 Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА**

**«IНСТИТУТ ПРОБЛЕМ ЕНДОКРИННОЇ ПAТОЛОГІЇ**

**ім. В. Я. ДАНИЛЕВСЬКОГО АКАДЕМIЇ МЕДИЧНИХ НАУК**

**УКРАЇНИ»**

**ЧИСТЯКОВА Еліна Євгенівна**

УДК:612.616+636:591:591.3+591.463.12

**СТАН РЕПРОДУКТИВНОЇ ФУНКЦІЇ НАЩАДКІВ СТРЕСОВАНИХ**

**САМЦІВ ЩУРІВ**

14.01.14 – ендокринологія

**Автореферат**

**дисертації на здобуття наукового ступеня**

**кандидата біологічних наук**

Xapкiв – 2009

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Державній установі «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського Академії медичних наук України»

**Науковий керівник** доктор біологічних наук, професор **Гладкова Алла Іванівна**, Державна установа «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського Академії медичних наук України», провідний науковий співробітник лабораторії репродуктивної ендокринології

**Офіційні опоненти:**

доктор медичних наук, професор **Давидов Вадим В’ячеславович**, Державна установа «Інститут охорони здоров’я дітей і підлітків Академії медичних наук України», завідувач лабораторії вікової ендокринології і обміну речовин

доктор біологічних наук, старший науковий співробітник **Бондаренко Людмила Олександрівна**, Державна установа «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського Академії медичних наук України», завідувачка лабораторії хроноендокринології

Захист відбудеться « 25 » червня 2009 р. о 13.30 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.564.01 при Державній установі «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського Академії медичних наук України» (61002, м. Харків, вул. Артема, 10).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Державної установи «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського Академії медичних наук України» (61002, м. Харків, вул. Артема, 10).

Автореферат розісланий « 22 » травня 2009 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради

к.мед.н. Т. М. Тихонова

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

Актуальність теми. Демографічна криза в Україні, на подолання якої була спрямована державна програма «Репродуктивне здоров’я», потребує поглибленого вивчення причин зменшення народжуваності. За останні роки кількість дитячого населення України скоротилася на 1,5 млн. (Зелінська Н. Б., 2007). Одна з причин такого положення – це зниження репродуктивних можливостей та захворювання opгaнiв репродуктивної системи майбутніх батьків. В Укpaїнi частота безплідних шлюбів становить 15-17 % та має тенденцію до зростання (Іванюта Л. І., 1996; Павлова Л. П. та співавт., 2002). Доля чоловічого фактору в безплідному шлюбі складає 20-50 % (Іванюта Л. І., 1996; Бойко Н. И., 2002; Павлова Л. П. та співавт., 2002; Первак І., 2004). Це обумовлює необхідність проведення наукових досліджень, спрямованих на визначення факторів ризику виникнення порушень репродуктивної функції у чоловіків.

Причини, що призводять до пригнічення статевої функції чоловічого організму, зокрема сперматогенезу, дуже різноманітні: несприятлива екологічна ситуація, економічні негаразди, погіршення соціальних умов, стрес (Возіанов О. Ф., 1998; Пенжоян Г. А. та співавт., 2000; Lenzi А. et al., 2003; Первак І., 2004; Martini A. et al., 2004; Галімов Ш. Н. та співавт., 2005; Collodel G. et al., 2008). Але якщо наслідки несприятливих умов для репродуктивної функції батьків досить досконало досліджуються, то стан соматичного і репродуктивного здоров’я народжених від них нащадків практично не вивчений. Цьому є багато причин. Зокрема, в клінічних умовах складно простежити за дитиною від часу народження до статевої зрілості в зв’язку з роз’єднаністю в часі цих періодів. Тому вирішення цих питань можливо за умов експерименту.

У літературі є чисельні дані про вплив стану здоров’я матері, особливо під час вагітності, на її нащадків (Резніков О. Г. та співавт., 2004; Татарчук Т. Ф., 2006; Картавцева О. В., 2006; Вторушина Е. В., Брюхін Г. В., 2008). У той же час роль батька, як носія репродуктивного здоров’я дітей, досліджено значно меншою мірою.

Механізмом передачі інформації від батьків до нащадків може бути зміна структури та/або функціональної активності сперматозоїдів, на які, в свою чергу, впливають генетичні, гормональні, метаболічні фактори. Можливість впливу стану здоров’я батька на дитину було підтверджено в клінічних дослідженнях різного напрямку. Віддалені наслідки (у вигляді ендокринних порушень) зареєстровані в нащадків, батьки яких вживали наркотики, етанол або постійно мали справу зі свинцем, органічними розчинами, дефоліантами, пестицидами, були піддані дії радіації (Hu W. Y., 1992; Schrader S., Lamasters G. K., 2002; Hooiveld M. et al., 2006; Карпенко Н. О., 2007; Плєхова О. І., 2008). Однак багато питань залишаються невирішеними. Серед них важливе місце посідають дослідження віддалених наслідків стресування батька. Адже доведено, що стрес може бути як головним, так i додатковим етіологічним чинником багатьох захворювань, до яких відносяться i рiзноманiтні розлади в репродуктивній системі (Юрченко Г. Г. та співавт., 1995; Jakobovits A. A. et al., 2002; Москаленко В. Ф. та співавт., 2004).

Як у клінічних, так і в експериментальних дослідженнях майже не знайшло відображення питання про чутливість репродуктивної системи нащадків, отриманих від батька з ушкодженим репродуктивним станом, до дії патогенних чинників та про статеві відмінності. Останнє, однак, має велике практичне значення, бо саме ці знання допоможуть прогнозувати можливість успадкування розладів у нащадків чоловічої та жіночої статі.

Практично відсутні дані відносно того, чи впливають на сомато-статевий розвиток та репродуктивну функцію нащадків зміни в психо-емоційному, гормональному та метаболічному стані батька перед заплідненням. Вкрай обмежена кількість робіт, у яких вивчалися б наслідки стресування самця залежно від стадії сперматогенезу, на якій він піддавався стресу, для сомато-статевого розвитку нащадків. Тому в нашому дослідженні передбачено вивчення цих питань, а також визначення стадій сперматогенезу, найбільш вразливих до метаболічного та гормонального дисбалансу, спричиненого дією стресу. Такий напрямок досліджень допоможе запропонувати оптимальний час запліднення в тому разі, якщо на батька діяли шкідливі для сперматогенезу чинники, зокрема стрес.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційну роботу виконано у відповідності до плану наукових робіт ДУ «Інститут проблем ендокринної патології iм. В. Я. Данилевського АМН України», вона є фрагментом тем: «Наслідки репродуктивних розладів у батька для сомато-статевого розвитку нащадків обох статей. Негормональна корекція», номер Державної реєстрації 0103U000370; «Визначити вікову залежність реактивності до несприятливих чинників у нащадків батьків з репродуктивними розладами», номер Державної реєстрації 0106U002109.

**Мета i завдання доcлiдження.** Метою роботи є визначення особливостей сомато-статевого розвитку та функціонального стану репродуктивної системи нащадків стресованих самців, а також чутливості їх репродуктивної системи до стресування в пубертаті.

Досягнення поставленої мети здійснювалося шляхом вирішення наступних завдань:

1. Визначити наслідки семиденного стресування шляхом іммобілізації для стану репродуктивної системи самців-плідників та встановити найбільш уразливу до дії стресу стадію сперматогенезу за показниками спермограми та фертильності.
2. Вивчити показники постнатального сомато-статевого розвитку нащадків обох статей, отриманих від стресованих самців.
3. Визначити показники репродуктивної функції самців-нащадків, обтяжених батьківським стресом.
4. Визначити показники репродуктивної функції самок-нащадків, обтяжених батьківським стресом.
5. Вивчити віддалені наслідки стресування в пубертаті для репродуктивної функції нащадків обох статей, отриманих від стресованих самців.

*Об’єкт дослідження* – функціональний стан репродуктивної системи у батьків та їх статевозрілих нащадків обох статей щурів популяції Вістар, отриманих від стресованих самців.

*Предмет дослідження* – репродуктивні органи (сім’яники, сім’яні пухирці, передміхурова залоза, епідидиміси та яєчники), надниркові залози, гіпофіз, тимус, сироватка крові (визначення концентрації тестостерону, естрадіолу, кортикостерону, пролактину, вмісту відновленого глутатіону та речовин, що реагують з тіобарбітуровою кислотою).

*Методи дослідження:* фізіологічні, біохімічні, морфологічні, цитологічні, імуноферментні та статистичні методи.

**Наукова новизна одержаних результатів.** У дисертаційній роботі вперше визначені наслідки стресу батька, спаровування якого здійснювалось в різні строки після стресування з урахуванням стадій сперматогенезу, для сомато-статевого розвитку та стану репродуктивної функції нащадків обох статей. Показано, що стресування самців перед спаровуванням з інтактними самками призводить до затримки соматичного та статевого розвитку нащадків. У дорослому віці як у самців, так і в самок-нащадків стресованих батьків, спостерігаються певні розлади в функціонуванні репродуктивної системи, які мають прояви в порушенні статевої поведінки, пригніченні сперматогенезу та оогенезу та зниженні фертильності.

Виявлено послаблення реактивності репродуктивної системи дорослих нащадків обох статей, отриманих від стресованих батьків та інтактних матерів, до дії іммобілізаційного стресу в пубертаті.

**Практичне значення одержаних результатів.** Отримані дані можуть бути використані як теоретичне обґрунтування розробки практичних заходів, спрямованих на профілактику негативних наслідків стресування батька для сомато-статевого розвитку та репродуктивної функції його нащадків обох статей.

Результати проведеного дослідження є теоретичним обґрунтуванням виділення груп ризику щодо виникнення порушень репродуктивної функції.

Матеріали роботи можуть бути корисні для лiкарiв-ендокринологів, сексопатологів, андрологів, педіатрів та використані у відповідних лекційних курсах.

**Особистий внесок здобувача.** Здобувач брав безпосередню участь у виконанні всіх експериментів, результати яких викладено в дисертації. Аналіз та систематизацію результатів, статистичну обробку даних, обґрунтування наукових положень та висновків, а також написання дисертаційної роботи автор виконав самостійно. Визначення рівнів гормонів у сироватці крові, а також продуктів вільнорадикального окислення та рівень відновленого глутатіону в сім’яниках проведено разом із к. б. н., с. н. с. О. В. Сомовою. Аналіз спермограми проведено разом з к. б. н. В. М. Золотухіною.

**Апробація результатів дисертації.** Матеріали дисертації доповідалися та обговорювалися на науково-практичних конференціях: «Фундаментальні питання експериментальної та клінічної ендокринології (Четверті Данилевські читання)» (Харків, 2005 р.), «Експериментальна та клінічна ендокринологія: фундаментальні та прикладні питання (П’яті Данилевські читання)» (Харків, 2006 р.), «Наукові та практичні проблеми ендокринної патології в різних вікових періодах» (Харків, 2006 р.), «Експериментальна та клінічна ендокринологія: від теорії до практики (Шості Данилевські читання)» (Харків, 2007 р.), «Медико-соціальні проблеми дитячого віку» (Тернопіль, 2007 р.), VΙΙ з’їзд асоціації ендокринологів України (Київ, 2007 р.), «Фундаментальна та клінічна ендокринологія: проблеми, здобутки, перспективи (Сьомі Данилевські читання)» (Харків, 2008 р.).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 11 наукових праць, з яких 4 статті, з них 3 статті (1 – одноосібна, 2 – у співавторстві) у фахових виданнях, рекомендованих ВАК України та 7 тез доповідей у матеріалах вітчизняних з’їздів та конференцій.

**Обсяг i структура дисертації.** Дисертaцiю викладено на 165 cтopiнкax друкованого тексту. Робота складається із вступу, огляду літератури, чотирьох роздiлiв власних досліджень, заключення, висновків та списку використаних джерел, який містить 286 посилань та займає 31 cтopiнку. Роботу ілюстровано 26 таблицями, 8 рисунками.

**ОСНОВНИЙ ЗМIСТ РОБОТИ**

**Матеріали та методи дослідження.** Дослідження проведені на статевозрілих самцях щурів популяції Вістар з масою тіла 250-300 г віком чотири-шість місяців та їх нащадках обох статей різного віку. Всього в експериментах використано 1189 щурів різних вікових груп. Уci дослідження проводили відповідно до національних “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах” (Україна, 2001), узгоджених з положеннями “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1985). Щурів утримували в стандартних умовах віварію при природному освітленні та рекомендованому для них харчовому раціоні.

Моделювання порушення сперматогенної функції відтворювали шляхом стресування самців щоденною одногодинною іммобілізацією на спині з фіксацією обох пар лап протягом семи діб (Repčecova D., Mikulay Z., 1977).

Спаровування самців з інтактними самками здійснювали в різні строки після відміни стресування з урахуванням тривалості стадій сперматогенезу, а саме: через 1 добу, коли дії стресу підлягали зрілі епідидимальні спермії (група 2), через 15 діб – сперматиди (група 3), через 28 діб – сперматоцити (група 4), через 48 діб – сперматогонії (група 5). Контролем були інтактні самці, спаровані з інтактними самками (група 1).

У отриманих нащадків вивчали показники соматичного розвитку. Реєстрували час відлипання вушок, появи генералізованого волосяного покриву, прорізування зубів, відкриття очей; динаміку маси тіла; виживання. У щурят в першу добу життя вимірювали АГВ (ано-генітальна відстань). Показниками початку статевого розвитку щурят був термін опущення яєчок у мошонку та відкриття піхви.

Частину нащадків обох статей, отриманих від інтактних самців (група 1б), та стресованих самців (група 2б), спаровування яких з інтактними самками відбувалося через 28 діб після відміни стресування, піддавали дії семиденної іммобілізації з 40 доби життя за тією ж схемою, що й їх батьків. Контролем були інтактні нащадки (група 1а) та ті, які народились від самців, яких спаровували з інтактними самками через 28 діб після відміни стресування (група 2а).

За нащадками обох статей контрольної та піддослідних груп спостерігали до досягнення ними чотиримісячного віку. У самців-батьків та їх нащадків обох статей статевозрілого віку (120 діб) досліджували стан репродуктивної функції; у самців-батьків – оцінювали вплив стресування на процеси ВРО (вільнорадикальне окислення) і антиоксидантного захисту.

Статеву поведінку самців-батьків та їх нащадків чоловічої статі вивчали в парному тесті з оваріектомованими рецептивними самками. Тривалість тесту складала 15 хвилин. Вихідний рівень статевої активності досліджуваних самців оцінювали за результатами четвертого тесту. Реєстрували такі показники: кількість та латентні періоди (час від початку тесту до перших проявів статевої активності) садок, інтромісій та еякуляцій, постеякуляторний рефрактерний період (час між еякуляцією та початком наступної серії прояву статевої активності), кількість інтромісій до еякуляції (Буреш Я. та співавт., 1991).

У статевозрілих самок-нащадків статеву поведінку вивчали в стадії проеструс-еструс. До сумарного показника процептивної поведінки увійшли: знайомство (наближення самки до самця, обнюхування), «залицяння» (штовхання самця лапою, пробіг перед самцем), реагування на самця (тремтіння вух, стрибки, пробіжки). Оцінювався коефіцієнт лордозу (відношення кількості лордозних поз до загальної кількості садок, інтромісій та еякуляцій) як показник рецептивності самки.

Оцінку фертильності стресованих самців-батьків та їх нащадків чоловічої статі проводили за результатами їх спаровування з інтактними статевозрілими самками з регулярним естральним циклом. За першу добу вагітності вважали день появи у вагінальному мазку сперматозоїдів. Визначали індекси покриття (доля самок, які наступної доби мали у вагінальних мазках сперматозоїди) та вагітності (доля вагітних самок у групі). У декапітованих на 20 добу вагітності самок, яких спаровували з стресованими самцями, або на 12 добу вагітності нащадків жіночої статі та самок, яких спаровували з самцями-нащадками стресованих батьків, підраховували кількість жовтих тіл у яєчниках, місць імплантації та живих плодів у матці, на підставі чого визначали до- та післяімплантаційну загибель плодів і відсоток загальної ембріональної смертності (Бішовець Т.Ф., 2001). Рівень доімплантаційних втрат встановлювали за різницею між кількістю жовтих тіл у яєчниках та місць імплантації у матці, а рівень післяімплантаційної загибелі плодів – за сумою резорбцій та загиблих плодів у матці. У декапітованих на 20 добу вагітності самок вилучали та зважували плаценти і плоди, у яких вимірювали краніо-каудальний розмір.

Фертильність самок-нащадків стресованих та інтактних самців-батьків оцінювали після парування з інтактними здоровими самцями.

Спермограму самців-батьків (через 1, 15, 28 та 48 діб після відміни стресування) та їх нащадків чоловічої статі оцінювали за загальноприйнятою методикою (Леонтьєва О. А., 1999; Петрищев В. С., 2002; Карнаух В. І., 2005). Досліджували спермії, отримані із хвостової частини епідидимісу. Визначали концентрацію сперміїв, їх рухливість та відсоток патологічних форм.

У нащадків жіночої статі протягом 16 діб вивчали фазову структуру естрального циклу та його загальну тривалість.

Усіх тварин знеживлювали швидкою декапітацією. У самців-батьків та їх нащадків обох статей вилучали та зважували органи репродуктивної системи, надниркові залози, тимус, гіпофіз, відбирали зразки крові, з яких отримували сироватку.

У сироватці крові визначали рівні кортикостерону (R&D System, США), ПРЛ (пролактин) (АлкорБио, Росія), Т (тестостерон) та Е2 (естрадіол) (Хема-Медика, Росія) імуноферментним методом, використовуючи стандартні комерційні набори.

Показники процесів ВРО і білків визначали в сім’яниках. Вміст речовин, які реагують з ТБК (тіобарбітурова кислота), визначали за методом Стальної І. Д. та Гаршвілі Г. Т. (1977); вміст карбонильованих білків – за методом Дубініної Е. Е. (2000); рівень ВГ (відновленого глутатіону) – за методом Арутюнян А. В. та співавторів (2002).

Контролем до всіх піддослідних груп були інтактні тварини відповідної статі та віку.

Статистичний аналіз отриманих даних здійснювали за допомогою параметричних та непараметричних методів. Визначення виду розподілу ознаки у виборці проводили з використанням критерію W Шапіро-Вілка. Статистичний аналіз ознак, що характеризуються нормальним розподілом та близькими дисперсіями, проводили за допомогою критерію Стьюдента (t). Для порівняння декількох груп з нормальним розподілом використовували методи однофакторного дисперсіонного аналізу та Шеффе. При порівнянні двох груп з розподілом ознаки, відмінним від нормального, використовували непараметричний U-критерій Манна-Вітні, критерій χ2; при порівнянні декількох груп – критерії Краскела-Воліса та Дана (Лапач С. Н. та співавт., 2000; Атраментова Л. О., 2007.). Розходження вважали статистично значущими при Р < 0,05.

**Результати досліджень та їх обговорення. *Наслідки іммобілізаційного стресу для репродуктивної функції самців*.** Стресування самців протягом семи діб призводило до гормонального дисбалансу, який реєструвався в різні строки після відміни іммобілізації (табл. 1).

*Таблиця 1*

##### Рівень гормонів у стресованих самців-плідників щурів, (±)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Група | Рівень гормонів, кількість тварин (n) | | | | Співвідно-шення тестостерону до естрадіолу, у.о. |
| кортико-стерон нмоль/л | пролактин мМОд/л | тестостерон нмоль/л | естрадіол нмоль/л |
| Група 1 | 6 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| (інтактний | 243,86±14,00 | 7,68±0,80 | 11,76±0,86 | 0,31±0,03 | 46,99±6,03 |
| контроль) |  |  |  |  |  |
| Група 2 | 5 | 12 | 15 | 15 | 15 |
| (через 1 | 257,22±17,06 | 12,45±0,97 | 2,77±0,65 | 0,90±0,14 | 4,66±1,33 |
| добу після |  | Р1<0,05 | Р1<0,01 | Р1<0,001 | Р1<0,01 |
| стресування) |  |  |  |  |  |
| Група 3 | 5 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| (через 15 | 240,61±7,56 | 8,64±0,95 | 5,22±1,07 | 0,76±0,15 | 10,09±2,93 |
| діб після |  |  | Р1<0,01 | Р1<0,01 | Р1<0,01 |
| стресуваня) |  |  |  |  |  |
| Група 4 | 5 | 22 | 22 | 22 | 22 |
| (через 28 | 231,30±5,54 | 8,10±0,74 | 6,91±0,57 | 0,63±0,10 | 20,50±3,74 |
| діб після |  | Р2<0,05 | Р2<0,01 | Р1<0,01 | Р2<0,01 |
| стресування) |  |  |  |  |  |
| Група 5 | 5 | 13 | 13 | 13 | 13 |
| (через 48 | 244,37±14,25 | 8,50±0,54 | 6,19±0,98 | 0,54±0,11 | 19,69±5,22 |
| діб після |  |  | Р1<0,05 |  | Р2<0,05 |
| стресування) |  |  |  |  |  |

Примітки:

1. Р1 – рівень значущості порівняно до групи 1;
2. Р2 – рівень значущості порівняно до групи 2.

Після припинення стресування рівень кортикостерона в самців усіх піддослідних груп статистично не відрізнявся ані між собою, ані від значень інтактного контролю. Рівень ПРЛ, який вважають адаптаційним гормоном, був підвищеним на 62 % (Р < 0,05) в стресованих самців через 1 добу після відміни семиденної іммобілізації. Рівень Т у самців групи 2 знижувався на 76 % (Р < 0,01), групи 3 – на 56 % (Р < 0,01), групи 5 – на 47 % (Р < 0,05) порівняно з таким у інтактних тварин (див. табл. 1). Концентрація Е2 у крові стресованих самців груп 2, 3 і 4 статистично значуще зростала порівняно з інтактними щурами, що може вказувати на посилення ароматазної активності внаслідок стресу (Scordalakes E. M., 2002). Більше того, співвідношення Т до Е2 було вірогідно нижчим у 2 та 3 групах, що може вказувати на відносну гіперестрогенію тварин цих груп.

Статеву поведінку самців вивчали в динаміці: до, під час (на першу, третю та шосту добу) та після стресування (через 1, 15, 28 та 48 діб). Встановлено, що вже на першу добу стресування, тобто в гостру фазу стресу, збільшувалась більш ніж у два рази латентність садки (Р < 0,02) та у три рази – латентність інтромісії (Р < 0,001). На третю добу була більш тривалою не тільки латентність інтромісій, але й знижувалась їх кількість (Р < 0,02) порівняно з даними інтактних тварин. На шосту добу стресування в піддослідних щурів кількість інтромісій залишалась зниженою (Р < 0,01). Після відміни стресування латентні періоди садки та інтромісії збільшувалися в самців через 1 або 28 діб після стресування. Кількість садок у самців знижувалась через 1 або 28 діб, інтромісій та еякуляцій – через 1 добу після стресування. Постеякуляторний інтервал збільшувався у самців через 1 добу після стресування. В щурів, яких тестували через 28 діб після закінчення останньої іммобілізації, за період тесту (15 хв) жодної еякуляції не спостерігалося. Кількість інтромісій до еякуляції знижувалась у тварин через 48 діб після стресування. Зіставлення даних, отриманих під час іммобілізації і після її припинення, дає підстави вважати, що негативні наслідки для сексуальності були більш виразними з перебігом часу, коли виявлялися ознаки порушень як центральної, так і периферійної ланок регуляції статевої поведінки.

Інформативними показниками, що дають змогу оцінити фертильність самця, є функціональна активність сперміїв, запліднювальна здатність та його плодючість. Іммобілізаційний стрес викликав у стресованих самців вірогідні порушення в статевих клітинах на всіх стадіях розвитку (табл. 2). Концентрація і рухливість сперміїв у самців піддослідних груп через 1 добу після відміни стресування знижувалися на 17 і 64 % (Р < 0,01); через 15 діб – на 19 і 48 % (Р < 0,05); через 28 діб – на 18 і 50 % (Р < 0,01); через 48 діб – на 16 та 55 % (Р < 0,01) порівняно з контролем. При цьому кількість патологічних форм сперміїв у самців груп 3 та 4 збільшувалася в 1,5 рази (Р < 0,01). У морфологічній структурі сперміїв самців цих груп спостерігалися патологічні зміни. Кількість сперматозоїдів з дефектами голівки збільшувалася в 6,3 рази (Р < 0,05) – в групі 3; в 5,6 разів (Р < 0,01) – в групі 4. Кількість статевих клітин з аномаліями шийки та середньої частини зростала в 1,7 разів (Р < 0,01) – у групі 3, в 1,4 рази (Р < 0,05) – у групі 4. Кількість гамет, які мали дефекти хвостової частини, також підвищувалася в щурів майже всіх піддослідних груп, окрім самців групи 3, та перевищувала значення в тварин контрольної групи на 35-57 % (Р < 0,01).

*Таблиця 2*

**Показники функціонального стану епідидимальних сперміїв стресованих щурів після дії іммобілізації в залежності від стадії сперматогенезу, з якою співпадала дія стресу, (±)**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Група | Показник, кількість тварин (n) | | |
| концентрація, млн/мл | рухливість, % | патологічні форми, % |
| Група 1 | 26 | 26 | 26 |
| (інтактний контроль) | 80,04±2,74 | 76,85±1,01 | 29,96±1,06 |
| Група 2 | 15 | 15 | 15 |
| (через 1 добу після | 66,53±4,84 | 27,33±2,80 | 32,07±1,80 |
| стресування – зрілі спермії) | Р1<0,01 | Р1<0,01 |  |
| Група 3 | 15 | 15 | 15 |
| (через 15 діб після | 65,20±6,98 | 40,00±3,21 | 45,47±1,32 |
| стресування – сперматиди) | Р1<0,05 | Р1<0,01 | Р1<0,01 |
| Група 4 | 15 | 15 | 15 |
| (через 28 діб після | 65,93±3,85 | 38,07±2,64 | 43,93±1,44 |
| стресування – сперматоцити) | Р1<0,01 | Р1<0,01 | Р1<0,01 |
| Група 5 | 9 | 9 | 9 |
| (через 48 діб після | 67,56±2,08 | 34,22±4,53 | 40,89±2,06 |
| стресування – сперматогонії) | Р1<0,01 | Р1<0,01 |  |

Примітка. Р1 – рівень значущості порівняно до групи 1.

У досліджуваних тварин спостерігались зміни маси тіла та відносної маси деяких органів. Так, через 1 добу після припинення стресування в самців знижувалася маса тіла на 10 % (Р < 0,05), збільшувалася відносна маса надниркових залоз на 27 % (Р < 0,01) та гіпофіза на 27 % (Р < 0,01) порівняно з такими в інтактних тварин. Відносні маси сім’яників, епідидимісів, сім’яних пухирців та вентральної долі передміхурової залози не мали статистично значущих відхилень порівняно з такими в інтактних самців.

Відомо, що активація процесів ВРО ліпідів та білків в органах внаслідок зриву про-/антиоксидантної рівноваги, який може відбуватися за умов дії різних несприятливих факторів, спричиняє розвиток оксидативного стресу (Граник В.Г., 2004). Через 15 діб після стресування вміст продуктів ліпідної пероксидації – ТБК-реагуючих речовин – у гомогенатах сім’яників збільшувався в два рази (Р < 0,01), рівень ВГ, ключового антиоксиданту в утворенні чоловічих гамет (Fujii J., 2003) і функціонуванні чоловічої репродуктивної системи – у 2,4 рази (Р < 0,01) порівняно з такими в інтактних самців ((1,92±0,36) мкмоль/г білка та (1,65±0,12) ммоль/г білка, відповідно). У найбільш віддалені терміни дослідження (через 28 або 48 діб) у самців на тлі подальшого підвищеного рівня ВГ мало місце зниження вмісту ТБК-реагуючих речовин відповідно до його значення в групі інтактних тварин.

Стресування тварин викликало накопичення продуктів пероксидації білків – карбонильованих білків у сім’яниках вже через 1 добу після семиденного стресування на 25 % порівняно з таким у інтактних щурів ((7,3±0,7) нмоль/мг білка). Через 15 діб після стресування їх вміст збільшувався на 79 % (Р < 0,01); через 28 діб – на 41 % (Р < 0,05); через 48 діб – у два рази порівняно з контролем.

Отримані дані пояснюють негативні наслідки перебігу вагітності в самок, запліднених стресованими щурами. Якщо після спаровування стресованих самців з інтактними самками індекс покриття в усіх досліджуваних групах практично не відрізнявся від такого в інтактних тварин (у контролі – 100 %; у групі 2 – 92 %; у групах 3 та 4 – 89 %; у групі 5 – 100 %), то індекс вагітності суттєво змінювався і складав: у контролі – 100 %; через 1 добу після стресування – 42 % (Р = 0,003); через 15 діб – 56 % (Р = 0,038); через 28 діб – 55 % (Р = 0,011). У самок, яких спаровували з самцями через 48 діб після стресування, індекс вагітності дорівнював значенням інтактних тварин.

Таким чином, отримані дані свідчать про виникнення гормонального дисбалансу, розвиток оксидативного стресу в самців щурів, підданих дії семиденного стресування, що може бути причиною пригнічення сперматогенезу та утворення модифікованих сперматозоїдів, наслідком чого є зниження фертильності. За змінами показників спермограми та фертильності найбільш уразливими до стресування виявляються зрілі сперматозоїди, сперматиди та сперматоцити.

***Особливості онтогенетичного розвитку нащадків стресованих самців щурів*.** У матках вагітних самок, яких спаровували з самцями через 1 добу після стресування, маса тіла плодів як чоловічої, так і жіночої статі, була статистично нижче (Р < 0,01) порівняно з такими в нащадків інтактних або стресованих самців-батьків інших піддослідних груп. У той же час довжина тіла самців-плодів була статистично значуще більше (Р < 0,05) порівняно з такими в нащадків інтактних або стресованих самців-батьків інших піддослідних груп. Довжина тіла самок-плодів статистично значуще знижувалася (Р < 0,01) у самок, яких спаровували з самцями через 28 діб після стресування, порівняно з плодами жіночої статі від батьків усіх інших груп.

При народженні кількість щурят у приплодах від стресованих батьків не відрізнялася від контролю. Народження мертвих або поїдання матір’ю нежиттєздатних щурят спостерігалося в усіх групах, але найбільша кількість загиблих щурят була в групах, батьки яких були спаровані з інтактними самками через 15 (на 31 %; Р < 0,001) та 48 (на 28 %; Р < 0,001) діб після стресування порівняно з таким в контролі (6 %). У матерів, яких спаровували зі стресованими самцями, збільшувалася кількість випадків мертвонародження порівняно з тими, яких спаровували з інтактними самцями. Кількість нащадків, що вижили до 90 доби, знижувалася у батьків, спарування яких відбувалося через 1, 15 або 48 діб після стресування (рис. 1).

Рис. 1. Загальна кількість нащадків (самок або самців) стресованих батьків, які дожили до 90 діб у відсотках від вихідного рівня (дня народження):

– рівень значущості порівняно до відповідного контролю (Р < 0,05).

У нащадків, отриманих від стресованих самців, спостерігалися певні зміни сомато-статевого розвитку. За його темпами (термін відлипання вушок, появі оволосіння та зубів, відкриття очей) щурята обох статей, отримані від стресованих самців-батьків через 1 або 15 діб після стресування, відставали від інтактних щурят. Маса тіла була зниженою в тих новонароджених щурят обох статей, які були отримані від стресованих батьків через 1 або 15 діб після відміни останньої іммобілізації, порівняно з нащадками інтактних батьків.

Зменшення АГВ у новонароджених самців-нащадків, отриманих від батьків, спарування яких відбувалося через 15 або 28 діб після припинення стресування, свідчить про їх відносну фемінізацію (Рєзніков О. Г., 2004). Затримка строку опущення яєчок у мошонку, яка реєструвалася в усіх нащадків чоловічої статі піддослідних груп, може бути пов’язано з порушеннями функціонування гіпоталамо-гіпофізарно-гонадного комплексу (Рєзніков О. Г., 1982; Вундер П. А., 1990) та є однією з ознак аномального статевого розвитку. У самок-нащадків стресованих батьків відкриття піхви затримувалося в часі порівняно з таким у інтактних нащадків, що може вказувати на недостатній рівень естрогенів.

##### **Спостереження за дорослими самцями-нащадками стресованих батьків виявило, що в тих тварин, батьків яких спаровували через 28 діб після стресування, рівень кортикостерону знижувався на 31 % (Р < 0,05) порівняно з інтактною групою тварин ((210,53±8,80) нмоль/л). Концентрація Т зменшувалася в самців-нащадків груп 2 і 3 (Р < 0,05) порівняно з інтактними щурами чоловічої статі. Рівень Е2 збільшувався в самців-нащадків груп 2, 4 та 5 (на 65, 59 та 51 %, відповідно; Р < 0,05). Співвідношення Т до Е2 знижувалося в бік переваги естрогенів у самців-нащадків усіх піддослідних груп порівняно з інтактними тваринами. Певною мірою це може бути пов'язано з підсиленням активності ароматази. Це припущення підтверджується дослідженнями статевої поведінки. Зниження рівня Т, який відіграє значну роль для центрального механізму регуляції останньої, призводить до пригнічення статевої активності, навіть більш вираженого, ніж у їх стресованих батьків, особливо її периферичної ланки, яка, як відомо, потребує не тільки достатнього рівня Т, але й 5α-дигідротестостерону.**

Основними показниками, що дають змогу оцінити фертильність самця, є морфофункціональна характеристика гамет. Концентрація сперміїв у самців-нащадків знижувалася: в групі 2 (на 58 %; Р < 0,01); в групі 3 (на 37 %; Р < 0,05) та в групі 5 (на 55 %; Р < 0,01) порівняно з інтактними самцями ((88,93±3,85) млн/мл). Кількість рухливих сперматозоїдів зменшувалася лише в нащадків групи 3 (на 18 %; Р < 0,05) порівняно з інтактними самцями ((74,52±2,42) %). Кількість патологічних форм збільшувалась в самців груп 2 (на 72 %; Р < 0,01) та 4 (на 58 %; Р < 0,01) порівняно з контрольними значеннями ((31,04±3,08) %).

Таким чином, у самців-нащадків батьків, яких спаровували з інтактними самками після стресування, знижувалася концентрація сперматозоїдів та їх рухливість. Це виявлялося в групах, коли парування майбутніх батьків відбувалося через 1, 15 та 48 діб після закінчення стресування. Збільшення кількості патологічних форм сперміїв спостерігалося лише у тих нащадків, батьки яких були спаровані через 1 та 28 діб після стресування.

Погіршення показників спермограми в самців-нащадків призвело до зниження кількості запліднених ними інтактних самок: у групі 3 – 75 % (Р = 0,05); у групі 4 – 72 % (Р = 0,01); у групі 5 – 60 % (Р = 0,001) порівняно з контрольними значеннями (100 %). Доімплантаційна загибель зародків у самок, яких спаровували з піддослідними самцями групи 2, зростала більш ніж у чотири рази (Р < 0,05). Післяімплантаційна загибель плодів у цій групі підвищувалася аж в 10 разів (Р < 0,01), внаслідок чого збільшувалася загальна загибель плодів в п’ять разів (Р < 0,05). Аналогічна картина спостерігалася і в самок групи 4, у яких загальна загибель плодів зростала в 3,4 рази (Р < 0,05) порівняно з таким у інтактних тварин за рахунок збільшення як доімплантаційних, так і післяімплантаційних втрат.

Таким чином, у нащадків чоловічої статі, отриманих від стресованих батьків, спарованих з інтактними самками в різні строки після стресування, спостерігаються розлади в функціонуванні репродуктивної системи.

У дорослих нащадків жіночої статі, батьки яких були спаровані з інтактними самками через 15, 28 або 48 діб після стресування, рівень Т і його співвідношення до Е2 у крові суттєво збільшувалися, що вказує на підвищений синтез андрогенів у самок-нащадків стресованих батьків, внаслідок чого спостерігалося зниження кількості самок, які мали регулярний естральний цикл, а саме: із 100 % тварин з групи 2 19 % не мали регулярного естрального циклу (Р < 0,001); у групі 3 – 8 % (Р < 0,05); у групі 4 – 4 %; у групі 5 – 9 % (Р < 0,05). Тривалість циклу в самок груп 3, 4 та 5 збільшувалась на 16, 13 та 20 %, відповідно, (Р < 0,05) порівняно з інтактними тваринами за рахунок подовження міжтічкового періоду. При цьому співвідношення тічки до міжтічки статистично значуще скорочувалося на 33 % (Р < 0,01) лише в самок групи 5 порівняно з таким у інтактних нащадків жіночої статі. Ці зміни відповідали знайденій у тварин гіперандрогенії. Кількість естральних діб за 16 добовий період у самок-нащадків піддослідних груп зменшувалася та складала: (5,7±0,3) діб – у групі 2 (Р < 0,01; n = 26); (6,1±0,4) діб – у групі 3 (n = 11); (6,0±0,3) діб – у групі 4 (n = 23); (5,7±0,2) діб – у групі 5 (Р < 0,05; n = 19) порівняно з інтактними самками ((6,9±0,2) діб; n = 37). Кількість анестральних днів, навпаки, збільшувалась та мала таку ж тенденцію: (10,3±0,3) діб – у групі 2 (Р < 0,01); (9,9±0,4) діб – у групі 3; (10,0±0,3) діб – у групі 4; (10,3±0,2) діб – у групі 5 (Р < 0,05) порівняно з інтактними самками ((9,1±0,2) діб).

Дисбаланс статевих гормонів (у бік зростання Т) у самок нащадків, батьків яких спаровували з інтактними самками через 15 або 48 діб після відміни стресування, призводить до ушкодження периферійної ланки регуляції статевої поведінки, що виявлялось в суттєвій зміні показників процептивної поведінки.

Індекс вагітності піддослідних тварин знижувався порівняно з інтактним контролем (100 %) та складав: в групі 3 – 50 % (Р < 0,001), в групі 4 – 74 % (Р < 0,001) та в групі 5 – 77 % (Р < 0,01).

Таким чином, у самок-нащадків стресованих батьків спостерігалося пригнічення репродуктивної функції: дисбаланс статевих стероїдів, зміни функціональної активності яєчників (зменшення кількості овуляцій), що відбивалося на їх фертильності.

***Віддалені наслідки стресування в пубертатний період для репродуктивної системи щурів-нащадків стресованих батьків*.** Дія різних несприятливих чинників, особливо в пубертаті, може вплинути на гормональний стан дорослих особин, що підтвердилося в наших дослідженнях. Так, рівень Т у стресованих самців-нащадків інтактних батьків (група 1б) знижувався майже в два рази (Р < 0,05), а Е2 – збільшувався в 2,9 рази (Р < 0,05) порівняно з інтактними нащадками групи 1а (10,97±1,47 та (0,37±0,06) нмоль/л, відповідно). Співвідношення між цими гормонами зменшувалося в 5,6 рази (Р < 0,05) проти 33,98±6,51 в контролі, що може свідчити про суттєве зниження синтезу андрогенів та/або підсилення їх ароматизації у естрогени. На відміну від означеної вище групи у стресованих у пубертаті тварин, обтяжених ще й батьківським стресом (група 2б), не спостерігалося змін як у рівнях статевих гормонів, так і в співвідношенні останніх порівняно із самцями-нащадками стресованих батьків (група 2а).

Стресування в пубертаті самців-нащадків інтактних батьків не впливало на показники статевої поведінки, крім довжини постеякуляторного інтервалу, тривалість якого збільшувалася на 42 % (Р < 0,05) порівняно з інтактними самцями ((300±31) с), що свідчить про деякі порушення на центральному рівні регуляції статевої поведінки. Протягом тесту еякуляція спостерігалася в усіх стресованих або нестресованих нащадків інтактних батьків. Семиденна іммобілізація самців-нащадків стресованих батьків призводила до зменшення на 23 % (Р < 0,05) латентного періоду еякуляції порівняно з тими, яких не стресували ((833±48) с). Кількість щурів-нащадків стресованих батьків, в яких спостерігалася еякуляція упродовж тесту, складала 60 %, у тих, яких ще й стресували в пубертаті – 80 %.

У стресованих у пубертаті нащадків чоловічої статі інтактних батьків спостерігалися деякі відхилення показників спермограми: концентрація сперматозоїдів знижувалася на 22 % (Р < 0,05), рухливість сперміїв зменшувалася на 30 % (Р < 0,05), кількість морфологічно аномальних статевих клітин збільшувалася на 43 % (Р < 0,05) порівняно з інтактними самцями. Стресування в пубертаті нащадків стресованих батьків призводило в дорослому віці до зменшення кількості рухливих сперміїв порівняно з самцями групи 2а (P < 0,05). Рухливість сперміїв та кількість аномальних статевих клітин у цих щурів зменшувалися на 24 та 9 % (Р < 0,05), відповідно порівняно зі стресованими щурами інтактних батьків. Проте ефект семиденного стресування самців у пубертаті не відобразився на їх запліднюючій здатності. Всі інтактні самки, які були запліднені стресованими в пубертаті самцями-нащадками інтактних або стресованих самців-батьків, завагітніли.

Стресування в пубертаті самців-нащадків інтактних батьків призводило в дорослому віці до зниження відносної маси андрогензалежних органів (епідидимісів – на 23 %; сім’яних пухирців – на 46 %; передміхурової залози – на 50 %; Р < 0,05) та підвищення маси надниркових залоз (на 15 %; Р < 0,05), тимуса (на 110 %; Р < 0,05), гіпофіза (на 51 %; Р < 0,05) порівняно з відповідними значеннями в інтактних нащадків. Стресування в пубертаті самців, обтяжених іммобілізаційним стресом батьків, в дорослому віці призводило до зниження на 33 % (Р < 0,05) відносних мас передміхурової залози та сім’яних пухирців та підвищення відносної маси гіпофіза на 18 % (Р < 0,05) порівняно з нащадками стресованих батьків.

Концентрація Т у крові стресованих самок-нащадків інтактних батьків зростала в шість разів (Р < 0,01) на тлі зменшення більш ніж у два рази рівня Е2 (Р < 0,05) порівняно з такою в інтактних тварин. Співвідношення Т/Е2 збільшувалося у вісім разів (Р < 0,01). Це може свідчити про уповільнення ароматизації Т у Е2 та, відповідно, гіперандрогенізацію самок, що зазнали стресу в пубертаті.

У стресованих самок стресованих батьків концентрація Т в крові значно збільшувалася (Р < 0,05) порівняно з інтактними тваринами, що могло бути причиною подовження тривалості естрального циклу та збільшення кількості анестральних днів. Співвідношення Т/Е2 не відрізнялося між нащадками стресованих батьків груп 2а та 2б. Рівень Е2 у тварин груп 2а і 2б підвищувався порівняно з інтактними щурами на відміну від зниженого його рівня в самок групи 1б. Не виключено, що підсилення ароматизації андрогенів у естрогени запобігає суттєвому зниженню рівня Е2 у разі стресування в пубертаті. Тобто, в самок щурів, що зазнали «подвійного» стресу, співвідношення Т/Е2 відрізняється значно меншою мірою від інтактного контролю порівняно з самками-нащадками інтактних батьків, але стресованих у пубертаті. На тлі зростання рівня статевих гормонів у стресованих у пубертаті самок-нащадків стресованих батьків статистично значуще знижується сумарний показник процептивної поведінки порівняно з тими нащадками стресованих батьків, яких не піддавали іммобілізації. Збільшення (Р < 0,05) загальної загибелі плодів у самок-нащадків стресованих батьків (група 2а) порівняно з інтактними нащадками (група 1а) відбувалося за рахунок зростання доімплантаційної загибелі. У самок, отриманих від стресованих батьків, яких піддавали іммобілізації в пубертаті (група 2б), доімплантаційна загибель зростала більш ніж у два рази, післяімплантаційна – більш ніж у чотири рази (Р < 0,05) та загальна загибель плодів – майже в три рази (Р < 0,05) порівняно з стресованими самками, отриманими від інтактних батьків (група 1б). Порівняння цих показників між групами 2а та 2б свідчить про відсутність відмін, тобто основним чинником, що спричиняє порушення імплантації, є стрес батька, але не «додатковий» стрес самки в пубертаті.

Таким чином, зменшення негативних проявів у разі «подвійної» стресорної обтяженості (батьківської та власної) спостерігається в нащадків обох статей. Резістентність до стресу підвищена у самок, ніж у самців.

Підсумовуючи викладене вище, можна констатувати, що стресування самців перед спаровуванням призводить до порушення сперматогенної функції, і, як наслідок, зниження запліднюючої здатності. В експериментальному дослідженні доведено негативний вплив наслідків стресування батьків для репродуктивної функції нащадків обох статей. Отримані дані обґрунтовують строки запліднення самцем в разі перенесеного стресування, а саме: вони мусять бути відстрочені до часу, коли дозріють сперматогонії до зрілих сперматозоїдів. Для щурів цей строк складає 48 діб. В більш ранні строки запліднення у нащадків можуть виявитися негативні наслідки стресування батька.

**ВИСНОВКИ**

1. У результаті проведених експериментів встановлено, що стресування батька є чинником ризику для сомато-статевого і репродуктивного здоров’я його нащадків обох статей. Доведено наявність стрес-індукованих змін у репродуктивній системі статевозрілих нащадків стресованих батьків в умовах семиденної одногодинної іммобілізації в пубертаті.
2. Стресування протягом семи діб порушує репродуктивну функцію дорослих самців щурів, що має прояв у гормональному дисбалансі (знижується концентрація тестостерону, зростають рівні естрадіолу та пролактину); пригніченні статевої поведінки (збільшуються латентні періоди садок, інтромісій на тлі зменшення кількості цих показників та еякуляцій за тест); порушенні показників спермограми (зменшується концентрація та кількість рухливих сперміїв, зростає кількість патологічних форм гамет); накопиченні продуктів вільнорадикального окислення ліпідів та білків у сім’яниках; зниженні фертильності. Стресування самців щура впливає на морфофункціональний стан сперміїв, які знаходяться на всіх стадіях розвитку. За змінами показників спермограми та фертильності уразливими до стресування виявляються зрілі сперматозоїди, сперматиди та сперматоцити.
3. У щурят обох статей стресованих батьків, яких спаровували з інтактними самками в різні строки після відміни стресування, виявлені порушення в соматичному (затримці строків відлипання вушок, появи генералізованого волосяного покриву, прорізування зубів, відкриття очей, зниження життєздатності) та статевому (зменшення ано-генітальної відстані в самців-нащадків, затримка строків опущення яєчок та відкриття піхви) розвитку.
4. У дорослих самців-нащадків, отриманих від стресованих самців, яких спаровували з інтактними самками в різні строки після відміни стресування, знижується концентрація тестостерону та/або підвищується концентрація естрадіолу в крові; порушується статева поведінка (збільшуються латентні періоди садок, інтромісій та еякуляцій на тлі зменшення кількості цих показників); пригнічується генеративна функція сім’яників (зменшується концентрація та/або кількість рухливих сперміїв), що призводить до зниження їх фертильності.
5. У дорослих самок-нащадків, отриманих від стресованих самців, яких спаровували з інтактними самками в різні строки після відміни стресування, зростає рівень тестостерону в крові та його співвідношення до естрадіолу; знижується сумарний показник процептивної поведінки; подовжується тривалість естрального циклу за рахунок міжтічки, що призводить до зниження їх фертильності.
6. Стресування в пубертаті нащадків обох статей, отриманих від самців, яких спаровували з інтактними самками через 28 діб після відміни стресування, в дорослому віці призводить у самців до зменшення кількості рухливих сперміїв, зниження відносної маси андрогензалежних органів (сім’яних пухирців, передміхурової залози) та збільшення відносної маси надниркових залоз; у самок – до зростання рівня естрадіолу в крові, зниження сумарного показника процептивної поведінки, подовження тривалості міжтічки та зменшення співвідношення тічки до міжтічки. Реакція репродуктивної функції на «подвійний» стрес була послабленою порівняно з такою в тварин, отриманих від стресованого батька, але яких у пубертаті не стресували.

**СПИСОК ОПУБЛIКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦIЇ**

1. Чистякова, Е. Є. Вплив стресу на чоловічі статеві клітини різних стадій розвинення та їх запліднювальну здатність [Текст] / Е. Є. Чистякова, В. М. Золотухіна // Пробл. ендокрин. патології. – 2007. – № 1. – С. 63-69. (Дисертант брав безпосередню участь у моделюваннi та отриманнi експериментальних даних, проводив аналіз, узагальнення даних та оформлення результатiв у виглядi cтaттi).
2. Чистякова, Е. Є. Особливості сомато-статевого розвитку нащадків стресованих самців [Текст] / Е. Є. Чистякова // Пробл. ендокрин. патології. – 2008. – № 2. – С. 43-49.
3. Чистякова, Е. Є. Наслідки іммобілізаційного стресу в пубертатний період для репродуктивної системи дорослих щурів-нащадків стресованих батьків [Текст] / Е. Є. Чистякова, А. І. Гладкова // Пробл. ендокрин. патології. – 2008. – № 4. – С. 84-91. (Дисертант брав безпосередню участь у моделюваннi та отриманнi експериментальних даних, проводив аналіз, узагальнення даних та оформлення результатiв у виглядi cтaттi).
4. Гладкова, А. И. Ближайшие и отдаленные последствия стресса для репродукции самцов [Текст] / А. И. Гладкова, Э. Е. Чистякова // Запорожский мед. журн. – 2005. – № 3. – С. 31-32. (Дисертант брав безпосередню участь у моделюваннi та отриманнi експериментальних даних, проводив аналіз, узагальнення даних та оформлення результатiв у виглядi cтaттi).
5. Сомова, О. В. Вплив іммобілізаційного стресу батька на фертильність нащадків та перебіг процесів пероксидного окислення ліпідів під час вагітності [Текст] / О. В. Сомова, Е. Э. Чистякова // Фундаментальні питання експериментальної та клінічної ендокринології (Четверті Данилевські читання) : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 24-25 лют. 2005 р. – Х., 2005. – С. 191. (Дисертант брав безпосередню участь у моделюваннi та отриманнi експериментальних даних, проводив аналіз, узагальнення даних та оформлення результатiв).
6. Чистякова, Е. Є. Вплив іммобілізаційного стресу на фертильність самців [Текст] / Е. Є. Чистякова // Експериментальна та клінічна ендокринологія: фундаментальні та прикладні питання (П’яті Данилевські читання) : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 9-10 лют. 2006 р. – Х., 2006. – С. 103-104.
7. Чистякова, Е. Є. Соматичний розвиток нащадків стресованих самців [Текст] / Е. Є. Чистякова // Наукові та практичні проблеми ендокринної патології в різних вікових періодах : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 23-24 лист. 2006 р. – Х., 2006. – С. 85-86.
8. Чистякова, Е. Є. Особливості статевого розвитку нащадків стресованих самців щурів [Текст] / Е. Є. Чистякова // Експериментальна та клінічна ендокринологія: від теорії до практики” (Шості Данилевські читання) : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 22-23 лют. 2007 р. – Х., 2007. – С. 120-121.
9. Чистякова, Е. Є. Реактивність нащадків стресованого батька до дії несприятливих чинників [Текст] / Е. Є. Чистякова // Ендокринологія. – 2007. – Т. 12, додаток. – С. 314.
10. Чистякова, Е. Є. Віддалені наслідки затримки пубертату для статевої активності [Текст] / Е. Є. Чистякова, Н. П Смоленко // Медико-соціальні проблеми дитячого віку : матеріали наук.-практ. конф., Тернопіль, 12-13 квіт. 2007 р. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2007. – С. 134-135. (Дисертант брав безпосередню участь у моделюваннi та отриманнi експериментальних даних, проводив аналіз, узагальнення даних та оформлення результатiв).
11. Чистякова, Е. Є. Особливості репродуктивних розладів нащадків чоловічої статі, отриманих від стресованих самців щурів [Текст] / Е. Є. Чистякова // 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. 144-145.

**АНОТАЦIЯ**

Чистякова Е. Є. Стан репродуктивної функції нащадків стресованих самців щурів. – Рукопис.

Дисертацiя на здобуття наукового ступеня кандидата бiологiчних наук за спецiальнiстю 14.01.14 – ендокринологія. Державна установа «Iнститут проблем ендокринної патології iм. В. Я. Данилевського Академії медичних наук України», Xapкiв, 2009.

Експериментально доведено, що стресування шляхом іммобілізації впродовж семи діб пригнічує функцію репродуктивної системи в дорослих самців щурів, що призводить до гормонального дисбалансу, пригніченню всіх стадій сперматогенезу, розвитку оксидативного стресу в органах репродуктивної системи і, як наслідок цього, зниження фертильності. Найуразливішими до дії стресу виявляються сперматиди, зрілі сперматозоїди і сперматоцити.

У щурів нащадків обох статей, отриманих від стресованих самців-батьків, яких спаровували з інтактними самками через 1, 15, 28 та 48 діб після відміни стресування, виявлено затримку сомато-статевого розвитку. При досягненні статевої зрілості в них спостерігається гормональний дисбаланс (гіпоандрогенія – у самців і гіперандрогенія – у самок), порушується статева поведінка (особливо периферійна ланка її регуляції), пригнічується генеративна функція сім’яників і яєчників, що негативно відбивається на їх фертильності.

Стресування в пубертаті нащадків обох статей, отриманих від стресованих самців-батьків, призводить у дорослому віці до порушення гормонального стану, що негативно відбивається на функціонуванні репродуктивної системи. Але ступінь виразності цих проявів менша, ніж у стресованих нащадків інтактних батьків.

**Ключовi слова:** іммобілізаційний стрес, репродуктивна система, нащадки, статевий розвиток, стрес-реактивнiсть репродуктивної системи.

**АННОТАЦИЯ**

Чистякова Э. Е. Состояние репродуктивной системы потомков стрессированных самцов крыс. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.14 – эндокринология. Государственное учреждение «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского Академии медицинских наук Украины», Харьков, 2009.

Экспериментально доказано, что стрессирование путем иммобилизации по 1 ч на протяжении семи суток угнетает функцию репродуктивной системы у взрослых самцов крыс, что приводит к гормональному дисбалансу (сдвиг соотношения тестостерона и эстрадиола с развитием гиперэстрогении. Стрессирование вызывало у самцов повреждение половых клеток на всех стадиях развития. При этом снижалась концентрация спермиев и их подвижность на фоне увеличения количества аномальных половых клеток, особенно у самцов через 15 и 28 суток после прекращения стресса. Регистрировались увеличения аномалий в головке, шейке и средней части сперматозоидов по сравнению с гаметами интактных животных, что приводило к снижению фертильности стрессированных самцов. Качество половых клеток ухудшалось и вследствие развития оксидативного стресса, о чем свидетельствовало накопление продуктов свободнорадикального окисления липидов и белков в семенниках.

У крыс потомков обоего пола, полученных от стрессированных самцов, которых спаривали с интактными самками через 1, 15, 28 или 48 сут после отмены стрессирования, обнаружены нарушения в соматическом (задержка сроков отлипания ушек, появления генерализованного волосяного покрова, прорезания зубов, открытия глаз, снижение жизнеспособности) и половом (уменьшение ано-генитального расстояния у самцов-потомков, задержка сроков опущения яичек и открытия влагалища) развитии. У взрослых потомков стрессированных отцов наблюдается гормональный дисбаланс (гипоандрогения у самцов и гиперандрогения у самок), нарушение полового поведения (периферического звена ее регуляции). Подавление генеративной функции семенников у подопытных крыс, полученных от самцов-отцов, спаривание которых происходило через 1, 15 или 48 суток после стрессирования, негативно отражалось на их фертильности. У самок-потомков уровень Т и его отношение к Е2 в крови существенно увеличивались у тех животных, самцы-отцы которых были спарены через 15, 28 или 48 суток. Это указывает на повышенный синтез андрогенов у самок-потомков стресированного отца. Индекс беременности у животных этих групп снижался по сравнению с интактным контролем, что может свидетельствовать о существенных нарушениях в процессе имплантации, формировании и функционировании системы мать-плацента-плод у потомков стрессированного отца.

Стрессирование в пубертате потомков обоего пола, отцы которых перед спариванием подвергались семидневной иммобилизации, приводит к нарушению гормонального статуса, что негативно отражается на функционировании репродуктивной системы. Однако степень выраженности этих проявлений меньше, чем у стрессированных потомков интактных отцов.

**Ключевые слова:** иммобилизационный стресс, репродуктивная система, потомки, половое развитие, стресс-реактивность репродуктивной системы.

**ANNOTATION**

Chistyakova E. E. Reproductive function state of offspring from stressed male rats. – Manuscript.

Thesis for a candidate degree of biological sciences by speciality 14.01.14 – endocrinology. State Institution «V. Ya. Danilevsky Institute of Endocrine Pathology Problems of Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, 2009.

It is demonstrated experimentally that stress by seven day immobilization inhibits a function of the reproductive system in adult male rats, that results in a hormonal disbalance, a depression of all spermatogenesis stages, a development of oxidative stress in the organs of the reproductive system and, finally, in a decrease of fertility. Spermatides, the matured spermatozoa and spermatocytes were found to be the most vulnerable.

In the offspring rats of both sexes, which were born from stressed male rats, mated with intact females on 1, 15, 28 and 48 days after finishing stress, a delay of their somato-sexual development is found. Under reaching puberty they have a hormonal disbalance (hypoandrogenia is detected in males and hyperandrogenia – in females), the disturbed sexual behavior (particularly, the peripheral link of its regulation), the inhibited generative function of testes and ovaries, that occured a negative effect on of their fertility.

Stress of the both sexes offspring in puberty, which were born from stressed males leads to disturbance of their hormonal status and negatively reflects on the function of the reproductive system. However, these aftereffects were less pronounced when compared to those of the stressed offspring born from intact males.

**Кеу words:** immobilization stress, reproductive system, offspring, sex development, stress-reactivity of the reproductive system.

**ПЕРЕЛIК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ**

|  |  |
| --- | --- |
| АГВ | ано-генітальна відстань |
| ВГ | відновлений глутатіон |
| ВРО | вільнорадикальне окислення |
| Е2 | 17β-естрадіол |
| ПРЛ | пролактин |
| Т | тестостерон |
| ТБК | тіобарбітурова кислота |
| у.о. | умовні одиниці |

 Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>