

Л. Б. Літвінова

Статеві стероїди в ініціації пубертатогенезу у самок щурів

Установлено, що у самок крыс начальная (открытие вагины) и завершающая (становление положительной обратной связи и овуляция) стадии полового созревания в большинстве случаев разделены во времени и регулируются различными метаболитами тестостерона. Необходимым условием в индукции начального этапа пубертатогенеза является значительное снижение содержания тестостерона и его биотрансформации в 5α -восстановленные андрогены. Продолжительность периода между началом и завершением пубертатогенеза зависит от пути метаболизма тестостерона. Его предпочтение в сторону 5α -восстановления стимулирует открытие вагины, но увеличивает время появления первой овуляции. Активация ароматизации андрогена способствует укорочению интервала или даже совпадения во времени начальной и финальной фаз в пубертации.

Вступ

Статеве дозрівання (пубертатогенез) — одна з найбільш відповідальних стадій індивідуального розвитку, по завершенні якої набувається здатність до репродукції. В основі переходу жіночого організму до якісно нових етапів лежить морфофункціональна перебудова нейроендокринної системи, встановлення механізмів прямих і зворотних зв'язків, дозрівання не тільки яєчників, але й статевого апарату [1, 4]. Тривалість генетично детермінованого процесу пубертатії та критерії оцінки його періодів у ссавців видоспецифічні [3, 7]. На відміну від приматів і людини, у яких препубертатний період охоплює кілька років і характеризується стрибком зросту, появою вторинних статевих ознак і закінчується менархе, а потім овуляцією [2, 8], у більшості тварин пубертатні зміни проходять за кілька місяців, тижнів або днів. Коротка тривалість пубертатного періоду інколи заважає охарактеризувати його за фазами. До таких тварин належать самки щурів, у яких за статеву зрілість беруть той момент (35—45 діб життя), коли вперше настає тічка (еструс) та овуляція [16, 17]. Цій події передуює розрив вагінальної мембрани і відкриття піхви, які відбуваються, як вважають [1, 13], внаслідок підвищення естрогенної активності яєчників. За даними Бабічева [1], перша овуляція відповідає часу відкриття піхви, появі еструсу та виявляються у 24-годинний термін. Однак за експериментальних умов доведено [10, 13], що після деяких (фармакологічних або фізичних) чинників, діючих до пубертату, відкриття піхви у щурів не супроводжується тічкою та овуляцією, тобто ці стадії роз'єднані у часі.

Мета нашого дослідження — диференціювати початкову і завершальну стадії статевого дозрівання у самок щурів і визначити гормональну насиченість організму на окремих етапах пубертатогенезу.

© Л. Б. Літвінова

Методика

Дослідження проведено на 53 інтактних самках щурів популяції Вістар. У дослід від різних матерів відбирали 30-добових самок з нормальним фізичним розвитком (за масою тіла, своєчасним відлипанням вух, появою волосяного покриву, прорізуванням зубів, відкриттям очей).

Проведено дві серії досліджень. У I серії вивчали строки статевого дозрівання. Критерієм пубертатогенезу щурів (23 самки) були розрив вагінальної мембрани з відкриттям піхви та перша овуляція, яка є наслідком встановлення позитивного зворотного зв'язку між яєчниками та гіпофізом [1]. Про овуляцію судили за наявністю у вагінальних мазках еструсу, який за часом випереджує овуляцію на декілька годин [16]. Вагінальні мазки для аналізу брали щоранку (10–11-та години) з дня відкриття піхви до появи еструсу. У II серії було 30 самок 40-добового віку, який характеризується часом початку статевого дозрівання [9, 13]. Тварини цієї серії були поділені на три групи за ознаками стадії пубертатогенезу: 1-шу групу складали щури із закритою піхвою; 2-гу — самки, у яких на 40-ву добу життя відбувалося відкриття піхви, але у вагінальних мазках не було ознак еструсу; до 3-ї групи відносили щурів, у яких у цьому віці відкриття піхви збігалось за часом з еструсом та овуляцією. У щурів різних груп після декапітації під ефірним наркозом вимірювали масу тіла, матки й яєчників. У плазмі периферичної крові визначали вміст статевих стероїдів (прогестерону, тестостерону, естрадіолу) радіоімуннологічним методом. У гомогенатах гіпофізів визначали вміст сумарних гонадотропінів методом біологічного тестування [12].

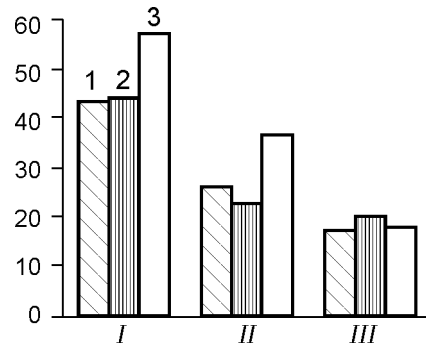
Результати та їх обговорення

У самок щурів розрив вагінальної мембрани і відкриття піхви, як зовнішні прояви початкової стадії статевого дозрівання, наставали на 41,30 добу \pm \pm 1,16 добу, що узгоджується з даними інших дослідників [1, 13, 16]. Наступний етап пубертатогенезу — встановлення позитивного зворотного зв'язку між яєчниками і гіпофізом, внаслідок якого відбувається овуляція, що реєструвалася на 44,90 добу \pm 1,35 добу. Лише у 22% самок відкриття піхви збігалось за часом з овуляцією. У інших щурів інтервал між початком і завершенням статевого дозрівання становив 5,07 доби \pm 0,54 доби.

Отже за фізіологічних умов у щурів відкриття піхви й овуляція можуть збігатись, але у більшості випадків вони значно розмежені у часі, що сприяє подовженню тривалості інтервала між ними та й, взагалі, процесу пубертатії. Розбіжність за часом розриву вагінальної мембрани у щурів, можливо, пов'язана з недостатністю механізму позитивного зворотного зв'язку або нездатністю гіпофіза виділяти ЛГ у відповідь на естрогени доки він не буде максимально активований люліберіном [5].

У групах щурів, які у 40-добовому віці знаходилися на різних стадіях статевого дозрівання, маса тіла та репродуктивних органів (рисунок) не мали вірогідної різниці у випадках відкриття піхви без овуляції (2-га група) та у самок з закритою піхвою (1-ша група). Тоді як у щурів, у яких розрив вагінальної мембрани супроводжувався овуляцією (3-тя група), відзначалося вірогідне збільшення маси тіла ($P < 0,01$) та матки ($P < 0,05$), що може бути наслідком певних змін гормонального фону.

Маса тіла (г) та репродуктивних органів (мг) 40-добових самок щурів, які знаходилися на різних стадіях пубертатогенезу: 1 – піхва закрита, 2 – піхва відкрита, 3 – піхва відкрита та овуляція, I – маса тіла, II – маса матки, III – маса яєчників.



У плазмі циркулюючої крові щурів 40-добового віку, які знаходилися на різних етапах статевого дозрівання, вміст прогестерону не мав вірогідної різниці (таблиця).

Початкова стадія пубертатогенезу – відкриття піхви, у щурів характеризувалася значним зниженням (2-га група – на 66%; 3-тя – на 87%) вмісту тестостерону у крові незалежно від цитологічної картини вагінальних мазків.

Зменшення концентрації андрогену може бути наслідком пригнічення стероїдогенезу на ранніх його етапах, що є мало вірогідним, оскільки вміст попередника на Δ^4 – шляху біосинтезу андрогенів – прогестерону не змінювалися (див. таблицю) або, навпаки, активації метаболізму тестостерону. Останній процес, як відомо [6], здійснюється у двох напрямках – ароматизацією до естрадіолу (E_2) або шляхом 5α -відновлення з утворенням андрогенів, які не здатні до ароматизації, по-перше, дигідротестостерону (ДГТ). Переважність цих процесів залежить від дії відповідальних ферментів: ароматази та 5α -редуктази. Активність останньої підвищується при наявності тестостерону [11]. Але цей андроген, підвищуючи продукцію цАМФ у клітинах гранульози, також посилює дію ФСГ на ферменти синтезу E_2 [14]. Саме тому метаболізм тестостерону може зсуватися у будь-якому напрямку.

Концентрація E_2 у крові та гонадотропінів у гіпофізах щурів з закритою піхвою (1-ша група) не відрізнялась від таких у самок, у яких відкриття піхви було без наявності вагінальної тічки (2-га група).

Відсутність різниці у вмісті E_2 цих щурів ставить під сумнів існуючу думку [1, 13] щодо участі естрогенів у регуляції розриву вагінальної мембрани. На користь непричетності естрогенів у цьому процесі свідчать дані про низький вміст ароматази в яєчниках щурів та про відсутність у препубертаті індукції цього ферменту [14]. Автори вважають, що за останнє відповідальними є

Гормональний стан у 40-добових самок щурів, які знаходились на різних стадіях статевого дозрівання ($M \pm m$)

Стадія пубертатогенезу, група тварин	Концентрація стероїдів у крові, нмоль/л			Співвідношення T/ E_2	Вміст гонадотропінів у гіпофізах, мг/г
	Прогестерон	Тестостерон (Т)	Естрадіол (E_2)		
Піхва закрита (1-ша група)	4,50±1,18	3,05±0,86	0,17±0,03	9,28±2,68	0,83±0,09
Піхва відкрита (2-га група)	3,26±0,80	1,05±0,33*	0,25±0,04	3,44±0,46*	0,88±0,09
Піхва відкрита та овуляція (3-тя група)	3,27±0,59	0,69±0,09*	0,69±0,06***	1,04±0,22***	1,50±0,21***

Вірогідність різниці ($P < 0,05 - 0,001$) з показниками 1-ї групи (*) або 2-ї групи (**).

5 α -відновлені андрогени, які пригнічують ароматазну реакцію [3]. Крім того, доведено [7], що зниження активності 5 α -редуктази, а відповідно і вмісту ДГТ, відзначається у пізньому пубертаті.

Зниження концентрації тестостерону під час розриву вагінальної мембрани у самок 2-ї групи відбувалося найпевніше за умов підвищеної активності 5 α -редуктази та збільшення вмісту ДГТ, оскільки концентрація естрогену у самок цієї групи не змінювалася.

Отже, в ініціації початкового етапу статевого дозрівання — відкриття піхви, вірогідно, беруть участь саме 5 α -відновлені андрогени. Підтвердженням цієї гіпотези служить дослідження [9], у якому була показана стимулююча дія екзогенного ДГТ у відкритті піхви. Однак перша овуляція за цих умов запізнювалася, що значно подовжувало інтервал між початком і завершенням статевого дозрівання, оскільки ДГТ, як і тестостерон, пригнічують синтез і секрецію гонадотропінів [2, 4], що затримує овуляцію. Майже саме тому у самок 2-ї групи у вагінальних мазках ми не спостерігали еструсу, як ознаки овуляції та змін у вмісті гонадотропінів, що служить на користь підвищення концентрації ДГТ.

У щурів 3-ї групи відкриття піхви, навпаки, відбувалося на фоні збільшення концентрації E₂ у крові, тобто за умов активації ароматизації тестостерону, що, на перший погляд, суперечить попереднім нашим поясненням. Разом з тим показано [15], що E₂ активує фермент 5 α -редуктазу. І якщо спочатку метаболізм тестостерону зсувається у бік ароматизації, внаслідок якого підвищується вміст E₂, останній, в свою чергу, сприяє збільшенню концентрації ДГТ, який і стимулює розрив вагінальної мембрани. З іншого боку, підвищення концентрації естрогенів безпосередньо перед відкриттям піхви у щурів 3-ї групи викликає ороговіння вагінального епітелію (еструсу) та утеротропну реакцію матки (див. рисунок). Одночасне збільшення вмісту естрогенів у циркуляції та вмісту гонадотропінів у гіпофізі у цих тварин віддзеркалює преовуляторну ситуацію. Ці події служать доказом встановлення позитивного зворотного зв'язку у системі яєчники — гіпофіз, внаслідок якого настає овуляція та завершення статевого дозрівання.

Таким чином, у самок щурів у ході пубертатогенезу початкова стадія (відкриття піхви) та завершальний етап (встановлення позитивного зворотного зв'язку й овуляція) у більшості випадків значно розмежені у часі. У регуляції певних стадій статевого дозрівання важливе значення має концентрація статевих гормонів, зокрема тестостерону і естрадіолу. Необхідними вимогами щодо індукції початкового етапу пубертатії є істотне зниження вмісту тестостерону і його співвідношення з E₂. Естрогени не причетні до процесу відкриття піхви. Їх провідна роль укладається у механізмі регуляції встановлення позитивного зворотного зв'язку між гонадами і гіпофізом і овуляції, тобто у фінальних стадіях статевого дозрівання. Тривалість періоду між початком та завершенням пубертатогенезу залежить від вмісту естрогенів під час відкриття піхви. Високі концентрації естрогену сприяють наближенню овуляції, що значно скорочує інтервал між початковою та фінальною фазами пубертатогенезу.

Поданий матеріал дозволяє переглянути існуючі погляди щодо закономірностей гормональної регуляції статевого дозрівання жіночого організму.

L. B. Litvinova

SEX STEROIDS IN THE FEMALE PUBERTY INITIATION

In the female rats it has been estimated the initial (vaginal opening) and final (the establishment of the positive feedback and ovulation) stages of the sexual maturation are in most cases separated by time and regulated by different testosterone metabolites. The considerable decrease of testosterone and its biotransformation to 5α -reduced androgens are necessary for induction of initial puberty stage. Duration between the beginning and the ending of the pubertogenesis depends on the way of the testosterone metabolism. The transformation of testosterone to 5α -reduced androgen stimulates the vaginal opening, but enlarges the time of the first ovulation. The activation of testosterone aromatization promotes to the shortening of the time interval or even the temporal coincidence of the initial and final puberty stages.

*Ukrainian Reseach Institute
of Endocrine Diseases Pharmacotherapy, Kharkov*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Бабичев В.Н.* Нейроэндокринология пола. — М.: Наука, 1981. — 222 с.
2. *Бабичев В.Н.* Нейроэндокринный контроль процессов пубертации у человека и приматов // Проблемы эндокринологии. — 1994. — **40**, №4. — С. 51-567.
3. *Баграмян Э.Р.* Роль андрогенов в физиологии репродуктивной функции женщин // Акушерство и гинекология. — 1985. — №11. — С. 3-7.
4. *Вундер П.А.* Значение изменения чувствительности гипоталамо-гипофизарной системы к тормозному влиянию полового гормона в регуляции тонической секреции гонадотропинов и функции размножения // Успехи соврем. биологии. — 1990. — **110**. — Вып. I (4). — С. 143-159.
5. *Гормональная регуляция размножения у млекопитающих.* / Под ред. К.Остин, Р.Шорт. — М.: Мир, 1987. — 303 с.
6. *Дегтярь В.Г.* Роль 5α -восстановленных 3,17-диолов у млекопитающих // Успехи соврем. биологии. — 1992. — **112**, №3. — С. 422-436.
7. *Жуковский М.А., Лебедев Н.Б., Семичев Т.В и др.* Нарушение полового развития. — М.: Медицина, 1989. — 272 с.
8. *Крупко-Большова Ю.А., Корнилова А.И.* Патология полового развития девочек и девушек. — К.: Здоров'я, 1990. — 232 с.
9. *Литвинова Л.Б., Яременко Ф.Г., Чистякова Э.Е., Гунченко Ю.В.* Значение гормонального гомеостаза в механизме регуляции полового созревания самок крыс / Тез. научн. сообщений II съезда физиологов Сибири и Дальнего Востока. Новосибирск, 15-17 июня 1995 г. — Новосибирск, 1995. — Ч. 2. — С. 264.
10. *Плехова Е.И.* Роль моноаминов в патогенезе нарушений полового созревания // Пробл. эндокринологии. — 1986. — **32**, №2. — С. 51-55.
11. *Пшеничникова Т.Я.* Бесплодие в браке. — М.: Медицина, 1991. — 320 с.
12. *Резников А.Г.* Методы определения гормонов. — К.: Наук. думка, 1980. — 399 с.
13. *Резников А.Г.* Половые гормоны и дифференциация мозга. — К.: Наук. думка, 1982. — 252 с.
14. *Савченко О.Н., Арутюнян Н.А. Степанов М.Г.* Экспериментальное бесплодие. Эндокринологические аспекты. — СПб.: Наука, 1992. — 152 с.
15. *Тронько Н.Д.* Обмен стероидных гормонов при эндокринной патологии. — К.: Здоров'я, 1982. — 96 с.
16. *Acller N.T.* Neuroendocrinology of Reproduction. Physiology and Behavior. — New york: Plenum Press, 1981. — 555 p.
17. *Ojeda S.R., Urbanski H.F.* Puberty in the rat. In: The physiology of reproduction. Second edition. Editid by E.Knobil, J.D.Neill. New York: Raven Press, Ltd., 1994. — P. 363—409.

Укр. наук.-досл. ін-т фармакоterapiї ендокрин. захворювань М-ва охорони здоров'я України, Харків *Матеріал надійшов до редакції 19.10.99*