
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ МОДЕЛЕЙ СИНДРОМА ПОЛИКИСТОЗНЫХ
ЯИЧНИКОВ, ИНДУЦИРОВАННЫХ ДЕГИДРОЭПИАНДРОСТЕРОНОМ,
У НЕПОЛОВОЗРЕЛЫХ И ПРЕПУБЕРТАТНЫХ САМОК КРЫС

© 2025 г. А. С. Печальнова¹, К. В. Деркач^{1,*}, И. Ю. Морина¹, И. И. Зорина¹,
Л. В. Баюнова¹, И. В. Романова¹, Е. Е. Черненко¹, А. О. Шпаков¹

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,

Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: derkatch_k@list.ru

Поступила в редакцию 12.10.2025 г.

После доработки 16.10.2025 г.

Принята к публикации 17.10.2025 г.

Синдром поликистозных яичников (СПКЯ) – одно из наиболее распространенных эндокринных расстройств у женщин, приводит к снижению репродуктивного потенциала и бесплодию. Для его изучения применяют модели на грызунах, в том числе индуцированные дегидроэпиандростероном (ДГЭА). Однако они недостаточно изучены, в том числе в плане стимуляции овуляции у СПКЯ-крыс агонистами лютеинизирующего гормона, и это затрудняет их применение для разработки подходов для лечения СПКЯ. Цель работы состояла в сравнительном изучении и характеристике морфологических и биохимических показателей у животных с двумя наиболее часто применяемыми моделями СПКЯ, индуцированными шестинедельной обработкой неполовозрелых (23–25 дней) и трехнедельной обработкой препубертатных (45–47 дней) самок крыс с помощью ДГЭА, а также в оценке эффективности стимуляции овуляции у СПКЯ-крыс с помощью ТР03, разработанного нами низкомолекулярного агониста рецептора лютеинизирующего гормона. Шестинедельная обработка ДГЭА неполовозрелых самок крыс приводила к развитию морфологии поликистозных яичников, снижению уровня прогестерона в крови и экспрессии овариальных генов, кодирующих ключевые стероидогенные белки (CYP11A1, CYP17A1) и металлопротеиназу ADAMTS-1, маркера овуляции. Обработка ТР03 повышала уровень прогестерона, усиливала экспрессию генов *Cyp11a1*, *Cyp17a1* и *Adamts-1* и приводила к образованию желтых тел, но значительная часть из них была представлена лютеинизированными неразорвавшимися фолликулами. Трехнедельная обработка ДГЭА препубертатных самок также приводила к характерным чертам СПКЯ, но в меньшей степени влияла на экспрессию гена *Adamts-1* и не вызывала образования дефектных желтых тел при стимуляции ТР03. В этом случае среди СПКЯ-крыс были идентифицированы две подгруппы – с относительно низким и высоким уровнем прогестерона. Они существенно различались по экспрессии гена *Cyp17a1* и по эффективности образования желтых тел нового цикла после обработки ТР03. Таким образом, более длительная модель СПКЯ, индуцируемая ДГЭА у неполовозрелых самок крыс, хорошо подходит для изучения функциональных нарушений при тяжелых формах СПКЯ, в то время как модель СПКЯ, генерируемая у препубертатных крыс трехнедельной обработкой ДГЭА, более пригодна для изучения умеренно выраженных форм СПКЯ и оптимизации выбора стимуляторов овуляции, эффективных при этом заболевании.

Ключевые слова: синдром поликистозных яичников, дегидроэпиандростерон, крыса, овариальный стероидогенез, аллостерический агонист, прогестерон, желтое тело

DOI: 10.7868/S2658655X25120078

ВВЕДЕНИЕ

Синдром поликистозных яичников (СПКЯ) является одним из наиболее широко распространенных эндокринных расстройств у женщин, развиваясь обычно в пре- и пубертатном периодах [1]. Его распространенность варьирует в зависимости от изучаемой популяции, возрастного состава и этнических особенностей, затрагивая в среднем от 10 до 13% женщин, что составляет более 140 миллионов пациенток с СПКЯ в мире [2, 3]. Морфологические признаки поликистозных яичников выявляются у гораздо большего числа женщин – в среднем у 22% [4]. В соответствии с Международными критериями доказательной медицины (International Evidence-based Guideline Criteria) СПКЯ диагностируется на основании как минимум двух признаков – дисфункции яичников, клинической или биохимической гиперандrogenии и/или морфологии мультифолликулярных яичников [5–7]. Ведущим фактором в этиологии и патогенезе СПКЯ является гиперандrogenия, которая встречается в среднем у 75% женщин с СПКЯ [8–12]. Имеются данные геномного анализа, демонстрирующие тесную взаимосвязь между риском развития СПКЯ с экспрессией и полиморфизмами генов, ответственных за стимуляцию продукции андрогенов [13].

Для изучения СПКЯ обычно используют модели на грызунах, причем наиболее релевантными являются те из них, которые обусловлены негативным влиянием избытка андрогенов (гиперандrogenии) на функции яичников у животных различного возраста, в том числе в пренатальный период развития. Для индукции СПКЯ самок грызунов обрабатывают андрогенами – тестостероном, дегидротестостероном или дегидроэпандростероном (ДГЭА), а также ингибитором ароматазы летrozолом, вызывающим накопление андрогенов в организме вследствие подавления их конверсии в эстрогены [14, 15]. Одной из наиболее часто используемых является модель СПКЯ, индуцированная ДГЭА, андрогеном адренокортикального происхождения. ДГЭА превращается в андростендион с помощью 3 β -гидроксистероиддегидрогеназы (3 β -HSD) и в тестостерон с помощью 17 β -гидроксистероиддегидрогеназы (17 β -HSD), результатом чего является повышение уровня андрогенов в крови [14]. Помимо гиперандrogenии длительная обработка ДГЭА приводит к формированию морфологии поликистозных яичников, нарушению овуляции, дисфункциям в созревании фолликулов, ряду метаболических и гормональных нарушений [16].

Несмотря на большое число работ, описывающих ДГЭА-индуцированные модели СПКЯ на грызунах, они недостаточно охарактеризованы и валидированы. Отсутствуют исследования, включающие комплексный анализ таких показателей, как стадия эстрального цикла, морфология яичников, содержание гормонов и метаболитов в крови, экспрессия овариальных генов. У грызунов с ДГЭА-моделями СПКЯ, как правило, не развивается резистентность к инсулину, что отличает их от СПКЯ у человека [17]. Нет данных по сравнительному анализу моделей, которые начинают индуцировать на различных стадиях полового созревания и имеющие различную продолжительность обработки ДГЭА. При моделировании СПКЯ у самок крыс с помощью ДГЭА большинство авторов предпочитают использовать неполовозрелых самок крыс, что облегчает индукцию СПКЯ и его мониторинг, но по этиологии и патогенезу такая “ранняя” модель существенно отличается от СПКЯ у человека [17–21]. Ряд авторов для индукции ДГЭА-модели используют препубертатных и половозрелых самок крыс, и такие модели имеют ряд преимуществ перед “ранней” моделью, но более сложны в плане стандартизации процедур и оценки морфофункциональных и гормональных характеристик [22, 23]. Сведения о влиянии гонадотропинов и низкомолекулярных агонистов рецептора лутеинизирующего гормона (ЛГ) на гормональные показатели, экспрессию овариальных генов и образование желтых тел (ЖТ) у самок крыс с ДГЭА-индуцированным СПКЯ отсутствуют. Имеется лишь одна работа о стимулирующем влиянии агониста гонадолиберина на овуляцию у мышей с ДГЭА-моделью СПКЯ [24]. Все это

не позволяет оценить эффективность этих стимуляторов овуляции у таких животных и затрудняет разработку и оптимизацию фармакологических подходов для контролируемой индукции овуляции при СПКЯ.

В соответствии с вышеизложенным, целью работы было в сравнительном аспекте исследовать и охарактеризовать по морфологическим и биохимическим показателям две модели СПКЯ, индуцированные шестинедельной обработкой неполовозрелых (возраст 23–25 дней) и трехнедельной обработкой препубертатных (возраст 45–47 дней) самок крыс с помощью ДГЭА, а также оценить влияние на них стимуляции ТР03. Выбор продолжительности обработки в каждом случае обусловлен наиболее часто применяемыми подходами для ДГЭА-индуцированного СПКЯ у крыс. Выбор ТР03 обусловлен тем, что этот аллостерический агонист рецептора ЛГ, как и его структурный гомолог ТР4/2, с высокой эффективностью стимулирует овариальный стероидогенез и овуляцию у здоровых самок крыс [25–27]. В этом отношении он не уступает хорионическому гонадотропину человека (ХГЧ) и другому аллостерическому агонисту – соединению Org43553, созданному голландскими учеными [28]. Проведенное исследование необходимо как для обоснованного выбора ДГЭА-индуцированных моделей СПКЯ, релевантных в отношении изучения патогенетических характеристик этого заболевания и поиска оптимальных путей его фармакотерапии, так и для оценки потенциальной гетерогенности животных с развивающимся СПКЯ.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В экспериментах использовали неполовозрелых и препубертатных самок крыс линии Wistar, возраст которых в начале эксперимента составлял соответственно 23–25 и 45–47 дней.

Препарат “Фоллимаг” с удельной активностью 1000 МЕ/флакон, представляющий собой выделенный из сыворотки крови жеребых кобыл гонадотропин с подобной фолликулостимулирующему гормону активностью, был получен из фирмы “Мосагроген” (Москва, Россия). ТР03, 5-амино-*N*-*трет*-бутил-2-(метилсульфанил)-4-(3-(никотинамидо)фенил)тиено[2,3-*d*]-пиримидин-6-карбоксамид, наделенный активностью аллостерического агониста рецептора ЛГ, был синтезирован, очищен и охарактеризован по физико-химическим показателям, как описано ранее [29]. Цетрореликс, антагонист гонадолиберина, был получен от фирмы “Macklin” (КНР), ДГЭА – от фирмы “ACMEC Biochemical Co. Ltd.” (КНР). Другие реагенты, использованные в работе, были получены от фирмы “Sigma-Aldrich” (США). Концентрацию овариальных стероидных гормонов, прогестерона и эстрадиола, оценивали с помощью наборов “Прогестерон-ИФА” и “Эстрадиол-ИФА” фирмы “ХЕМА” (Россия).

Для индукции СПКЯ у неполовозрелых самок крыс (возраст 23–25 дней) животным в течение 6 недель п/к вводили ДГЭА в суточной дозе 6 мг/100 г массы тела в виде раствора в кунжутном масле (в объеме 200 мкл). Контрольным животным вместо ДГЭА в том же объеме и в те же сроки вводили кунжутное масло. В течение 5-й и 6-й недель оценивали стадию эстрального цикла, а уровни прогестерона и эстрадиола первоначально измеряли в середине 6-й недели. Животных, которые находились длительное время (по результатам мониторинга стадий эстрального цикла) в фазе 1 диэструса (d1) и имели сниженный (не менее чем на 30% от среднего уровня в контроле) уровень прогестерона в крови, рассматривали как крыс с развивающимся СПКЯ. Их случайным образом делили на две группы. Первой из них вводили сначала Фоллимаг (15 МЕ/крысу, п/к) для стимуляции поздних стадий фолликулогенеза, а через 48 ч ТР03 (25 мг/кг массы тела, в/б, раствор в 200 мкл диметилсульфоксида (ДМСО)) для индукции овуляции. Второй группе, как и контрольным животным, в тех же объемах и в те же сроки вводили растворители препаратов. Через 16 ч после введения ТР03

или ДМСО животных декапитировали под наркозом (хлоралгидрат, 400 мг/кг), забирали образцы крови для анализа гормонов и яичники для морфологического анализа и оценки экспрессии генов цитохромов CYP11A1 и CYP17A1, ферментов овариального стероидогенеза, и гена *Adams-l* как маркера овуляции. Контрольных крыс декапитировали в стадии d1. Таким образом формировали следующие группы – контроль (C1, n = 6), животные с ДГЭА-индуцированным СПКЯ, без обработки TP03 (PCOS1, n = 6) и с таковой (PCOS1+TP03, n = 6).

Для индукции СПКЯ у препубертатных самок крыс (возраст 45–47 дней) ДГЭА вводили в той же дозе и в том же режиме, что и неполовозрелым животным, но в течение 3 недель. Контрольным животным того же возраста вместо ДГЭА вводили кунжутное масло. В конце 3-й недели у животных оценивали уровни прогестерона и эстрадиола. На 2-й и 3-й неделе после обработки ДГЭА у самок крыс брали вагинальные мазки для оценки фаз эстрального цикла. Животных, которые имели нарушенный эстральный цикл (отсутствие фазы эструс, преобладание фазы d1, переход из фазы d2/проэструс или проэструса сразу в фазу d1) и находились преимущественно в фазе d1, рассматривали как крыс с СПКЯ, что соответствует критериям, представленным в работе [30]. Крыс с верифицированным СПКЯ случайным образом делили на 2 группы. Одной группе вводили Фоллимаг (15 МЕ/крысу, п/к) и дважды с перерывом в 24 ч цетрореликс, антагонист гонадолиберина (100 мкг/крысу, п/к, первый раз одновременно с Фоллимагом). Через 48 ч после обработки Фоллимагом животных стимулировали TP03 (25 мг/кг, в/б). Дозы препаратов выбирали как на основе наших данных по индукции овуляции у здоровых самок крыс [25–27], так и пилотных экспериментов по стимуляции овариального стероидогенеза и овуляции у животных с СПКЯ. Вторая группа СПКЯ-крыс, как и контрольные животные, вместо препаратов получала только их растворители. Таким образом формировали 3 группы – контроль (C2, n = 6), животные с ДГЭА-индуцированным СПКЯ без стимуляции TP03 (PCOS2, n = 8) и со стимуляцией TP03 (PCOS+TP03, n = 6).

Определение фазы эстрального цикла у самок крыс осуществляли путем микроскопического изучения вагинального мазка, по стандартной методике [31, 32]. Для этого ежедневно в 11:00 у животных забирали мазки, для чего переднюю часть тела фиксировали и, поднимая крысу за хвост, осматривали преддверие влагалища. Ватный тампон, смоченный в физиологическом растворе, вводили во влагалище и несколько раз проворачивали. Мазок переносили с тампона на предметное стекло и высушивали на воздухе. Стадии эстрального цикла определяли по соотношению ядроодержащих эпителиоцитов, безъядерных ороговевших эпителиоцитов и лейкоцитов.

Морфологический анализ яичников осуществляли, как описано ранее [26], для чего образцы яичников сначала фиксировали (48 ч, 4 °C) в 4%-ном растворе паро-формальдегида в Na-фосфатном буфере (20 mM, pH 7.4, 0.9%-ный раствор NaCl), затем после промывки тем же буфером для криопротекции помещали в 30%-ный раствор сахарозы (4 °C) и далее замораживали на сухом льду, используя среду Tissue-Tek® (“Sacura, Finetek Europe”, Голландия). Продольные срезы толщиной 10 мкм получали с помощью криостата Leica CM-1520 (“Leica Microsystems”, Германия), и каждый четвертый срез в серии монтировали на предметное стекло Super-Frost (“Menzel”, Берлин, Германия). После промывки фосфатным буфером и обработки 50%-ным этанолом (3 мин) срезы окрашивали гематоксилином и эозином, после чего срезы заключали под покровное стекло с помощью глицерина. Анализ срезов проводили, используя микроскоп Carl Zeiss Imager A1 (“Carl Zeiss”, Германия) и программное обеспечение Zen 3.4. На срезах подсчитывали число третичных и предовуляторных фолликулов, ЖТ и фолликулярных кист. Для получения иллюстраций стекла со срезами сканировали с помощью сканнера CanoScan 8800F (“Canon”, Япония) и обрабатывали с помощью программы Photoshop CS6.

Для оценки экспрессии генов из яичников с помощью реагента ExtractRNA (“Евроген”, Россия) выделяли суммарную РНК, затем проводили обратную транскрипцию с помощью набора MMLV RT Kit (“Евроген”, Россия) для получения кДНК. Полуколичественную RT-ПЦР проводили с использованием амплификатора Applied Biosystems® 7500 Real-Time PCR System (“Life Technologies, Thermo Fisher Scientific Inc.”, США) в смеси, которая содержала 0.4 мкМ прямого и обратного праймера, используя набор qPCRmix-HS SYBR+Low ROX (“Евроген”, Россия). В работе использовали следующие праймеры: для гена *Cyp11a1* – TATTCCGCTT-GCCTTGAG (For) и CACGATCTCCTCCAACATCC (Rev), для гена *Cyp17a1* – CATCCCCACAAGGCTAAC (For) и TGTGTCCTGGGGACAGTAAA (Rev), для гена *Adams-1* – CTGCTGCCCTCAGGTGTAAA (For) и TGAGTGGACTAAAGCTGG (Rev). В качестве референсных использовали гены актина В (*Actb*) и 18S рРНК. Для расчета использовали метод дельта-дельта C_t , представляя данные как кратность экспрессии гена по отношению к его экспрессии в контроле, используя программное обеспечение 7500 Software v2.0.6 и Expression Suite Software v1.0.3 (США).

Статистический анализ данных осуществляли с помощью программы IBM SPSS Statistics 26 (“IBM”, США). Нормальность распределения проверяли критерием Колмогорова–Смирнова, равенство дисперсий с помощью критерия Левена. В случае сравнения трех групп при условии нормального распределения применяли однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA), представляя как $Mean \pm SEM$. Попарное сравнение проводили с использованием *t*-критерия для двух независимых выборок. При ненормальном распределении применяли критерий Краскела–Уоллиса для нескольких независимых выборок, и далее проводили попарное сравнение с помощью U-критерия Манна–Уитни с поправкой Бонферрони. Данные непараметрического теста представляли как медиану и межквартильные интервалы (25%; 75%). Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Масса тела и уровни случайной глюкозы в крови у контрольных самок крыс и у животных с моделью СПКЯ, которую вызывали обработкой ДГЭА, начиная с возраста 23–25 дней, в том числе в СПКЯ-группе с обработкой ТР03, не различались (табл. 1). Не было найдено значимых различий в уровне эстрadiола в крови, причем как через 5½ недель после индукции СПКЯ, так и в конце эксперимента через 16 ч после введения индуктора овуляции ТР03 или его растворителя (табл. 1). В то же время уровень прогестерона в группах с СПКЯ был снижен в сравнении с контролем и после обработки ТР03 повышался при сравнении с группами С1 и PCOS1, что указывает на стимулирующее воздействие ТР03 на овариальный стероидогенез (табл. 1).

Морфологический анализ показал, что в яичниках крыс группы PCOS1 в сравнении с контролем значительно снижено число третичных фолликулов и ЖТ предыдущего цикла при сопоставимом числе предовуляторных фолликулов, а также выявляются фолликулярные кисты (табл. 2). При стимуляции ТР03 PCOS1-крысы было отмечено появление ЖТ нового цикла, хотя различий с группой PCOS1 в количестве третичных и предовуляторных фолликулов и фолликулярных кист обнаружено не было (табл. 2). При этом на фоне овуляции в группе PCOS1+TP03 было отмечено значительное число лютеинизированных неразорвавшихся фолликулов, число которых в этой группе составило 4.0 ± 0.4 . Они характеризовались большим размером и были заполнены лютеинизированными клетками по периферии, с центральным расположением яйцеклетки (рис. 1).

Масса тела и уровень случайной глюкозы в крови у самок крыс с моделью СПКЯ, которую генерировали ДГЭА с возраста 45–47 дней, как и в “ранней”, но более длительной модели, от контроля не отличались. Обработка цетрореликсом, Фоллимагом

Таблица 1. Масса тела, уровни глюкозы и содержание эстрадиола и прогестерона в крови контрольных крыс и животных с СПКЯ, индуцированным обработкой ДГЭА, начиная с возраста 23–25 дней, и влияние на эти показатели TP03

Показатель	C1	PCOS1	PCOS1+TP03
Масса тела, г	225 ± 7	207 ± 4	208 ± 10
Глюкоза, мМ	6.5 ± 0.3	7.0 ± 0.2	7.3 ± 0.2
Эстрадиол, пМ (5½)	0.38 ± 0.05	0.36 ± 0.03	0.29 ± 0.03
Эстрадиол, пМ (f)	0.44 ± 0.06	0.30 ± 0.04	0.33 ± 0.05
Прогестерон, пМ (5½)	15.84 (11.39; 27.54)	6.13 (4.54; 7.25) ^a	4.15 (3.34; 5.28) ^a
Прогестерон, пМ (f)	19.7 ± 1.7	10.5 ± 1.6 ^a	33.0 ± 3.2 ^{a, b}

“5½” – уровни гормонов определены через 5½ недель после обработки ДГЭА; “f” – уровни гормонов определены в конце эксперимента, через 6 недель обработки ДГЭА и через 16 ч после введения ДМСО или индукции овуляции с помощью TP03. Различия с группами C1 (^a) и PCOS1 (^b) статистически значимы при $p < 0.05$. Данные, имеющие нормальное распределение, представлены как $M \pm SEM$. Для уровня прогестерона через 5½ недель после обработки ДГЭА данные имели ненормальное распределение и были представлены как среднее и межквартильный интервал (25%; 75%). В каждой группе $n = 6$.

Таблица 2. Третичные и предовуляторные фолликулы и ЖТ в яичниках контрольных крыс и животных с СПКЯ, индуцированным в возрасте 23–25 дней, и влияние на них TP03

Показатель	C1	PCOS1	PCOS1+TP03
Третичные фолликулы, шт.	24.7 ± 1.4	7.7 ± 1.8 ^a	10.7 ± 2.2 ^a
Предовуляторные фолликулы, шт.	4.0 (3.0; 5.25)	4.0 (1.75; 4.25)	6.0 (1.75; 9.0)
ЖТ предыдущего цикла, шт.	8.5 ± 0.8	2.8 ± 0.5 ^a	Не определяли *
ЖТ нового цикла, шт.	Нет	Нет	2.5 ± 0.2 **
Кисты, шт.	Нет	5.0 (1.75; 7.25) ^a	4.5 (2.25; 6.25) ^a

Различия с группой C1 (^a) статистически значимы при $p < 0.05$. * – при появлении в яичниках крыс группы PCOS1+TP03 ЖТ нового цикла, образовавшиеся в предыдущем цикле ЖТ уже частично деградировали, вследствие чего указание их количества не является релевантным при сравнении этого показателя с таковыми в группах C1 и PCOS1. ** – наряду с ЖТ нового цикла в яичниках крыс группы PCOS1+TP03 идентифицированы лuteинизированные неразорвавшиеся фолликулы, представляющие собой дефектные ЖТ. Данные, имеющие нормальное распределение, представлены как $M \pm SEM$, в то время как данные, имеющие ненормальное распределение, представлены как медиана и межквартильный интервал (25%; 75%). В каждой группе $n = 6$.

и TP03 (группа PCOS2+TP03) на них значимо не влияла. Так, в группах C2, PCOS2 и PCOS2+TP03 масса тела составляла 191.3 ± 7.1 , 196.4 ± 5.7 и 205.3 ± 8.4 г, уровни глюкозы – 5.7 ± 0.2 , 6.2 ± 0.2 и 5.8 ± 0.2 мМ соответственно, и различия между группами не были значимыми ($p > 0.05$). Уровень эстрадиола был повышен у СПКЯ-крыс в сравнении с контролем (0.44 (0.37; 0.70) vs 0.24 (0.19; 0.27), $p = 0.002$), а стимуляция животных TP03 снижала его до такового в группе C2 (рис. 2а).

В случае уровней прогестерона в крови наблюдали отчетливо выраженное распределение этих значений на два кластера – с относительно высоким и низким уровнями гормона.

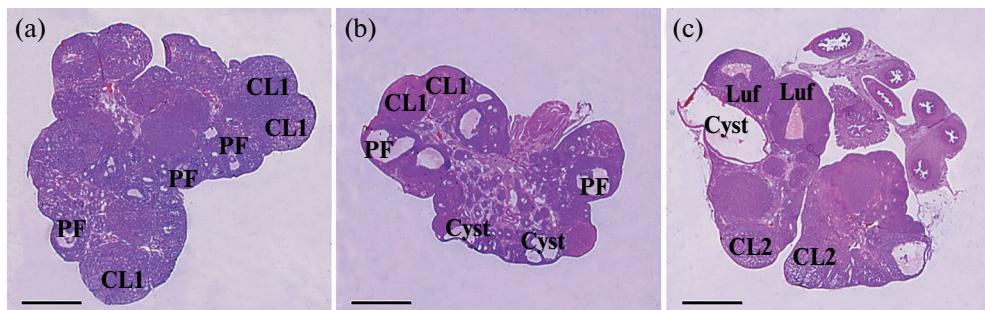


Рис. 1. Срезы яичников контрольных крыс и животных с СПКЯ, индуцированным шестинедельной обработкой ДГЭА, начиная с возраста 23–25 дней, а также у СПКЯ-крыс через 16 ч после стимуляции TP03. (а) – С1, (б) – PCOS1, (с) – PCOS1+TP03. PF – предовуляторные фолликулы, CL1 – ЖТ предыдущего цикла, CL2 – ЖТ нового цикла, появившиеся при стимуляции TP03, Luf – лuteinизированные неразорвавшиеся фолликулы, Cyst – фолликулярные кисты. Толщина срезов составляет 10 мкм, окраска гематоксилин/эозином. Масштаб изображений на всех фотографиях 1 мм.

В группе PCOS2 три крысы из восьми имели повышенный уровень прогестерона, в группе PCOS2+TP03 до обработки цетрореликсом, Фоллимагом и TP03 было по 3 животных в каждом кластере (рис. 2б). В подгруппе с высоким уровнем прогестерона ($n = 6$), объединяющей крыс из групп PCOS2 и PCOS2+TP03 до стимуляции, отмечали значимое повышение уровня гормона по сравнению с группой С2 (184 (155; 306) vs 19 (13; 24), $p = 0.004$), в то время как в подгруппе с низким уровнем прогестерона ($n = 8$), объединяющей крыс из тех же групп, различия с контролем отсутствовали (28 (12; 50) vs 19 (13; 24), $p > 0.05$). Уровень эстрадиола в обеих объединенных подгруппах, различающихся уровнем прогестерона, был выше, чем в группе С2 (0.52 ± 0.08 и 0.46 ± 0.07 vs 0.23 ± 0.02 , $p < 0.05$).

Через 16 ч после стимуляции СПКЯ-крыс уровень прогестерона был выше, чем в контроле, но не отличался от такового в группе PCOS2, что обусловлено изначально высоким уровнем гормона у части крыс с СПКЯ (рис. 2б). Следует отметить, что у двух крыс с изначально низким уровнем прогестерона после их стимуляции TP03 отмечали его повышение в 4–6 раз.

Морфологический анализ яичников крыс группы PCOS2 показал значимое снижение по сравнению с группой С2 числа третичных фолликулов и ЖТ, образовавшихся в предыдущих циклах, при отсутствии в группах С2 и PCOS2 ЖТ нового цикла и наличии в группе PCOS2 фолликулярных кист. При стимуляции СПКЯ-крыс TP03 отмечали образование ЖТ нового цикла при сохранении сниженного, по сравнению с группой С2, числа третичных фолликулов (табл. 3, рис. 3). Среди 3 животных с изначально высоким уровнем прогестерона только одна крыса имела ЖТ нового цикла, тогда как все три крысы с изначально низким уровнем прогестерона имели ЖТ нового цикла.

На заключительном этапе в яичниках оценивали экспрессию генов *Cyp11a1* и *Cyp17a1*, кодирующих цитохромы CYP11A1 и CYP17A1, вовлеченные в овариальный стероидогенез, и гена *Adamts-1*, кодирующего металлопротеиназу ADAMTS-1, маркера овуляции. Показано снижение экспрессии всех трех генов в яичниках СПКЯ-крыс с шестинедельной обработкой ДГЭА и отсутствие ее значимых изменений у крыс с СПКЯ, индуцированным в более позднем возрасте трехнедельной обработкой ДГЭА (рис. 4). Стимуляция TP03 значительно усилила экспрессию гена *Cyp17a1* у крыс в обеих моделях СПКЯ. Для гена *Cyp11a1* показано слабо выраженное повышение его экспрессии в группе PCOS1+TP03, причем этот показатель был ниже, чем в контроле (рис. 4). В случае гена *Adamts-1* в обеих моделях отмечено повышение его экспрессии по сравнению с СПКЯ-крысами без обработки, но различия с контролем выявлены только в модели с поздней индукцией заболевания (рис. 4).

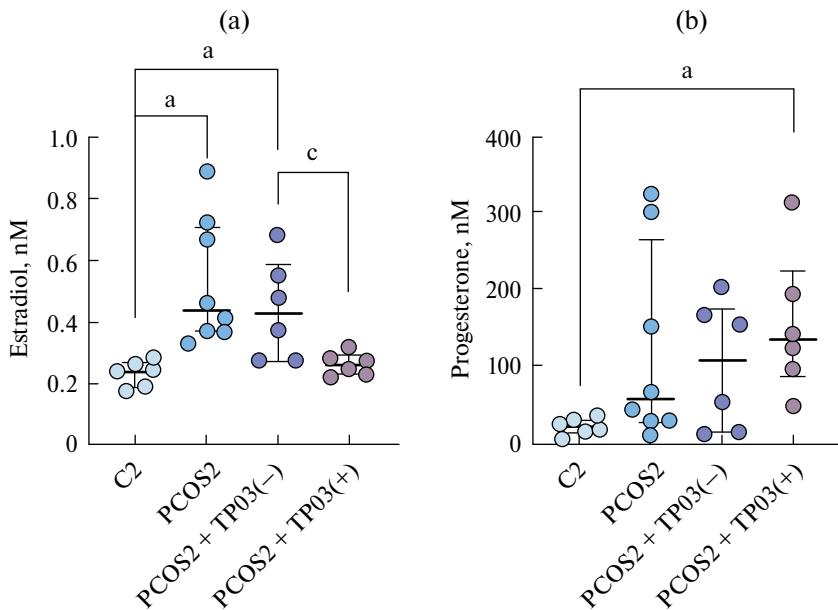


Рис. 2. Концентрации эстрадиола и прогестерона в крови контрольных самок крыс и животных с СПКЯ, индуцированным в возрасте 45–47 дней трехнедельной обработкой ДГЭА, и влияние на них TP03. Различия с группой C2 (*) статистически значимы при $p < 0.05$. Различия в группе PCOS2+TP03 (-) до и после стимуляции TP03 статистически значимы при $p < 0.05$. Данные представлены, как медиана и межквартильный интервал (25%; 75%). В группе PCOS $n = 8$, в остальных группах $n = 6$.

Таблица 3. Третичные и предовуляторные фолликулы и ЖТ в яичниках контрольных крыс и животных с СПКЯ, индуцированным в возрасте 45–47 дней, и влияние на них TP03

	C2, $n = 6$	PCOS2, $n = 8$	PCOS2+TP03, $n = 6$
Третичные фолликулы, шт.	19.0 (13.5; 24.25)	6.5 (5.25; 10) ^a	8.0 (4.0; 11.0) ^a
Предовуляторные фолликулы, шт.	3.5 ± 1.0	2.3 ± 0.8	1.5 ± 0.4
ЖТ предыдущего цикла, шт.	6.2 ± 0.7	3.5 ± 0.5^a	Не определяли
ЖТ нового цикла, шт.	Нет	Нет	1.5 ± 0.5
Кисты, шт.	Нет	4.0 (3.0; 6.5) ^a	3.5 (2.5; 4.25) ^a

Различия с группой C2 (^a) статистически значимы при $p < 0.05$. Данные представлены как $M \pm SEM$ и как медиана и межквартильный интервал (25%; 75%).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Значительная часть пациентов с СПКЯ имеет выраженную гиперандрогению, причем повышенный уровень андрогенов, в том числе в препубертатном периоде, рассматриваются как один из ключевых факторов развития СПКЯ. Вследствие этого для его моделирования на животных наиболее часто применяют длительное введение андрогенов, в том числе ДГЭА. Несмотря на широкое применение ДГЭА-индуцированных моделей для изучения СПКЯ, они по-прежнему недостаточно охарактеризованы [14, 16]. Причины считать, что наиболее подходящей для изучения СПКЯ является модель, индуцируемая обработкой ДГЭА неполовозрелых самок крыс, поскольку по срокам развития

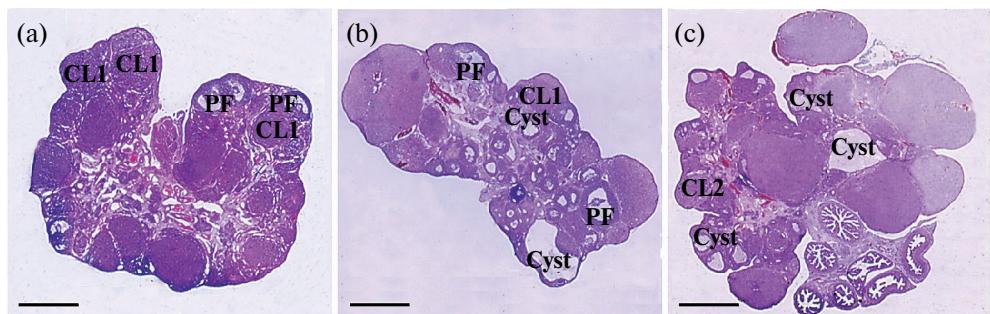


Рис. 3. Срезы яичников контрольных крыс и животных с СПКЯ, индуцированным трехнедельной обработкой ДГЭА, начиная с возраста 45–47 дней, а также у СПКЯ-крыс через 16 ч после стимуляции TP03. (а) – С2, (б) – PCOS2, (с) – PCOS2+TP03. PF – предовуляторные фолликулы, CL1 – ЖТ предыдущего цикла, CL2 – ЖТ нового цикла, появившиеся при стимуляции TP03, Cyst – фолликулярные кисты. Толщина срезов составляет 10 мкм, окраска гематоксилином/эозином. Масштаб изображений на всех фотографиях 1 мм.

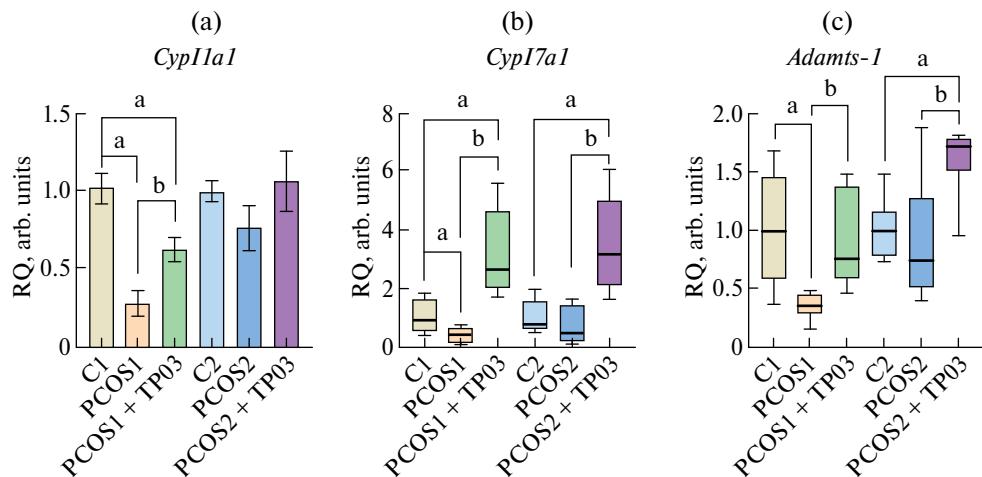


Рис. 4. Экспрессия генов *Cyp11a1*, *Cyp17a1* и *Adamts-1* в яичниках крыс с СПКЯ, вызванным шестинедельной (с возраста 23–25 дней) или трехнедельной (с возраста 45–47 дней) обработкой ДГЭА, и влияние на них TP03. Различия с контрольными (C1, C2) (*) и СПКЯ-животными без обработки (PCOS1, PCOS2) (*) статистически значимы при $p < 0.05$. Данные представлены как $M \pm SEM$ или как медиана и межквартильный интервал (25%; 75%). В группе PCOS2 $n = 8$, в остальных группах $n = 6$.

она близка СПКЯ у человека, которая обычно обусловлена негативным воздействием избытка андрогенов на яичники в препубертатный период [30]. Эта модель характеризуется достаточно выраженным функциональными нарушениями в яичниках, что позволяет использовать ее для изучения патогенетической картины тяжелых форм СПКЯ, но, с другой стороны, затрудняет ее применение для разработки и апробации подходов для лечения СПКЯ. Для этой цели в большей степени подходят более мягкие модели СПКЯ, которые генерируются менее продолжительной обработкой ДГЭА крыс в препубертатном возрасте, что и подтверждают данные, полученные в настоящем исследовании.

Нами установлено, что в яичниках крыс с СПКЯ, вызванным шестинедельной обработкой ДГЭА неполовозрелых самок крыс, в значительной степени снижалась экспрессия генов цитохромов CYP11A1 и CYP17A1. Цитохром CYP11A1 в клетках теки

яичников в ответ на стимуляцию ЛГ катализирует превращение холестерина в прогненолон [33, 34], в то время как цитохром CYP17A1 катализирует ключевые стадии овариального стероидогенеза – конверсию прогненолона в 17-ОН-прогненолон и затем в ДГЭА и конверсию прогестерона в 17-ОН-прогестерон и затем в андростендион [35]. Выявленное нами снижение экспрессии генов *Cyp11a1* и *Cyp17a1* было ассоциировано с ослаблением овариального стероидогенеза, что иллюстрируется снижением уровня прогестерона в крови крыс группы PCOS1. Мы предполагаем, что причиной снижения экспрессии *Cyp11a1* и *Cyp17a1* является длительное, на протяжении 6 недель, введение ДГЭА, одного из продуктов катализируемой CYP17A1 ферментативной реакции. Важно отметить, что у пациенток с СПКЯ отмечается тесная взаимосвязь между полиморфизмами в генах, кодирующих CYP11A1 и CYP17A1, и повышением уровня андрогенов в крови, в том числе ДГЭА, андрогена адренокортикального происхождения [34, 36, 37]. Как известно, ДГЭА является прекурсором андростендиона и тестостерона, превращаясь в андростендион с помощью 3 β -гидроксистероиддегидрогеназы (3 β -HSD) и в тестостерон с помощью 17 β -гидроксистероиддегидрогеназы (17 β -HSD) [14].

Стимуляция крыс с “ранней” моделью СПКЯ с помощью TP03, низкомолекулярного агониста рецептора ЛГ, повышала продукцию прогестерона, и это было ассоциировано с увеличением экспрессии генов *Cyp11a1* и *Cyp17a1*. Несмотря на то, что повышение экспрессии этих генов было выражено в меньшей степени, чем при стимуляции овариального стероидогенеза с помощью TP03 и TP4/2, структурного и функционального гомолога TP03, у здоровых неполовозрелых самок крыс, стимулированные обоими тиено[2,3- d]-пиrimидиновыми производными уровня прогестерона были сопоставимы [26, 27]. Это свидетельствует в пользу сохранения стероидогенного ответа яичников у крыс с “ранней” моделью СПКЯ на обработку аллостерическими агонистами рецептора ЛГ. Необходимо отметить, что TP03 и другие низкомолекулярные агонисты рецептора ЛГ проникают в трансмембранный тоннель рецептора ЛГ и взаимодействуют с локализованным там аллостерическим сайтом, который не пересекается с локализованным в эктодомене рецептора ЛГ ортоаллостерическим сайтом, с которым связываются гонадотропины [38]. Действие аллостерических агонистов является более умеренным и не приводит к синдрому гиперстимуляции яичников и резистентности яичников к эндогенному ЛГ [39], что может происходить при индуцированной препаратами ХГЧ или ЛГ контролируемой индукции овуляции у пациенток с СПКЯ [40].

У самок крыс с моделью СПКЯ, вызванной трехнедельной обработкой ДГЭА в более взрослом возрасте, существенных различий экспрессии генов *Cyp11a1* и *Cyp17a1* между группами C2 и PCOS2 обнаружено не было. При этом уровень эстрадиола в группе PCOS2 варьировал в небольшой степени, в то время как в отношении прогестерона четко выделялись две подгруппы – с относительно низким и высоким уровнями этого гормона. В первой из них уровень прогестерона существенно превосходил его значения в контроле ($p = 0.004$ по сравнению с C2), во второй был с ним сопоставим ($p > 0.05$ по сравнению с C2). Мы полагаем, что такая дифференциация по уровню прогестерона может быть обусловлена индивидуальными особенностями животных и вариабельностью нарушений эстрального цикла, поскольку дизайн эксперимента был стандартизирован. Так, у ДГЭА-обработанных крыс с изначально более высоким уровнем прогестерона превалировало нахождение в фазе d1, в то время как у крыс с низким уровнем гормона отмечалась более частая смена фаз d1, d2 и проэструса с преобладанием фазы проэструса. Однако оценка возможных взаимосвязей между характером нарушений эстрального цикла и уровнем прогестерона требует дополнительных, более детальных исследований. Интересен и тот факт, что уровень эстрадиола, который также варьирует в зависимости от фазы эстрального цикла, в обеих подгруппах, с низким и высоким уровнем прогестерона существенно не различался, но был повышен по сравнению с контрольной группой. Необходимо отметить, что дифференциация по уровням прогестерона у СПКЯ-крыс наблюдалась нами в предварительных экспериментах и имела место в группе PCOS2+TP03

до обработки ТР03. Сопоставление уровней прогестерона с экспрессией генов овариального стероидогенеза показало, что в случае гена *Cyp11a1* существенных различий между подгруппами с высоким и низким уровнями прогестерона не было, в то время как для гена *Cyp17a1* такие различия имелись – 0.29 ± 0.10 и 1.44 ± 0.09 соответственно ($p < 0.001$). В этой связи можно предположить, что повышение экспрессии гена, кодирующего СYP17A1, субстратом которого является прогестерон, приводит к усилению его конверсии в другие стероидные гормоны и, как следствие, к снижению уровня прогестерона в крови. Стимуляция крыс ТР03 приводила к повышению экспрессии гена *Cyp17a1*, но слабо влияла на экспрессию гена *Cyp11a1*. При этом, однако, уровень прогестерона менялся в небольшой степени, что обусловлено изначально высоким его уровнем у значительной части СПКЯ-животных. Это предположение подтверждается тем, что у крыс с низким уровнем прогестерона отмечали значительное повышение его уровня при введении ТР03.

В яичниках крыс с 6-недельной обработкой ДГЭА, начиная с возраста 23–25 дней, отмечали значительное снижение экспрессии гена, кодирующего металлопротеиназу ADAMTS-1 (A Disintegrin and Metalloprotease with ThromboSpondin type 1 motif). Эта металлопротеиназа обеспечивает гонадотропин-индукцированный разрыв предовуляторного фолликула [41], осуществляя протеолитическую деградацию протеогликанов и тем самым вызывая ремоделирование внеклеточного матрикса фолликулярных клеток [42]. Снижение экспрессии и содержания ADAMTS-1 у пациентов с СПКЯ является важнейшим маркером сниженного качества ооцитов [43, 44] и часто ассоциировано с ухудшением результатов процедуры фертилизации *in vitro* и дальнейшего переноса эмбрионов [45]. В нашем случае снижение экспрессии гена *Adamts-1* сопровождалось как снижением у СПКЯ-крыс числа третичных фолликулов и ЖТ предыдущего цикла, так и с образованием в процессе ТР03-индукционной стимуляции овуляции, наряду с ЖТ нового цикла, лuteинизированных фолликулов (дефектных ЖТ) без разрыва их стенки и выхода ооцита в фолликулярную полость. Хотя ТР03 и повышал экспрессию гена *Adamts-1*, но не выше ее уровня в контроле.

Иная ситуация наблюдалась у СПКЯ-крыс с трехнедельной обработкой ДГЭА с началом в препубертатном возрасте. Экспрессия гена *Adamts-1* в яичниках в этом случае не отличалась от контроля и значимо повышалась при обработке ТР03 ($p = 0.013$). Это хорошо коррелировало с образованием у 4 из 6 крыс в группе PCOS2+TP03 ЖТ нового цикла без генерации лuteinizированных неразорвавшихся фолликулов. В связи с этим можно предположить, что отсутствие или слабая выраженность изменений экспрессии и активности ADAMTS-1 предопределяет более адекватный ответ внеклеточного матрикса в клетках гранулезы, компонентом которого является ADAMTS-1, на стимуляцию рецептора ЛГ агонистом. Важную роль здесь играет ослабление стероидогенного ответа фолликулярных клеток, поскольку одним из ключевым регуляторов экспрессии гена *Adamts-1* является рецептор прогестерона, который активируется при гонадотропин-опосредованной стимуляции продукции прогестерона этими клетками [43]. Сохранение функциональной активности и реактивности внеклеточного матрикса, поддерживающего трехмерную структуру фолликулов и обеспечивающего передачу гормональных сигналов в клетках гранулезы, является необходимым условием для нормального протекания овуляции и оплодотворения яйцеклетки, а также ранних стадий развития эмбриона [46]. При этом необходимо отметить, что определенную роль в эффективности индукции овуляции может играть уровень прогестерона в крови крыс с “поздней” моделью СПКЯ, поскольку у трех животных с низким уровнем прогестерона было 2, 2 и 3 ЖТ нового цикла, в то время как при высоком уровне прогестерона они определялись только у одной крысы из трех, и это требует дальнейших исследований. В этой связи следует отметить, что у стимулированных ХГЧ пациенток при осуществлении экстракорпорального оплодотворения как низкий, так и высокий уровни прогестерона были негативно ассоциированы с количеством качественных ооцитов и показателями рождаемости [47].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые проведено сравнение двух часто применяемых моделей СПКЯ, которые отличаются как началом индукции заболевания с помощью ДГЭА (неполовозрелые и препубертатные самки крыс), так и продолжительностью ДГЭА-обработки (6 и 3 недели соответственно). 6-недельная обработка ДГЭА крыс, начиная с возраста 23–25 дней, приводила к отчетливо выраженной картине СПКЯ (морфология поликистозных яичников, нарушенный эстральный цикл, ослабление овариального стероидогенеза). В то же время при стимуляции таких животных ТР03, аллостерическим агонистом рецептора ЛГ, несмотря на повышение уровней прогестерона и экспрессии генов, кодирующих ферменты овариального стероидогенеза, наряду с нормальными ЖТ, образовывалось сопоставимое количество лютеинизированных неразорвавшихся фолликулов. Это может быть обусловлено нарушением функционирования внеклеточного матрикса в клетках гранулезы, том числе регулируемого металлопротеиназой ADAMTS-1, экспрессия гена которой у крыс с этой моделью СПКЯ была снижена. Трехнедельная обработка ДГЭА крыс с возраста 45–47 дней также приводила к характерным чертам СПКЯ, но в меньшей степени влияла на экспрессию гена *Adams-1* и не приводила к образованию в яичниках лютеинизированных фолликулов. В этом случае были выявлены две подгруппы животных, которые имели относительно низкие и высокие уровни прогестерона и различались как по экспрессии овариального гена, кодирующего цитохром CYP17A1, так и по эффективности ТР03-индивидуированной овуляции. Эти особенности необходимо учитывать при использовании указанных моделей на животных для изучения этиологии и патогенеза СПКЯ и оценки терапевтического потенциала индукторов контролируемой овуляции при СПКЯ, а также для разработки новых путей лечения этого эндокринного расстройства, в том числе в аспекте повышения эффективности проведения процедур вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с СПКЯ.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (А. С. П., К. В. Д. и А. О. Ш.), сбор данных (А. С. П., И. Ю. М., И. И. З., Л. В. Б., И. В. Р., Е. Е. Ч.), обработка данных (А. С. П., И. Ю. М., И. И. З., Л. В. Б., И. В. Р., К. В. Д., А. О. Ш.), написание и редактирование манускрипта (А. О. Ш., К. В. Д., А. С. П.).

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 19-75-20122).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям Комиссии по биоэтике Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН (протокол № 1-4/2025 заседания № 1 от 30.01.2025 г.).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Teede H, Deeks A, Moran L* (2010) Polycystic ovary syndrome: a complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan. *BMC Med* 8: 41.
<https://doi.org/10.1186/1741-7015-8-41>
2. *March WA, Moore VM, Willson KJ, Phillips DI, Norman RJ, Davies MJ* (2010) The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria. *Hum Reprod* 25(2): 544–551.
<https://doi.org/10.1093/humrep/dep399>
3. *Teede HJ, Tay CT, Laven JJE, Dokras A, Moran LJ, Piltonen TT, Costello MF, Boivin J, Redman LM, Boyle JA, Norman RJ, Mousa A, Joham AE* (2023) Recommendations From the 2023 International Evidence-based Guideline for the Assessment and Management of Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 108(10): 2447–2469.
<https://doi.org/10.1210/clinem/dgad463>
4. *Hart R, Hickey M, Franks S* (2004) Definitions, prevalence and symptoms of polycystic ovaries and polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 18(5): 671–683.
<https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2004.05.001>
5. *Lizneva D, Suturina L, Walker W, Brakta S, Gavrilova-Jordan L, Azziz R* (2016) Criteria, prevalence, and phenotypes of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 106(1): 6–15.
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.05.003>
6. *Azziz R* (2018) Polycystic Ovary Syndrome. *Obstet Gynecol* 132(2): 321–336.
<https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000002698>
7. *Teede HJ, Misso ML, Costello MF, Dokras A, Laven J, Moran L, Piltonen T, Norman RJ & International PCOS Network* (2018) Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 33(9): 1602–1618.
<https://doi.org/10.1093/humrep/dey256>
8. *Taylor AE, McCourt B, Martin KA, Anderson EJ, Adams JM, Schoenfeld D, Hall JE* (1997) Determinants of abnormal gonadotropin secretion in clinically defined women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 82(7): 2248–2256.
<https://doi.org/10.1210/jcem.82.7.4105>
9. *Rosenfield RL, Ehrmann DA* (2016) The Pathogenesis of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): The Hypothesis of PCOS as Functional Ovarian Hyperandrogenism Revisited. *Endocr Rev* 37(5): 467–520.
<https://doi.org/10.1210/er.2015-1104>
10. *Alexiou E, Hatziagelaki E, Pergialiotis V, Chrelias C, Kassanos D, Siristatidis C, Kyrikou G, Kreatsa M, Trakakis E* (2017) Hyperandrogenemia in women with polycystic ovary syndrome: prevalence, characteristics and association with body mass index. *Horm Mol Biol Clin Investig* 29(3): 105–111.
<https://doi.org/10.1515/hmbci-2016-0047>
11. *Ding H, Zhang J, Zhang F, Zhang S, Chen X, Liang W, Xie Q* (2021) Resistance to the Insulin and Elevated Level of Androgen: A Major Cause of Polycystic Ovary Syndrome. *Front Endocrinol (Lausanne)* 12: 741764.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2021.741764>
12. *Bizuneh AD, Joham AE, Teede H, Mousa A, Earnest A, Hawley JM, Smith L, Azziz R, Arlt W, Tay CT* (2025) Evaluating the diagnostic accuracy of androgen measurement in polycystic ovary syndrome: a systematic review and diagnostic meta-analysis to inform evidence-based guidelines. *Hum Reprod Update* 31(1): 48–63.
<https://doi.org/10.1093/humupd/dmae028>
13. *Ruth KS, Day FR, Tyrrell J, Thompson DJ, Wood AR, Mahajan A, Beaumont RN, Wittemans L, Martin S, Busch AS, Erzurumluoglu AM, Hollis B, O'Mara TA; Endometrial Cancer Association Consortium; McCarthy MI, Langenberg C, Easton DF, Wareham NJ, Burgess S, Murray A, Ong KK, Frayling TM, Perry JRB* (2020) Using human genetics to understand the disease impacts of testosterone in men and women. *Nat Med* 26(2): 252–258.
<https://doi.org/10.1038/s41591-020-0751-5>

14. *Paixão L, Ramos RB, Lavarda A, Morsh DM, Spritzer PM* (2017) Animal models of hyperandrogenism and ovarian morphology changes as features of polycystic ovary syndrome: a systematic review. *Reprod Biol Endocrinol* 15(1): 12.
<https://doi.org/10.1186/s12958-017-0231-z>
15. *Stener-Victorin E, Padmanabhan V, Walters KA, Campbell RE, Benrick A, Giacobini P, Dumesic DA, Abbott DH* (2020) Animal Models to Understand the Etiology and Pathophysiology of Polycystic Ovary Syndrome. *Endocr Rev* 41(4): bnaa010.
<https://doi.org/10.1210/endrev/bnaa010>
16. *Poojary PS, Nayak G, Panchanan G, Rao A, Kundapur SD, Kalthur SG, Mutalik S, Adiga SK, Zhao Y, Bakkum-Gamez J, Chang AY, DeStephano C, Sherman M, Kannan N, Kalthur G* (2022) Distinctions in PCOS Induced by Letrozole Vs Dehydroepiandrosterone With High-fat Diet in Mouse Model. *Endocrinology* 163(9): bqac097.
<https://doi.org/10.1210/endocr/bqac097>
17. *Seow KM, Ting CH, Huang SW, Ho LT, Juan CC* (2018) The use of dehydroepiandrosterone-treated rats is not a good animal model for the study of metabolic abnormalities in polycystic ovary syndrome. *Taiwan J Obstet Gynecol* 57(5): 696–704.
<https://doi.org/10.1016/j.tjog.2018.08.015>
18. *Ikeda K, Baba T, Morishita M, Honnma H, Endo T, Kiya T, Saito T* (2014) Long-term treatment with dehydroepiandrosterone may lead to follicular atresia through interaction with anti-Mullerian hormone. *J Ovarian Res* 7: 46.
<https://doi.org/10.1186/1757-2215-7-46>
19. *Chen MJ, Chou CH, Chen SU, Yang WS, Yang YS, Ho HN* (2015) The effect of androgens on ovarian follicle maturation: Dihydrotestosterone suppress FSH-stimulated granulosa cell proliferation by upregulating PPAR γ -dependent PTEN expression. *Sci Rep* 5: 18319.
<https://doi.org/10.1038/srep18319>
20. *Zhou DN, Li SJ, Ding JL, Yin TL, Yang J, Ye H* (2018) MIF May Participate in Pathogenesis of Polycystic Ovary Syndrome in Rats through MAPK Signalling Pathway. *Curr Med Sci* 38(5): 853–860.
<https://doi.org/10.1007/s11596-018-1953-7>
21. *Olanayan OT, Femi A, Iliya G, Ayobami D, Godam E, Olugbenga E, Bamidele O, Chand Mali P* (2019) Vitamin C suppresses ovarian pathophysiology in experimental polycystic ovarian syndrome. *Pathophysiology* 26(3-4): 331–341.
<https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2019.08.003>
22. *Kim EJ, Jang M, Choi JH, Park KS, Cho IH* (2018) An Improved Dehydroepiandrosterone-Induced Rat Model of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): Post-pubertal Improve PCOS's Features. *Front Endocrinol (Lausanne)* 9: 735.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00735>
23. *Gharanjik F, ShojaeiFard MB, Karbalaei N, Nemati M* (2022) The Effect of Hydroalcoholic Calendula Officinalis Extract on Androgen-Induced Polycystic Ovary Syndrome Model in Female Rat. *Biomed Res Int* 2022: 7402598.
<https://doi.org/10.1155/2022/7402598>
24. *Singh P, Srivastava RK, Krishna A* (2016) Effects of gonadotropin-releasing hormone agonist and antagonist on ovarian activity in a mouse model for polycystic ovary. *J Steroid Biochem Mol Biol* 163: 35–44.
<https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2016.03.034>
25. *Bakhtyukov AA, Derkach KV, Fokina EA, Lebedev IA, Sorokoumov VN, Bayunova LV, Shpakov AO* (2023) Effect of Different Luteinizing Hormone Receptor Agonists on Ovarian Steroidogenesis in Mature Female Rats. *J Evol Biochem Physiol* 59(1): 57–68.
<https://doi.org/10.1134/S0022093023010052>
26. *Derkach KV, Lebedev IA, Morina IY, Bakhtyukov AA, Pechalnova AS, Sorokoumov VN, Kuznetsova VS, Romanova IV, Shpakov AO* (2023) Comparison of Steroidogenic and Ovulation-Inducing Effects of Orthosteric and Allosteric Agonists of Luteinizing Hormone/Chorionic Gonadotropin Receptor in Immature Female Rats. *Int J Mol Sci* 24(23): 16618.
<https://doi.org/10.3390/ijms242316618>

27. Derkach KV, Bakhtyukov AA, Sorokoumov VN, Didenko EA, Romanova IV, Morina IYu, Lebedev IA, Bayunova LV, Shpakov AO (2024) Dynamics of gonadotropin and thienopyrimidine derivative TP03 effects on ovulation and ovarian steroidogenesis in Follimag-stimulated immature female rats. *Rev Clin Pharmacol Drug Therapy* 22(1): 53–65.
<https://doi.org/10.17816/RCF622883>
28. van de Lagemaat R, Timmers CM, Kelder J, van Koppen C, Mosselman S, Hanssen RG (2009) Induction of ovulation by a potent, orally active, low molecular weight agonist (Org 43553) of the luteinizing hormone receptor. *Hum Reprod* 24(3): 640–648.
<https://doi.org/10.1093/humrep/den412>
29. Bakhtyukov AA, Derkach KV, Sorokoumov VN, Stepochkina AM, Romanova IV, Morina IY, Zakharova IO, Bayunova LV, Shpakov AO (2021) The Effects of Separate and Combined Treatment of Male Rats with Type 2 Diabetes with Metformin and Orthosteric and Allosteric Agonists of Luteinizing Hormone Receptor on Steroidogenesis and Spermatogenesis. *Int J Mol Sci* 23(1): 198.
<https://doi.org/10.3390/ijms23010198>
30. He Y, Li X, Li Y, Kuai D, Zhang H, Wang Y, Tian W (2024) Dehydroepiandrosterone with a high-fat diet treatment at inducing polycystic ovary syndrome in rat model. *Steroids* 206: 109424.
<https://doi.org/10.1016/j.steroids.2024.109424>
31. Cora MC, Kooistra L, Travlos G (2015) Vaginal Cytology of the Laboratory Rat and Mouse: Review and Criteria for the Staging of the Estrous Cycle Using Stained Vaginal Smears. *Toxicol Pathol* 43(6): 776–793.
<https://doi.org/10.1177/0192623315570339>
32. Ajayi AF, Akhigbe RE (2020) Staging of the estrous cycle and induction of estrus in experimental rodents: an update. *Fertil Res Pract* 6: 5.
<https://doi.org/10.1186/s40738-020-00074-3>
33. Shih MC, Chiu YN, Hu MC, Guo IC, Chung BC (2011) Regulation of steroid production: analysis of Cyp11a1 promoter. *Mol Cell Endocrinol* 336(1-2): 80–84.
<https://doi.org/10.1016/j.mce.2010.12.017>
34. Heidarzadehpilehrood R, Pirhoushian M, Abdollahzadeh R, Binti Osman M, Sakinah M, Nor-din N, Abdul Hamid H (2022) A Review on CYP11A1, CYP17A1, and CYP19A1 Polymorphism Studies: Candidate Susceptibility Genes for Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) and Infertility. *Genes (Basel)* 13(2): 302.
<https://doi.org/10.3390/genes13020302>
35. Xu X, Hu K, Shi H, Yu Y, Xu J, Sun Y (2021) The single-nucleotide polymorphism rs743572 of CYP17A1 shows significant association with polycystic ovary syndrome: a meta-analysis. *Reprod Biomed Online* 43(5): 941–951.
<https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2021.06.012>
36. Pusalkar M, Meherji P, Gokral J, Chinnaraj S, Maitra A (2009) CYP11A1 and CYP17 promoter polymorphisms associate with hyperandrogenemia in polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 92(2): 653–659.
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.07.016>
37. Rezgoun ML, El Khour D, Bendaoud H, Chellat D (2023) CYP17A1 (rs74357) polymorphism and polycystic ovary syndrome risk: a systemic review and meta-analysis. *Acta Biomed* 94(4): e2023167.
<https://doi.org/10.23750/abm.v94i4.14229>
38. Lazzaretti C, Simoni M, Casarini L, Paradiso E (2023) Allosteric modulation of gonadotropin receptors. *Front Endocrinol (Lausanne)* 14: 1179079.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1179079>
39. Shpakov AO (2024) Hormonal and Allosteric Regulation of the Luteinizing Hormone/Chorionic Gonadotropin Receptor. *Front Biosci (Landmark Ed)* 29(9): 313.
<https://doi.org/10.31083/j.fbl2909313>
40. Sun B, Ma Y, Li L, Hu L, Wang F, Zhang Y, Dai S, Sun Y (2021) Factors Associated with Ovarian Hyperstimulation Syndrome (OHSS) Severity in Women With Polycystic Ovary Syndrome Undergoing IVF/ICSI. *Front Endocrinol (Lausanne)* 11: 615957.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2020.615957>

41. *Apte SS* (2009) A disintegrin-like and metalloprotease (reprolysin-type) with thrombospondin type 1 motif (ADAMTS) superfamily: functions and mechanisms. *J Biol Chem* 284(46): 31493–31497. <https://doi.org/10.1074/jbc.R109.052340>
42. *Brown HM, Dunning KR, Robker RL, Boerboom D, Pritchard M, Lane M, Russell DL* (2010) ADAMTS1 cleavage of versican mediates essential structural remodeling of the ovarian follicle and cumulus-oocyte matrix during ovulation in mice. *Biol Reprod* 83(4): 549–557. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.110.084434>
43. *GohariTaban S, Amiri I, Soleimani Asl S, Saidijam M, Yavangi M, Khanlarzadeh E, Mohammadpour N, Shabab N, Artimani T* (2019) Abnormal expressions of ADAMTS-1, ADAMTS-9 and progesterone receptors are associated with lower oocyte maturation in women with polycystic ovary syndrome. *Arch Gynecol Obstet* 299(1): 277–286. <https://doi.org/10.1007/s00404-018-4967-2>
44. *Ma Y, Jin J, Tong X, Yang W, Ren P, Dai Y, Pan Y, Zhang Y, Zhang S* (2020) ADAMTS1 and HSPG2 mRNA levels in cumulus cells are related to human oocyte quality and controlled ovarian hyperstimulation outcomes. *J Assist Reprod Genet* 37(3): 657–667. <https://doi.org/10.1007/s10815-019-01659-8>
45. *Shi Y, Shi Y, He G, Wang G, Liu H, Shao X* (2022) Association of ADAMTS proteoglycanases downregulation with IVF-ET outcomes in patients with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biol Endocrinol* 20(1): 169. <https://doi.org/10.1186/s12958-022-01035-9>
46. *Liu Y, Zhu J, Yang Y, Chen Z, Zhou Y, Fei W, Zhang X, Zheng Y* (2025) Extracellular matrix dysregulation in PCOS: pathogenesis, therapeutic strategies, and innovative technologies. *J Biol Eng* 19(1): 61. <https://doi.org/10.1186/s13036-025-00533-9>
47. *Arvis P, Lehert P, Guivarc'h-Levêque A* (2019) Both high and low HCG day progesterone concentrations negatively affect live birth rates in IVF/ICSI cycles. *Reprod Biomed Online* 39(5): 852–859. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2019.07.001>

A Comparative Study of Dehydroepiandrosterone-Induced Polycystic Ovary Syndrome Models in Immature and Prepubertal Female Rats

S. Pechalnova^a, K. V. Derkach^{a,*}, I. Yu. Morina^a, I. I. Zorina^a, L. V. Bayunova^a,
I. V. Romanova^a, E. E. Chernenko^a and A. O. Shpakov^a

^aSechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences,
St. Petersburg, Russia
*e-mail: derkatch_k@list.ru

Polycystic ovary syndrome (PCOS), one of the most common endocrine disorders in women, leads to reduced reproductive potential and infertility. Rodent models, including those induced by dehydroepiandrosterone (DHEA), are used to study PCOS. However, they have not been sufficiently studied, including in terms of ovulation stimulation in PCOS rats by luteinizing hormone (LH) agonists, and this complicates their use in developing approaches for the treatment of PCOS. The aim of the work was to comparatively study and characterize the morphological and biochemical parameters in animals with two most commonly used models of PCOS, induced by six-week treatment of immature (23–25 days) and three-week treatment of prepubertal (45–47 days) female rats with DHEA, and to evaluate the effectiveness of ovulation stimulation in PCOS rats using TP03, a low-molecular-weight LH receptor agonist developed by us. Six-week treatment of immature female rats with DHEA resulted in the development of polycystic ovary morphology, decreased blood progesterone levels, and decreased expression of ovarian genes encoding key steroidogenic proteins (CYP11A1, CYP17A1) and the metalloproteinase ADAMTS-1, a marker of ovulation. Treatment with TP03 increased progesterone levels, enhanced expression of the *Cyp11a1*, *Cyp17a1*, and *Adamts-1* genes, and led to the formation of corpora lutea (CL), but a significant proportion of these were luteinized unruptured follicles. Three-week treatment of prepubertal female rats with DHEA also resulted in the characteristic features of PCOS, but had a lesser effect on *Adamts-1* gene expression and did not induce the formation of defective CL upon stimulation with TP03. In this case, two subgroups were identified among PCOS rats – those with relatively low and those with high progesterone levels. They differed significantly in *Cyp17a1* gene expression and in the efficiency of new cycle adipose tissue formation after TP03 treatment. Thus, the longer-term DHEA-induced PCOS model in immature female rats is well suited for studying functional impairments in severe forms of PCOS, while the PCOS model generated in prepubertal rats by three-week DHEA treatment is more suitable for studying moderate forms of PCOS and optimizing the choice of ovulation stimulants effective in this disease.

Keywords: polycystic ovary syndrome, dehydroepiandrosterone, rats, ovarian steroidogenesis, allosteric agonist, progesterone, corpus luteum