



УКРАЇНА

(19) UA (11) 62361 (13) U  
(51) МПК (2011.01)  
A61D 19/00  
G09B 23/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ ЗМІН ПЛІДНОСТІ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН ПІД ДІЄЮ УШКОДЖУЮЧИХ ЧИННИКІВ

1

2

(21) u201101278

(22) 04.02.2011

(24) 25.08.2011

(46) 25.08.2011, Бюл.№ 16, 2011 р.

(72) КАРПЕНКО Ніна Олексіївна, ТАЛЬКО ВІКТОРІЯ ВАСИЛІВНА, ОМЕЛЬЧУК СЕРГІЙ ТИХОНОВИЧ, ЛАПТА СТАНІСЛАВ СЕРГІЙОВИЧ

(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ ЕНДОКРИННОЇ ПАТОЛОГІЇ ІМ. В.Я. ДАНИЛЕВСЬКОГО АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ"

(57) 1. Спосіб оцінки змін плідності самців лабораторних тварин під дією ушкоджуючих чинників, що включає визначення кількості запліднених і вагітних самок, що спаровувались з досліджуваними самцями, та середньої кількості плодів у цих самок, який **відрізняється** тим, що розраховують

інтегральний показник середньої реалізованої плідності та за його величиною, порівняно з контрольними значеннями, роблять висновок про зміни плідності.

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що інтегральний показник середньої реалізованої плідності розраховують з використанням значень кількості вагітних самок та середньої кількості плодів у цих самок, що отримані для контрольних тварин, і визначають відносну вагу внеску зміненої статеві поведінки.

3. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що інтегральний показник середньої реалізованої плідності розраховують з використанням значень кількості запліднених самок, що отримані для контрольних тварин, і визначають відносну вагу внеску ушкодження статевих клітин.

Корисна модель належить до біології та експериментальної медицини, а саме до репродуктивної біології і може застосовуватись для визначення ступеня змін плідності самців лабораторних тварин при дії чинників різної природи (хімічних, фізичних, екологічних, психоемоційних, тощо).

Дослідження стану репродуктивної функції - необхідна частина процесу створення нових фармакологічних засобів, проведення гігієнічного нормування хімічних речовин та ступеня забруднення довкілля. Відомі способи оцінки дії різноманітних чинників на плідність самців лабораторних тварин охоплюють різні ланки багатокомпонентної репродуктивної функції. Реєструють зміни статеві поведінки - дії відносно статевого партнера, які забезпечують синхронізацію поведінкових реакцій і просторову зустріч статевих клітин з подальшим утворенням зиготи [1]. По-друге, вивчається наявність патології утворення статевих клітин (сперматогенезу) з визначенням як інкреторної, так і секреторної функції статевих залоз [1]. Крім того, досліджується характер протікання вагітності заплідненої цими самцями інтактної самки, що відбиває якість сперматозоїдів, наявність в них гене-

тичних (домінантних летальних мутацій) та інших дефектів [2].

Через те, що дія ушкоджуючих чинників може бути спрямована на різні ланки репродуктивної системи, вірогідними результатами будуть або втрата статеві мотивації, або атрофія гонад. Саме це ускладнює оцінку дії чинників і потребує визначення усього спектра показників.

Відомий спосіб [1], вибраний за прототип, передбачає дослідження дії різних факторів на репродуктивну функцію самців лабораторних тварин за показниками статеві поведінки, спермограм, встановлення відсотку запліднених та вагітних самок. Додатково, на розтині самки на 20-й день вагітності (щури), визначається рівень внутрішньо-утробних втрат. Отримані результати порівнюються з даними контрольної групи. Але фахівцям добре відомі випадки, коли отримані результати не узгоджуються один з одним, наприклад, коли при наявності погіршення сперматогенезу самці зберігають плідність [3]. Недоліками такого способу є й те, що велика кількість показників, що визначаються, показують стан окремих складових репродуктивної функції, не даючи цілісного уявлення

(13) U

(11) 62361

(19) UA

про стан плідності самців лабораторних тварин. Відсутність такого взаємозв'язку між ними ускладнює або унеможливорює єдину оцінку дії чинника, що дуже важливо при доклінічному дослідженні лікарських засобів, визначенні нормативів шкідливої дії хімічних речовин та таке інше. При цьому неможливо врахувати відносну частку впливу поведінкових аномалій або впливу ушкодження саме статевих клітин, тобто, сексологічну або гаметотоксичну дію чинників, що вивчаються.

Задача корисної моделі - розробка способу узагальненої оцінки змін плідності самців лабораторних тварин, яка враховує дію чинників різної природи на окремі складові репродуктивної функції.

Поставлена задача вирішується тим, що визначають кількість запліднених і вагітних самок серед групи інтактних самок, що спаровувались з досліджуваними самцями, та середню кількість плодів у цих самок, та розраховують інтегральний показник середньої реалізованої плідності та за його величиною, порівняно з контрольними значеннями, роблять висновок про зміни плідності самців внаслідок дії чинника.

Для визначення відносної ваги внеску зміненої внаслідок дії чинника статевої поведінки, інтегральний показник середньої реалізованої плідності розраховують з використанням значень кількості вагітних самок та середньої кількості плодів у цих самок, що отримані для контрольних тварин.

Для визначення відносної ваги внеску ушкодження чинником статевих клітин, інтегральний показник середньої реалізованої плідності розраховують з використанням значень кількості запліднених самок, що отримані для контрольних тварин.

Технічний результат - підвищення об'єктивності оцінки напрямку та ступеня дії чинників різної природи на плідність самців лабораторних тварин та визначення відносної ваги складових ушкоджуючого впливу - сексологічних або гаметотоксичних.

Оцінка ступеня змін плідності самців лабораторних тварин відбувається шляхом визначення величини показників, що відбивають зміни у статевій поведінці самця, а саме - кількості запліднених самок, та показників, що свідчать про негативний вплив на його статеві клітини - кількості вагітних самок та середньої кількості плодів у цих самок. Після цього розраховують інтегральний показник середньої реалізованої плідності (фертильності) піддослідних самців ( $\Phi_i$ ), - потенціальну кількість нащадків, яку може народити одна самка, яка спаровувалась з самцем, підданим дії будь якого чинника. Для цього потрібно скористатися формулою:

$$\Phi_i = A \times B \times \text{ЖТ} \times 0,1(100 - \text{ВВ}), \quad (1)$$

де:

$\Phi_i$  - середня реалізована плідність, плодів на 1 самку;

A - індекс запліднення, частка запліднених самок від усіх самок у групі;

B - індекс вагітності, частка вагітних самок від усіх самок у групі;

ЖТ - середня кількість жовтих тіл у вагітних самок групи;

ВВ - сумарні внутрішньоутробні втрати у вагітних самок, %.

У розгорнутому вигляді величини A, B та ВВ визначаються як:

$$A = \frac{N_2}{N_1}; \quad B = \frac{N_3}{N_1}; \quad (100 - \text{ВВ}) = 100 - \frac{N_5 - N_4}{N_5},$$

де:

$N_1$  - кількість самок у групі;

$N_2$  - кількість запліднених самок;

$N_3$  - кількість вагітних самок;

$N_4$  - середня кількість плодів у вагітної самки;

$N_5$  - середня кількість жовтих тіл у вагітної самки.

Після відповідних перетворень формула (1) має наступний вигляд:

$$\Phi_i = \frac{N_2 \times N_3 \times N_4}{N_1 \times N_1}, \quad (2)$$

Показник  $N_4$  розраховується як середня арифметична та її похибка ( $\pm S_{N_4}$ ). Для розрахунку  $\Phi_i \pm S_{\Phi_i}$  можна скористатись рівнянням (3):

$$\begin{aligned} \Phi_i \pm S_{\Phi_i} &= \frac{N_2 \times N_3 \times (N_4 \pm S_{N_4})}{N_1 \times N_1} = \\ &= \frac{N_2 \times N_3 \times N_4}{N_1 \times N_1} \pm \frac{N_2 \times N_3 \times S_{N_4}}{N_1 \times N_1}, \end{aligned} \quad (3)$$

Приймаючи результат, отриманий у групі Контроль, за 100 %, можливо визначити зміни плідності у піддослідних тварин у відсотках до контрольних.

Для визначення відносної ваги поведінкового або гаметотоксичного впливу пропонується моделювати гіпотетичні ситуації незмінності, по-перше, якості сперматозоїдів. У цьому випадку підставляючи у формулу (3) показники, отримані при дослідженні контрольної групи: а)  $N_4^{\text{контр}}$ , що дорівнює середній кількості плодів у вагітної самки в групі

Контроль, та б)  $N_1^{\text{контр}}$  (індекс вагітності),

У такому випадку формула (3) приймає вигляд:

$$\begin{aligned} \Phi_i^{\text{ВСП}} &= \frac{N_2^{\text{дослід}} \times N_3^{\text{контр}} \times N_4^{\text{контр}}}{N_1^{\text{дослід}} \times N_1^{\text{контр}}} \pm \\ &\pm \frac{N_2^{\text{дослід}} \times N_3^{\text{контр}} \times S_{N_4^{\text{контр}}}}{N_1^{\text{дослід}} \times N_1^{\text{контр}}}, \end{aligned} \quad (4)$$

а розрахований показник  $\Phi_i^{\text{ВСП}}$  ( $\Phi_i^{\text{вплив статевої поведінки}}$ ) показує плідність тварин у групі Дослід, яка змінюється лише за рахунок відмінностей у статевій активності тварин.

По-друге, моделюється гіпотетична ситуація незмінності якості статевої поведінки. У такому

випадку у формулу (3) підставляють показники, отримані при дослідженні контрольної групи, які використовують для контр. розрахунку індексу за-

пліднення  $\left( A_{\text{контр}} = \frac{N_2^{\text{контр}}}{N_1^{\text{контр}}} \right)$ . Формула (3) пере-

творюється на:

$$\Phi_{\text{ВГ}} = \frac{N_2^{\text{контр}} \times N_3^{\text{дослід}} \times N_4^{\text{дослід}}}{N_1^{\text{дослід}} \times N_1^{\text{контр}}} \pm \frac{N_2^{\text{контр}} \times N_3^{\text{дослід}} \times S_{N_4^{\text{дослід}}}}{N_1^{\text{дослід}} \times N_1^{\text{контр}}}, \quad (5)$$

і розрахований показник  $\Phi_{\text{ВГ}}$  (вплив якості гамет) показує плідність тварин у групі Дослід, яка змінюється лише за рахунок змін якості статевих клітин тварин цієї групи.

Відносну вагу внеску цих чинників визначають, приймаючи суму розрахованих величин  $\Phi_{\text{ВСП}}$  та  $\Phi_{\text{ВГ}}$  за 100 % і обраховуючи відносну вагу внеску сексологічних розладів та гаметотоксичної дії чинника у зміни плідності самців лабораторних тварин, як:

$$100 - \frac{\Phi_{\text{ВСП}} \times 100}{\Phi_{\text{ВСП}} + \Phi_{\text{ВГ}}}, \% \quad (6)$$

та

$$100 - \frac{\Phi_{\text{ВГ}} \times 100}{\Phi_{\text{ВСП}} + \Phi_{\text{ВГ}}}, \% \quad (7)$$

Спосіб апробовано при дослідженні хронічної дії внутрішнього опромінювання (три варіанти потужності радіаційного впливу) щурів впродовж 4 міс.

Приклад.

Вибірку самців щурів популяції Вістар випадковим чином розподіляли на чотири групи з позначками Контроль, Д1, Д2 та Д3. Тварини груп Д1-Д3 впродовж 120 діб отримували питну воду, в яку за відповідною методикою додавали радіоактивну воду з 4 блоку ЧАЕС для створення різної концентрації радіонуклідів за цезієм-137 і, тим самим, різної потужності внутрішнього опромінювання. Після 45 та 120 днів дослідів самців спаровували з інтактними самками і визначали їх плідність загальноприйнятими методами.

Через 45 діб ПД (поглинена доза) у гонадах від основних дозоутворюючих радіонуклідів ( $^{134}\text{Cs} + ^{137}\text{Cs}$  та  $^{90}\text{Sr} + ^{90}\text{Y}$ ) становила у групах Д1, Д2 та Д3 94,9 та 3 мГр, відповідно. Через 120 діб ПД у цих групах досягла 210,21 та 7 мГр. Контрольні тварини (група Контроль) знаходились у віварії Інституту ендокринології й обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України (м. Київ) та одержували "чисті" корми і воду [4]. У таблицях 1 та 2 наведено результати дослідження фертильності опромінених щурів.

Аналіз цих даних показує, що вже через 45 днів опромінювання плідність самців зменшується. Але за таким показником як кількість плодів на одну вагітну самку неможливо стверджувати про його статистично достовірне зменшення по відношенню до групи Контроль.

Використання показника середньої реалізованої плідності опромінених самців показує, що за усіх ПД відбувається зниження фертильності - на 35,9 % у групі Д3, на 89,9 % у групі Д2 і на 94,5 % у групі Д1 (ПД у гонадах 94 мГр).

Таблиця 1

Величина середньої реалізованої плідності опромінених самців

Група	Контроль	Д1	Д2	Д3
45 діб опромінювання				
Поглинена доза		94мГр	9мГр	3мГр
Самок у групі, $N_1$	104	64	65	37
Запліднених самок, $N_2$	98	36	33	30
Вагітних самок, $N_3$	85	11	26	25
Кількість плодів, $N_4$	8,62±0,87	3,75±2,07	4,25±2,07	8,00±1,63
Середня реалізована плідність, плодів, $\Phi \pm S_{\Phi}$	6,56±0,66	0,36±0,20*	0,66±0,32*	4,21±0,86*
Збереження плідності, %	100	5,5	10,1	64,1
120 діб опромінювання				
Поглинена доза		210 мГр	21 мГр	7 мГр
Самок у групі, $N_1$	17	100	95	86
Запліднених самок, $N_2$	13	27	30	25
Вагітних самок, $N_3$	12	7,0	9	11
Кількість плодів, $N_4$	8,62±0,67	2,50±1,97*	3,67±1,87*	1,50±1,84*
Середня реалізована плідність, плодів, $\Phi \pm S_{\Phi}$	4,65±0,36	0,01±0,01*	0,02±0,01*	0,01±0,01*
Збереження плідності, %	100	0,29	0,52	0,22

Примітка. \* - статистично достовірні розбіжності з групою Контроль

При подовженні опромінювання до 120 діб зниження плідності самців ще посилюється і становить менше 1 % від плідності щурів контрольної групи.

Щодо відносного внеску сексологічних порушень та гаметотоксичного впливу у зміни плідності опромінених самців впродовж досліджу можна бачити, що у перший період спостережень він прямо

пропорційно залежав від ПД. Але через 4 міс., коли яйцеклітини самок запліднювались сперматозоїдами, що утворилися з опроміненого сперматогенного епітелію та проходили весь цикл сперматогенезу в умовах постійного опромінювання, внесок гаметотоксичної дії іонізуючої радіації стає переважаючим і не залежить від ПД.

Таблиця 2

Відносний внесок сексологічних порушень та гаметотоксичного впливу у зміни плідності опромінених самців

Група	Контроль	Д1	Д2	Д3
45 діб опромінювання				
Поглинена доза		94мГр	9 мГр	3 мГр
Середня реалізована плідність, $\Phi_i \pm S_{\Phi_i}$	6,56±0,66	0,36±0,20*	0,66±0,32*	4,21±0,86*
Плідність за умов нормальної статевої поведінки, $\Phi_i^{BCP} \pm S_{\Phi_i^{BCP}}$		3,92±0,40	3,83±0,39	5,65±0,57
Плідність за умов нормальної якості статевих клітин, $\Phi_i^{BG} \pm S_{\Phi_i^{BG}}$		0,61±0,40	1,13±0,39	4,89±0,57
Відносна вага внеску, %: сексологічних порушень гаметотоксичної дії		13,4 86,6	22,9 77,1	46,4 53,6
120 діб опромінювання				
Поглинена доза		210 мГр	21 мГр	7 мГр
Середня реалізована плідність, $\Phi_i \pm S_{\Phi_i}$	4,65±0,36	0,01±0,01*	0,02±0,01*	0,01±0,01*
Плідність за умов нормальної статевої поведінки, $\Phi_i^{BCP} \pm S_{\Phi_i^{BCP}}$		1,64±0,02	1,92±0,02	1,77±0,02
Плідність за умов нормальної якості статевих клітин, $\Phi_i^{BG} \pm S_{\Phi_i^{BG}}$		0,04±0,03	0,06±0,03	0,03±0,03
Відносна вага внеску, %: сексологічних порушень гаметотоксичної дії		2,3 97,7	3,0 97,0	1,5 98,5

Таким чином, розроблений спосіб отримання узагальненої оцінки плідності самців лабораторних тварин ( $\Phi_i$ ) дозволяє враховувати дію чинників будь-якої природи на різні складові репродуктивної функції і отримувати об'єктивну оцінку при дослідженні стану репродуктивної системи в експерименті. Визначення відносної ваги впливу змін або поведінки, або якості статевих клітин є допоміжним показником для прогнозування шляху як подальших детальних досліджень ушкоджуючої дії чинника, так і напрямку превентивних або лікувальних заходів.

Джерела інформації:

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів [Текст]: метод, рекомендації за ред. О.В. Стефанова. - К.: [б. в.], 2001. - 678 с.

2. Генетические последствия загрязнения окружающей среды [Текст] / И.Р. Барияк, Т.И. Бужневская, А.И. Быкорез и др. - К.: Наукова думка, 1989. - С.13-29.

3. Селюкова Н.Ю. Вікові особливості впливу фітоестрогенів на репродуктивну функцію самців щурів [Текст] / Н.Ю. Селюкова, Є.М. Коренева, Н.О. Карпенко // Вісник національного Вінницького університету. - 2008. - № 2. - С.313-317.

4. Вплив радіаційного фактора чорнобильської зони відчуження на організм тварин [Текст] / За ред. М.Ю. Алесіної, Я.Л. Серкіза. - К.: Атіка, 2006. - 386 с.