

Л.Б. Літвінова

## Гормональна стимуляція статевого дозрівання самиць

*Самкам крыс в препубертатний період ін'єцировали одноразово смесь половых стероидов: эстрадиола ( $E_2$ ) и дигидротестостерона (ДГТ). Установлено, что данная гормональная комбинация ускоряла половое созревание самок на разных его стадиях - открытия вагины и наступления первой овуляции. Пубертация крыс сопровождалась подъемом в крови содержания эстрогенов и снижением соотношения тестостерон/ $E_2$ . В яичниках крыс наблюдали стимуляцию фолликулогенеза и обнаруживали постовуляторные желтые тела. Предполагается, что ДГТ препятствует перезреванию овариальных фолликулов в условиях эстрогенизации организма, а  $E_2$  - нивелирует негативное действие ДГТ на гипофиз. Комбинация стероидов ( $E_2$  и ДГТ) является эффективной для стимуляции полового созревания самок.*

### ВСТУП

Період статевого дозрівання характеризується глибокими змінами в органах репродуктивної системи - гіпоталамо-гіпофізарному комплексі та гонадах [1, 10]. У процесі пубертації важливе значення має активація функції яєчників, оскільки статеві стероїди - естрогени та андрогени, беруть участь у регуляції дозрівання репродуктивної системи [4, 9, 14]. В експериментах на щурах доведено роль метаболітів тестостерону - естрадіолу ( $E_2$ ) і дигідротестостерону (ДГТ) на різних стадіях пубертації самиць [5]. Встановлено, що ДГТ у високих дозах (1 мг чи 5 мг/100 г) стимулює початковий етап (відкриття піхви) статевого дозрівання [7], але гальмує настання першої овуляції [4, 7]. Тоді як у регуляції завершальної стадії пубертації - встановлення позитивного зворотного зв'язку й овуляції, підтверджено провідну роль естрогенів [1, 6, 14]. Введення  $E_2$  для стимуляції статевого дозрівання самиць може мати несприятливі наслідки, оскільки естрогени негативно впливають на гіпоталамічні структури [2], але цей ефект нівелюється андрогенами, зокрема ДГТ [12].

Викладене вище послужило приводом для проведення даного дослідження. Мета роботи - вивчити темп статевого дозрівання і стан репродуктивної системи самиць щурів після сумісного введення  $E_2$  і ДГТ.

### МЕТОДИКА

Дослідження виконано на 60 самицях щурів лінії Вістар. Тваринам у 35-добовому віці (препубертатний період) вводили одноразово внутрішньом'язово в олійному розчині комплексно статеві стероїди -  $E_2$  і ДГТ. Естрогени використовували у дозі 3 мкг, а ДГТ - 1 мг/100 г. Обґрунтуванням для вибору доз служили наші дослідження [6, 7], в яких показано стимулювальну дію цих стероїдів у регуляції пубертації самиць. Контрольні самиці отримували за аналогічних умов по 0,2 мл розчинника.

У контрольних і дослідних щурів вивчали строки статевого дозрівання: час відкриття піхви та настання першого еструсу (овуляції) за показниками змін цитології вагінальних мазків. У 40-добовому віці, який відповідає початку фізіологічної пубертації [5, 9], по 10 самиць з кожної групи забивали

під ефірним наркозом для гормональних і гістологічних досліджень. У периферичній крові щурів радіоімунологічним методом вивчали вміст статевих стероїдів: прогестерону, тестостерону та  $E_2$ . У гомогенатах гіпофізів визначали вміст сумарних гонадотропінів методом біологічного тестування [13] і результати виражали в умовних одиницях. На кожному п'ятому серійному зрізі яєчників підраховували кількість фолікулів на різних стадіях дозрівання, число атретичних і жовтих тіл [11].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У самиць щурів ін'єкція комбінації стероїдів ( $E_2$  і ДГТ) значно прискорювала час відкриття піхви і настання першого еструсу, а, можливо, і овуляції (рис. 1). За цих умов скорочувався інтервал між початком і завершенням статевого дозрівання — контроль (12,11±2,27) доби; дослід (0,52±0,11) доби; ( $P<0,001$ ).

Стимуляція пубертації у дослідних самиць супроводжувалася підвищенням у крові вмісту  $E_2$  (рис.2). Концентрації прогестеро-

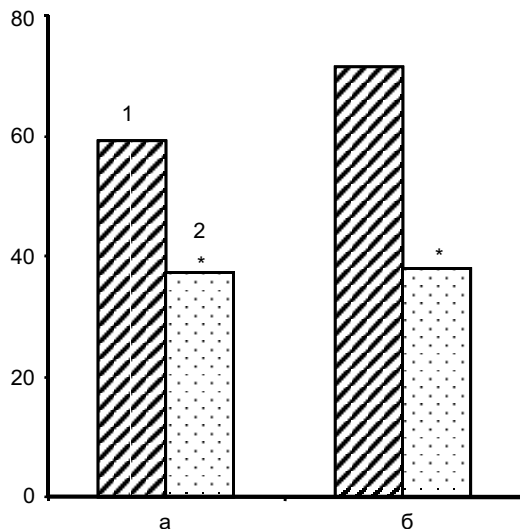


Рис. 1 Показники статевого дозрівання самиць щурів після введення  $E_2$  і ДГТ: а - відкриття піхви; б - настання першої овуляції; 1 - контроль, 2 - дослід; \*  $P<0,05$  - 0,001 - вірогідність різниці між контролем і дослідом.

ну і тестостерону у крові не змінювались, а співвідношення цих гормонів з  $E_2$  зсувалося в бік естрогенів ( $E_2$ /прогестерон  $\times 10^{-2}$ : контроль - 3,28±0,63; дослід - 13,67±3,20;  $P<0,01$ ; тестостерон/ $E_2$ : контроль - 2,93±0,34; дослід - 0,81±0,14;  $P<0,05$ ). Вміст сумарних гонадотропінів у гіпофізах контрольних і дослідних тварин не відрізнявся.

В яєчниках щурів дослідної групи збільшувалася кількість усіх категорій фолікулів, що дозрівали (рис.3). Число атретичних тіл не відрізнялось у гонадах контрольних і дослідних самиць. Це свідчило про стимуляцію оваріального фолікулогенезу щурів під час пубертації як з боку статевих стероїдів — естрогенів і ДГТ (підвищення кількості преантральних фолікулів), так само і гонадотропінів (збільшення кількості антральних фолікулів). Імовірно, ДГТ або його метаболіти запобігають перезріванню фолікулів і яйцеклітин за умов естрогенізації організму. Поява антральних фолікулів, здатних до синтезу та секреції естрогенів [3,10], а також екзогенний  $E_2$  спричиняли підвищення вмісту естрогенів у крові дослідних самиць. Крім того, в яєчниках щурів дослідної групи, на відміну від контрольних самиць, знаходилися жовті тіла, що підтверджувало факт настання першої овуляції під час вагінального еструсу за умов гормональної ( $E_2$  і ДГТ) стимуляції статевого дозрівання. Разом з тим жовті тіла за розміром були менші, ніж звичайні післяовуляційні, а слабка гіпертрофія лютеоцитів на тлі низького вмісту прогестерону у крові, свідчила про функціональну недостатність жовтих тіл. Це, мабуть, пов'язано з високою концентрацією у крові  $E_2$ , який прискорює лютеоліз жовтих тіл.

Маса матки дослідних щурів (303,40 мг/100 г ±44,91 мг/100 г) перевищувала таку у контролі (66,44 мг/100 г ±2,02 мг/100 г;  $P<0,001$ ), що за умов естрогенізації організму свідчило про нормальну діяльність рецепторних систем у матці.

Таким чином, комбінація метаболітів тестостерону ( $E_2$  і ДГТ) стимулювала ендокринну та генеративну функцію яєчників щу-

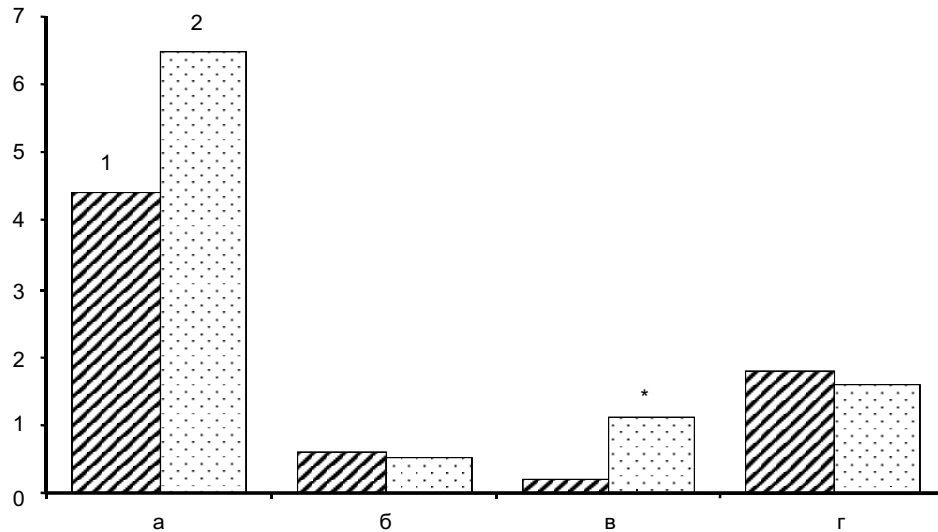


Рис. 2 Вміст статевих гормонів у крові (нмоль/л) і вміст гонадотропінів у гіпофізі (ум.од.) у самиць щурів після введення E<sub>2</sub> і ДГТ: а - прогестерон; б - тестостерон; в - E<sub>2</sub>; г - гонадотропіни; 1 - контроль; 2 - E<sub>2</sub> і ДГТ; \* P<0,001 - вірогідність різниці між контролем і дослідом.

рів у пубертатний період, що прискорювало статеве дозрівання самиць. Початок і завершення пубертатії щурів за умов комплексного використання цих стероїдів відбувалися вірогідно раніше, ніж у самиць, яким вводили у

таких самих дозах окремо ДГТ [7] або E<sub>2</sub> [6], що свідчило про позитивний сумарний гормональний ефект. Інтервал між відкриттям піхви і овуляцією у щурів, яким вводили E<sub>2</sub> у поєднанні з ДГТ, не відрізнявся від

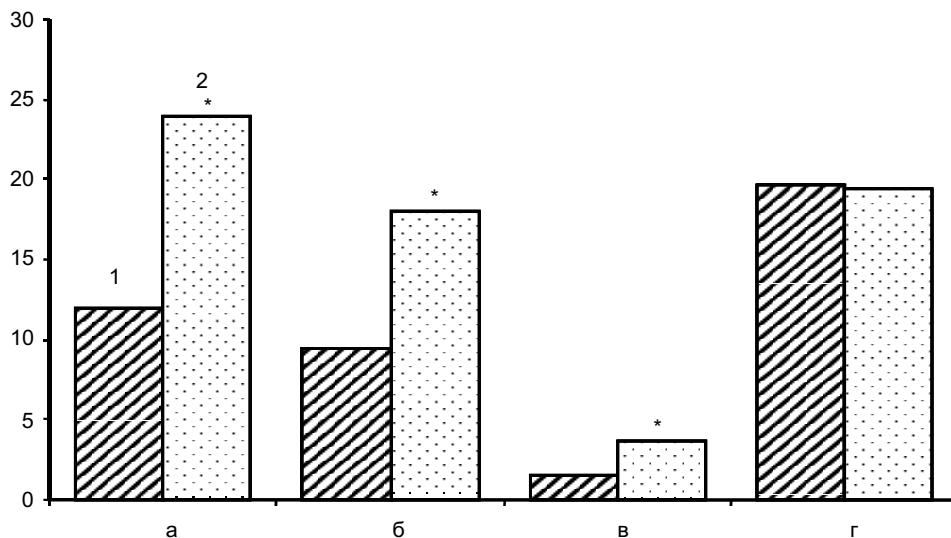


Рис. 3 Стан фолікулярного апарату яєчників щурів у пубертаті після введення E<sub>2</sub> і ДГТ: а - преантральні, б - багатопорожнинні, в - однопорожнинні, г - атретичні фолікули; 1 - контроль; 2 - E<sub>2</sub> і ДГТ; \* P<0,05 - 0,001 - вірогідність різниці між контролем і дослідом.

такого після ін'єкції одного  $E_2$  [5], але був істотно меншим, ніж у тварин, які отримували лише ДГТ [7]. Отже, ДГТ не запобігав дії  $E_2$  у процесі встановлення позитивного зворотного зв'язку між гонадами та гіпофізом, внаслідок якого наставала овуляція.

Посилення ефекту обох стероїдів ( $E_2$  і ДГТ) в ініціації пубертації, а також пригнічення за допомогою  $E_2$  негативного впливу ДГТ на завершальному етапі статевого дозрівання самиць, імовірно, пояснювалось їх дією на рівні центральної ланки регуляції пубертації. Показано [8], що і  $E_2$ , і ДГТ стимулюють НА-ергічну систему гіпоталамуса, що посилює синтез і тонічну секрецію гонадотропінів. Тоді як тільки  $E_2$ , пригнічуючи серотонінергічну систему мозку, стимулює преовуляційний викид гонадотропінів [10, 14]. ДГТ у цьому процесі - не ефективний [8].

У регуляції пубертації, особливо на завершальній її стадії у щурів також принципове значення має вміст естрогенів і співвідношення тестостерон/ $E_2$ , яке поступово знижується від моменту відкриття піхви до овуляції [5]. Статеве дозрівання щурів, яким вводили  $E_2$  і ДГТ (див. рис. 2) або лише  $E_2$  [6] відбувалося на тлі високого вмісту естрогенів у крові. Концентрація тестостерону у циркуляції самиць після ін'єкції  $E_2$  збільшувалася на 23,4 % [6]. У крові щурів, які отримували гормональну суміш ( $E_2$  і ДГТ), зниження співвідношення тестостерон/ $E_2$  на 72,4 %, давало підстави для пояснення настання першої овуляції у більш ранньому віці, ніж у щурів, яким вводили тільки  $E_2$ . У цих самиць стимуляція овариального фолікулогенезу супроводжувалася збільшенням кількості фолікулярних атрезій, що пов'язано з високим вмістом тестостерону у крові [3].

Таким чином, отримані результати дають підстави припустити, що сумісне введення  $E_2$  і ДГТ стимулює статеве дозрівання самиць щурів ефективніше, ніж кожний стероїд, використаний окремо. На початкових етапах пубертації  $E_2$  посилює дію ДГТ, що прискорює відкриття піхви у щурів. У процесі встановлення позитивного зворотного зв'язку (за-

вершальна стадія статевого дозрівання)  $E_2$  гальмує негативний вплив ДГТ на гіпофіз, що наближає час настання першої овуляції. Комбінація даних стероїдів ( $E_2$  і ДГТ) є перспективною для стимуляції дозрівання жіночої репродуктивної системи.

**L.B. Litvinova**

## **HORMONAL STIMULATION OF THE FEMALE PUBERTY**

The mixture of the sexual steroids: estradiol ( $E_2$ ) and dihydrotestosterone (DHT) was injected to the female rats at prepuberty. This hormonal combination has been established to accelerate the different stages of the female rats' puberty – the vaginal opening and first ovulation. The puberty was accompanied with an increase in the estrogen level in the blood and a reduce of the relation between testosterone and  $E_2$ . The stimulating effect of the hormonal combination on the ovarian folliculogenesis was observed and post-ovulatory corpus luteum were found in the experimental rats. We suggest that DHT blocked overripening the ovarian follicles at estrogenizing, and  $E_2$  reduces the negative effect of DHT on the hypophysis. The steroid combination ( $E_2$  + DHT) is effective for stimulating female puberty.

*V. Danilevsky Institute of Endocrine Pathology  
Problems of AMS Ukraine, Kharkiv*

## **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Бабичев В.Н. Нейроэндокринный контроль процессов пубертации у человека и приматов // Пробл. эндокринологии.- 1994.- **40**, № 4. – С. 51-56.
2. Бабичев В.Н. Нейроэндокринология репродуктивной системы (состояние физиологических исследований и перспективы их применения в клинической практике) // Там же.- 1998.- **44**, № 1. – С. 3-12.
3. Боярский К.Ю. Овариальная стимуляция и фолликулогенез в конце 90-х годов: на пороге будущего // Пробл. репродукции.- 1997.- 3, №4.- С. 61-68.
4. Дегтярь В.Г. Роль 5 $\alpha$ -восстановленных 3,17-диолов у млекопитающих // Усп. совр. биологии.- 1992.- **112**, № 3.- С. 422-436.
5. Літвінова Л.Б. Статеві стероїди в ініціації пубертації у самок щурів // Фізіол. журн.- 2000.- **46**, № 3.- С. 33-37.
6. Літвінова Л.Б. Роль естрогенів у регуляції статевого дозрівання самиць щурів // Там само.- 2000.- **46**, № 5.- С. 14-18.

7. Літвінова Л.Б. Значення периферійної гормональної ланки у регуляції різних стадій статевого дозрівання самок щурів // Ендокринологія.- 2000.- **5**, № 2.- С. 201-206.
8. Литвинова Л.Б. Значение неароматизируемых андрогенов в центральной регуляции пубертации самок // Нейрофизиология. - 2000, - **32**, №6. - С. 450-455.
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. Саноцкий И.Ф., Фоменко В.Н. Отдельные последствия влияния химических соединений на организм.- М.: Медицина, 1979.- 232 с.
12. Braver D.J., Schipper H., Robaire V. Effect of long term androgen and estradiol exposure on the hypothalamus // Endocrinology.- 1983.- **112**, N 1.- P. 194-199.
13. Ludwig D.J. The effect of androgen on spermatogenesis // Ibid.- 1950.- **46**, N 5.- P. 453-481.
14. Ojeda S.R., Urbansky H.F. Puberty in the rat. - In: E. Knobil, J.D. Neill. The physiology of reproduction. - 2-nd edit. - New York: Raven Press, Ltd., 1994.- P. 363-409.

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

*Матеріал надійшов до редакції 4.01.2002*