

ХАРКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

БРИЗГАЛОВА Галина Андріївна

ВПЛИВ ІНГІБУВАННЯ ПРОЦЕСУ 5α -ВІДНОВЛЕННЯ
ТЕСТОСТЕРОНУ В НЕОНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ НА
РЕПРОДУКТИВНУ СИСТЕМУ ЩУРІВ САМЦІВ

14.00.17. - Нормальна фізіологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття вченого ступеня
кандидата біологічних наук

Харків - 1994

1731071
Робота виконана в Українському науково-дослідному інституті
фармакотерапії ендокринних захворювань

Науковий керівник: кандидат медичних наук
Сергиєнко Лоріана Дріівна

Офіційні опоненти: доктор медичних наук
Плехова Олена Ігорівна
кандидат біологічних наук
Нестеренко Галина Олексіївна

Провідна організація: Український НДІ ендокринології
та обміну речовин

Захист дисертації відбудеться "10" червня 1994 р.
о 14 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради
Д 088.23.04 у Харківському державному медичному універ-
ситеті за адресою: 310022, м.Харків, пр.Леніна,4.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Харківського
державного медичного університету (310022, м.Харків,
пр.Леніна,4)

Автореферат розіслано "10" жовтня 1994 р.

Вчений секретар
спеціалізованої ради

Л.О.Жубрікова

ЛННБ України ім.В.Стефаніка Б ім. В. Стефаніка



00777097 (.)

АН України

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність та ступінь дослідженості тематики дисертації. Проблема порушень статевого розвитку у чоловіків внаслідок негативного впливу ендогенних та екзогенних факторів на організм в ембріональному віці набуває все більшого значення. Зокрема показано, що відхилення в гормональному гомеостазі матері, викликані ендокринними захворюваннями або вживання гормональних препаратів під час вагітності, впливають на плід та післянатальний розвиток дитини [Е.С.Деткк и др. 1988, Г.Т.Шишкіна, 1990]. Сам процес пологів теж висуває нові вимоги до ендокринної системи новонародженого, внаслідок чого ендокринні залози та їх регуляторні центри несуть особливе навантаження.

Досліди, проведені на тваринах, котрі народжують незріле потомство, дозволили з'ясувати важливість андрогенної насиченості новонародженого організму, а саме, встановити роль неонатального піку тестостерону (T_c) та його перетворення в естрадіол (E_2) для статевої диференціації мозку (СДМ), котра обумовлює характер секреції гонадотропінів та особливості сексуальної поведінки у статевозрілих особин [В.Н.Бабичев, 1981; А.Г.Резников, 1982].

Паралельно з цим накопичено значний експериментальний матеріал, що свідчить про велике значення для розвитку та функціонування репродуктивної системи самців процесів метаболічного перетворення T_c в 5α -дігідротестостерон (5α -ДГТ). Доведена участь 5α -ДГТ в нейроендокринній регуляції секреції гонадотропінів та статевої поведінки [А.Г.Резников, 1990; Н.А. Карпенко, 1992]. Широко досліджена також роль 5α -ДГТ в функціональній активності передміхурової залози (ПЗ) [Е.А.Омель-

ченко, 1986; Л.В.Панченко, 1987; Baulieu, 1968; Bruchowsky, 1972]. В той же час, деякі автори звернули увагу на значення процесу 5 α -відновлення Тс в аксесорних органах репродуктивної системи на ранніх етапах розвитку для нормального становлення цієї системи продовж постнатального онтогенезу. Було показано, що введення інгібітора 5 α -редуктази в пренатальному періоді [Forest, 1985] пригнічує вірілізацію уrogenітального синусу та чоловічих геніталій, але не впливає на диференціацію вольфової протоки, хоча 5 α -ДГТ є основним трофічним гормоном для сім'яних міхурців, епідидимісу, сім'япроводу та ПЗ в постнатальному житті [George, 1988].

Однак, до цього часу залишається невирішеним питання про наслідки неонатального інгібування біосинтезу 5 α -ДГТ для становлення репродуктивної функції в постнатальному онтогенезі та характер морфофункціональних змін, котрі з'являються в органах репродуктивної системи дорослих особин чоловічої статі після вказаного втручання.

Разом з тим, з'ясування цих питань змогло б не тільки розширити уявлення про роль 5 α -ДГТ під час неонатального періоду для розвитку системи відтворення в чоловічому організмі, але й посприяло б створенню та впровадженню нових методів діагностики та корекції статевих дисфункцій у чоловіків.

Мета та завдання дослідження. Метою даної роботи є вивчення наслідків пригнічення процесу 5 α -відновлення Тс в неонатальному віці відносно деяких морфофункціональних характеристик репродуктивної системи самців щурів та встановлення особливостей реакції цієї системи на екзогенний аналог чоловічого статевого гормону. Відповідно до мети під час дослідження вирішувалися такі завдання:

1. Вивчити показники росту сім'яників (СМ) та ПЗ, а також гістологічну структуру останньої у щурів різного віку, котрі були оброблені інгібітором 5 α -редуктази (4-МА) в неонатальному періоді.

2. Визначити рівні статевих стероїдів та гонадотропнів у щурів різного віку, котрі отримали 4-МА в неонатальному періоді.

3. Вивчити статеву поведінку та фертильність статевозрілих щурів після введення інгібітора 5 α -редуктази неонатальним тваринам.

4. Дослідити метаболізм Тс та обмін ядерних та цитоплазматичних білків (ЦБ) в тканинах ПЗ статевозрілих щурів після введення 4-МА в неонатальному віці.

5. Визначити чутливість системи гіпофіз-гонади-органімішені до екзогенного Тс у статевозрілих щурів, котрі отримували 4-МА в неонатальному періоді.

Теоретична і практична цінність дослідження та його наукова новизна. В роботі знайшли підтвердження та подальший розвиток уявлення про значення процесів 5 α -відновлення Тс в неонатальному періоді як для нормальної диференціації, росту та функціонування ПЗ, так і репродуктивної системи в цілому. Доведено, що пригнічення біосинтезу 5 α -ТТ у критичні періоди СДМ не тільки порушує функціональну активність в системі гіпофіз-гонади-органімішені статевозрілих щурів, але й змінює їх сексуальну поведінку. Знайдені наслідки інгібування 5 α -відновлення Тс в неонатальному віці можуть бути підставою для перегляду рекомендацій по використанню лікарських засобів з наявним інгібуючим ефектом по відношенню до 5 α -редуктази у дітей в пре- та неонатальному періодах їх розвитку, а

також сприяти розробці нових методів діагностики та корекції статевих дисфункцій у чоловіків.

Наукова новизна дослідження полягає в тому, що вперше простежено за впливом короткочасного пригнічення 5 α -відновлення Тс в неонатальному періоді на диференціацію, ріст та функцію ПЗ, а також тканинний метаболізм Тс, обмін ядерних та ЦБ в цьому органі у щурів на різних етапах онтогенезу. На підставі досліджень встановлена наявність як структурних, так і функціональних ознак передчасного "старіння" ПЗ. Виявлено пригнічення статевої поведінки та деяких показників фертильності у статевозрілих щурів, оброблених інгібітором 5 α -редуктази в неонатальному віці. У цих же тварин відмічені порушення в системі гіпофіз-гонади-органи-мішені при збереженні чутливості останньої до екзогенного Тс. Отримана модель порушення статевого розвитку щурів самців внаслідок інгібування процесу 5 α -відновлення Тс в неонатальному періоді.

Рівень реалізації та впровадження результатів дослідження.
Дане дослідження являється фрагментом теми СН.09.02.0005.86 держ. реєстраційний номер 01.86.0005522, яка ввійшла в державну програму по ендокринології АМН СРСР "Знайти нові підходи до терапії андропатій на основі вивчення механізмів гормональної регуляції статевої диференціації чоловічого організму в онтогенезі". Результати вказаних досліджень включені в матеріали курсу по андрології на щорічних учбових зборах лікарів-ендокринологів України, що проводяться Українським НДІ фармакотерапії ендокринних захворювань, а також застосовуються в лекціях по патофізіології ендокринної системи та ендокринним захворюванням в Харківському інституті удосконалення лікарів.

Апробація та публікація результатів дослідження. Матеріали дисертації доповідались на III Всесоюзному з'їзді ендокринологів (Ташкент, 1989), на конференціях молодих вчених та спеціалістів УкрНДІФЄЗ (1988, 1989, 1990), підсумковій конференції УкрНДІФЄЗ (1989), засіданні товариства ендокринологів Харківського наукового медичного товариства (Харків, 1992). По темі дисертації опубліковано 7 робіт.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається з вступу, огляду літератури, методичної частини, 5-ти глав власних досліджень, висновків, списку літератури. Текст викладено на 108 сторінках, ілюстровано 20 таблицями та 17 малюнками. Список літератури вміщує 216 джерел, серед яких 166 іноземні.

Особистий внесок дисертанта в виконання роботи та основні положення, що виносяться на захист. Особистий вклад дисертанта у розробку наукових результатів полягає в повністю самостійному виконанні всього обсягу експериментальної роботи, статистичній обробці отриманих даних та їх оцінці. На підставі аналізу результатів експерименту та співставлення їх з даними літератури дисертантом сформульовані наступні положення, що виносяться на захист:

1. Процес $\beta\alpha$ -відновлення T_c в неонатальному періоді визначає не тільки спрямованість СДМ, але й впливає на розвиток, функціонування та чутливість до чоловічого статевого гормону тканин-мішеней в постнатальному періоді.

2. Системне інгібування процесів $\beta\alpha$ -відновлення у самців щурів в неонатальному періоді призводить до тимчасової дезінтеграції процесів становлення окремих ланок системи репродукції (запізнення розвитку одних та прискорення інших по-

казників функціональної активності гіпофізарно-гонадно-тканинної системи).

3. Порушення в динаміці розвитку гонад, що виникають внаслідок уведення 4-МА в неонатальному періоді, мають швидкоплинний характер; в той же час наслідки вказаного впливу на функціональних та біохімічних рівнях в структурах репродуктивної системи вельми стабільні і можуть бути виявленими в статевозрілому віці.

4. Репродуктивна система самців, оброблених 4-МА в неонатальному періоді, зберігає чутливість до чоловічого статевого гормону. Уведенням екзогенного аналогу останнього не вдається досягти повної компенсації вказаних відхилів.

Методологія, методи дослідження предмету і об'єкту. Методологія даного дослідження полягає в моделюванні чоловічого гіпогонадизму, шляхом порушення функціонального метаболізму чоловічого статевого гормону в неонатальному періоді та спостереженні за наслідками вказаної дії для функційного стану репродуктивної системи самців в статевозрілому віці. При цьому об'єктом дослідження були самці щурів лінії Вістар різних вікових груп (новонароджені, 45-, 90- та 180-денні тварини). Всього в дослідах використано 500 щурів.

На 3-й день життя щурят вводили підшкірно 1 мг 4-МА в 0,05 мл розчинника (твін-60:вода). Контрольні тварини одержували тільки розчинник. 4-МА (17 β -N,N-діетилкарбаміл-4-метил-4-аза-5 α -андростан-3-он) синтезовано в лабораторії синтезу гормонів УкрНДІФЄЗ. Біологічна активність сполуки співставлена з активністю стандарту 4-МА (фірма Shering, ФРН) в дослідах як *in vitro*, так і *in vivo* на щурах самцях по схемі, запропонованій Broocs та спів. (1981).

В 45-денному віці у тварин визначали масу тіла, довжину СМ. В подальших дослідах використовували тільки шурів з затримкою статевого розвитку, яку визначали по відношенню довжини СМ до маси тіла (коефіцієнт К) (Г.А.Бризгалова,1992).

Коли тварини досягали 90-денного віку, була вивчена їх статева поведінка. При цьому, приймаючи до уваги циркадний ритм сексуальної активності шурів, досліди проводили в сутінках при червоному світлі в спеціальній тест-клітці (60x40x30 см). Реєстрували кількість та латентність садок, кількість інтромісій, еякуляцій, післяеякуляторний інтервал та кількість інтромісій перед еякуляцією.

Фертильність оцінювали шляхом спаровування самців з інтактними самицями, які мали нормальний естральний цикл. Здатність самців до запліднення характеризувалась кількістю вагітних самиць серед тих, що спаровувались. Плодовитість визначали по кількості перед- та післяімплантаційно загиблих плодів, які сумарно складали показник внутрішньоутробної загибелі ембріонів (Ф.Фогель, А. Мотульски, 1990). Функціональну активність сперматозоїдів оцінювали згідно з методичними рекомендаціями Московського НДІ гігієни праці та профзахворювань (1978), вивчаючи їх рухливість, концентрацію та наявність патологічних форм.

У тварин 90- та 180-денного віку вимірювали масу тіла, СМ, ПЗ. ПЗ фіксували в 10 % формаліні та заливали в целоїдин-парафін; гістологічні зрізи фарбували гематоксилін-еозином.

Рівень T_s , E_2 в плазмі крові визначали радіоімунологічним методом, скориставшись комерційними наборами "Стерон- $T-^{125}I$ " та "Стерон- $E_2-^{125}I$ " (Мінськ). Радіоімунологічне визначення лютропіна (ЛГ) та фолітропіна (ФСГ) в плазмі крові шу-

рів було проведено з використанням стандартів NIAMDrat LH-RP-1 та NIAMDrat FSH-RP-1 [В.Н.Бабичев и др., 1975].

Метаболізм Тс в ПЗ 90- та 180-денних щурів вивчали *in vivo* радіоізотопним методом. При цьому як мітку вживали 1,2, 6,7-³H-Тс (питома активність 3500 ТБк/моль) (Ленінград) в дозі 1,2 МБк/100 г маси тіла. Через 15 хв. після введення ізотопу щурів декапітували і виділяли ПЗ. Після екстракції стероїдів мічені Тс, 5 α -ДГТ та 5 α -андростан-3 β ,17 β -діол (3 β -діол) розділяли методом тонкошарової хроматографії, радіоактивність елюатів рахували на лічальнику "Бета-1".

При вивченні біосинтезу ядерних та ЦБ в ПЗ 90- та 180-денних щурів використали ¹⁴C-гідролізат білка (питома активність 1,48 ГБк/мг атом С) (ЧССР) у дозі 1,2 МГк/100 г маси тіла. Через 60 хв. тварин забивали, ПЗ виймали, зважували. Ядерну фракцію отримували за методом Gill (1965). Білки ядерного соку визначали за методом И.Г.Збарського, Г.П.Георгиева (1959); гістони - за методом Johns, Butler (1962); негістонові білки (НГБ) - методом С.П.Уманського, а ЦБ - Orensfein, March (1968). Концентрацію білків визначали на СФ-26, а їх радіоактивність - на лічальнику "Бета-1".

При вивченні чутливості системи гіпофіз-гонади-організмшені до екзогенного Тс щурам 90- та 180-денного віку на протязі 3-х днів інтрамускулярно вводили тестостерону пропіонат (ТСП) у дозі 0,2 мг/100 г маси тіла. Через 24 години після останньої ін'єкції тварин забивали, визначали масу ПЗ, рівень Тс, Е₂, ЛГ та ФСТ в плазмі крові, метаболізм Тс та біосинтез білків в ПЗ за вищеописаними методиками.

Отримані результати статистично оброблені за методом Стьюдента-Фішера.

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Вікова динаміка морфометричних показників та гормонального статусу щурів самців, котрі одержували 4-МА в неонатальному періоді. Згідно з нашими даними, введення інгібітора 5 α -редуктази щурам на 3-й день життя не впливало на масу тіла, яка збільшувалась відповідно до віку саме так, як це мало місце у контрольній групі тварин.

В той же час, у частини щурів (68 %), які отримали в неонатальному віці ін'єкцію 4-МА, у 45 днів була відмічена затримка росту СМ, що проявилось у зменшенні довжини та маси органу ($11,93 \pm 0,25$ проти $17,2 \pm 0,31$ мм у контролі; $P < 0,01$ та $132,9 \pm 10,96$ проти $370,6 \pm 22,87$ мг у контролі; $P < 0,001$ відповідно). Однак, після досягнення тваринами 90-денного віку ці показники вже не відрізнялись від контролю.

У решти 45-денних щурів (28 %), котрим вводили 4-МА, довжина та маса СМ були на рівні значень контрольних тварин. По відношенню довжини СМ до маси тіла тварини ми встановили так званий коефіцієнт пубертатогенезу (К). Знайдено, що у 28 % 45-денних щурів, отримавших 4-МА, як і у контрольних тварин цього ж віку величина $K > 0,25$. В той же час, у більшості щурів після введення 4-МА в неонатальному віці розміри СМ були знижені, що призвело до величини $K < 0,21$. Подальші дослідження були проведені на щурах з $K < 0,21$.

Виявилось, що для таких тварин у 45-денному віці характерно також зменшення маси ПЗ ($31,4 \pm 2,67$ порівняльно з $42,8 \pm 1,73$ мг/100 г маси тіла у контролі; $P < 0,001$). У піддослідних тварин 90-денного віку маса ПЗ теж була значно нижча ($112,0 \pm 7,77$ проти $152,2 \pm 7,25$ мг/100 г маси тіла у контролі; $P < 0,001$) і лише після досягнення 180-денного віку даний показник нор-

малізувався.

Гістологічне дослідження ПЗ у 45-денних піддослідних щурів дозволило переконалися, що орган виглядає більш диференційованим, ніж в контролі: кінцеві відділи залози добре розвинені, сильно розгалужені, їхні поперечні розтини в більшості випадків мають округлу форму через те, що заповнені рідким еозинофільним вмістом. Особливістю ПЗ 90-денних піддослідних щурів є виразне наповнення ацинусів та виводних протоків простатичним секретом. Розвиненість паренхіматозних елементів перевершує виразність стромальних утворень. Гістологічна структура ПЗ 180-денних піддослідних щурів характеризується абсолютною перевагою паренхіматозних структур над стромальними. Кінцеві відділи ацинусів цих залоз великі, неправильної форми, заповнені секретом, що свідчить про надмірну секреторну активність ПЗ, набагато вищу, ніж у контролі.

Отримані дані зумовили необхідність вивчення рівня статевих стероїдів та гонадотропінів у периферичній крові піддослідних щурів. Знайдено, що концентрація Тс у піддослідних тварин 45- та 90-денного віку дорівнювала ($2,43 \pm 0,52$ та $5,28 \pm 0,85$ нМ/л, відповідно) і не відрізнялася від показників контрольних щурів. В той же час, у 180-денних піддослідних щурів відмічено зниження вмісту Тс ($4,27 \pm 0,33$ проти $6,84 \pm 0,72$ нМ/л у контролі; $P < 0,05$). Стосовно E_2 , то неонатальне введення 4-МА спричинило значне підвищення рівня E_2 у 45-денних щурів ($0,43 \pm 0,07$ порівняльно з $0,28 \pm 0,07$ нМ/л у контролі; $P < 0,001$) та ще більше у 90-денних тварин ($0,53 \pm 0,08$ проти $0,21 \pm 0,04$ нМ/л у контролі; $P < 0,001$). Коли тварини досягли 180-денного віку концентрації E_2 дещо знизилась, хоча і залишилась вище контрольних показників ($0,30 \pm 0,04$ проти

$0,25 \pm 0,05$ нМ/л у контролі; $P < 0,05$).

Аналіз андроген-естрогенного співвідношення показав, що у піддослідних щурів величина Tc/E_2 була нижча, чим у контролі на протязі всіх вивчених вікових періодів внаслідок значного підвищення E_2 при нормальній концентрації Tc , що свідчить про відносну естрогенізацію піддослідних тварин.

Підвищений вміст E_2 в периферичній крові піддослідних щурів, можливо, пояснюється переключенням метаболізму Tc на шлях ароматизації внаслідок інгібування процесів 5α -відновлення Tc в неонатальному періоді.

Для оцінки стану гонадотропної функції гіпофізу було визначено рівень ЛГ та ФСГ в периферичній крові щурів. Відзначено, що неонатальне введення 4-МА не вплинуло на рівень ЛГ у 90-денних щурів, тоді як у 180-денних тварин концентрація ЛГ підвищилась ($7,56 \pm 0,61$ проти $5,88 \pm 0,37$ нг/мл у контролі; $P < 0,05$). Вміст ФСГ в крові піддослідних тварин обох вікових груп знизився ($21,25 \pm 1,33$ у порівнянні з $33,08 \pm 1,48$ нг/мл у контролі; $P < 0,01$ - 90-денні щури; та $17,27 \pm 0,66$ проти $33,44 \pm 2,41$ нг/мл у контролі; $P < 0,01$ - 180-денні щури). Отримані дані свідчать про порушення регуляції системи гіпофіз-гонади у піддослідних щурів. Разом с тим, зниження концентрації ФСГ у піддослідних щурів, можливо, виникає внаслідок підвищення рівня E_2 , котрий чинить свій регулюючий вплив на секрецію гонадотропнів [Дж.Тепермен, Х.Тепермен, 1989]. Підвищення концентрації ЛГ у 180-денних піддослідних щурів, очевидно, пов'язане зі зниженням рівня Tc в плазмі крові, яке в свою чергу є наслідком порушення аутокринної регуляції стероїдогенезу через активацію ультракороткого зв'язку, по якому реалізується дія E_2 на синтез Tc [Тапка, 1986].

Вплив уведення 4-МА на деякі показники фертильності та статевої поведінку 90-денних щурів самців. Уведення 4-МА в неонатальному віці не вплинуло на функціональну активність сперматозоїдів статевозрілих щурів. Разом з цим при дослідженні запліднюючої здібності та плодючості самців відмічено високий рівень післяімплантаційної загибелі плодів.

Відомо, що статевая орієнтація та поведінка визначаються дією гормонів в "критичні" періоди СДМ (А.Г.Резников, 1982). Застосування інгібітора 5 α -редуктази в неонатальному періоді призвело до того, що тільки у 40 % тварин статевая активність була збережена; решта тварин (60 %) виявляла або повну асексуальність, або ж маласлабкий потяг до садок. При аналізі реакції статевої поведінки щурів виходили з гіпотези Beach, Jordan (1956) про наявність центрального та периферичного механізмів її регуляції у самців щурів. Було виявлено порушення в роботі обох механізмів, що проявилось в значному збільшенні тривалості окремих складових статевого акту (латентність садок, інтромісії, еякуляції). При цьому кількість садок та інтромісій у піддослідних щурів не відрізнялась від контролю.

У піддослідних тварин активність процесу "заличання" була значно знижена за рахунок зростання латентності інтромісії (у 4 рази). Спостерегалось послаблення мотиваційного компоненту, що проявилось в подовшанні латентності садок (у 5 разів). Крім цього, відмічено низький рівень копулятивної активності, що врешті призвело до зниження частоти еякуляцій.

Таким чином, неонатальне інгібування 5 α -редуктази, можливо, через перевищення порогових концентрацій ендogenousого E₂ та нестачу 5 α -ДГТ викликає пригнічення статевої поведінки і навіть повну відсутність статевих рефлексів у більшості 90-

денних щурів.

Обмін ^3H -тестостерону в передміхуровій залозі щурів самців різного віку після введення 4-МА в неонатальному періоді. Одноразове введення інгібітора 5α -редуктази в неонатальному періоді спричинило значне зниження поглинання міченого Тс в ПЗ 90-денних щурів ($709,0 \pm 42,91$ проти $1730,0 \pm 13,71$ розп/хв/мг тканини в контролі; $P < 0,001$), що, можливо, обумовлено зниженням чутливості органу до дії гормону. Разом з цим, дослідження метаболізму Тс по шляху 5α -відновлення показали, що в цілому сумарних метаболітів (^3H - 5α -ДГТ + ^3H - 3β -діол/ ^3H -Тс) було значно більше, ніж у контрольних тварин (у 1,5 рази). При цьому швидкість формування ^3H - 5α -ДГТ (^3H - 5α -ДГТ/ ^3H -Тс) практично не відрізнялась від контрольних значень, в той час як процес перетворення останнього в ^3H - 3β -діол (^3H - 3β -діол/ ^3H - 5α -ДГТ) ішов у 2 рази активніше у піддослідних щурів. Ці дані підтверджуються відсотковим розподілом мічених метаболітів: у контролі - ^3H -Тс - 28 %, ^3H - 5α -ДГТ - 55 %, ^3H - 3β -діол - 17 %, у досліді - 21 %, 48 % та 31 %, відповідно.

Після досягнення піддослідними щурами 180-денного віку кількість поглинутої мітки складала ($1262,0 \pm 69,82$) розп/хв/мг тканини і не відрізнялася від показників контрольних тварин. При цьому маса ПЗ нормалізувалась. Проте, у 180-денних щурів, які отримали 4-МА в неонатальному віці, швидкість утворення сумарних метаболітів збільшилася в 1,4 рази у порівнянні з контролем, хоча інтенсивність утворення ^3H - 5α -ДГТ практично не змінилась, а синтез ^3H - 3β -діолу підсилювався в 3 рази. У відсотковому відношенні мічені метаболіти розподілилися: у контролі - ^3H -Тс - 25 %, ^3H - 5α -ДГТ - 50 %, ^3H - 3β -діол - 25 %; у досліді - 18 %, 32 %; 50 %, відповідно.

Таким чином, неонатальне введення 4-МА призводить до значного підсилення формування 3β -діолу, який з часом стає основним метаболітом Тс в ПЗ, викликаючи підвищення секреторної активності органу.

Біосинтез та концентрація ядерних і цитоплазматичних білків в передміхуровій залозі щурів різного віку, які отримали 4-МА в неонатальному періоді. Після єдиної ін'єкції 4-МА в неонатальному періоді мало місце підсилення біосинтезу НГБ як у 90-, так і 180-денних тварин (в 1,5 та 1,7 раза, відповідно) хоча концентрація цих білків знижувалась в 1,5 раза, що може бути наслідком прискореної утилізації НГБ. Зважаючи на те, що НГБ входять до складу ядерного матриксу і активують транскрипцію шляхом збільшення кількості матриць ДНК для РНК-полімерази (Bagtask, 1987) можна припустити, що отримані результати свідчать про прискорення транскрипційних процесів в клітинах.

Нами також знайдено підсилення біосинтезу ЦБ в 1,4 раза в обох вікових групах тварин, оброблених 4-МА в неонатальному віці. Концентрація ЦБ при цьому не змінювалась.

В той же час порушення в біосинтезі та концентрації досліджених білків, можливо, позначаються на формуванні неповноцінного секрету ПЗ і, в свою чергу впливають на взаємодію між сім'яною рідиною та сперматозоїдами, в основі якої лежать процеси молекулярного рівня (Curry, Atherton, 1992).

Вивчення ефектів впливу екзогенного тестостерону на морфометричні, гормональні та біохімічні процеси у статевозрілих щурів самців, оброблених 4-МА в неонатальному віці. Дослідження чутливості окремих ланок системи репродукції статевозрілих щурів до екзогенного Тс показало, що триденне введен-

ня ТСП викликало підвищення маси ПЗ як у контрольних, так і у піддослідних шурів 90-денного віку на 40 % та 70 % відповідно. Внаслідок цього маса ПЗ у тварин обох груп виявилася практично однаковою. В 180-денному віці приріст маси ПЗ у піддослідних шурів не відрізнявся від контролю.

При введенні ТСП у контрольних шурів рівень Тс вірогідно підвищувався в обох вікових групах. У піддослідних 90-денних тварин концентрація Тс не змінювалася і незначно підвищувалась у 180-денному віці. ТСП викликав виразне зниження концентрації E_2 як у контрольних, так і у піддослідних тварин обох вікових груп до однакових показників. Внаслідок зміни балансу статевих стероїдів значення Тс/ E_2 підвищилося у всіх піддослідних тварин.

Після введення ТСП активність гонадотропної функції гіпофізу виявилася значно пригніченою в обох вікових групах самців як у контролі, так і в досліді, що вірогідно свідчить про збереження негативного зворотного зв'язку в системі гіпофіз-гонади у всіх піддослідних шурів.

Після введення ТСП включення мітки в ткаціну ПЗ 90-денних шурів знижувалось у 2 рази в контрольних та в 1,5 рази в піддослідних тварин. Формування сумарних метаболітів 3H -Тс в ПЗ пригнічувалась у контрольних самців та ще більше у піддослідних в основному за рахунок зниження біосинтезу 3H -5 α -ДТ. При цьому в контролі інтенсивність утворення 3H -3 β -діолу підвищувалась в 2 рази, а в досліді не змінювалась.

Одержані результати свідчать про більші функціональні можливості ПЗ у контрольних тварин, ніж у шурів, які отримували ін'єкцію 4-МА в неонатальному віці.

У 180-денних контрольних та піддослідних шурів внаслі-

док дії ТСП включення ^3H -Тс в тканини ПЗ знизилось в 1,4 рази. Швидкість відновлення ^3H -Тс знижувалась як в контролі, так і в досліді. При цьому біосинтез ^3H -5 α -ДГТ пригнічувався, а ^3H -3 β -діолу не змінювався. Отримані дані також дозволяють зробити висновок, що характер відповіді ПЗ піддослідних 90-денних щурів на ТСП скидається на реакцію на ТСП 180-денних контрольних тварин. Останнє свідчить про те, що ПЗ щурів, котрі отримували 4-МА в неонатальному віці, "старіє" швидше, ніж ПЗ контрольних тварин.

Введення ТСП контрольним щурам посприяло підвищенню концентрації білків ядерного соку на 54 % та ЦБ на 123 % без посилення їх біосинтезу. У піддослідних щурів мало місце підсилення включення мітки в білки ядерного соку, НГБ та ЦБ на 100 %, 50 % та 45 %, відповідно, що супроводжувалося значним зростанням концентрації усіх досліджених класів білків. Останнє, можливо, пояснює значне зростання маси органу у 90-денних піддослідних щурів після введення ТСП.

Під впливом ТСП у контрольних 180-денних тварин мало місце підсилення біосинтезу гістонів на 30 % та ЦБ на 38 %. У піддослідних щурів швидкість біосинтезу не змінилася ні в одному з класів білків. Проте, концентрація ЦБ зросла як в контролі, так і в досліді на 40 і 67 % відповідно. Останнє може приводить до накопичення структурних та функціональних білків і, як наслідок, до збільшення маси ПЗ

Таким чином, хоча введення інгібітора 5 α -редуктази в неонатальному віці призвело до порушень регуляторних механізмів в системі гіпофіз-гонади-органі-мішені, чутливість останньої до екзогенного Тс збереглася. Разом з тим, одержані результати свідчать про недостатність коригуючого впливу вико-

ристаної дози ТСП на біохімічні та функціональні процеси в ПЗ.

Останнє вказує на необхідність подальших досліджень з метою визначення оптимальних доз аналогу чоловічого статевого гормону, потрібних для лікування порушень статевого розвитку, детермінованих відхиленнями андрогенного забезпечення організму в неонатальному віці.

В И С Н О В К И

1. Пригнічення 5 α -відновлення Тс в неонатальному періоді призводить до порушень статевого розвитку у більшості щурів самців, про що свідчить зниження темпу росту СМ та ПЗ у 45-денних тварин, а також зменшення маси ПЗ та її чутливості до ендогенного Тс після досягнення щурами віку статевої зрілості.

2. У щурів, оброблених інгібітором 5 α -редуктази в неонатальному періоді, спостерігається порушення балансу статевих стероїдів та гіпофізарних гонадотропінів у віці статевої зрілості.

3. В ПЗ 90-денних щурів, котрі отримали ін'єкцію інгібітора в неонатальному віці, відбувається зміщення метаболізму ³H-Тс в бік підвищення утворення ³H-З β -діолу. З перебігом часу цей процес активізується й набуває стійкого та незворотного характеру.

4. Гістологічна структура ПЗ 90-денних щурів, неонатально оброблених 4-МА, свідчить про підвищення секреторної активності ПЗ у цих тварин: в 180-денному віці згаданий процес посилюється. Останнє підтверджує значимість З β -діолу для стимуляції секреторної активності залозистого епітелію.

5. Уведення 4-МА в неонатальному періоді викликає порушення статевої поведінки у дорослих тварин: у більшості щурів статева поведінка повністю або частково пригнічується;

при її збереженні нормальна кількість маунтінгів (садки, ін-тромісії) поєднується з подовшенням останніх у часі, що при-зводить до зниження частоти еякуляції.

6. Дефіцит 5α -ДГТ в неонатальному періоді не має негатив-ного впливу на функціональну активність сперміїв статевозрі-лих щурів, хоча сприяє підвищенню внутрішньоутробної загибе-лі плодів.

7. Порушення андрогенного статусу в неонатальному періоді викликає прискорення біосинтезу НГБ та ЦБ в ПЗ 90-денних щурів. З віком ці процеси підсилюються, що корелює із зрос-танням маси ПЗ та підвищенням її секреторної активності.

8. Уведення ТСП нормалізує масу ПЗ у піддослідних 90-ден-них щурів, хоча перебіг процесів обміну ^3H -Тс та синтезу біл-ків при цьому свідчать про недостатність корегуючого впливу ТСП на вказані метаболічні системи в ПЗ статевозрілих піддос-лідних тварин.

9. Обробка щурів 4-МА в неонатальному періоді порушує ре-гуляторні зв'язки в системі гіпофіз-гонади-органі-мішені, хоча чутливість останньої до екзогенного Тс зберігається.

10. Короткочасне інгібування процесу 5α -відновлення Тс шляхом введення 4-МА новонародженим щурят викликає ряд морфофункціональних змін в репродуктивній системі статево-зрілих щурів самців, сукупність яких створює модель чолові-чого гіпогонадизму, детермінованого впливом хімічних чин-ників в неонатальному періоді.

Список опублікованих робіт по темі дисертації

1. Бризгалова Г.А. Вплив пригнічення 5α -відновлення тестостерону в неонатальний період на деякі показники стате-вого розвитку // Ендокринологія: Респ. межвед. сб. / М-во охо-

рони здоров'я України. - Київ., 1992. - Вип. 22. - С. 78-81.

2. Сергиєнко Л., Шаркевич І.М., Бризгалова Г.А. Вплив порушення секретії та метаболізму тестостерону на онтогенез репродуктивної системи самців щурів//Розвиток фізіології в УРСР за 1986 - 1990 роки. - Київ., 1990.- Т.2. - С.110.

3. Сергиєнко Л.Ю., Чаговец Е.М., Панченко Л.В., Бризгалова Г.А и др. Гипофизарно-гонадно-тканевые взаимоотношения при регуляции синтеза, рецепции и метаболизма тестостерона на разных этапах онтогенеза//Тез. докл. III Всесоюз. съезд эндокринологов, 15-18 мая 1989 г. - Ташкент, 1989. - С. 94.

4. Бризгалова Г.А. Влияние ингибирования 5 α -редуктазы в неонатальном периоде на развитие органов репродуктивной системы крыс самцов//Тез. докл. юбилейной научн. конф. ХНИИЭХГ, 27-28 декабря 1989 г. - Харьков, 1989. - С. 16.

5. Бризгалова Г.А. Эффект неонатального ингибирования 5 α -редуктазы на обмен ³H-тестостерона в предстательной железе половозрелых крыс // Тез. докл. науч.-прак. конференции "Современные проблемы клинической эндокринологии", посвящ. 25-летию новой клиники УкрНИИЭЭЗ, 25 июня 1993 г. - Харьков, 1993. - С.12-13.

6. Бризгалова Г.А. Возрастные особенности включения и обмена тестостерона в тканях-мишенях//Анот. докл. ХУІ науч. конф. молодых ученых ХНИИЭХГ, 25-26 апреля 1989 г.- Харьков, 1989. - С.16.

7. Бризгалова Г.А. Влияние неонатального введения ингибитора 5 α -редуктазы на развитие предстательной железы половозрелых крыс //Анот. докл. респ. конф. молодых ученых, 25-26 апреля 1990 г. - Харьков, 1990. - С. 51.

Брызгалова Г.А. Влияние ингибирования процесса 5α -восстановления тестостерона в неонатальном периоде на репродуктивную систему крыс самцов.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.00.17 - нормальная физиология, Украинский НИИ фармакотерапии эндокринных заболеваний, Харьков, 1994.

Изучены последствия однократного введения ингибитора 5α -редуктазы (4-MA) в неонатальном периоде на состояние репродуктивной системы крыс самцов. Установлено, что данное воздействие замедляет темпы роста семенников и предстательной железы (ПЖ), индуцирует повышение уровня E_2 и снижение концентрации ФСГ в плазме крови. В ПЖ наблюдается усиление биосинтеза 5α -андростан- $3\beta,17\beta$ -диола и обмена клеточных белков, что коррелирует с повышением массы ПЖ и усилением ее секреторной активности; подавляется половое поведение, нарушается фертильность самцов. Считают, что совокупность полученных отклонений в репродуктивной системе половозрелых крыс может служить моделью мужского гипогонадизма, детерминированного воздействием химических агентов в неонатальном периоде.

The influence of process testosterone 5α -reduction suppression in the neonatal period for reproductive system of male rats.

Dissertation for condidate degree in biology, speciality 14.00.17 - normal physiology. Ukranian research institute of endocrine deseases pharmacotherapy, Kharkov, 1994.

The consequences of 5α -reductase inhibitor (4-MA) single injection in the neonatal period for reproductive

system of male rats have been studied. It has been shown the above treatment retains the testis and prostate growth, induces the E_2 level increase and the FSH concentration decrease in plasma. In prostate 5α -androstan- $3\beta,17\beta$ -diol biosynthesis and cellular proteins exchange are elevated, which correlate with the weight prostate increase and its secretion enhance; sex behavior is suppressed, fertility is disturbed in male rats. The complex of the deviations obtained in reproductive system of maturity rats is considered to be of service as the male hypogonadism model, determined by the chemical agents influence in the neonatal period.

Ключові слова: інгібування, метаболізм, неонатальний період, передміхурова залоза, репродуктивна система, тестостерон.

AB 31.041

AB 31.041

[Faint, illegible text from the reverse side of the page is visible through the paper.]