

УДК 612.62.31:591.461.1+612.43.018.2

Е.Є. Чистякова, Н.П. Смоленко, Н.О. Карпенко, А.І. Гладкова

## ВІДДАЛЕНІ НАСЛІДКИ ФІТОЕСТРОГЕНІЗАЦІЇ МАТЕРІ ДЛЯ РЕПРОДУКТИВНОЇ ФУНКЦІЇ ЇЇ НАЩАДКІВ ЖІНОЧОЇ СТАТІ

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я.Данилевського АМН України» (м. Харків)

Робота виконана згідно з планової НДР АМН 04.06 «Визначити вікову залежність реактивності до несприятливих чинників у нащадків батьків з репродуктивними розладами», № держреєстрації 0106U002109.

**Вступ.** Здоров'я жінки завжди притягувало увагу дослідників. Несприятлива екологічна ситуація, економічні негаразди, стрес, погіршеності харчування призводять до погіршення стану здоров'я майбутньої матері і, як наслідок, її дитини. Дуже часто сучасні харчові технології передбачають додавання до продуктів похідних сої (мука, молоко), яка є багатим джерелом фітоестрогенів (ФЕ) – гормонально активних сполук. За даними закордонних дослідників, ФЕ можуть виступати як ендокринні деструктори, імітуючи дію статевих гормонів. На теперішній час є багато експериментальних і клінічних спостережень, якими доведено, що при певних обставинах ФЕ можуть відігравати провокуючу або патогенетичну роль у виникненні репродуктивних розладів [5, 7, 8, 12]. При тривалому застосуванні, не дивлячись на слабку естрогенну дію ФЕ в порівнянні з Е2 (17 $\beta$ -естрадіол) [15], ефект може виявитися як естрогенним, так і антиестрогенним – в залежності від дози і наявності ендogenous Е2. Чим вища доза ФЕ, тим більший у них антиестрогенний ефект [12]. Зміна гормонального статусу може викликати ефект інгібування або посилення експресії різних генів, що призводить до появи репродуктивних аномалій, дисфункцій у жіночому організмі, змін якості статевих клітин. Ці розлади можуть позначитись на наступному поколінні і, навіть, стати причиною порушень післянатального розвитку дитини.

**Метою нашого дослідження** було вивчення віддалених наслідків фітоестрогенізації матері для репродуктивної функції нащадків жіночої статі.

**Об'єкт і методи дослідження.** Дослідження виконані на статевозрілих самках щурів популяції Вістар у віці 4-5 місяців масою тіла 200-250 г. Самки до вагітності протягом 30 днів з кормом отримували препарат Genistein Soy Complex isoflavone-rich (фірми SoyLife, USA) у дозі 20 мг/кг маси тіла. При встановленні ре-

жиму призначення ФЕ ми виходили із даних про їх ефективність залежно від дози і часу насичення організму [3, 5].

Інтактних та фітоестрогенізованих самок спаровували з інтактними самцями та отримували нащадків. У самок-нащадків контролю та піддослідної груп вивчали строки відкриття піхви, фазову структуру та загальну тривалість естрального циклу, статеву поведінку та фертильність. Фазову структуру естрального циклу та його загальну тривалість визначали за цитологією ранкових вагінальних мазків протягом 16 днів. Статеву поведінку в самок оцінювали по її процетивних та рецептивних показниках в стадії проеструс-еструс у 15 хв парному тесті в присмерковий час. У сумарний показник процетивної поведінки увійшли: знайомство, залицяння, реагування на самця. Як показник рецептивності самки оцінювався коефіцієнт лордозу (відношення кількості лордозних поз самки до загальної кількості садок та інтромісій самця у відсотках). Фертильність самок вивчали після запліднення їх інтактними здоровими самцями вагою 250-300 г. Першу добу вагітності визначали за наявністю сперматозоїдів у ранкових піхвових мазках. Запліднених самок знеживлювали на 12 добу вагітності, вилучали яєчники та матку, підраховували кількість жовтих тіл вагітності, місць імплантації та плодів. Розраховували індекс запліднення та індекс вагітності, рівень перед-, післяімплантаційних та загальних внутрішньоутробних втрат [2].

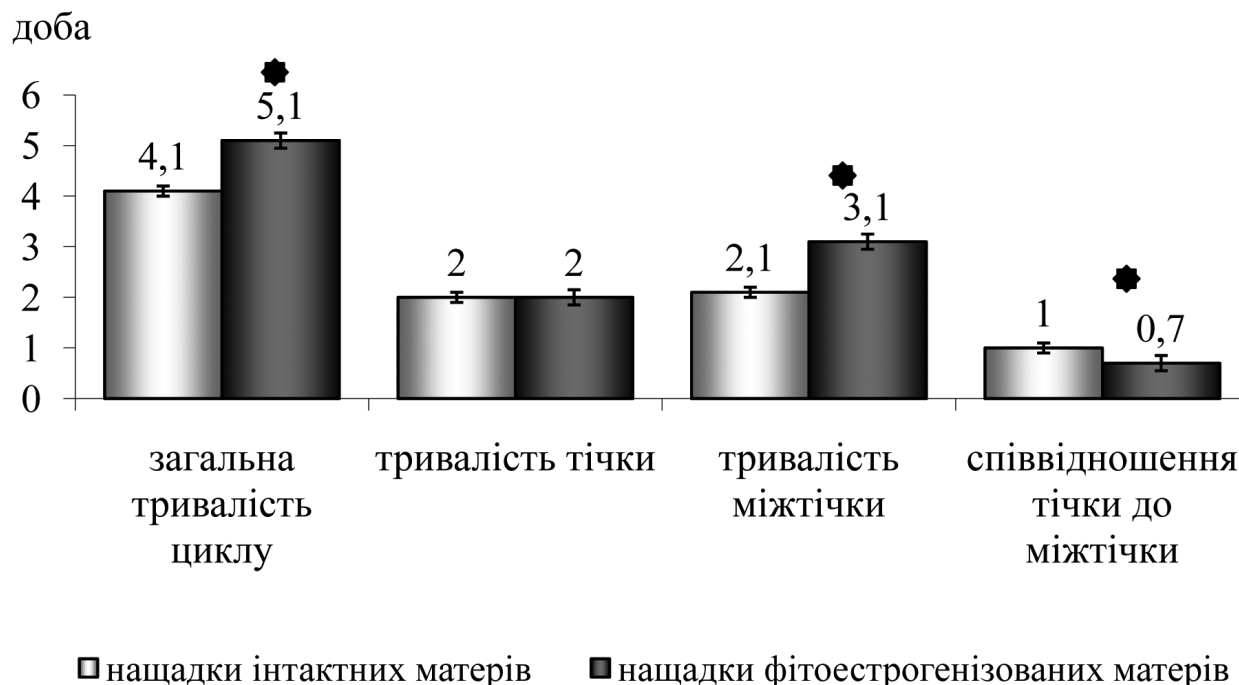
Дані статистично оброблено за допомогою параметричних і непараметричних методів (критерій t Ст'юдента, критерій U Манна-Вітні) [6]. Відмінності вважалися вірогідними при  $P \leq 0,05$ .

**Результати досліджень та їх обговорення.** Фітоестрогенізація матерів до вагітності призводить до прискорювання відкриття піхви в їх нащадків-самок на 8,5 % ( $P < 0,01$ ) порівняно з нащадками інтактних матерів ( $39,7 \pm 1,0$  днів, проти  $43,2 \pm 0,4$  днів в контролі). Як відомо, початок статевого дозрівання пов'язують з гострим підвищенням рівня естрогенів у крові, слідом за яким у щурів відбувається відкриття піхви [1, 16]. Тобто, можна при-

пустити, що вміст естрогенів у нащадків фітоестрогенізованих матерів був підвищеним порівняно з контролем. За нашими даними [3], в сироватці крові майбутніх матерів зафіксовано зростання рівнів як естрадіолу в 1,8, так і тестостерону в 3,2 рази. Крім того, досліди *in vitro* свідчать, що ФЕ пригнічують продукцію прогестерону трофобластами плаценти людини [11]. То ж у період вагітності рівновага статевих гормонів та прогестерону матерів була порушена.

Після досягнення 4-місячного віку у самок нащадків інтактної та піддослідної груп вивчали загальну тривалість та фазову структуру естрального циклу, який віддзеркалює

функціональну активність репродуктивної системи (рис. 1). Усі щури мали регулярний естральний цикл. Його загальна тривалість у нащадків фітоестрогенізованих матерів порівняно з нащадками інтактних матерів збільшилася на 27,5% ( $P=0,05$ ) за рахунок подовження міжтічки. Внаслідок цього в піддослідних самок зменшилося співвідношення тривалості тічки до міжтічки на 30% ( $P=0,05$ ) порівняно з контролем (рис. 1). Перебільшення міжтічкового періоду над тічковим могло бути наслідком пригнічення фолікулогенезу або пролонгації функції післяовуляторних жовтих тіл.

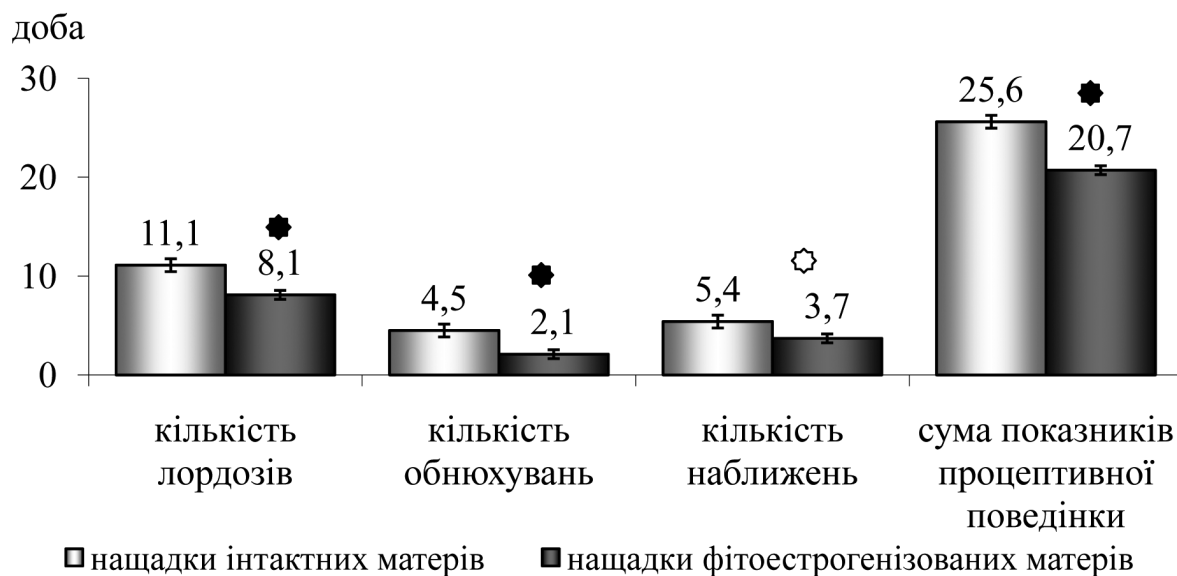


◆ – різниця між групами ( $P<0,05$ ).

Рис. 1. Показники естрального циклу самок нащадків інтактних та фітоестрогенізованих матерів.

При вивченні статевої поведінки у самок нащадків фітоестрогенізованих матерів виявилось зниження кількості деяких показників порівняно з такими в тварин контрольної групи (рис. 2). А саме: кількість обнюхувань та наближень самок до самця знизилася на 53 та 31%, відповідно ( $P<0,05$ ). При цьому сума всіх показників процептивної поведінки зменшилася на 19% ( $P<0,05$ ). Протягом всього тестування піддослідні самки на садки та інтромісії інтактних самців відповіда-

ли позою лордозу. Однак кількість останньої знижувалася на 27% ( $P<0,05$ ) у піддослідних нащадків порівняно з таким у інтактних тварин. Коефіцієнт лордозу при цьому дорівнював 100%, що спостерігалось і в інтактних самок. Тобто, при збереженні рецептивності самок їх привабливість для самців знижувалась. Цікаво, що в їх матерів, які до вагітності вживали ФЕ, також пригнічувалась процептивна поведінка і зменшувалась кількість лордозів [10].



◆ – різниця між групами ( $P < 0,05$ ); ◊ – різниця між групами ( $P = 0,05$ ).

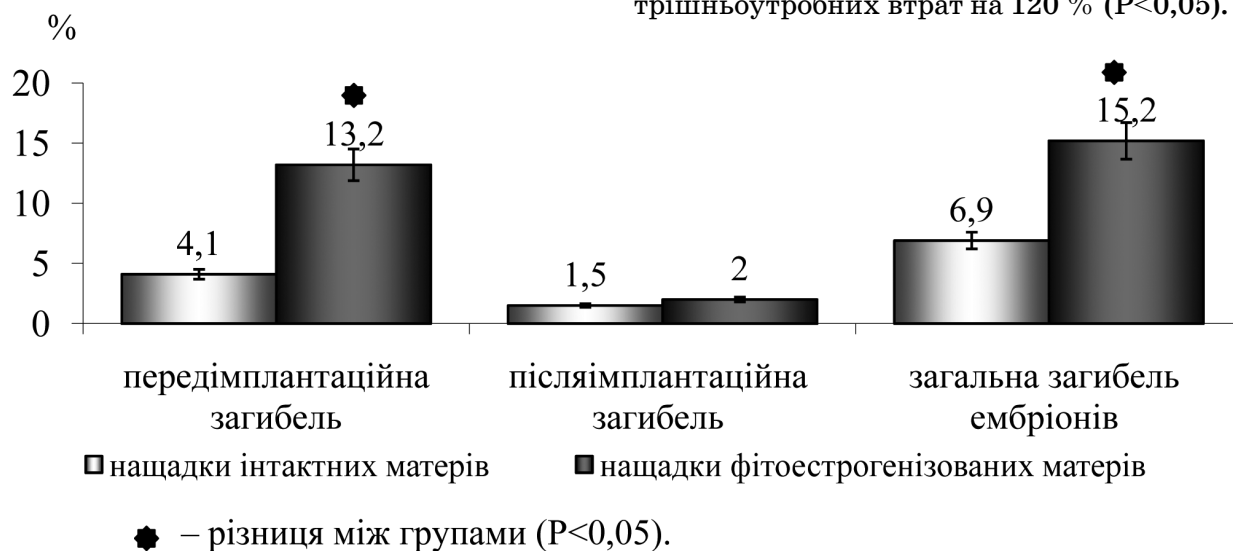
**Рис. 2.** Показники статевої поведінки самок нащадків інтактних та фітоестрогенізованих матерів.

Регуляція статевої поведінки у самок щурів відбувається під впливом естрогенів та прогестерону. Останній сенсibiliзує мозок до дії естрогену. Відомо, що в компоненті статевої поведінки розрізняють центральний та периферичний механізми. Регуляція центрального (мотиваційного) компонента в самок щурів відбувається під впливом прогестерону, периферичного (прийняття лордозної пози) – естрогенів [17]. В нашому експерименті у самок-нащадків фітоестрогенізованих матерів пригнічувалася як процептивні, так і рецептивні компоненти статевої поведінки. Тобто, можна припустити, що в дорослому

віці в них знижуються рівні естрадіолу та прогестерону.

Однак, не зважаючи на це, всі самки, як інтактні, так і піддослідні, змогли спаруватися з інтактними самцями та стали вагітними. Індекси фертильності та вагітності в обох групах дорівнювали 100 %.

При дослідженні показників вагітності в самок-нащадків фітоестрогенізованих матерів виявилось, що рівень передімплантаційних втрат зростав на 230% ( $P < 0,05$ ) порівняно з таким у інтактних нащадків жіночої статі (рис. 3). Внаслідок цього в піддослідних щурів підвищився рівень загальних внутрішньоутробних втрат на 120% ( $P < 0,05$ ).



◆ – різниця між групами ( $P < 0,05$ ).

**Рис. 3.** Показники вагітності самок нащадків інтактних та фітоестрогенізованих матерів.

Як відомо, втрата запліднених яйцеклітин до імплантації – природне явище [9, 13], яке пов'язане з селекцією аномальних гамет і зародків [4]. Можна припустити, що збільшення відсотку внутрішньоутробних втрат пов'язано зі значною кількістю яйцеклітин низької якості або зниженням рівню прогестерону, необхідного для імплантації бластоцист [4]. Таким чином, фітоестрогенізація самок щурів до вагітності негативно впливає на становлення репродуктивної функції їх дорослих нащадків жіночої статі.

#### Висновки.

1. Фітоестрогенізація самки до вагітності призводить до прискорення статевого дозрівання в її нащадків жіночої статі.

2. У дорослому віці в самок-нащадків фітоестрогенізованих матерів порушується репродуктивна функція, про що свідчить збільшення тривалості естрального циклу за рахунок подовження міжтічкового періоду, пригнічення статевої поведінки, погіршення імплантації та виношування плодів.

**Перспективи подальших досліджень.** В подальшому було б доцільно оцінити стан яйцеклітин фітоестрогенізованих матерів, що дасть змогу пояснити отримані результати.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бабичев, В. Н. Нейроендокринологія пола [Бишовець, Т. Ф. Експериментальне вивчення ембріотоксичної дії лікарських засобів [Текст] / Т. Ф. Бишовець // Доклінічні дослідження лікарських засобів : Методичні рекомендації за ред. О. В. Стефанова. – К., 2001. – С. 115-138.
2. Вплив фітоестрогенів на репродуктивну систему самок щурів та їх нащадків [Текст] / О. В. Сомова, А. І. Гладкова, Е. Є. Чистякова [та ін.] // Фундаментальна та клінічна ендокринологія: проблеми, здобутки, перспективи (Сьомі Данилевські читання) : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 21-22 лют. 2008 р. – Х., 2008. – С. 127-128.
3. Йен, С. С. К. Репродуктивная эндокринология. Том 2. [Коренева, Е. М. Фитоэстрогены. Влияние на репродуктивную систему [Текст] / Е. М. Коренева, Н. А. Карпенко // Пробл. эндокрин. патологии. – 2007. – № 3. – С. 87-95.
4. Лапач, С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel [Никитин, А. И. Гормоноподобные ксенобиотики и репродуктивная система [Текст] / А. И. Никитин // Пробл. репродукции. – 2002. – Т. 8, № 2. – С. 5-15.
5. Никитин, А. И. Вредные факторы среды и репродуктивная система человека [Текст] / А. И. Никитин. – СПб. : ЭЛБИ, 2005. – 215 с.
6. Светлаков, А. В. Апоптоз в преимплантационном эмбриогенезе [Статеві особливості впливу фітоестрогенів на репродуктивну функцію [Effects of phytoestrogens genistein and daidzein on progesterone and estrogen (estradiol) production of human term trofoblast cells in vitro [Text] / D. U. Richter, I. Mylonas, B. Toth [et al.] // Gynecol. Endocrinol. – 2009. – Vol. 25, № 1. – P. 32-38.
7. Exerty of coumestrol estrogen receptor – function and uterine growth in ovariectomized rats [Text] / B. M. Markaverich, B. Webb, Ch. Z. Densmore [et al.] // Environm. Hlth Persp. – 1995. – Vol. 103. – P. 574-581.
8. Johnson, A. L. Caspase-mediated apoptosis in the vertebrate ovary [Text] / A. L. Johnson, J. T. Bridgham // Reproduction. – 2002. – Vol. 124, № 1. – P. 19-27.
9. Knight, D. Review of the clinical effects of phytoestrogens [Text] / D. Knight, J. Eden // Obstet. Gynecol. – 1996. – Vol. 87. – P. 897-904.
10. Oestrogenic potencies of zeranol, oestradiol, diethylstilbestrol, Bisphenol-A and genistein : implications for exposure assessment of potential endocrine disrupters [Text] / H. Zeffers, M. Naesby, B. Vendelbo [et al.] // Hum. Reprod. – 2001. – Vol. 16, № 5. – P. 1037-1045.
11. Ojeda, S. R. Puberty in the rat [Text] / S. R. Ojeda, H. F. Urbanski. – In: E. Khibil, J. D. Neill (eds.). The physiology of reproduction. 2-nd edit. New York : Raven Press, Ltd., 1994. – P. 363-409.
12. The neurosteroids, progesterone and 3alpha,5alpha-THP, enhance sexual motivation, receptivity, and proceptivity in female rats [Text] / C. A. Frye, L. E. Bayon, N. K. Pursnani, R. H. Purdy // Brain Res. – 1998. – Vol. 808, № 1. – P. 72-83.

**УДК** 612.62.31:591.461.1+612.43.018.2

### ОТДАЛЕННЫЕ ПОСЛЕДСТВИЯ ФИТОЭСТРОГЕНИЗАЦИИ МАТЕРИ ДЛЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ ЕЕ ПОТОМКОВ ЖЕНСКОГО ПОЛА

Чистякова Э.Е., Смоленко Н.П., Карпенко Н.А., Гладкова А.И.

**Резюме.** Значительное количество гормонально активных компонентов рациона, а именно фитоэстрогенов (ФЭ) сои и ее производных, может изменять гормональное состояние особи и влиять на качество гамет. Для выявления отдаленных последствий поступления избытка ФЭ для потомства интактным самкам крыс 30 дней скормливали смесь ФЭ в дозе 20 мг/кг м. т. по генистеиновому эквиваленту, после чего спаривали с интактными самцами. У самок-потомков фитоэстрогенизированных матерей выявлено ускорение полового созревания (на 8,5 %,  $P < 0,01$ ), а в половозрелом возрасте – увеличение продолжительности эстрального цикла (на 27,5 %,  $P = 0,05$ ) за счет удлинения межтечкового периода, угнетение полового поведения (количество лордозов уменьшилось на 27 %,  $P < 0,05$ ), увеличение внутриутробных потерь (на 120 %,  $P < 0,05$ ), что свидетельствует о нарушениях репродуктивной функции.

**Ключевые слова:** фитоэстрогены, матери, самки-потомки, половое созревание, репродуктивная функция.

**UDC** 612.62.31:591.461.1+612.43.018.2**REMOTE AFTEREFFECTS of REACTIVITY of the REPRODUCTIVE SYSTEM to the PHYTOESTROGEN ACTION in FEMALE RAT**

Chistyakova E.Ye., Smolenko N.P., Karpenko N.O., Gladkova A.I.

**Summary.** A great amount of hormonal active ingredients of ration such as soy bean and its derivatives phytoestrogens (PhE) can change the hormonal “mirror” of organisms and influence on the quality of gametes. In order to reveal long-time consequences for offsprings the intact female rats have been given a mixture of PhE in a dose of 20 mg/kg b.m. for 30 days (by genistein equivalent) and then they were mated with intact males. Have been determined the acceleration of pubescence (by 8,5 %, P < 0,01), the elongation of estrous cycle (by 27,5 %, P = 0,05) for the prolonged diestrus period, depression of sexual behaviour (lordosis cases decreased by 27 %, P < 0,05), the increase of intrauterus losses suggesting about the disturbed reproductive function have been determined in female offsprings born from phytoestrogenized mothers.

**Key words:** phytoestrogens, mother, female offsprings, pubescence, reproduction.

*Стаття надійшла 16.02.2010 р.*

**УДК** 616-089:616.366-089-085:616.366-003.7

Б.Ф. Шевченко, О.М. Бабій, С.О. Бабій, Н.В. Пролом

**ВІДАЛЕНІ РЕЗУЛЬТАТИ МІНІІНВАЗИВНОЇ ХОЛЕЦИСТОЛІТОТОМІЇ У ХВОРИХ НА НЕУСКЛАДНЕНИЙ ПООДИНОКИЙ ХОЛЕЦИСТОЛІТІАЗ**

ДУ “Інститут гастроентерології АМН України” (м. Дніпропетровськ)

Робота є фрагментом науково-дослідних тем, що виконувались в ДУ “Інститут гастроентерології АМН України” «Вивчити механізми структурних та функціональних змін печінки і підшлункової залози при підпечінковому холестази та розробити обґрунтовані методи його хірургічної корекції» (номер держреєстрації 0101U000642); «Розробка методів підвищення ефективності хірургічної корекції порушень прохідності проток панкреатобілярної системи непухлинного генезу», (номер держреєстрації 0103U000008).

**Вступ.** Холецистектомія (ХЕ) з приводу холецистолітіазу (ХЛ), посідає друге місце за поширеністю після апендектомії [4,6]. Тривожним фактом є неухильне зростання захворюваності на ХЛ, у тому числі й в Україні [19]. Проблема оптимізації хірургічної тактики у хворих на ХЛ залишається однією з актуальних в хірургії [12,18,21]. У зв'язку з втратою функціонуючого жовчного міхура (ЖМ) при ХЕ, в 15–40 % випадках

зустрічаються стійкі функціональні розлади травлення, які об'єднують в клінічний симптомокомплекс під назвою постхолецистектомічний синдром [1]. Спроби до виконання органозберегаючого хірургічного лікування ХЛ - холецистолітотомії (ХЛТ) робилися досить часто, але вони неодноразово підлягали критиці і відхилялися у зв'язку з рецидивом каменеутворення у 20 до 40 % [7,14,20].

На даний час враховують, що основними патогенетичними ланками ХЛ являються зміни хімічного складу жовчі та порушення скоротливої функції ЖМ. Літогенна жовч характеризується низьким вмістом жовчних кислот (ЖК) і фосфоліпідів (ФЛ), збільшенням вмісту холестерину (Х), що в сполученні з наявністю факторів нуклеації, приводить до зміни жовчних міцел, а залишок Х, приймаючи участь в формуванні кристалів ініціює каменеутворення [4,6,16]. Неможна не враховувати той факт, що для ХЛ характерні патологічні зміни стінки ЖМ, що впливають