

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОК ПРЕОПТИЧЕСКОГО ЯДРА ГИПОТАЛАМУСА КРЫС ПРЕПУБЕРТАТНОГО ВОЗРАСТА В УСЛОВИЯХ СТИМУЛЯЦИИ И БЛОКИРОВАНИЯ АЛЬФА-АДРЕНЕРГИЧЕСКОЙ И КИССПЕПТИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМ

Поступила 14.03.13

В экспериментах на белых крысах препубертатного возраста (один месяц) исследовали влияние фармакологических блокирования и активации кисспептинергической и альфа-адренергической систем на нейроны и астроциты преоптического ядра гипоталамуса. Интрацеребровентрикулярное введение кисспептина вызывало активацию процессов синтеза протеинов в нейронах и астроцитах данного ядра, о чем свидетельствовало достоверное увеличение средних значений площадей поперечного сечения ядер этих клеточных элементов. Введение блокатора рецепторов кисспептина P-234 угнетало синтетическую активность в нейронах, но не в астроцитах. Мезатон интенсивно активировал упомянутую активность в клетках обоих видов, причем такая активация не устранялась полностью при одновременном введении антагониста кисспептина P-234. Празозин подавлял синтетические процессы в нейронах, но не в астроцитах. При комбинированном введении празозина и кисспептина эффект угнетения белкового синтеза в нейронах существенно ослаблялся, хотя и не устранялся полностью; в астроцитах же происходило возрастание функциональной активности. Обсуждаются механизмы действия альфа-адренергической и кисспептинергической систем на продукцию гонадотропин-рилизинг-гормона (гонадолиберина) клетками преоптического ядра гипоталамуса и влияния данных эффектов на функционирование репродуктивной системы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: преоптическое ядро гипоталамуса, нейроны, астроциты, кисспептин, антагонист кисспептина, мезатон, празозин.

ВВЕДЕНИЕ

Среди разнообразных факторов, которые служат у млекопитающих сигналами, обеспечивающими ускорение или замедление сроков их репродуктивного становления, важнейшим является фотопериод, доступность еды, температура, стресс и гормональный фон. Комбинация влияний этих факторов в итоге определяет уровень секреции гипоталамусом гонадолиберина (гонадотропин-рилизинг-гормона – ГнРГ). Обеспечивая стимуляцию секреции лютропина (ЛГ), фолитропина (ФСГ) и тестостерона, ГнРГ является одним из важнейших звеньев

в репродуктивном гормональном каскаде. Кроме того, этот гормон способен воздействовать непосредственно на гонады, поскольку в половых железах была идентифицирована мРНК рецепторов ГнРГ. Подобные рецепторы присутствуют не только в преоптическом ядре гипоталамуса, но и в аденогипофизе [1]. Контроль продукции ГнРГ обеспечивается рядом нейротрансмиттеров и нейромедиаторов. Было показано, что на синтез ГнРГ влияют серотонин- и дофаминергические системы, а также адренергические структуры головного мозга [2, 3].

В гипоталамусе выявлены множество адренергических волокон как собственно гипоталамического, так и внегипоталамического происхождения. Адренергическая система головного мозга играет существенную роль в процессе созревания гипоталамо-гипофизарно-гонадного комплекса [4].

¹УНЦ «Институт биологии» Киевского национального университета им. Тараса Шевченко (Украина).
Эл. почта: grandmaster.majority@gmail.com (М. Г. Матвиенко).

Сравнительно недавно были получены свидетельства того, что гипоталамическая система, продуцирующая ГнРГ, и церебральная адренергическая система интенсивно взаимодействуют в процессе регуляции функций гонад. У самцов крыс в возрасте один и три месяца (препубертатного и пубертатного возраста соответственно) стимуляция альфа-адренергических рецепторов мезатоном вызывала активацию тестикул, а блокирование этих рецепторов празозином угнетало функции указанных желез [5, 6].

В последнее время большое внимание исследователей механизмов регуляции репродуктивной системы млекопитающих привлекает такой эндогенный агент, как кисспептин (или мемтатин). Этот пептид – продукт гена *Kiss* – является эндогенным лигандом G-протеинсвязанных рецепторов GPR54 [7]. Функционируя как пептидный нейромедиатор, кисспептин высвобождается в гипоталамусе из терминалей афферентных нейронов, связывается с рецепторами GRP54 на мембранах ГнРГ-нейронов, активирует их и, таким образом, эффективно регулирует выделение данного рилизинг-гормона. Последний, в свою очередь, модулирует активность гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси. Таким образом, активность кисспептинергической системы представляет собой ключевой фактор в нервном контроле процесса репродукции у животных и человека [8–10]. Есть основания полагать, что адренергическая и кисспептинергическая системы в ходе регуляции репродуктивной системы существенно взаимодействуют, причем соответствующие эффекты зависят от возраста животных. При комбинированном введении кисспептина и его антагониста P-234 влияние кисспептинергической системы на гонады неполовозрелых и половозрелых молодых крыс проявлялось более сильно, чем влияние альфа-адренергической системы. У старых животных (в возрасте 24 месяца) подобного соотношения не наблюдалось [11, 12].

С учетом имеющейся информации о влиянии стимуляции и блокирования кисспептинергических и альфа-адренергических рецепторов на тестикулярную активность вызывают интерес особенности реакций клеточных элементов гипоталамуса и, прежде всего, преоптического ядра на подобные влияния, поскольку упомянутое ядро играет важнейшую роль в контроле репродуктивной функции (в первую очередь, ввиду того, что его клетки реализуют секрецию ГнРГ).

МЕТОДИКА

Эксперименты были проведены на самцах крыс линии Вистар в возрасте один месяц, что соответствует препубертатному периоду. Сроки нашего исследования согласовывались с общепринятым подразделением возрастных периодов животных данного вида и линии [13].

Учитывая задачи данной работы, все животные были разделены на семь групп по пять особей в каждой. Следовало учитывать, что использованные агенты имеют разные рекомендованные способы введения. Кисспептин и антагонист кисспептина следует вводить интрацеребровентрикулярно (и.ц.в.), празозин – перорально (п.о.), а мезатон – подкожно (п.к.). При этом очевидно, что разные манипуляции, обеспечивающие введение, вызывают у животных стресс различной интенсивности, и это необходимо брать во внимание в ходе исследования. Стресс существенно влияет на функциональную активность нервных и глиальных клеток, которые исследовались в настоящей работе [14, 15]. Для максимальной объективности оценок влияния препаратов на активность клеток преоптического ядра гипоталамуса животные в наших опытах подвергались введениям всех трех видов. При этом то или иное тест-вещество вводили рекомендованным способом, что сопровождалось введением физиологического раствора в соответствующих объемах двумя другими упомянутыми способами.

Животные контрольной группы получали только физиологический раствор (0.9 %-ный изотонический раствор натрия хлорида; «Индар», Украина) всеми тремя способами одновременно – п.о. по 0.5 мл, и.ц.в. по 12.5 мкл и п.к. по 0.5 мл. Две другие группы крыс подвергались и.ц.в.-введению 12.5 мкл агониста кисспептинергических рецепторов GPR54 кисспептина (метастин-(45–54)-амид; «Sigma», США) или антагониста кисспептина P-234 (кисспептин-234-трифторацетат; «Sigma», США) в такой же дозе, а также введению физиологического раствора п.о. по 0.5 мл и п.к. по 0.5 мл.

Животным следующей группы инъецировали мезатон (ТОВ «Дослідний завод ГНЦЛС», Украина) п.к. в дозе 100 мкг/100 г массы тела и одновременно вводили физиологический раствор 0.5 мл п.о. и 12.5 мкл и.ц.в. Мезатон (или фенилэфрин) – синтетический адреномиметик. Он селективно стимулирует альфа-адренорецепторы, практически не влияя на бета-рецепторы [16]. Крысы еще одной группы получали п.о. празозин (празозин-ратио-

фарм; «Меркль», ФРГ) в дозе 100 мкг/100 г массы тела и при этом 0.5 мл п.к. и 12.5 мкл и.ц.в. физиологического раствора. Празозин относится к гипотензивным альфа-адреноблокаторам [17]; его особенностью является избирательное влияние на альфа-адренорецепторы [18, 19]. Была также сформирована группа крыс, на которых исследовали комбинированное воздействие мезатона (п.к. в дозе 100 мкг/100 г массы тела) и и.ц.в.-инъекций Р-234 (12.5 мкл); эти животные одновременно получали п.о. 0.5 мл физиологического раствора. Крысам последней экспериментальной группы давали п.о. празозин в дозе 100 мкг/100 г массы тела, и.ц.в. вводили 12.5 мкл киспептина и п.к. инъецировали 0.5 мл физиологического раствора. Эксперимент длился 10 дней, препараты вводили раз в сутки. Следует упомянуть, что п.к.- и п.о.-введение препаратов выполняли в ходе эксперимента каждый день, а и.ц.в.-инъекции – в течение трех дней начиная с восьмого дня эксперимента.

После окончания курса введений крыс всех групп наркотизировали (внутримышечно вводили анестетическую смесь кетамин/ксилазин 9:1, 10 мг на 100 г массы тела [20]) и декапитировали, изымая головной мозг. Ткани мозга обрабатывали согласно стандартной гистологической методике [21]. Пользуясь стереотаксическим атласом [22], выделяли преоптические ядра гипоталамуса, которые заключали в парафиновые блоки. Фронтальные срезы гипоталамической области мозга толщиной 8–10 мкм окрашивали кризелвиолетом, по Нисслю, что позволяло иденти-

фицировать нейроны и астроциты [23]. Микрофотографии гистологических препаратов (микроскоп «Olympus BX51», Япония) обрабатывали с помощью системы анализа изображений Olympus DP-Soft 3.2 (Япония). Необходимые морфометрические параметры измеряли на фотоснимках с использованием программного обеспечения для анализа и обработки изображений Image J. Определяли площадь поперечного сечения ядер нейроцитов и астроцитов преоптического ядра гипоталамуса крыс. Данные параметры коррелируют с уровнем функциональной активности клеток указанной структуры [15]. Полученные результаты обрабатывали с применением стандартных методов вариационной статистики. Число измеряемых объектов *n* во всех выборках составляло не менее 150.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У самцов крыс контрольной группы средняя площадь поперечного сечения ядер нейроцитов преоптического ядра гипоталамуса составляла 54.27 ± 1.27 мкм². У астроцитов этой же группы животных соответствующий параметр равнялся 26.64 ± 1.04 мкм² (см. таблицу).

После и.ц.в.-инъекций блокатора рецепторов киспептина средняя площадь поперечного сечения ядер нейроцитов равнялась 50.36 ± 1.10 мкм²; таким образом, данный кариометрический показатель в группе животных, которые получали Р-234, был

Площадь поперечного сечения ядер нейроцитов и астроцитов преоптического ядра гипоталамуса одномесячных крыс

Площа поперечного перетину ядер нейроцитів і астроцитів преоптичного ядра гіпоталамуса одномісячних щурів

Группы	Параметры	
	площадь поперечного сечения ядер нейроцитов, мкм ² (<i>M ± m</i>)	площадь поперечного сечения ядер астроцитов, мкм ² (<i>M ± m</i>)
Контроль	54.27 ± 1.27	26.64 ± 1.04
С введением Р-234	$50.36 \pm 1.10^*$	25.47 ± 1.25
С введением киспептина	$60.34 \pm 1.61^*$	$34.68 \pm 0.45^*$
С введением мезатона	$63.29 \pm 1.47^*$	$37.63 \pm 0.79^*$
С введением мезатона+Р-234	$58.47 \pm 1.12^{***}$	35.2 ± 1.21
С введением празозина	$48.13 \pm 0.38^*$	24.51 ± 0.75
С введением празозина+киспептина	$52.42 \pm 1.07^{**}$	$29.41 \pm 0.4^{**}$

Примечания. Приведены среднее арифметическое ± ошибка среднего арифметического. **P* < 0.05 относительно контрольной группы; ***P* < 0.05 относительно соответствующей группы без киспептина и ****P* < 0.05 относительно соответствующей группы без антагониста киспептина.

достоверно меньше (в среднем на 7.2 %) по сравнению с контролем. Средняя площадь поперечного сечения ядер глиальных клеток у крыс, которым вводили антагонист кисспептина, составляла 25.47 ± 1.25 мкм² (см. таблицу); уменьшение указанного параметра в этой группе сравнительно с контролем было заметным, но такие изменения не достигали уровня статистической достоверности. Таким образом, влияние антагониста кисспептина Р-234 приводит к уменьшению величины ядер нейронов и глиоцитов, причем у нервных клеток данный эффект более интенсивен. Это указывает на ощутимое снижение синтетической активности в упомянутых клеточных элементах. Супрессивное влияние антагониста кисспептина на функцию рассматриваемых клеток отмечали и другие исследователи [24, 25].

Средняя площадь поперечного сечения ядер нейроцитов преоптического ядра крыс после введения кисспептина равнялась 60.34 ± 1.61 мкм². Этот показатель был достоверно большим (на 11.2 %) по сравнению с наблюдавшимся в контрольной группе. В астроцитах животных данной группы площадь поперечного сечения ядер составляла в среднем 34.68 ± 0.45 мкм² (инкремент 30.2 %) (см. таблицу). Таким образом, в исследуемой группе одномесячных самцов крыс происходило статистически достоверное увеличение ядер и у нейроцитов, и у астроцитов по сравнению с контролем, что соответствует существенному увеличению синтетической активности в рассматриваемых клетках [26]. Данный аспект наших наблюдений не противоречит экспериментальным результатам, полученным другими учеными [9, 10].

После инъекций мезатона у крыс соответствующей группы площадь поперечного сечения ядер нейроцитов составляла в среднем 63.29 ± 1.47 мкм² (достоверное превышение в среднем на 16.7 %, сравнительно с контролем). У астроцитов крыс этой группы средняя площадь сечения ядер достигала 37.63 ± 0.79 мкм² (см. таблицу), что является наибольшим значением для клеток указанного типа среди всех групп экспериментальных животных. Таким образом, можно заключить, что в результате действия мезатона площади поперечного сечения ядер нейронов и астроцитов значительно возрастают; и соответствующие эффекты соизмеримы с наблюдаемыми при введениях кисспептина. Это соответствует существенному увеличению синтетической активности данных клеток в результате стимуляции альфа-адренорецепторов [27]. Аналогичный эффект наблюдался и в гонадах одномесяч-

ных крыс – инъекции мезатона приводили к активации тестикул [3, 28].

В условиях комбинированных инъекций мезатона с антагонистом кисспептина средняя площадь поперечного сечения ядер нейроцитов крыс равнялась 58.47 ± 1.12 мкм². Этот параметр в данной группе был достоверно меньшим по сравнению с таковым в группе животных, которые получали только мезатон (без Р-234). У астроцитов животных исследуемой группы средняя площадь сечения ядер составляла 35.2 ± 1.21 мкм² (см. таблицу). Таким образом, измеряемые морфометрические параметры ядер у животных указанной группы были меньшими, чем у крыс, получавших только мезатон, хотя и недостоверно. В целом комбинирование мезатона с блокаторм рецепторов кисспептина Р-234 приводит к уменьшению площади поперечного сечения ядер клеток преоптического ядра и, соответственно, к снижению функциональной активности клеток, причем у нейронов такой эффект более выражен, чем у глии. Результаты ранее проведенных исследований показали, что на уровне гонад блокирование рецепторов кисспептина подавляло проявление гонадостимулирующего эффекта мезатона. Данный факт может указывать на то, что действие альфа-адренергической системы на гипоталамо-гонадальную ось опосредовано кисспептином [3, 5].

После введения празозина средняя площадь поперечного сечения ядер нейроцитов преоптического ядра составляла 48.13 ± 0.38 мкм², т. е. соответствующий показатель под действием празозина становился достоверно меньшим, чем в контрольной группе. В астроцитах животных данной группы соответствующее значение равнялось 24.51 ± 0.75 мкм² (см. таблицу), т. е. кариметрический показатель глиоцитов в исследуемой группе также изменялся по сравнению с контролем, но недостоверно. Таким образом, празозин обуславливает значительное уменьшение ядер нейронов и глиоцитов преоптического ядра. Эти значения у исследуемых групп крыс данного возраста являются наименьшими (уменьшения на 11.3 и 8 % соответственно). Очевидно, что у одномесячных животных синтетические процессы в клетках преоптического ядра гипоталамуса под воздействием празозина заметно подавляются. Результаты исследований тестикул крыс препубертатного возраста показали, что празозин оказывает супрессирующее действие и на тестикулярную активность. Таким образом, блокирование альфа-адренергической системы приводит к сильной супрессии как центрального, так и пери-

ферического звеньев репродуктивной системы [29].

В условиях комбинированного введения крысам празозина и кисспептина средняя площадь сечения ядер нейроцитов составляла 52.42 ± 1.07 мкм². Таким образом, данный морфометрический параметр ядер нервных клеток супраоптического ядра в рассматриваемой группе был достоверно большим, чем в группе крыс, которые получали только празозин, без кисспептина. Следовательно, кисспептин обеспечивал активирующий эффект, невзирая на сопутствующее введение празозина, который угнетает синтетические процессы в нейронах. У астроцитов исследуемой группы средняя площадь поперечного сечения ядер равнялась 29.41 ± 0.4 мкм² (см. таблицу), т. е. данный морфометрический показатель ядер и глиальных клеток в рассматриваемой группе достоверно превышал таковой в группе без введения кисспептина. В целом следует заключить, что кисспептин позволяет в существенной мере устранить супрессирующий эффект празозина в отношении и нервных, и глиальных клеток преоптического ядра гипоталамуса одномесячных самцов крыс. Подобные эффекты введения празозина с кисспептином наблюдались и в тестикулах половозрелых крыс. Судя по таким данным, следует прийти к выводу, что активация системы нейроэндокринной регуляции репродукции осуществляется параллельно – за счет и альфа-адренергической, и кисспептинергической систем. Фармакологическое блокирование какой-либо из этих систем приводит к выраженной инактивации гипоталамо-гонадного комплекса [12, 30].

В целом выводы, сделанные на основе нашего экспериментального материала, можно сформулировать следующим образом. Введение кисспептина приводит к активации синтетических процессов и в нейронах, и в астроцитах преоптического ядра гипоталамуса одномесячных крыс. Блокатор рецепторов кисспептина P-234 угнетает подобную активность в нейронах, но не в астроцитах. Мезатон выступает интенсивным активатором обоих видов клеток данной гипоталамической области. Такой эффект при одновременном введении антагониста кисспептина P-234 не может быть полностью устранен, что свидетельствует в пользу предположения о независимости влияния на преоптическое ядро гипоталамуса со стороны кисспептинергической и альфа-адренергической систем [3, 5, 12]. И наоборот, празозин инактивирует рассматриваемые процессы в нейронах, но не в астроцитах. При комбинированном введении празозина и кисспептина

эффект угнетения синаптической активности в нейронах существенно ослабляется, хотя и не устраняется полностью, а астроциты несколько активируются. Отсутствие существенных супрессивных эффектов в отношении синтетической активности астроцитов в преоптическом ядре гипоталамуса крыс данного возраста может свидетельствовать об относительно низкой исходной активности подобных клеток, что позволяет рассматривать их как мишени для активирующих, но не супрессирующих фармакологических воздействий.

Исследования выполнялись в соответствии с положениями Комитета по биоэтике УНЦ «Институт биологии» Киевского национального университета им. Тараса Шевченко, а также с принципами, изложенными в Международной конвенции по защите животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (Страсбург, 1985).

Авторы настоящей работы – М. Г. Матвиенко, А. С. Пустовалов, Н. А. Бузинская и Н. Э. Держинский – сообщают об отсутствии у них конфликта интересов.

М. Г. Матвиенко¹, А. С. Пустовалов¹, Н. О. Бузинська¹, М. Е. Держинський¹

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ КЛІТИН ПРЕОПТИЧНОГО ЯДРА ГІПОТАЛАМУСА ЩУРІВ ПРЕПУБЕРТАТНОГО ВІКУ В УМОВАХ СТИМУЛЯЦІЇ ТА БЛОКУВАННЯ АЛЬФА-АДРЕНЕРГІЧНОЇ І КІСПЕПТИНЕРГІЧНОЇ СИСТЕМ

¹ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету ім. Тараса Шевченка (Україна).

Резюме

В експериментах на білих щурах препубертатного віку (один місяць) досліджували вплив фармакологічних блокування та активації кисспептинергичної та альфа-адренергичної систем на нейрони й астроцити преоптичного ядра гіпоталамуса. Інтрацеребровентрикулярне введення кисспептину викликало активацію синтезу протеїнів у нейронах і астроцитах даного ядра, про що свідчило вірогідне збільшення середніх значень площ поперечного перетину ядер цих клітинних елементів. Уведення блокатора рецепторів кисспептину P-234 пригнічувало синтетичну активність у нейронах, але не в астроцитах. Мезатон інтенсивно активував активність у клітинах обох видів, причому така активація не усувалася повністю при одночасному введенні антагоніста кисспептину P-234. Празозин пригнічував синтетичні процеси в нейронах, але не в астроцитах. При комбінованому введенні празозину і кисспептину ефект пригнічення білкового синтезу в нейронах істотно послаблювався, хоча й не усувався повністю; в астроцитах же відбувалося зростання функці-

ональної активності. Обговорюються механізми дії альфа-адренергічної та кіссептинергічної систем на продукцію гонадотропін-релізінг-гормону (гонадоліберину) клітинами преоптичного ядра гіпоталамуса і впливи даних ефектів на функціонування репродуктивної системи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Y. M. Sun, I. C. Dunn, E. Baines, et al., "Distribution and regulation by oestrogen of fully processed and variant transcripts of gonadotropin releasing hormone 1 and gonadotropin releasing hormone receptor mRNAs in the male chicken," *J. Neuroendocrinol.*, **13**, No. 1, 37-49 (2001).
2. І. М. Варенюк, *Вплив моноамінів і тестостерону на електричну активність аркуатного ядра гіпоталамуса та гістофізіологію гонад птахів*, Автореф. дис. ... канд. біол. наук, Київ (2001).
3. М. Г. Матвієнко, А. С. Пустовалов, Н. О. Бузинська, М. Е. Держинський, "Морфофункціональні зміни в тестикулах шурів препубертатного віку під впливом кіссептина на фоні блокади та активації альфа-адренорецепторів і при введенні мелатоніна", *Вісн. Луган. нац. ун-ту ім. Тараса Шевченка*, **1**, № 17, 101-109 (2012).
4. M. Dzerzhinsky, M. Matvienko, A. Pustovalov, and N. Buzynska, "Kisspeptin influence on rat testes after administration of melatonin, prazosin, meztaton," in: *26th Conference of European Comparative Endocrinologists CECE 2012 (Zurich, August 21-25)*, Univ. of Zurich, Inst. of Anat., Zurich (2012), p. 106.
5. М. Г. Матвієнко, А. С. Пустовалов, М. Е. Держинський, "Вплив кіссептина на функціональну активність тестикул нестатевозрілих шурів за умов блокади та активації альфа-адренорецепторів і при введенні мелатоніна", в кн.: *Тези доповідей III Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 25-річчю біологічного факультету, "Сучасні проблеми біології, екології та хімії" (Запоріжжя, 11-13 травня 2012 р.)*, ч. 1, Запоріж. нац. ун-т, Запоріжжя (2012), с. 235-236.
6. M. Dzerzhinsky, A. Pustovalov, and M. Matvienko, "Morphofunctional changes in rat testes under kisspeptin influence against blockade and activation of alpha-adrenergic receptors and melatonin administration," *Reprod. Domestic Animals*, **47**, No. 2, 20 (2012).
7. A. I. Muir, L. Chamberlain, N. A. Elshourbagy, et al., "AXOR12, a novel human G protein-coupled receptor, activated by the peptide KISS-1," *J. Biol. Chem.*, **276**, No. 31, 28969-28975 (2001).
8. H. Migaud, R. Ismail, M. Cowan, and A. Davie, "Kisspeptin and seasonal control of reproduction in male European sea bass (*Dicentrarchus labrax*)," *Gen. Comp. Endocrinol.*, **179**, No. 3, 384-399 (2012).
9. H. M. Dungan, D. K. Clifton, and R. A. Steiner, "Minireview: kisspeptin neurons as central processors in the regulation of gonadotropin-releasing hormone secretion," *Endocrinology*, **147**, No. 3, 1154-1158 (2006).
10. A. K. Roseweir, A. S. Kauffman, J. T. Smith, et al., "Discovery of potent kisspeptin antagonists delineate physiological mechanisms of gonadotropin regulation," *J. Neurosci.*, **12**, No. 29, 3920-3929 (2009).
11. М. Г. Матвієнко, А. С. Пустовалов, Н. О. Бузинська, М. Е. Держинський, "Морфофункціональні зміни в тестикулах шурів 24-місячного віку під впливом кіссептина на фоні блокади та активації альфа-адренорецепторів і при введенні мелатоніна", *Вісн. пробл. біології та медицини*, **2**, № 3, 170-173 (2012).
12. M. G. Matvienko, A. S. Pustovalov, and N. E. Dzerzhinsky, "Variety of functions and effects of kisspeptin," *Biopolymers and Cell*, **29**, No. 1, 11-20 (2013).
13. Е. В. Вторушина, Г. В. Брюхин, "Становление фолликулогенеза в яичниках у потомства крыс с хроническим поражением гепатобилиарной системы", *Пробл. репродукции*, **5**, № 2, 23-26 (2005).
14. M. Dzerzhinsky, A. Pustovalov, and M. Matvienko, "Stress effect on mitochondria morphometric parameters of functional activity of rat neurocytes, protoplasmic and fibrous astrocytes of arcuate and preoptic hypothalamic nuclei at different stages of estrous cycle," in: *VI zjazd Towarzystwa Biologii Rozrodu (Polanczyk, October 8-10)*, Univ. Rzeszowskiego, Polanczyk (2011), p. 79.
15. А. Пустовалов, М. Матвієнко, М. Держинський, "Вплив стресу на морфометричні параметри функціональної активності астроцитів і нейронів аркуатного ядра гіпоталамуса шурів на різних стадіях естрального циклу", *Вісн. Київ. нац. ун-ту ім. Тараса Шевченка, Сер. Біологія*, **1**, № 61, 17-20 (2012).
16. М. Е. Держинський, О. М. Птиця, "Участь адрено- та серотонінергічних систем головного мозку в регуляції репродуктивної системи самців птахів в ранньому постнатальному онтогенезі", *Фізіол. журн.*, **44**, № 3, 208 (1998).
17. М. Е. Держинський, І. М. Варенюк, Р. О. Барчук, "Вплив блокади та стимуляції дофамінових рецепторів на функціональну активність гіпоталамо-гонадного комплексу птахів (морфометричне та електрофізіологічне дослідження)", *Наук. вісн. Нац. аграр. ун-ту*, **1**, № 24, 32-36 (2000).
18. F. Chen, X. Chen, Z. Qiu, et al., "Functional analysis of a novel antagonistic antibody against the short epitope of the $\alpha 1A$ -adrenergic receptor," *Cardiovascul. Res.*, **93**, No. 2, 280-290 (2012).
19. M. R. Yadav, H. P. Gandhi, P. P. Naik, and R. Giridhar, "Revelation on the potency of $\alpha(1)$ -blockers – parallel blockade of angiotensin II receptor: A new finding," *Pharm. Biol.*, **50**, No. 4, 439-442 (2012).
20. Е. Н. Чувашова, "Сравнительная оценка ксилазинового и кетаминового наркотов кошек", в кн.: *Тезисы докладов конференции "Актуальные проблемы биологии и ветеринарной медицины мелких домашних животных" (Троицк, 13-14 апреля 2000 г.)*, ч. 1, УГАВМ, Троицк (2000), с. 69-71.
21. Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перов, *Микроскопическая техника: Руководство*, Медицина, Москва (1996).
22. G. Paxinos and C. Watson, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, Acad. Press, New York (1983).
23. Г. А. Меркулов, *Курс патологической техники*, МЕДГИЗ, Ленинград (1961).
24. W. S. Dhilllo, O. B. Chaudhri, E. L. Thompson, et al., "Kisspeptin-54 stimulates gonadotropin release most potently during the preovulatory phase of the menstrual cycle in women," *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **92**, No. 10, 3958-3966 (2007).
25. R. Ratnasabapathy and W. S. Dhilllo, "The effects of kisspeptin

- in human reproductive function - therapeutic implications,” *Current Drug Targets*, **14**, No. 3, 365-371 (2013).
26. M. Dzerzhynsky, A. Pustovalov, M. Matviienko, and V. Senchylo, “Stress effect on morphometric parameters of functional activity of rat protoplasmic and fibrous astrocytes arcuate and preoptic nuclei at different stages of estrous cycle,” in: *Streszczenia. II Zimowa Konferencja TBR “Centralne i Lokalne Regulacje Pracesow Rozrodczych”* (Zakopane, February 17-19), Krakow (2010), p. 38.
27. В. М. Запорожан, О. Л. Холодкова, Д. М. Пихтеев, А. Л. Щербатюк, “Морфометричні показники супраоптичного та аркуатного ядер гіпоталамусу експериментальних тварин за умов впливу шкідливих чинників”, *Морфологія*, **3**, № 3, 55-59 (2009).
28. М. Г. Матвиенко, А. С. Пустовалов, Н. А. Бузинская, Н. Э. Держинский, “Изменение активности тестикул неполовозрелых крыс при введении кисспептина на фоне блокады и активации альфа-адренорецепторов и после инъекций мелатонином”, в кн.: *Сборник тезисов 16-ой Международной Пуцинской школы-конференции молодых ученых “Биология – наука XXI века”* (Пушино, 16–21 апреля 2012 г.), ч. 1, Пушино (2012), с. 429-430.
29. А. С. Пустовалов, М. Г. Матвиенко, Н. О. Бузинська, М. Е. Держинський, “Зміни функціональної активності тестикул нестатевозрілих щурів при ін’єкціях кисспептина на тлі блокади та активації альфа-адренорецепторів і при введенні мелатоніна”, в кн.: *Збірник наукових праць за матеріалами X Міжрегіональної наукової конференції “Актуальні питання біології та медицини”* (Луганськ, 17-18 травня 2012 р.), ч. 1, ДЗ „ЛНУ ім. Тараса Шевченка”, Луганськ (2012), с. 63-64.
30. М. Г. Матвиенко, А. С. Пустовалов, В. Є. Калиновський, М. Е. Держинський, “Морфофункціональні зміни в тестикулах щурів препубертатного віку на фоні блокади альфа-адренорецепторів та при введенні кисспептина”, в кн.: *Тези доповідей VI Міжнародної наукової конференції “Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології”* (Київ, 9–11 жовтня 2012 р.), ч. 1, ДЗ „ЛНУ ім. Тараса Шевченка”, Київ (2012), с. 150.