

DOI: 10.26693/jmbs07.01.311

УДК 612.616;591.463:615.256.51

Селюкова Н. Ю.<sup>1,2</sup>, Перець О. В.<sup>1,2</sup>, Гладченко О. М.<sup>1</sup>,  
Карабут Л. В.<sup>1</sup>, Матвейчук О. П.<sup>1</sup>

## ОСОБЛИВОСТІ РОЗВИТКУ РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМИ ЩУРІВ НАЩАДКІВ ЧОЛОВІЧОЇ СТАТІ, ЩО НАРОДЖЕНІ ВІД БАТЬКА, ЯКИЙ ДО СПАРОВУВАННЯ ОТРИМУВАВ ФІТОЕСТРОГЕНИ

<sup>1</sup>Національний фармацевтичний університет МОЗ України,  
Харків, Україна

<sup>2</sup>ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України»,  
Харків, Україна

*Мета дослідження* – встановити вплив фітоестрогенізації щура-батька на сомато-статевий розвиток та репродуктивну функцію нащадків чоловічої статі.

*Матеріал та методи.* Щурам-самцям батькам згодували суміш фітоестрогенів до спаровування з інтактними самицями у дозі 20 мг/кг маси тіла протягом 30 діб. У щурів-батьків досліджували репродуктивну функцію за такими характеристиками, як статеве поведінка, фертильність, спермограма, визначали масу андрогензалежних органів, визначали рівень статевих гормонів. Експериментальні батьки були поділені на дві групи: 1) інтактні, 2) самці які отримували надлишок фітоестрогенів. Після народження самців нащадків від цих батьків у них досліджували репродуктивну систему.

*Результати дослідження.* Тривале введення фітоестрогенів статевозрілим щурам-самцям (батькам) спричиняє абсолютну та відносну гіперестрогенію (п'ятиразове підвищення рівня  $E_2$  і навпаки зменшення відношення  $T/E_2$  у три рази), що призводить до ослаблення копулятивної активності (зниження кількості садок та інтромісії на 28%), порушення сперматогенезу (зменшення концентрації сперматозоїдів на 39%, зростання частки аномальних форм в два рази), в той же час не позначається на репродуктивному потенціалі фітоестрогенізованих самців.

Нааявність надлишку сполук з естрогенною активністю у раціоні статевозрілих щурів-самців в прекокусумачійний період призводить до народження самців-нащадків, у яких спостерігається знижений рівень тестостерону (на 25%) в критичний період статевої диференціації мозку (на 5 добу життя).

Нащадки чоловічої статі фітоестрогенізованого батька-щура мають нормальний перебіг соматичного розвитку але відрізняються порушеним статевим розвитком (менша ано-генітальна відстань на 13%) та затримка опущення сім'яників у мошонку, меншою масою тіла у дорослому віці (на 28,2% у 150 денних щурів).

Репродуктивна функція нащадків фітоестрогенізованого батька характеризується відмінностями статевої поведінки: менша копулятивна активність – на 50%, менша кількість садок та інтромісій, кількість самців з еякуляцією дорівнює 10%; уповільнені статеві реакції – втричі більша латентність першої садки; і меншим репродуктивним потенціалом (дворазове зменшення інтегрального показника потенційної плідності тварин).

Зниження репродуктивного потенціалу нащадків фітоестрогенізованого батька-щура відбувається через зменшення частки ефективних запліднень (вагітних самиць серед запліднених лише 60%), що свідчить про негативні зміни у сперматозоїдах, розвиток яких, починаючи зі стадії сперматоцитів, відбувався в умовах абсолютної та відносної гіперестрогенії (більша концентрація  $E_2$  у 6,2 рази та менше відношення  $T/E_2$  у 4,5 рази у сироватці крові).

*Висновки.* Вживання фітоестрогенів у прекокусумачійний період щуром-батьком, призводить до народження нащадків чоловічої статі, які мають ускладнення у функціонуванні репродуктивної системи.

**Ключові слова:** фітоестрогени, репродуктивна система, щури-самці, нащадки, фертильність.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дана робота виконана в ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», вона є фрагментом НДР «Визначити вікову залежність реактивності до несприятливих чинників у нащадків батьків з репродуктивними розладами», № держ. реєстрації 0106U002109.

**Вступ.** Несприятлива демографічна ситуація в Україні, що певною мірою пов'язана з поширенням чоловічого безпліддя, віддзеркалює стан цієї проблеми в усьому світі. На теперішній час доведено, що рівень фертильності та функціонування репродуктивної системи може порушуватись внаслідок дії чинників довкілля, які виступають як ендокринні деструктори [1, 2]. Серед гормонально

активних факторів раціону харчування увагу дослідників привертають фітоестрогени (ФЕ), які спроможні зв'язуватись з  $\alpha$ - та  $\beta$ - рецепторами естрогенів [3], виступаючи за різних обставин як синергісти або антагоністи ендогенних естрогенів. Багатим джерелом ФЕ є боби сої (до 300 мг / 100 г), споживання якої населенням значно зросло в останні роки внаслідок включення сої та її похідних до складу більшості продуктів харчування (м'ясні, рибні, макаронні, кондитерські вироби та інше) з метою зниження їх собівартості та покращення споживчих характеристик.

До теперішнього часу лишається відкритим питання про наслідки впливу тривалого споживання ФЕ для функціональних систем організму людини, зокрема на її репродуктивну систему. Показано, що у жінок дієта, багата на ФЕ, призводить до подовження менструального циклу, супресії піків лютеїнізуючого та фолікулостимулюючого гормонів у його середині, до змін стану піхвового епітелію [4]. Якщо результати уживання надлишку ФЕ особинами жіночої статі вивчені достатньо повно, то кількість досліджень стосовно наслідків споживання значної кількості ФЕ чоловіками та самцями тварин вкрай обмежена, але вони також вказують на значний вплив ФЕ на стан чоловічої репродуктивної функції. Так, у чоловіків – представників європеїдної раси уживання «азіатської» дієти, яка містить переважно вуглеводи, багаті на ФЕ, корелює з більш високим рівнем в крові глобуліну, що зв'язує статеві гормони, лютеїнізуючого та фолікулостимулюючого гормонів та більш низькою концентрацією вільного та загального тестостерону, ніж за умов уживання «західної» дієти з високим вмістом жиру, білка та зменшеною часткою вуглеводів [5, 6]. У чоловіків продукти з сої або геністеїн викликають зростання рівнів естрогену та  $E_2$  (естрадіолу) на тлі зменшення вмісту андрогенів, особливо дигідротестостерону, шляхом пригнічення активності  $5\alpha$ -редуктази [7]. Хоча інші автори стверджують, що ФЕ не впливають на рівень статевих гормонів у чоловіків [8].

**Мета дослідження** – встановити вплив фітоестрогенізації щура-батька на сомато-статевий розвиток та репродуктивну функцію нащадків чоловічої статі.

**Матеріал та методи дослідження.** Дослідження проводилися відповідно до національних «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), які узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985). Експериментальні тварини утримувалися у стандартних умовах віварію ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилев-

ського НАМН України» при природному освітленні та раціоні, рекомендованому для даного виду тварин, і питному режимі *ad libitum*.

Роботу виконано на 114 дорослих самцях та самицях щурів популяції Вістар масою 220–320 г та їх нащадках чоловічої статі. Тварин знеживлювали шляхом швидкої декапітації без використання наркозу для запобігання впливу на рівень статевих гормонів.

Самцям батькам згодовували суміш ФЕ протягом 30 діб до спаровування (в прекокумуляційний період) з інтактними самицями. Для моделювання аліментарного надходження надлишку ФЕ використовували препарат Genistein Soy Complex isoflavone-rich (Soylife, USA) відносний вміст ізофлавононів у якому (у перерахунку на індивідуальні аглікони) був: 1) дайдзеїну 60%, 2) гліцитеїну 22%, 3) геністеїну 18%. Дозу розраховували за так званим «геністеїновим еквівалентом», в експерименті біологічну дію ФЕ вивчали при застосуванні дози 20 мг/кг маси тіла протягом 30 діб батьку.

Частину запліднених самиць знеживлювали на 20 добу вагітності для визначення показників, що характеризують фертильність самців, іншу частину залишали до природних пологів. У тварин батьківського покоління після 30-ти добової фітоестрогенізації досліджували репродуктивну функцію за такими характеристиками, як статева поведінка, фертильність, спермограма. По виведенню тварин з експерименту на автопсії визначали масу андрогензалежних органів. Після знеживлювання самців, брали зразки сироватки крові для визначення концентрації гормонів (Т та  $E_2$ ), які зберігалися до аналізу при температурі мінус 18°C, також визначали співвідношення  $T/E_2$ . Рівень статевих гормонів у самців батьків визначали за допомогою тест-наборів ИФА- $E_2$  ООО «ХЕМА-Медика» та ИФА-Тестостерон (ООО «ХЕМА-Медика», Росія). У нащадків рівень Т визначали комерційним набором Стероид ИФА-тестостерон-01 (ЗАО Алкор-Био, Росія).

Експериментальні щури (батьки) були поділені на дві групи: 1) інтактні –  $Ro(-)$ , 2) самці які отримували надлишок ФЕ протягом 30 діб перед спаровуванням –  $Ro(ФЕ)$ . Далі одна група інтактних самиць була спарована з інтактними батьками, народжені щурята утворили інтактну групу  $Ro(-)/F_1(-)$ . Іншу групу самиць зсаджували з фітоестрогенізованими самцями, а їх нащадки склали групу  $Ro(ФЕ)/F_1(-)$ . День пологів вважали першим днем життя щурят.

Щурят усіх груп відлучали від матерів у 30-ти денному віці. У тварин простежували перебіг сомато-статевого розвитку (з першого дня народження до 60 доби життя) та виживаність. Доведено, що для статевої диференціації мозку важливим є

період андрогенної активності сім'яників самців у так званий критичний період (у щурів – з 20 доби перинатального життя до 7 доби після народження). Для визначення характеру рівня Т частину нащадків груп Ро(ФЕ)/F<sub>1</sub>(-) та Ро(-)/F<sub>1</sub>(-) виводили з експерименту на п'ятий день після народження та збирали зразки сироватки крові для визначення рівня Т.

По досягненню шестимісячного віку у нащадків чоловічої статі усіх досліджуваних груп вивчали статеву поведінку, фертильність, стан сперматогенезу, рівень гормонів, масу досліджуваних органів.

Статистичний аналіз отриманих даних проводили за допомогою пакету програм Excel 2003 та Statistica 6.0. Нормальність розподілу змінних визначали за допомогою критерію Колмогорова-Смірнова. Для порівняння показників, які характеризуються нормальним розподілом, застосовували t критерій Стюдента. Для порівняння декількох груп з нормальним розподілом використовували метод Шеффе. Для порівняння змінних із розподілом, відмінним від нормального застосовували критерії U-Манна-Уїтні, Крускала-Уолліса та  $\chi^2$ . Отримані результати представлено в таблицях як середнє арифметичне ( $\bar{x}$ ) та його похибка ( $S_{\bar{x}}$ ). Перевірку статистичної гіпотези проводили на рівні значущості  $p < 0,05$ .

**Результати дослідження.** Спочатку було досліджено вплив надлишку ФЕ на репродуктивну функцію самців щурів батьків. При вивченні статевої поведінки інтактних самців за 15 хв тесту відмічали усі елементи статевої поведінки: залицяльної (наближення до самки з обнюванням ано-генітальної ділянки) та саме копулятивної (садки, інтромісії та еякуляції). Введення ФЕ впродовж 30 діб не вплинуло на здатність самців до парування, але спостерігали послаблення копулятивної активності, так як сума садок та інтромісій у інтактній групі становила ( $28,2 \pm 1,8$ ) реакцій за тест, у фітоестрогенізованих тварин цей показник дорівнював лише ( $20,4 \pm 1,0$ ) реакцій за тест, що статистично значуще менше ( $p < 0,05$ ). До того ж, у жодного самця групи Ро(ФЕ) не був зареєстрований початок другої серії копуляцій, що свідчить про збільшення тривалості постеякуляторного рефрактерного періоду, тоді як у інтактних тварин він був відмічений у 22,2% щурів. Це можна трактувати як ослаблення статевої мотивації.

Надходження надлишку ФЕ в прекопсуляційний період у дорослих самців, незважаючи на зменшення копулятивної активності, не вплинуло на запліднюючу здатність та плодючість дорослих самців, на перебіг вагітності запліднених ними самиць.

Уведення ФЕ дорослим щурам батьківського покоління позначилось на масі внутрішніх органів:

значуще більша відносна маса сім'яних пухирців ( $188,9 \pm 14,2$  проти ( $239,6 \pm 15,4$ ) мг / 100 г маси тіла,  $p < 0,05$ ), гіпофіза ( $2,2 \pm 0,1$  проти ( $2,9 \pm 0,1$ ) мг / 100 г маси тіла,  $p < 0,05$ ) та менша маса надниркових залоз ( $17,4 \pm 1,1$  проти ( $14,7 \pm 0,6$ ) мг / 100 г маси тіла,  $p < 0,05$ ) на тлі незмінної маси тіла порівняно з даними інтактних тварин.

Як відомо, спермограма відображає результат сперматогенезу та сперміогенезу – від початкових поділів клітин сперматогенного епітелію до дозрівання вже диференційованих сперматозоїдів у придатку сім'яника. У випадку 30 добового згодовування ФЕ у суспензії клітин епідидиміса простежували клітини, які знаходились на стадії сперматоцитів на початку згодовування суміші. Внаслідок місячної фітоестрогенізації у щурів відбувалося значуще зниження концентрації сперматозоїдів (на 39%), серед яких удвічі зросла кількість клітин з аномальною будовою ( $19,0 \pm 2,5$  проти ( $39,8 \pm 3,5$ );  $p < 0,05$ ) порівняно з інтактними тваринами. Гістоструктура сім'яників щурів характеризувалась незначним зменшенням діаметру сім'яних каналців та збільшенням сполучно-тканинних прошарків строми. Клітинний склад сім'яних каналців дещо змінювався та кількість сперматогоній лишається нормальною, але в деяких каналцях спостерігалось пригнічення 2-ої та 3-ої стадій сперматогенезу.

Встановлено, що через 30 діб після застосування ФЕ у самців спостерігали майже п'ятикратне підвищення рівня  $E_2$  порівняно з інтактними тваринами ( $p < 0,05$ ) (табл. 1).

**Таблиця 1** – рівень гормонів у крові статевозрілих самців щурів, ( $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ )

Показник	Група, кількість тварин	
	Ро(-)	Ро(ФЕ)
Естрадіол, нмоль/л	$0,04 \pm 0,01$ n=5	$0,18 \pm 0,04$ n=7 $p < 0,05$
Тестостерон, нмоль/л	$28,5 \pm 7,1$ n=5	$39,4 \pm 5,1$ n=8
Тестостерон/естрадіол	$941,1 \pm 238,6$ n=5	$333,8 \pm 83,9$ n=7 $p < 0,05$

**Примітка:** p – рівень значущості порівняно до інтактної групи ( $p < 0,05$ ).

Співвідношення  $T/E_2$  знижено майже в три рази переважно за рахунок значного збільшення вмісту  $E_2$ . Тобто тривале застосування ФЕ призвело до абсолютної та відносної гіперестрогенії статевозрілих самців. Такий гормональний дисбаланс може пояснювати сповільнення статевої поведінки у тварин при паруванні їх з рецептивною самицею. Водночас, порушення фінальних етапів

сперматогенезу, яке веде до зменшення концентрації сперматозоїдів, утворення їх неповноцінних форм, не вплинуло на запліднюючу здатність та плодючість дорослих самців.

Далі були досліджені самці нащадки фітоестрогенізованих батьків. Фітоестрогенізація самця батька позначилась на кількості нащадків у виводку. Так, кількість нащадків інтактної групи була меншою, ніж у групі  $Po(\Phi E)/F_1(-)$ . У виводках кількість щурят була більшою порівняно з інтактної групи:  $(9,3 \pm 0,7)$  проти  $(6,5 \pm 0,7)$  щурят ( $p < 0,05$ ). Серед новонароджених тварин було на 60% більше самиць:  $(5,3 \pm 0,5)$  проти  $(3,3 \pm 0,5)$  щурят ( $p < 0,05$ ), тому співвідношення самиці: самці складало 1,3:1,0.

Щурята-нащадки знаходились в однакових умовах утримання: освітлення, годування та інше, але виживаність у досліджуваних двох групах ( $Po(\Phi E)/F_1(-)$  та  $Po(-)/F_1(-)$ ) різнилась і загибель переважно відбувалась між 1 та 20 добою після-натального життя. Загальна кількість нащадків у інтактній групі, які дожили до 20 доби, складала 82%, у групі  $Po(\Phi E)/F_1(-)$  – 100%, ( $p < 0,05$ ).

Інтегральним показником фізичного стану тварини прийнято вважати масу тіла, зміни якої досліджували впродовж 150 діб. У молодих статевозрілих нащадків дослідної групи у віці 90 діб, спостерігали значуще відставання на 17% у масі тіла ( $220,0 \pm 12,2$  проти  $(186,5 \pm 7,7)$  г ( $p < 0,05$ )). У віці 150 діб, це відставання вже дорівнювало 28,2%, а саме  $317,9 \pm 10,4$  проти  $(228,2 \pm 7,1)$  г ( $p < 0,05$ ) порівняно з інтактною групою.

Показник величини ано-генітальної відстані є ознакою перебігу внутрішньоутробного статевого розвитку. У самців-нащадків фітоестрогенізованого батька величина ано-генітальної відстані при народженні була меншою, ніж у інтактних тварин (на 13%;  $p < 0,05$ ) (табл. 2).

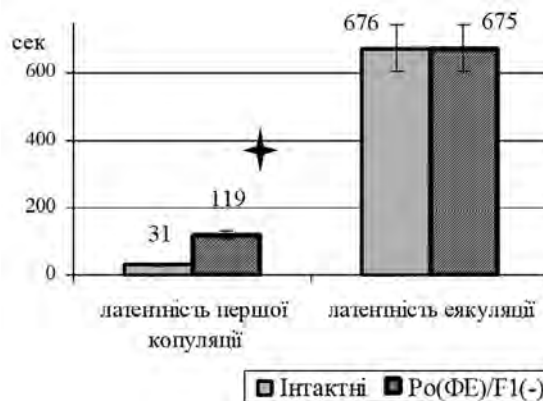
**Таблиця 2** – показники статевого розвитку нащадків чоловічої статі, ( $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ )

Показник	Група, кількість тварин	
	$Po(-)/F_1(-)$	$Po(\Phi E)/F_1(-)$
Ано-генітальна відстань, мм	$3,1 \pm 0,0$ n=13	$2,7 \pm 0,1$ n=11 $p < 0,05$
Опущення сім'яників, діб	$22,6 \pm 0,4$ n=15	$24,0 \pm 0,3$ n=11 $p < 0,05$

**Примітка:** p – рівень значущості порівняно до інтактної групи ( $p < 0,05$ ).

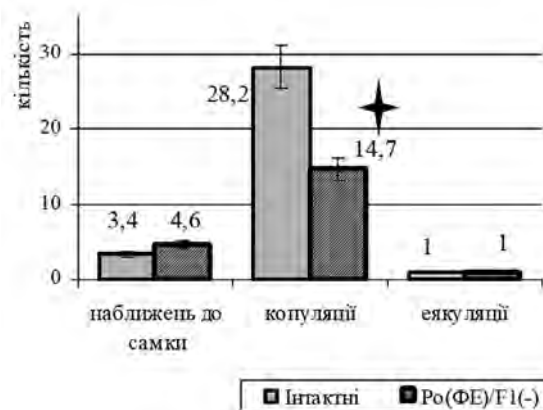
Крім того, у нащадків спостерігали затримку статевого дозрівання порівняно з інтактними тваринами, яка проявлялася в уповільненні опущення яєчок у мошонку (табл. 2). Ці спостереження свідчать про фемінізацію нащадків фітоестрогенізованого батька.

При дослідженні статевозрілих нащадків чоловічої статі цієї групи встановлено, що всі вони, як і інтактні тварини, здатні проявляти копуляторні реакції (садки та інтромісії). Однак, лише 10% з них за час тесту встигали завершити серію парувальних еякуляцій, що було значуще менше, ніж у контрольній групі (100%,  $p < 0,05$ ) (рис. 1, 2).



**Рис. 1** – Часові показники статевої поведінки самців-нащадків

**Примітка:** ✦ – відмінності значущі по відношенню до інтактної групи,  $p < 0,05$ .



**Рис. 2** – Кількісні показники статевої поведінки самців-нащадків:

**Примітка:** ✦ – відмінності значущі по відношенню до інтактної групи,  $p < 0,05$ .

Через таку невелику кількість еякуляцій у групі, другої серії парувальних не зареєстровано. Можна також відмітити кількісні зміни, які полягали у двократному зменшенні числа копуляторних реакцій за час тесту у порівнянні з інтактними тваринами –  $(14,7 \pm 1,6)$  проти  $(28,2 \pm 1,8)$  разів у контролі ( $p < 0,05$ ). Крім того, латентність реакції на рецептивну самицю була більшою, ніж у інтактній групі, вона зросла з  $(30,5 \pm 8,6)$  секунд до  $(119,0 \pm 31,1)$  секунд ( $p < 0,05$ ).

Індекс вагітності у досліджуваній групі склав 60%, що було значуще менше, ніж у контрольній групі (100%,  $p < 0,05$ ).

Розрахунок інтегрального показника фертильності, який враховує кількість запліднених та вагітних самиць й середню кількість плодів у вагітних самиць, показав, що у самців групи Po(ФЕ)/F<sub>1</sub>(-) плідність зменшена вдвічі (9,5±1,2 проти (4,5±0,2) плодів; p < 0,05) у інтактних тварин. Це пояснюється саме зменшенням частки вагітних самиць серед запліднених, і призводить до меншої кількості нащадків, яку потенційно можна отримати від самців піддослідної групи після дії певного чинника.

У досліджуваних тварин спостерігали статистично значущі зміни маси тіла та деяких органів порівняно з нащадками інтактних батьків. Так, маса тіла нащадків була меншою (322,3±8,8 проти (277,9±6,2) г; p < 0,05), але відносна маса сім'яників була більша (1085,6±32,2 проти (1248,8±51,5) мг/100 г маси тіла; p < 0,05), гіпофіза (2,7±0,1 проти (3,0±0,1) мг/100 г маси тіла; p < 0,05) та надниркових залоз (15,8±0,8 проти (18,0±0,5) мг/100 г маси тіла; p < 0,05). Відносна маса придатків сім'яників, сім'яних пухирців та передміхурової залози не мала значущих відхилень.

При дослідженні суспензії епідидимальних сперматозоїдів було встановлено, що за такими параметрами, як концентрація, рухливість та частка патологічних форм спермограм нащадків фітоестрогенізованого батька не відрізняються від спермограм інтактних тварин.

Морфометричні показники гістологічної картини сім'яників вказують на зменшення діаметру сім'яних каналців на 11% (p < 0,05), яке сполучається зі збільшеною на 20% (p < 0,05) кількістю сперматогоніїв. Таке поєднання дає змогу відтворювати нормальну кількість сперматозоїдів, хоча індекс сперматогенезу, який свідчить про інтенсивність процесу, знижений на 14% (p < 0,05). Тобто відбувається компенсація за рахунок збільшення середньої кількості сперматогоніїв у каналцях. Деяке підвищення відносних мас органів свідчить про гормональні зміни у нащадків. Це припущення було підтверджено визначенням в крові вмісту статевих гормонів. Виявлено, що у нащадків фітоестрогенізованого батька рівень Т був у межах контрольних показників, а концентрація E<sub>2</sub> перевищувала норму в п'ять разів (p < 0,05) порівняно з інтактними щурами. Такий дисбаланс визначив відносну гіперестрогенію – співвідношення T/E<sub>2</sub> було нижче (163,8±33,7 проти 734,5±141,9), ніж у інтактних щурів.

Відомо, що у особин чоловічої статі саме сім'яник у визначений проміжок часу внутрішньо-утробного та неонатального розвитку формує розвиток статевої системи за чоловічим чи жіночим типом, ініціюючи формоутворюючий процес у певному напрямку. Тестостерон, що секретують сім'яники у критичний період, відіграє провідну

роль у морфогенезі чоловічих статевих органів ембріона та статевої диференціації мозку. У нащадків-самців, які були народжені від фітоестрогенізованого батька, рівень Т на 5 добу життя (у період статевої диференціації мозку) був на 25% меншим порівняно з інтактними тваринами (p < 0,05).

Таким чином, проведені дослідження дозволили встановити, що надлишкове вживання ФЕ батьком перед спаровуванням призводить до народження однією самкою більшої кількості нащадків, які відрізняються кращою виживаністю, зниженим рівнем Т у критичний період розвитку (на 5 добу життя), нормальним перебігом соматичного розвитку, порушеним (фемінізованим) статевим розвитком.

Отримані результати свідчать, що дія естрогеноподібних речовин проявляється не тільки за умов надходження у критичні періоди ембріонального та постнатального періодів, а й, навіть, при дії на статеві клітини батьків-щурів. Скоріше за все, має місце вплив ФЕ на ДНК сперматозоїдів батька на епігенетичному рівні, що, можливо, пов'язано зі зміною процесів метилювання нуклеїнових кислот [9, 10]. Адаже мутагенна дія чинника проявилася б зростанням внутрішньоутробних втрат у вагітних самиць і за умов згодовування речовини у більшій дозі. До того ж для геністеїну максимально безпечна доза для самиць та щурят становить 100 мг/кг маси тіла, що в п'ять раз більше, ніж у нашому дослідженні [11]. Змінюється експресія окремих генів, що проявляється у фенотипі нащадків відмінностями, зокрема, регулювання функції гонад, темпів соматостатевого розвитку, особливостями обміну речовин та інше. Вважають, що особливості метилювання ДНК, які є реакцією на зміну дозвілля, зберігаються протягом існування контамінуючого фактора.

#### Висновки

1. Тривале введення ФЕ статевозрілим щурам-самцям батькам спричиняє абсолютну та відносну гіперестрогенію, що призводить до ослаблення копулятивної активності, порушення сперматогенезу, в той же час не позначається на репродуктивному потенціалі фітоестрогенізованих самців.
2. Наявність надлишку сполук з естрогенною активністю у раціоні статевозрілих самців в прекокусмаційний період призводить до народження самців-нащадків, у яких спостерігається знижений рівень тестостерону (на 25%) в критичний період статевої диференціації мозку (на 5 добу життя). В подальшому це призводить до порушення статевого розвитку та затримці опущення сім'яників у мошонку.

3. Репродуктивна функція статевозрілих нащадків фітоестрогенізованого батька характеризується відмінностями статевої поведінки: менша копулятивна активність – на 50%, менша кількість садок та інтромісій, кількість самців з еякуляцією дорівнює 10%; уповільнені статеві реакції – втричі більша латентність першої садки; і меншим репродуктивним потенціалом. Зниження репродуктивного потенціалу нащадків фітоестроге-

нізованого батька відбувається через зменшення частки ефективних запліднень, що свідчить про негативні зміни у сперматозоїдах, розвиток яких, починаючи зі стадії сперматоцитів, відбувався в умовах абсолютної та відносної гіперестрогенії.

**Перспективою подальших досліджень є** дослідження особливостей репродуктивної функції самиць нащадків, які були народжені фітоестрогенізованими батьками.

### References

1. Suen AA, Kenan AC, Williams CJ. Developmental exposure to phytoestrogens found in soy: New findings and clinical implications. *Biochem Pharmacol.* 2022 Jan;195:114848. PMID: 34801523; PMCID: PMC8712417. doi: 10.1016/j.bcp.2021.114848
2. Wyse JM, Latif S, Gurusinghe S, Berntsen ED, Weston LA, Stephen CP. Characterization of Phytoestrogens in *Medicago sativa* L. and Grazing Beef Cattle. *Metabolites.* 2021 Aug 20;11(8):550. PMID: 34436490; PMCID: PMC8398016. doi: 10.3390/metabo11080550
3. Yuan XX, Zhang B, Li LL, Xiao CW, Fan JX, Geng MM, et al. Effects of soybean isoflavones on reproductive parameters in Chinese mini-pig boars. *J Anim Sci Biotechnol.* 2012 Oct 29;3(1):31. PMID: 23107449; PMCID: PMC3503841. doi: 10.1186/2049-1891-3-31
4. Poluzzi E, Piccinni C, Raschi E, Rampa A, Recanatini M, De Ponti F. Phytoestrogens in postmenopause: the state of the art from a chemical, pharmacological and regulatory perspective. *Curr Med Chem.* 2014;21(4):417-36. PMID: 24164197; PMCID: PMC3963458 doi: 10.2174/09298673113206660297.
5. Iwamoto T, Nozawa S, Yoshiike M. Semen quality of Asian men. *Reprod Med Biol.* 2007 Nov 7;6(4):185-193. PMID: 29699277; PMCID: PMC5904753. doi: 10.1111/j.1447-0578.2007.00184.x
6. Vij U, Kumar A. Phyto-oestrogens and prostatic growth. *Natl Med J India.* 2004 Jan-Feb;17(1):22-6. PMID: 15115228
7. Dillingham BL, McVeigh BL, Lampe JW, Duncan AM. Soy protein isolates of varying isoflavone content exert minor effects on serum reproductive hormones in healthy young men. *J Nutr.* 2005 Mar;135(3):584-91. PMID: 15735098. doi: 10.1093/jn/135.3.584
8. Reed KE, Camargo J, Hamilton-Reeves J, Kurzer M, Messina M. Neither soy nor isoflavone intake affects male reproductive hormones: An expanded and updated meta-analysis of clinical studies. *Reprod Toxicol.* 2021 Mar;100:60-67. PMID: 33383165. doi: 10.1016/j.reprotox.2020.12.019
9. Mohammadzadeh M, Pouretezari M, Zare-Zardini H, Nabi A, Esmailabad SG, Khodadadian A, et al. The effects of sesame oil and different doses of estradiol on testicular structure, sperm parameters, and chromatin integrity in old mice. *Clin Exp Reprod Med.* 2021 Mar;48(1):34-42. PMID: 33648043; PMCID: PMC7943348. doi: 10.5653/cepm.2020.03524
10. Leavy M, Trottmann M, Liedl B, Reese S, Stief C, Freitag B, et al. Effects of Elevated  $\beta$ -Estradiol Levels on the Functional Morphology of the Testis - New Insights. *Sci Rep.* 2017 Jan 3;7:39931. PMID: 28045098; PMCID: PMC5206739. doi: 10.1038/srep39931
11. McClain RM, Wolz E, Davidovich A, Edwards J, Bausch J. Reproductive safety studies with genistein in rats. *Food Chem Toxicol.* 2007 Aug;45(8):1319-32. PMID: 17433519. doi: 10.1016/j.fct.2007.01.009

UDC 612.616;591.463:615.256.51

### Features of the Development of the Reproductive System of Male Rats Offspring Born from Fathers who Received Phytoestrogens before Mating *Seliukova N. Yu., Perets O. V., Gladchenko O. M., Karabut L. V., Matviichuk O. P.*

**Abstract.** *The purpose of the study was the research of the influence of rats father's excessive consumption of phytoestrogens on somato-sexual development and reproductive function of male offspring.*

**Materials and methods.** Male parents were fed with a mixture of phytoestrogens before mating with intact females at a dose of 20 mg/kg of body weight for 30 days. In reproductive animals, reproductive function was studied for such characteristics as sexual behavior, fertility, spermogram, the mass of androgen-dependent organs was determined, and the level of sex hormones was determined. Experimental parents were divided into two groups: 1) intact, 2) males who received excess phytoestrogens. After the birth of male offspring from these parents, their reproductive system was examined.

*Results and discussion.* Prolonged administration of phytoestrogens to mature male parents (parents) causes absolute and relative hyperestrogenism (five-fold increase in  $E_2$  and vice versa reduction of  $T/E_2$  three-fold), which leads to a decrease in copulatory activity (reduction of the number of nurseries and intromissions by 28%), violation of spermatogenesis (reduction of sperm concentration by 39%, doubling the proportion of abnormal forms), at the same time does not affect the reproductive potential of male who were born to fathers who received an excess consumption of phytoestrogens.

The presence of excess compounds with estrogenic activity in the diet of adult males in the preconsumption period leads to the birth of male offspring, which have reduced testosterone levels (25%) in the critical period of sexual differentiation of the brain (5 days of life).

Descendants of the male sex of the phytoestrogenized father have a normal course of somatic development but are characterized by impaired sexual development (less anogenital distance by 13%) and delayed lowering of the testicles into the scrotum, lower body weight in adulthood (28.2% in 150 day rats).

Reproductive function of the offspring of phytoestrogenized father is characterized by differences in sexual behavior: less copulatory activity – 50%, less number intromission, the number of males with ejaculation is 10%; delayed sexual reactions; and lower reproductive potential (two-fold reduction of the integrated indicator of potential fertility of animals).

Decreased reproductive potential of the offspring, who were born to fathers who received an excess consumption of phytoestrogens, occurs due to a decrease in the proportion of effective fertilization (pregnant females among those fertilized only 60%), indicating negative changes in sperm, the development of which, starting from the stage of spermatocytes, occurred in conditions of absolute and relative hyperestrogenism.

*Conclusion.* The male who were born to fathers who received an excess consumption of phytoestrogens, have complications in the functioning of the reproductive system.

**Keywords:** phytoestrogens, reproductive system, male rats, offspring, fertility.

#### ORCID and contributionship:

Nataliia Yu. Seliukova : 0000-0001-9657-6888 <sup>A,B,C,D,E,F</sup>

Olena V. Perets : <sup>C</sup>

Oleg M. Gladchenko : 0000-0002-5967-3280 <sup>E</sup>

Larisa V. Karabut : 0000-0003-3535-2527 <sup>E</sup>

Olena P. Matviichuk : 0000-0001-6296-5463 <sup>E</sup>

---

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis,

C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article,

E – Critical review, F – Final approval of the article

#### CORRESPONDING AUTHOR

**Nataliia Yu. Seliukova**

National University of Pharmacy,

Veterinary Medicine and Pharmacy Department

53, Pushkinska St., Kharkiv 61002, Ukraine

tel: +380971698941, e-mail: selyk3@ukr.net

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.*

Стаття надійшла 21.12.2021 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування