

АНАТОМИЯ ЧЕЛОВЕКА

УДК 616.643:616.681:615.254

DOI: 10.34680/2076-8052.2023.4(133).520-530

ГРНТИ 76.29.43+76.31.29

Специальность ВАК 3.3.1; 1.5.22

Научная статья

РЕАКТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭНДОКРИНОЦИТОВ ЯИЧКА ПРИ ГИПОГОНАДИЗМЕ И ЕГО ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Лисовский А. Д.

Институт экспериментальной медицины (Санкт-Петербург, Россия)

Аннотация Данное исследование посвящено морфофункциональному обоснованию модели мужского гипогонадизма и установлению эффективности его заместительной терапии при помощи морфологических методов. Были исследованы 6 групп взрослых самцов крыс (по 4 особи в каждой). Четыре группы крыс были экспериментальными. У них под наркозом перевязывали временной лигатурой левый и правый семенной канатик с сосудистым пучком, индуцируя гипогонадизм. У двух первых экспериментальных групп крыс лигатуру накладывали на 30 и 60 мин (соответственно). Животным двух других экспериментальных групп проводили заместительную терапию путем введения кисспептина К6. Животным третьей экспериментальной группы кисспептин начинали вводить через несколько минут после восстановления кровотока яичка (*ex tempore*), а крысам четвертой группы – через 3 суток. Продолжительность заместительной терапии – 7 суток. В правостороннем и левостороннем гистологических срезах яичка ($n = 8$) подсчитывали число жизнеспособных и гибнущих интерстициальных эндокринных клеток (под контролем проводимой иммуногистохимической реакции с каспазой 3), вычисляли процент этих видов клеток от их общего количества, устанавливали площадь жизнеспособных эндокриноцитов. Достоверность различий медианы, верхнего и нижнего квартилей сравниваемых параметров определяли, используя непараметрический критерий Манна–Уитни. Установлено, что моделирование мужского гипогонадизма методом наложения двухсторонней лигатуры на сосуды семенного канатика в течение 60 минут и переживания животными последующие 10 суток индуцирует выраженные реактивные изменения и гибель части интерстициальных клеток, торможение и остановку сперматогенеза. Кисспептин KS6, вводимый *ex tempore* и регулярно после острой ишемии обладает протекторным эффектом в отношении интерстициальных эндокриноцитов, в том числе анти-апоптотическим, восстанавливающим сперматогенез, вероятно, через активацию центральных звеньев гипоталамо-гипофизарно-яичковой оси.

Ключевые слова: мужской гипогонадизм, ишемия яичек, интерстициальные эндокриноциты, реактивные изменения

Для цитирования: Лисовский А. Д. Реактивные изменения эндокриноцитов яичка при гипогонадизме и его заместительной терапии в эксперименте // Вестник НовГУ. 2023. 4(133). 520-530. DOI: 10.34680/2076-8052.2023.4(133).520-530

Research Article

REACTIVE CHANGES IN TESTICULAR ENDOCRINOCYTES AFTER HYPOGONADISM AND ITS SUBSTITUTION THERAPY IN EXPERIMENT

Lisovsky A. D.

Institute of Experimental Medicine (Saint Petersburg, Russia)

Abstract This study is devoted to the morphofunctional substantiation of the model of male hypogonadism and the establishment of the effectiveness of its substitution therapy using morphological methods. There were 6 groups of adult male rats (4 individuals in each) studied. Four groups of rats were experimental.

Under anesthesia, the left and right spermatic cords with the vascular bundle were tied with a temporary ligature, inducing hypogonadism. In the first two experimental groups of rats, the ligature was applied for 30 and 60 minutes (respectively). Animals of the other two experimental groups received substitution therapy by introducing kisspeptin K6. Animals of the third experimental group began to receive kisspeptin a few minutes after restoration of testicular blood flow (*ex tempore*), and the rats of the fourth group — after 3 days. The duration of substitution therapy was 7 days. In the right and left histological sections of the testis ($n = 8$), the number of viable and dying interstitial endocrine cells was counted (under the control of the ongoing immunohistochemical reaction with caspase 3), the percentage of these cell types from their total number was calculated, and the area of viable endocrinocytes was determined. The significance of differences in the median, upper and lower quartiles of the compared parameters was determined using the nonparametric Mann–Whitney test. It has been established that the modeling of male hypogonadism by applying a double-sided ligature to the vessels of the spermatic cord for 60 minutes and experiencing it by the animals for the next 10 days induces pronounced reactive changes and death of some interstitial cells, inhibition and cessation of spermatogenesis. Kisspeptin KS6, administered *ex tempore* and regularly after acute ischemia, has a protective effect on interstitial endocrinocytes, including anti-apoptotic, restoring spermatogenesis, probably through activation of the central links of the hypothalamic-pituitary-testicular axis.

Keywords: male hypogonadism, testicular ischemia, interstitial endocrinocytes, reactive changes

For citation: Lisovsky A. D. Reactive changes in testicular endocrinocytes after hypogonadism and its substitution therapy in experiment // Vestnik NovSU. 2023. 4(133). 520-530. DOI: 10.34680/2076-8052.2023.4(133).520-530

Введение

Актуальность разработки моделей гипогонадизма с целью поиска новых эффективных способов его лечения и профилактики обусловлена широкой распространенностью мужского бесплодия [1]. При этом, несмотря на значительный прогресс, главным образом в генетике, а также постепенное увеличение частоты УЗИ и МРТ исследований мужских половых путей, этиология гипогонадизма остается неясной примерно в 50% случаев [2].

С одним из новых перспективных направлений в исследовании – способом восстановления нарушений эндокринных функций яичек, – связано с исследованием терапевтического потенциала пептидных препаратов, содержащих оригинальную молекулу регуляторного белка семейства кисспептинов (Kiss1). Основные эффекты белков данного семейства, направленные на усиление выработки гипоталамического гонадолиберина, вызывают выраженный ответ эндокриноцитов всех звеньев гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси, поскольку функционируют через их мембранный рецептор кисспептина (GPR54/KISS1R), связанный с G-белком [3-5]. Накапливающиеся данные о функциональной роли Kiss1 определили рост исследовательского интереса в отношении степени вовлеченности этого вида регуляторных белков в патогенезе гипогонадизма [6].

Между тем в литературе отсутствуют сведения о реактивных изменениях клеток эндокринного аппарата яичка при моделировании ишемического повреждения яичек разной длительности, что мешает создать морфологическую основу для разработки моделей мужского гипогонадизма.

Целью исследования является морфологический анализ интерстициальных эндокриноцитов яичка в норме, при экспериментальном гипогонадизме, а также после заместительной терапии.

Материал и методы

Ввиду того, что моделирование мужского гипогонадизма у взрослых животных разработано слабо, ишемия яичек была вызвана путем наложения временной лигатуры на левый и правый семенной канатики с сосудистым пучком, аналогично методике воспроизведения тотальной ишемии яичника у крыс [7, 8].

Для эксперимента были использованы 6 групп взрослых самцов крыс линии Вистар 6-8-месячного возраста массой 260-300 г (по 4 особи в каждой), выращенные в питомнике Рапполово (Ленинградская область). Четыре группы крыс были экспериментальными. Этим животным перед операцией, проводимой согласно «Правилам лабораторной практики в Российской Федерации» (приказ МЗ РФ от 2003 г. N 267), наркотизировали по следующей схеме: золетил 0,3 мг («Virbac», Франция) и ксиланит 0,8 мг (ЗАО «НИТА-ФАРМ», Россия, г. Саратов), которые вводили внутривентрально из расчета суммарно 1,1 мг на 100 гр. массы животного. Действие наркоза верифицировали по исчезновению реакции на болевые раздражители (укол лапы) и угнетению зрачкового рефлекса. После наркоза крыс фиксировали на операционном столе в положении на спине. Кожу мошонки обрабатывали спиртом и разбавленным спиртовым раствором йода, затем находили и мобилизовали левый и правый семенной канатик с сосудистым пучком яичка в дистальной области мошонки. Между семенными канатиками сквозь кожный слой мошонки делали прокол, через который проводили две нитки для лигатуры толщиной 2 мм. Временной лигатурой перевязывали выделенные области мошонки – левый и правый семенной канатики с сосудистым пучком яичка. После снятия лигатуры операционное поле обрабатывали стрептоцидом и 5% спиртовым раствором йода.

У двух первых экспериментальных групп крыс лигатуру накладывали на 30 или 60 минут, вызывая тем самым ишемию яичка средней или тяжелой степени. Животным двух других экспериментальных групп после острой однократной ишемии яичек длительностью 60 мин. проводили заместительную терапию путем внутривентрального введения кисспептина KS6 (Cloud Clone, США) из расчета 0,5 мг на 1 кг веса животного. KS6 является структурным аналогом кисспептина Kiss1 млекопитающих, отличающимся от Kiss1 концевым фрагментом (исследованные функции которого дублируют функции Kiss1 [6, 9]). При этом животным третьей экспериментальной группы кисспептин начинали вводить через несколько минут после восстановления кровотока яичка (*ex tempore*), а крысам четвертой группы – через 3 суток. Продолжительность заместительной терапии – 7 суток.

Группа первого контроля состояла из интактных крыс, а животных группы второго контроля подвергали наркотизации и ложной операции, которая отличалась лишь отсутствием перевязки семенного канатика.

По истечении 10 суток животных декапитировали при помощи гильотины, оба яичка извлекали и фиксировали в 9% растворе нейтрального формалина. После

заливки в парафин по стандартной схеме готовили срезы обоих яичек в продольной плоскости толщиной 4 мкм, которые окрашивали гематоксилином Майера и эозином.

В правостороннем и левостороннем срезах яичка ($n = 8$) подсчитывали число жизнеспособных и гибнущих интерстициальных эндокринных клеток (под контролем проводимой иммуногистохимической реакции с каспазой 3), вычисляли процент этих видов клеток от их общего количества, устанавливали площадь жизнеспособных эндокриноцитов.

На площади яичка, равной $0,2 \text{ мкм}^2$ подсчитывали число жизнеспособных и гибнущих эндокриноцитов, вычисляли процент этих видов клеток от их общего количества.

Для оценки числа гибнущих интерстициальных эндокриноцитов яичка были использованы моноклональные мышинные антитела против каспазы 3 (США) в разведении 500 мкг/ml . Вторичные биотинилированные антитела применяли из набора VECTASTAIN ABC, США. Связанные антигены визуализировали при помощи диаминобензида, после чего препараты заключали в бальзам.

При помощи программы ImageScope (Электронный анализ, Россия) устанавливали площадь интерстициальных эндокриноцитов яичка в пределах $0,2 \text{ мкм}^2$ каждого среза.

При использовании пакета статистической программы GraphPad PRISM 6.0 (GraphPad Software, USA) было установлено, что распределение параметров каждого вариационного ряда было отличным от нормального ряда. Поэтому для установления достоверности различий сравниваемых величин вычисляли их медиану, верхний и нижний квартили, которые сравнивали, используя непараметрический критерий Манна–Уитни. Различия считали значимыми при $p < 0,01$.

Результаты исследования и их обсуждение

Интерстициальные эндокринные клетки яичка интактных и ложно-оперированных крыс отличались от фибробластов интерстициальной соединительной ткани более крупными размерами, светло окрашенной эозинофильной цитоплазмой, более крупным, светлым округлым ядром и более крупным ядрышком. Сперматогенные клетки во внутренней оболочке петель извитых канальцев находились на разных этапах сперматогенеза. Единичные сперматогенные и интерстициальные клетки содержали антиген к каспазе 3 (рисунок 1 а, б).

Через 30 минут ишемии и перерыве в 10 суток выраженные реактивные изменения в яичке не наблюдались (что было подтверждено соответствующими морфометрическими параметрами (таблицы 1 и 2), в отличие от реакции тканей яичка через 60 минут ишемии и 10-суточного перерыва. В яичке животных последней группы развивалась реакция продуктивного воспаления, обнаруживались сечения канальцев с уплощенной внутренней оболочкой, сперматогенез в которых останавливался на периоде роста (рисунок 1 в, д).

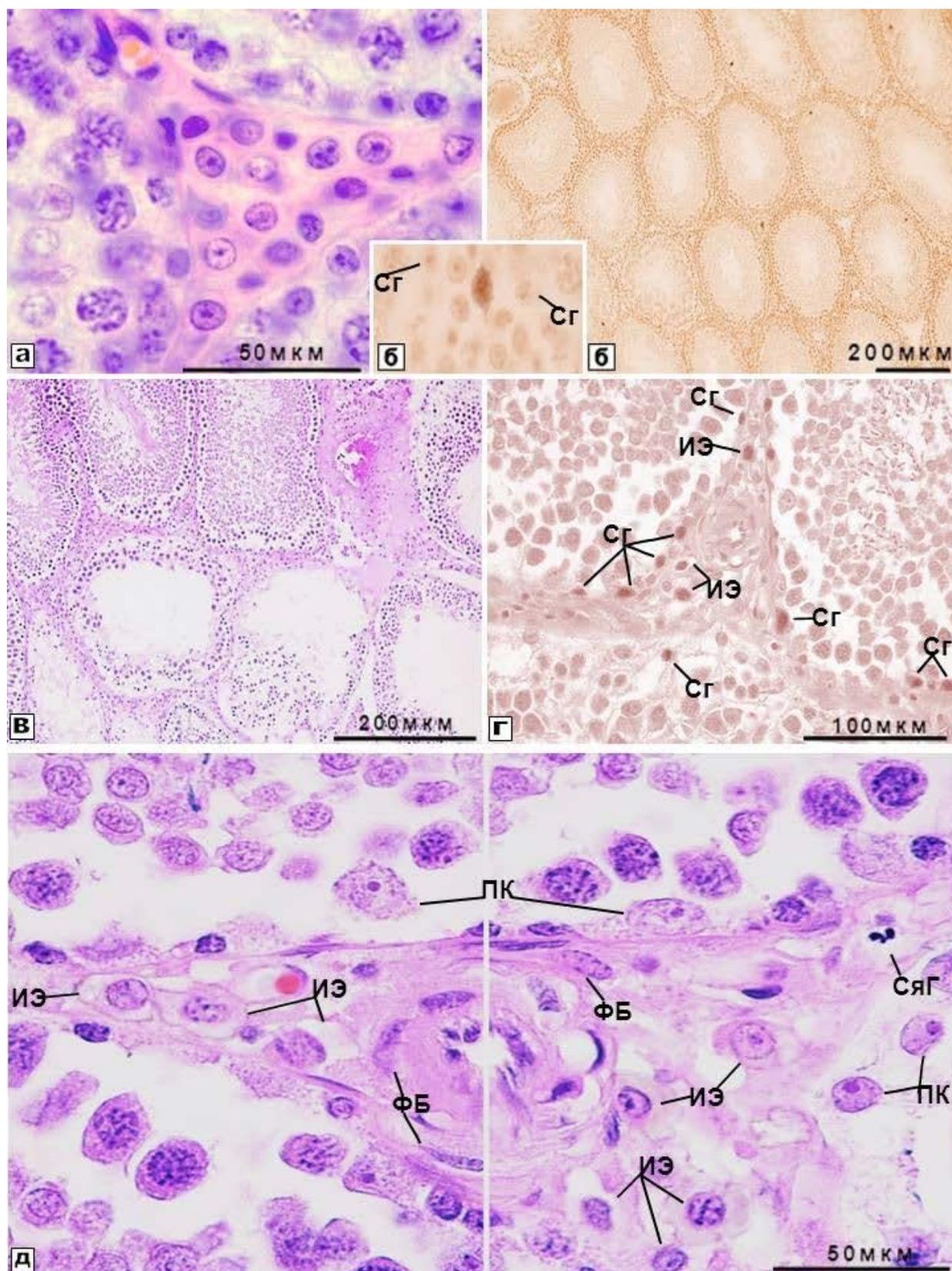


Рисунок 1. Реактивные изменения тканей яичка через 60 мин тотальной острой ишемии и 10 суток переживания (в, г, д) по сравнению с контролем (а, б) у крыс. Обозначения: Сг – сперматогония, ИЭ – интерстициальный эндокриноцит, ПК – поддерживающая клетка, ФБ – фибробласт. Окраска гематоксилином и эозином (а, в, д), иммуногистохимическое выявление каспазы 3 (б, г). Ок. x10, об. x100 (а, д, б* – увеличенный фрагмент кадра б), об. x10 (в), об. x40 (г) и x4 (б)

В набухшем разволокненном интерстиции обнаруживались единичные сегментоядерные лейкоциты, группы фибробластов. Интерстициальные клетки выглядели отечными. Многие интерстициальные эндокриноциты и сперматогонии содержали антиген к каспазе 3 (рисунок 1 а).

Количество и процент жизнеспособных эндокриноцитов яичка через 60 минут ишемии и перерыве в 10 суток было уменьшено, тогда как число и процент гибнущих эндокриноцитов – соответственно увеличено (таблица 1). Площадь сечения жизнеспособных эндокриноцитов была значительно увеличена, по-видимому, вследствие токсического отека (таблица 2).

Таблица 1. Количественная характеристика интерстициальных эндокринных клеток яичка (25%/Med/75%) после коррекции острой тотальной ишемии у крыс

Способ воздействия / Параметры	Количество (и процент) интерстициальных эндокриноцитов	
	жизнеспособных	гибнущих
Нет (ложная операция)	92,3 / 98,6 / 105,4 (98,1%)	0,4 / 1,9 / 3,3 (1,9%)
30 мин ишемии	73,1 / 87,7 / 98,2 (84,6%)	10,1 / 16,5 / 21,0 (15,9%)
60 мин ишемии	40,1 / 54,8 / 65,3* (53,6%)	37,4 / 47,5 / 66,7* (46,4%)
60 мин ишемии и KS6 ex tempore	66,4 / 83,5 / 95,3** (90,0%)	4,3 / 9,8 / 16,6** (10,5%)
60 мин ишемии и KS6 через 3 сут	42,2 / 55,1 / 66,8 (58,1%)	30,1 / 39,7 / 54,3 (41,9%)

Примечание: число и процент эндокриноцитов в 0,2 мм² площади дольки яичка; * – различия с параметрами у контрольных крыс значимы (P value<0,0001); ** - различия с параметрами у контрольных крыс значимы (P value<0,0001)

Таблица 2. Изменения площади жизнеспособных интерстициальных эндокриноцитов яичка (25%/Med/75%) после коррекции острой тотальной ишемии у крыс

Способ воздействия / Параметр	Площадь жизнеспособных эндокриноцитов (мкм ²)
Нет (ложная операция)	180,4 / 205,1 / 226,3
30 мин ишемии	192,5 / 228,5 / 254,9
60 мин ишемии	218,0 / 293,0 / 357,2*
60 мин ишемии и KS6 ex tempore	176,4 / 201,0 / 252,1**
60 мин ишемии и KS6 через 3 сут	176,1 / 208,3 / 254,5**

Примечание: * – различия с параметрами у контрольных крыс значимы (P value<0,0001); ** - различия с параметрами у контрольных крыс значимы (P value<0,0001)

Подобные дегенеративные изменения тестостерон-продуцирующих интерстициальных клеток были обнаружены при моделировании женского гипогонадизма, индуцированного аналогичным образом [10]. Обнаружение же аналогичных реактивных изменений при мужском гипогонадотропном гипогонадизме в нейронах кассептин-продуцирующего гипоталамического ядра в сочетании со снижением концентрации плазменного тестостерона, перераспределением и снижением числа сайтов связывания рецепторов к тестостерону в отделанные сроки эксперимента [11] свидетельствуют о системном влиянии (преимущественно дегенеративном) дефицита тестостерона не только на периферические, но и на центральные звенья гипоталамо-гипофизарно-яичковой оси. Последние, в свою очередь, могут частично определять морфофункциональные изменения эндокринных клеток яичка.

Заместительная терапия кассептином KS6, вводимым в организм животных в течение первого часа после операции и ежедневно в течение 10 суток эксперимента, инициировала выраженные компенсаторные изменения исследованных структур яичка. Во многих сечениях извитого канальца присутствовали все 4 вида сперматогенных клеток, сайты связывания антигена каспазы 3 присутствовали в небольшом количестве интерстициальных эндокриноцитов и отдельных сперматогенных клетках. При данном способе заместительной терапии было выявлено значительное увеличение числа (и процента) жизнеспособных интерстициальных эндокриноцитов в яичке, а также сокращение абсолютного и удельного количества гибнущих клеток по сравнению с этими параметрами в основной экспериментальной группе (таблица 1). Вместе с тем влияние кассептина KS6 на интерстициальные эндокринные клетки яичка выразилось склонностью к нормализации их строения: площадь их сечения была уменьшена и значительно не различалась с данным параметром в контроле (таблица 2).

В результате введения кассептина KS6 через 3 суток после ишемии в течение 7 последующих суток количество и процент жизнеспособных и погибающих интерстициальных клеток яичка значительно не различались с этими величинами, полученными в ходе основного эксперимента (без коррекции). Значительных различий в величине тел жизнеспособных эндокриноцитов при разных способах коррекции гипогонадизма кассептином KS6 выявлено не было. Однако тот же пептид, вводимый *ex tempore* и регулярно после острой ишемии в течение 10 суток обнаружил, по данным морфометрического анализа, компенсаторный протекторный эффект в отношении числа и площади жизнеспособных эндокриноцитов (таблицы 1, 2).

Можно предположить, что данный компенсаторный периферический эффект кассептина KS6 обусловлен его активирующим влиянием на гонадолиберин-продуцирующие нейроны гипоталамуса и гонадотропоциты гипофиза [12, 13].

Вместе с тем выявленная реципрокная закономерность (снижение концентрации половых стероидов и нарастание уровня ФСГ/ЛГ по мере увеличения длительности ишемии яичников) может являться следствием известных биологических механизмов взаимодействия этих стероидов и промотора гена рецептора гонадотропцитов, который в нормальных условиях ингибирует экспрессию рецептора гонадотропина [14, 15].

Выводы

Моделирование мужского гипогонадизма методом наложения двухсторонней лигатуры на сосуды семенного канатика в течение 60 минут и переживания животными последующие 10 суток индуцирует реактивное набухание и гибель части интерстициальных клеток, торможение и остановку сперматогенеза.

Кисспептин KS6, вводимый *ex tempore* и регулярно после острой ишемии обладает протекторным эффектом в отношении интерстициальных эндокриноцитов, в том числе анти-апоптотическим, восстанавливающим сперматогенез. Вероятно, этот эффект реализуется через активацию центральных звеньев гипоталамо-гипофизарно-яичковой оси.

Апробируемая модель острой тотальной ишемии яичек и полученные морфометрические параметры тестикулярных эндокринных клеток могут быть использованы, как основа для дальнейших фундаментальных и клинических исследований гипогонадизма.

Список литературы

1. Lotti F., Maggi M. Ultrasound of the male genital tract in relation to male reproductive health // *Human Reproduction Update*. 2015. 21(1). 56-83. DOI: 10.1093/humupd/dmu042
2. Lotti F., Maggi M. Ultrasound of the male genital tract in relation to male reproductive health // *Human Reproduction Update*. 2015. 21(1). 56-83. DOI: 10.1093/humupd/dmu042
3. Ohtaki T., Shintani Y., Honda S., Matsumoto H., Hori A., Kanehashi K., Terao Y., Kumano S., Takatsu Y., Masuda Y., Ishibashi Y., Watanabe T., Asada M., Yamada T., Suenaga M., Kitada C., Usuki S., Kurokawa T., Onda H., Nishimura O., Fujino M. Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor // *Nature*. 2001. 411. 613-617. DOI: 10.1038/35079135
4. De Roux N., Genin E., Carel J. C., Matsuda F., Chaussain J. L., Milgrom E. Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KiSS1-derived peptide receptor GPR54 // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2003. 100(19). 10972-10976. DOI: 10.1073/pnas.1834399100
5. Seminara S. B., Messager S., Chatzidaki E. E., Thresher R. R., Acierno J. S., Shagoury J. K., Bo-Abbas Y., Kuohung W., Schwinof K. M., Hendrick A. G., Zahn D., Dixon J., Kaiser U. B., Slaugenhaupt S. A., Gusella J. F., O'Rahilly S., Carlton M. B., Crowley W. F., Aparicio S. A. J. R., Colledge W. H. The GPR54 gene as a regulator of puberty // *The New England Journal of Medicine*. 2003. 349(17). 1614-1627. DOI: 10.1056/NEJMoa035322
6. Никитина И. Л., Байрамов А. А., Ходулева Ю. Н., Шабанов П. Д. Кисспептины в физиологии и патологии полового развития – новые диагностические и

терапевтические возможности // Обзоры клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2014. 12(4). 3-12. DOI: 10.17816/RCF1243-12

7. Маградзе Р. Н., Лисовский Д. А., Лисовский А. Д., Попковский Н. А., Бобков П. С., Байрамов А. А., Дробленков А. В. Реактивные изменения эндокринных клеток яичника при экспериментальном ишемическом повреждении // Вестник НовГУ. 2022. 2(127). 38-42. DOI: 10.34680/2076-8052.2022.2(127).38-42

8. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ: учебное пособие для системы послевузовского профессионального образования врачей / под общей редакцией Р. У. Хабриева. 2-е изд., перераб. и доп. Москва: Изд-во Медицина: Изд-во Шико, 2005. 826 с.

9. Лебедев А. А., Блаженко А. А., Гольц В. А., Девятшин А. С., Лебедев В. А., Казаков С. В., Байрамов А. А., Хохлов П. П., Быков Е. Р., Шабанов П. Д. Действие аналогов кисспептина на поведение *Danio rerio* // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2022. 20(2). 201-210. DOI: 10.17816/RCF202201-210

10. Дробленков А. В., Прошина Л. Г., Юхлина Ю. Н., Байрамов А. А., Шибяев П. Д., Никитина И. Л. Тестостерон-зависимые изменения аркуатного ядра гипоталамуса и их обратимость при моделировании и мужского гипогонадизма // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2017. 61(4). 21-30. DOI: 10.25557/IGPP.2017.4.8519

11. Маградзе Р. Н., Лисовский Д. А., Лисовский А. Д., Попковский Н. А., Бобков П. С., Байрамов А. А., Дробленков А. В. Моделирование женского гипогонадизма путем ишемизации яичника и ее морфофункциональное обоснование // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2022. 20(3). 289-295. DOI: 10.17816/RCF203

12. Kauffman A. S., Gottsch M. L., Roa J., Byquist A. C., Crown A., Clifton D. K., Hoffman G. E., Steiner R. A., Tena-Sempere M. Sexual Differentiation of Kiss1 Gene Expression in the Brain of the Rat // *Endocrinology*. 2007. 148(4). 1774-1783. DOI: 10.1210/en.2006-1540

13. Kauffman A. S., Clifton D. K., Steiner R. A. Emerging ideas about kisspeptin-GPR54 signaling in the neuroendocrine regulation of reproduction // *Trends in Neurosciences*. 2007. 30(10). 504-511. DOI: 10.1016/j.tins.2007.08.001

14. Laws S. C., Beggs M. J., Webster J. C., Miller W. L. Inhibin increases and progesterone decreases receptor for gonadotropin-releasing hormone in ovine pituitary cultures // *Endocrinology*. 1990. 127(1). 373-380. DOI: 10.1210/endo-127-1-373

15. Quiñones-Jenab V., Jenab S., Ogawa S., Funabashi T., Weesner G. D., Pfaff D. W. Estrogen regulation of gonadotropin-releasing hormone receptor messenger RNA in female rat pituitary tissue // *Molecular Brain Research*. 1996. 38(2). 243-250. DOI: 10.1016/0169-328x(95)00322-j

References

1. Lotti F., Maggi M. Ultrasound of the male genital tract in relation to male reproductive health // *Human Reproduction Update*. 2015. 21(1). 56-83. DOI: 10.1093/humupd/dmu042

2. Lotti F., Maggi M. Ultrasound of the male genital tract in relation to male reproductive health // *Human Reproduction Update*. 2015. 21(1). 56-83. DOI: 10.1093/humupd/dmu042

3. Ohtaki T., Shintani Y., Honda S., Matsumoto H., Hori A., Kanehashi K., Terao Y., Kumano S., Takatsu Y., Masuda Y., Ishibashi Y., Watanabe T., Asada M., Yamada T., Suenaga M., Kitada C., Usuki S., Kurokawa T., Onda H., Nishimura O.,

Fujino M. Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor // *Nature*. 2001. 411. 613-617. DOI: 10.1038/35079135

4. De Roux N., Genin E., Carel J. C., Matsuda F., Chaussain J. L., Milgrom E. Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KiSS1-derived peptide receptor GPR54 // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2003. 100(19). 10972-10976. DOI: 10.1073/pnas.1834399100

5. Seminara S. B., Messager S., Chatzidaki E. E., Thresher R. R., Acierno J. S., Shagoury J. K., Bo-Abbas Y., Kuohung W., Schwinof K. M., Hendrick A. G., Zahn D., Dixon J., Kaiser U. B., Slaugenhaupt S. A., Gusella J. F., O'Rahilly S., Carlton M. B., Crowley W. F., Aparicio S. A. J. R., Colledge W. H. The GPR54 gene as a regulator of puberty // *The New England Journal of Medicine*. 2003. 349(17). 1614-1627. DOI: 10.1056/NEJMoa035322

6. 1. Nikitina I. L., Bayramov A. A., Khoduleva Yu. N., Shabanov P. D. Kisspeptiny v fiziologii i patologii polovogo razvitiya – novyye diagnosticheskiye i terapevticheskiye vozmozhnosti [Kisspeptins in physiology and pathology of sexual development – new diagnostic and therapeutic possibilities] // *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2014. 12(4). 3-12. DOI: 10.17816/RCF1243-12

7. Magradze R. N., Lisovsky D. A., Lisovsky A. D., Popkovsky N. A., Bobkov P. S., Bayramov A. A., Droblenkov A. V. Reaktivnyye izmeneniya endokrinnykh kletok yaichnika pri eksperimental'nom ishemicheskom povrezhdenii [Reactive changes in the endocrine cells of the ovary in experimental ischemic injury] // *Vestnik NovSU*. 2022. 2(127). 38-42. DOI: 10.34680/2076-8052.2022.2(127).38-42

8. Guidelines for the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances: a textbook for the system of postgraduate professional education of doctors. Federal Service for Supervision in the Field of Health and Social Development of the Federal State Institution Scientific Center for the Examination of Medical Products; under the general editorship of R. U. Khabriev. 2nd ed., reprint. and add. Moscow, Meditsina Publ.; Shiko Publ., 2005. 826 p.

9. Lebedev A. A., Blazhenko A. A., Golts V. A., Devyatshin A. S., Lebedev V. A., Kazakov S. V., Bayramov A. A., Khokhlov P. P., Bykov E. R., Shabanov P. D. Deystviye analogov kisspeptina na povedeniye Danio rerio [The effect of kisspeptin analogues on the behavior of *Danio rerio*] // *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2022. 20(2). 201-210. DOI: 10.17816/RCF202201-210

10. Droblenkov A. V., Proshina L. G., Yukhlina Yu. N., Bayramov A. A., Shibaev P. D., Nikitina I. L. Testosteron-zavisimyye izmeneniya arkuatnogo yadra gipotalamusa i ikh obratimost' pri modelirovanii i muzhskogo gipogonadizma [Testosterone-dependent changes of the hypothalamic arquate nucleus and their reversibility in modeling and male hypogonadism] // *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya* [Pathological physiology and experimental therapy]. 2017. 61(4). 21-30. DOI: 10.25557/IGPP.2017.4.8519

11. Magradze R. N., Lisovsky D. A., Lisovsky A. D., Popkovsky N. A., Bobkov P. S., Bayramov A. A., Droblenkov A. V. Modelirovaniye zhenskogo gipogonadizma putem ishemizatsii yaichnika i yeye morfofunktsional'noye obosnovaniye [Modeling of female hypogonadism by ovarian ischemia and its morphofunctional justification] // *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2022. 20(3). 289-295. DOI: 10.17816/RCF203

12. Kauffman A. S., Gottsch M. L., Roa J., Byquist A. C., Crown A., Clifton D. K., Hoffman G. E., Steiner R. A., Tena-Sempere M. Sexual Differentiation of Kiss1 Gene Expression in the Brain of the Rat // *Endocrinology*. 2007. 148(4). 1774-1783. DOI: 10.1210/en.2006-1540

13. Kauffman A. S., Clifton D. K., Steiner R. A. Emerging ideas about kisspeptin–GPR54 signaling in the neuroendocrine regulation of reproduction // Trends in Neurosciences. 2007. 30(10). 504-511. DOI: 10.1016/j.tins.2007.08.001

14. Laws S. C., Beggs M. J., Webster J. C., Miller W. L. Inhibin increases and progesterone decreases receptor for gonadotropin-releasing hormone in ovine pituitary cultures // Endocrinology. 1990. 127(1). 373-380. DOI: 10.1210/endo-127-1-373

15. Quiñones-Jenab V., Jenab S., Ogawa S., Funabashi T., Weesner G. D., Pfaff D. W. Estrogen regulation of gonadotropin-releasing hormone receptor messenger RNA in female rat pituitary tissue // Molecular Brain Research. 1996. 38(2). 243-250. DOI: 10.1016/0169-328x(95)00322-j

Информация об авторах

Лисовский Анатолий Дмитриевич – невролог, аспирант, Институт экспериментальной медицины (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0009-0009-4074-119X, lisovsky.t@mail.ru