

Дослідження впливу низьких доз андрогенів на оваріальний резерв, біохімічні та гормональні показники

Г.В. Стрелко

Медичний центр «Айвімед», м. Київ

Мета дослідження: обґрунтування застосування низьких доз андрогенів у жінок при зниженому оваріальному резерві. Вивчення безпечності та ефективності їхнього застосування в умовах експерименту за участю лабораторних тварин.

Матеріали та методи. Була досліджена специфічна ефективність при повторних уведеннях протягом 90 днів препарату дегідроепіандростерону (Dehydroepiandrosterone – DHEA) самицям щурів лінії Вістар. Препарат вводили в терапевтичній та трикратній терапевтичній дозах. Вивчали біохімічні та гормональні показники. Було проведено також гістологічне дослідження яєчників самиць після циклу лікування.

Результати. Під час вживання терапевтичної та трикратної дози не відбувалося суттєвих змін у гематологічних показниках; жоден з них не вийшов за межі норми, що свідчить про безпечність призначення препаратів та відсутність негативного впливу на гематологічні показники. При вивченні біохімічних показників периферичної крові можна помітити незначне підвищення рівнів глюкози, креатініну та лужної фосфатази у групі щурів, що вживали трикратну дозу, втім вони не виходили за межі норми. Морфологічні та гістологічні зміни в яєчниках щурів свідчать про збільшення кількості фолікулів на всіх стадіях розвитку; ефект був дозозалежним.

Заключення. Отже, вживання терапевтичних доз препарату можна вважати цілком безпечним. Результати дослідження можуть бути корисними при розробці лікувальних підходів у жінок зі зниженим оваріальним резервом.

Ключові слова: погані відповідачі, дегідроепіандростерон, контрольована стимуляція яєчників, допоміжні репродуктивні технології.

Погані відповідачі представляють значну частку серед жінок, які проходили контрольовану стимуляцію яєчників з метою проведення програм ДРТ (допоміжних репродуктивних технологій). Дані літератури та власні спостереження демонструють, що їхня частка становить від 9 до 24% [1]. Розробка нових напрямків покращення оваріальної відповіді у жінок, що страждають на безпліддя з низьким оваріальним резервом, є актуальною проблемою ДРТ, яка потребує вирішення.

Враховуючи сильно зменшену ймовірність настання вагітності під час проведення ДРТ у цих пацієнток, авторами було запропоновано численні лікувальні підходи. Серед цих додавання гормону росту [2], а також більш швидке перенесення ембріонів (ЕТ) на 2-й день замість 3-го дня культивування [3]. Проте в більшості цих випадків дані є досить обмеженими і, таким чином, потенційний корисний ефект не до кінця доведений [4].

Авторами було висловлено припущення, що накопичення андрогенів у мікросередовищі яєчника може відігравати критичну роль у ранньому фолікулярному розвитку і проліферації гранульозних клітин. Показано, що надлишок андрогенів стимулює ранні стадії фолікулогенезу і збільшує кількість передантральних і антральних фолікулів. Крім того, підви-

шена інтраоваріальна концентрація андрогенів збільшує експресію рецепторів фолікулостимулюючого гормону (ФСГ) у гранульозних клітинах і, таким чином, потенційно приводить до підвищення чутливості яєчників до ФСГ [5]. Крім цих експериментальних даних, подальші клінічні спостереження щодо жінок із синдромом полікістозних яєчників або жінок-транссексуалів, які отримували тестостерон, дозволяють припустити, що вплив екзогенних андрогенів може призвести до збільшення кількості фолікулів, що розвиваються, незалежно від стимуляції [6].

У 1939 році німецький вчений Бутенгад отримав Нобелівську премію з хімії за роботи з виявлення та ізоляції ДГЕА. Ця речовина являє собою слабкий андроген, який перетворюється в естрадіол та тестостерон. Існує також у формі сульфату (ДГЕА С) та є сульфатним ефіром ДНЕА. Сироватковий рівень цих двох статевих стероїдних гормонів знижується з віком. У 1996 році описані ефекти старіння на зміни рівнів ДГЕА [7].

Синтез ДНЕА та ДНЕАС значно підвищується у віці від 6 до 8 років. Пік рівня ДНЕА і ДНЕАС у сироватці виявляють у віці від 20 до 30 років, потім він знижується на 2% на рік, а до 70 років рівень сироватки обох гормонів становить 20–23% від їхніх пікових значень та знижується до рівня 10–20% у віці 80 років. Це мотивувало декілька вчених вивчити роль ДГЕА при зменшеному резерві яєчників.

Дегідроепіандростерон (DHEA) є ендogenous стероїдом, який виробляється у зоні ретикулярної частини кори наднирників і клітинами теки яєчників. У яєчнику це сприяє розвитку фолікулів і проліферації гранульозних клітин завдяки підвищенню внутрішньояєчничкової концентрації андрогенів [7]. ДНЕА також може підвищити рівень фолікулярного інсуліноподібного фактору росту-1 (IGF-1), що сприяє фолікулогенезу шляхом посилення ефекту гонадотропінів та зменшення атрезії фолікулів. Останнім часом дослідження демонструють, що застосування ДГЕА може приводити до поліпшення відповіді яєчників у пацієнтів з поганою відповіддю на стимуляцію. Проте вичерпні клінічні дані про вплив ДНЕА дуже обмежені.

Згідно з оглядами літератури щодо даного питання, досліджували вплив застосування ДНЕА під час проведення КСО у протоколах ДРТ у поганих відповідачів, але розмір вибірки у більшості випадків був невеликий. Крім того, частина робіт містила інформацію про наявність побічних ефектів та відсутність достовірного терапевтичного ефекту [8]. Додаткова інформація також необхідна для оцінювання ролі ДНЕА як ад'ювантної терапії під час проведення контрольованої стимуляції яєчників у жінок зі знизеним резервом яєчників.

Преантральні і ранні антральні фолікули становлять більшість того, що ми в клінічній практиці називали функціональним резервом яєчника (РЯ), що краще за все можливо оцінити за допомогою антимюллеровського гормону (АМН) та підрахунку антральних фолікулів (ПАФ) [9]. Отже, позитивні та/або негативні ефекти андрогенів повинні відображатися в рівнях АМГ та ПАФ.

Характеристика досліджуваного препарату

Назва	DHEA
Лікарська форма	Капсули в упаковці, 100 штук
Склад 1 капсули	Dehydroepiandrosterone Supplement по 25, 75 або 100 мг
Зовнішній вигляд	Тверді желатинові капсули білого кольору
Серійний номер	08071
Умови зберігання	Зберігати у щільно закритій тарі у прохолодному місці

Таблиця 2

Розподіл тварин за дозовими групами

Експериментальна група	Доза, мг/кг	Доза, мл/кг	Кількість щурів у групі
1-а група DHEA – терапевтична доза	7,75	0,5	10
2-а група DHEA – трикратна терапевтична доза	23,25	0,5	10
3-а група Контрольна група (інтактні щури)	-	-	10

Таблиця 3

Гематологічні показники венозної крові щурів-самиць

Гематологічні показники	Нормальні значення	1-а група, n=10 DHEA – терапевтична доза	2-а група, n=10 DHEA – трикратна терапевтична доза	3-а група, n=10 Контрольна група (інтактні щури)
Лейкоцити 103 μ L	0,96–7,88	10,18 \pm 0,53	11,23 \pm 0,55	10,55 \pm 0,91
Еритроцити 106 μ L	7,16–9,24	8,61 \pm 0,15	8,60 \pm 0,13	8,45 \pm 0,11
Гемоглобін g/dl	13,7–17,2	15,19 \pm 0,22	14,72 \pm 0,19	14,56 \pm 0,21
Гематокрит, %	38,5–49,2	44,04 \pm 0,66	42,78 \pm 0,53	42,50 \pm 0,67
Середній об'єм еритроцитів, μ m ³	50,3–57,0	51,23 \pm 1,05	49,82 \pm 0,44	50,31 \pm 0,58
Середня концентрація гемоглобіну в еритроцитах, pg	17,6–20,3	17,67 \pm 0,34	17,15 \pm 0,13	17,23 \pm 0,16
Тромбоцити 10 ³ μ L	599–1144	698,9 \pm 29,37	767,90 \pm 44,66	737,70 \pm 28,08

Як зазначено вище, у жінок зі зниженим оваріальним резервом спостерігається суттєве зниження ефективності лікування безпліддя. У зв'язку з наведеним вище, дуже важливим є питання можливості відновлення та покращення оваріального резерву. Одним із можливих варіантів могло би бути вживання ДГЕА, адже додаткове введення андрогенів мало б покращувати синтез стероїдів у жінок зі зниженим оваріальним резервом, збільшити чутливість яєчників до гонадотропінів, можливо знизити швидкість атрезії фолікулів, покращити якість яйцеклітин та ембріонів. З іншого боку, в доступній літературі існують різні точки зору щодо доцільності та безпечності вживання DHEA у жінок, немає даних щодо визначення безпечного та ефективного дозування. Водночас недостатньо даних щодо впливу андрогенів при їхньому застосуванні у жінок з точки зору безпечності (біохімічні та клінічні показники периферичної крові).

Мета дослідження: обґрунтування застосування низьких доз андрогенів у жінок при зниженому оваріальному резерві. Вивчення безпечності та ефективності їхнього застосування в умовах експерименту за участю лабораторних тварин.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводили на самицях білих щурів лінії Вістар (Rattus norvegicus). Було використано 30 щурів-самиць лінії Вістар масою 250–300 г віком 4–5 міс на початку експерименту. Дослідження проводили на базі Інституту фармакології та токсикології НАМН України згідно зі стандартами токсикологічних досліджень [10].

Ідентифікацію тварин проводили з використанням системи індивідуальних кольорових міток на тілі. Щурів утримували у стандартних умовах виварію за температури 22–24 °C та відносної вологості 30–70%, з вільним доступом до корму та води.

Була досліджена специфічна ефективність при повторних введеннях протягом 90 днів препарату дегідроепіандростерону (Dehydroepiandrosterone – DHEA) виробництва Ultimate Nutrition, Inc. Farmington, CT 06032. Діюча речовина препарату, що вивчався, відноситься до стероїдних гормонів, що виробляються наднирковими залозами та в гонадах. Гормон має слабку андрогенну дію. Синтез DHEA в організмі відбувається за участю ферменту 17-альфа-гидроксилази. Прегненолон, що утворюється з холестерину, трансформується даним ферментом у 17-гідроксипрегненолон, який завдяки цьому самому ферменту перетворюється у дегідроепіандростерон. Він зі свого боку під впливом інших ферментів перетворюється в андростендіол та андростендіон, а також у дегідроепіандростерон-сульфат. Під впливом ароматаз відбувається трансформація в естрогени. Характеристика препарату наведена у табл. 1.

Для введення тваринам із вмісту капсул готували водні суспензії концентрацій, які дозволяли забезпечити необхідний режим дозування для кожної експериментальної групи тварин.

За необхідності щоденного введення свіжі суспензії готували кожен день. Індивідуальні дози розраховували у мг/кг та мл/кг з урахуванням маси кожної з тварин у день введення, а також щотижневих змін маси у разі повторних уведень.

Біохімічні показники сироватки крові щурів-самиць після повторних пероральних уведень препарату ДГА

Гематологічні показники	Нормальні значення	1-а група, n=10 DHEA – терапевтична доза	2-а група, n=10 DHEA – трикратна терапевтична доза	3-а група, n=10 Контрольна група (інтактні щури)
Загальний білок, г/л	52-71	69,94±3,97	72,89±1,87	73,49±0,96
Холестерин, ммоль/л	0,95-2,17	1,35±0,08	1,59±0,12	1,36±0,04
Глюкоза, ммоль/л	3,8-11,56	7,86±0,26	8,4±0,31	9,80±0,36*
Креатинін, ммоль/л	17,6-44	49,43±2,28	43,0±1,60*	44,04±0,85
Сечовина, ммоль/л	4,39-8,78	7,16±0,21	6,96±0,21	7,22±0,26
Тригліцериди, ммоль/л	0,22-1,28	1,33±0,22	1,23±0,31	1,05±0,19
Алдіт, МО/л	18-45	45,86±5,62	32,5±1,83	50,9±4,83
Асдіт, МО/л	74-143	191,14±16,70	171,4±13,07	170,6±17,34
ЛФ, МО/л	62-230	76,43±6,04	86,4±11,92	102,5±10,29

Примітка: * – $p < 0,05$ щодо контрольних тварин.

Внутрішньошлунково препарат вводили за допомогою зонда із медичної сталі скляним ін'єкційним шприцом об'ємом 1 мл.

Процедура дослідження відповідає вимогам Методичних рекомендацій ДФЦ МОЗ України [11].

Метою дослідження токсичності при повторних уведеннях було отримання інформації щодо можливого негативного впливу препарату на біохімічні та загальні показники крові. Тривалість введення препарату тваринам була визначена, виходячи з імовірного терапевтичного курсу для людини, який становить від 3 міс до 1–2 років. Отже, згідно з рекомендаціями ДФЦ МОЗ України [11] та міжнародних вимог [12] досліджуваний препарат вводили щурам-самицям протягом 3 міс, що відповідає декільком рокам людського життя.

Досліджуваний препарат вводили у двох дозах: терапевтичній та 3-кратній терапевтичній. Дози для щурів були розраховані, виходячи з даних про добові дози для людини з урахуванням коефіцієнту видової чутливості [13]. У клініці передбачається призначати препарат по одній капсулі 2–3 рази на добу (добова доза препарату становитиме 75 мг, тобто 1,25 мг/кг). Отже, для щурів були розраховані наступні дози:

– терапевтична – 7,75 мг/кг,

– трикратна терапевтична – 23,25 мг/кг.

Розподіл щурів на групи наведений у табл. 2.

Через 85 днів уведення у всіх тварин брали кров з кінчика хвоста та проводили гематологічні дослідження згідно з рекомендованими стандартами [14]. Біохімічні показники сироватки крові досліджували у день отримання на автоматичному біохімічному аналізаторі Prestige 24i (Японія). Результати гематологічного та біохімічного дослідження наведено в табл. 3.

Як видно з табл. 3, навіть при вживанні трикратної дози не відбувається суттєвих змін у гематологічних показниках; жоден з них не вийшов за межі норми, що свідчить про безпечність призначення препаратів та відсутність негативного впливу на гематологічні показники навіть при достатньо тривалому їх застосуванні. У табл. 4 наведено дані біохімічного дослідження крові експериментальних та досліджуваних тварин.

Вивчалися основні показники та біохімічні маркери крові, що можуть змінюватись у разі токсичних впливів.

Під час вивчення біохімічних показників периферичної крові можна помітити незначне підвищення рівнів глюкози, креатиніну та лужної фосфатази у групі тварин, які вживали трикратну дозу. Незважаючи на достовірне підвищення зазначених показників порівняно з контролем, вони тим не менше не виходили за межі норми. Отже, вживання терапевтичних доз препарату можна вважати цілком безпечним.

Проаналізувавши експериментальні дані, можна зробити висновки про відсутність патологічних змін біохімічних та гематологічних показників крові у самиць лабораторних щурів, що

свідчить про безпечність застосування низьких доз андрогенів з метою покращення оваріального резерву. Дози DHEA, вищі за рекомендовані, бажано не застосовувати, адже в певних випадках вони можуть незначно впливати на біохімічні показники крові. Дані, що були отримані, можуть бути корисними для корекції зниження оваріального резерву у поганих відповідачів.

Гістологічні дослідження яєчників щурів трьох груп

Після отримання крові у щурів трьох груп було взято яєчники для морфогістологічного дослідження. Оформлювали результати шляхом морфогістологічного опису та фотографування. Яєчники було зафіксовано у 10% розчині формаліну, залито в парафін. Зрізи було пофарбовано гематоксилін-еозином та пікрофуксіном за Ван-Гізоном. Було проаналізовано та підраховано кількість преантральних та антральних фолікулів у трьох групах, а також вивчено структурні особливості залежно від введеної дози ДГА. Визначали такі показники, як загальна морфологія тканини яєчників, кількість кровоносних судин, кількість фолікулів на всіх стадіях розвитку порівняно з контрольною групою.

Яєчники щурів мали овальну форму, були розміром у довжину у середньому 0,5–1 см та в ширину 0,4–0,7 см, мали середню масу близько 1 г. Морфологічний склад був типовим в усіх трьох групах досліджуваних тварин. На яєчниках розрізнялись трубний та матковий кінці, брижовий та вільний край, латеральну та медіальну поверхню. Зовні яєчники були вкриті простим кубічним епітелієм, що розташований на білкової оболонці. Під білковою оболонкою знаходився корковий шар або коркова речовина яєчника. У середині яєчника розрізнялася мозкова речовина яєчника.

Фолікули на різних стадіях розвитку (примордіальні, преантральні, астральні, атлетичні фолікули, жовті тіла) знаходились у корковій речовині. У міру дозрівання фолікули зміщуються до поверхні яєчника. Зрілі фолікули мають кулясту структуру та значні розміри. Вони утворені стінкою (текою) та порожниною, що заповнена так званою фолікулярною рідиною. Локально та на внутрішній поверхні фолікулів розташований яйценосний горбик, на якому знаходиться зрілий ооцит з клітинами кумулюса. Порожнина фолікула, в якому відбулась овуляція, перетворюється на жовте тіло – тимчасову ендокринну залозу, що виробляє переважно прогестерон, необхідний для розвитку вагітності. Якщо вагітність не настала – жовте тіло руйнується та перетворюється на біле тіло. Не всі фолікули досягають зрілості. Частина з них руйнується, відбувається так звана атрезія.

Аналіз отриманих даних продемонстрував, що при введених однократній дозі ДГА порівняно з контрольною групою, структура була загалом аналогічна до контрольної групи. Слід

Кількісне співвідношення різних типів фолікулів в яєчниках щурів трьох груп залежно від введеної дози ДГА

Кількість астральних фолікулів	Група		
	Терапевтична доза ДГА	Трикратна доза ДГА	Контрольна група
Середня кількість фолікулів на різних стадіях раннього дозрівання	4,5	8	4
Середня кількість преантральних фолікулів	2	4	2
Середня кількість антральних фолікулів	1,2	2	1

відзначити, що в частині спостережень (25%) антральних фолікулів не було виявлено, що скоріше за все пов'язано зі швидким дозріванням преантральних фолікулів та овуляцією.

У частині спостережень (більше 50%) було виявлено типові групи фолікулів на різних стадіях раннього розвитку в корі яєчників щурів. Кровоносні судини, що розташовані в центральних відділах яєчника, повнокровні. У кожному спостереженні знайдено зрілий фолікул, що називається астральним або fluid-filled space – повний рідини проміжок з численними шарами гранулезних клітин та зрілим ооцитом у порожнині. Звертає на себе увагу кількість та повнокровність кровоносних судин поблизу зрілого фолікула.

Під час порівняння з другою групою та контрольною групою підрахунок проводили на 40–45–50 зрізах, відзначали збільшення фолікулів на різних стадіях раннього розвитку, преантральних фолікулів, антральних фолікулів більш ніж в 2 рази (табл. 5). У зрізах середньої частини яєчників на 48–50 від початку було виявлено поодинокі великі фолікули одразу після овуляції.

Исследование влияния низких доз андрогенов на овариальный резерв, биохимические и гормональные показатели Г. В. Стрелко

Цель исследования: обоснование применения низких доз андрогенов у женщин при сниженном овариальном резерве. Изучение безопасности и эффективности их применения в условиях эксперимента с участием лабораторных животных.

Материалы и методы. Была исследована специфическая эффективность при повторных введениях в течение 90 дней препарата дегидроэпиандростерона (Dehydroepiandrosterone – DHEA) самкам крыс линии Вистар. Препарат вводили в терапевтической и трехкратной терапевтической дозах. Изучали биохимические и гормональные показатели. Было проведено также гистологическое исследование яичников самок после цикла лечения.

Результаты. При употреблении терапевтической и трехкратной дозы не происходило существенных изменений в гематологических показателях; ни один из них не вышел за пределы нормы, что свидетельствует о безопасности назначения препаратов и отсутствии негативного влияния на гематологические показатели. При изучении биохимических показателей периферической крови можно заметить незначительное повышение уровня глюкозы, креатинина и щелочной фосфатазы в группе крыс, принимавших трехкратную дозу, при этом они не выходили за пределы нормы. Морфологические и гистологические изменения в яичниках крыс свидетельствуют об увеличении количества фолликулов на всех стадиях развития; эффект был дозозависимым.

Заключение. Таким образом, употребление терапевтических доз препарата можно считать безопасным. Результаты исследования могут быть полезными при разработке лечебных подходов у женщин со сниженным овариальным резервом.

Ключевые слова: плохие ответчики, дегидроэпиандростерон, контролируемая стимуляция яичников, вспомогательные репродуктивные технологии.

У гістологічних препаратах яєчників щурів з групи трикратної терапевтичної дози ДГА у більшості спостережень було виявлено вогнища збільшення кількості фолікулів на різних стадіях раннього дозрівання, преантральних фолікулів, астральних фолікулів, жовтих тіл.

ВИСНОВКИ

1. Результати експериментальної роботи дозволили підтвердити безпечність застосування та відсутність негативного впливу ДГЕА на підставі гематологічних та біохімічних показників крові навіть при тривалому застосуванні, що значно перевищувало звичайно рекомендовану тривалість вживання.

2. Морфологічні та гістологічні зміни в яєчниках щурів свідчать про збільшення кількості фолікулів на всіх стадіях розвитку; ефект був дозозалежним.

3. Результати дослідження можуть бути корисними при розробці лікувальних підходів у жінок зі зниженим овариальним резервом.

The study of the effect of low doses of androgens on the ovarian reserve, biochemical and hormonal parameters G.V. Strelko

The objective: justification of the use of low doses of androgens in women with a reduced ovarian reserve. Study of the safety and effectiveness of their use in laboratory experiments involving laboratory animals.

Materials and methods. Specific efficacy has been investigated in repeated doses of Dehydroepiandrosterone (DHEA) for 90 days in female Wistar rats. The drug was administered in therapeutic and triple therapeutic doses. Biochemical and hormonal indices were studied. A histological examination of female ovaries after a treatment cycle was also conducted.

Results. There were no significant changes in haematological parameters when using a therapeutic and three-fold dose; none of them exceeded the norm, which indicates the safety of prescribing drugs and the absence of adverse effects on hematological parameters. In the study of biochemical parameters of peripheral blood, one can notice a slight increase in glucose, creatinine and alkaline phosphatase levels in the group that used a three-dose dose, and, nevertheless, they did not go beyond the norm. Morphological and histological changes in ovaries of rats indicate an increase in the number of follicles at all stages of development; the effect was dose-dependent.

Conclusion. Thus, the use of therapeutic doses of the drug can be considered completely safe. The results of the study may be useful in the development of therapeutic approaches in women with a reduced ovarian reserve.

Key words: poor responders, dehydroepiandrosterone, controlled ovarian stimulation, assisted reproductive technologies.

Сведения об авторе

Стрелко Галина Владимировна – Медицинский центр «Айвимед», 03186, г. Киев, ул. Авиаконструктора Антонова, 2-Б; тел.: (044) 500-96-47 (48), (050) 547-66-65. E-mail: gstrelko@gmail.com

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Combined gonadotropin releasing hormone agonist/human menopausal gonadotropin therapy (GnRH-a/hMG) in normal, high, and poor responders to hMG. // Ben-Rafael Z1, Bider D, Dan U, Zolti M, Levran D, Mashiach S Journal of In Vitro Fertilization and Embryo Transfer. 1991 Feb; 8(1): C 33-36.
2. Addition of growth hormone to gonadotrophins in ovarian stimulation of poor responders treated by in-vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis // E.M. Kolibianakis1,3, C.A. Venetis1, K. Diedrich2, B.C. Tarlatzis1, and G.– Griesinger Human Reproduction Update.– 2009: C 1–10.
3. How to improve the probability of pregnancy in poor responders undergoing in vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis. // Kyrou D1, Kolibianakis EM, Venetis CA, Papanikolaou EG, Bontis J, Tarlatzis BC. // Fertility Sterility. 2009 Mar;91(3): C 749-66.
4. The Bologna criteria for poor ovarian response: the good, the bad and the way forward // Christos A. Venetis .- Human Reproduction, Volume 29, Issue 9, 1 September 2014, C 1839–1841
5. Weil SJ1, Vendola K, Zhou J, Adesanya OO, Wang J, Okafor J, Bondy CA. Androgen receptor gene expression in the primate ovary: cellular localization, regulation, and functional correlations. J Clin Endocrinol Metab. 1998 Jul;83(7):2479-85.
6. ESHRE Capri Workshop Group Fertility and ageing // Human Reproduction Update. 2005;11:261-276.
7. Effect of dehydroepiandrosterone on oocyte and embryo yields, embryo grade and cell number in IVF// David Barad, Norbert Gleicher. Human Reproduction, 2006 21(11): C 2845– 2849.
8. Is there a role for DHEA supplementation in women with diminished ovarian reserve? // Mazen R. Fouany and Fady I. Sharara.-Journal of Assisted Reproduction & Genetic. 2013 Sep; 30(9): C 1239–1244.
9. Ovarian reserve tests //Padma Rekah Jirge.– Journal of Human Reproduction Science. – 2011 Sep-Dec; 4(3): C 108–113.
10. Principles and Methods of Toxicology, 4th edition. / edited by A. Wallace Hayes, 2001. 1887 p.
11. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації // За ред. О.В. Стефанова. – К., 2001. – 527 с.
12. Repeated Dose Toxicity. – Annex to Directive 75/318/EEC (April 1984).
13. Guidance for Industry and Reviewers Estimating the Safe Starting Dose in Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers U. S. of Department of Health and Human Services, FDA, CDER and CBER. – <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>.
14. Лабораторные исследования в клинике / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 365 с.

Статья поступила в редакцию 26.12.2018