

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА  
«ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ ЕНДОКРИННОЇ ПАТОЛОГІЇ  
ім. В. Я. ДАНИЛЕВСЬКОГО  
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ»**

**СЕЛЮКОВА НАТАЛІЯ ЮРІЇВНА**

УДК 591.16:618.36:616-053.3:616-092.9

**РЕПРОДУКТОПАТІЇ НАЩАДКІВ МАТЕРІВ ІЗ ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОЮ  
НЕДОСТАТНІСТЮ: ГОРМОНАЛЬНО ЗАЛЕЖНІ МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ  
ТА ПРОФІЛАКТИКА  
(ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)**

14.01.14 – ендокринологія

**Автореферат**

дисертації на здобуття наукового ступеня

доктора біологічних наук

Харків – 2021

Дисертацією є рукопис.

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

**Науковий консультант** доктор медичних наук, старший науковий співробітник **Місюра Катерина Василівна**, Державна установа «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», учений секретар

**Офіційні опоненти:**

доктор біологічних наук, професор **Ковзун Олена Ігорівна**, Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України», заступник директора з наукової роботи, головний науковий співробітник відділу фундаментальних та прикладних проблем ендокринології

доктор біологічних наук, старший науковий співробітник **Романько Марина Євгенівна**, Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» НААН України, головний науковий співробітник лабораторії токсикологічного моніторингу відділу токсикології, безпеки та якості сільськогосподарської продукції

доктор біологічних наук, професор **Тржецинський Сергій Дмитрович**, Запорізький державний медичний університет, завідувач кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки

Захист відбудеться «06» травня 2021 р. о 13.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.564.01 при Державній установі «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» (61002, м. Харків, вул. Алчевських, 10).

З дисертацією можна ознайомитись в бібліотеці Державної установи «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» (61002, м. Харків, вул. Алчевських, 10).

Автореферат розісланий «02» квітня 2021 р.

Учений секретар  
спеціалізованої вченої ради

Ж. А. Лещенко

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я у світі з кожним роком поступово зростає чисельність безплідних пар (ВООЗ, 2017). В Україні майже 20 % усіх подружніх пар репродуктивного віку є безплідними (Ковальчук А.Ю., 2014; Ціборовський О.М., 2015; Шевчук П.Е., 2016), що має не тільки медичне, але й соціальне та економічне значення. Тому проблема своєчасної діагностики та ефективного лікування репродуктивних розладів у нашій країні є однією з найважливіших.

На стан репродуктивної системи (РС) дорослої жінки впливає багато факторів: погіршення екологічних умов, вживання ліків, згубні звички, вік матері та інші (Горіна О.В. та співавт., 2003; Сердюк А.М. та співавт., 2002, 2009; Сергиенко Л.Ю., 2013; Мельник П.С. та співавт., 2018; Резников О.Г., 2019). Одним із результатів взаємодії шкідливих зовнішніх факторів з організмом вагітної жінки може бути розвиток фетоплацентарної недостатності (ФПН), яка останніми роками спостерігається у 35-70 % таких (Макаренко М.В., 2015). Фетоплацентарна недостатність – симптомокомплекс порушень, який значною мірою обумовлює не тільки перебіг вагітності та пологів, але й стан здоров'я народженого нащадка у різні періоди його життя.

Важливою ознакою ФПН є порушення синтезу гормонів фетоплацентарного комплексу (ФПК) (естрогенів, прогестерону (ПГ), плацентарного лактогену та інші) (Murphy V.E. et al., 2006; Горбач Т.В. та співавт., 2013; Sharma D. et al., 2016; Burton G.J., 2018). Порушення гормонального балансу в перинатальному періоді онтогенезу спричиняє істотний модифікувальний вплив на становлення нейроендокринних механізмів регуляції поведінки, репродуктивних процесів і реактивності гіпоталамо-гіпофізарно-гонадної системи (ГГГС). Ці зміни відбуваються за рахунок гормонейромедіаторного імпринтингу, тобто програмування головного мозку на тривалий час, та пов'язані з порушенням епігенетичного контролю експресії клітинного геному (Резников О.Г., 2019). Будь-які не фізіологічні рівні секреції плацентарних гормонів впродовж вагітності, яка ускладнена ФПН, можуть призвести до патологічних змін у плода.

Чисельними дослідженнями, проведеними протягом останніх років, доведено наявність зв'язку між впливом тих чи інших чинників, які діють під час вагітності на стан та функціонування різних систем організму в постнатальному періоді (Vieten C., 2008; Loomans E.M. et al., 2013; Barker D.J. et al., 2013; Burton G.J. et al., 2016; Arabin V., 2017). Показано, що нащадки, які були народжені матерями із ФПН, мають морфофункціональні порушення з боку серцево-судинної, сечовивідної, дихальної, імунної та інших систем (Яловчук А.В., 2006; de Rooij S.R. et al., 2010; Thornburg K.L. et al., 2010; Rexhaj E. et al., 2011; Dodson R.V. et al., 2013; Botting K.J. et al., 2014; Luuyckx V.A., 2015; Bekmukhambetov Y. et al., 2016; Burton G.J., 2016; Giussani D.A., 2016), що у дорослому віці може бути причиною розвитку виникнення метаболічного синдрому, артеріальної гіпертензії, цукрового діабету та інші (Burton G.J., 2015).

Щодо стану РС у нащадків, народжених від вагітних, що мали ФПН, то існують тільки поодинокі повідомлення про зміни статевого дозрівання та

гормонального дисбалансу в осіб чоловічої статі (Pampanini V. et al., 2017; Salonia A. et al., 2019). Відомо також, що ФПН призводить не тільки до розвитку адаптивних реакцій плода, але й зумовлює патологічні зміни у фетальних органах і тканинах (Куприянова Л.С., 2014). У наслідок ФПН часто виникають не зміни структури органів, а «функціональні тератологічні зміни», які можуть бути маніфестовані у підлітковому або навіть у дорослому віці (Резніков О.Г., 2019). З огляду на вищенаведене, висловлюється припущення, що ФПН може виступати негативним чинником для становлення та функціонування РС пубертатних та статевозрілих нащадків.

Останніми роками в ряді досліджень встановлено, що значна частка випадків ускладнень вагітностей, у тому числі й розвиток ФПН, може обумовлюватися потраплянням в організм вагітної із зовнішнього середовища ксенобіотиків – чужорідних для організму хімічних сполук. Потенційно шкідливі ксенобіотики знаходяться у повітрі, ґрунті, воді, їжі та ліках (Янович Д.О., 2011). Проблема вивчення впливу цих речовин особливо актуальна в Україні, де кількість забруднення, що припадає на 1 км<sup>2</sup> площі, в 6,5 разів більша, ніж у США, в 3,2 разів більша, ніж у країнах Європейського союзу (Венцківський Б.М., 2010). Натепер доведено, що проникнення цих речовин у материнський організм веде до різного ступеня сукупного ксенобіотичного навантаження з наступною індукцією реакцій знешкодження і розвитком ФПН (Король Т.М., 2013; Erickson A.C., 2014).

Для відтворення в експерименті моделі пошкодження біомембран клітин різних органів широкого застосування набув ксенобіотик тетрахлорметан. Його вплив супроводжується вираженим порушенням ензиматичної активності мембран ендоплазматичного ретикулума, мітохондрій та пошкодженням білоксинтезуючого апарату гепатоцитів та клітин плаценти (Manson J.M., 1984; Радзинский В.Е., 1987; Яковлева Л.В., 2009; Jiminez-Chillarín J.C., 2015; Rich A.L., 2016), які чутливі до впливу хімічних речовин (Robinson J.F., 2016). Зважаючи на це, доцільно використовувати тетрахлорметан для експериментального моделювання у щурів ФПН, обумовлену гістотоксичною гіпоксією (Яковлева Л.В., 2009).

Ще однією проблемою, яка обумовлює існуючу демографічну ситуацію в країнах Європейського регіону, є те, що протягом останніх десятиріч середній вік жінок, які вперше народжують, поступово збільшувався, причому жінки старші за 35 років складають значну частку вагітних у популяції (Matthews T.J., 2014). А, як загальновідомо, вагітність у такому віці досить часто призводить до розвитку ФПН, прееклампсії, скорочення кількості нормальних пологів та ін. (Yogev Y. et al., 2010; Patel R., 2017). В той же час, у літературі майже не знайдено повідомлень щодо різниці між нащадками, які були народжені жінками із ФПН різного репродуктивного віку, що не дає можливості відпрацювати ефективні підходи профілактики ускладненої вагітності.

Проте, профілактика репродуктивних розладів у дорослих особин, що викликані порушеннями перебігу вагітності їхніх матерів, у тому числі у разі контакту з ксенобіотиками та розвитку внаслідок цього ФПН, повинна проводитися ще на етапі вагітності матерів. Натепер в акушерській практиці надання допомоги вагітним із ФПН проводиться згідно із клінічними настановами, які пропонують

використання низки препаратів. Ці засоби впливають на окремі ланки патогенезу захворювання, але, на жаль, не здатні діяти на весь ФПК (Andrade S.E. et al., 2004, 2008; Mitchell A.A. et al., 2011; Gao K., 2012; Лабенська І.Б., 2016; Хилькевич Е.Г., 2017). Призначення відразу декількох препаратів під час вагітності може призвести до появи побічних ефектів, які в майбутньому проявляться у дитини, а також значно зменшує комплаєнтність пацієнтки. Тому для лікування ФПН бажаним є використання одного комбінованого препарату, що об'єднує в одній лікарській формі всі необхідні активні фармацевтичні інгредієнти в збалансованій кількості, які можуть впливати на декілька ланок патогенезу та мати мінімальну кількість побічних ефектів (Чекман І.С., 2009).

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційну роботу виконано в межах наукових тем ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України»: «Експериментальне дослідження статевих особливостей впливу наночастинок рідкісноземельних металів на репродуктивну функцію (експериментальне дослідження)» (№ державної реєстрації 0115U001033); «Визначення ролі ендотеліальної дисфункції в розвитку порушень системи репродукції та обґрунтування підходів до їх терапії» (№ державної реєстрації 0114U001201); «Вивчення наслідків впливу «пасивного» тютюнопаління матерів під час вагітності на сомато-ендокринний фенотип нащадків (експериментальне дослідження)» (№ державної реєстрації 0117U007187).

**Мета і завдання дослідження.** Мета дослідження – визначити гормонально залежні механізми розвитку репродуктопатій в онтогенезі нащадків щурів обох статей, народжених від матерів різного віку із фетоплацентарною недостатністю, та експериментально обґрунтувати потенційну профілактичну дію розробленої оригінальної фармацевтичної композиції щодо фенотипу таких тварин.

Для досягнення зазначеної мети в роботі вирішували такі завдання:

1. Вивчити особливості впливу ФПН, що індуковано тетрахлорметаном, на організм вагітних самиць щурів різного репродуктивного віку за показниками морфофункціонального стану її плаценти та матки;
2. Дослідити маркери ФПН у матерів щурів: фізікальні показники фетогенезу та ембріогенезу; гормональні та біохімічні маркери, які характеризують баланс у системі перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ);
3. Оцінити ступінь порушень соматичного та статевого розвитку (аногенітальна відстань, відкриття піхви та опущення сім'яників, рівень тестостерону на 5 добу постнатального життя у самців) нащадків щурів обох статей, народжених від матерів із ФПН;
4. Дослідити особливості пубертатогенезу у нащадків щурів обох статей, які були народжені матерями із ФПН, за показниками гормональних, фізіологічних, біохімічних та гістологічних досліджень;
5. Проаналізувати гормональний стан репродуктивної функції самців щурів народжених від матерів із ФПН, та відстежити зміни у генеративній системі тварин за показниками фертильності, спермограми, статевої поведінки та морфометрії гістологічних зрізів сім'яників;

6. Оцінити дію ФПН на формування гормонального статусу, статеву поведінку, фертильність та гістологічну будову яєчників статевозрілих самиць нащадків, народжених від матерів різного віку;

7. Провести порівняльний аналіз впливу ФПН на становлення та функціонування РС нащадків, в залежності від репродуктивного віку матерів;

8. Дослідити ефективність та нешкідливість розробленої нової фармацевтичної композиції (ФК), оцінити перспективність її використання у період вагітності для профілактики ФПН та профілактики розвитку гормонально залежних репродуктопатій нащадків у дорослому віці.

*Об'єкт дослідження* – РС нащадків щурів обох статей, народжених матерями у різному репродуктивному віці із хронічною ФПН, яку індуковано тетрахлорметаном.

*Предмет дослідження* – морфофункціональний стан ФПК, соматостатевий розвиток нащадків, пубертатогенез, статеву поведінку, плідність, гормональний статус, сперматогенез та овогенез за розвитку репродуктопатій нащадків щурів обох статей, народжених від матерів різного віку із фетоплацентарною недостатністю; нова ФК, корегування репродуктивних функцій.

*Методи дослідження:* 1) фізіологічні – спостереження за станом тварин за інтегральними показниками (для визначення гострої токсичності, життєздатності); соматичний та статевий розвиток щурят (для оцінки розвитку тварин); дослідження статевої поведінки та фертильності піддослідних тварин; 2) препаративні – визначення маси та стану внутрішніх органів; 3) цитологічні – для оцінки стану сперматогенезу у суспензії епідидимальних сперматозоїдів; визначення наявності сперматозоїдів у піхвових мазках самиць (для виявлення першого дня вагітності); 4) гістологічні – для визначення кількісних характеристик сперматогенезу та овогенезу, для оцінки впливу ФПН на стан матки вагітних самиць та плацент; 5) фармакологічні – створення та дослідження нової ФК; 6) імуноферментні – для дослідження гормонального стану у піддослідних тварин за визначенням рівня статевих гормонів у сироватці крові; 7) біохімічні – для оцінювання інтенсивності процесів ПОЛ; 8) статистичні – для оцінки нормальності, розподілу дат, розрахунку основних статистичних параметрів.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше експериментальним шляхом на моделі хронічної ФПН, відтвореної в самиць щурів впродовж третього триместру вагітності, доведена наявність у дорослих нащадків обох статей таких матерів комплексу змін у морфоструктурі та функції РС. Доповнено особливості впливу ФПН на гістоструктуру плаценти та матки у щурів; фізікальні показники фетогенезу та ембріогенезу (стан фізичного розвитку плодів, біометричні показники плацент, вади розвитку плодів, плідно-плацентарний коефіцієнт); гормональні та біохімічні маркери, які характеризують прооксидантно-антиоксидантний баланс в організмі тварин.

Вперше показано вплив ФПН матерів різного репродуктивного віку на соматостатевий розвиток нащадків жіночої та чоловічої статі; визначено наслідки впливу ФПН у самиць щурів щодо змін неонатального рівня тестостерону (Тс) –

предиктора напрямку статевої диференціації мозку у її нащадків чоловічої статі, а саме зниження його рівня.

Вперше показано наявність впливу ФПН матерів під час вагітності на пубертатогенез нащадків обох статей, що проявляється в гальмуванні диференціювання чоловічих статевих клітин, зменшеному резерві фолікулогенезу, дисбалансі статевих гормонів, суттєвих змінах активності антиоксидантного захисту (АОЗ) в організмі нащадків щурів. Вперше отримані оригінальні дані щодо впливу ФПН на РС в онтогенезі, в залежності від репродуктивного віку матері на момент вагітності.

Експериментально обґрунтовано можливість профілактичного застосування нової ФК для запобігання розвитку ФПН із функціонально-метаболічними порушеннями плаценти та асоційованими з цим репродуктивними порушеннями у статевозрілих нащадків щурів. Наукову новизну досліджень підтверджено патентом України на корисну модель «Фармацевтична композиція для корекції порушень, що виникають за умов фетоплацентарної недостатності» (№ 143079 від 10.07.2020 р).

На підставі результатів біохімічних, морфологічних, патофізіологічних та імуноферментних досліджень вирішено актуальну наукову проблему своєчасної діагностики, профілактики та лікування гормонально обумовлених змін РС дорослих нащадків щурів обох статей, народжених від матерів, вагітність яких супроводжувалась ФПН.

**Практичне значення одержаних результатів.** Експериментально доведені нові дані щодо наслідків та характеру впливу ФПН у матерів на розвиток і функціонування РС дорослих нащадків щурів застосовуються у лабораторії репродуктивної ендокринології ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України».

Вивчено властивості нової ФК, яка не містить фетотоксичні активні інгредієнти із груп базової терапії ФПН, стосовно перинатального періоду та впливу на подальший соматостатевий розвиток народжених, що дозволить у подальшому розширити арсенал гравідопротекторів, зокрема комбінованих, та рекомендувати їх не тільки для корекції ФПН, але й із профілактичною метою щодо збереження репродуктивного статусу в таких нащадків щурів у дорослому віці.

Отримані результати та висновки обґрунтовують доцільність впровадження широких заходів із соціально-медичного захисту вагітних, починаючи з найбільш ранніх етапів виношування дитини.

Результати дисертаційної роботи включено у лекційні курси Чорноморського національного університету імені Петра Могили, Національного фармацевтичного університету, Харківської медичної академії післядипломної освіти.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертанткою самостійно проведено інформаційний пошук, здійснено аналіз сучасної наукової літератури, що відповідає темі роботи, сформульовано мету і завдання дослідження та розроблено дизайн його виконання. Здобувачем самостійно проведені усі експериментальні дослідження на базі лабораторії патогістології ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України». Особисто систематизовано

отримані результати, проведено статистичний аналіз отриманих результатів із використанням комп'ютерних програм, адаптованих до біологічних досліджень, написано всі розділи дисертаційної роботи; підготовлено до друку наукові праці та дисертаційну роботу до захисту. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертантки належить провідна частина виконаної роботи. Авторка не запозичувала ідеї та розробки співавторів публікацій. Матеріали, положення та висновки кандидатської дисертації здобувачки не використовувалися при виконанні даної роботи.

Гістологічні та морфометричні дослідження проводилися сумісно з к. б. н., с. н. с. Ю.Б. Лар'яновською у ЦНІЛ Національного фармацевтичного університету. Створення та розробка ФК для перорального застосування у формі твердих желатинових капсул здійснено в секторі технології лікарських форм лабораторії аналітичних та фізико-хімічних досліджень ДУ «ШПЕП» під керівництвом к. фарм. н., с. н. с. С.П. Кустової. Визначення рівня статевих гормонів проводилися спільно із к. б. н. Л.А. Сиротенко.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на науково-практичних конференціях, з'їздах, конгресах: «Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології» (П'ятнадцяті, Дев'ятнадцяті Данилевські читання) (Харків, 2016, 2020); «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 2018, 2019); «Весняні наукові читання 2019» (Вінниця, 2019); IX з'їзд ендокринологів України, що присвячений 100-річному ювілею ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМНУ» (Харків, 2019); «Фізіологія, валеологія, медицина: сучасний стан та перспективи розвитку» (Харків, 2020); «Сучасна медицина очима молоді: проблеми і перспективи вирішення» (Харків, 2020); «Теорія та практика сучасної морфології» (Дніпро, 2020); «International scientific and practical conference» (Lublin, Republic of Poland, 2020).

**Публікації.** За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 33 наукові праці, у тому числі 22 статті (3 – самостійних та 19 – у співавторстві), у фахових наукових виданнях України (рекомендованих ДАК МОН України) та включених до міжнародних наукометричних баз даних, 1 патент України на корисну модель, 10 робіт у наукових збірниках, матеріалах і тезах конференцій, конгресів та з'їздів.

**Обсяг та структура дисертації.** Роботу викладено на 340 сторінках комп'ютерного тексту. Дисертація складається із анотації, списку публікацій здобувача, основної частини (вступу, огляду літератури, розділу матеріалів та методів дослідження, семи розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків), списку використаних джерел, що містить 351 посилання та складає 47 сторінок, 3 додатки. Дисертацію ілюстровано 50 таблицями та 68 рисунками.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріали та методи дослідження.** Дослідження проведено на базі наукових підрозділів ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», відповідно до принципів роботи на



тваринах, схвалених Комітетом з біоетики ДУ «ІПЕП НАМН України» (протокол № 6 від 15.12.2020 р.). Експеримент проведено на вагітних щурах популяції Вістар та їх нащадках різного віку обох статей. Всього було використано 187 статевозрілих самиць щурів молодого репродуктивного віку (три місяці) масою тіла 180-220 г; самиць зрілого репродуктивного віку (10 місяців) – 220-250 г та 65 статевозрілих самців для запліднення щурів; отримано 978 нащадків щурів різної статі. Швидку евтаназію тварин проводили без використання наркозу для запобігання впливу на рівень статевих гормонів. Дослідження проводилися відповідно до національних «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001).

У дослідження брали здорових статевозрілих самиць з нормальним чотирьох-п'яти денним естральним циклом, що визначали методом цитологічної оцінки вагінальних мазків. Для спаровування відбирали сексуально активних самців. Спаровування проводили за умовою «один самець – одна самиця». Першою добою вагітності вважали день знаходження сперматозоїдів у ранкових вагінальних мазках (Стефанов О.В., 2001).

Було сформовано наступні групи тварин (табл. 1).

Таблиця 1

**Групи експериментальних тварин, n = 14**

Група	Умови експерименту
<i>Репродуктивно молоді матері</i>	
Інт/мол.	Інтактні тварини
ФПН/мол.	Самиці з експериментальною ФПН
ФПН/мол.+Д	Самиці щури з експериментальною ФПН, яким вводили препарат порівняння – Дипіридамол
ФПН/мол.+ФК	Самиці з експериментальною ФПН, яким вводили ФК
<i>Репродуктивно зрілі матері</i>	
Інт/зр.	Інтактні тварини зрілого репродуктивного віку
ФПН/зр.	Самиці з експериментальною ФПН
ФПН/зр.+Д	Самиці щури з експериментальною ФПН, яким вводили препарат порівняння – Дипіридамол
ФПН/зр.+ФК	Самиці з експериментальною ФПН, яким вводили ФК

Для з'ясування впливу ФПН на стан та розвиток плодів, плацент та матки самиць, матерів першої половини експерименту декапітували на 20 добу вагітності. Вилучали та зважували досліджувані органи, вимірювали розмір плацент та краніо-каудальний розмір плодів (ККР). Для визначення статевих гормонів (естріол (E<sub>3</sub>) та ПГ) використовували плазму крові самиць щурів. На гістологічних зрізах досліджували матки та плаценти самиць.

Другу половину самиць матерів доводили до природних пологів. День пологів вважали першим днем життя щурят (всього було отримано 56 вигонів). Тварин відлучали від матерів на 30 добу життя. Життєздатність щурят оцінювали за часткою тварин, що залишилися живими на 30 добу життя. Контролювали

динаміку маси тіла. У щурят обох статей спостерігали за соматостатевим розвитком.

Тварин нащадків (перша половина) для оцінки фізичного розвитку зважували кожні 10 діб. Використовували швидку евтаназію щурів на 50-й день життя (пубертат) шляхом декапітації. У нащадків вилучали та зважували органи РС, надниркові залози, тимус. Другу половину нащадків обох статей дорощували до статевої зрілості (чотири місяці) та продовжували досліджувати: статеву поведінку, фертильність, стан сперматогенезу, стан піхвових мазків, рівень статевих гормонів, стан і масу досліджуваних органів, гістологічні зрізи сім'яників та яєчників, показники інтенсивності процесів ПОЛ та АОЗ.

Об'єктами досліджень виступали активні інгредієнти фармацевтичних препаратів із груп базової терапії ФПН (дипіридамо́л, аргініну гідрохлорид, фолієва та янтарна кислоти), а саме одержана на їх основі ФК для перорального застосування у формі твердих желатинових капсул середньої маси 0,200 г, яка містить окрім активних фармацевтичних інгредієнтів – дипіридамо́л (12,50 %), аргініну гідрохлорид (10,00 %), фолієву (0,125 %) та янтарну (62,50 %) кислоти, ковзку речовину – кремнію діоксид колоїдний безводний (0,25 %), наповнювач (крохмаль кукурудзяний або прежелатинізований, або мікрокристалічна целюлоза) – решта (Кустова С.П., 2020).

*Дослідження гострої токсичності ФК.* Гостру токсичність ФК досліджували шляхом внутрішньошлункового введення натще (через зонд) в дозі 5000 мг на кг маси тіла одноразово у вигляді водної емульсії, контрольній групі щурів вводили аналогічні об'єми питної води. Після одноразового введення ФК здійснювали спостереження за станом тварин та їх виживанням через 30 хв, 120 хв, 24 год, а потім кожну добу впродовж двох тижнів, оцінювали розвиток інтоксикації. По закінченню періоду спостереження всіх тварин виводили з експерименту методом швидкої декапітації, проводили розтин, макроскопічний огляд та визначали абсолютну масу внутрішніх органів. Встановлено, що ФК є практично нетоксичною (можна віднести до V класу токсичності), не викликає змін приросту маси тіла у щурів та не впливає на стан загальнотрофічних процесів в організмі (Стефанов О.В., 2001).

*Моделювання експериментальної ФПН* проводили шляхом щоденного підшкірного введення самицям із 12-ї до 18-ї доби вагітності 50 % олійного розчину тетрахлорметану в дозі 2 мл на кг маси тіла (Manson J.M., 1984; Радзинский В.Е., 1987; Яковлева Л.В., 2009; Jimínez-Chillaryn J.C., 2015; Rich A.L., 2016). Фармацевтичну композицію вводили щоденно внутрішньошлунково в ранковий період залежно від ваги тварин із 11-ї до 19-ї доби вагітності (Яковлева Л.В., 2009).

*Соматостатевий розвиток* нащадків оцінювали за часом відлипання вушок, появи генералізованого волосяного покриву, відкриття очей, прорізування зубів, динамікою маси тіла, величиною аногенітальної відстані (АГВ) (статева приналежність), опущення яєчок у самців та відкриття вагінального отвору в самиць (початок статевої зрілості) (Кабак Я.М., 1968).

*Статеву поведінку самців* досліджували у парному тесті з оварієктомованою рецептивною самицею у присмерковий час. У тесті визначали кількість наближень самця до самиці, кількість садок, інтромісії та еякуляції. За секундоміром оцінювали часові показники: латентність садки, інтромісії, еякуляції, розраховували тривалість постеякуляторного інтервалу, коефіцієнт садки/інтромісії (Гладкова А. І., 1986). Оварієктомію самиць щурів проводили за загальноприйнятою методикою (Кабак Я.М., 1968).

*Статеву поведінку самиць щурів* вивчали в стадії проеструс-еструс за показниками процептивності та рецептивності. Дослідження проводилось в сутінковий час, при червоному освітленні в спеціальній скляній прямокутній тест-клітці. До сумарного показника процептивної поведінки входили: знайомство (наближення самки до самця, обнюхування, грумінг), залицання (штовхання самця лапою, пробіг під або над самцем, follow), реагування на самця (тремтіння вух, hop, dart) (Гладкова А. І., 1986). У якості показника рецептивності самиці використовували коефіцієнт лордозу (відношення кількості лордозних поз самиці до суми садок та інтромісій самця).

*Фертильність* визначали за результатами парування з інтактними здоровими тваринами протилежної статі. Розраховували індекс запліднення (як відношення кількості запліднених самиць до кількості тварин у групі) та індекс вагітності (як відношення кількості вагітних самок до кількості запліднених). Самиць знеживлювали на 20-ту добу вагітності, вилучали яєчники, в яких підраховували кількість жовтих тіл вагітності, а в матці – кількість місць імплантації та плодів. Визначали рівень передімплантаційних, постімплантаційних та сумарних внутрішньоутробних втрат у вагітних самиць (Бишовець Т. Ф., 2001). За результатами парування розраховувався інтегральний показник середньої реалізованої плідності (фертильності) самців та самиць щурів (Карпенко Н. О., 2011).

*Стан сперматогенезу* у статевозрілих нащадків щурів досліджували за допомогою світлового мікроскопа, визначаючи концентрацію епідидимальних спермій, їх рухливість та відсоток патологічних форм за загальноприйнятою методикою з використанням камери Горяєва (Бишовець Т. Ф., 2001), розраховували концентрацію морфологічно нормальних клітин (Карпенко Н. О., 2011).

*Фазову структуру циклу* та його загальну тривалість у нащадків жіночої статі вивчали протягом 16 діб, що дорівнює трьом-чотирьом естральним циклам. Також підраховували в кожному яєчнику кількість зрілих фолікулів.

Для проведення *морфологічних* досліджень у щурів вилучали матки, сім'яники та яєчники. Забір матеріалу на гістологічне дослідження матки та плаценти у тварин всіх контрольних і піддослідних груп проводили на 20-й день вагітності. Для дослідження брали по одному яєчнику та сім'янику від тварини у пубертатному (50-й день життя) та статевозрілому віці (160-й день життя) та обробляли за стандартними гістологічними методиками (Елисеєва В. Г., 1968; Меркулов Г. А., 1969). Перегляд мікропрепаратів проводили під світловим мікроскопом Granum, мікрофотографування мікроскопічних зображень

здійснювали цифровою відеокамерою Granum DCM 310. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Tour View.

Для визначення типу *кристалізації секрету передміхурової залози* (ПЗ) та оцінки андрогенізації тварин досліджували відбитки секрету з вентральної частини органу (Вартапетов Б. А., 1975). Оцінювання типу кристалізації секрету ПЗ проводили за чотирибальною системою (Зайченко Г.В., 2008).

У сироватці крові спектрофотометрично визначали рівень утворення первинних продуктів ПОЛ – дієнових кон'югатів, продуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) (Плацер З. та співавт., 1970) та кінцевого продукту ПОЛ – малонового діальдегіду (Стальна І. Д., 1977). В гомогенатах печінки вимірювали ензиматичну активність каталази (КФ 1.11.1.6) в реакції із солями молібдену (Королюк А., 1988), активність супероксиддисмутази (СОД) (КФ 1.15.1.1) в реакції з нітросинім тетразолієм (Чевари С., 1991) та активність глутатіонпероксидази (КФ 1.11.1.9) (Ланкін В. З., 1981); вміст відновленого глутатіону (ВГ) (КФ 4.4.1.5) – з реактивом Елмана (Beutler E., 1963). Визначення білка проводили за методом Lowry O.H. et al. в модифікації Miller G. L. (1951).

У нащадків обох статей всіх вікових груп брали кров для визначення концентрації гормонів естрадіол ( $E_2$ ), Тс, ПГ та  $E_3$ . Зразки сироватки крові зберігали за температури мінус 18 °С. Рівень статевих гормонів визначали за допомогою тест-наборів «Естрадіол-ІФА» та «Тестостерон-ІФА» (ООО «ХЕМА», Київ), «свЕСТРІОЛ-ІФА» та «ПРОГЕСТЕРОН-ІФА» (ООО «ХЕМА», Київ).

Статистичний аналіз здійснено методами варіаційної статистики за допомогою стандартних пакетів програм Biostat, та Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США). Нормальність розподілу змінних визначали за допомогою критерію Колмогорова-Смірнова. Статистичний аналіз результатів проводили параметричними та непараметричними методами. Для множинних порівнянь даних з нормальним розподілом проводили параметричний однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA та застосовували метод Ст'юдента-Н'юмена-Кейлса. При порівнянні двох груп із розподілом ознаки, відмінним від нормального, використовували непараметричний U-критерій Манна-Уїтні, для множинного порівняння – критерій Крускала-Уолліса та Данна. Дані наведено як середнє арифметичне ( $\bar{x}$ ) та його похибка ( $S_{\bar{x}}$ ); Me – медіана;  $Q_1$  – перший квантиль;  $Q_3$  – третій квантиль. Відмінності (p) вважали достовірними при рівні статистичної значущості  $p < 0,05$  (Гланц С., 1998).

**Результати досліджень та їх обговорення. Стан вагітності самиць матерів молодого та зрілого репродуктивного віку на тлі ФПН.** Гормональна регуляція ФПК змінюється на тлі ФПН у самиць в залежності від репродуктивного віку на момент вагітності. При дослідженні гормонів виявлено, що у самиць щурів групи ФПН/мол. рівень  $E_3$  був нижчим на 18 % ( $p < 0,05$ ), рівень ПГ – на 27 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з інтактними тваринами відповідного віку. При додаванні ФК та препарату порівняння Дипіридамолу вагітним самицям із ФПН спостерігали підвищення рівнів як ПГ, так і  $E_3$  ( $p < 0,05$ ). Низький рівень  $E_3$  може свідчити про наявність затримки внутрішньоутробного розвитку (ЗВУР), що в майбутньому може призвести до смерті плода. Зниження концентрації  $E_3$  пов'язано з дефектами

ензимних систем, що пригнічує роботу наднирникових залоз у плода. Зменшення рівня ПГ у самиць із ФПН може спричинити викидень або передчасні пологи через те, що саме цей гормон гальмує функцію всієї системи окситоцинових рецепторів в матці та розслаблює її. Знижений рівень ПГ може вказувати на порушення дозрівання плаценти.

При дослідженні самиць групи ФПН/зр. спостерігали знижений рівень ПГ на 13 %, та, навпаки, підвищену на 32 % концентрацію  $E_3$  ( $p < 0,05$ ). Якщо рівень  $E_3$  був високий у всіх піддослідних групах у незалежності від корегувального впливу, то рівень ПГ при корекції Дипіридамомом дещо перевищував показники інтактної групи самиць і складав  $(32,6 \pm 6,1)$  пмоль/л проти  $(93,8 \pm 6,0)$  пмоль/л ( $p < 0,05$ ). Такі високі рівні  $E_3$  не пов'язані з ускладненою вагітністю, такими як ризик виникнення ЗВУР та народження дітей з малою вагою тіла (Settiyanan T., 2015). Але це може бути показником плода з великою масою тіла. Як показано іншими авторами, це може свідчити про розвиток гіперплазії кори наднирникових залоз у плода (Bagot C.N., 2019). Високий рівень ПГ призводить до патологічного збільшення плаценти, що також погано віддзеркалюється на стані плода.

При порівнянні результатів дослідження у сироватці крові інтактних вагітних самиць репродуктивно зрілого віку спостерігались нижчі рівні ПГ на 56 % та  $E_3$  – на 47 % порівняно із тваринами репродуктивно молодого віку.

Таким чином, ФПН призводить до дисбалансу гормонів вагітності, який в подальшому може позначатися на стані новонароджених та в їхньому дорослому житті. Ендокринна функція плаценти має вирішальне значення для успішного перебігу вагітності та розвитку плода, оскільки патологічне вироблення плацентарних гормонів пов'язане з аномаліями в цих процесах та негативним гестаційним результатом.

Для виявлення впливу ФПН на стан плодів у залежності від віку матері на 20-ту добу вагітності самиць всіх груп декапітували. З матки вилучали плоди разом із плацентами, визначали стать плодів, зважували їх та вимірювали ККР. У самиць групи ФПН/мол. знижувались всі морфометричні параметри плацент (вага та розмір) і плодів обох статей ( $p < 0,05$ ). Також на плодах були помітні крововиливи або гематоми на різних ділянках тіла в незалежності від статі. У групі ФПН/мол.+ФК виявили нормалізацію всіх показників.

При дослідженні тварин групи ФПН/зр. спостерігали дещо іншу картину, так, у плодів жіночої статі маса плаценти статистично не змінювалася, а всі інші показники зменшувалися ( $p < 0,05$ ). У цій групі тварин ФК не сприяла нормалізації показників. У нащадків чоловічої статі не було статистичних змін зазначених показників. Доведено, що за умов впливу препарату порівняння у нащадків обох статей маса плаценти збільшилася на 40 %, порівняно з інтактною групою ( $p < 0,05$ ).

При гістологічному дослідженні матки вагітних щурів молодого та зрілого репродуктивного віку в умовах ФПН спостерігали виразні гострі запальні порушення у морфологічній структурі міометрію та ендометрію. При введенні Дипіридамолу були знайдені фрагменти тканини матки з так званим прирістом плаценти. Це проявлялось у залишках трофоспонгіуму фетальної частини

плаценти, які були «вмонтовані» у губчасту тканину диску з розширеним просвітом судин та їх тонкою стінкою. Такий стан ФПК може призвести до ускладнень при пологах, а саме, до великого крововиливу (Badran M., 2019).

Досліджувана ФК зменшує ознаки ФПН, покращує васкуляризацію ендометрію та тканин плацентарної площадки, збільшує наявність кровонесних судин у міометральному сегменті площадки з ознаками гестаційної трансформації. Крім того, не були знайдені фрагменти зрощення тканин та встановлено більш ефективний вплив на фетальну частину плаценти та матки у порівнянні з використанням Дипіридамолу.

Гістологічні дослідження плацент дозволили вивчити їх мікроструктуру на тлі ФПН та порівняти з такою в інтактних тварин. На поперечному зрізі плаценти інтактною матері молодого та зрілого репродуктивно віку виразно представлені материнська та плодова частини органа.

Експериментальна ФПН призводить до порушення співвідношення прошарків плаценти, а саме відбувається розширення площі материнської частини плаценти у піддослідних тварин двох вікових груп за рахунок потовщення базальної пластинки та збільшення об'єму та площі лакун із материнською кров'ю в ділянках під базальною пластинкою (табл. 2).

Таблиця 2

Товщина зон плаценти щурів різного репродуктивного віку,  $n = 6$ , ( $\bar{x} \pm S_x$ )

Група	Співвід. матер. та плодової частини	Товщина, мкм			
		плацента	децидуал. оболонка	спонгіо-трофобласт	лабіринтна зона
1. Інт/мол.	17/83	2672,2±54,1	79,6±1,9	378,2±10,9	2214,6±42,5
2. ФПН/мол.	22/78 $p_{1-2} < 0,05$	2560,5±78,0	71,4±2,7 $p_{1-2} < 0,05$	508,2±21,8 $p_{1-2} < 0,05$	1980,7±95,2 $p_{1-2} < 0,05$
3. ФПН/мол.+Д	18/82	2662,8±87,2	78,8±4,7	406,1±33,7 $p_{2-3} < 0,05$	2177,9±92,2
4. ФПН/мол.+ФК	17/83	2772,8±71,8	81,8±4,7	391,0±30,3 $p_{2-4} < 0,05$	2300,0±112,7 $p_{2-4} < 0,05$
5. Інт/зр.	19/81	2580,8±82,5	89,5±3,8 $p_{1-5} < 0,05$	404,1±4,1 $p_{1-5} < 0,05$	2087,8±54,6
6. ФПН/зр.	26/74 $p_{5-6} < 0,05$	2547,2±95,4	69,2±3,4 $p_{5-6} < 0,05$	616,8±58,4 $p_{5-6} < 0,05$	1861,9±71,9 $p_{5-6} < 0,05$
7. ФПН/зр.+Д	20/80	2581,2±88,2	82,3±4,7 $p_{6-7} < 0,05$	445,6±31,3 $p_{6-7} < 0,05$	2053,9±14,7 $p_{6-7} < 0,05$
8. ФПН/зр.+ФК	21/79	2558,3±77,7	80,6±5,0	459,8±71,6	2017,9±9,1 $p_{4-8} < 0,05$

Примітка.  $p$  – рівень значущості відмінностей між вказаними групами.

Хронічна експериментальна ФПН призводить до зриву компенсації та розвитку деструктивних процесів. Відмічається порушення як у матково-

плацентарному, так і плодово-плацентарному кровоплинні. Змінюється внутрішня архітектоніка плаценти, так ширина децидуальної оболонки та лабіринтного відділу зменшується, а трофоспонгіуму – збільшується (див. табл. 2).

Введення самицям щурів у молодому та репродуктивно зрілому віці ФК та Дипіридамолу на тлі ФПН призводить до зменшення розвитку патологічних процесів у плаценті, нормалізує морфологічні та гістологічні показники.

Посилення інтенсивності процесів ПОЛ, як відомо, є основною патогенетичною реакцією щодо механізму розвитку багатьох захворювань. Порушенням окислювально-відновних процесів належить значна роль у патогенезі патології вагітності, зокрема ФПН. При ФПН спостерігалася різка активація процесів ПОЛ, накопичення у крові та в інших тканинах (особливо у печінці і плаценті) вагітних щурів продуктів пероксидації з одночасним витрачанням ресурсів АОЗ в їх організмі ( $p < 0,01$ ).

При введенні вагітним самицям ФК у сироватці крові спостерігали уповільнення активності процесів ПОЛ, про що свідчило зниження рівня утворення продуктів ліпопероксидації – ТБК та дієнові кон'югати ( $p < 0,01$ ), який досягав рівня інтактних тварин. Крім того відбувалося відновлення стану АОЗ, що позначалось підвищенням рівня ВГ, і, особливо, активності такого ензиму як СОД ( $p < 0,01$ ).

Таким чином, доведено, що введення тетрахлорметану впродовж третього триместру вагітності у щурів призводить до хронічної ФПН, яка проявляється у дисбалансі гормонів вагітності (ПГ та  $E_3$ ), деструктивних змінах гістологічної структури матки та плаценти, порушенні окиснювально-відновних процесів у ФПК.

***Соматостатевий розвиток нащадків щурів народжених від матерів із ФПН.*** Внутрішньоутробне розвинення залежить від багатьох зовнішніх та внутрішніх факторів, які оточують плід. При сукупності негативних факторів можуть виникати захворювання вагітності, які негативно віддзеркалюються на стані та здоров'ї плода, а в майбутньому – на якості життя дитини. Одним із таких захворювань може бути ФПН. На сьогодні майже невідомо, як саме впливає ФПН матерів різного репродуктивного віку на соматостатевий розвиток нащадків жіночої та чоловічої статі. Саме тому, в роботі був досліджений соматостатевий розвиток нащадків.

Життєздатність у перший місяць життя вважають одним із головних показників, який характеризує здатність організму щодо пристосування до різних умов життя. Загибель переважно відбувалася між 1 та 14 добою післянатального життя. Кількість нащадків у тварин двох інтактних груп, які дожили до 30-ї доби, складала 100 %, у групі ФПН/мол. – 81 %, ФПН/мол.+Д – 85 %, ФПН/мол.+ФК – 98 %, ФПН/зр. – 79 %, ФПН/зр.+Д – 80 %, ФПН/зр.+ФК – 92 % ( $p < 0,01$ ) відповідно.

При дослідженні щурят аналізували фізіологічні показники соматичного розвитку, які є ознаками нормального фізичного стану тварин. ФПН майже не вплинула на соматичний розвиток нащадків, які народилися від матерів молодого репродуктивного віку. Навпаки, у нащадків, народжених від зрілих матерів,

спостерігали затримку відкриття очей на 66 %, появу первинного волосяного покрыву на 40 % та появу вторинного – на 28 % ( $p < 0,01$ ) відповідно.

Інтегральним показником фізичного стану тварини прийнято вважати масу тіла нащадків, зміни якої досліджувалися впродовж 60 діб. При дослідженні самиць нащадків групи ФПН/мол. показник маси тіла статистично не змінювався впродовж двох місяців постнатального життя. В групі ФПН/зр. маса тіла самиць починаючи з першого дня життя була знижена ( $(5,46 \pm 0,20)$  г, проти  $(6,54 \pm 0,14)$  г,  $p = 0,0022$ ), до статевої зрілості нащадків – ( $(55,86 \pm 2,39)$  г, проти  $(68,54 \pm 4,19)$  г,  $p = 0,03$ ). Застосування у тварин ФК і Дипіридамолу не сприяло нормалізації маси тіла впродовж всього дослідження. При порівнянні двох інтактних груп самців нащадків спостерігали більшу масу тіла при народженні та впродовж всього життя у тварин групи Інт/зр. порівняно з групою Інт/мол. ( $p < 0,01$ ).

Таким чином, ФПН впливає на соматичний розвиток нащадків чоловічої та жіночої статі, а саме у тварин, народжених від репродуктивно зрілих самиць, соматичний розвиток відбувається з запізненням на відміну від нащадків молодих матерів.

Як видно з таблиці 3, у нащадків самців, які були народжені від матерів із ФПН двох вікових груп, рівень Тс був меншим порівняно з інтактними тваринами ( $p < 0,01$ ). Введення вагітним тваринам репродуктивно молодого та зрілого віку ФК та Дипіридамолу на тлі ФПН не призвело до вираженого зростання рівня Тс.

Таблиця 3

**Рівень тестостерону у самців нащадків на 5-ту добу життя,  $n = 7$ , ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Група нащадків	Показник	Статистичний показник, $p$
	тестостерон, нмоль/л	
1. Інт/мол.	$24,0 \pm 1,0$	-
2. ФПН/мол.	$16,3 \pm 0,7$	$p_{1-2} < 0,05$
3. ФПН/мол.+ФК	$20,4 \pm 1,3$	$p_{1-3} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$
4. ФПН/мол.+Д	$19,7 \pm 1,3$	$p_{1-4} < 0,05$ $p_{2-4} < 0,05$
5. Інт/зр.	$24,9 \pm 1,1$	-
6. ФПН/зр.	$17,9 \pm 1,0$	$p_{5-6} < 0,05$
7. ФПН/зр.+ФК	$19,1 \pm 1,3$	$p_{5-7} < 0,05$
8. ФПН/зр.+Д	$21,3 \pm 1,0$	$p_{5-8} < 0,05$ $p_{6-8} < 0,05$

Примітка.  $p$  – рівень значущості відмінностей між вказаними групами.

Відомо, що у особин чоловічої статі саме сім'яники на певних стадіях розвитку індукують чоловічий характер розвитку статевої системи, ініціюють формоутворюючий процес у певному напрямку. А чоловічий статевий гормон відіграє провідну роль у морфогенезі чоловічих статевих органів ембріона (Вундер П. А., 1980). Для розвитку статі, крім структурної організації органа,



суттєвим і не менш важливим, є процес статевої диференціації мозку, цей процес відбувається на ранніх етапах онтогенезу та у ссавців проходить внаслідок короткочасного значного зростання концентрації Тс, який синтезується сім'яниками, так званий «пік тестостерону» (Резніков О. Г., 1982). Ця подія є критичною та програмуючою для багатьох основних характеристик розвитку та функціонування чоловічого організму, а її порушення суттєво позначаються на статевій активності дорослих особин. Саме тому було досліджено вплив ФПН матерів на перебіг статевої диференціації мозку нащадків чоловічої статі на 5 добу постнатального життя.

Таким чином, ФПН впливає на статеву диференціацію мозку у нащадків самців, результати проведених досліджень свідчать про участь рівня «піку тестостерону» на 5 добу життя у формуванні нейроендокринної регуляції системи репродукції в ранньому онтогенезі, а також у патогенезі її порушень внаслідок гормонального дисбалансу.

**Пубертатний розвиток самців щурів нащадків, народжених від матерів із ФПН.** Пубертатогенез – складний багатоступеневий процес, внаслідок якого відбувається возз'єднання окремих ланок в єдину функціонально активну ГГГС. На сьогодні не відомо, як впливає ФПН у матерів на стан та функціонування РС у нащадків чоловічої статі у перехідний період розвитку. Саме тому, наступною задачею даної роботи було дослідження перебігу пубертатного періоду самців нащадків щурів, народжених від матерів різного віку із ФПН, та оцінити ефективність застосування нової ФК для корекції патологічного стану вагітності.

Після пологів у нащадків вимірювали АГВ, а пізніше відслідковували час опущення сім'яників у мошонку для оцінки перебігу статевого розвитку тварин. За результатами вимірювання АГВ у щурів, статистично значимих відмінностей між групами знайдено не було.

При дослідженні термінів опущення яєчок у мошонку самців, народжених від матерів двох вікових груп із ФПН, спостерігали затримку статевого розвитку у вигляді більш пізніх термінів опущення сім'яників. У нащадків самців групи ФПН/зр.+ФК спостерігали нормальні терміни статевого розвитку (табл. 4).

Затримка статевого дозрівання пов'язана з функціональною незрілістю ГГГС та транзиторним зниженням продукції гонадотропних і статевих гормонів. Також дуже важливими у статевому розвитку чоловічого організму є анти-мюллерів гормон, який починає вироблятися ще в ембріональному періоді в яєчках у клітинах Сертолі та інгібін В, які беруть участь в регуляції маскулінізації геніталій і регуляції негативного зворотного зв'язку секреції ФСГ. Тобто, ГГГС грає ключову роль в завершенні фенотипічної диференціації й розвитку статевого дозрівання плоду, чоловіків в період пубертату та в зрілому віці (Salonia A., 2019). При дослідженні вагових показників репродуктивних органів самців всіх груп, а саме сім'яників та їх придатків – епідидимусів, статистичних змін не реєстрували. Так іншими дослідниками було показано зменшення маси сім'яників на 5 та 20 добу життя, але вже на 40 добу маса сім'яників не відрізнялась від такого в інтактних нащадків (Rampranini V., 2017).

Строки опущення сім'яників нащадків щурів, ( $\bar{x} \pm S_x$ )

Група, кількість нащадків	Показник, доба	Статистичний показник, p
1. Інт/мол., n=16	21,0±0,3	-
2. ФПН/мол., n=26	26,8±0,7	p <sub>1-2</sub> < 0,05
3. ФПН/мол.+ФК, n=27	25,0±1,0	p <sub>1-3</sub> < 0,05
4. ФПН/мол.+Д, n=24	22,7±0,2	p <sub>1-4</sub> < 0,05 p <sub>2-4</sub> < 0,05 p <sub>3-4</sub> < 0,05
5. Інт/зр., n=26	21,5±0,3	-
6. ФПН/зр., n=19	25,8±0,8	p <sub>5-6</sub> < 0,05
7. ФПН/зр.+ФК, n=18	24,5±1,0	p <sub>5-7</sub> < 0,05
8. ФПН/зр.+Д, n=14	23,7±1,5	-

Примітка. p – рівень значущості відмінностей між вказаними групами.

При дослідженні вагових показників репродуктивних органів спостерігали зменшення маси ПЗ на 40 % у нащадків групи ФПН/мол., на 32 % у самців групи ФПН/мол.+Д, але у тварин групи ФПН/зр.+Д навпаки маса ПЗ була збільшена на 27 % (p < 0,05). Фармацевтична композиція сприяла нормальному розвитку ПЗ.

При дослідженні статевих гормонів у нащадків ФПН/мол. спостерігали підвищення рівня E<sub>2</sub> (на 200 %), та навпаки зниження рівня Tc (на 40 %) (табл. 5).

Рівні статевих гормонів у сироватці крові нащадків самців,  
n=10, Me [Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>]

Група нащадків	Показник		
	естрадіол, нмоль/л	тестостерон, нмоль/л	співвідношення T/E <sub>2</sub> , умовні одиниці
1. Інт/мол.	0,20 [0,20-0,40]	23,00 [22,00-23,10]	110,00 [50,83-115,00]
2. ФПН/мол.	0,60 [0,50-0,70] p <sub>1-2</sub> < 0,05	13,80 [4,00-15,00] p <sub>1-2</sub> < 0,05	17,25 [10,00-25,00] p <sub>1-2</sub> < 0,05
3. ФПН/мол.+Д	0,50 [0,50-0,50] p <sub>1-3</sub> < 0,05	4,00 [3,50-4,00] p <sub>1-3</sub> < 0,05 p <sub>2-3</sub> < 0,05	7,00 [6,67-8,00] p <sub>1-3</sub> < 0,05 p <sub>2-3</sub> < 0,05
4. ФПН/мол.+ФК	0,60 [0,20-0,60] p <sub>1-4</sub> < 0,05	25,00 [25,00-32,30] p <sub>2-4</sub> < 0,05 p <sub>3-4</sub> < 0,05	49,00 [41,67-125,00] p <sub>2-4</sub> < 0,05 p <sub>3-4</sub> < 0,05

Примітка. p – статистична значущість відмінностей між вказаними групами.

Тобто, ФПН призводить до відносної естрогенізації у нащадків чоловічої статі. Додавання ФК вагітним молодим тваринам на тлі ФПН сприяє нормалізації рівня Тс у самців пубертатного віку.

У нащадків групи ФПН/зр. також був знижений рівень Тс на 60 % ( $p < 0,05$ ). При додаванні вагітним щурам Дипіридамолу та ФК для корекції стану ФПН не сприяло нормалізації рівня Тс і потенціювало подальше його зниження (табл. 6).

Таблиця 6

**Рівні статевих гормонів у сироватці крові нащадків щурів,  
n=10, Me [Q1-Q3]**

Група нащадків	Показник		
	естрадіол, нмоль/л	тестостерон, нмоль/л	співвідношення Т/Е <sub>2</sub> , умовні одиниці
1. Інт/зр.	0,50 [0,50-0,60]	15,00 [8,30-15,00]	24,75 [16,60-30,00]
2. ФПН/зр.	0,50 [0,40-0,50]	9,10 [7,80-10,00] $p_{1-2} < 0,05$	15,67 [15,60-20,00]
3. ФПН/зр.+Д	0,30 [0,30-0,30] $p_{1-3} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$	3,00 [2,30-3,00] $p_{1-3} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$	10,00 [7,67-10,00] $p_{1-3} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$
4. ФПН/зр.+ФК	0,50 [0,50-0,60] $p_{3-4} < 0,05$	2,00 [0,90-2,00] $p_{1-4} < 0,05$ $p_{2-4} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,05$	4,00 [2,25-4,00] $p_{1-4} < 0,05$ $p_{2-4} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,05$

Примітка. p – статистична значущість відмінностей між вказаними групами.

Рівень ПГ у самців нащадків групи ФПН/мол. підвищувався до 4,25 [3,10-5,60] нг/мл, проти 1,90 [1,90-2,20] нг/мл у контрольній групі тварин відповідного віку ( $p < 0,05$ ). У самців, народжених від матерів ФПН/зр., статистично значущої різниці між показниками рівня ПГ знайдено не було.

При розтині пубертатних самців були виявлені тварини, у яких спостерігали неопущення сім'яників у мошонку (крипторхізм), такі щури були народжені від матерів групи ФПН/мол. Аналогічну патологію також було виявлено у чоловічій РС, як крипторхізм та гіпоспадія у нащадків, народжених від матерів із ФПН (Ghazarian A.A., 2018). Причин даної патології може бути багато, але найпоширеніші такі: порушення роботи ендокринної системи (порушення секреції гонадотропінів в антенатальному та постнатальному періодах), порушення рецепторного апарату яєчка при нормальному рівні Тс, дисбаланс гормонів у вагітної жінки під час виношування хлопчика (Gurney J.K., 2017).

Таким чином, ФПН впливає на статевий розвиток самців нащадків, народжених від матерів різного репродуктивного віку, що проявляється у затримці статевого дозрівання та дисбалансі статевих гормонів (зниження Тс у всіх тварин та підвищення рівня Е<sub>2</sub> тільки у нащадків ФПН/мол.). В подальшому це може призвести до проблем з функціонуванням РС. Тільки у самців групи ФПН/мол.+ФК спостерігали нормальні рівні Тс.

При дослідженні гістологічної картини сім'яників щурів пубертатного віку групи ФПН/мол. виявлено гальмування диференціювання статевих клітин. А саме, діаметр звивистих сім'яних канальців був зменшений на 19,63 %, розташування канальців менш щільне, просвіт чіткий, товщина сперматогенного епітелію стоншена на 35,30 % ( $p < 0,05$ ), сперматогенний пул клітинних популяцій у переважній більшості канальців не перевищував два шари, процес сперматогенезу закінчено на стадії сперматоцитів I-го порядку.

У нащадків групи ФПН/зр. негативні наслідки впливу ФПН були нівельовані, а темпи становлення сперматогенезу наближалися до такого рівня у тварин інтактної групи.

Після введення ФК репродуктивно молодим самицям на тлі ФПН в сім'яниках їх 50-добових нащадків звивисті сім'яні канальці були виразно збільшені на 29 % ( $p < 0,05$ ). Ширина сперматогенного шару становила 59,34 мкм (що у два рази перевищувало аналогічний контроль) ( $p < 0,05$ ), в ньому чітко простежені три-чотири шари статевих клітин – в середньому по групі 3,5 шари. У більшості канальців статеві клітини перебували на пізніх стадіях диференціювання, в частині з них видно і зрілі сперматозоїди. Більш активні і гормонпродукуючі клітини Лейдіга у міжканальцевих локусах, численність їх в цілому збільшена, самі клітини з крупними ядрами і великим об'ємом цитоплазми.

Таким чином, ФПН призводить до гальмування диференціювання статевих клітин тільки у тварин групи ФПН/мол. Введення ФК молодим вагітним самицям на тлі ФПН, активувало процеси проліферації та диференціювання сперматогенного епітелію у їх нащадків, що призвело до появи у частині сім'яних канальців зрілих сперматозоїдів. Отже, запропонована ФК сприяла відновленню темпів становлення сперматогенезу у нащадків практично на рівні Дипіридамолу.

Згідно сучасних уявлень, посилення процесів ПОЛ є важливою патогенетичною складовою будь-якого стресорного впливу, причиною структурно-функціонального порушення цілісності мембран, включно з мітохондріальними, та активації ряду стрес-реактивних сигналінгових шляхів, що є підґрунтям подальшого розвитку широкого спектру хвороб (Sahin E., 2012; Menezo Y. J., 2016). Однак з'являються суперечливі експериментальні дані стосовно впливу оксидативного стресу під час внутрішньоутробного розвитку на формування залежно від статі схильності до виникнення з віком хронічних патологічних станів (Badran M., 2019; Dimova L. G., 2020). Тому наступною частиною роботи було визначення впливу ФПН на потенційне формування оксидативного стресу в нащадків обох статей у період пубертату.

Фетоплацентарна недостатність призводить до формування у щурів нащадків у період пубертату зміненого патерна активності ферментів АОЗ, що реалізується у зсувах рівнів у сироватці крові як первинних, так і кінцевих продуктів ПОЛ.

Привертає увагу, що у самців нащадків Інт/зр. було визначено вищий рівень активності каталази на 30 % в тканині печінки в період пубертату, ніж у самців нащадків матерів Інт/мол. ( $p < 0,05$ ). Це супроводжувалося суттєвим зниженням рівнів Тс (медіана складала 3,90 нмоль/л проти 23,80 нмоль/л, відповідно ( $p < 0,05$ ), що може свідчити про значні вихідні розбіжності у функціонуванні плаценти за

умов різного репродуктивного віку із впливом на активність ключових ензимів синтезу та/або метаболізму статевих гормонів (Чепка Ю. Л., 2001; Резніков О. Г., 2004). Також слід відзначити, що у самців групи ФПН/мол. відбувалося зростання значень активності каталази ( $20,84 \pm 1,70$ ) Од/мг білка проти ( $28,04 \pm 1,85$ ) Од/мг білка у групі Інт/мол. ( $p < 0,05$ ). Тоді як у нащадків групи ФПН/зр. ця активність значущо гальмувалася ( $29,90 \pm 1,14$ ) Од/мг білка проти ( $22,56 \pm 2,57$ ) Од/мг білка у групі Інт/зр. ( $p < 0,05$ ). Останнє спостерігали поряд зі зниженням активності глутатіонпероксидази ( $14,08 \pm 1,07$ ) нмоль/л проти ( $10,47 \pm 0,70$ ) нмоль/мг білка ( $p < 0,05$ ) та, одночасно, зменшенням рівнів ВГ ( $18,59 \pm 0,82$ ) мкмоль/мг проти ( $10,59 \pm 0,97$ ) мкмоль/мг білка ( $p < 0,05$ ).

Згідно останніх тенденцій, компенсаторну активацію ензимів у нащадків після впливу різноманітних стрес-чинників під час внутрішньоутробного розвитку пов'язують з епігенетичною активацією стрес-реактивних шляхів, що може у подальшому реалізуватися у виснаженні ресурсів та розвитку ряду хронічних захворювань із запальним компонентом у патогенезі (Cheedipudi A., 2014). З іншого боку, гальмування роботи компонентів системи захисту, або метаболічних ферментів різних шляхів часто пов'язують з окисними модифікаціями власно білкових молекул протягом онтогенезу (Menezo V., 2016).

Комбінований терапевтичний вплив більшою мірою нормалізував показники АОЗ, однак не остаточно, про що вказує рівень утворення продуктів ПОЛ у циркуляції, які не сягали значень, у нащадків інтактних тварин.

Таким чином, можна констатувати, що ФПН викликає суттєві зміни активності базових елементів АОЗ нащадків чоловічої статі. Виходячи з того, що застосування судинорозширювального препарату як окремо, так і у комбінації з додатковими компонентами, сприяло статистичному відновленню досліджених показників, дані метаболічні порушення є ознакою, в першу чергу, хронічного перебігу гіпоксії плода. Крім того, виражені значні зміни спостерігалися у нащадків матерів зрілого репродуктивного віку можуть бути наслідком впливу інволютивних процесів у РС, які порушують трофіку плаценти.

#### ***Пубертатогенез самиць щурів нащадків, народжених від матерів із ФПН.***

Аналіз маси тіла тварин, яка вважається інтегральним показником фізичного стану, показав, що у самиць щурів нащадків, народжених від матерів ФПН/мол., маса тіла не відрізнялась від такої у тварин інтактної групи відповідного віку. У нащадків групи ФПН/зр., навпаки було виявлено збільшення маси тіла на 18 %, у групі нащадків з ФПН/зр.+Д – на 34 % відповідно ( $p < 0,05$ ). Статеве дозрівання зазвичай настає, коли є накопичення достатньої кількості енергії у вигляді жирового відкладення з високим рівнем циркулюючого лептину та інсуліну. Але іншими авторами було показано, що для настання статевого дозрівання не потрібні високі рівні цих гормонів (Ullah R., 2019). У нашому дослідженні саме у нащадків, народжених від матерів із ФПН/зр., була збільшена маса тіла ( $p < 0,05$ ).

У нащадків жіночої статі, які були народжені матерями двох вікових груп із ФПН, спостерігали прискорене статеве дозрівання у вигляді більш ранніх строків відкриття піхви. Фармацевтична композиція сприяла більш нормальному статевому розвитку нащадків жіночої статі, ніж Дипіридамол.

Для визначення впливу ФПН на будову яєчників була досліджена їх гістоструктура у пубертатних нащадків самиць, народжених від матерів молодого та зрілого репродуктивного віку із ФПН. У нащадків щурів групи Інт/мол. у яєчнику кіркова та мозкова речовина добре розмежована. У кірковій речовині виявляли фолікули всіх стадій розвитку: первинні (примордіальні), дво- і багат шарові вторинні ранні і пізні, третинні – до пізніх включно. Основна частка належала вторинним фолікулам, резерв фолікулогенезу був в межах нормального (рис. 1 (А)).

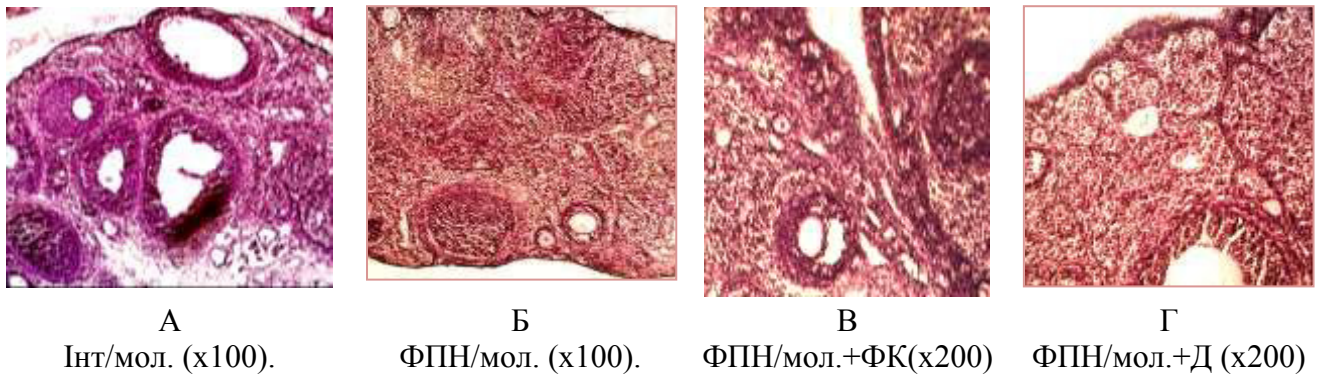


Рис. 1. Яєчники нащадків щурів пубертатного віку, які були народжені матерями молодого репродуктивного віку.

Дослідження гістоструктури яєчників нащадків групи ФПН/мол. у пубертатному періоді онтогенезу виявило зменшення об'ємної щільності всіх фолікулів. Відмічено порушення співвідношення типів фолікулів – перевагу мали вторинні ранні фолікули при тому, що у інтактних самиць відповідного віку основна частка належала вторинним пізнім фолікулам (див. рис. 1 (Б)). Крім того, зменшився резерв фолікулогенезу на 45 % (пул примордіальних фолікулів) і збільшився рівень атрезії фолікулів на 30 %  $p < 0,05$ .

Фізіологічно нормальну гістологічну структуру органу, характерну для пубертатного періоду життя, спостерігали і у нащадків групи Інт/зр., кількість примордіальних фолікулів була у межах норми (рис. 2 (А)).

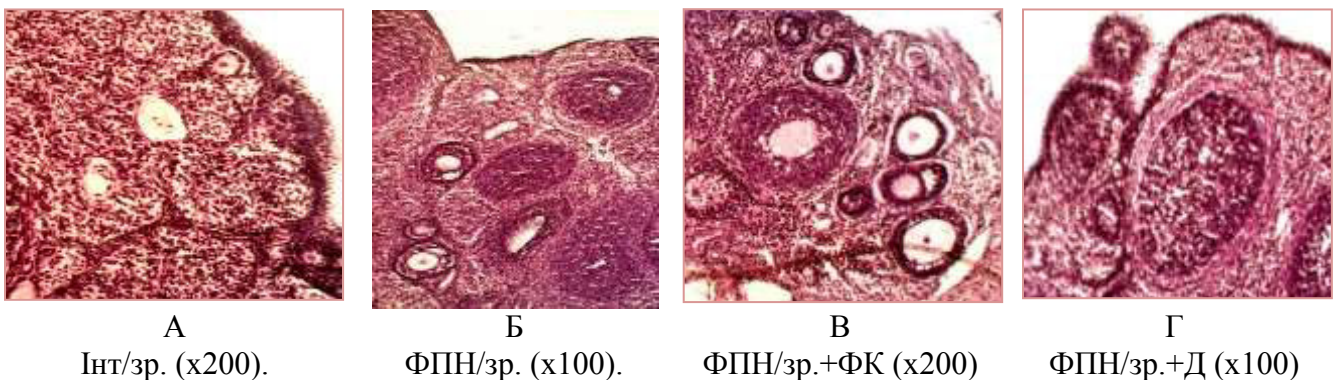


Рис. 2. Яєчники нащадків щурів пубертатного віку, які були народжені матерями зрілого репродуктивного віку.

Було візуалізовано доволі багато ранніх вторинних і зрілих третинних фолікулів, а фолікулів у стані атрезії, було трохи зменшено порівняно з нащадками групи Інт/мол. Втім, кінцевого результату ефективного фолікулогенезу – появи жовтих тіл тічки в наслідок овуляції, у нащадків цієї групи не виявлено.

У яєчниках нащадків ФПН/зр. у період становлення статевої зрілості аналогічно виразно зменшено кількість примордіальних та зростаючих фолікулів на 50 %, більше фолікулів зазнали атрезії на 38 % ( $p < 0,05$ ). Загальна кількість фолікулів, що досягли зрілості, судячи зі зменшення кількості граафових пухирців, показово зменшена на 29 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з інтактною групою (див. рис. 2 (Б)).

Введення ФК сприяло підвищенню резерву фолікулогенезу та зниженню процесу атрезії фолікулів, Дипіридамол, порівняно з ФК, в меншій мірі активував збільшення резерву фолікулогенезу, менш виразно впливав на процес атрезії фолікулів у нащадків самиць народжених, як від молодих, так і від репродуктивно зрілих тварин (див. рис. 1 (В, Г); див. рис. 2 (В, Г)).

При дослідженні вагових показників репродуктивних органів, спостерігали збільшену масу матки у нащадків групи ФПН/мол. на 98 %, у ФПН/зр. – на 300 %, порівняно з інтактними тваринами відповідного віку. В нащадків ФПН/мол.+ФК маса матки зрівнялася з показниками інтактних тварин на відміну від самиць, народжених від репродуктивно зрілих матерів ( $p < 0,05$ ). Це можна пояснити тим, що у нащадків, народжених від репродуктивно зрілих самиць, спостерігали прискорене статеве дозрівання – матка за розмірами та масою була більша, ніж у інфантильних тварин. Маса яєчників відрізнялась тільки у нащадків ФПН/мол. і вона була збільшена майже на 30 % ( $p < 0,05$ ).

При вивченні стану процесів ПОЛ у нащадків були отримані результати, які свідчать про те, що експериментальна ФПН у третьому триместрі вагітності призводить до формування у щурів нащадків жіночої статі в період пубертату зміненої моделі активності ферментів АОЗ, що реалізується у підвищенні рівнів як первинних, так і кінцевих продуктів ліпопероксидації. Більш виразні порушення спостерігалися у нащадків матерів зрілого репродуктивного віку, що може бути обумовлено зниженим рівнем статевих гормонів вагітності у цих матерів порівняно із тваринами молодого репродуктивного віку. Фармацевтична композиція діяла більш ефективно, нормалізуючи оксидативний статус нащадків, ніж препарат порівняння Дипіридамол.

При дослідженні статевих гормонів у тварин жіночої статі, народжених від матерів ФПН/мол., ніякої різниці між даними не було виявлено. Навпаки, у нащадків групи ФПН/зр. рівень  $E_2$  був знижений на 57 % ( $p < 0,05$ ), співвідношення  $T/E_2$  було більше на 75 % ( $p < 0,05$ ). Ні ФК, ні препарат порівняння не сприяли підвищенню  $E_2$  до рівня групи Інт/зр. При визначенні ПГ у сироватці крові всіх досліджуваних груп статистичних змін не реєстрували.

Таким чином, ФПН негативно впливає на становлення РС пубертатних самиць нащадків, народжених від матерів різного віку. В групі ФПН/зр. спостерігали більше змін в становленні РС, збільшене співвідношення статевих гормонів у бік  $T_s$ , що сприяє неадекватній стимуляції яєчників, наслідком якої є



порушення стероїдогенезу. Незалежно від віку матері, ФПН негативно впливала на гістоструктуру яєчників нащадків пубертатного віку, що може позначитися у майбутньому на зниженій здатності до запліднення. У всіх тварин спостерігали більшу АГВ, що є ознакою естрогенодифіциту. Застосування впродовж вагітності ФК призводила до більшої нормалізації становлення РС нащадків жіночої статі, ніж Дипіридамол.

**Вплив ФПН матерів на стан репродуктивної системи дорослих нащадків шурів самців.** До теперішнього часу лишається відкритим питання про віддалені наслідки впливу ФПН щодо функціональних систем організму людини, зокрема для РС нащадків чоловічої статі. Саме тому, наступною частиною дослідження було вивчення віддалених наслідків ФПН на функціонування РС дорослих нащадків чоловічої статі, які були народжені матерями різного віку.

Згідно даних таблиці 7, ФПН призводить до вірогідних змін у рівні загального Тс, Е<sub>2</sub> та зсуву співвідношення статевих гормонів у бік гіперестрогенізації у всіх нащадків.

Таблиця 7

Рівні статевих гормонів у сироватці крові нащадків самців, n=10, Ме [Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>]

Група нащадків	Показник		
	естрадіол, нмоль/л	тестостерон, нмоль/л	співвідношення Т/Е <sub>2</sub> , умовних одиниць
1. Інт/мол.	0,30 [0,30-0,40]	13,00 [9,00-14,90]	37,25 [30,00-37,50]
2. ФПН/мол.	0,60 [0,20-0,60] p <sub>1-2</sub> < 0,05	8,00 [8,00-8,00] p <sub>1-2</sub> < 0,05	13,33 [13,33-35,00] p <sub>1-2</sub> < 0,05
3. ФПН/мол.+Д	0,40 [0,40-0,50] p <sub>1-3</sub> < 0,05	7,00 [7,00-7,00] p <sub>1-3</sub> < 0,05	17,50 [14,00-17,50] p <sub>1-3</sub> < 0,05
4. ФПН/мол.+ФК	0,60 [0,30-0,60] p <sub>1-4</sub> < 0,05	8,00 [7,00-8,00] p <sub>1-4</sub> < 0,05	13,33 [13,33-23,33] p <sub>1-4</sub> < 0,05
5. Інт/зр.	0,30 [0,30-0,60]	10,00 [9,35-10,00]	26,67 [20,00-31,17]
6. ФПН/зр.	0,50 [0,40-0,50] p <sub>5-6</sub> < 0,05	8,00 [8,00-9,00] p <sub>5-6</sub> < 0,05	18,00 [17,50-18,00] p <sub>5-6</sub> < 0,05
7. ФПН/зр.+Д	0,20 [0,20-0,20] p <sub>5-7</sub> < 0,05	7,00 [7,00-8,00] p <sub>5-7</sub> < 0,05	35,00 [35,00-35,00] p <sub>5-7</sub> < 0,05
8. ФПН/зр.+ФК	0,60 [0,50-0,60] p <sub>5-8</sub> < 0,05	7,00 [7,00-8,00] p <sub>5-8</sub> < 0,05	13,33 [11,67-14,00] p <sub>5-8</sub> < 0,05

Примітка. p – вірогідність розбіжностей між показниками вказаної групи.



На автопсії щурів після проведення комплексу досліджень були визначені маса тіла та обраховані відносні маси органів. Фетоплацентарна недостатність більшою мірою впливає на самців нащадків, народжених від матерів зрілого репродуктивного віку. У тварин групи ФПН/мол. спостерігали зменшення відносної маси гіпофіза на 20 %, у групі ФПН/мол.+Д – зменшення маси тимуса на 23 %. Додавання ФК не сприяло підвищенню маси гіпофізу на відміну від Дипіридамолу.

У нащадків групи ФПН/зр. було статистично доведено підвищення маси репродуктивних органів, а саме ПЗ на 36 % та епідидимусів на 23 % ( $p < 0,05$ ) відповідно. Маса надниркових залоз навпаки знижувалась на 34 % порівняно з даними інтактних тварин відповідного віку. У групі ФПН/зр.+Д відбувалося зниження маси тимуса на 35 % та маси наднирників на 32 % порівняно з інтактною групою. Такі зміни відбувалися на тлі статистично значущого підвищення маси тіла тварин на 19 % ( $p < 0,05$ ). Фармацевтична композиція посприяла відновленню майже всіх вагових показників досліджуваних органів. Також було досліджено масу таких органів як: селезінка, сім'яники, печінка та сім'яні пухирці але вірогідної різниці їх значень не реєстрували.

На автопсії було визначено показники спермограми самців нащадків. За показниками функціонального стану епідидимальних сперматозоїдів у тварин групи ФПН/мол. частка патологічних форм спермійв знижувалась на 43 % ( $p < 0,05$ ). Але на тлі зниження патологічних клітин сперматогенезу було виявлено ознаки аглютинації у 40 % тварин ( $p < 0,05$ ). Відоме патологічне явище – аглютинація сперматозоїдів – стан, за якого чоловічі статеві клітини з'єднуються між собою або з різними фракціями, присутніми в еякуляті (слизом, епітеліальними клітинами, макрофагами), що може приводити до чоловічого безпліддя через втрату сперматозоїдами рухливості.

При дослідженні спермограми нащадків групи ФПН/зр. спостерігали зменшення кількості рухливих сперматозоїдів на 40 % ( $p < 0,05$ ) та кількості статевих клітин на 37 % ( $p < 0,05$ ), що призвело до зниження концентрації морфологічно нормальних сперматозоїдів порівняно з інтактною групою щурів. У цих нащадків також було виявлено аглютинацію сперматозоїдів, але у більшій кількості тварин 80 % ( $p < 0,05$ ) та більш виразному стані. Введення ФК та Дипіридамола призвело до нормалізації показників спермограми нащадків щурів.

Під час гістологічних досліджень сім'яників не виявлено грубих порушень їхньої структури та явних ознак затримки сперматогенезу. Кількісна характеристика процесу сперматогенезу щурів також не виявила розбіжностей між показниками, що характеризували його. Можливо, структура органа не була порушена за ембріонального розвитку на відміну від його функціонального розвитку. Тому, що ФПН виникає саме на стадії фетогенезу (II та III триместр вагітності), коли всі органи, їх структура сформовані, але функціонально, ще ні. Тобто, ФПН призводить саме до функціональних розладів РС.

Дослідження кристалізації секрету ПЗ самців груп ФПН/мол. та ФПН/зр. на відбитках показало порушення типового рисунку «листа папороті». Товщина стебел та гілок нерівномірна, самі гілки кристалів потовщені, знижена їх кількість і

розміри, кут відходження бокових гілок від стебел дорівнював 45 градусів проти 35 градусів в інтактній групі ( $p < 0,05$ ). Виразність порушення рисунку «листа папороті» в різних щурів варіювала, середня бальна оцінка характеру рисунка становила 2 (2; 2) бали проти 4 (3; 4) ( $p < 0,05$ ), що відображує зниження андрогенної насиченості організму нащадків.

У нащадків груп ФПН/мол.+Д та ФПН/зр.+Д відбиток «листа папороті» також свідчив про зниження андрогенної насиченості організму, ФК сприяла виразному покращенню рисунка у чотирьох із шести щурів. У двох тварин (20 %) простежувалися скорочення бокових гілок та зменшення їх чисельності. Частина з них потовщена або відходила від основного стебла під великим кутом. У групі оцінка секрету становила 3 (2; 3) бали, що статистично вірогідно не відрізнялося від інтактної групи.

Статева поведінка є невід'ємною частиною функціонування РС, що забезпечує синхронізацію поведінкових реакцій статевих партнерів для передачі генетичної інформації. Регуляція статевої поведінки здійснюється нейроендокринною системою шляхом поєднаної дії статевих стероїдів, їхніх метаболітів, нейромедіаторів та нейропептидів. При ФПН можливий каскад нейрогормональних змін в організмі матері і плоду, які із залученням імпринтингових механізмів програмують порушення нейроендокринної регуляції багатьох фізіологічних функцій, включаючи поведінку, процеси репродукції та адаптації у дорослих нащадків. До теперішнього часу лишається відкритим питання про віддалені наслідки впливу ФПН для функціонування статевої поведінки самців. Саме тому, наступним етапом роботи було дослідження впливу ФПН матерів на статево поведінку дорослих нащадків щурів чоловічої статі. У всіх інтактних тварин за 15 хв тесту відмічалися усі елементи статевої поведінки – залицяльної (за яку прийнято вважати наближення до самиці з обнюхуванням аногенітальної області) та саме копулятивної (садки, інтромісії та еякуляції).

При дослідженні статевої поведінки щурів ФПН/мол. спостерігали збільшення часу на відтворення копулятивних реакцій, навпаки зменшення кількості садок на 35 % та інтромісій на 39 % ( $p < 0,05$ ), еякуляції відбувалися лише у 20 % самців цієї групи за час тесту. За умов введення вагітним молодим самицям ФК на тлі ФПН частка самців нащадків з еякуляцією була більшою і практично дорівнювала даним контролю (90 %, з частотою  $(0,9 \pm 0,1)$  еякуляції за тест), хоча часові та кількісні показники не доходили до рівня інтактної групи. Показники статевої поведінки групи ФПН/мол.+Д не відрізнялись від групи ФПН/мол.

При дослідженні статевої поведінки нащадків групи ФПН/зр. спостерігали збільшення часу для відтворення копулятивних реакцій, навпаки кількість садок та інтромісій істотно знижувалась майже вдвічі, кількість наближень самця до самиці збільшувалась на 40 % ( $p < 0,05$ ). Слід зауважити, що тільки 30 % самців завершили свій статевий акт еякуляцією за відведений час. Тварини групи ФПН/зр.+ФК мали збільшену кількість самців, які встигали завершити свій статевий акт еякуляцією (80 %, з частотою  $0,8 \pm 0,1$ ), латентні та кількісні показники статевої поведінки цих тварин залишалися на рівні патології. Дипіридамомол не

виявив будь-якого ефекту, щодо виправлення статевої поведінки самців нащадків, яка була порушена внаслідок ФПН.

При паруванні самців, які були народжені матерями молодого репродуктивного віку, з інтактними самицями, індекс запліднення дорівнював 100 %. Індекс вагітності склав 83,3 % у групі ФПН/мол. Порівняно з групою інтактних тварин, у якій розрахунковий показник реалізованої плідності (Фі) дорівнював  $(6,0 \pm 0,8)$  плодів на одну самицю (100 %), у групі ФПН/мол. він був –  $(4,2 \pm 0,6)$  плодів на одну самицю (69 %), ФПН/мол.+Д –  $(4,4 \pm 0,5)$  плодів (73,5 %), ФПН/мол.+ФК  $(7,0 \pm 0,7)$  плодів (100 %) ( $p < 0,05$ ).

Індекс запліднення був знижений на 50 % у тварин групи ФПН/зр., на 17 % у групі ФПН/зр.+Д, на 15 % – ФПН/зр.+ФК порівняно з інтактною групою тварин. Індекс вагітності у групі ФПН/зр. склав 75 %, ФПН/зр.+Д – 80 %, що було значуще менше, ніж у контрольній та групі ФПН/зр.+ФК – 100 % ( $p < 0,05$ ). Інтегральна плідність самців була знижена тільки у групах ФПН/зр., ФПН/зр.+Д на 88 та 63 % відповідно ( $p < 0,05$ ).

У даних, що були отримані на автопсії самиць на 20 добу вагітності, за показниками кількості жовтих тіл, місць імплантації та плодів статистичні відмінності між групами відсутні. Крім того, не виявлено змін у величині внутрішньоутробних втрат під час вагітності, що свідчить про її нормальний перебіг.

Таким чином, отримані результати дозволяють зробити висновок про те, що ФПН у третьому триместрі вагітності призводить у нащадків чоловічої статі в статевозрілому віці до зниження загальної андрогенізації організму. Це в свою чергу призводить до зниження фертильності самців, порушенні статевої поведінки та змін у спермограмі тварин.

**Репродуктивна система дорослих самиць нащадків, народжених від матерів із ФПН різного репродуктивного віку.** Відомо, що надійність функціонування РС забезпечується комплексом регуляторних механізмів, провідною ланкою яких є гормони, що синтезуються в органах ГГГС. У всіх піддослідних самиць нащадків у сироватці крові визначали концентрації статевих гормонів.

При порівнянні інтактних груп нащадків щурів, народжених від матерів двох вікових груп, спостерігали різний вихідний рівень  $E_2$  (рис. 3 (А)).

Так, у самиць Інт/зр. концентрація  $E_2$  була знижена на 62 % ( $p < 0,05$ ), рівень  $T_c$  не змінювався, але його співвідношення до  $E_2$  в крові суттєво збільшувалося ( $p < 0,05$ ) порівняно з нащадками Інт/мол. Очевидно, це можна пояснити тим, що загальний рівень статевих гормонів у жінок, які вагітніють у зрілому репродуктивному віці, знижений з причини поступового згасання РС із віком порівняно з молодими жінками.

При дослідженні статевих гормонів у самиць нащадків ФПН/мол. спостерігали підвищення рівня  $T_c$  на 200 % та співвідношення  $T_c/E_2$  на 117 % ( $p < 0,05$ ), порівняно з інтактною групою відповідного віку, що вказує на підвищений синтез андрогенів у тварин. У групі ФПН/мол.+Д залишався підвищеним показник  $T_c/E_2$  на 74 % ( $p < 0,05$ ). Фармацевтична композиція

призводила до нормалізації всіх гормональних показників у нащадків. У нащадків ФПН/зр. спостерігали достовірне підвищення показника  $T/E_2$  при незмінній концентрації  $E_2$  та дещо вищому рівні  $T_c$  ( $p < 0,05$ ) (див. рис. 3 (Б)). ФК та Дипіридабол призвели до нормалізації статевих гормонів у крові нащадків цієї групи до їх контрольних значень.

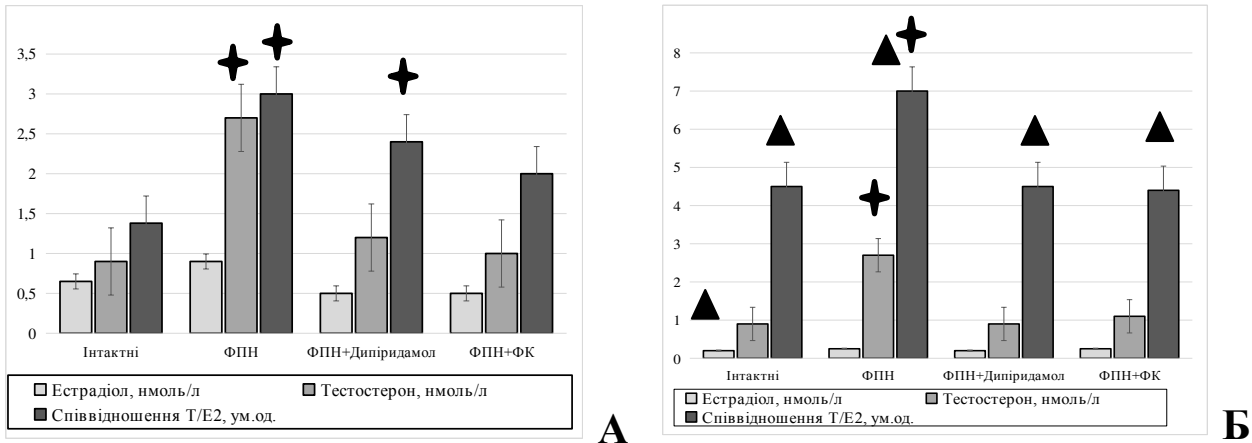


Рис. 3. Показники концентрації статевих гормонів нащадків жіночої статі, народжених від репродуктивно молодих самиць (А) та репродуктивно зрілих самиць (Б):

- ✦ – вірогідність різниці порівняно до інтактної групи ( $p < 0,05$ ).
- ▲ – вірогідність розбіжностей між показниками однакової групи, але народжених від матерів різного віку ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, ФПН матері не проходить без наслідків для її нащадків жіночої статі: практично в усіх групах нащадків щурів спостерігали порушення гормонального гомеостазу, проявом чого є гіперандрогенія. Як відомо, саме з цією патологією пов'язують у жінок розлади циклічності та безпліддя.

Для прояву ефектів  $E_2$  суттєвим є його співвідношення з  $T_c$ , тому що  $E_2$  утворюється у жінок із  $T_c$  – в фолікулах яєчників, корі надниркових залоз і плаценті. Отже, було доцільним провести порівняння маси деяких внутрішніх органів.

На автопсії щурів після проведення комплексу досліджень були визначені маса тіла та обраховані відносні та абсолютні маси органів. Маса тіла тварин не відрізнялась між собою. Вагові показники селезінки та тимусу також не мали вірогідних відмінностей між собою та інтактною групою. Отримані дані свідчать, що наслідком ФПН у нащадків молодих матерів було підвищення відносної маси нирок ( $p < 0,05$ ). Більші значні зміни у вагових показниках зазнала група ФПН/зр, абсолютна маса печінки та надниркових залоз була зменшена на 17 % ( $p < 0,05$ ), маса нирок – на 9 % порівняно з інтактними тваринами, маса гіпофізу не змінювалась.

Маса яєчників знижувалася майже на 40 % у самиць групи ФПН/мол. ( $p < 0,05$ ), а маса матки зменшувалася у два рази у тварин групи ФПН/зр. ( $p < 0,05$ ). При підрахунку зрілих фолікулів у яєчниках була виявлена менша кількість

фолікулів у нащадків групи ФПН/мол. ( $3,00 \pm 1,17$ ) проти ( $5,00 \pm 1,52$ ) у інтактних тварин ( $p < 0,05$ ), відносно нащадків зрілих самиць різниці у кількості фолікулів знайдено не було.

В групі самиць ФПН/мол.+Д виявили зменшення відносної маси матки  $0,16 [0,12-0,26]$  проти  $0,22 [0,17-0,44] \%$  ( $p < 0,05$ ). У тварин ФПН/зр.+Д збільшення абсолютної маси яєчників на  $19 \%$  ( $p < 0,05$ ). Введення ФК вагітним тваринам на тлі ФПН призвело до нормалізації показників маси досліджуваних органів.

Особливістю функціонування жіночої РС є її циклічність. Естральний цикл у статевозрілих нащадків жіночої статі двох інтактних груп був зареєстрований у  $100 \%$  випадків. У піддослідних групах спостерігалось зниження кількості циклюючих самиць, а саме: із  $100 \%$  нащадків, народжених від матерів ФПН/мол. –  $30 \%$  не мали регулярного естрального циклу ( $p < 0,001$ ); у групі ФПН/зр. –  $28 \%$  ( $p < 0,05$ ) відповідно. Але тривалість та фазова структура естрального циклу самиць всіх досліджуваних груп майже не змінювалася на тлі ФПН.

Таким чином, під впливом ФПН нащадки щури жіночої статі, народжені від матерів молодого репродуктивного віку, зазнали змін в РС. А саме, під впливом високого вмісту Тс зменшується кількість фолікулів за рахунок їх атрезії, і, як наслідок, знижується маса яєчників. Тобто має місце патологічна ановуляція, яка може бути зумовлена порушенням регуляції у ГГГС. В самиць нащадків групи ФПН/зр. спостерігали аналогічні за спрямованістю зміни в РС (підвищений рівень Тс, близько  $30 \%$  самиць нащадків мали нерегулярні естральні цикли). Збільшене співвідношення статевих гормонів у бік Тс сприяє неадекватній стимуляції яєчників, наслідком якої є порушення стероїдогенезу. Під впливом високого рівня ЛГ відбувається стійка андрогенізація у тварин. Такі різні прояви у РС нащадків жіночої статі можливі за рахунок різного гормонального стану їх матерів на момент вагітності.

Жіночу статеву поведінку оцінювали за такими параметрами як процептивна та копулятивна поведінка. Процептивна поведінка має такі складові як знайомство, залицання та реагування на самця. Копулятивна – кількість лордозів та їх коефіцієнт. Було виявлено, що копулятивна поведінка інтактних самиць двох вікових груп дорівнювала  $100 \%$ , тобто, кожна садка або інтромісія самця викликала у самиць реакцію лордозу. Процептивна поведінка інтактних самиць шурів включає усі її складові, при цьому за кількісною характеристикою переважає реагування на самця. У самиць групи ФПН/мол. спостерігали підвищення сумарного показника процептивної поведінки ( $30,5 \pm 5,0$ ) раз проти ( $43,3 \pm 0,8$ ) раз ( $p < 0,05$ ), підвищення цих показників у самиць може вказувати на достатньо високий рівень естрогенів, на що звертали увагу вище. Але у цих нащадків спостерігали зниження копулятивної поведінки, відсоток лордозів дорівнював  $80 \%$  проти  $100 \%$  у інтактних тварин ( $p < 0,05$ ). Введення ФК призвело до збільшення відсотку коефіцієнту лордозу до  $94 \%$ , процептивна поведінка не відрізнялась від інтактної групи. Препарат Дипіридамола дещо вирівнював показники статевої поведінки, але до рівня інтактних груп не доходив.

При дослідженні статевої поведінки групи ФПН/зр. виявили істотне зниження коефіцієнту лордозу зі 100 % у інтактних тварин відповідного віку до 50 % у піддослідних самиць. У зв'язку з високим рівнем Тс відбувалося підвищення усіх показників процептивної поведінки ( $30,1 \pm 0,4$ ) кількість проти ( $46,4 \pm 1,9$ ) кількість ( $p < 0,05$ ), що узгоджується з пригніченням функціонування парувального компоненту статевої поведінки. Фармацевтична композиція виявила позитивний вплив на формування жіночої статевої поведінки у нащадків, коефіцієнт лордозу складав 98 %, сумарний показник процептивної поведінки дорівнював показнику інтактної групи. Препарат порівняння не сприяв нормалізації показників статевої поведінки.

Таким чином, ФПН призводить до порушення гормонального балансу в перинатальному періоді індивідуального розвитку організму, спричинює істотний модифікуючий вплив на становлення нейроендокринних механізмів регуляції статевої поведінки (Резніков О. Г., 2019). Фетоплацентарна недостатність обумовлена зривом компенсаторно-приспосувальних механізмів на тканинному рівні. В патогенезі її вирішальна роль належить молекулярним і клітинним змінам із порушенням адаптаційних гомеостатичних реакцій клітин плаценти (Rodríguez-Rodríguez P., 2018). При порушенні гормональної функції ФПК відбувається дисбаланс плацентарних та фетальних гормонів, з підвищенням рівня альфа-фетопротейну (Ліхачов В. К., 2009), такі гормональні зміни матері впливають на статеву диференціацію головного мозку нащадків жіночої статі.

При дослідженні фертильності самиць, їх спаровували з інтактними самцями. Фетоплацентарна недостатність призвела до зниження індексу запліднення на 20 % у самиць двох вікових груп. Індекс вагітності самиць щурів, народжених від матерів із ФПН двох вікових груп, знижувався ( $p < 0,01$ ) (табл. 8).

Таблиця 8

**Показники фертильності статевозрілих самиць нащадків щурів, n=10, ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Група нащадків	Показник			
	індекс запліднення, %	індекс вагітності, %	інтегральна плідність, $\Phi_i$ , плодів	інтегральна плідність, %
1	2	3	4	5
1. Інт/мол.	100	100	$10,9 \pm 0,8$	100
2. ФПН/мол.	80 $p_{1-2} < 0,05$	62,5 $p_{1-2} < 0,05$	$1,9 \pm 0,2$ $p_{1-2} < 0,05$	17,2 $p_{1-2} < 0,05$
3. ФПН/мол.+Д	100	75 $p_{1-3} < 0,05$	$3,8 \pm 0,4$ $p_{1-3} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$	35,1 $p_{1-3} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$
4. ФПН/мол.+ФК	100	60 $p_{1-4} < 0,05$	$2,0 \pm 0,2$ $p_{1-4} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,05$	18,2 $p_{1-4} < 0,05$
5. Інт/зр.	100	100	$9,4 \pm 0,8$	100

1	2	3	4	5
6. ФПН/зр.	80 $p_{5-6} < 0,05$	71,4 $p_{5-6} < 0,05$	$2,2 \pm 0,3$ $p_{5-6} < 0,05$	24 $p_{5-6} < 0,05$
7. ФПН/зр.+Д	100	83,3 $p_{5-7} < 0,05$	$5,3 \pm 0,5^*$ $p_{5-7} < 0,05$ $p_{6-7} < 0,05$	$56,1^*$ $p_{5-7} < 0,05$ $p_{6-7} < 0,05$
8. ФПН/зр.+ФК	100	83,3* $p_{5-8} < 0,05$	$4,7 \pm 0,5^*$ $p_{5-8} < 0,05$ $p_{6-8} < 0,05$	$50,2^*$ $p_{5-8} < 0,05$ $p_{6-8} < 0,05$

Примітки:

p – рівень значущості відмінностей між вказаними групами;

\* – вірогідність розбіжностей між показниками однакової групи, але народжених від матерів різного віку ( $p < 0,05$ ).

Тобто, у цих групах, на відміну від інтактних щурів, наявність сперматозоїдів у вагінальному мазку самиці не гарантувала настання вагітності. Розрахунок  $\Phi_i$ , який враховує кількість запліднених та вагітних самиць й середню кількість плодів у вагітних самиць, показав, що у тварин, народжених від всіх вагітностей із ФПН, плідність суттєво зменшена.

Препарати, які вводили для корекції негативного впливу ФПН, призвели до деякого збільшення плідності самиць, яка все ж таки не досягала рівня інтактної групи.

У самиць нащадків групи ФПН/мол. на автопсії було виявлено знижену кількість жовтих тіл, місць імплантацій та плодів ( $12 \pm 0$ ), ( $11 \pm 0$ ), ( $10,5 \pm 0$ ), відповідно, ( $p < 0,01$ ). У всіх інших групах ці показники та внутрішньоутробні втрати не відрізнялись від даних інтактних груп.

При дослідженні гістоструктури яєчників самиць нащадків групи ФПН/мол. спостерігали зменшення жовтих тіл  $13,0 [12,0-14,0]$  проти  $10,0 [9,0-10,0]$  відповідно ( $p < 0,01$ ) та кількості фолікулів із двома і більше гранульозними клітинами  $70,0 [65,0-85,0]$  проти  $60,0 [60,0-65,0]$  відповідно ( $p < 0,01$ ). Відмітили інтенсифікацію процесу атрезії фолікулів  $1390,0 [1380,0-1435,0]$  проти  $1475,0 [1470,0-1565,0]$  відповідно, ( $p < 0,01$ ) – тобто зміни нормальної динаміки визрівання фолікулів.

У групі ФПН/зр. спостерігали майже такі зміни, а саме: зменшення кількості жовтих тіл  $12,0 [11,0-12,0]$  проти  $7,0 [7,0-7,0]$  відповідно ( $p < 0,01$ ), кількості примордіальних фолікулів  $480,0 [470,0-490,0]$  проти  $400,0 [390,0-430,0]$  відповідно ( $p < 0,01$ ), інтенсифікацію процесу атрезії фолікулів  $1270,0 [1250,0-1350,0]$  проти  $1435,0 [1420,0-1445,0]$  відповідно, ( $p < 0,01$ ).

Отже, при застосуванні ФК у вагітних щурів різного віку спостерігали активацію резерву фолікулогенезу, на тлі зниження атрезії фолікулів, в наслідок чого більша кількість фолікулів розвивалась і досягала овуляції. Препарат порівняння Дипіридамомол виявляв менш виражений вплив на оогенез нащадків, а саме, у яєчниках домінували фолікули вторинні ранні, а вторинних зрілих та третинних було візуально недостатньо, як і жовтих тіл тічки.

Підсумовуючи викладене, можна констатувати, що ФПН самиць щурів у третьому триместрі вагітності призводить до виразних змін в РС нащадків обох статей, які були народжені матерями репродуктивно молодого та репродуктивно зрілого віку. Отримані дані вказують на можливість та шляхи створення засобів профілактики репродуктопатій у дітей, народжених матерями із ФПН.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено науково-теоретичне узагальнення та вирішення медико-соціальної проблеми репродуктивної ендокринології шляхом встановлення наявності причинно-наслідкового зв'язку між фетоплацентарною недостатністю матерів щурів різного репродуктивного віку у третьому триместрі вагітності та розвитком репродуктопатій у їх нащадків обох статей в онтогенезі.

1. Фетоплацентарна недостатність призводить до порушень як у матково-плацентарному, так і плодово-плацентарному кровообігу, незалежно від репродуктивного віку самиці. Спостерігаються виразні гострі запальні порушення в ендометрії та міометрії, відбувається тромбоз судин, їхня оклюзія та формування ділянок інфарктів плацентарної тканини, що в подальшому може призвести до ускладнень вагітності. Змінюється внутрішня архітектоніка плаценти, зменшується ширина децидуальної оболонки та лабіринтного відділу, а трофоспонгіуму – збільшується.

2. Наявність фетоплацентарної недостатності у матерів молодого та репродуктивно зрілого віку призводить до дисбалансу гормонів вагітності (прогестерону та естріолу), активації процесів пероксидного окиснення ліпідів, накопичення в крові та інших тканинах (особливо у печінці і плаценті) продуктів ліпопероксидації з одночасним зниженням активності системи антиоксидантного захисту організму, що призводить до появи ознак внутрішньоутробної затримки розвитку плода, крововиливів та гематом на різних ділянках його тіла.

3. Наявність фетоплацентарної недостатності у матерів різного репродуктивного віку призводить до народження самців нащадків, у яких спостерігається знижений в середньому на 30 % рівень тестостерону в період статевої диференціації мозку, що спричиняє у ранньому періоді онтогенезу порушення статевого та соматичного розвитку тварин. У нащадків жіночої статі також спостерігається затримка соматичного розвитку, тоді як статевий розвиток навпаки настає раніше.

4. Дослідження пубертатогенезу самців нащадків виявили дисбаланс статевих гормонів, зниження рівня тестостерону у всіх тварин та підвищення рівня естрадіолу тільки у тварин, народжених від репродуктивно молодих самиць. У цієї ж групи були виявлені самці з крипторхізмом, а також при морфологічному дослідженні сім'яників спостерігали більші зміни у морфоструктурі органа, виявлено гальмування диференціювання статевих клітин. Фетоплацентарна недостатність викликає суттєві зміни активності базових елементів антиоксидантного захисту нащадків чоловічої статі, більш виразні зміни спостерігалися у нащадків матерів зрілого репродуктивного віку.



5. У нащадків самиць пубертатного віку, народжених від матерів із фетоплацентарною недостатністю, при дослідженні гістоструктури яєчників, виявлено знижену кількість фолікулів та збільшений рівень атретичних фолікулів, тобто зменшений резерв фолікулогенезу (пул примордіальних фолікулів). Патерн активності ензимів антиоксидантної системи змінюється, що реалізується у підвищенні рівнів як первинних, так і кінцевих продуктів ліпопероксидації. Найбільш виразні порушення спостерігаються у нащадків, народжених від матерів репродуктивно зрілого віку, що додатково проявляється у підвищенні маси тіла, а головне – збільшується співвідношення статевих гормонів у бік андрогенізації, що сприяє неадекватній стимуляції яєчників, наслідком якої є порушення стероїдогенезу.

6. У постнатальному періоді у статевозрілих нащадків щурів чоловічої статі, які були народжені матерями із фетоплацентарною недостатністю, виявлено дисбаланс статевих гормонів у бік відносної естрогенізації (зниження рівня тестостерону у всіх тварин), погіршення статевої поведінки (менша кількість садок та інтромісій, кількість самців з еякуляцією в середньому дорівнює 25 %, уповільнення статевої реакції) та сперматогенезу (зниження рухливих клітин на 40 % та концентрації гамет на 37 %, тільки у нащадків, народжених від репродуктивно зрілих матерів), зниження інтегральної плідності самців.

7. Фетоплацентарна недостатність матерів різного віку негативно впливає на репродуктивну систему нащадків щурів жіночої статі. В усіх групах піддослідних тварин спостерігали порушення гормонального гомеостазу, проявом чого є гіперандрогенія у самиць. Під впливом високого рівня тестостерону у сироватці крові зменшується кількість фолікулів за рахунок їх атрезії, тобто зміни нормальної динаміки визрівання фолікулів, і як наслідок, зниження маси яєчників (на 40 %), має місце патологічна ановуляція, яка може бути зумовлена порушенням регуляції у гіпоталамо-гіпофізарно-гонадної системі нащадків, це призводить до зниження кількості самиць, що мають регулярний естральний цикл, порушення статевої поведінки та погіршення фертильності.

8. За умов дослідження гострої токсичності встановлено, що фармацевтична композиція є практично нетоксичною (V клас токсичності), не викликає статистичних змін приросту маси тіла та не впливає на стан загальнотрофічних процесів в організмі у щурів.

9. Розроблена фармацевтична композиція зменшує ознаки фетоплацентарної недостатності: покращує морфологічні структури досліджуваних органів, має позитивні наслідки на соматостатевий розвиток нащадків чоловічої та жіночої статі, призводить до нормалізації прооксидантно-оксидантного балансу та гормонального стану в організмі нащадків, призводить до більшої насиченості чоловічого організму андрогенами, поліпшенню показників статевої поведінки самців та самиць, покращенню спермограми та збільшенню самиць з нормальним естральним циклом.

10. Ефективність профілактичної дії фармацевтичної композиції перевищує препарат порівняння Дипіридамола, що підтверджується морфологічними, фізіологічними, імуноферментними та біохімічними дослідженнями.

## СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Селюкова Н. Ю., Коренева Е. М. Вплив сульфату цинку на сексуальність та спермограму статевозрілих самців щурів. *Світ медицини та біології*. 2017. № 2 (60). С. 150-153. (Дисертантом особисто проведено експериментальне дослідження, статична обробка отриманих даних, підготовка статті до друку).
2. Плацентарна недостатність: стан проблеми та засоби ранньої профілактики її наслідків / Н. Ю. Селюкова, С. П. Кустова, М. О. Бойко, Н. М. Бречка, Є. М. Коренева, К. В. Місюра. *Одеський медичний журнал*. 2019. № 3/4. С. 40-45. (Дисертанту належить розробка плану дослідження, ключова роль у зборі даних, статистичному аналізі даних та їх обговоренні, підготовці статті до друку).
3. Stress and reproductive disorders: modern views on the problem and own research experience / N. Yu. Seliukova, A. I. Gladkova, E. M. Koreneva, F. G. Yaremenko, S. P. Kustova, K. V. Misiura, N. O. Kravchun, Yu. I. Karachentsev. *Пробл. ендокрин. патології*. 2019. № 1. С. 87-94. (Дисертантом проведено аналіз літератури, експериментальне дослідження, аналіз дослідження, статична обробка отриманих даних, підготовка статті до друку).
4. Селюкова Н. Ю., Місюра К. В., Лар'яновська Ю. Б. Гістологічне дослідження матки вагітних щурів молодого та зрілого віку в умовах фетоплацентарної недостатності. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2019. Т. 4, № 5 (21). С. 338-345. (Дисертантом особисто проведено експериментальне дослідження, статична обробка отриманих даних, підготовка статті до друку).
5. Селюкова Н. Ю., Місюра К. В. Особливості ендокринної функції плаценти самиць різного віку з фетоплацентарною недостатністю (огляд літератури та власні дослідження). *Пробл. ендокрин. патології*. 2019. № 4. С. 128-139. (Дисертанту належить розробка плану дослідження, ключова роль у зборі даних, статистичному аналізі даних та їх обговоренні, підготовці статті до друку).
6. Селюкова Н. Ю. Вплив фетоплацентарної недостатності на стан плодів в залежності від віку матері. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2020. Т. 5, № 1 (23). С. 85-90. (Дисертантом особисто проведено експериментальне дослідження, статична обробка отриманих даних, підготовка статті до друку).
7. The condition of the reproductive system of the mature females offspring born to mothers with placental insufficiency / N. Yu. Seliukova, I. V. Volokhov, M. O. Voiko, A. O. Zemlianskyi, E. I. Zalubovskaya. *Пробл. ендокрин. патології*. 2020. № 1. С. 119-125. (Дисертантом особисто проведено експериментальне дослідження, статична обробка отриманих даних, підготовка статті до друку).
8. Дослідження коригуючого впливу фармацевтичної композиції на гістологічний стан матки вагітних самиць щурів молодого та зрілого віку на тлі фетоплацентарної недостатності / Н. Ю. Селюкова, Ю. Б. Лар'яновська, С. П. Кустова, М. О. Бойко, Г. В. Стороженко, В. М. Левашова. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2020. Т. 5, № 3 (25). С. 432-439. (Дисертанту

належить розробка плану дослідження, ключова роль у зборі даних, статистичному аналізі даних та їх обговоренні, підготовці статті до друку).

9. Fetoplacental insufficiency as a reason of offspring oxidative status disturbances / N. Yu. Seliukova, K. V. Misiura, M. O. Boiko, S. P. Kustova, N. H. Grushanska, P. V. Sharandak., N. V. Medvedovska. *Пробл. ендокрин. патології*. 2020. № 2. С. 121-127. (Дисертантом особисто проведено експериментальне дослідження, статична обробка отриманих даних, підготовка статті до друку).

10. Гістоструктура яєчників нащадків щурів пубертатного віку народжених від матерів з фетоплацентарною недостатністю / Н. Ю. Селюкова, Ю. Б. Лар'яновська, Г. В. Стороженко, В. С. Харченко. *Вісник проблем біології і медицини*. 2020. Вип. 2 (156). С. 290-295. (Дисертантом особисто проведено експериментальне дослідження, статична обробка отриманих даних, підготовка статті до друку).

11. Стан гістоструктури яєчників статевозрілих нащадків щурів народжених від матерів з фетоплацентарною недостатністю / Н. Ю. Селюкова, Ю. Б. Лар'яновська, І. В. Волохов, Г. В. Стороженко, О. Ю. Кошова. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2020. Т. 5, № 4 (26). С. 386-394. (Дисертанту належить розробка плану дослідження, ключова роль у зборі даних, статистичному аналізі даних та їх обговоренні, підготовці статті до друку).

12. Puberty genesis of females-offspring rats born to mothers with fetoplacental insufficiency / N. Yu. Seliukova, M. A. Boyko, S. P. Kustova, K. V. Misiura, A. S. Kamyshan. *Georgian Medical News* 2020. № 7-8 (304-305) S. 135-140. (Дисертантом особисто проведено експериментальне дослідження, статична обробка отриманих даних, підготовка статті до друку).

13. Селюкова Н. Ю. Віддалені наслідки впливу фетоплацентарної недостатності на стан та функціонування різних систем організму в нащадків (огляд літератури та власні спостереження). *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2020. Т. 5, № 6 (28). С. 362-369. (Дисертанту належить розробка плану дослідження, ключова роль у зборі даних, статистичному аналізі даних та їх обговоренні, підготовці статті до друку).

14. Сомато-статевий розвиток нащадків народжених від матерів з фетоплацентарною недостатністю / Н. Ю. Селюкова, К. В. Місюра, Г. В. Стороженко, І. В. Волохов. *Вісник проблем біології і медицини*. 2020. Вип. 3 (157). С. 142-145. (Дисертантом проведено аналіз літератури, експериментальне дослідження, аналіз дослідження, статична обробка отриманих даних, підготовка статті до друку).

15. Особливості морфофункціональних змін сім'яників щурів нащадків народжених від матерів з фетоплацентарною недостатністю / Н. Ю. Селюкова, Ю. Б. Лар'яновська, І. В. Волохов, Д. В. Морозенко, Р. В. Доценко, А. О. Землянський, К. В. Місюра. *Біологія тварин*. 2020. Вип. 2 (22). С. 43-49. (Дисертантом проведено аналіз літератури, експериментальне дослідження, аналіз дослідження, статична обробка отриманих даних, підготовка статті до друку).

16. Вплив фетоплацентарної недостатності матерів на стан сперматогенезу самців нащадків / Н. Ю. Селюкова, К. В. Місюра, Д. В. Морозенко, Р. В. Доценко,

А. О. Землянський. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2020. Т. 5, № 5 (27). С. 343-348. (Дисертантом проведено аналіз літератури, експериментальне дослідження, аналіз дослідження, статична обробка отриманих даних, підготовка статті до друку).

17. Статева поведінка самців нащадків народжених від матерів різного репродуктивного віку з фетоплацентарною недостатністю / Н. Ю. Селюкова, К. В. Місюра, Д. В. Морозенко, Р. В. Доценко, А. О. Землянський. *Вісник проблем біології і медицини*. 2020. Вип. 4 (158). С. 73-78. (Дисертанту належить розробка плану дослідження, ключова роль у зборі даних, статистичному аналізі даних та їх обговоренні, підготовці статті до друку).

18. Селюкова Н. Ю. Статева поведінка нащадків самиць народжених від матерів різного віку з фетоплацентарною недостатністю. *Природничій альманах: серія біологічні науки*. 2020. Вип. 29. С. 54-63. (Дисертантом проведено аналіз літератури, експериментальне дослідження, аналіз дослідження, статична обробка отриманих даних, підготовка статті до друку).

19. Селюкова Н. Ю., Бречка Н. М. Пубертатний розвиток самців нащадків народжених від матерів різного віку з фетоплацентарною недостатністю. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. 2020. № 2 (90). С. 36-44. (Дисертантом проведено аналіз літератури, експериментальне дослідження, аналіз дослідження, статична обробка отриманих даних, підготовка статті до друку).

20. Селюкова Н. Ю., Місюра К. В., Стороженко Г. В. Експериментальні моделі фетоплацентарної недостатності у тварин (огляд літератури та власні спостереження). *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2020. Т. 20, вип. 4 (72). С. 228-235. (Дисертантом проведено аналіз літератури, експериментальне дослідження, аналіз дослідження, статична обробка отриманих даних, підготовка статті до друку).

21. The fertility of rats females-offspring born to mothers with fetoplacental insufficiency / N. Yu. Seliukova, E. M. Koreneva, S. P. Kustova, M. A. Boyko, K. V. Misiura. *Пробл. ендокрин. патології*. 2020. № 4. С. 138-146. (фахове видання, Scopus). (Дисертантом проведено аналіз літератури, експериментальне дослідження, аналіз дослідження, статична обробка отриманих даних, підготовка статті до друку).

22. Фармакологічна безпечність комбінованого засобу для корекції плацентарної дисфункції у вагітних / Н. Ю. Селюкова, С. П. Кустова, М. Я. Кудря, Н. В. Устенко, М. О. Бойко, Т. В. Матвєєва. *Український біофармацевтичний журнал*. 2020. № 4 (65). С. 35-39. (Дисертантом проведено аналіз літератури, експериментальне дослідження, аналіз дослідження, статична обробка отриманих даних, підготовка статті до друку).

23. Фармацевтична композиція для корекції порушень, що виникають за умов фетоплацентарної недостатності / Кустова С. П., Караченцев Ю. І., Селюкова Н. Ю., Бойко М. О., Матвєєва Т. В., Місюра К. В., Волохов І. В., Бречка Н. М. Пат. 143079 UA, МПК А61К 31/44 (2006.01) А61К 9/48 (2006.01) А61Р 15/08 (2006.01) ; заявник і патентовласник ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського МН України» (UA). – № u 2020

00515; заявл. 29.01.2020 ; опубл. 10.07.2020, Бюл. № 13. *(Дисертантом проведено аналіз літератури, експериментальне дослідження, аналіз дослідження, статична обробка отриманих даних, їх аналіз та оформлення у вигляді патенту).*

За матеріалами дисертації опубліковано також 10 тез в журналах та збірниках матеріалів вітчизняних та закордонних з'їздів і конференцій.

## АНОТАЦІЯ

**Селюкова Н. Ю.** Репродуктопатії нащадків матерів із фетоплацентарною недостатністю: гормонально залежні механізми розвитку та профілактика (експериментальне дослідження). – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 14.01.14 – ендокринологія. – Державна установа «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського Національної академії медичних наук України», Харків, 2021.

Роботу присвячено дослідженню впливу фетоплацентарної недостатності матерів у третьому триместрі вагітності на післянатальний розвиток, гістоструктуру та функціонування репродуктивної системи нащадків обох статей у зрілому віці. Окрему серію дослідження склало вивчення профілактичної дії на стан фетоплацентарного комплексу та віддалені наслідки корегуючої дії нової фармацевтичної композиції на репродуктивну функцію нащадків.

Встановлено причинно-наслідковий зв'язок між фетоплацентарною недостатністю матерів різного репродуктивного віку та розвитком репродуктопатій у їх нащадків обох статей в онтогенезі. Експериментальним шляхом доведена наявність змін у соматостатевому розвитку нащадків жіночої та чоловічої статі. Отримано нові дані щодо механізму імпринтингової дії фетоплацентарної недостатності матерів у критичний період онтогенезу для програми розвитку статевої функції, яким може слугувати зниження програмувального піка тестостерону у новонароджених щурів. Визначено особливості впливу фетоплацентарної недостатності матерів під час вагітності на пубертатогенез нащадків обох статей, що в подальшому призводить до репродуктопатій у дорослому віці.

Отримані оригінальні результати, що вказують на різний вплив фетоплацентарної недостатності на статеву систему нащадків в онтогенезі в залежності від репродуктивного віку матері на момент вагітності.

Обґрунтовано можливість фармакологічного запобігання розвитку фетоплацентарної недостатності шляхом корекції новою фармацевтичною композицією функціонально-метаболічних порушень плаценти та асоційованих з цим репродуктопатій у статевозрілих нащадків.

**Ключові слова:** фетоплацентарна недостатність, нащадки, репродуктопатії, гормональний статус, фармацевтична композиція.

## АННОТАЦИЯ

**Селюкова Н. Ю.** Репродуктопатии потомков матерей с фетоплацентарной недостаточностью: гормонально зависимые механизмы развития и профилактика (экспериментальное исследование). – На правах рукописи.

Диссертация на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальности 14.01.14 – эндокринология. – Государственное учреждение «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского Национальной академии медицинских наук Украины», Харьков, 2021.

Работа посвящена исследованию модифицирующего влияния фетоплацентарной недостаточности матерей в третьем триместре беременности на постнатальное развитие, гистоструктуру и функционирование репродуктивной системы потомков обоего пола в половозрелом возрасте. Отдельную серию исследования составило изучение профилактического действия на состояние фетоплацентарного комплекса и отдалённые последствия корректирующего действия на репродуктивную функцию потомков фармацевтической композицией.

Установлено наличие причинно-следственной связи между фетоплацентарной недостаточностью матерей разного репродуктивного возраста и развитием репродуктопатий у их потомков обоего пола в онтогенезе. Экспериментальным путем доказано наличие изменений в соматополовом развитии потомков женского и мужского пола. Получены новые данные о механизме импринтингового действия фетоплацентарной недостаточности матерей в критический период онтогенеза для программирования половой функции, которым может служить снижение программируемого пика тестостерона у новорожденных крыс. Выявлены особенности влияния фетоплацентарной недостаточности матерей во время беременности на пубертатогенез потомков обоего пола, что в дальнейшем приводит к репродуктопатиям во взрослом возрасте.

Полученные оригинальные результаты, указывают на различные воздействия фетоплацентарной недостаточности на половую систему потомков в онтогенезе в зависимости от репродуктивного возраста матери на момент беременности.

Обоснована возможность фармакологического предотвращения развития фетоплацентарной недостаточности путем профилактического воздействия новой фармацевтической композицией на функционально-метаболические нарушения плаценты и ассоциированные с этим репродуктопатии у половозрелых потомков.

**Ключевые слова:** фетоплацентарная недостаточность, потомки, репродуктопатии, гормональный статус, фармацевтическая композиция.

## ANNOTATION

**Seliukova N. Yu.** The reproductive system pathologies of offspring born to mothers with fetoplacental insufficiency: hormone depended mechanisms of developing and prophylaxis (experimental investigation). – Manuscript.

Thesis for the degree of Doctor of biological sciences, specialty 14.01.14 – endocrinology. – State Institution «V. Ya. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, 2021.

The work is devoted to the researching of influence of fetoplacental insufficiency in mothers in the third trimester of pregnancy on the postnatal developing, histological structure and functioning of reproductive system of offspring of both sex in adulthood.

Independently of female reproductive age the fetoplacental insufficiency causes the disturbances in uterus-placental as well as in fetus-placental blood circulation. There are significant acute inflammatory disturbances in the endometrium and myometrium, the placental architectonics is changed. The presence of fetoplacental insufficiency leads to the hormonal disbalance (progesterone and estriol), activating of lipid peroxidation, accumulating of lipid peroxidation products with simultaneous decreasing of antioxidant system's activity that cause the pre-natal fetus developmental delay, hemorrhaging and hematoma in the different areas of fetal body.

The causal link between fetoplacental insufficiency in mothers of different reproductive age and developing of reproductive system pathologies in their offspring of both sex in the ontogenesis has been determined. The presence of changes in somatic and sexual development of male and female offspring has been experimentally proved. The new data about mechanism of imprinting effect of mother's fetoplacental insufficiency during critical period of ontogenesis for program of sexual function developing have been obtained. The decreasing of programming testosterone peak plasma concentration in newborn rats may be considered to be the mechanism of this imprinting effect. The particularities of mother's fetoplacental insufficiency influence on the puberty development of both sex offspring that leads to the reproductive system pathologies in the future have been defined.

The researches of males-offspring puberty development have shown disbalance in sex hormones levels: the decreasing of testosterone and increasing of estradiol concentrations in all animals have been observed. During morphological researching the changes of testes structure and inhibition of gametes differentiation were determined. There were males with cryptorchidism. Fetoplacental insufficiency has initiated substantial changes in the activity of antioxidative system in male-offspring, more significant changes have been observed in offspring born to mothers of mature reproductive age. These changes may lead to the problems in the reproductive system functioning in the future.

During histological researching of ovaries of female-offspring born to mothers with fetoplacental insufficiency the reduced follicular reserve has been determined. Also, the changing of activity of antioxidative system's enzymes appeared in the increased levels of primary as well as end products of lipid peroxidation has been observed. But, the most significant disturbances have been detected in offspring born to mothers of mature reproductive age.

The disbalance of sex hormones levels appeared in the relative estrogenization, the deterioration of sex behavior (less number of intromissions, the average number of males with ejaculation was 25 %, the slowing of sex reaction) and spermatogenesis, the decreasing of integral fertility of males have been determined in the postnatal period of life in mature offspring rats-males born to mothers with fetoplacental insufficiency.

The fetoplacental insufficiency of mothers of different age has negatively influenced the reproductive system of females rats-offspring. The disturbance of

hormonal homeostasis manifested by hyperandrogenism in females has been observed in all groups of experimental animals. Under the influence of higher concentration of testosterone, the normal dynamics of follicles maturing is changed: there is pathologic anovulation that may be caused by disturbance of regulation in hypothalamic-pituitary-gonads axis in offspring that leads to the decreasing number of females with normal estrus cycles, breaking sexual behaviour and deterioration of fertility.

The obtained original results indicate the different fetoplacental insufficiency influence on the offspring reproductive system depending on the reproductive age of mothers at the moment of pregnancy.

The pharmaceutical composition decreases the signs of fetoplacental insufficiency. The efficacy of preventive activity of pharmaceutical composition exceeds drug of comparison Dipyridamole that confirms by morphological, physiological, immunoenzyme and biochemical investigations.

The possibility of pharmacological prevention of fetoplacental insufficiency developing by correction with new pharmaceutical composition of functional and metabolic disorders in placenta and associated with these processes reproductive pathologies in mature offspring has been grounded.

**Key words:** fetoplacental insufficiency, offspring, reproductive diseases, hormonal status, pharmaceutical composition.

## ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ ТА УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АОЗ	– антиоксидантний захист
АГВ	– аногенітальна відстань
ВГ	– відновлений глутатіон
ГГГС	– гіпоталамо-гіпофізарно-гонадна система
E <sub>2</sub>	– естрадіол
E <sub>3</sub>	– естріол
ЗВУР	– затримка внутрішньоутробного розвитку
ККР	– краніо-каудальний розмір плодів
КФ	– кисла фосфатаза
ПГ	– прогестерон
ПЗ	– передміхурова залоза
ПОЛ	– пероксидне окиснення ліпідів
СОД	– супероксиддисмутаза
РС	– репродуктивна система
ТБК	– тіобарбітурова кислота
Тс	– тестостерон
Фі	– інтегральний показник плідності
ФК	– фармацевтична композиція
ФПК	– фетоплацентарний комплекс
ФПН	– фетоплацентарна недостатність