

СТАН РЕПРОДУКТИВНОЇ ФУНКЦІЇ ТА РЕЗИСТЕНТНІСТЬ ДО РАДІАЦІЇ САМОК — НАЩАДКІВ ОПРОМІНЕНИХ БАТЬКІВ

Карпенко Н. О.

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», м. Харків

За роки, що минули після аварії на ЧАЕС, вже дана оцінка багатьом аспектам її медико-біологічних наслідків. Вважають, що опромінення великих когорт населення є одним з чинників погіршення демографічної ситуації в країні. Так, у ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС спостерігалось зниження народжуваності до 0,3–2,5 дитини на 1000 чоловік порівняно з 11–15 дітьми в цілому по Україні [1]. У російських ліквідаторів знайдено дворазове зниження коефіцієнту відтворення [2]. Водночас результати епідеміологічних досліджень народжуваності в «чистих» регіонах України та районах, забруднених радіонуклідами (РН), та висновки про причини її зниження вкрай суперечливі [3, 4].

Також постає питання про фізіологічний стан нащадків опромінених батьків, особливо — стан репродуктивної функції. Це визначається тим, що, по-перше, існує можливість трансгенераційної передачі зміненої спадкової інформації статевих клітин [5, 6],

що може привести до народження неповноцінного потомства [7]. По-друге, натепер діти, що народилися та виросли за умов дії слабкого опромінювання, досягли репродуктивного віку, проте реакція нащадків на екологічний фактор, що впливав на їх батьків, практично не досліджена.

За багатьох причин серед комплексу виробничих, побутових та соціальних факторів відокремити внесок низьких доз радіації у розвиток патології репродуктивної функції людини та важливість цього для наступних поколінь практично неможливо. Розв'язання такого завдання потребує здійснення експериментальних досліджень з відповідним дозиметричним супроводом.

З огляду на вищенаведене, метою роботи, що подається, було дослідження наслідків опромінювання батька у різних дозах для репродуктивної функції його нащадків жіночої статі та визначення стійкості цієї функції до опромінювання у малих дозах.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експеримент проведено згідно з національними «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах» (Україна, 2001), яких утримували у віварії ДСНВП «Екоцентр» (м. Чорнобиль).

Досліджена репродуктивна функція са-

мок щурів покоління F1, які народилися від інтактних самок та опромінених самців щурів популяції Вістар.

До парування самців батьківського покоління опромінювали впродовж 1,5 міс. Різну потужність опромінювання моделюва-

ли за рахунок використання питної води, яка містила різну концентрацію радіонуклідів з 4 блоку ЧАЕС. Питома γ -активність води (по $^{137} + ^{134}\text{Cs} + ^{137}\text{mBa}$) дорівнювала 135,5; 10,3 або 1,0 кБк/кг, відповідно. У клітках, в яких утримувались самці, величина γ -фону становила $3,2 \cdot 10^{-11}$ — $4,3 \cdot 10^{-11}$ Кл/кг·с (45–60 мкР/ч). На підставі даних про вміст $^{134} + ^{137}\text{Cs}$ и ^{90}Sr в органах та тканинах щурів, інтенсивність фонового зовнішнього опромінювання та взаємоопромінювання розраховували сумарну поглинену дозу опромінення (ПД), яка у гонадах самців на час парування з самками досягла 94 мГр (група Д1), 9 мГр (група Д2) та 3 мГр (група Д3) [8].

Контрольні щури батьківського покоління впродовж усього дослідження знаходились у віварії ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України», м. Київ.

Вагітні самки до родів та тварини покоління F1 груп з умовними позначками F1♀-Д1, F1♀-Д2, F1♀-Д3 та F1♀-Контроль до 2–2,5 міс. віку знаходились у «чистому» віварії, де γ -фон не перевищував $1,3 \cdot 10^{-11}$ Кл/кг·с (18 мкР/ч), та отримували «чисті» воду і корм.

Половину нащадків з 2–2,5 міс. до 6–6,5 міс. життя було переведено на радіоактивні корми та воду для моделювання хронічного опромінювання, і вони склали групи RA F1♀-Д1, RA F1♀-Д2, RA F1♀-Д3 та RA F1♀-Контроль.

За 4 міс. ПД в усьому тілі опромінених сібсів склали близько 4 мГр, тобто, умови опромінювання були подібними таким для самців батьківського покоління групи Д3.

У віці 6–6,5 міс. досліджували репроду-

ктивну функцію самок — нащадків усіх груп (усього 135 тварин). Протягом 30 днів у 47 «чистих» та 45 опромінених самок-нащадків визначали тривалість та фазову структуру естрального циклу за цитологією ранкових піхвових мазків.

Плідність самок (97 «чистих» та 38 опромінених) досліджували після парування з інтактними самцями. При аутопсії запліднених самок на 20-ту добу вагітності у них визначали кількість жовтих тіл у яєчниках, місць імплантацій та плодів. Підраховували внутрішньоутробні втрати, розраховували інтегральний показник плідності Φ_i ($\pm S_{\Phi_i}$) за формулою [9]:

$$\begin{aligned} \Phi_i \pm S_{\Phi_i} &= \\ &= \frac{N_2 \times N_3 \times (N_4 \pm S_{N_4})}{N_1 \times N_1} = \\ &= \frac{N_2 \times N_3 \times N_4}{N_1 \times N_1} \pm \frac{N_2 \times N_3 \times S_{N_4}}{N_1 \times N_1} \end{aligned}$$

де: N_1 — кількість самок у групі;

N_2 — кількість запліднених самок;

N_3 — кількість вагітних самок;

N_4 — середня кількість плодів у вагітної самки;

N_5 — середня кількість жовтих тіл у вагітної самки.

Дані представлені як середня арифметична та її похибка. З огляду на характер розподілу даних у групах, який відповідав закону нормального розподілу, достовірність відмінностей між групами оцінювали множинним порівнянням з використанням критерію Q Данна. Якісні показники в альтернативній формі «так—ні» (у процентах) порівнювали за допомогою критерію U Вілкоксона-Манна-Вітні або χ^2 [10].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Важливою характеристикою жіночої репродуктивної функції є естральний цикл, який відбиває циклічні зміни готовності до парування та виведення потомства, що забезпечується коливаннями в організмі рівня гонадотропних та статевих гормонів. При дослідженні потомства жіночої статі опромінених батьків було з'ясовано, що приблизно у однакового відсотку самок в усіх групах

спостерігався естральний цикл (тобто були наявні фази проеструсу та еструсу) у кількості 4,7–5,5 циклів на самку за місяць. Тривалість циклу становила від 4,9 до 7,8 діб, але через велику мінливість різниця між групами була статистично незначущою. Структура циклу (тривалість стадій) також не відрізнялася від такої у контрольних тварин.

При дослідженні плідності самок бу-

Показники плідності самок щурів — нащадків опромінених батьків ($n, \bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Група	Кількість		
	Жовтих тіл	Місць імплантації	Плодів
Контроль*	5 11,1 ± 0,8	5 9,4 ± 0,9	5 8,6 ± 0,9
♀F1-K × ♂ інтактний	6 12,0 ± 0,7	6 11,5 ± 0,6	6 10,5 ± 0,6
RA ♀F1-K × ♂ інтактний	7 10,9 ± 0,7	7 8,7 ± 0,4 ^Δ	7 7,4 ± 0,9 ^Δ
♀F1-Д1 × ♂ інтактний	19 9,1 ± 0,4**	19 8,9 ± 0,3	19 8,2 ± 0,4
RA ♀F1-Д1 × ♂ інтактний	6 14,2 ± 0,8 ^Δ	6 11,2 ± 1,0 ^Δ	6 10,3 ± 0,9 ^Δ
♀F1-Д2 × ♂ інтактний	30 8,7 ± 0,2**	30 8,0 ± 0,3	30 7,1 ± 0,4
RA ♀F1-Д2 × ♂ інтактний	6 13,0 ± 1,0 ^Δ	6 9,8 ± 2,3	6 9,0 ± 2,3
♀F1-Д3 × ♂ інтактний	8 8,8 ± 0,5**	8 8,3 ± 0,5	8 7,9 ± 0,4
RA ♀F1-Д3 × ♂ інтактний	8 14,6 ± 0,6** ^Δ	8 11,8 ± 0,9** ^Δ	8 10,3 ± 1,0 ^Δ

П р и м і т к а. * — результати групи Контроль — середньозважена середня арифметична та її середньозважена помилка результатів п'яти повторів парувань інтактних тварин; ** — статистично значущі відмінності від групи Контроль ($p < 0,05$); ^Δ — статистично значущі відмінності від відповідної групи неопромінених сибсів ($p < 0,05$).

ло встановлено, що у групі самиць F1♀-Д1, батько яких був опромінений впродовж 1,5 міс. у найбільшій дозі, відмічалось зменшення індексу запліднення на 25 %, тобто до $70,6 \pm 7,3\%$ порівняно з інтактними тваринами ($94,2 \pm 2,3\%$). Такі зміни свідчать про порушення статевої поведінки самок, тобто зменшення їхньої рецептивності. У самок усіх груп знайдено статистично значуще зменшення кількості жовтих тіл: відповідно 82,0; 74,8 та 79,3 % відносно контролю, що вказує на утворення меншої кількості яйцеклітин під час овуляції (табл. 1). Кількість місць імплантації та плодів у самок — нащадків опромінених батьків не відрізнялася від такого у інтактних тварин. Таке сполучення показників свідчить про деяке зменшення доімплантаційних втрат у запліднених самок, що підтверджується даними табл. 2. Можна бачити, що у самок з груп ♀F1-Д1 та ♀F1-Д3 доімплантаційні втрати були значуще меншими, ніж у контролі. Аналіз групових показників маси плодів та плацент, плацентарно-плідного індек-

су не виявив суттєвих відмінностей у самок — нащадків опромінених батьків порівняно з контролем.

Таким чином, плідність самок — нащадків опромінених батьків, яка оцінена за окремими показниками, дає підставу для висновку про відсутність пошкоджуючого впливу на неї опромінення батька до парування. Для перевірки цього положення був обчислений інтегральний показник плідності Фі, який дає можливість врахувати вплив як змін статевої поведінки, що відбивається на величині індексу запліднення, так і змін якості гамет самки, від чого залежить індекс вагітності та внутрішньоутробні втрати. Дані, що наведені у табл. 3, показують, що висновок про відсутність негативного впливу опромінення батька справедливий лише для самок, батько яких був опромінений у дозі 3 або 9 мГр, тоді як у самок групи ♀F1-Д1 (ПД батька 94 мГр) плідність зменшується на 41,3 % ($P < 0,05$) відносно даних узагальненого контролю.

Репродуктивну функцію самок — нащад-

Внутрішньоутробні втрати у нащадків опроміненого батька в умовах додаткового радіаційного навантаження та за його відсутності ($n, \bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Група	До імплантації, %	Після імплантації, %	Сумарна
Контроль*	5 13,6 ± 2,9	5 8,7 ± 1,8	5 21,9 ± 1,3
♀F1-K × ♂ інтактний	15 8,0 ± 2,3	15 8,4 ± 3,2	15 12,4 ± 2,1
RA ♀F1-K × ♂ інтактний	7 17,5 ± 6,4	7 10,6 ± 4,8	7 28,1 ± 10,8
♀F1-Д1 × ♂ інтактний	19 1,0 ± 0,7**	19 8,8 ± 2,3	19 9,8 ± 2,3
RA ♀F1-Д1 × ♂ інтактний	6 20,4 ± 7,9 ^Δ	6 5,4 ± 2,6	6 25,8 ± 8,2
♀F1-Д2 × ♂ інтактний	30 8,8 ± 2,4	30 10,0 ± 3,6	30 18,7 ± 4,1
RA ♀F1-Д2 × ♂ інтактний	5 20,5 ± 13,6	5 3,8 ± 2,4	5 24,3 ± 12,4
♀F1-Д3 × інтактний ♂	8 5,0 ± 2,5**	8 3,8 ± 1,9	8 8,8 ± 4,4
RA ♀F1-Д3 × ♂ інтактний	7 17,1 ± 7,9	7 12,6 ± 9,6	7 29,7 ± 9,6

Примітка. Як у табл. 1.

ків опромінених батьків після додаткової дії іонізуючої радіації досліджували аналогічно. Порівняння отриманих результатів груп «чистих» та «опромінених» сібсів показало, що додаткове опромінювання не вплинуло на тривалість та структуру естрально-го циклу та індекс вагітності. При обчисленні індексу запліднення у опромінених самок, народжених від інтактних батьків (група RA F1♀-Контроль), виявлено зниження цього показника на 26,5% ($P < 0,05$). Водночас зниження індексу запліднення у самок групи RA ♀F1-Д1 не залежало від додаткового опромінювання і було таким же, як і у «чистих» сібсів: $87,5 \pm 9,0$ та $70,6 \pm 7,3\%$, відповідно.

Знайдено, що в умовах додаткового опромінювання низької потужності у самок, що народилися від опроміненого батька, порівняно з їхніми «чистими» сібсами, під час овуляції дозріває дещо більше яйцеклітин, є більше місць імплантацій та плодів, що особливо характерно для самок, батьки яких отримали опромінювання з потужністю дози Д1 та Д3, (див. табл. 1) і, таким чином, спостерігається нормалізація цих характеристик плідності. Додаткове опромінюван-

ня не позначилось на перебігу вагітності, бо були відсутніми статистично значущі зміни у показниках внутрішньоутробних втрат та розвитку плодів (табл. 2). За інтегральним показником Фі найсуттєвіше зменшення плідності (на 58,3%, $P < 0,05$) в умовах додаткового опромінювання відмічено у самок, народжених від інтактних батьків, порівняно з плідністю їх «чистих» сібсів. В інших групах опромінених самок зміни плідності в умовах такого слабкого опромінювання не набували статистичної значущості.

Таким чином, порівняння характеристик репродуктивної функції «чистих» та «опромінених» сібсів, які народилися від опроміненого батька, показало, що слабе радіаційне навантаження не вплинуло на здатність самок другого покоління до запліднення, а навпаки, сприяло деякому зростанню плідності опромінених тварин порівняно з їхніми «чистими» сібсами. Слід також відмітити, що таке поліпшення плідності спостерігалось незалежно від величини дозового навантаження батька. Можна припустити, що знайдені нами ознаки зростання плідності самок — нащадків опромінених самців носять пристосувальний харак-

Потенційна плідність (Фі) самок — нащадків опромінених батьків, відносний внесок порушень поведінки та змін якості яйцеклітин ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Група	Умови досліджу	Фі $\pm S_{\text{Фі}}$, плодів	Відносна зміна плідності, %	Внесок порушень поведінки, %	Внесок пошкодження гамет, %
Контроль*		6,6 \pm 0,7	100,0	50,0	50,0
♀F1-K \times інтактний ♂	«чисті»	7,3 \pm 0,8	109,7	56,5	43,5
	опромінені	2,8 \pm 0,3 ^Δ	41,7**	47,8	52,2
♀F1-D1 \times інтактний ♂	«чисті»	3,9 \pm 0,6**	58,7**	44,6	55,4
	опромінені	6,8 \pm 0,6 ^Δ	102,1	60,5	39,5
♀F1-D2 \times інтактний ♂	«чисті»	5,5 \pm 1,2	82,9	46,9	53,1
	опромінені	5,9 \pm 1,5	89,0	46,6	53,4
♀F1-D3 \times інтактний ♂	«чисті»	5,2 \pm 0,7	78,4	47,7	52,3
	опромінені	9,1 \pm 1,0 ^Δ	137,2	54,2	45,8

Примітка. Як у табл. 1.

тер і є наслідком змін генетичного матеріалу сперматозоїдів самців-батьків. Можливими механізмами цього можуть бути або зміни метилювання ДНК сперматозоїдів, або

індукція геномної нестабільності з утворенням мікросателітних мутацій [11], але для з'ясування цього питання необхідні додаткові відповідні дослідження.

ВИСНОВКИ

- Стан функції відтворення у нащадків опромінених самців-батьків залежить від дозового навантаження батька до парування. Опроміювання самців-батьків з поглинутою дозою у гонадах в інтервалі 3–9 мГр не впливає на плідність їхніх нащадків-самок. За умов утворення поглинутої дози близько 94 мГр плідність нащадків-самок знижується на 41,3% порівняно з інтактними щурами.
- Додаткове слабке радіаційне навантаження погіршує плідність тварин, опромінених у першому поколінні (на 58,3%).
- За умов додаткового опроміювання самок, що народилися від самців, опромінених у діапазоні поглинутої дози 3–94 мГр, їх відтворювальна здатність відповідає показникам інтактних тварин.
- Виявлено ознаки адаптації репродуктивної функції самок — нащадків опромінених батьків до дії радіації, що проявляється покращенням плідності порівняно з їхніми неопроміненими сібсами.

ЛІТЕРАТУРА

- Медико-демографическая оценка здоровья проживающих в Украине ликвидаторов аварии на Чернобыльской АЭС [Текст] / Н.И. Омелянец, А.И. Нягу // «Чернобыль-94»: Сб. докл. 4-й международ. науч.-техн. конф. (Зеленый Мыс, 1994). — Т. 2. — Чернобыль, 1996. — С. 5–15.
- Функция воспроизводства у участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС и здоровье их детей [Текст] / А.М. Лягинская, В.А. Осипов, О.В. Смирнова [и др.] // Мед. и радиац. безопасность. — 2002. — Т. 47, № 1. — С. 5–11.
- Донець, М. П. Демографічна ситуація в Чернігівській області та її зв'язок з чорнобильською ка-

- гастрофою [Текст] / М. П. Донець // Лікарська справа. — 2004. — № 8. — С. 17–21.
4. *Гриджук, М. Ю.* Аналіз динаміки змін демографічних показників серед різних груп населення Чернігівської області у 1976–1996 рр. [Текст] // Укр. радіол. журн. — 1998. — № 6. — С. 196–199.
 5. *Streffer, C.* Transgenerational transmission of radiation damage: genomic instability and congenital malformation [Text] / C. Streffer // J. Radiat. Res. (Tokyo). — 2006. — Vol. 47, Suppl. B. — P. 19–24.
 6. *Шевченко, В. А.* Генетические последствия действия ионизирующих излучений [Текст] / В. А. Шевченко, М. Д. Померанцева — М.: Наука, 1985. — 279 с.
 7. Врожденные пороки развития у потомства ликвидаторов последствий аварии на чернобыльской АЭС [Текст] / А. М. Лягинская, А. Р. Туков, В. А. Осипов [и др.] // Радиц. биол. радиоэкол. — 2009. — Т. 49, № 6. — С. 694–702.
 8. Експериментальне моделювання хронічного комбінованого (внутрішнього та зовнішнього) опромінення тварин [Текст] / І. П. Дрозд, А. І. Липська, М. Ю. Алесіна [та ін.] // Вплив радіаційного фактора Чорнобильської зони відчуження на організм тварин / За ред. М. Ю. Алесіної, Я. І. Серкіза. — К.: Атіка, 2006. — С. 8–26.
 9. *Карпенко, Н. О.* Інтегральна оцінка репродуктивної функції самців лабораторних тварин [Текст] / Н. О. Карпенко // Укр. біофармац. журн. — 2011. — Т. 13, № 2. — С. 64–68.
 10. *Гланц, С.* Медико-біологіческая статистика [Текст] / С. Гланц // Пер. с англ. — М.: Практика, 1998. — 459 с.
 11. Elevated minisatellite mutation rate in the post-chernobyl families from Ukraine [Text] / Y. E. Dubrova, G. Grant, A. A. Chumak, A. N. Karakasian // Am. J. Hum. Genet. — 2002. — Vol. 74, № 4. — P. 801–809.

СТАН РЕПРОДУКТИВНОЇ ФУНКЦІЇ ТА РЕЗИСТЕНТНІСТЬ ДО РАДІАЦІЇ САМОК — НАЩАДКІВ ОПРОМІНЕНИХ БАТЬКІВ

Карпенко Н. О.

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», м. Харків

Досліджено репродуктивну функцію самок щурів, народжених від інтактних самок та самців, опроміненіх у поглиненій дозі (ПД) у гонадах 94, 9 або 3 мГр за 1,5 міс. При опромінюванні самців-батьків в інтервалі 3–9 мГр до парування змін репродуктивної функції не виявлено, тоді як за утворення ПД близько 94 мГр плідність нащадків знижується на 41,3 % порівняно з інтактними щурами. Додаткове слабке радіаційне навантаження у дозі 4 мГр з 2–2,5 до 6–6,5 міс. віку погіршувало плідність тварин, опроміненіх у першому поколінні, на 58,3%. За умов додаткового опромінювання самок, що народилися від опроміненіх батьків, їх відтворювальна здатність відповідає показникам інтактних тварин. Виявлено ознаки адаптації репродуктивної функції самок — нащадків опроміненіх батьків до дії радіації, що проявляється покращенням плідності порівняно з їхніми неопроміненіми сібсами. Означені зміни можна розцінювати як пристосувальні до хронічної дії слабого радіаційного чинника.

К л ю ч о в і с л о в а: опромінювання, малі дози, щури, нащадки-самки, репродукція, ре-активність до радіації.

СОСТОЯНИЕ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ И РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К РАДИАЦИИ САМОК — ПОТОМКОВ ОБЛУЧЕННЫХ ОTCОВ

Карпенко Н. А.

ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины»,
г. Харьков

Исследована репродуктивная функция самок крыс, родившихся от интактных самок и самцов, облученных в поглощенной дозе (ПД) в гонадах 94, 9 или 3 мГр за 1,5 мес. При облучении самцов-отцов в интервале 3–9 мГр до спаривания изменений в репродуктивной функции их потомков не выявлено, тогда как при формировании дозы около 94 мГр плодовитость потомков уменьшается на 41,3% по сравнению с интактными крысами. Дополнительная слабая радиационная нагрузка в дозе 4 мГр с 2–2,5 до 6–6,5 мес. возраста ухудшала плодовитость животных, облученных в первом поколении, на 58,3%. В условиях дополнительного облучения самок, рожденных от облученных отцов, их репродуктивный потенциал отвечает показателям интактных животных. Выявлены признаки адаптации репродуктивной функции самок — потомков облученных отцов к действию радиации, что проявляется улучшением плодовитости по сравнению с их необлученными сибсами. Обнаруженные изменения можно расценивать как приспособительные к хроническому действию слабого радиационного фактора.

К л ю ч е в ы е с л о в а: облучение, малые дозы, крысы, потомки-самки, репродукция, реактивность к радиации.

THE STATE OF REPRODUCTIVE FUNCTION AND THE RESISTANCE AGAINST THE IRRADIATION FOR FEMALE — PROGENY OF THE IRRADIATED FATHERS

N. A. Karpenko

SI «V. Danilevsky Institute of Endocrine Pathology Problems of the NAMS of Ukraine», Kharkiv

The aim of the study was to estimate the state of reproductive function of irradiated male rat offspring and their resistance against the irradiation in low doses. Male rats of paternal generation were exposed to radiation by incorporated radionuclides during 45 days and the total absorbed doses (TAD) of males D3, D2 and D1 groups were 3, 9 and 94 mGy in gonads. Offspring from fathers with TAD 3–9 mGy had nothing changes in reproduction. But breeding potential of offspring from fathers with TAD 94 mGy was decreased on 41,3%. Part of sibs was irradiating in the same dose as their fathers (TAD \cong 4 mGy) since 2–2,5 month to 6–6,5 month old. The decrease (on 58,3%) of fertility of irradiated in first generation animals (group RA-F1-Control) was found. Breeding potential of irradiated progeny of irradiated fathers was come to normal and was better than of their unirradiated sibs. Discovered changes maybe reflects the adaptation of reproductive function of offspring of irradiated parents to conditions of chronic irradiation in low doses.

К e y w o r d s: irradiation, low doses, rat, female progeny, reproduction, resistance against the irradiation.