

ПРЕВЕНТИВНА ДІЯ ФЛУТАМІДУ ЩОДО ФУНКЦІОНАЛЬНИХ РОЗЛАДІВ РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМИ У АНДРОГЕНІЗОВАНИХ В ПРЕПУБЕРТАТНОМУ ВІЦІ САМИЦЬ ЩУРІВ

О. Г. Резніков*, І. Ю. Ганжій¹, Н. Д. Носенко, П. В. Сініцин,
Л. В. Тарасенко, Л. І. Полякова, А. А. Лимарева,
Л. В. Чайковська

Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин
ім. В. П. Комісаренка АМН України», м. Київ, 04114;

¹ Державна установа «Запорізька академія післядипломної освіти
МОЗ України», м. Запоріжжя, 69000;
Україна

Досліджено стан репродуктивної системи у самиць щурів за умов гіперандрогенії та застосування антиандрогену флутаміду (флутафарм, 25 мг/кг) в пубертатному періоді сомато-статевого розвитку. Гіперандрогенний стан моделювали підшкірною імплантацією силастикових капсул, що містили кристалічний тестостерон. Андрогенізація самиць щурів з початку пубертатного періоду затримувала статеве дозрівання і викликала патологічні зміни гістологічної будови яєчників, порушення овуляції, регулярності і фазової структури естральних циклів, фертильності і плодючості, толерантності до глюкози. Фармакологічна блокада тканинних рецепторів андрогенів запобігала зазначеним порушенням. Результати досліджень свідчать про ініціувальну роль андрогенів в патогенезі ановуляторної неплідності та превентивну дію флутаміду щодо порушень статевого дозрівання, розвитку експериментального ановуляторного синдрому та толерантності до вуглеводів у андрогенізованих в препубертатному віці самиць щурів.

Ключові слова: гіперандрогенія, ановуляція, антиандрогени, пубертація, репродуктивна система.

Функціональна гіперандрогенія оваріального та/або адренкортикального походження вважається найбільш поширеною причиною ановуляторної неплідності [1-4]. Вона є провідною патогенетичною ланкою синдрому полікістозних яєчників (СПКЯ), адреногенітального синдрому, стромального текозу та деяких інших захворювань.

СПКЯ зустрічається у 4-7 % жінок у загальній популяції, переважно у віці 14-30 років. Найчастіше він виникає у пубертатному періоді сомато-статевого розвитку [5], коли виникає порушення амплітуди та частоти пульсації вмісту лютропіну в крові, яке зумовлено відповідними порушеннями секреції гіпоталамічного гонадоліберину. Гормональний спектр плазми крові у таких випадках характеризується підвищенням індексу ЛГ/ФСГ за рахунок зростання ЛГ (у 80 % хворих) і зменшення ФСГ (приблизно у 30 % хворих), підвищенням базального рівня андрогенів і зменшення базального рівня прогестерону. Вважається, що розлади гіпоталамо-гіпофізарної

*Адреса для листування (Correspondence): ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України», вул. Вишгородська, 69, м. Київ, 04114, Україна

регуляції функції яєчників починаються з підвищеної оваріальної секреції андрогенів, найімовірніше, через підвищену чутливість стромы яєчників до інсуліну. Деякі дослідники безпідставно вважають, що пусковим механізмом патології може бути підвищення секреції андрогенів корковим шаром надниркових залоз під час адренархе, з наступним переключенням головного джерела гіперандрогенії з надниркових залоз на яєчники. Незалежно від джерела гіперандрогенії, вона призводить до гальмування розвитку фолікулів, їх передчасної атрезії, утворення оваріальних кіст, ановуляторної неплідності.

Одним із перспективних напрямків нейтралізації гіперандрогенних станів з метою лікування ендокринної неплідності або розладів статевієї циклічності є застосування антагоністів тканинних рецепторів чоловічих статевих гормонів – антиандрогенів [6]. Стосовно нестероїдних антиандрогенів, зокрема, флутаміду, це було доведено результатами наших експериментальних досліджень [7-10]. Проведені на підставі цих досліджень клінічні випробування терапевтичної ефективності та безпеки флутаміду (флутафарм, таблетки, ВАТ «Фармак», Україна) довели доцільність його застосування при розладах оваріально-менструального циклу у жінок із СПКЯ. Наказом МОЗ України № 654 від 04.10.2006 р. затверджено відповідні доповнення до інструкції з медичного застосування флутаміду (флутафарму), який досі використовувався виключно у чоловіків для лікування раку передміхурової залози. У поодиноких публікаціях про клінічні дослідження повідомляється про спроби терапевтичного застосування блокаторів рецепторів андрогенів у пацієнтів із СПКЯ, але увагу акцентовано на дерматологічних проявах гіперандрогенії – гірсутизмі та алопеції [11, 12]. Натомість відсутні дані про те, чи можливо за допомогою флутаміду попередити розвиток ановуляторного синдрому гіперандрогенного генезу, якщо застосовувати його з самого початку пубертації.

Загальновідомо, що для гіперандрогенного стану у дорослих особин жіночої статі є характерними метаболічні розлади, зокрема, зменшення толерантності до вуглеводів внаслідок інсулінорезистентності [13, 14]. «Діабет бородатих жінок» був описаний у Франції ще в 1921 р. Значно менше відомо щодо ймовірності аналогічних змін у молодому віці, якщо сомато-статевий розвиток відбувався на тлі підвищеного рівня андрогенів в організмі.

Ми поставили за мету вивчення динаміки появи порушень статевого розвитку і стану репродуктивної системи самиць щурів в залежності від різної андрогенної насиченості організму протягом пубертатного періоду життя. Беручи до уваги, що гіперандрогенний стан може супроводжуватись порушеннями толерантності до вуглеводів, проводили глюкозотолерантний тест. Також у цій роботі ми вперше повідомляємо про можливість запобігання за допомогою антиандрогенного засобу розвитку експериментального ановуляторного синдрому, порушень статевого дозрівання та толерантності до вуглеводів на тлі гіперандрогенії в пубертатному періоді.

Матеріали та методи

Дослідження здійснено на 48 самицях щурів Вістар з датованим народженням, які були отримані при плановому осіменінні самиць. Для спаровування відбирали статевозрілих самиць масою 180-200 г з регулярними, за даними щоденного мікроскопічного дослідження вагінальних мазків, естральними циклами (n=16). Самиці в стадії еструсу були підсажені до статевозрілих самців (по дві самиці на самця). Висновок про ймовірне настання вагітності робили на підставі виявлення сперматозоїдів у вагінальних мазках, взятих наступного ранку. День народження вважали за першу добу життя. На початок експерименту вік тварин становив 35 діб. Саме у цьому віці реєструються періодичні зростання рівня лютеїнізуючого гормону гіпофіза у

крові та інші гормональні ознаки початку пубертації. Дослідження проводилися у весняно-літній період (квітень-червень).

Експерименти виконували відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» [15], які узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986). Експериментальні тварини утримувались у стандартних умовах віварію за природного освітлення та раціону, рекомендованого для даного виду тварин.

Експериментальну гіперандрогенію у самиць віком 35 діб ($n=27$) моделювали, як описано раніше [7], за допомогою підшкірної імплантації виготовлених з силастикової трубки капсул (зовнішній діаметр 3,18 мм, внутрішній 1,57 мм, довжина 5 мм), що містили тестостерон («Fluka», Швейцарія). Кінці трубки заклеювали силіконовим клеєм. Перед імплантацією капсули преінкубували у фізіологічному розчині, забуференому 0,15 М фосфатним буфером, pH 7,2, протягом 48 год при 37 °C. Імплантацію капсул під шкіру шиї здійснювали під легким ефірним наркозом. Окрему групу становили самиці ($n=6$), яким було імплантовано капсули завдовжки 2,5 мм з тестостероном (2,5 мг).

Частині самиць ($n=15$) з моменту імплантації капсул з тестостероном (5 мг) розпочинали щоденні внутрішньошлункове введення флутаміду (флутафарму) у вигляді суспензії таблеткової маси в гелі Дорфмана (карбоксиметилцелюлоза у 0,9 % розчині натрію хлориду з додаванням твіну-80 та бензилового спирту) в дозі діючої речовини 25 мг/кг (0,2 мл суспензії на 100 г маси тіла), яке тривало до досягнення тваринами трьохмісячного віку. Контрольну групу становили інтактні самиці щурів ($n = 15$).

Для оцінки фізичного розвитку тварин зважували у віці 1,5 міс, 2,5 міс та 3 міс. Термін завершення пубертації реєстрували за добою відкриття піхви і появи першого еструсу. Вивчення фазової структури естральних циклів проводили відразу ж після відкриття піхви шляхом щоденного цитологічного аналізу вагінальних мазків за допомогою світлової мікроскопії.

Оральний глюкозотолерантний тест було проведено за рекомендованою методикою [16]. Самицям щурів за допомогою шлункового зонду вводили перорально 40 % розчин глюкози з розрахунку 3 г/кг маси тіла. До та через 15, 30, 60 і 120 хв після глюкозного навантаження вимірювали рівень глюкози в крові, взятої з кінчика хвоста, за допомогою глюкометра «One Touch UltraEasy» (LifeScan).

Евтаназію тварин робили у трьохмісячному віці швидкою декапітацією під легким ефірним наркозом. Вилучали і зважували органи статеві системи та надниркові залози. Яєчники фіксували у рідині Буена для морфологічних досліджень. У гепаринізовані пробірки збирали кров, що відтікала із судин шиї, центрифугували для одержання плазми, яку зберігали при -20 °C до проведення гормональних аналізів. Концентрацію тестостерону та прогестерону в плазмі визначали радіоімунологічним методом за допомогою наборів RIA Testosterone direct та RIA Progesterone («Immunotech», Франція). Радіоактивність зразків вимірювали на гамма-лічильнику 5500-B («Beckman», США). Гістологічні препарати фарбували гематоксиліном і еозином та вивчали за допомогою світлового мікроскопа.

Частина контрольних та піддослідних самиць (андрогенізованих, що не отримували або отримували флутамід у дозі 25 мг/кг) підлягала плановому осіменінню з метою подальшого вивчення фертильності, яке здійснювали за загальноприйнятою стандартною методикою [17]. Для цього самиць щурів (по 5 тварин в кожній групі), що перебували у стадії еструсу, підсаджували до самців у співвідношенні 2 : 1. При виявленні у вагінальних мазках сперматозоїдів (1-й день вірогідної вагітності) введення флутаміду припиняли. З 16-17-ї доби вагітності самиць розсаджували поодиноці і залишали їх до пологів. Після пологів підраховували загальну кількість щуренят у приплоді, кількість самців і самиць у кожному приплоді, зважували їх (на 7-у добу після народження), а також підраховували індекси осіменіння та вагітності за наступними формулами:

$$\text{Індекс осіменіння} = \frac{\text{Кількість самиць, у яких виявлено сперматозоїди}}{\text{Кількість самиць, парованих із самцями}} \times 100 \%$$

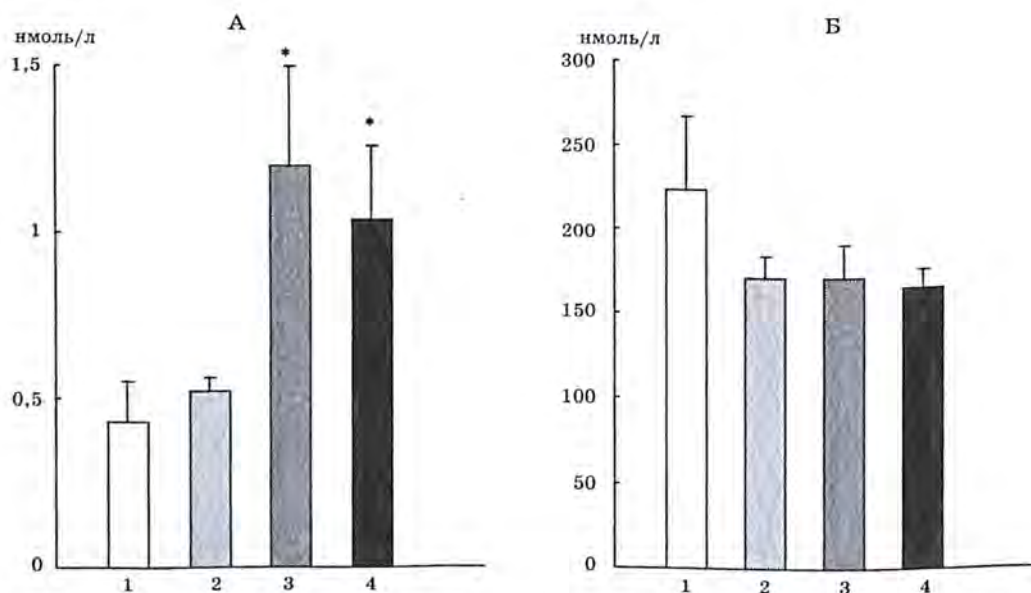
$$\text{Індекс вагітності} = \frac{\text{Кількість вагітних самиць}}{\text{Кількість самиць, у яких виявлено сперматозоїди}} \times 100 \%$$

Статистичну обробку даних проводили з використанням критерію *t* Стьюдента.

Результати та їх обговорення

За даними вимірювання концентрації тестостерону в плазмі крові піддослідних тварин, імплантація силастикових капсул з 2,5 мг тестостерону виявилася неефективною щодо відтворення гіперандрогенного стану в самиць. Натомість удвічі більша доза забезпечила підвищення рівня тестостерону в плазмі майже в три рази (мал. 1). Додаткове введення флутаміду не призвело до подальшого підвищення концентрації тестостерону в плазмі, навпаки, спостерігалась тенденція до її зменшення, що ймовірно пояснюється прискоренням метаболізму гормону [18]. Відсутність вірогідного зростання концентрації тестостерону в плазмі після введення флутаміду відрізняє самиць щурів від самців, які реагують на блокаду андрогенних рецепторів гіпоталамуса і гіпофіза посиленням секреції тестостерону [19].

На тлі дії імплантованого тестостерону (5 мг) та введення флутаміду (25 мг/кг) маса тіла тварин наприкінці експерименту не зменшувалась порівняно з контрольними тваринами. Споживання води та їжі, поведінка щурів були однаковими у всіх групах, що свідчить про відсутність токсичного ефекту флутаміду за умов даного дослідження. Інтегральним показником статевого дозрівання самиць щурів є термін відкриття піхви. В контрольних самиць воно відбувалось в середньому на $46,1 \pm 3,1$ добу життя і не було порушеним при імплантації 2,5 мг тестостерону ($49,2 \pm 2,4$, $P > 0,05$). У більшості андро-



Мал. 1. Концентрація тестостерону (А) і прогестерону (Б) в плазмі крові самиць щурів трьохмісячного віку.

1 – інтактні, 2 – андрогенізовані (2,5 мг тестостерону), 3 – андрогенізовані (5 мг тестостерону), 4 – андрогенізовані (5 мг тестостерону), що отримували флутамід (25 мг/кг); * – вірогідна різниця ($P < 0,05$) у порівнянні з контрольними самицями.

генізованих самиць, котрим імплантували 5 мг тестостерону, спостерігалось неповне відкриття піхви (у 10 з 12 тварин, тобто у 83,3 %), що свідчить про порушення морфогенезу епітелію цього органа. Відтоді у цих тварин повне відкриття піхви відбувалось в середньому на 11,7 діб пізніше ($57,8 \pm 0,7$ доби), ніж у контрольних самиць ($P < 0,001$). Введення флутаміду в дозі 25 мг/кг андрогенізованим тваринам нормалізувало строки пубертації. Відкриття піхви у самиць цієї групи спостерігалось в середньому на $46,3 \pm 0,94$ добу, отже, не відрізнялось від контрольних показників. Таким чином, андрогенізація самиць щурів з початку пубертатного періоду значно затримує їх статеве дозрівання, а введення флутаміду запобігає порушенню строків пубертації.

Результати дослідження естральних циклів показали, що після імплантації капсул з тестостероном (5 мг) у 75 % тварин спостерігалися порушення статевої циклічності (табл. 1). Слід зазначити, що порушення естральних циклів розвивались у піддослідних самиць не одразу, а через деякий проміжок часу (1-2 цикли, тобто 4-8 діб). При цьому постійний ановуляторний стан, діагностований за наявністю персистентного дієструсу, був лише в однієї самиці. В інших спостерігалися нерегулярні естральні цикли із значно подовженою стадією спокою (метаеструс + дієструс), тобто інтервалами між овуляціями (відносна тривалість 73,7 % проти 50,5 % у контролі) (табл. 2). У кожній четвертій самиці зберігалися регулярні естральні цикли, що може бути пов'язано із посиленням функціональної активності репродуктивної системи у весняно-літній період, коли проводилися зазначені дослідження. За умов імплантації капсул з тестостероном в дозі 2,5 мг порушення статевої циклічності були менш вираженими: у 50 % самиць спостерігалось подовження стадії спокою.

Таблиця 1. Характеристика естральних циклів у самиць щурів з експериментальною гіперандрогенією, які отримували флутамід

Групи тварин	n	Кількість щурів, %		
		регулярні цикли	нерегулярні цикли	персистентний дієструс
Інтактні самиці (контроль)	15	15 (100 %)	-	-
Андрогенізовані (тестостерон, 2,5 мг)	6	3 (50 %)	3 (50 %)	-
Андрогенізовані (тестостерон, 5 мг)	12	3 (25 %)	8 (66,7 %)	1 (8,3 %)
Андрогенізовані (тестостерон, 5 мг + флутамід, 25 мг/кг)	15	7 (46,7 %)	8 (53,3 %)	-

Таблиця 2. Фазова структура естральних циклів у щурів з експериментальною гіперандрогенією (5 мг тестостерону), які отримували флутамід (25 мг/кг)

Група тварин	Тривалість фази циклу, %			
	n	Проеструс	Еструс	Метаеструс + дієструс
Інтактні (контроль)	15	23,1	26,4	50,5
Андрогенізовані	12	7,1	19,2	73,7
Андрогенізовані + флутамід	15	21,0	22,3	56,7

Примітка: тривалість кожної фази естрального циклу наведена у % від загальної тривалості періоду спостереження, що становив 10 днів.

У групі андрогенізованих тварин (5 мг тестостерону) за умови введення флутаміду майже удвічі збільшувалась кількість самиць із регулярними естральними циклами (табл. 1). Водночас зменшувалась майже на третину кількість самиць із порушеннями структури естральних циклів (53,3 % проти 75 % у групі андрогенізованих тварин). Під впливом флутаміду структура естральних циклів в цілому по групі тварин наближалась до нормальних показників (табл. 2).

Оскільки при вивченні статеві циклічності у андрогенізованих самиць було виявлено зміни фазової структури циклів з подовженням стадії спокою (метаеструсу та діеструсу), всі досліджувані показники в подальшому порівнювали з аналогічними показниками у контрольних тварин, що перебували на відповідній стадії естрального циклу.

Статистично вірогідної різниці у рівні прогестерону в плазмі крові самиць контрольної групи, андрогенізованих та андрогенізованих, що отримували флутамід, не виявлено, хоча спостерігалась помітна тенденція до його зниження майже на 25 % в усіх андрогенізованих тварин (мал. 1). Ця тенденція, скоріш за все, віддзеркалює порушення овуляції та недостатність функції жовтих тіл, що узгоджується з даними про розлади естральних циклів та результатами гістологічних досліджень яєчників.

У групі андрогенізованих тварин після імплантації капсул з тестостероном (5 мг) спостерігалась помітна тенденція до зниження відносної маси яєчників, проте ці зміни не досягали рівня вірогідності у порівнянні з контролем ($0,05 < P < 0,1$). У андрогенізованих самиць, які одержували флутамід, відносна маса яєчників не відрізнялась від контрольних показників (табл. 3).

Таблиця 3. Маса органів статеві системи та надниркових залоз у самиць щурів з експериментальною гіперандрогенією, які отримували флутамід ($M \pm m$)

Група тварин	n	Маса органів, мг/100 г маси тіла		
		Яєчники	Матка	Надниркові залози
Інтактні (контроль)	10	43,5 $\pm$ 1,7	175,9 $\pm$ 12,1	35,7 $\pm$ 0,9
Андрогенізовані (тестостерон, 2,5 мг)	5	40,8 $\pm$ 3,5	139,5 $\pm$ 10,2*	30,2 $\pm$ 1,1**
Андрогенізовані (тестостерон, 5 мг)	7	39,9 $\pm$ 2,6	116,9 $\pm$ 7,4***	25,1 $\pm$ 2,7**
Андрогенізовані (тестостерон, 5 мг + флутамід, 25 мг/кг)	10	40,6 $\pm$ 2,3	149,6 $\pm$ 10,6#	32,3 $\pm$ 1,5#

Примітка: * – різниця у порівнянні з інтактними тваринами вірогідна (* – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$, *** – $P < 0,001$); # – різниця у порівнянні з андрогенізованими (тестостерон, 5 мг) вірогідна (# – $P < 0,05$).

У самиць щурів після імплантації капсул з тестостероном (5 мг) спостерігалось суттєве зменшення відносної маси матки (з рідиною) і дозозалежне зменшення маси надниркових залоз порівняно з інтактними тваринами, що перебували в стадії спокою (табл. 3). Ці зміни, ймовірно, зумовлені послабленням адекватної естрогенної стимуляції з боку яєчників, які зазнають пригнічувального впливу надміру тестостерону. Пероральне введення флутаміду андрогенізованим самицям відновлювало масу матки і надниркових залоз, що свідчить про превентивний потенціал антиандрогену.

Морфологічні дослідження яєчників показали, що у молодих інтактних статевозрілих самиць щурів в яєчнику відбувався активний фолікулогенез, атрезія фолікулів та утворення жовтих тіл (мал. 2, а). Одночасно в яєчнику знаходили жовті тіла трьох послідовних овуляторних циклів – новоутворені, попереднього циклу та старі, що інволюють.

У андрогенізованих обома дозами тестостерону в пубертатному віці самиць процеси фолікулогенезу порушувались, проте в цілому він проходив більш активно. При застосуванні капсул з меншою дозою тестостерону (2,5 мг) на початкових етапах росту фолікулів посилювались процеси атрезії, а на кінцевих – спостерігалось дрібнокістозне перетворення частини фолікулів внаслідок посиленої дегенерації фолікулярного епітелію (мал. 2, б). В яєчнику значно більшу площу, ніж у контрольних тварин, займала інтерстиціальна тканина, що мала вигляд клітинних скупчень і тяжів.

При застосуванні більшої дози тестостерону (5 мг) в яєчнику щурів з'явилися великі ділянки зі згладженою поверхнею, без великих фолікулів і жовтих тіл.

Застосування флутаміду у пубертатних самиць на тлі постійної андрогенізації сприяло збереженню фолікулярного епітелію, попереджало утворення фолікулярних кіст і значно послаблювало дію андрогенів на преовуляторні фолікули. У цих самиць кількість преовуляторних фолікулів суттєво збільшувалась і наближалася до такої у нормальних тварин, проте площа інтерстиціальної тканини залишалась більшою (мал. 2, в). Наявність у них свіжих жовтих тіл свідчила про появу овуляцій. Як показали подальші дослідження, це забезпечувало збереження фертильного потенціалу і плодючості самиць.

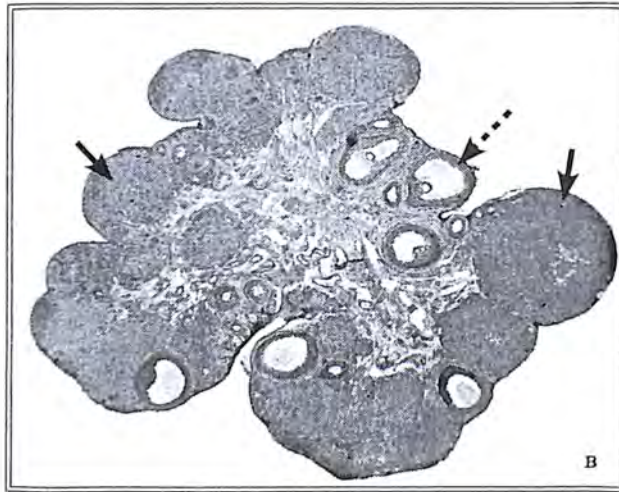
Результати досліджень фертильності та плодючості наведено в табл. 4. З п'яти осіменених андрогенізованих самиць (5 мг тестостерону) вагітність розвинулась тільки у двох, на відміну від контрольної групи, де завагітніли всі самиці. На тлі застосування флутаміду індекс вагітності залишився на стовідсотковому рівні, пологи відбулися в належний термін і завершилися народженням щурят із нормальною масою тіла. Зовнішній огляд не виявив відхилень у соматичному розвитку новонароджених щурят, хоча їх кількість у цій групі була дещо меншою в розрахунку на одну самицю порівняно з контрольною групою.

Одержані результати свідчать про наявність превентивного ефекту флутаміду щодо порушень фертильності і плодючості в андрогенізованих у пубертатному віці самиць щурів.

Звертає на себе увагу, що в той час як контрольні самиці народжували самців і самиць в однаковому кількісному співвідношенні (1:1), серед потомків андрогенізованих тварин превалювали самці (1,3:1), а в андрогенізованих, що отримували флутамід, переважали самиці (1:1,25). Причини цього явища потребують спеціального вивчення.

При проведенні глюкозотолерантного тесту виявилось, що базальний рівень глюкози в плазмі крові андрогенізованих тварин був вірогідно нижчий за такий у контрольних щурів, а в андрогенізованих самиць, що отримували флутамід, не відрізнявся від контрольних показників (табл. 5).

Після перорального введення глюкози у тварин всіх експериментальних груп глікемічна крива мала типовий вигляд, тобто через 15 хв спостерігалось вірогідне зростання рівня глюкози, який поступово знижувався, проте залишався вірогідно підвищеним на 30-й і 60-й хв в порівнянні з початковим рівнем і остаточно нормалізувався через 120 хв. Разом з тим, слід звернути увагу на те, що приріст рівня глюкози в андрогенізованих тварин протягом 15-60 хв майже вдвічі перевищував такий в контрольній групі, що свідчить про зниження толерантності до глюкози. Натомість динаміка змін



Мал. 2. Гістологічна будова яєчників щурів.

Пофарбування гематоксилін-еозином, об. 4. а – контроль, метаеструс: жовті тіла (стрілка), фолікули на різних стадіях росту (пунктирна стрілка), помірна кількість атретичних тіл та інтерстиціальної тканини; б – андрогенізовані (5 мг тестостерону), метаеструс: фолікулярна кіста (пунктирна стрілка), фолікули з потоншеним шаром фолікулярного епітелію (стрілка), скупчення інтерстиціальних клітин; в – андрогенізовані (5 мг тестостерону), які отримували флутамід (25 мг/кг), метаеструс: група преовуляторних фолікулів без дегенеративних змін (пунктирна стрілка), постовуляторні жовті тіла (стрілка).

Таблиця 4. Показники фертильності та плодючості самиць щурів з експериментальною гіперандрогенією (5 мг тестостерону), які отримували флутамід (25 мг/кг)

Групи тварин	Кількість осіменених самиць (індекс осіменіння)	Кількість вагітних самиць (індекс вагітності)	Загальна кількість щуренят у приплоді	Кількість самців у приплоді	Кількість самиць у приплоді	Співвідношення самців до самиць у приплоді
Інтактні (контроль)	4 (100 %)	4 (100 %)	46	23	23	1/1
Андрогенізовані	5 (100 %)	2 (40 %)	23	13	10	1,3/1
Андрогенізовані + флутамід	5 (100 %)	5 (100%)	45	20	25	1/1,25

Таблиця 5. Рівень глюкози (ммоль/л) в плазмі крові андрогенізованих самиць щурів, що отримували флутамід в дозі 25 мг/кг, при проведенні орального глюкозотолерантного тесту ($M \pm m$)

Група тварин	n	Час після введення глюкози, хв				
		0	15	30	60	120
Інтактні (контроль)	14	6,25 $\pm$ 0,20	8,76 $\pm$ 0,36*	8,01 $\pm$ 0,23*	7,44 $\pm$ 0,23*	6,24 $\pm$ 0,19
Андрогенізовані	12	5,62 $\pm$ 0,21	10,48 $\pm$ 0,58*	8,89 $\pm$ 0,36*	7,86 $\pm$ 0,22*	5,45 $\pm$ 0,18
P_k		< 0,05	< 0,02	< 0,05	> 0,1	< 0,01
Андрогенізовані + флутамід	15	6,13 $\pm$ 0,21	9,18 $\pm$ 0,21*	8,33 $\pm$ 0,17*	7,62 $\pm$ 0,17*	6,03 $\pm$ 0,19
P_k		> 0,5	> 0,1	> 0,1	> 0,5	> 0,1
P_r		= 0,1	< 0,05	> 0,1	> 0,1	< 0,05

Примітка: * – різниця у порівнянні з початковим рівнем вірогідна ($P < 0,001$); P_k – різниця у порівнянні з інтактними тваринами; P_r – різниця у порівнянні з андрогенізованими тваринами (тестостерон, 5 мг).

рівня глюкози у андрогенізованих самиць, що отримували флутамід, не мала вірогідних відмінностей від контрольної групи. Таким чином, результати вимірювання концентрації глюкози протягом першої години експерименту досить чітко вказують на помірне зменшення толерантності до глюкози в молодих андрогенізованих тварин і на превентивний ефект флутаміду. Ймовірно, що під час старіння андрогенізованих у пубертатному віці самиць ці порушення набувають більшої виразності, але для з'ясування цього питання необхідні тривалі спостереження.

У науковій медичній літературі дискутується питання про те, що є первинним у патогенезі СПКЯ – посилене утворення андрогенів чи прихована інсулінорезистентність з гіперінсулінемією, яка начебто провокує в період статевого дозрівання і пізніше надмірний синтез андрогенних стероїдів у яєчниках. Насправді, фармакологічні препарати, які посилюють чутливість тканин до інсуліну, посіли чільне місце в лікуванні СПКЯ [20]. Зокрема, вони зменшують клінічні прояви гіперандрогенії і в окремих випадках сприяють відновленню овуляцій. Наші спостереження щодо збереження нормальної толерантності до глюкози у самиць щурів з індукованою гіперандрогенією

на тлі блокади тканинних рецепторів андрогенів дають підстави припускати, що зв'язок між гіперандрогенним станом і розладами вуглеводного метаболізму є двостороннім і відбувається за принципом взаємної стимуляції. Таке припущення має сенс лише в тому випадку, якщо недостатня засвоєність глюкози в андрогенізованих молодих тварин є наслідком інсулінорезистентності, а не відсутності адекватної стимуляції бета-клітин острівців підшлункової залози, хоча це здається малоімовірним.

Висновки

1. Андрогенізація самиць щурів з початку пубертатного періоду індивідуального розвитку затримує статеве дозрівання і викликає патологічні зміни гістологічної будови яєчників, порушення овуляції, регулярності і фазової структури естральних циклів, фертильності і плодючості, толерантності до глюкози.

2. Фармакологічна блокада тканинних рецепторів андрогенів антиандрогеном флутамідом запобігає зазначеним порушенням, викликаним андрогенізацією молодих тварин.

Література

1. Пищулин А. А., Бутов А. В., Удовиченко О. В. Синдром овариальной гиперандрогении неопухолевого генеза // Пробл. репрод. 1999, № 3, 6-16.
2. Дуринян Е. Р., Байбарина Г. В. Патогенез, дифференциальная диагностика и принципы лечения гиперандрогении // Акуш. гинекол. 2002, № 4, 62-64.
3. Чернуха Г. Е. Современные представления о синдроме поликистозных яичников // Гинекол. эндокринолог. 2002, 4, № 8, 24-27.
4. Homburg R. Polycystic ovary syndrome: induction of ovulation // J. Clin. Endocr. Metab. 1996, 10, 281-292.
5. Абабкова Г. Н., Зайченко О. Н., Юдина Т. В., Григоренко С. А. К вопросу о лечении начальной стадии синдрома поликистозных яичников у девушек // Репродуктивное здоровье женщины. 2004, 3, № 19, 93-94.
6. Резников А. Г. Гиперандрогения у женщин: чем она опасна и как её лечить // Schering News. 2003, № 6, 1-6.
7. Резников О. Г., Сініцин П. В., Тарасенко Л. В., Полякова Л. І. Нейроендокринні механізми розвитку ановуляторного синдрому гіперандрогенного походження у щурів // Фізіол. журн. 1995, 41, № 5-6, 33-37.
8. Пат. № 29025 А, А61К31/165. Спосіб лікування ендокринної неплідності / Резников О. Г., Сініцин П. В. (UA): – № 97125966; Заявл. 10.12.1997; Опубл. 16.10.2000, Бюл. № 5 -II.
9. Резников А. Г., Сініцин П. В., Тарасенко Л. В., Полякова Л. І. Нейроендокринные механизмы развития экспериментальной ановуляции гиперандрогенного происхождения // Пробл. эндокринолог. 2002, 48, № 6, 50-53.
10. Тарасенко Л. В., Носенко Н. Д., Сініцин П. В., Резников О. Г. Експериментальна терапія порушень статеві циклічності у щурів з гіперандрогенією // Клін. експерим. патол. 2004, 3, № 2, 140-142.
11. Diamanti-Kandarakis E. How actual is a treatment with antiandrogen alone in patients with polycystic ovary syndrome // J. Endocr. Invest. 1998, 21, 623-629.
12. Rittmaster R. Antiandrogen treatment of polycystic ovary syndrome // Endocrinol. Metab. Clin. North Amer. 1999, 28, N 2, 409-423.
13. Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanisms and implications for pathogenesis // Endocr. Rev. 1997, 18, N 6, 774-800.

14. Корпачева-Зінич О. В. Андрогени і цукровий діабет 2 типу // *Ендокринологія*. 2005, 10, № 1, 76-91.
15. Резніков О. Г. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // *Ендокринологія*. 2003, 8, № 1, 142-145.
16. Полторак В. В., Горбенко Н. І. Експериментальне вивчення нових гіпоглікемічних засобів // *Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації за ред. О. В. Стефанова*. К.: ДФЦ МОЗ України, 2001, 396-408.
17. Бариляк І. Р., Неумержицька Л. В., Бишовець Т. Ф., Даниленко В. С. Вивчення гонадотоксичної дії нових лікарських засобів та їх впливу на репродуктивну функцію тварин // *Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації за ред. О. В. Стефанова*. К.: ДФЦ МОЗ України, 2001, 139-208.
18. Корпачева Т. И. Изменение метаболизма тестостерона в печени и предстательной железе крыс при воздействии нестероидных антиандрогенов: автореф. дисс. канд. биол. наук. К., 1985. 31 с.
19. Reznikov A. G. Feedback control of gonadotropin secretion in mammalian and human males: effects of androgen receptor blockers // *Endocrinologia Experimentalis*. 1990, 24, 267-273.
20. Batukan C., Baysal B. Metformin improves ovulation and pregnancy rates in patients with polycystic ovary syndrome // *Arch. Gynecol. Obstet.* 2001, 265, N 3, 124-127.

Превентивное действие флутамида в отношении функциональных расстройств репродуктивной системы у андрогенизированных в препубертатном возрасте самок крыс

А. Г. Резников, И. Ю. Ганжий¹, Н. Д. Носенко, П. В. Сеницын, Л. В. Тарасенко, Л. И. Полякова, А. А. Лимарева, Л. В. Чайковская
 ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В. П. Комиссаренко АМН Украины», г. Киев, 04114;

¹ГУ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины», г. Запорожье, 69000; Украина

Изучено состояние репродуктивной системы у самок крыс в условиях гиперандрогении и применения антиандрогена флутамида (флутафарм, 25 мг/кг) в пубертатном периоде сомато-полового развития. Гиперандрогенное состояние моделировали подкожной имплантацией силикатных капсул, содержащих кристаллический тестостерон. Андрогенизация самок крыс с начала пубертатного периода задерживала половое созревание и вызывала патологические изменения гистологического строения яичников, нарушения овуляции, регулярности и фазовой структуры эстральных циклов, фертильности и плодовитости, толерантности к глюкозе. Фармакологическая блокада тканевых рецепторов андрогенов устраняла указанные нарушения. Результаты исследования свидетельствуют об иницирующей роли андрогенов в патогенезе ановуляторной стерильности и превентивном действии флутамида в отношении нарушений полового созревания, развития ановуляторного синдрома и толерантности к углеводам у андрогенизированных в препубертатном возрасте самок крыс.

Ключевые слова: гиперандрогения, ановуляция, антиандрогены, пубертация, репродуктивная система.

**Preventive effect of flutamide regarding functional disturbances
of reproduction system in prepubertally androgenized female rats**

A. G. Reznikov, I. Yu. Ganzhiy¹, N. D. Nosenko, P. V. Sinitsyn, L. V. Tarasenko,
L. I. Polyakova, A. A. Limareva, L. V. Chaikovskaya

*State Institution «V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism,
Acad. Med. Sci. of Ukraine», Kyiv, 04114;*

*¹State Institution «Zaporizhya Medical Academy for Postgraduate Studies, Ministry
of Public Health of Ukraine », Zaporizhya, 69000; Ukraine*

The state of reproduction system in hyperandrogenized female rats treated with antiandrogen flutamide (flutafarm, 25 mg/kg b.w.) has been studied during pubertate period of somato-sexual development. Hyperandrogenicity was designed by subcutaneous implantation of Silastic capsules with crystalline testosterone. Androgenization of female rats from the beginning of pubertation delayed sexual maturation and resulted in pathological changes in ovarian histology, disorders in ovulation, estrous cycle regularity and phase structure, fertility and fecundity, glucose tolerance. Pharmacological blockade of tissue androgen receptors prevented the above mentioned disorders. The data obtained suggest the androgen initiating role in the pathogenesis of anovulatory sterility and flutamide protective effect regarding sexual maturation disorders, anovulation syndrome development as well as glucose tolerance deviation in prepubertally androgenized female rats.

Key words: hyperandrogenism, anovulation, antiandrogen, pubertation, reproduction system.

(Надійшла 5.01.2009)