

Л. Б. Літвінова, В. М. Вакула

Вплив відновлених 5 α -андрогенів на статеве дозрівання самиць щурів

Самкам крыс в препубертате вводили восстановленные 5 α -андрогены - 5 α -дигидротестостерон (ДГТ), 5 α -андростан-3 α , 17 β -диол (3 α -диол) или 5 α -андростан-3 β , 17 β -диол (3 β -диол) в дозе 5 мг на 100 г. Установлено, что ДГТ и 3 α -диол индуцировали начальный этап полового созревания – открытие вагины. Стимуляция начала пубертации у этих крыс сопровождалась активностью гипофиза, что вызывало задержку заключительной стадии полового созревания – овуляции. Метаболит ДГТ - 3 α -диол, ускорял наступление первой овуляции, а 3 β -диол в условиях нашего эксперимента не влиял на темп пубертации. Предполагается, что стимулирующий эффект ДГТ на начальном этапе созревания самок опосредован его превращением в 3 α -диол, который вероятно, является одним из ключевых факторов регуляции пубертации крыс.

ВСТУП

Завершальний етап статевого розвитку – пубертація, нерозривно пов'язаний з формуванням і встановленням механізмів негативних, а у осіб жіночої статі й позитивних зворотних зв'язків між гонадами та гіпофізом [1, 9, 10, 16]. У цьому процесі загальновідома роль естрогенів і андрогенів, біосинтез яких в яєчниках змінюється в онтогенезі [2, 3, 11]. Дія основного андрогену – тестостерону в органах-мішенях супроводжується його ароматизацією в естрогени або трансформацією у 5 α -дигидротестостерон (ДГТ), який не ароматизується та виявляє більшу андрогенну активність, ніж сам тестостерон [4]. Нашими дослідженнями [5, 7] показано дозозалежний вплив ДГТ в індукції початкових етапів статевого дозрівання та супресорний ефект гормону на завершальній стадії пубертації. Однак ДГТ – не кінцевий продукт метаболізму тестостерону, він перетворюється на андростандіоли: 5 α -андростан-3 α , 17 β -діол (3 α -діол) або 5 α -андростан-3 β , 17 β -діол (3 β -діол) – андрогени з різною біологічною

активністю [3, 4]. Здатність ДГТ до метаболізму з утворенням андростандіолів заважає остаточній відповіді на питання відносно його безпосереднього ефекту в ініціації пубертації. За даними літератури [3, 9, 12, 13] участь обох діолів у регуляції дозрівання жіночої репродуктивної системи не викликає сумнівів, але їх роль у цьому процесі залишається дискусійною.

Мета нашого дослідження – вивчити вплив різних за будовою відновлених 5 α -андрогенів на темп статевого дозрівання самиць щурів.

МЕТОДИКА

Дослідження проведено на 84 самицях щурів лінії Вістар пре- та пубертатного віку. У препубертаті (на 35-ту добу життя) тваринам вводили одноразово внутрішньом'язово в олійному розчині ДГТ, 3 α -діол або 3 β -діол у дозі 5 мг/100 г. Контрольні самиці отримували по 0,2 мл розчинника стероїдів – кісткову олію за тих самих умов.

У контрольних і дослідних тварин вивчали темп статевого дозрівання за показни-

ками часу відкриття піхви та першої овуляції. Частина контрольних і дослідних самиць забивали під ефірним наркозом у 40-добовому віці, тобто у період, який відповідає початку пубертації у інтактних щурів [6]. У периферичній крові цих тварин визначали вміст статевих стероїдів: прогестерону, тестостерону й естрадіолу (E_2) радіоімунологічним методом. У гомогенатах гіпофізів визначали вміст сумарних гонадотропінів методом біологічного тестування [14] і виражали в умовних одиницях. На гістологічних зрізах гонад, фарбованих еозин-гематоксилином, оцінювали стан генеративних елементів: фолікулів, що дозрівали, наявність жовтих та атретичних тіл.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У щурів контрольної та дослідних груп початковий етап статевого дозрівання (відкриття піхви) зареєстрований у 100 % випадків. У щурів, яким у препубертації вводили ДГТ, початкова стадія пубертації прискорювалася більше, ніж на два тижні порівняно з контролем (рис. 1). Аналогічні дані отримані у щурів після ін'єкції 3α -діолу, тоді як введення 3β -діолу не впливало на час відкриття піхви. Слід зазначити, що у групах самиць, андрогенізованих ДГТ або 3α -діолом, відкриття піхви у більшості випадків (ДГТ – 69,2 %, 3α -діол – 68,4 %, контроль – 22,2 %, $P < 0,01$) відбувалося до 40-добового віку. Після введення 3β -діолу відкриття піхви у дослідній, як і у контрольній групах щурів, було розтягнуто у часі (з 40- до 70-добового віку). Отже, 3α -діол так само, як і його попередник – ДГТ, стимулює початок статевого дозрівання самиць щурів. Односпрямований характер дії цих андрогенів, імовірно, пов'язаний з їх здатністю до взаємоперетворення [4], а, можливо, саме 3α -діол є “ключовим” андрогеном, одним із індукторів початку пубертації. За фізіологічних умов препубертачне зниження вмісту 3α -діолу у крові вважають [15] не відіграє суттєвої ролі у встановленні строку пубертації щурів. А короточасний підйом вмісту ДГТ і, особли-

во, 3α -діолу у препубертації (на 35-37-ту добу) [11] дає підстави для припущення про важливе значення цих андрогенів у “запуску” пубертації самиць щурів. На користь цього припущення свідчать клінічні дослідження [17], у яких показано, що передчасне статеве дозрівання у дівчат супроводжується істотним збільшенням вмісту 3α -діолу у крові. Автори пропонують вважати цей андроген фізіологічним маркером ранньої пубертації у дівчат.

Інший метаболіт ДГТ – 3β -діол, в органах-мішенях швидко перетворюється на тріолі – біологічно неактивні сполуки [4], тобто це шлях “інактивації” ДГТ. Можливо цим і пояснювалася відсутність реакції статевої системи, яка дозрівала, на ін'єкцію 3β -діолу (див. рис. 1), принаймні, у використаній дозі і віці, в якому вводили андроген. Ці результати суперечать даним дослідників [9, 12, 13], які показали стимулюючу дію 3β -діолу в

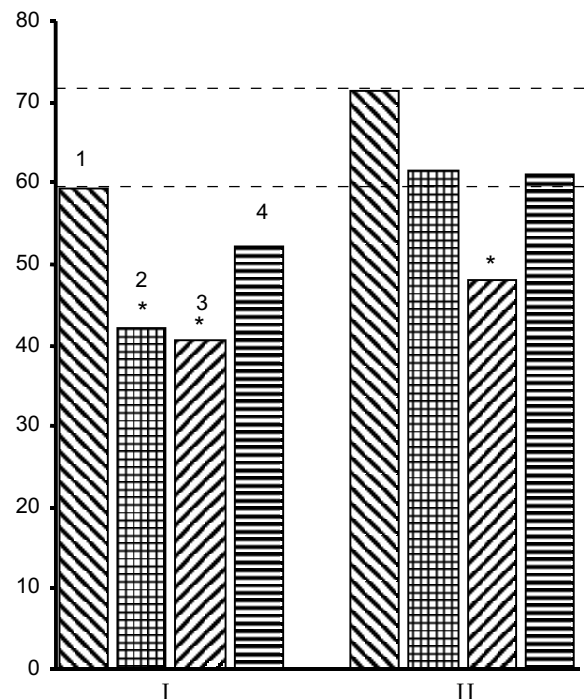


Рис. 1. Показники пубертації андрогенізованих самиць щурів: 1 - контроль, 2 - ДГТ, 3 - 3α -діол, 4 - 3β -діол, I - час відкриття піхви, II - час настання першої овуляції.

* - $P < 0,05-0,01$.

індукції пубертації щурів. Неузгодженість результатів, вірогідно, пов'язана з іншими умовами дослідів, а саме: дозами 3 β -діолу (10 або 25 мкг [12, 13] та 80 мкг [9]), терміном (десятиразове введення [9]) і часом (з 20-ї до 30-ї доби життя) введення. Цілком можливо, тривале використання 3 β -діолу призводило до насичення організму цим андрогеном, що спричиняло накопичення його попередника – ДГТ та/або за цих умов посилювало реакцію ДГТ \rightarrow 3 α -діол, які саме і стимулювали відкриття піхви. Не виключено також, що позитивний ефект 3 β -діолу щодо препубертату (у 20 – 30-добовому віці) пов'язаний з тим, що у цей період онтогенезу дозрівають рецептори естрогенів [9], а їх вміст ще залишається низьким. Здатність 3 β -діолу до зв'язування тільки з цими рецепторами [3], імовірно, виявляє синергічний характер дії 3 β -діолу та естрогенів у регуляції пубертації.

Перша овуляція наставала у 100 % щурів контрольної та дослідних груп, за винятком тих самиць, яким вводили 3 β -діол. У останніх овуляція була відсутньою у 10 % випадків до 4,5-місячного віку. Час настання овуляції у самиць після введення ДГТ або 3 β -діолу не відрізнявся від такого у контролі (див. рис. 1). У щурів, андрогенізованих 3 α -діолом, овуляція відбувалася значно раніше, ніж у контрольних і дослідних самиць інших груп. У 35,7 % щурів овуляція наставала до 40-добового віку. Отже, стимульоване відкриття піхви у щурів, оброблених ДГТ або 3 α -діолом, лише за умов використання 3 α -метаболіту ДГТ супроводжувалося прискоренням овуляції.

Гормональні дослідження свідчили про активізацію ендокринної функції яєчників 40-добових щурів, обтяжених у препубертаті надлишком ДГТ або 3 α -діолу (рис. 2). Характерно, що нас-

лідком введення ДГТ було одночасне збільшення у крові вмісту і тестостерону (на 141,7 %), і E₂ (на 150 %), а після ін'єкції 3 α -діолу – тільки E₂ (на 200 %). Співвідношення тестостерону і E₂ у крові самиць, оброблених ДГТ (1,98 \pm 0,86), відповідало такому у інтактних щурів під час відкриття піхви без ознак овуляції, а у тварин після введення 3 α -діолу воно (1,33 \pm 0,16) не відрізнялося від відповідного співвідношення у самиць, у яких овуляція була у день відкриття піхви [6]. Запізнення першої овуляції за умов стимульованого ДГТ початку пубертації, швидше за все, пов'язане з дією андрогена на гіпофіз, оскільки ДГТ є активним інгібітором секреції ЛГ [3, 8, 10]. У нашому досліді проявом останнього був знижений (на 50 %) вміст гонадотропінів у гіпофізах самиць після введення ДГТ (див. рис. 2).

В яєчниках щурів 40-добового віку відзначалася стимуляція фолікулогенезу, особ-

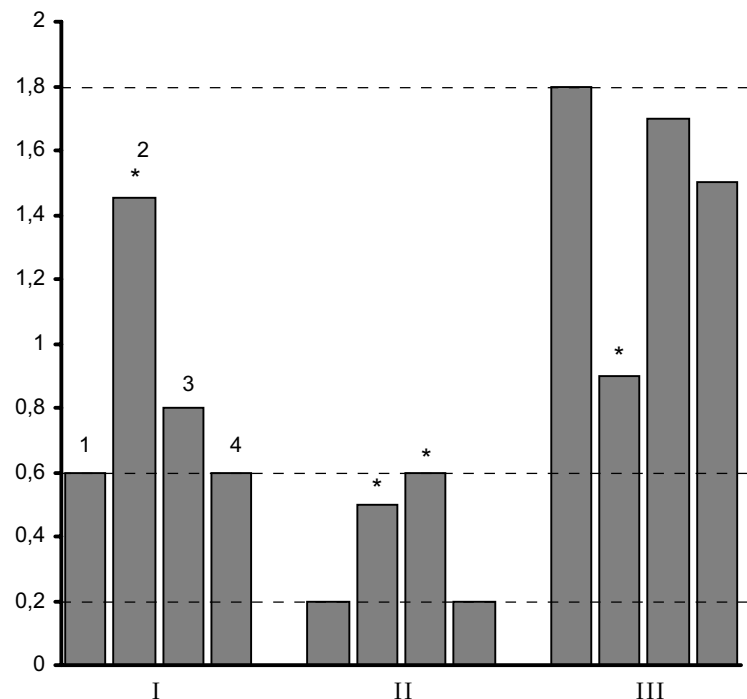


Рис. 1. Вплив 5 α -відновлених андрогенів на рівні стероїдів у крові (нмоль/л) і сумарних гонадотропінів у гіпофізі (у.о.): 1 - контроль, 2 - ДГТ, 3 - 3 α -діол, 4 - 3 β -діол, I - тестостерон, II - естрадіол, III - гонадотропін.

* - $P < 0,05-0,01$.

ливо після введення ДГТ і 3 α -діолу. При тому у останніх більша кількість фолікулів належала до категорії преовуляційних, що пояснюється здатністю 3 α -діолу до запобігання фолікулярних атрезій [3]. Після введення 3 α -діолу у самиць, у яких перший еструс відбувався до 40-добового віку, гонади містили жовті тіла, що підтверджувало факт овуляції. В яєчниках щурів, оброблених ДГТ, було багато атретичних тіл і порожнинних фолікулів з ознаками атрезії. Це могло бути наслідком гонадотропної недостатності.

Таким чином, отримані результати свідчать, що участь відновлених 5 α -андрогенів у регуляції пубертації самиць щурів залежить від хімічної будови стероїду, а можливо, і від часу гормонального впливу. ДГТ і 3 α -діол виявили якості індукторів початкової стадії статевого дозрівання – відкриття піхви. Це супроводжувалось активацією ендокринної та генеративної функції яєчників. На завершальному етапі пубертації (встановленні позитивного зворотного зв'язку) ДГТ, гальмуючи гонадотропну функцію гіпофіза, пригнічував дозрівання порожнинних фолікулів і затримував настання першої овуляції після стимульованого відкриття піхви. На відміну від свого попередника, 3 α -діол прискорював першу овуляцію, про яку свідчили наявність вагінального еструсу і жовтих тіл у гонадах. Ці результати давали підстави для припущення, що саме 3 α -діол є одним з основних фізіологічних чинників, які беруть участь у регуляції пубертації. Ефект ДГТ в ініціації статевого дозрівання самиць щурів, можливо, опосередкований дією його метаболіту - 3 α -діолу. Метаболіт ДГТ - 3 β -діол (за аналогічних умов досліджу), не впливав на темп пубертації самиць щурів.

L.B. Litvinova, V.M. Vakula

INFLUENCE OF RESTORED 5 α -ANDROGENS ON PUBERTY IN THE FEMALE RATS

The female rats at a prepubertal period were introduced to the restored 5 α -androgens, namely: 5 α -dihydrotesto-

sterone (DHT), 5 α -androstane-3 α , 17 β -diol (3 α -diol) or 5 α -androstane-3 β , 17 β -diol (3 β -diol) in the dose of 5 mg/100 g. Both DHT and 3 α -diol have been determined to induce the vaginal opening as the initial stage of puberty. Stimulation of the puberty in those rats was followed with an activation of both endocrine and generative functions of the ovaries. DHT inhibited the gonadotrophic activity of the hypophysis that delayed the ovulation as the final stage of puberty. The DHT metabolite 3 α -diol hastened the first ovulation, while 3 β -diol did not influence the pace of the puberty. The stimulating effect of DHT at the initial stage of the pubescence in the female rats has been suggested to be due to its conversion into 3 α -diol which is likely to be one of the key factors in the pubescence control in rats.

V. Danilevsky Institute of Endocrine Pathology Problems

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бабичев В.Н. Нейроэндокринный контроль процессов пубертации у человека и приматов // Пробл. эндокринологии. - 1994. - **40**, № 4. - С. 51-56.
2. Дегтярь В.Г. Образование и роль 5 α -восстановленных андрогенов у человека // Там же. - 1992. - **38**, № 3. - С. 55-59.
3. Дегтярь В.Г. Роль 5 α -восстановленных 3,17-диолов у млекопитающих // Усп. совр. биологии. - 1992. - **112**, № 3. - С. 422-436.
4. Дегтярь В.Г., Кушлинский Н.Е. Метаболизм андрогенов // Там же. - 2000. - **120**, № 1. - С. 48-59.
5. Літвінова Л.Б. Значення периферійної гормональної ланки у регуляції різних стадій статевого дозрівання самиць щурів // Ендокринологія. - 2000. - **5**, № 2. - С. 201-206.
6. Літвінова Л.Б. Статеві стероїди в ініціації пубертатогенезу у самиць щурів // Фізіол. журн. - 2000. - **46**, № 3. - С. 33-37.
7. Літвінова Л.Б. Роль естрогенів у регуляції статевого дозрівання самиць щурів // Там само. - **46**, № 5. - С. 14-18.
8. Лосева Л.А., Дегтярь В.Г., Исаченков В.А. Роль 5 α -андростан-3 β ,17 β -диола в осуществлении обратной связи между гонадами и гипоталамо-гипофизарной системой орхидэктомированных крыс // Вопр. мед. химии. - 1980. - **24**. - С. 398-402.
9. Резников А.Г. Половые гормоны и дифференциация мозга. - К.: Наук. думка, 1982. - 252 с.
10. Савченко О.Н., Арутюнян Н.А., Степанов М.Г. Экспериментальное бесплодие. Эндокринологические аспекты. - СПб.: Наука, 1992. - 152 с.
11. Cohen J., Dore C., Robair B. et al. Plasma concentrations of free 5 α -androstane-3 α , 17 β -diol and related gonadal steroids during spontaneous and

- induced sexual maturation in the female rat // Biol. Reprod. - 1984. - N 30. - P. 105-110.
12. Eckstein B., Ravid R. On the mechanism of 5 α -androstan-3 β ,17 β -diol and its 3 β -epimer in peripheral blood of immature female rats // Endocrinology. - 1974. - **24**, N 1. - P. 224-229.
13. Eckstein B. Blood concentrations and biological effects of androstanediols on the onset of puberty in the female rat // J. Steroid Biochem. - 1983. - **19**, N 1. - P. 883-886.
14. Ludwig D.J. The effect of androgen on spermatogenesis // Endocrinology. - 1950. - **46**, N 5. - P. 453-481.
15. Ojeda S.R., Katz K.H., Costa M.-E., Advis T.P. Effect of experimental alterations in serum levels of 5 α -androstan-3 α , 17 β -diol on the timing of puberty in the female rat // Neuroendocrinology. - 1984. - **39**, N 1. - P. 19-24.
16. Ojeda S.R., Urbansky H.F. Puberty in the rat. In: E. Knobil, J.D. Neill (eds.). The Physiology of reproduction. 2-nd edit. New York: Raven Press, Ltd., 1994. - P. 363-409.
17. Tejerizo L.C., Morales M., Morales R. et al. Pubarquia Prematura: estudio de los niveles de androstandiol (3 β -Ад) // Clin. E. invest. Ginecol. J.obstel. - 1993. - **20**, N 5. - P. 194-203.

Ин-т проблем ендокрин. патології ім.В.Я.Данилевського АМН України, Харків

Матеріал надійшов до редакції 19.06.2001