

## КАТЕХОЛАМИНЕРГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ПРОДУКЦИИ ГОНАДОТРОПИНОВ У САМОК КРЫС

Поступила 06.07.14

Участие моноаминергических систем ЦНС в регуляции гонадотропной функции гипофиза в настоящее время не вызывает сомнений. Вопрос же о том, влияют ли катехоламины только на высвобождение люлиберина нейронами срединного возвышения (СВ) или же эти агенты параллельно воздействуют на другие структуры преоптико-тубероинфундибулярной люлиберинпродуцирующей системы, остается открытым. В экспериментах с регистрацией вызванного повышения (волны) уровня гонадотропинов у овариоэктомированных крыс, получавших половые стероиды, мы изучали влияние ряда агонистов и антагонистов катехоламинов на содержание люлиберина в медиопреоптической области (МПО), аркуатных ядрах (АЯ) и СВ гипоталамуса, а также уровни лютеинизирующего и фолликулстимулирующего гормонов (ЛГ и ФСГ соответственно) в крови. Установлены принципиально важные различия модуляции вызванной волны уровня гонадотропинов гипофиза под влиянием фармакологических агентов, являющихся агонистами и антагонистами действия катехоламинов. Доминирующая роль в контроле циклического высвобождения ЛГ принадлежит норадренергическим влияниям на преоптическую область, тогда как выброс ФСГ регулируется влияниями дофаминергической системы.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** гонадотропины, люлиберин, гипоталамус, гипофиз, катехоламины.

### ВВЕДЕНИЕ

Известно, что для адекватной реализации овуляторного цикла у млекопитающих необходима правильная регуляция деятельности гипофиза со стороны высших нервных (прежде всего, гипоталамических) центров. Гипофизарные механизмы, обеспечивающие контроль гонадотропной функции, должны адекватно воспринимать гипоталамические воздействия и соответственно регулировать деятельность яичников. В свою очередь, условиями нормальной циклической деятельности яичников являются их нормальное анатомическое состояние и соответствующая реактивность по отношению к гонадотропной стимуляции. Экстрагипоталамические нервные центры также принимают участие в контроле репродуктивной деятельности яичников.

Не вызывает сомнений, что в регуляцию секре-

ции гонадотропных гормонов в существенной степени вовлечены моноаминергические системы ЦНС. Экспериментально доказаны присутствие норадреналина (НА) и дофамина (ДА) в гипоталамусе и наличие тесных контактов между моноаминергическими нейронами упомянутых систем и люлиберинпродуцирующими нейронами гипоталамуса [1–6].

Учитывая важную роль различных нейромедиаторов в регуляции циклической и тонической секреции гонадотропных гормонов, вполне понятен неослабевающий интерес исследователей к роли биогенных аминов в регуляции овариального цикла и его расстройствах центрального генеза, врожденных расстройствах полового развития и других видах патологии репродуктивной системы, которые часто приводят к бесплодию.

### МЕТОДИКА

В опытах использовали самок нелинейных белых крыс ( $n = 10$  в каждой экспериментальной группе, масса тела 250–300 г). Животных содержали в

<sup>1</sup> Центр экспериментальной биомедицины им. И. С. Бериташвили, Тбилиси (Грузия).

<sup>2</sup> Тбилисский государственный университет (Грузия).

Эл. почта: nata\_buk@yahoo.com (Н. Г. Букия);

marina\_butskhrikidze@yahoo.com (М. П. Буцхрикидзе);

milita777@yahoo.com (М. Дж. Сванидзе).

стандартных условиях вивария. Под эфирным наркозом проводили двустороннюю овариоэктомию. Через 25–30 дней после операции крысам вводили 15 мкг эстрадиола бензоата (подкожно, инъекция в 10.00), а через двое суток – 5 мг прогестерона (также подкожно в 10.00). Инъекция последнего приводила к формированию вызванной волны уровня гонадотропинов. Животных декапитировали через 1, 4 и 8 ч после введения прогестерона.

Животным трех экспериментальных групп через 3 ч после инъекции прогестерона вводили блокатор  $\alpha$ -адренорецепторов общего действия фентоламин (5 мг в 0.5 мл физиологического раствора – ФР, внутривенно), блокатор постсинаптических  $\alpha$ -адренорецепторов празозин (10 мкг в 0.5 мл ФР, внутривенно) или агонист рецепторов ДА апоморфин (1.25 мг в 0.5 мл ФР, внутривенно). В двух других группах на фоне действия введенного фентоламина или празозина крысам инъекцировали в пределах того же временного интервала агонист  $\alpha$ -адренорецепторов мезатон или апоморфин (2 мг в 0.2 мл ФР).

В тот же день животных в 18.00 декапитировали, быстро извлекали мозг и изготавливали его фронтальные срезы на замораживающем микротоме. Из срезов толщиной 300 мкм путем микропункции извлекали исследуемые структуры – медиопреоптическую область (МПО) гипоталамуса, аркуатное ядро (АЯ) и срединное возвышение (СВ). Содержание люлиберина в данных структурах определяли с использованием радиоиммунологической методики. Кровь животных собирали для получения сыворотки, в которой определяли концентрацию лютеинизирующего и фолликулстимулирующего гормонов (ЛГ и ФСГ соответственно) также с помощью радиоиммунологических методик.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

После введения прогестерона овариоэктомированным крысам уровень гонадотропинов в крови у них существенно возрастал, достигая максимальных величин к 18.00. Параллельно содержание люлиберина в МПО снижалось. В других исследуемых областях самое высокое содержание люлиберина по сравнению с таковым в утренний и вечерний периоды отмечалось в дневные часы. Затем в вечерние часы концентрация люлиберина во всех исследуемых областях мозга снижалась (табл. 1).

Можно предположить, что в начальный период

действия половых гормонов высвобождение гонадотропинов модулируется по принципу положительной обратной связи. На уровне гипоталамических структур идет процесс накопления люлиберина в медиобазальном гипоталамусе, содержание этого гормона в МПО снижается, а в области АЯ–СВ – повышается. Затем во время массивного выделения гонадотропинов в кровь усиливается секреция люлиберина в сосуды портальной системы, в связи с чем содержание люлиберина в преоптико-тубероинфундибулярном тракте снижается (табл. 2).

Пытаясь выяснить роль катехоламинергических систем в опосредовании изменений содержания люлиберина, мы использовали антагонист  $\alpha$ -адренорецепторов общего действия фентоламин. Если фентоламин вводили в 13.00, а животных декапитировали через 1 ч, то наблюдались достоверное снижение содержания люлиберина в области АЯ ( $P < 0.05$ ) и тенденция к снижению его уровня в МПО. В СВ каких-либо изменений не выявлялось. Уровень гонадотропинов в крови также мало отличался от контрольного. Блокирующий эффект фентоламина становился более выраженным через 5 ч после его введения. Введение данного агента блокировало волну повышения уровня ЛГ ( $P < 0.05$ ) и незначительно снижало уровень ФСГ по сравнению с контролем. При этом содержание люлиберина в 18.00 увеличивалось в МПО и не изменялось в области АЯ–СВ.

Другой  $\alpha$ -адренорецептор празозин, в отличие от фентоламина, оказывал более значительное влияние на содержание люлиберина через 1 ч после введения. При этом содержание люлиберина снижалось в МПО и области АЯ ( $P < 0.05$  и  $P < 0.01$  соответственно). В СВ наблюдалась тенденция к увеличению содержания данного гормона. Уровень гонадотропинов в крови экспериментальных крыс не отличался от контрольных значений. Через 5 ч после введения празозина прослеживалась тенденция к увеличению содержания люлиберина в МПО и СВ. В этом эксперименте празозин тормозил повышение уровня ЛГ и ФСГ по сравнению с тем, что наблюдалось в контроле. Более выраженное блокирующее действие празозина на секрецию гонадотропинов можно объяснить тем, что тормозное влияние празозина на постсинаптические рецепторы в 10–13 раз сильнее влияния фентоламина.

Таким образом, можно сделать вывод, что катехоламинергические системы оказывают существенное стимулирующее действие на секрецию гонадотропинов. Этот эффект реализуется через активацию

**Т а б л и ц а 1. Изменения содержания люлиберина в медиопреоптической области (МПО), аркуатных ядрах (АЯ) и срединном возвышении (СВ) у овариоэктомированных крыс под влиянием тестированных фармакологических агентов**

**Т а б л и ц я 1. Зміни вмісту люліберину в медіопреоптичній ділянці, аркуатних ядрах і срединному підвищенні в оваріоектомованих щурів під впливом тестованих фармакологічних агентів**

Группы животных	Утренний период (11.00)			Дневной период (14.00)			Вечерний период (18.00)		
	исследуемые области								
	МПО	АЯ	СВ	МПО	АЯ	СВ	МПО	АЯ	СВ
Контроль	10.79±0.8	3.4±0.28	30.0±0.16	8.8±0.96	19.8±5.7	38.4±4.48	5.5±0.86	4.8±0.48	22.4±2.1
Празозин (13.00)	–	–	–	6.47±0.24*	2.38±0.5**	74.8±10.2	8.8±1.69	4.4±0.9	26.4±5.6
Фентоламин (13.00)	–	–	–	5.6±1.6	10.5±2.8*	0.8±3.12	17.6±3.08**	5.3±0.5	27.4±5.2
Парлодел (13.00)	–	–	–	–	–	–	10.5±1.21**	2.96±0.56*	25.5±0.8
Апоморфин (13.00)	–	–	–	–	–	–	11.7±2.48*	3.81±0.53	22.0±3.6
Фентоламин (13.00)+ мезатон (15.00)	–	–	–	–	–	–	3.2±0.8	1.09±1.5*	4.12±0.58
Фентоламин (13.00)+ апоморфин (15.00)	–	–	–	–	–	–	9.1±1.9	4.08±0.4**	16.0±8.08**
Празозин (13.00)+ апоморфин (15.00)	–	–	–	–	–	–	5.2±1.47	2.02±0.46	17.36±0.88

Пр и м е ч а н и е. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  по сравнению с контролем.

постсинаптических  $\alpha$ -адренорецепторов, расположенных на клеточных телах люлиберинпродуцирующих нейронов гипоталамуса и их окончаний. Немалую роль в данном процессе играют гонадальные стероиды, которые способствуют аккумуляции люлиберина в области АЯ–СВ.

Можно предположить, что блокирование  $\alpha$ -адренорецепторов тормозит транспорт люлиберина из передних отделов гипоталамуса в СВ. В результате этого уменьшается секреция нейрогормона в портальную кровь, что приводит к блокированию волны гонадотропинов.

Таким образом, катехоламины участвуют в контроле уровней люлиберина, влияя на скорость транспорта данного нейрогормона и на скорость его высвобождения в сосуды портальной системы. Увеличение концентрации люлиберина в преоптической области, снижение его содержания в АЯ и увеличение в СВ происходили во всех случаях, когда наблюдалось торможение секреции гонадотропинов при блокировании катехоламинергических систем мозга. И наоборот, восстановление норадренергической активности способствовало нормализации

секреции гонадотропинов, а в исследованных областях гипоталамуса отмечалось достоверное снижение уровня рассматриваемого люлиберина. Данное обстоятельство, по нашему мнению, отражает процессы ускорения транспорта и высвобождения указанного нейрогормона в портальную кровеносную систему.

Для выяснения вопроса, выключение какой именно системы – НА- или ДА-эргической – приводит к блокированию вызванной волны гонадотропинов, мы попытались восстановить волну уровня гонадотропинов после ее блокирования путем введения животным агониста ДА-эргических рецепторов апоморфина или агониста  $\alpha$ -адренорецепторов мезатона.

Введение мезатона в 15.00 на фоне предварительного введения фентоламина (в 13.00) полностью восстанавливало волну гонадотропинов и способствовало снижению содержания люлиберина во всех исследуемых областях мозга по сравнению с таковым в контроле. Этот результат доказывает, что активация НА-эргической системы необходима для полного восстановления волны уровня гонадотропинов.

**Т а б л и ц а 2. Изменения содержания лютеинизирующего (ЛГ) и фолликулостимулирующего (ФСГ) гормонов в плазме крови у овариоэктомированных крыс под влиянием фармакологических агентов****Т а б л и ц я 2. Зміни вмісту лютетінізуючого та фолікулостимулюючого гормонів у плазмі крові в оваріоектомованих щурів під впливом фармакологічних агентів**

Группы животных	Утренний период (11.00)		Дневной период (14.00)		Вечерний период (18.00)	
	половые гормоны					
	ЛГ	ФСГ	ЛГ	ФСГ	ЛГ	ФСГ
Контроль	152.1±27.8	198.5±41.5	308.9±88.9	606.6±86.2	1228.0±104.8	993.1±66.0
Празозин (13.00)	—	—	397.4±68.6	752±63.5	583.7±85.2**	731.0±87.4**
Фентоламин (13.00)	—	—	225,3±52.1	407.4±57.9	439.2±56.5*	832.9±87.2
Парлодел (13.00)	—	—	364.7±11.4	592.2±13.6	802.7±28.58*	1080.2±91.1
Апоморфин (13.00)	—	—	294.3±24.2	425.0±84.7	822.7±88.5*	1249,0±148.9
Фентоламин (13.00) + мезатон (15.00)	—	—	—	—	1205±189.2	1429.5±261.9
Фентоламин (13.00)+ апоморфин (15.00)	—	—	—	—	807±89.7*	915.7±28.4
Празозин (13.00)+ апоморфин (15.00)	—	—	—	—	428.0±80.9**	835.0±87.0

Пр и м е ч а н и е. Остальные обозначения те же, что и в табл. 1.

Введение апоморфина на фоне действия фентоламина приводило к увеличению уровня ЛГ в 18.00 ( $P < 0.05$ ). Однако амплитуда волны уровня данного гормона при этом была почти в два раза ниже таковой в контроле. Более выраженное стимулирующее влияние апоморфина оказывал на уровень ФСГ. При этом содержание люлиберина в МПО и СВ снижалось ( $P < 0.05$ ).

Введение апоморфина на фоне действия другого адrenoблокатора (празозина) лишь незначительно изменяло содержание люлиберина в отдельных ядрах гипоталамуса. Однако содержание ФСГ в крови резко повышалось по сравнению с соответствующим показателем у крыс, которым вводили празозин. Изолированное введение агонистов ДА-эргических рецепторов парлодела или апоморфина вызывало снижение уровня ЛГ и, наоборот, увеличение уровня ФСГ по сравнению с контрольным значением.

Таким образом, ДА-эргическая система ЦНС играет более значимую роль в регуляции секреции ФСГ, тогда как для развития волны ЛГ стимулирующее влияние этой системы на люлиберинпроду-

цирующие нейроны гипоталамуса недостаточно. Возможно, в регуляцию секреции ФСГ, помимо люлиберина, включаются и другие регуляторные факторы, хотя их природа до настоящего времени остается невыясненной.

Это заключение еще раз подтверждается результатами опытов, в которых введение парлодела или апоморфина – агонистов ДА-эргических рецепторов – способствовало увеличению амплитуды волны ФСГ (табл. 2). Одновременно происходило снижение амплитуды вечернего подъема уровня ЛГ. Уровень люлиберина при введении парлодела и апоморфина к 18.00 в МПО увеличивался, а в СВ почти не отличался от контроля. Повышение содержания люлиберина в МПО можно объяснить увеличением продукции этого нейрогормона в сомах клеток данной области и стимуляцией высвобождения указанного либерина на уровне СВ. Во всех случаях активация ДА-эргической системы вызывала повышение или восстановление уровня ФСГ. Однако для инициации волны ЛГ симулирующего влияния ДА на высвобождение люлиберина из клеток СВ было недостаточно. По-видимому, для этого не-

обходими як мобілізація указанного гормону не-  
посередньо в СВ, так і активація всіх звеньев  
системи, зв'язаних з продукцією данного нейро-  
гормона.

В заключенні зауважимо, що діяльність катехо-  
ламинов в період розвитку овуляторного вибуха  
гонадотропінів не обмежується активацією ви-  
свобождения люліберину з терміналей на рівні  
СВ. Воно являється необхідним умовою посилення  
цього процесу во всіх продуцируючих клітках гі-  
поталамуса. Роль катехоламінергічних систем  
мозгу в регуляції высвобождения ЛГ і ФСГ різ-  
лична – домінуюча роль в регуляції секреції  
ЛГ належить НА, а для контролю секреції ФСГ  
більш важливе значення має ДА.

Все стадії нинішньої роботи відповідають по-  
ложенням Європейської Конвенції о захисті живих тварин,  
используемых для исследовательских и иных научных це-  
лей (86/609/ЕЕС, 1986, Страсбург), и нормативам Коміте-  
тов по етике Центра экспериментальной биомедицины им.  
И. С. Бериташвили и Тбилисского государственного уни-  
верситета.

Автори даної статті – Н. Г. Букия, М. П. Буцхрикидзе  
и М. Дж. Сванидзе – підтверджують відсутність конфліктів  
любого роду, касаючихся комерційних или фінансових  
отношений, отношений с організаціями или лицами,  
которые каким-либо образом могли бытть связаны с иссле-  
дованием, и взаимоотношений соавторов работы.

Н. Г. Букия<sup>1</sup>, М. П. Буцхрикидзе<sup>1</sup>, М. Дж. Сванидзе<sup>2</sup>

#### КАТЕХОЛАМІНЕРГІЧНА РЕГУЛЯЦІЯ ПРОДУКЦІЇ ГОНАДОТРОПІНІВ У САМИЦЬ ЩУРІВ

<sup>1</sup> Центр експериментальної біомедицини  
ім. І. С. Беріташвілі, Тбілісі (Грузія).

<sup>2</sup> Тбіліський державний університет (Грузія).

#### Резюме

Участь моноамінергічних систем ЦНС у регуляції гонадо-  
тропної функції гіпофіза в наш час не викликає сумнівів.

Питання ж про те, чи впливають катехоламіни лише на ви-  
вільнення люліберину нейронами середнього підвищення  
(СП) або ж ці агенти паралельно діють на інші структури  
преоптико-тубероінфундибулярної люліберинпродукуючої  
системи, лишається відкритим. В експериментах із реєстра-  
цією викликаного хвилі рівня гонадотропінів у оваріоектомо-  
ваних щурів, які отримували статеві стероїди, ми вивчали  
вплив низькі агоністів та антагоністів катехоламінів на вміст  
люліберину в медіопреоптичній ділянці (МПД), аркуатних  
ядрах (АЯ) та СП гіпоталамуса, а також рівні лютеїнізуючо-  
го і фолікулостимулюючого гормонів (ЛГ і ФСГ відповідно)  
в крові. Встановлені принципово важливі відмінності моду-  
ляції викликаного підвищення (хвилі) рівня гонадотропінів  
гіпофіза під впливом фармакологічних агентів – агоністів  
та антагоністів дії катехоламінів. Домінуюча роль у кон-  
тролі циклічного вивільнення ЛГ належить норадренергіч-  
ним впливам на преоптичну ділянку, в той час як викид  
ФСГ регулюється впливами дофамінергічної системи.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. P. Atkinson, J. Koch, D. Susic, and W. L. Ledger, "GnRH agonist triggers and their use in assisted reproductive technology: the past, the present and the future," *Women's Health*, **10**, No. 3, 267-276 (2014).
2. J. M. Guzmán, R. Cal, A. García-López, et al., "Effects of *in vivo* treatment with the dopamine antagonist pimozide and gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRHa) on the reproductive axis of Senegalese sole (*Solea senegalensis*)," *Comp. Biochem. Physiol. Mol. Integr. Physiol.*, **158**, No. 2, 235-245 (2011).
3. A. N. Hirshfield and L. V. De Paolo, "Effect of suppression of the surge of follicle-stimulating hormone with porcine follicular fluid on follicular development in the rat," *J. Endocrinol.*, **88**, No. 1, 67-71 (1981).
4. A. Maheshwari, A. Gibreel, C. S. Siristatidis, and S. Bhattacharya, "Gonadotrophin-releasing hormone agonist protocols for pituitary suppression in assisted reproduction," *Cochrane Database Syst. Rev.*, **10**, No. 8, CD006919 (2011).
5. A. C. van Loenen, J. A. Huirne, R. Schats, et al., "GnRH agonists, antagonists, and assisted conception," *Semin. Reprod. Med.*, **20**, No. 4, 349-364 (2002).
6. A. T. Viveiros, A. C. Gonçalves, I. M. Di Chiacchio, et al., "Gamete quality of streaked prochilod *Prochilodus lineatus* (Characiformes) after GnRHa and dopamine antagonist treatment," *Zygote*, **18**, 1-10 (2013).