

ХАРЬКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи

Флоренц

ЗОЛОТУХИНА Валентина Николаевна

РЕПРОДУКТИВНАЯ ФУНКЦИЯ ПОТМСТВА АНДРОГЕНИЗИРОВАННЫХ
САМЦОВ

03.00.13 - Физиология человека и животных

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Харьков - 1993

Работа выполнена в Украинском НИИ
эндокринных заболеваний



00820054 (J)

Научный руководитель - доктор биологических наук,
профессор Гладкова Алла Ивановна

Официальные оппоненты - доктор медицинских наук,
Плехова Елена Игоревна
кандидат биологических наук,
Нестеренко Галина Алексеевна

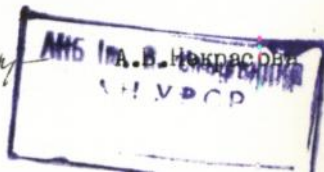
Ведущая организация - Институт проблем криобиологии и
криомедицины АН Украины

Защита состоится "12" марта 1993 г.
в "15" ч. "15" мин. на заседании специализированного
совета К 053.06.07 Харьковского государственного университета
(310077, Харьков, пл.Свободы, 4, аудитория 3-15).

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной
библиотеке Харьковского государственного университета.

Автореферат разослан "4" апреля 1993 г.

Ученый секретарь
специализированного совета



Актуальность тем. Многочисленные клинические наблюдения и экспериментальные исследования свидетельствуют о неблагоприятном влиянии нарушений гормонального гомеостаза у матери, обусловленных эндокринными заболеваниями либо приемом гормональных средств, на плод и постнатальное развитие потомства /Л.И.Губарева, М.И.Половина, 1988; Е.С.Детяк и др., 1988, 1990; Л.И.Серова, 1990, 1992; Г.Т.Шипкина, 1990; И.Е.Эндрейс и др., 1990; N. Neufeld, 1987/.

Влияние на потомство гормональных изменений в отцовском организме не нашло должного освещения. Вместе с тем этот вопрос чрезвычайно актуален, поскольку мужчины репродуктивного возраста часто подвергаются гормональным воздействиям. Препараты тестостерона (Тс) и дигидротестостерона (ДГТ) (Тс пропионат, тестенат, сустанж, медротестонпропионат, пролотестон, становолон и др.) широко применяются в диагностических целях, при лечении различных эндокринных и неэндокринных заболеваний, в терапии функциональных половых расстройств и бесплодия /И.Ф.Юнда и др., 1980; Н.Т.Старкова, 1983; О.Л.Тиктинский, 1990; Wilson, Griffin, 1980/. В ряде случаев, в том числе и для повышения работоспособности, используется анаболический эффект андрогенов /В.А.Роговкин, 1988/. Кроме того, следует принять во внимание спонтанные колебания уровня эндогенных андрогенов в мужском организме /О.Н.Савченко, 1979; Л.В.Тарасенко и др., 1989; Mock et.al., 1978; Sodersten, 1985/.

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы являлось изучение влияния гиперандрогении в отцовском организме для постнатального развития и состояния половой функции их потомков.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие конкретные задачи:

1. Изучить влияние Тс и ДГТ на воспроизводительную способность самцов в зависимости от сроков спаривания после введения андрогенов по показателям, характеризующим функциональную активность спермиев; состояние герминативного эпителия, оплодотворяющую способность, уровень эмбриональной смертности, плодовитость.

2. Изучить влияние Тс и ДГТ, введенных самцам в равные сроки перед спариванием, на:

- физическое развитие их потомства;
- половое созревание и репродуктивную функцию потомков по показателям, характеризующим гонадотропную активность

гипофиза, инкреторную и генеративную функцию гонад, половое поведение и фертильность.

Научная новизна. Впервые проведено исследование по изучению последствий андрогенизации самцов для постнатального развития и становления половой функции их потомков равного пола. Осуществлен сравнительный анализ эффектов Тс и ДТ. В сравнительном аспекте оценены последствия андрогенизации самцов для их потомков в зависимости от сроков спаривания.

Теоретическое и практическое значение. Результаты исследования подтверждают современные представления о действии Тс и ДТ на уровне мужских половых клеток. Показана различная степень влияния Тс и ДТ на мужские гаметы в зависимости от стадии их развития. Выявлен однонаправленный эффект изучаемых андрогенов на постнатальное развитие потомков в случаях зачатия в ближайшие сроки после андрогенизации самцов-производителей. Таким образом, показана большая чувствительность к андрогенам зрелых спермиев в сравнении с половыми клетками начальных этапов сперматогенеза. Полученные данные должны учитываться при определении оптимальных сроков зачатия после приема андрогенов с целью получения здорового потомства.

Материалы могут быть использованы в курсах по общей и возрастной физиологии, сексопатологии, андрологии.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Изменение андрогенного статуса отцов оказывает влияние на постнатальное развитие и состояние половой функции их потомства.

2. Степень влияния Тс и ДТ на мужские половые клетки и соответственно характер отклонений у потомков зависят от стадии развития гамет.

3. Экзогенные Тс и ДТ влияют на геном мужских гамет.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены и обсуждены на конференции молодых ученых и специалистов Украинского НИИ фармакотерапии эндокринных заболеваний (Харьков, 1987, 1989); Республиканской научно-практической межинститутской конференции молодых ученых-медиков (Харьков, 1986), I съезде мед. генетиков Украины (Львов, 1988), XIII съезде Украинского физиологического общества им. И.П. Павлова (Харьков, 1990), Всесоюзном симпозиуме "Медиаторы в генетической регуляции поведения" (Новосибирск, 1986), Всесоюзном симпозиуме "Молекулярные и функциональные механизмы онтогенеза" (Харьков, 1987), III Всесоюзной конференции

по нейроэндокринологии (Харьков, 1988), Международном совещании (Новосибирск, 1989), на заседании общества эндокринологов (Харьков, 1988) и патофизиологов (Харьков, 1990) Харьковского научного медицинского общества.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 14 работ и получено 1 авторское свидетельство СССР.

Структура и объем работы. Содержание диссертации изложено на 217 страницах машинописного текста и включает в себя введение, две главы обзора литературы, описание методов исследования, три главы результатов собственных исследований, заключение и вывод. Текст диссертации иллюстрирован 38 таблицами и 23 рисунками. Библиографический указатель содержит 492 источника отечественной и зарубежной литературы.

Материал и методы исследований. Работа выполнена на 620 крысах популяции Вистар. В соответствии с задачами исследования обследовались самцы-производители, а также их потомки обоего пола. Животных содержали в стандартных условиях вивария при естественном освещении, питание *ad libitum*. Использовались молодые половозрелые самцы, обладающие высокой сексуальной активностью. Отбор сексуальноактивных самцов осуществлялся по результатам их полового контакта с рецептивными овариэктомированными самками, у которых состояние рецептивности вызывали последовательной обработкой эстрадиолом (E_2) и прогестероном.

С целью установления стадии сперматогенеза наиболее чувствительной к действию андрогенов и определения неблагоприятного для потомков периода зачатия после введения гормонов андрогенизацию самцов-производителей осуществляли в равные сроки перед спариванием. Тс или ДТ назначали за 2 либо 48 суток перед спариванием. Андрогены вводили внутримышечно однократно в дозах соответственно 1 мг/кг 0,05%-ного и 0,2 мг/кг 0,01%-ного масляного раствора. Контрольные животные получали в том же объеме и при тех же условиях растворитель андрогенов - косточковое масло.

В первой серии исследований изучалось влияние названных стероидов на инкреторную и генеративную функцию гонад и фертильность самцов-производителей.

Во второй серии исследований изучалось постнатальное развитие и состояние половой функции у потомков первого поколения андрогенизированных самцов. Физическое развитие потомства оценивали по динамике изменения массы тела крысят с возрастом, по

срокам развития биологических признаков: отлипание ушек, появление и генерализованный рост волосяного покрова, прорезывание зубов, открытие глаз. В возрасте 1 и 2,5 месяцев исследовали поведение потомков в "открытом поле" по методике Крушинского-Молодкиной /Д.А.Кулагин, В.К.Федоров, 1969/.

Половое созревание потомства оценивалось на основе анализа аногенитального расстояния у крысят, сроков опущения яиц в матку у самок и раскрытия влагалища у самок.

Половая функция потомков изучалась при достижении ими репродуктивного возраста. Исследовалась инкреторная и генеративная функция гонад, фертильность и половое поведение.

Об эякуляторной способности самок судили по наличию спермиев в половых путях самки. Оплодотворяющую способность оценивали по величине индекса беременности. Исследовались показатели, характеризующие функциональное состояние спермы: концентрация, подвижность спермиев, количество патологических форм /И.В.Саноцкий, В.Н.Фоменко, 1979; А.И.Нстеса, 1984/. Показателями фертильности явились продолжительность беременности, уровень внутриутробной гибели эмбрионов, размер помета. Фертильность изучали у потомков обоего пола.

Об инкреторной функции гонад судили по содержанию T_c и E_2 в периферической крови. Уровень гормонов определяли радиоиммунологическим методом с помощью стандартных наборов, приготовленных институтом Биорганической химии Белорусской Академии наук. Генеративная функция оценивалась на основе анализа гистологической картины семенников и яичников.

У самок изучался эстральный цикл путем ежедневной цитологической оценки вагинальных мазков в течение 3-х недель. Концентрация гормонов определялась в стадии покоя (диэструс).

При изучении полового поведения у самок регистрировали частоту приближений к самке, число садок, интросиссии, эякуляций во время тестирования, фиксировали время наступления первой садки, интросиссии (латентность), период от первой интросиссии до эякуляции (латентность эякуляции), продолжительность постэякуляторного интервала, число интросиссий перед эякуляцией /Н.К.Попова и др., 1978; Н.А.Карпенко, 1992/.

Половое поведение у самок исследовалось по методу Grant и Mackintosh /1963/, что позволяло судить как о процептивном, так и спаривательном поведении животных. Обеспечивался половой контакт интактных рецептивных самок с орхидэктомизированными сам-

цами, у которых высокий уровень сексуальной активности поддерживался гормональной стимуляцией Тс-пропионатом.

Суммарную гонадотропную активность гипофиза у взрослых потомков оценивали методом биологического тестирования / Ludwig, 1950/.

Уровень ФСГ у самцов-производителей определяли с помощью наборов реактивов для радиоиммунологического определения красных гонадотропинов, полученных из Национального гипофизарного агентства США (№ 2 AMDD).

Статстическую обработку физиологических показателей осуществляли по методу Стьюдента, используя критерий t /Л.Закс, 1976/.

Мутагенный эффект ДТГ оценивали на основе цитогенетического анализа препаратов красного костного мозга потомков андрогенизированных самцов первого поколения. Был применен метод давленных препаратов. Препараты окрашивали ацетолакмидом /С.Д.Дарлингтон, Л.Ф.Ла Кур, 1980; Г.Макгрегор, Дж.Варли, 1986/. Учет хромосомных aberrаций осуществляли на стадиях анафазы и телофазы. Достоверность различий определяли по χ^2 /В.С.Генес, 1964/.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Репродуктивная функция самцов крыс после введения Тс либо ДТГ. Однократное введение Тс в дозе 1 мг/кг на 20-й минуте после инъекции индуцировало 10-кратное повышение содержания данного андрогена в периферической крови самцов (64,49±6,90 нМ/л) по сравнению с исходным уровнем (6,04±0,87 нМ/л, $P < 0,001$). Такой подъем укладывался в пределы физиологических колебаний содержания Тс у самцов крыс / Mock et. al., 1978; Sodersten, 1985/. Через 24 часа после инъекции Тс содержание исследуемого андрогена нормализовалось (6,29±0,68 нМ/л, $P > 0,5$).

Инъекция ДТГ вызывает у самцов повышение уровня ДТГ, концентрация Тс при этом не изменяется /И.В.Сидорова, 1991; Michael et. al., 1987/. Через 24 часа после инъекции ДТГ наблюдается восстановление андрогенного статуса у самцов /М.Ю.Алесина, Н.А.Карпенко, 1989; И.В.Сидорова, 1991/.

Уровень ФСГ у исследуемых самцов даже через 2 суток после андрогенизации был понижен и оставался в группе, где применил-

ся Тс, - $172,00$ нг/мл, в группе, где использовался ДГТ, - $159,80 \pm 14,16$ нг/мл, тогда как у контрольных крыс - $242,50 \pm 58,98$ нг/мл ($P < 0,05$).

Уровень ЛГ в этот период был также снижен, косвенно об этом свидетельствовала гипофункция гормонпродуцирующих элементов семенников, зарегистрированная на тестикулярных гистологических препаратах самцов через 2 суток после введения андрогенов. В это же время в семенниках обнаруживалась интенсификация сперматогенеза, что, наряду с зарегистрированной сниженной функциональной активностью клеток Лейдига, свидетельствовало о проникновении экзогенных андрогенов в яичко. Полученные данные согласуются с современными представлениями о влиянии Тс и ДГТ в фармакологических дозах на сперматогенез у здоровых животных / Ludwig, 1950; Desjardins et. al., 1973; Cunningham, Huskins, 1979; Bansal, Davies, 1986/. Некоторые показатели функциональной активности спермы (концентрация, подвижность) через 2 суток после введения Тс или ДГТ не отличались от соответствующих данных у контрольных животных. Однако было обнаружено повышенное количество патологических форм среди эпидидимальных спермиев ($21,83 \pm 0,88\%$ и $21,73 \pm 0,93\%$ соответственно, в контроле - $17,33 \pm 1,02\%$, $P < 0,05$).

Через 48 суток после введения Тс установлено увеличение концентрации спермиев ($71,20 \pm 5,20$ млн, в контроле - $53,75 \pm 5,37$ млн, $P < 0,05$); ДГТ не вызывал изменений в данном показателе. Аналогичные результаты были получены И.В.Сидоровой /1991/ после однократной инъекции ДГТ у нормальных кроликов. Выявлено увеличение количества патологических форм спермиев как после введения Тс, так и ДГТ ($22,84 \pm 1,76\%$ и $23,13 \pm 1,68\%$ соответственно, в контроле - $18,92 \pm 1,28\%$, $P < 0,1$). Подвижность спермиев была в пределах контрольных значений.

Мы полагаем, что появление морфологически измененных спермиев у самцов крыс после введения андрогенов связано как с непосредственным эффектом экзогенных Тс или ДГТ на гаметы, так и опосредовано изменениями функциональной активности тестикулярных и эпидидимальных клеток, обеспечивающих среду, в которой находятся гаметы. В качестве подтверждения прямого влияния андрогенов можно рассматривать наличие специфических андрогенных рецепторов в гаметах, свидетельствующих о связывании исследуемых гормонов клетками /У.Мейнуоринг, 1979; С.С.Райцина, 1983; Frankel, Chapman, 1984/.

Продолжительность сперматогенеза является величиной постоянной и видоспецифичной /С.С.Райцина, 1985/. У крыс между первым делением определенной популяции сперматогоний и выходом их в виде сперматозоидов в эпидидимис проходит 48 суток /Clement et. al., 1959/. Транспорт спермиев через придаток яичка продолжается немного более 8 дней /Sujarit, Pholpramool, 1985/.

Таким образом, через 2 суток после андрогенизации самцов в оплодотворении принимали участие спермии, которые в момент гормональных воздействий находились в теле придатка семенника, поскольку продвижение спермиев от тела до проксимальной части хвоста эпидидимиса составляет 2 дня и менее 1 дня затрачивается на переход спермиев из проксимальной части к дистальному отделу хвоста придатка яичка /Sujarit, Pholpramool, 1985/. Исходя из приведенных выше рассуждений, через 48 суток после введения андрогенов в оплодотворении участвовали спермии, которые в момент гормональных воздействий находились на начальных этапах сперматогенеза - на стадии сперматогоний.

Несмотря на повышенное количество дегенеративных форм спермиев, показатели, характеризующие фертильность и плодовитость самцов, не отличались от контрольных значений.

Постнатальное развитие и половая функция потомства самцов, получавших Тс либо ДГТ за 2 суток перед спариванием. Появление и развитие биологических признаков, характерных для крысят, у исследуемых потомков наблюдалось примерно в те же возрастные периоды, что и в контроле.

Введение самцам-производителям Тс не повлияло на массу тела новорожденных крысят; при назначении им ДГТ масса тела новорожденных потомков превышала контрольный уровень. В связи с меньшим приростом по сравнению с контролем исследуемые потомки до одномесячного возраста по массе тела уступали контрольным животным (различия статистически достоверны). С 40-дневного возраста масса тела потомков стала приближаться к значениям контроля.

Характер поведенческого онтогенеза также отличался от контроля. Если у контрольных животных интенсивность двигательных реакций с возрастом увеличивалась, у исследуемых потомков снижалась. Характер возрастных изменений вегетативных реакций у потомков был аналогичен контролю. Следует отметить двигательную гиперактивность, обнаруженную у потомков обоего пола в од-

номесячном возрасте.

Половое развитие происходит одновременно с соматическим и строго координировано с ним /А.Г.Резников, 1982/. У исследуемых потомков антогенитальное расстояние не отличалось от контроля, что свидетельствовало о нормальном эмбриогенезе половой системы. Однако, в группах, где использовались Тс или ДГТ, опущение яичек в мошонку у крысят наблюдалось на $27,46 \pm 0,43$ и $26,87 \pm 0,39$ день соответственно (в контроле - на $24,83 \pm 0,82$ день, $P < 0,05$), раскрытие влагалища - на $63,45 \pm 2,13$ и $74,87 \pm 2,63$ день соответственно (в контроле - на $56,08 \pm 1,59$ день), $P < 0,05$. Полученные данные свидетельствовали о задержке полового созревания у потомков. Существует точка зрения о функциональной значимости ДГТ и 3 α -диола в нивелировании яичек в мошонку /Raifer, 1982/. У самцов крыс с 21-дневного возраста до 5-6 недель наблюдается повышение уровня ДГТ и 3 α -диола /В.Г.Дегтярь, 1992; Orłowski et. al., 1988/. Это дает основание полагать, что у исследуемых потомков причиной задержки опущения яичек в мошонку явилась недостаточность ДГТ и 3 α -диола в контрольный возрастной период. Задержка наступления пубертата у мужского потомства могла быть также вызвана недостаточной зрелостью гипоталамо-гипофизарно-гонадного комплекса в ранний, возможно, и средний периоды полового созревания.

У самок открытие влагалища связывают с местным действием эстрогенов /А.Г.Резников, 1982; В.Б.Ровен, 1984/. Повышенный синтез и секрецию эстрогенов в яичнике запускают гонадотропные гормоны /Д.Т.Бейрд, 1987; Hillier, 1987/. По-видимому, в контрольные сроки раскрытия влагалища у исследуемых потомков уровень функционирования гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы был недостаточен, чтобы вызвать разрыв вагинальной мембраны. Возможно, это связано с перестройками в нейромедиаторном звене регуляции, содержащем активацию половой системы.

В репродуктивном возрасте для потомков обоего пола был характерен гиперандрогенный гормональный статус. У мужского потомства в группе, где использовался Тс, уровень данного андрогена составлял $7,62 \pm 0,54$ нМ/л и $8,04 \pm 0,99$ нМ/л в группе, где назначался ДГТ, тогда как в контроле - $5,70 \pm 0,39$ нМ/л (различия статистически достоверны). Концентрация E_2 - соответственно $176,55 \pm 20,81$ пМ/л ($P > 0,1$) и $224,65 \pm 15,82$ пМ/л ($P < 0,05$) против $166,76 \pm 18,77$ пМ/л в контроле. Андроген-эстрогенное соотношение у потомков ($38,21 \pm 2,42$ и $47,76 \pm 8,89$ соответственно) превышало контроль-

ный уровень ($27,23 \pm 3,18$) (различия статистически достоверны), что свидетельствовало об относительном преобладании андрогенов над эстрогенами.

Суммарная гонадотропная активность гипофиза у исследуемых потомков превышала контрольный уровень: у инфантильных самок крыс, получавших гипофизарные экстракты самцов, отцам которых перед спариванием назначали Тс или ДГТ, в 70% и 60% случаев соответственно обнаруживалось раскрытие влагалища, тогда как в контроле в 25% случаев ($P > 0,05$).

Таким образом, у потомков система гипофиз-гонады "работает" на более высоком уровне. Соответственно этому в семенниках по сравнению с контролем выше функциональная активность гормонсекретирующих клеток Лейдига, стимулируемых ЛГ, и интенсивность сперматогенеза, регулируемая гипофизарным ФСГ и Тс, синтезируемые интерстициальными клетками, о чем свидетельствовала гистологическая картина семенников.

Подвижность спермиев у потомков в пределах контрольных значений. Концентрация половых клеток превосходит контрольный показатель ($79,75 \pm 9,57$ млн и $78,46 \pm 9,87$ млн против $57,88 \pm 3,66$ млн в контроле, $P < 0,01$). Отмечается увеличение количества патологических форм спермиев ($16,15 \pm 1,25\%$ и $16,97 \pm 1,22\%$ соответственно против $8,75 \pm 0,37\%$ в контроле, $P < 0,001$). Однако выявленные морфологические изменения в спермиях не повлияли на фертильность и плодовитость исследуемых потомков.

В половом поведении потомки проявляли типичные мужские черты, что позволяло судить о нормальной половой дифференциации мозга в критический период. При трактовке поведенческих данных мы исходили из гипотезы о существовании 2 регуляторных механизмов: центрального и периферического / Beach и Jordan, 1956/. Центральный механизм определяет мотивационный компонент полового поведения (половое влечение), тогда как периферический управляет собственно копуляцией. Уровень функциональной активности центрального механизма определяют параметры: латентность садки, длительность гомеостатического интервала; об активности периферического механизма судят по величине латентности эякуляций и числу интромиссий перед эякуляцией /Н.А.Карпенко, 1992/.

У исследуемых потомков уровень "ухаживательного" поведения превышал контрольный показатель. Отмечалось некоторое ослабление мотивационного компонента полового поведения по сравнению с контролем. Был зарегистрирован низкий уровень копулятивной

активности: латентный период эякуляции увеличился, число инт-ромиссий перед эякуляцией уменьшалось, уровень копулятивных реакций за тест снижался. В серии покрытий % садок превышал контрольный уровень (34,6% и 34,8% против 19,8% в контроле), соответственно количество копуляций было снижено (65,4% и 65,2% против 80,2% в контроле) (различия статистически достоверны). Таким образом, у мужского потомства между центральными и периферическими механизмами регуляции складываются иные функциональные взаимоотношения по сравнению с контролем, что и определило характер копулятивного поведения.

У женского потомства в репродуктивном возрасте уровень андрогенов составлял $2,18 \pm 0,07$ нМ/л и $3,78 \pm 0,44$ нМ/л, тогда как в контроле - $1,58 \pm 0,12$ нМ/л, $P < 0,05$). Содержание E_2 в группе, где применялся Тс, не отличалось от контрольных значений ($223,84 \pm 21,15$ пМ/л, $P > 0,1$), в группе, где использовался ДГТ, - было гораздо ниже контрольного уровня ($124,72 \pm 23,04$ пМ/л против $205,49 \pm 13,74$ пМ/л, $P < 0,05$). Андроген-эстрогенное соотношение составляло соответственно $21,74 \pm 7,25$ ($P > 0,1$) и $24,16 \pm 5,44$ ($P < 0,1$) против $12,08 \pm 1,21$ в контроле.

При изучении овариальных гистологических препаратов у потомков была обнаружена увеличенная тека, основной продуцент андрогенов в яичнике / Magoffin, Erickson, 1981/, что свидетельствовало о повышенной ее функциональной активности.

В соответствии с гиперандрогенным гормональным статусом в обеих группах регистрировалось снижение относительной массы матки /Лт. Милку, 1973/. У самок, отцы которых получали Тс, наблюдалось увеличение продолжительности цикла ($5,92 \pm 0,35$ дней против $4,67 \pm 0,67$ дней, $P < 0,05$) и отдельных его стадий (течки и межтечкового периода) ($2,18 \pm 0,07$ дней и $3,75 \pm 0,37$ дней соответственно против контрольных показателей $1,63 \pm 0,04$ дней и $2,80 \pm 0,15$ дней, $P < 0,05$).

Половое поведение у потомков было типично женским, активность процептивного и собственно спаривательного поведения не отличалась от контроля. Не было обнаружено отклонений при изучении фертильности.

Таким образом, назначение самцам Тс или ДГТ за 2 суток перед спариванием способствовало вовлечению экзогенных андрогенов в процессы дозревания эпидидимальных спермиев, участвующих в оплодотворении, и вызвало отклонения в физическом, поло-

вом равнитии, формировании психических и половой функций потомков.

Особенности постнатального развития и репродуктивной функции потомков в случае андрогенизации самцов-производителей за 48 суток перед спариванием. При рождении потомки андрогенизированных самцов по массе тела не отличались от контрольных животных либо превосходили их (последнее относится к потомству женского пола, отцы которых за 48 суток перед спариванием получали ДГТ). Прирост массы тела у потомков в исследуемые возрастные периоды превосходил контрольные значения, причем у мужского потомства различия были более значительные. Общий биологический уровень равнития потомков незначительно отличался от контроля.

Уровень эмоциональности у потомства во все исследуемые периоды был приближен к контрольным значениям, что свидетельствовало о нормальном онтогенезе вегетативных реакций. Направленность возрастных изменений локомоторной и исследовательской активностей у потомков обоего пола была аналогична контролю, что соответственно характеризовало поведенческий онтогенез у исследуемых животных. Интенсивность двигательных реакций у потомков в изучаемые возрастные периоды, в основном, приближалась к контрольным значениям.

Полученные результаты свидетельствовали о нормальном физическом равнитии потомков самцов, андрогенизированных за 48 суток перед спариванием.

Аногенитальное расстояние у исследуемых животных соответствовало полу и не отличалось от контроля. Раскрытие влагалища у потомков женского пола и опущение яичек в мошонку у самцов происходило примерно в те же возрастные периоды, что и в контроле, за исключением самцов, отцы которых перед спариванием получали Тс, у них наблюдалась тенденция к преждевременному опущению яичек ($22,63 \pm 0,47$ день против $23,67 \pm 0,27$ день, $P < 0,1$).

В зрелом возрасте физиологический статус потомков обоего пола отличался от контроля. У мужского потомства в группе, где применялся Тс, содержание данного андрогена составляло $6,56 \pm 0,67$ нМ/л, в группе, где использовался ДГТ, $6,54 \pm 0,42$ нМ/л, тогда как в контроле - $7,85 \pm 0,38$ нМ/л (различия статистически достоверны).

Концентрация E_2 составляла соответственно $202,21 \pm 35,53$ нМ/л ($P > 0,1$) и $71,31 \pm 9,88$ нМ/л ($P < 0,05$), тогда как в контроле -

158,94±20,43 нМ/л. Андроген-эстрогенное соотношение у потомков Тс-обработанных самцов свидетельствовало об относительном преобладании эстрогенов (23,76±4,68), у потомков ДТ-получавших самцов - андрогенов (64,68±8,23) (контроль- 35,31±3,20) (различия статистически достоверны).

В семенных канальцах исследуемых потомков просматривались все типы гамет, что свидетельствовало о полном цикле сперматогенеза. В эпидидимальной суспензии потомков регистрировались повышенные концентрации спермиев (108,33±12,86 млн и 96,00±11,68 млн соответственно против 52,83±8,59 млн в контроле (различия статистически достоверны). Подвижность зрелых гамет, количество патологических форм спермиев не превышало контрольный уровень.

Половое поведение было типично мужским, что свидетельствовало о нормальной половой дифференциации мозга в критический период. Исследуемые самцы отличались повышенной сексуальной возбуждённостью, о чем свидетельствовали короткие латентные периоды садок, интромиссий, постэякуляторный интервал. Уменьшились также латентность эякуляций и число интромиссий перед эякуляцией. Перечисленные показатели свидетельствовали о высоком уровне функциональной активности центрального и периферического звеньев регуляции полового поведения. Более того, у потомков наблюдалась высокая копулятивная активность. Такой характер полового поведения возможен был при повышенном уровне ДТ. Известно, что ДТ, в основном управляет периферическими регуляторными механизмами /А.И.Гладкова, Н.А.Карпенко, 1989; Stefanic, Davidson, 1987/, но может оказывать влияние и на центральное звено регуляции /Н.А.Карпенко, 1992; Vash et. al., 1982/, а в сочетании с E_2 оказывает достаточно сильное центральное действие /Sodersten et. al., 1986/. Полученные результаты убеждают, что в регуляции мужского полового поведения важное значение имеет соотношение гормонов.

У женского потомства в зрелом возрасте была обнаружена абсолютная гиперэстрогения. Содержание E_2 в периферической крови составляло соответственно 238,30±71,43 нМ/л и 154,47±25,81 нМ/л против 63,44±15,48 нМ/л в контроле (различия статистически достоверны). Уровень Тс в группе, где использовался Тс, не отличался от контрольных значений (2,83±0,23 нМ/л против 2,53±0,18 нМ/л, $P > 0,1$); в группе, где применялся ДТ, превышал контрольные значения (3,94±0,43 нМ/л, $P < 0,001$). При анализе ве-

личины андроген-эстрогенного соотношения в сравнении с контролем в обоих вариантах исследования не было установлено статистической достоверности: соответственно $16,76 \pm 5,84$ и $34,29 \pm 7,72$ против $34,16 \pm 8,61$ в контроле ($P > 0,1$).

Результаты гормональных определений согласовывались с морфологическими показателями. У потомков, отцы которых получали Тс, были увеличены яичники. Известно, что масса яичников увеличивается за счет размеров фолликулов, что, в свою очередь, определяется разрастанием клеток гранулезы, на пролиферативную активность которых оказывают влияние эстрогены /А.Л.Падучева, Д.Ф.Бойко, 1965; Armstrong, 1986/.

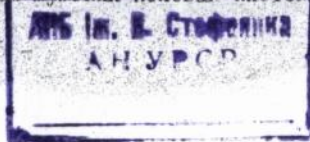
В соответствии с выявленной эстрогенизацией половое поведение у потомков было типично женским и активным. Эстрогены играют определяющую роль в развитии рецептивности и спаривательной активности у самок крыс /В.Б.Розен, 1984/.

Таким образом, вовлечение экзогенных андрогенов в процессы дифференциации и развития сперматогоний у самцов индуцировало отклонения в состоянии половой функции их потомков.

Изучение мутагенного эффекта ДГТ. О мутагенном эффекте Тс в настоящее время имеется достаточно информации /И.В.Серова, Ю.Я.Керкис, 1974; Е.А.Антипенко, О.И.Тимченко, 1988/. О ДГТ подобных сведений в доступной нам литературе не обнаружено. В связи с этим был поставлен эксперимент по изучению возможного мутагенного действия ДГТ. Цитогенетическое исследование клеток красного костного мозга проводилось у потомков самцов, получавших ДГТ за 2 суток перед спариванием, т.к. в этой постановке были получены более значительные отклонения в физиологических показателях потомков. У мужского потомства андрогенизированных самцов, количество аберрантных клеток достоверно превышало контрольный уровень ($1,82\%$ против $1,02\%$ в контроле, $P < 0,01$). Полученные результаты в совокупности с выявленными фенотипическими отклонениями у потомков свидетельствовали о повреждающем действии ДГТ в мужских гаметах на уровне генома.

В В О Д Ы

1. Назначение Тс или ДГТ самцам крыс вызывает увеличение числа морфологически измененных спермиев, что обусловлено пролиферацией исследуемых андрогенов в семенные каналцы и придаток яичка и непосредственным воздействием на гаметы. Экзогенные Тс и ДГТ влияют на геном мужских половых клеток.



2. Тс и ДТ оказывают примерно равнозначные аффекты на функцию воспроизведения самцов, в связи с чем направленность и характер последствий воздействия наванных андрогенов на гамету в соответствии с их стадией развития для потомства приобретают общие черты.

3. Чувствительность к исследуемым андрогенам зрелых эпидидимальных спермиев выше по сравнению со сперматогониями.

4. Экзогенные Тс и ДТ, влияя на процессы, связанные с созреванием спермиев в придатке семенника и оказывая непосредственное воздействие на гамету, вызывают отклонения в физическом развитии, половом созревании и репродуктивной функции их потомков.

5. Воздействие экзогенных Тс или ДТ на эпидидимальные спермии самцов индуцирует у их потомков гиперандрогенный гормональный статус, обусловленный повышенной активностью интерстициальных клеток семенника и текальных клеток яичника. На фоне гиперандрогении у мужского потомства отмечается повышенная интенсивность сперматогенеза, высокий уровень спермопродукции, однако увеличивается количество патологических форм спермиев, снижается интенсивность копулятивных реакций; у женского потомства в случае назначения самцам-примородителям Тс нарушается продолжительность и фазовая структура эстрального цикла.

6. Возлечение экзогенных Тс и ДТ в процессы дифференциации и развития сперматогоний самцов впоследствии вызывает незначительные отклонения в физическом и половом развитии их потомков. Однако в репродуктивном возрасте у мужского потомства развиваются отклонения в гормональном статусе, обусловленные снижением уровня Тс. На фоне указанных гормональных изменений у самцов-потомков наблюдаются повышенные концентрации спермиев, повышенная сексуальная возбудимость в сочетании с ускоренной актуацией, что, вероятно, связано с достаточно высоким уровнем ДТ. У женского потомства развивается гиперэстрогения, которая не оказывает модифицирующего влияния на их половую функцию.

По теме диссертации опубликованы следующие работы:

1. Гладкова А.И., Золотухина В.Н. Поведенческие реакции у потомков андрогенизированных крыс-самцов. // Медиаторы в генетической регуляции поведения: Матер. Всес. симпозиума, г. Новосибирск,

11-14 июля 1986.-Новосибирск,1986.-С.11-12.

2. Золотухина В.Н. Последствия гормональной обработки по отцовской линии для физического и полового развития потомков обоего пола.// Матер. Ш обл.научно-практич.конф.сексопатологов. - г.Харьков,14 мая 1987.-Харьков,1987.-С.344-346.

3. Золотухина В.Н. Последствия андрогенной обработки крыс-самцов для потомства.// Генетические аспекты патологии: Тев. докл. XV межобластной научно-практич.конф.-г.Харьков,1987.- Харьков,1987.-С.8.

4. Гладкова А.И., Золотухина В.Н. Последствия гормональной обработки по отцовской линии для физического и полового развития потомков мужского пола.// Молекулярные и функциональные механизмы онтогенеза: Тев.докл.Всес.симпов.-г.Харьков,27-29 октября 1987.-Харьков,1987.-С.50.

5. Золотухина В.Н. Отдаленные последствия введения дигидротестостерона самцам для потомства. //Тев.докл. I съезда мед.генетиков Украины.-г.Львов,24-26 марта 1988.-Львов,1988.-С.139.

6. Гладкова А.И., Золотухина В.Н. Половые функции потомства андрогенизированных отцов. //Тев.докл. II Всес.конф. педиатров-эндокринологов.-г.Москва, 30-31 мая 1988.-М.,1988.-С.42.

7. Золотухина В.Н. Половая дифференциация мозга и наследственная гипорандрогения у самок крыс.// Тев.докл. III Всес.конф. по нейроэндокринологии.-г.Харьков,3-5 октября 1988.-Л.,1988.- С.283.

8. Гладкова А.И.,Багрий А.П.,Золотухина В.Н. Наследственная передача изменений гормонального статуса по материнской и отцовской линии.// Тев.докл. Международного совещания.-г.Новосибирск, 11-15 июля 1988.-Новосибирск,1988.-С.32-34.

9. А.с. № 1645989 СССР Способ моделирования врожденной гипорандрогении.// А.И.Гладкова, В.Н.Золотухина (СССР) - Заявка № 4677142. Заявл. 11.04.89; Зарегистр. 3.01.91.

10. Золотухина В.Н. Влияние тестостерона на воспроизводительную способность самцов крыс и их потомков.// Тев.докл. III Всес. съезда эндокринологов.-г.Ташкент, 16-19 мая 1989.- Ташкент: Медицина,1989.-С.42-43.

11. Сидорова І.В., Золотухина В.М., Карпенко Н.О. Про значення дигідротестостерону для регуляції репродуктивної функції самців щурів.// Розвиток фізіології в Українській РСР за 1986-1990 роки: Зб.матеріалів XIII з'їзду Українського фізіолог.т-ва.-м.Харків 17-21 вересня 1990.-К.,Наукова думка,1990.-С.114-115.

1. ...
2. ...
3. ...
4. ...
5. ...
6. ...
7. ...
8. ...
9. ...
10. ...
11. ...
12. ...
13. ...
14. ...
15. ...
16. ...
17. ...
18. ...
19. ...
20. ...
21. ...
22. ...
23. ...
24. ...
25. ...
26. ...
27. ...
28. ...
29. ...
30. ...
31. ...
32. ...
33. ...
34. ...
35. ...
36. ...
37. ...
38. ...
39. ...
40. ...
41. ...
42. ...
43. ...
44. ...
45. ...
46. ...
47. ...
48. ...
49. ...
50. ...
51. ...
52. ...
53. ...
54. ...
55. ...
56. ...
57. ...
58. ...
59. ...
60. ...
61. ...
62. ...
63. ...
64. ...
65. ...
66. ...
67. ...
68. ...
69. ...
70. ...
71. ...
72. ...
73. ...
74. ...
75. ...
76. ...
77. ...
78. ...
79. ...
80. ...
81. ...
82. ...
83. ...
84. ...
85. ...
86. ...
87. ...
88. ...
89. ...
90. ...
91. ...
92. ...
93. ...
94. ...
95. ...
96. ...
97. ...
98. ...
99. ...
100. ...

Ротапринт ЦОАТ "ХТЗ" им.С.М.Кирова
Заказ 940 тираж 100

AB 26.643

AB 26.643