steril.*, 1963, 14, 603.
1391. Taymor M. L. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1965, 25, 843.
1392. Telium G. *J. clin. Endocr.*, 1949, 9, 301.
1393. Telegdy G. et al. *Acta physiol. acad. sci. Hung.*, 1962, 21, 339.
1394. Telegdy G. a. oth. *Acta Endocr.*, 1963, 44, 461.
1395. Telegdy G. и др. (Телегди Д., Эндреци Е., Лишак К.). Пробл. эндокр., 1964, 1, 103.
1396. Telfer M. A. a. oth. *Acta Endocr.*, 1957, 25, 390.
1397. Temple S. a. oth. *J. biol. Chem.*, 1960, 235, 1504.
1398. Thayer S. A. a. oth. *J. biol. Chem.*, 1931, 91, 655.
1399. Thewalt K. a. oth. *Acta Endocr.*, 1961, 38, 121.
1400. Thorn G. W. a. oth. *Science*, 1937, 86, 40.
1401. Thyssen J. H. H. a. oth. *Acta Endocr.*, 1966, 51, 563.
1402. Thorsen T. a. oth. *Acta Endocr.*, 1964, 45, 415.
1403. Timonen S. a. oth. *Acta Endocr.*, 1965, 49, 393.
1404. Tokushima S. *Nature*, 1958, 181, 768.
1405. Torchi M., Vivan A. *Monit. ost. ginec.*, 1959, 30, 67.
1406. Trachewsky D., Hobkirk R. *Biochim. Biophys. Acta*, 1963, 71, 748.
1407. Troen P. *J. clin. Endocr.*, 1961, 21, 895.
1408. Troen P. a. oth. *Acta Endocr.*, 1961, 38, 361.
1409. Trolle D. *Acta Endocr.*, 1955, 19, 363.
1410. Tsumuji Y. III Weltkongress Int. Feder. Geburtsh. Gynäk., B. I. Wien, 1961, 119.
1411. Ui H., Mueller G. C. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1963, 50, 256.
1412. Ullberg S., Bengtsson G. *Acta Endocr.*, 1963, 43, 75.
1413. Ungar F. a. oth. *Endocrinology*, 1951, 49, 440.
1414. Van Dyke H. B. a. oth. *Endocrinology*, 1950, 46, 563.
1415. Vanden Deesche u. a. *Geburtshilfe u. Frauenh.*, 1962, 22, 936.
1416. Van Hell H. a. oth. *Acta Endocr.*, 1964, 47, 409.
1417. Van der Molen H. J. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1965, 25, 1625.
1418. Van der Molen H. J. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1965, 25, 170.
1419. Van Rees G. P. *Acta endocr.*, 1961, 36, 485.
1420. Van Rees G. P. a. oth. *Acta endocr.*, 1962, 39, 103.
1421. Van der Werfften Bosch J. J. *J. Endocr.*, 1963, 26, 113.
1422. Varangot J. a. oth. *C. R. Soc. biol.*, 1957, 151, 2125.
1423. Varangot J. a. oth. *C. R. Soc. biol.*, 1957, 151, 1675.
1424. Varangot a. oth. *C. R. Soc. biol.*, 1959, 153, 1551.
1425. Varangot J. et al. *Pathologie et Biologie*, 1959, 7, 423.
1426. Varangot J. a. oth. *Ann. Endocr.*, 1962, 23, 45.
1427. Varangot J. a. oth. *Am. J. Obstet. Gynec.*, 1965, 92, 534.
1428. Vasington F. a. oth. *Endocrinology*, 1958, 62, 557.

1429. Velardo J. T. *Am. J. Physiol.*, 1956, 186, 468.
1430. Velardo J. T. In: *The endocrinology of reproduction*. Ed. Velardo. N. Y., 1958, 101.
1431. Velardo J. T. *Excerpta med.*, 1960, 111, 14, 1437.
1432. Velardo J. T. I *Internat. congress endocr. Cbh.*, 1960, 167.
1433. Venning E. H. *J. biol. Chem.*, 1937, 119, 473.
1434. Venning E. H. a. oth. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1936, 34, 792.
1435. Venning E. H. a. oth. *Endocrinology*, 1937, 21, 711.
1436. Vignes P. III *Weltkongress Int. Feder. Geburtsh. Gynäk.* B. I. Wien, 1961, 69.
1437. Ville C. A. *Fertil. Steril.*, 1957, 8, 156.
1438. Ville C. A. a. oth. *J. biol. Chem.*, 1958, 233, 42.
1439. Volfin P. a. oth. *Biochim. Biophys. Acta*, 1957, 24, 137.
1440. Vorys N. a. oth. *Am. J. Obstet. Gynec.*, 1965, 93, 641.
1441. Wagner H. *Endocrinologie*, 1959, 38, 137.
1442. Wagner H. Z. *Geburtsh. Gynäk.*, 1961, 156, 257.
1443. Wakabayashi M. a. oth. *J. biol. Chem.*, 1961, 236, 996.
1444. Wakita T. *Shikoku Acta med.*, 1964, 20, 131.
1445. Walaas O. a. oth. *Acta Endocr.*, 1952, 10, 201.
1446. Waldi D. *Klin. Wschr.*, 1962, 40, 827.
1447. Wall P. E., Migeon C. J. *J. clin. Endocr.*, 1959, 38, 611.
1448. Walter K. J. *Endocr.*, 1957, 15, 119.
1449. Walter K. a. oth. *Acta Endocr.*, 1961, 38, 181.
1450. Ward D. N. a. oth. *Biochim. Biophys. Acta*, 1959, 32, 305.
1451. Ward R. I. a. oth. *J. Endocr.*, 1963, 26, 139.
1452. Warren M. D., Hilton A. J. *clin. Endocr.*, 1961, 21, 1218.
1453. Weber J. *Acta obstet. gynec. Scand.*, 1961, 40, 139.
1454. Wells M. J. *Endocr.*, 1965, 33, 155.
1455. Werner S. C. J. *clin. Invest.*, 1941, 20, 21.
1456. Werner R. *Arch. Gynäk.*, 1965, 200, 191.
1457. West C. D. a. oth. *J. biol. Chem.*, 1956, 218, 409.
1458. West C. D. a. oth. *J. clin. Endocr.*, 1958, 18, 15.
1459. West C. D. a. oth. *J. clin. Invest.*, 1958, 37, 341.
1460. Westerfeld W. W. a. oth. *J. biol. Chem.*, 1938, 126, 181.
1461. Westphal U. a. oth. *Science*, 1955, 121, 601.
1462. Westphal U. a. oth. *J. biol. Chem.*, 1959, 234, 2847.
1463. Westphal J. a. oth. *Endocrinology*, 1963, 73, 504.
1464. Westman A. *Arch. Gynäk.*, 1934, 58, 476.
1465. Whitelaw M. L. u. a. III *Weltkongress Int. Feder. Geburtsh. Gynäk.*, B. I. Wien, 1961, 170.
1466. Wide L. *Acta Endocr.*, 1962, 41, suppl. 70.
1467. Wide L., Gemzell C. *Acta Endocr.*, 1960, 35, 261.
1468. Wide L., Gemzell C. *Acta Endocr.*, 1962, 39, 539.
1469. Wide L., Ross P., Gemzell C. *Acta Endocr.*, 1961, 37, 445.
1470. Wide a. oth. *Nature*, 1965, 205, 191.
1471. Wieser P. *Arch. Gynäk.*, 1965, 200, 237.
1472. Wiest W. G. *J. biol. Chem.*, 1959, 234, 3115.
1473. Wiest W. G. *J. biol. Chem.*, 1963, 238, 94.
1474. Wiest W. G. a. oth. *Endocrinology*, 1963, 73, 588.
1475. Williams P. S. *Nature*, 1940, 145, 388.
1476. Wilson J. D. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1963, 50, 93.
1477. Winkler H., Binder A. *Arch. Gynäk.*, 1939, 169, 552.
1478. Wintersteiner O., Allen W. M. *J. biol. Chem.*, 1934, 107.
1479. Whitacre F. E., Barrera B. *JAMA*, 1944, 124, 399.

1480. Qitschi E. In: Human pituitary gonadotropins. 1961. 349.
1481. Witschi E., Levine W. T. Proc. Soc. exp. Biol., 1934, 32, 101.
1482. Wolf A. Nature. 1963, 198, 1308.
1483. Wood C., Elstein M. J. Am. obstet. gynec., 1963, 70, 839.
1484. Woods M., Simpson M. E. Endocrinology, 1961, 68, 647.
1485. Woods M., Simpson M. E. Endocrinology, 1961, 69, 91.
1486. Woolever C. A. Am. J. obstet. gynec., 1963, 85, 981.
1487. Woolever C. A. a. oth. Internat. J. App. Radiation and Isotopes, 1963, 14, 163.
1488. Wotiz H. H. Biochim. Biophys. Acta, 1962, 63, 180.
1489. Wotiz H. H. a. oth. J. biol. Chem., 1958, 231, 593.
1490. Wray P. M., Russel C. S. J. Obstet. Gynaec. Brit. Comm., 1963, 70, 4.
1491. Würterle A., Schmidt W. Zbl. Gynäk., 1959, 81, 1389.
1492. Wurtman R. I., Chu E. W., Axelrod J. Nature, 1963, 198.
1493. Yamada K., 1959. Excerpta med., 1961, 111, 15, 168
1494. Yamashita I. a. oth. J. Endocr., 1965, 33, 223.
1495. Zander J. Nature, 1954, 174, 406.
1496. Zander J. J. biol. Chem., 1958, 232, 117.
1497. Zander J. Methods in hormone res., 1962, 1, 91.
1498. Zander J. u. a. Klin. Wschr., 1954, 32, 894.
1499. Zander J. a. oth. J. clin. Endocr., 1958, 18, 337.
1500. Zander J. et al. Acta obstet. gynec. Scand., 1959, 38, 724.
1501. Zander J. a. oth. Acta Endocr., 1962, 41, 507.
1502. Zarrow M. X. a. oth. Endocrinology, 1950, 46, 403.
1503. Zarrow M. X. a. oth. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1958, 71, 532.
1504. Zarrow M. X. a. oth. Endocrinology, 1961, 69, 851.
1505. Zarrow M. X. a. oth. J. Endocr., 1963, 26, 181.
1506. Zigler D. M. a. oth. J. biol. Chem., 1956, 222, 721.
1507. Zimmerman W. a. oth. Acta Endocr., 1964, 45, suppl. 90. 211.
1508. Zondek B. Z. Geburtsh. Gynäk., 1926, 90, 372.
1509. Zondek B. Klin. Wschr., 1930, 393.
1510. Zondek B. Klin. Wschr., 1930, 9, 2285.
1511. Zondek B. Arch. Gynäk., 1931, 144, 133.
1512. Zondek B. Am. J. obstet. gynec., 1932, 24, 836.
1513. Zondek B. Hormone des Ovariums und des Hypophysenvorderlappens. Wien, 1935.
1514. Zondek B. Nature, 1939, 143, 282.
1515. Zondek B., Aschheim S. Klin. Wschr., 1927, 248.
1516. Zondek B. u. a. Biochim. Z., 1933, 258, 102.
1517. Zondek B., Finkelstein M. Endocrinology, 1962, 50.
1518. Zondek B., Finkelstein M. Ann. obstet. gynec., 1956, 78, 9.
1519. Zondek B., Pfeifer V. Acta obstet. gynec. Scand., 1959, 38, 742.
1520. Zuckerman S. Am. J. Physiol., 1935, 110, 597.
1521. Zuckerman S. Proc. roy. Soc. Biol., 1937, 124, 150.
1522. Zuckerman S. Acta Endocr., 1951, 7, 378.
1523. Zuckerman S., Palmer A., Hauson D. A. J. Endocr., 1950, 6, 261.

СО Д Е Р Ж А Н И Е

Предисловие (В. Г. Баранов)	3
 Часть I. Физико-химические и биологические свойства, биосинтез и метаболизм гонадотропинов, эстрогенов, прогестерона	
Гонадотропины	5
Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ; пролаин А; тилакентрин) и лютеинизирующий гормон (ЛГ, гормон, стимулирующий интерстициальные клетки, — ГСНК; пролаин Б; метакентрин)	6
Физико-химические свойства	—
Биологическое действие	10
Клеточные структуры гипофиза, продуцирующие гонадотропины	14
Метаболизм гонадотропных гормонов, гонадотропины в крови и в моче	16
Лютеотропный гормон (ЛТГ; лактогенный гормон; лактотропный гормон, пролактин)	20
Хорионический гонадотропин (ХГ, хориальный гонадотропин; хорион-гонадотропин)	22
Гонадотропин сыворотки жеребых кобыл (синонимы: СЖК; сывороточный гонадотропин)	28
Антигонадотропины	30
Эстрогены	33
Биологическое действие эстрогенов	—
Влияние эстрогенов на матку и влагалище	—
Влияние эстрогенов на половые железы, процессы оплодотворения и на молочные железы	44
Экстрагенитальное влияние эстрогенов	45
Антиэстрогены	52

Структура и свойства эстрогенов, выделенных из жидкостей и тканей человека	56
Биосинтез эстрогенов	67
Биосинтез эстрогенов в яичниках	—
Биосинтез эстрогенов в плаценте	73
Биосинтез эстрогенов в надпочечниках	77
Биосинтез эстрогенов в семенниках	78
Суточная продукция эстрогенов в организме человека	79
Метаболизм эстрогенов	81
Экстрагенитальные превращения эстрогенов	—
Особенности метаболизма эстрогенов у беременных женщин и у плода	89
Скорость обращения и выведения эстрогенов из организма	91
Прогестерон	96
Биологическое действие прогестерона	—
Влияние прогестерона на половые органы	—
Экстрагенитальное влияние прогестерона	100
Биосинтез и метаболизм прогестерона	101
Источники образования прогестерона, пути его биосинтеза	—
Метаболизм прогестерона в тканях	103
Метаболиты прогестерона в моче и кале	109

Часть II. Содержание гонадотропинов, эстрогенов, прогестерона и прегнандиола в жидкостях и тканях человека

Содержание гонадотропинов в биологических жидкостях и тканях человека	112
Выделение гонадотропинов с мочой у здоровых людей	—
Содержание гонадотропинов в гипофизе и крови здоровых людей	125
Гонадотропины при беременности	128
Содержание эстрогенов в биологических жидкостях и тканях человека	129
Содержание эстрогенов в моче здоровых людей	—
Эстрогены у новорожденных и у детей различного возраста	—
Эстрогены у женщин с нормальным менструальным циклом	131
Эстрогены в период становления менопаузы и в постменопаузальный период	137
Эстрогены в моче у мужчин	144
Выделение эстрогенов с мочой после гонадэктомии	147
Содержание эстрогенов в крови у здоровых людей	149
Содержание эстрогенов в яичниках у женщин	151
Содержание эстрогенов в желчи людей	152

Эстрогены при беременности	153
Экскреция эстрогенов с мочой у беременных женщин	—
Содержание эстрогенов в крови во время беременности и родов	159
Содержание эстрогенов в плаценте	162
Содержание прогестерона и прегнандиола в биологических жидкостях и тканях человека	163
Содержание прегнандиола в моче и прогестерона в крови здоровых людей	—
Содержание прегнандиола в моче и прогестерона в крови при беременности	168

Часть III. Регуляция продукции гонадотропинов, эстрогенов и прогестерона

Влияние нервных и гормональных факторов на овуляторную и гормональную функцию яичников	172
Регуляция продукции эстрогенов в надпочечниках	176
Взаимоотношения между гипофизом и половыми железами	180
Влияние других веществ стероидной и нестероидной природы на гонадотропную функцию гипофиза	185
Значение центральной нервной системы в регуляции гонадотропной функции гипофиза	186
Регуляция продукции и выделения лютеотропного гормона	193
Заключительные замечания	194

Часть IV. Методы определения гонадотропинов, эстрогенов, прогестерона и прегнандиола

Гонадотропины	198
Методы выделения гонадотропинов из мочи	—
Методы выделения гонадотропинов из плазмы крови	199
Попытки химического определения гонадотропинов	—
Биологическое тестирование гонадотропинов	200
Методы, основанные на выявлении совместного влияния ФСГ и ЛГ (определение общих, или суммарных, гонадотропинов)	—
Методы определения ФСГ	202
Методы определения ЛГ	203
Применение стандартных препаратов при определении гонадотропинов, выделяемых из мочи и гипофиза	207
Детальное описание методов определения гонадотропинов	208
Экстракция гонадотропинов из мочи	—
Характеристика стандартного препарата	209

Определение общих гонадотропинов по весу матки неполо- возрелых белых мышей	209
Определение ФСГ по методу Brown [377] (тест аугментации)	210
Определение ЛГ по методу Parlow [1111] (падение содержа- ния аскорбиновой кислоты в яичниках крыс)	211
Эстрогены	212
Биологические методы определения эстрогенов	—
Химические методы определения эстрогенов	215
Определение эстрогенов в моче	—
Метод Brown, Bulbrook и Greenwood [363] для фракцион- ного определения эстрогенов	221
Метод определения эстриола в моче беременных по Brown и Coyle [374]	225
Определение эстрогенов в крови	226
Прогестерон и прегнадиол	227
Биологические методы определения прогестерона	—
Химические методы определения прогестерона	229
Методы определения прегнадиола в моче	230
Литература	234

О. Н. Савченко

ГОРМОНЫ ЯИЧНИКА И ГОНАДОТРОПНЫЕ ГОРМОНЫ

O. N. Savtchenko

HORMONES OF OVARY AND GONADOTROPIC HORMONES

O. N. Sawtsc'henko

HORMONE DES EIERSTOCKS UND GONADOTROPEN HORMONE

Редактор В. П. Алинов
Художественный редактор Н. Г. Молодинова
Обложка художника А. А. Ежова
Технический редактор Н. Г. Оношко
Корректор М. С. Богданова

Сдано в набор 9/XI 1966 г. Подписано к печати 23/II 1967 г. Формат бумаги 84×108^{1/32}. Печ. л. 8,5. Бум. л. 4,2^{1/2}. Условн. печ. л. 14,28. Уч.-изд. л. 15,61. Тираж 5000 экз. ЛН-74. М-17624. Цена 1 р. 19 к. Заказ 412.

Бумага типографская № 2

Издательство «Медицина»
Ленинградское отделение
Ленинград, Д-104,
Ул. Некрасова, 10

Ленинградская типография № 2 имени Евгении Соколовой
Главполиграфпрома Комитета по печати при Совете Министров СССР,
Измайловский проспект, 29.

1 р. 10 к.

М Е Д И Ц И Н А · 1 9 6 7