

J\*/\$: 6 \ G 09 B 23/28

Спосіб моделювання затримки статевого дозрівання у самок.

Винахід відноситься до біології та медицини і може бути використаний в експериментальній ендокринології.

За сучасною класифікацією причиною затримки пубертатогенезу є пошкодження центральної або периферичної ланок репродуктивної системи [1]. На сьогодні відома модель затримки статевого дозрівання у самок, яка утворена шляхом використання інтенсивних фізичних навантажень [2] або тривалим стресом [3] до періоду пубертатії.

Однак в обох випадках розвиток патології починається з пошкодження гіпоталамо-гіпофізарної системи [3,4]. Як наслідок цього виникає порушення структури і функції яєчників [2,4].

Затримка статевого дозрівання периферичного, оваріального генезу може бути викликана пригніченням ендокринної функції гонад. Це досягається за допомогою введення активних інгібіторів ароматази, які знижують синтез і секрецію естрогенів [5,6].

Але застосування інгібіторів ферментів передбачає безпосереднє втручання у стероїдогенез, що приводить до побічного ефекту, а саме, підвищується рівень попередників естрогенів - андрогенів. Збільшення концентрації останніх у жіночому організмі негативно впливає на репродуктивну систему.

Задача винаходу - підвищення точності способу за рахунок наближення моделі до природно і патологічної затримки статевого дозрівання оваріального генезу без прямого втручання у функціональну активність гонад.

Поставлена задача вирішується тим, що самкам щурів у препубертатному періоді вводять внутрішньої\*! 'язаво кісточкову олію у дозі 0,2 мл одноразово або щоденно на протязі 5 днів.

Для вибору оптимально! дози кісточкової олії були сформовані 3 групи інтактних самок щурів по 30 тварин у кожній групі, які до 30-денного віку не мали статистично вірогідних відмінностей за показниками соматичного розвитку. Групу 1 склали контрольні інтактні щури, групи 2 і 3 - піддослідні тварини, яким у період препубертату вводили внутрішньом'язово кісточкову олію у дозі 0,2 мл одноразово у 35-денному віці або щоденно на протязі 5 днів з 31 до 35 днів життя.

У інтактних (гр. 1) і піддослідних (гр.;: ( 3) тварин аналізували темп статевого дозрівання (табл. і;, гонадотропну функцію гіпофізу та функціональну активність яєчників (табл. 2) і динаміку маси тіла (табл. 3).

У інтактних самок щурів (гр. 1) відкриття вагінальної мембрани (початкова фаза пубертації) і перша овуляція (яка відбувається» як наслідок встановлення позитивного зворотнього зв'язку) були у 100 Z випадків до й-місячного віку (табл. 1). У піддослідних тварин обох груп (гр.2, 3) строки статевого дозрівання значно запізнювались у часі. Затримка темпів пубертації у цих щурів мала дозозалежний характер. В умовах одноразового введення кісточкової олії (гр.2) початок і завершення пубертації відбувались на 45 % і 59 % відповідно, пізніше, ніж у інтактних самок, Гіри тривалому введенні олії (гр. 3) строки відкриття піхви і овуляції у щурів зростали на 91 Z і 106 1 відповідно. Значно підвищувався інтервал між початком і завершенням пубертації у групах піддослідних тварин, особливо в умовах тривалого застосування олії (гр. 3). У 30 % випадків у цих

щурів після відкриття вагіни овуляція не спостерігалась до 4-місячного віку.

Аналіз показників гормонального статусу у периферичній крові піддослідних самок (гр. 3) у 40-денному віці (саме перед початком очікуваної овуляції) продемонстрував вірогідне зниження рівня тестостерону і естрадіолу (табл. 2). Зменшення концентрації цих стероїдів на фоні нормального рівня їх попередника - прогестерону свідчить про пригнічення ендокринної функції яєчників, що пов'язано з гальмуванням оваріального фолікулогенезу (на гістологічних препаратах яєчників - значне зменшення кількості фолікулів, які зростають) у щурів, оброблених кісточною олією. Бміет гонадотроїніа у гіпофізах піддослідних тварин був у межах вікової норми.

**ІІри** вивченні динаміки маси тіла самок щурів показана вірогідна затримка соматичного розвитку тварин, яким у препубертаті вводили кісточкову олію на протязі 5 днів (гр. 3). Приріст маси тіла у цих самок до 3-місячного віку відповідав такому у 60-денних інтактних щурів (табл. 3).

Таким чином, спосіб моделювання затримки статевого дозрівання у самок, який пропонується, не порушуючи центральної ланки репродуктивної системи (відсутність впливу на гонадотропну функцію гіпофізу), виявляє гальмуючу дію на периферичному рівні, а саме: пригнічує функціональну активність яєчників (гальмує оваріальний фолікулогенез і знижує рівень тестостерону та естрадіолу). Гіпофункція гоїшд в недостатньою секрецією анаболічних стероїдів затримує фізичний розвиток (масу тіла) та темп пубертатогенезу (відкриття піхви, встановлення позитивного зворотнього зв'язку та першу овуляцію).

Все вищевшладене наближає спосіб до природної патології

затримки статевого дозрівання у жіночому організмі внаслідок розвитку гіпофункції яєчників.

Приклад 1. Самці щура з нормальним соматичним розвитком і масою тіла у 30-денному віці 40 г на 35 день одноразово вводили внутрішньом'язово кісточкову олію у дозі 0,2 мл. У 2- і 3-місячному віці маса тіла була 79,4 г і 142,3 г відповідно. Відкриття вагіни відбувалось у 61-денному віці, а перша овуляція на 72 день життя. Спостерігали затримку статевого дозрівання (табл. 1).

Приклад 2. У самки щура маса тіла у 30-денному віці була 42 г. З 31 до 35 дня тварині щоденно внутрішньом'язово вводили кісточкову олію у дозі 0,2 мл. Маса тіла у 2- і 3-місячному віці була 55 г і 85 г відповідно. Відкриття вагіни та овуляція зареєстровані на 72 і 120 дні відповідно, тобто спостерігалась затримка фізичного (табл. 2) і статевого (табл. 1) розвитку.

Приклад 3. Самці щура з масою тіла у 30-денному віці 40 г з 31 до 35 дня щоденно внутрішньом'язово вводили кісточкову олію у дозі 0,2 мл. До 3-місячного віку маса досягала лише 65 г (табл. 2). Відкриття вагіни відбулось на 118 день життя, але овуляція не настала (табл. 1).

Приклад 4. У самки щура з масою тіла (на 30 день) 39 г після щоденного введення в 31 до 35 дня кісточкової олії у дозі 0,2 мл маса тіла у 40-денному віці складала 42 г. На 40 день **самку** забивали. У периферичній крові визначали рівні статевих гормонів радіоімуннологічним методом, а у гіпофізі - вміст гонадотропінів методом біологічного тестування. Рівні тестостерону і естрадіолу у периферичній крові були 0,38 нмоль/л і 0,11 нмоль/л відповідно, що було нижче, ніж у контролі (табл. 2). Вміст гонадотропінів у гіпофізі - 1,04 мкг, тобто у межах

вікової норми. На гістологічних зрізах яєчників зареєстрована незначна кількість фолікулів, що зростають.

Таблиця 1.- Гіоказники статевого дозрівання самок щурів після введення кісточнової олії у препубертаті

Гру- па	Характер і період (вік)дії	Статис- тичний показник	Строки (дні життя) статевого дозрівання		
			Відкриття і ни	Перша овуляція	Інтервал між поват чатком і завершенням пубертації
1	Контроль, інтактні	п М + т	23 41,30+1,16	23 44.30+1,35	20 3,70+0,62
2	Кісточно- ва олія, 35 день	п М + m Р 1-2	22 60, 00j-3,09 <0,002 45	18 71,39+3,19 <0,00i 59	18 12,00+2,27 <0,001 124
3	Кісточно- ва олія, 31-35 дні	п М + m Р 1-3 LX	12 79,00+5,27 <0,001 91	7 91,71+9,53 <0,001 106	7 20,57+9,22 <0,001 456

Таблмця 2. - Вміст статевих і гонадотропних гормонів в організмі 40-денних самок шурів після введення кісточнової олії у препубертаті

Група і період дії	Характер статистичний показ- (вік)ник	Рівень статевих гормонів, нмоль/л			Вміст гонадотропінів у гіпофізі, мкг	
		прогестерон	тестостерон	естрадіол		
і Контроль, інтактні	п Шт 2,	9 90+0,46	9 0,70+0,09	8 0,32+0,03	8 0,87+0,16	
З	Кісточно-ва олія, 31-35 дні	п М+т Р 1-3	8 3,76+0,97 >0,1	8 0,36+0,08 <0,02	10 0,17+0,04 <0,01	7 1,06+0,11 >0,1

Таблиця 3. - Динаміка маси тіла самок щурів після введення кісточної олії у препубертаті

Гру- па	Характер і період (вік) ді ї	Статис- тичний показ- ник	Маса тіла (г) у різні вікові періоди, дні			
			30	40	60	90
1	Контроль, <i>інтактні</i>	п <i>Щтп</i>	17 40,94+1,11	17 56,53+2,86	17 82,71+4,04	15 135,00+6,55
2	Кісточно- ва олії, 35 день	п М+т Р і-2	10 41,70+2,49 >0,1	14 57,00+2,36 >0,і	14 75,36+4,14 >0,1	10 146,50+4, >0Д
3	Кісточно- ва олія» 31-35 дні	п М+т Р 1-3	20 41,11+3,57 >0,1	15 42,20+2,06 <0,002	13 62,46+3,20 <0,01	10 96,10+6,49 <0,002



### Використана література

1. Патология полового развития девочек и девушек/ Под ред. ИА. Крупко-Бзлюковой.-Киев: Здоровье, 1990.- 229 с.
2. Алтанец СИ. Изменения половой системы и гипофизарно-гонадных взаимоотношений у самок крыс, подвергавшихся стрессовым воздействиям в ходе онтогенеза.-Дисс. ... канд. мед. наук.-Харьков, 1978. - 170 с.
3. Шумейко Е. Е , Попова Н. К. Онтогенетические и генетико-эволюционные аспекты нейроэндокринной регуляции стресса - Новосибирск: Наука, 1990.- 232 с.
4. Плехова Е. 1L Роль моноаминов в патогенезе нарушения полового созревания// Пробл. эндокрп. - 1986.- Т. 32, N2.- С. 51-55.
5. Iveson T. J. , Smit I.E., Ahern J. Pha-sa 1 study of the oral nonsteroidal aromatase inhibitor CGS 20267 in healthy postmenopausal women// J. Clin. Endocrinol. and Metabol. - 1993.- Vol. 7Y, N 2.- P. 324-331.
6. Vu j. T. Induction of mplantation by aromatase inhibitor.? in ovalectomized mice// j. Reprod. Pert.- 1904- Vol 71, N2.- P- 345-349.