

УДК 612 1/3:612 392.75

## ВЛИЯНИЕ СОЕВЫХ ДОБАВОК НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ КРЫС

Т.М. Лукашенко

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск

*Экспериментальный материал получен в хронических опытах на 144 крысах (36 самцов и 108 самок). Установлено, что потребление кормовых добавок, как традиционной, так генномодифицированной сои, не влияет на репродуктивную функцию экспериментальных животных, однако сказывается на выживаемости приплода. Падеж обусловлен, главным образом, агрессивным состоянием взрослых крыс.*

**Ключевые слова:** репродуктивная функция, традиционная соя, генетически модифицированная соя.

*The experimental material has been received in chronic experiments on 144 rats (36 males and 108 females). It has been established that consumption of both traditional and genetically modified soya fodder additives does not have influence on reproductive function of experimental animals, however, affects survival rate of a litter. The mortality is mainly caused by aggressive state of adult rats.*

**Key words:** reproduction function, traditional soya, genetically modified soya.

О влиянии фитоэстрогенов на нарушение репродуктивного процесса в животноводстве известно давно («клеверная болезнь»), однако интерес к механизму такого рода патологии возник сравнительно недавно, поскольку увеличилось количество пищевых продуктов, содержащих соевые добавки. Так в, частности, Voettger-Tong и соавт. [5] обнаружили, что некоторые образцы стандартного сертифицированного питания для лабораторных животных содержат в своем составе сою и люцерну (т.е. богатые изофлавоноидами продукты). Содержание предварительно овариэктомированных самок крыс в течение 10 дней на указанных образцах питания вызывало значительные признаки эстрогенного влияния: рога матки были увеличены, отечны и гипертермированы, тогда как у контрольных крыс признаков эстрогенного воздействия не отмечалось. Имеются наблюдения, касающиеся особенностей менструальной функции женщин, в диету которых включали большое количество фитоэстрогенов (ежедневно в течение 4-х недель 60 г соевого белка, что эквивалентно 45 мг изофлавоноидов). Отмечено, что потребление сои приводило к удлинению (на 2-3 дня) менструального цикла, за счет фолликулярной фазы, а также разной степени выраженности пиков фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов [6].

Что же касается фактических данных о влиянии потребления пищи, богатой фитоэстрогенами на репродуктивную функцию, они практически отсутствуют. Поэтому нами проведены исследования, направленные на выяснение последствий потребления обычной и трансгенной сои на репродуктивный статус крыс.

### Материал и методы исследований

Проведены 3 серии хронических опытов на 144 крысах (36 самцов и 108 самок). Первая серия проводилась на крысах с 2,5-месячного возраста (начало полового созревания), кормление соевыми добавками осуществляли 2 месяца. Во второй серии в эксперимент брали крыс после окончания

лактационного периода (возраст 1 месяц) и давали соевые добавки 6 месяцев. Анализ репродуктивной функции во втором поколении проводили в третьей серии исследований. Экспериментальные группы готовили следующим образом: месячных крысят, рожденных от родителей, потреблявших соевые добавки на протяжении 6 месяцев до спаривания (первое поколение), разделяли по половому признаку, отсаживали и содержали в тех же условиях, что и родителей. Через 6 месяцев спаривали для получения второго поколения. Для избежания имбридинга самок и самцов брали из разных пометов.

Каждая серия исследований состояла из 3-х групп животных. Первая – контроль, стандартный рацион кормления; вторая – добавка традиционной; третья – трансгенной сои. Кормовые добавки составляли 20 г (30% от основного стандартного рациона). Подробная методика формирования групп и кормления животных описаны в работе [1]. По истечению 2-х или 6-ти месяцев кормления в одну клетку помещали 3-х самок и одного самца для спаривания. Кормовой рацион животных не изменяли.

На протяжении 2-х месяцев отслеживали рождаемость и выживаемость экспериментальных и контрольных животных.

### Результаты исследований и их обсуждение

Проведенные исследования показали, что введение в кормовой рацион крыс соевых добавок не вызывает изменения среднего показателя рождаемости у экспериментальных животных.

Анализ данных, представленных в таблицах 1 и 2, позволяет сказать, что, как в контрольных, так и в экспериментальных группах, потреблявших сою в течение 2-х или 6-ти месяцев, средняя рождаемость была в пределах нормы.

Среднестатистический показатель у самки в одном помете составил 5-8 особей. Не установлено достоверных различий и между группами, получавшими обычную или трансгенную сою.

**Таблица 1** – Влияние соевых добавок, потребляемых на протяжении 2-х месяцев, на репродуктивную функцию крыс

Количество животных		Время появления приплода в группе после спаривания в днях		Общее кол-во крысят	Среднее кол-во крысят на 1 самку	Кол-во крысят, доживших до месячного возраста
самки	самцы	начало	окончание			
Контрольная группа						
12	4	21	27	79	6,5	79 (100%)
Добавка традиционной сои						
10	4	24	37	62	6,2	33 (53%)
Добавка трансгенной сои						
11	4	22	42	79	7,2	36 (45,5%)

Примечание: Три самки (2 из 1-й экспериментальной группы и 1 из 2-й) были выведены из эксперимента до спаривания из-за патологии, появившейся в период кормления соей.

**Таблица 2** – Влияние соевых добавок, потребляемых на протяжении 6-ти месяцев, на репродуктивную функцию крыс

Количество животных		Время появления приплода в группе после спаривания в днях		Общее кол-во крысят	Среднее кол-во крысят на 1 самку	Кол-во крысят, доживших до месячного возраста
самки	самцы	начало	окончание			
Контрольная группа						
12	4	21	25	82	6,8	82 (100%)
Добавка традиционной сои						
12	4	22	28	85	7	51 (60%)
Добавка трансгенной сои						
12	4	23	29	93	7,7	58 (62%)

Продолжительность беременности у крыс составляет 20-26 дней. В наших опытах в контрольных группах первый приплод был получен на 21 день после спаривания, а все остальные самки благополучно родили в течение 7 дней. Этот факт свидетельствует, что контрольные крысы были оплодотворены в первые дни спаривания. Тогда как у экспериментальных самок период наступления беременности существенно отличался от контроля. В группах, получавших кормовые добавки в период полового созревания, беременность наступала, как правило, через 1,5-2,5 недели после спаривания. У самок, потреблявших традиционную сою, период рождения молодняка растянулся на 13 дней, а трансгенную сою – на 20 дней (таблица 1). Из этого следует, что наступление беременности у крыс, получавших соевые добавки на протяжении 2-х месяцев, происходило значительно позже, чем у контрольных животных.

В группах, получавших соевые добавки 6 месяцев, появление приплода проходило более равномерно. Как у контрольных, так и у экспериментальных животных, беременность наступила в первую неделю спаривания (таблица 2).

Анализ данных третьей серии исследований позволяет сказать, что потребление соевых добавок на протяжении двух поколений не вызывает существенного изменения показателя рождаемости у экспериментальных животных. Как в первом, так и во втором поколениях средний уровень рождаемости остается в пределах среднестатистической нормы и составляет  $7 \pm 1$  крысят на одну самку. Не наблюдается существенных различий и в сроках наступления беременности. В обоих поколениях у самок экспериментальных групп беременность наступила в первую неделю спаривания (таблица 2, 3).

**Таблица 3** – Влияние соевых добавок, потребляемых на протяжении 6-ти месяцев, на репродуктивную функцию крыс (второе поколение)

Количество животных		Время появления приплода в группе после спаривания в днях		Общее кол-во крысят	Среднее кол-во крысят на 1 самку	Кол-во крысят, доживших до месячного возраста
самки	самцы	начало	окончание			
Контрольная группа. Второе поколение.						
12	4	21	23	87	7,2	87 (100%)
Второе поколение. Добавка традиционной сои						
12	4	23	26	90	7,5	68 (75,5%)
Второе поколение. Добавка трансгенной сои						
12	4	22	28	96	8	71 (74%)

Особо обращает на себя внимание факт гибели новорожденных крысят в экспериментальных группах. Падеж, как правило, наблюдался в течение первых 6 суток после рождения и был обусловлен агрессивным состоянием взрослых крыс. Приплод либо травмировали (загрызали) самцы, либо самки выбрасывали из гнезда. На 7-10 день падеж молодняка снижался (погибало только 5-7 % крысят), а оставшийся приплод благополучно доживал до месячного возраста.

Следует указать, что самый высокий процент гибели молодняка отмечался в группе крыс, получавших соевые добавки на протяжении 2-х месяцев в период полового созревания. Так, у животных, получавших традиционную сою, падеж составил 47%, а ГМ сою – 54,5 %. В этой же группе животных отмечалась и довольно большая разбежка во времени рождения приплода.

У крыс, которым кормовые добавки сои начали давать с месячного возраста (длительность кормления 6 месяцев), как в первом, так и во втором поколениях существенной разницы в сроках наступления беременности и времени появления приплода, по отношению к контролю, не установлено. Значительно выше был и процент выживаемости молодняка в этих группах. Так, в первом поколении у крыс, получавших традиционную сою, выжило 60 %, а генетически модифицированную – 62 % особей. Во втором поколении этот показатель стал еще выше – 75,5 % и 74 %, соответственно.

Представленные наблюдения свидетельствуют, что введение в кормовой рацион крыс добавок как традиционной, так и генетически модифицированной сои не вызывает изменения среднего показателя рождаемости у экспериментальных животных.

В то же время, установлено, что в первую неделю после рождения отмечается гибель приплода, обусловленная агрессивным поведением родителей, в первую очередь, самцов. Наибольшее количество крысят погибает в группах, получавших соевые добавки на протяжении 2-х месяцев в период полового созревания. Полученные данные требуют более глубокого осмысления и проведения дополнительных исследований для полного понимания выявленного факта. В литературе описаны результаты исследований, проведенных на самцах обезьян, потреблявших сою. Оказалось, что животные, получавшие много изофлавонов, чаще других

становились агрессивными и замкнутыми [10, 11].

Обращает на себя внимание еще один факт. У крыс, получавших соевые кормовые добавки в период полового созревания, беременность наступает значительно позже, чем у контрольных животных. Вполне вероятно, такое развитие событий обусловлено тем, что, с одной стороны, при 2-месячном кормлении соей вес самок в экспериментальных группах значительно отстает от веса контрольных животных, что показано нами ранее [2]. С другой стороны, вероятно, что более агрессивное воздействие на организм экспериментальных крыс обусловлено повышением уровня фитоэстрогенов в период полового созревания. Тогда как кормление с месячного возраста, хотя и более продолжительное, однако не сказывается на сроках зачатия. Основанием для этого предположения, прежде всего, могут служить данные других исследователей. Из литературы известно, что постоянное потребление продуктов, содержащих сою, приводит к значительной концентрации фитоэстрогенов в организме. Finlay E.M., и соавторы обнаружили, что в сперме, слюне, грудном молоке, соке предстательной железы человека лигнаны энтерактон и энтородиол содержатся в количествах, превышающих концентрацию эндогенных эстрогенов [7]. В настоящее время, поскольку многие фитоэстрогены выделены в чистом виде, накоплен большой экспериментальный материал о влиянии тех или других веществ на репродуктивную функцию. Установлено [13], что изофлавоноид иприфлавин проявлял эстрогенные свойства у интактных половозрелых крыс, однако при введении его неполовозрелым и овариэктомированным животным этот эффект отсутствовал. Показано, что введение куместрола сопровождается эффектом стимулирования роста матки у неполовозрелых животных и вызывает у них типичный эструс, а у половозрелых приводит к нарушениям эстрального цикла и секреции гонадотропинов. По мнению авторов, это связано с тем, что в разных условиях куместрол проявлял различные свойства: в одних случаях – эстрогенные (или усиливающие действие эндогенных эстрогенов), в других – антиэстрогенные [12]. В работе показано [8], что генистеин в дозозависимой форме может влиять на связывание сперматозоидов быка с прозрачной зоной яйцеклеток. Интересные результаты были получены в опытах на овариэктомированных животных [9]. Установлено, что куместрол, дейдзин и генистеин вызывают гиперплазию клеток эндометрия половозрелых овариэктомированных крыс, что обусловлено способностью фитоэстрогенов, конкурирующих с эндогенным эстрадиолом за эстрогенные рецепторы, активировать в ядрах участки генома, контролирующие рост и дифференциацию клеток эндометрия. Отмечено также, чем выше доза фитоэстрогенов, тем более выражен у них антиэстрогенный эффект. Приведенные работы и, более того, дискуссии по

этому вопросу широко представленные в ряде обзоров [3, 4], свидетельствуют, что фитоэстрогены способны модулировать специфические ответы тканей-мишеней репродуктивных органов и, следовательно, влиять на рецепцию, продукцию и метаболизм эндогенных гормонов. При этом в зависимости от уровня в организме эндогенных эстрогенов, метаболических форм фитоэстрогенов, способности последних связываться с рецепторами, состояния репродуктивной системы в момент воздействия, особенностей введения они могут выступать в роли как агонистов, так и антагонистов собственных эстрогенов организма.

### Заключение

Представленные данные позволяют констатировать, что введение в кормовой рацион крыс сои (кормовые добавки составляли 30% от основного стандартного рациона) не вызывает изменения среднего показателя рождаемости у экспериментальных животных. Можно лишь отметить, что наступление беременности у крыс, получавших соевые добавки в период полового созревания (на протяжении 2-х месяцев), происходило значительно позже, чем у контрольных животных, тогда как потребление сои с месячного возраста, хотя и было более продолжительным (6 месяцев), не приводило к изменению этого показателя. В экспериментах не выявлено значительных отличий в эффектах потребления традиционной и генномодифицированной сои.

### Литература

1. Лукашенко Т.М., Солтанов В.В. Морозова И.Л. и др. Модуляция итерорецептивных рефлексов у крыс при потреблении сои. // Доклады НАН Беларуси. – 2007. – Т.51, № 3 – С.86-91.
2. Лукашенко Т.М. Изменение веса тела крыс при потреблении сои. //Материалы международной конференции «Сигнальные механизмы регуляции висцеральных функций». – Минск, 2007. – С.152.
3. Никитин А.И. Вредные факторы среды и репродуктивная система человека (ответственность перед будущими поколениями). – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2005. – 216 с.
4. Aldercreutz H. Phytoestrogens: epidemiology and a possible role in cancer protection // Environ Health Persp. – 1995. – Vol. 103, №. 7. – P.103–112.
5. Boettger-Tong H., Murthy L., Chiappetta C., et al. A case of a laboratory animal feed with high estrogenic activity and its impact on in vivo responses to exogenously administered estrogens // Environ Health Perspect. – 1998. – Vol.106, №. 7. – P. 369-373.
6. Cassidy A., Bingham S., Setchell K. Biological effects of isoflavones present in soy in premenopausal women: implications for the prevention of breast cancer // Am. J. Clin. Nutr. – 1994. – Vol. 60. – P. 333-340.
7. Finlay E.M., Wilson D.W., Aldercreutz H. et al. The identification and measurement of phytoestrogens in human saliva, plasma, breast aspirate or cyst fluid and prostatic fluid using gas chromatography-mass spectrometry // J. Endocrinology. – 1991. – Vol. 129. – P. 49.
8. Hirsch K.D., Aires V., Hagele W. et al. In vitro tests for essential sperm functions using the phyto-estrogen genistein as a test substance. // J. Andrologia. – 2000. – Vol. 32, № 9. – P. 225-231.
9. Markaverich B.M., Webb B., Densmore Ch.L. et al. Effects of coumestrol on estrogen receptor function and uterine growth in ovariectomized rats. // Environ. Health. Persp. – 1995. – Vol.103. – P. 574–581.
10. Register T.C., Cann J.A., Kaplan J.R. et al. Effects of soy isoflavones and conjugated equine estrogens on inflammatory markers in atherosclerotic, ovariectomized monkeys // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2005. – Vol. 90, № 3. – P. 1734-1740.
11. Simon N.G., Kaplan J.R., Hu S. et al. Increased aggressive behavior and decreased affiliative behavior in adult malemonkeys after long-term consumption of diets rich in soy protein and isoflavones // Horm. Behav. – 2004. – Vol. 45, № 4. – P. 278-284.
12. Whitten P.L., Russel E., Naftolin F. Effects of normal, human-concentration, phytoestrogen diet on rat uterine growth // Steroids. – 1992. – Vol. 57. – P. 98-106.
13. Yamazaki I. Effect of Ipriflavone on the response of the uterus and thyroid to estrogen // Lancet. – 1993. – Vol. 342. – P. 1209-1210.

Поступила 09.04.09