

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАУЧНО-КЛИНИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ТОКСИКОЛОГИИ
ИМЕНИ АКАДЕМИКА С.Н.ГОЛИКОВА
ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА»

На правах рукописи

БЕЛЯКОВА

Наталия Александровна

ВЛИЯНИЕ МОРФИНА ГИДРОХЛОРИДА НА РЕПРОДУКТИВНУЮ
ФУНКЦИЮ САМОК КРЫС И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ
ВЫЯВЛЕННЫХ НАРУШЕНИЙ

14.03.04 – токсикология (медицинские науки)

14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология
(медицинские науки)

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук

Бонитенко Евгений Юрьевич

доктор медицинских наук, доцент

Носов Андрей Викторович

Санкт-Петербург, 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1. Токсикологическая характеристика морфина гидрохлорида	13
1.2. Влияние опиатных наркотических анальгетиков на репродуктивную функцию	18
1.3. Подходы к лечению нарушений репродуктивной функции	23
1.4. Нейропептиды, профиль фармакологической активности	25
1.4.1. Дельта-сон индуцирующий пептид	29
1.4.2. Фрагмент 4–10 адренокортикотропного гормона	32
ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	34
2.1. Характеристика препаратов и методов их введения	37
2.2. Методы исследований	41
2.2.1. Изучение структуры эстрального цикла	41
2.2.2. Изучение показателей репродуктивной функции самок крыс	42
2.2.2.1. Оценка физического развития эмбрионов	43
2.2.2.2. Оценка развития внутренних органов и скелета эмбрионов	44
2.2.2.3. Изучение развития потомства в постнатальном периоде	45
2.2.3.1. Изучение физического развития	45
2.2.3.2. Изучение скорости созревания сенсорно-двигательных рефлексов	45
2.2.4. Прочие методы лабораторных исследований	47
2.3. Методы статистической обработки результатов исследований	47
ГЛАВА III. ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ МОРФИНА ГИДРОХЛОРИДА НА ОБЩЕЕ СОСТОЯНИЕ И РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ САМОК, И РАЗВИТИЕ ПОТОМСТВА	51
3.1 Влияние хронического введения МГХ на общее состояние крыс самок	51
3.1.1. Влияние на поведение животных	51
3.1.2. Влияние на двигательную и исследовательскую активность	53
3.1.3. Влияние на потребление воды, корма и динамику массы тела	55
3.1.4. Влияние на сердечно-сосудистую систему	60
3.1.5. Влияние на параметры функционального состояния почек	62
3.1.6. Влияние на морфологические показатели периферической крови	66
3.1.7. Влияние на биохимические показатели крови	69
3.1.8. Влияние на морфологию органов и тканей животных (патоморфологическое исследование)	72
3.1.8.1. Результаты макроскопического исследования	72
3.1.8.2. Результаты гистологического исследования	75
3.2. Влияние хронического введения МГХ на репродуктивную функцию самок крыс	81
3.2.1. Влияние на прирост массы тела беременных самок	81
3.2.2. Влияние на плодовитость крыс	82
3.2.3. Влияние на репродуктивные показатели крыс	83
3.2.4. Влияние на состояние плацент и зародышей крыс	86
3.2.5. Влияние на частоту аномалий развития плодов	89
3.2.6. Влияние на формирование скелета у плодов	90

3.3. Влияние хронического введения МГХ на постнатальное развитие потомства	92
3.3.1 Влияние на физическое развитие потомства в постнатальном периоде	92
3.3.2. Влияние на сенсорно-двигательное развитие потомство в постнатальном периоде	99
3.4. Обсуждение полученных результатов	105
ГЛАВА IV. ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ САМОК И РАЗВИТИЕ ПОТОМСТВА ПОСЛЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ МОРФИНА ГИДРОХЛОРИДА	111
4.1. Влияние пептидных препаратов на поведение экспериментальных животных, в том числе после длительного применения МГХ	111
4.2. Влияние пептидных препаратов на репродуктивную функцию самок крыс, в том числе после длительного применения МГХ	112
4.2.1. Влияние пептидных препаратов на эстральный цикл, в том числе после длительного применения МГХ	113
4.2.2. Влияние пептидных препаратов на содержание гормонов в сыворотке крови самок крыс, в том числе после длительного применения МГХ	118
4.2.3. Влияние пептидных препаратов на динамику массы тела беременных самок, в том числе после длительного применения МГХ	119
4.2.4. Влияние пептидных препаратов на плодовитость самок крыс, в том числе после длительного применения МГХ	120
4.2.5. Влияние пептидных препаратов на репродуктивные показатели самок крыс, в том числе после длительного применения МГХ	120
4.2.6. Влияние пептидных препаратов на состояние плацент и эмбрионов крыс, в том числе после длительного применения МГХ	124
4.2.7. Влияние пептидных препаратов на частоту аномалий развития плодов, в том числе после длительного применения МГХ	129
4.2.8. Влияние пептидных препаратов на формирование скелета у плодов, в том числе после длительного применения МГХ	135
4.3. Влияние пептидных препаратов, МГХ и их последовательного применения самкам до беременности на постнатальное развитие потомства	137
4.3.1. Влияние пептидных препаратов, МГХ и их последовательного применения самкам до беременности на физическое развитие потомства	138
4.3.2. Влияние пептидных препаратов, МГХ и их последовательного введения самкам до беременности на сенсорно-двигательное развитие потомства	144
4.4. Обсуждение полученных результатов	153
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	160
ВЫВОДЫ	163
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	163
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	167
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	169

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности. В последние годы в Российской Федерации существенно возросло число обращений за медицинской помощью пациентов с нарушениями репродуктивной функции, возникшими после предшествовавшего длительного приема опиатных наркотических анальгетиков (ОНА). Это связано, с одной стороны, со все более широким использованием ОНА и, в частности, морфина при лечении хронического болевого синдрома как у онкологических [1, 2, 3, 4, 5], так и у неонкологических больных [6, 7, 8, 9, 10, 11] любого возраста, включая детский [12, 13], а с другой – с увеличением числа реконвалесцентов после комплексного лечения наркотической зависимости у лиц репродуктивного возраста [14, 15].

В клинических исследованиях было показано, что морфин, так же как и другие ОНА, часто провоцирует гормональный дисбаланс у постоянных пользователей обоих полов [16]. Этот побочный эффект зависит от дозы и наблюдается как у тех, кто использует морфин в терапевтических целях, так и у наркоманов, применяющих его рекреационно, кроме того, он наблюдается после отмены ОНА [17, 18].

В научной литературе имеются данные, свидетельствующие о том, что у большинства (около 90%) постоянных потребителей ОНА мужчин наблюдается вызванный ими гипогонадизм, который проходит после их отмены. В свою очередь, при применении ОНА у женщин значительно снижается возможность наступления беременности, причиной чего, как правило, является нарушение выработки гормонов, что приводит к возникновению вторичной дисфункции яичников [19]. Развитие гормонального дисбаланса у женщин и, в частности, снижение синтеза лутеинизирующего гормона, проявляется отсутствием месячных и бесплодием [20, 21]. Причинами подобных сбоев могут быть самые разнообразные расстройства соматического и психического здоровья [22, 23], вызванные приемом ОНА. Однако, по мнению большинства специалистов, их основой являются нарушения, возникающие в гипоталамо–гипофизарно–гонадной оси [24], которые, судя по всему, непосредственно связаны с механизмом действия ОНА и, в первую

очередь, с их угнетающим действием на гипоталамические нервные пути, контролирующие секрецию гонадотропинов как у мужчин, так и женщин [25].

В настоящее время за медицинской помощью по поводу бесплодия обращаются, как правило, женщины. Лечение репродуктивных расстройств, вызванных применением ОНА, основано на синдромальном подходе, основным компонентом которого является длительная заместительная гормональная терапия [26, 27, 28]. Эффективность подобной терапии, как правило, не очень велика, кроме того, ее применение вызывает стойкое угнетение выработки собственных гормонов [29, 30].

Учитывая то, что расстройства репродуктивной функции, вызванные длительным применением ОНА, обусловлены центральными эффектами этих токсикантов, вполне обоснованным является использование для коррекции этих нарушений препаратов, обладающих способностью регулировать функцию ЦНС. Одной из таких групп являются нейропептиды и, в частности, лекарственные препараты, содержащие дельта-сон индуцирующий пептид (ДСИП) и аналог фрагмента 4–10 адренокортикопротонного гормона (4–10АКТГ). Указанные выше препараты обладают широким спектром физиологической активности, направленной на восстановление функциональной активности структур головного мозга, нарушенной при различных патологических процессах [31, 32, 33, 34].

Исследования по поиску средств коррекции функции центральной нервной системы при поражениях различной этиологии продемонстрировали положительное влияние ДСИП и 4–10АКТГ на течение заболеваний, а также определили их место в комплексной терапии патологии ЦНС [35, 36, 37, 38]. ДСИП и 4–10АКТГ оказывают ноотропное, нейропротекторное, антиоксидантное, адаптогенное воздействие на организм, находящийся в патологическом состоянии, однако, данных по их влиянию на здоровый организм и, в частности, на женскую репродуктивную функцию в доступной литературе нам обнаружить не удалось.

Цель исследования: На основании изучения механизмов формирования нарушений репродуктивной функции у самок крыс, вызванных длительным воздействием морфина гидрохлорида, предложить пути их фармакологической кор-

рекции.

Для достижения цели исследования необходимо было решить следующие задачи:

1. Изучить влияние на организм и репродуктивную функцию самок крыс хронического воздействия морфина гидрохлорида (МГХ) в зависимости от дозы и возраста при начале его введения.

2. Оценить физическое и сенсорно-двигательное развитие в постнатальном периоде у потомства самок крыс, подвергшихся хроническому воздействию МГХ до беременности в зависимости от возраста при начале его введения.

3. Изучить влияние пептидных препаратов, содержащих ДСИП и 4–10АКТГ, на репродуктивную функцию самок крыс, а также физическое и сенсорно-двигательное развитие их потомства.

4. Оценить влияние пептидных препаратов, содержащих ДСИП и 4–10АКТГ, на репродуктивную функцию самок крыс после хронического воздействия МГХ, а также на физическое и сенсорно-моторное развития их потомства.

Научная новизна. Установлена зависимость между нарушениями репродуктивной функции самок крыс и возрастом начала 3-х месячного введения МГХ, в соответствии с которой чем младше возраст, тем более выражены нарушения. Показано, что 3-х месячное введение МГХ в десятикратной эффективной терапевтической дозе (10,0ЭТД) самкам крыс вызывало нарушения: плодовитости (снижение показателей fertильности и беременности), репродуктивных показателей (увеличение пред- и постимплантационной гибели эмбрионов и снижение количества живых плодов), состояния плацент (увеличение плацентарно-плодового коэффициента) и зародышей (отечность плодов, увеличение краино-каудального размера и массы, количества случаев кровоизлияний в головной мозг, уменьшение длин зачатков костей передних и задних конечностей). Помимо указанных выше нарушений для плодов, полученных от животных, которым с не-половозрелого (месячного) возраста вводился, в течение 3-х месяцев, МГХ в 10,0ЭТД были, характерны гидроцефалия (расширение желудочков головного мозга) и гидронефроз, вызванные нарушением функции почек у беременных са-

МОК.

Впервые показано, что длительное введение МГХ в 10,0ЭТД самкам крыс до беременности вызывает отставание в физическом и сенсорно-моторном развитии их потомства. Отставание в физическом развитии проявляется дефицитом массы тела, задержкой появления таких признаков, как отлипание ушных раковин, формирование первичных покровов, прорезывание резцов, открытие глаз, опускание семенников, открытие влагалища. Отставание сенсорно-моторного развития характеризуется задержкой появления и формирования рефлексов (переворачивания на плоскости, отрицательного геотаксиса, избегания обрыва, поднимания головы и передних лап, ползания, опоры на задние конечности и подъема всего тела, избегания обрыва, вызванного визуальным стимулом), а также изменениями двигательной и исследовательской активности (увеличением количества горизонтальных передвижений и груминга и снижением числа вертикальных передвижений и заглядываний).

Впервые установлено, что ПП, содержащие ДСИП или 4–10АКТГ, оказывают влияние на репродуктивную функцию самок крыс: снижают показатели плодовитости (фертильность и беременность), изменяют характеристики плаценты (уменьшают ее диаметр и увеличивают массу), оказывают влияние на внутриутробное развитие плодов (уменьшают массу и крациокаудальный размер) и процессы формирования скелета (уменьшают длины закладок костей передних и задних конечностей и количества точек оссификации позвонков и мелких костей).

Впервые показано, что применение препарата, содержащего 4–10АКТГ, до беременности приводило в постнатальном периоде развития к дефициту массы тела у потомства и некоторому отставанию в физическом и сенсорно-моторном развитии в периоде раннего молочного вскармливания.

Впервые показано, что ПП, содержащие ДСИП или 4–10АКТГ, вводимые после длительного предшествовавшего применения МГХ в 10,0ЭТД, нивелируют нарушения репродуктивной функции у самок крыс: уменьшают нарушения плодовитости, репродуктивных показателей (увеличение количества мест имплантаций и живых плодов, уменьшение общей эмбриональной гибели), оказывают по-

ложительное влияние на состояние плодов (увеличивая их морфометрические характеристики и массу, предотвращая появление отклонений в развитии и нарушений формирования скелета).

Впервые показано, что ПП, содержащие ДСИП или 4–10АКТГ, вводимые после длительного применения МГХ самкам крыс до беременности предотвращают нарушения физического и сенсорно-моторного развития, а также поведения у потомства.

Впервые продемонстрирована возможность комплексной оценки показателей физического и сенсорно-моторного развития, а также соответствия физического развития сенсорно-моторному у потомства мелких лабораторных животных в постнатальном периоде после воздействии химических веществ.

Теоретическая и практическая значимость. Показано, что изучение нарушений репродуктивной функции у самок крыс после длительного применения ОНА целесообразно проводить на неполовозрелых особях в связи с их наибольшей чувствительностью к подобному воздействию.

Показано, что ПП, содержащие ДСИП или 4–10АКТГ, вызывают нарушения репродуктивной функции и должны с осторожностью применяться в периоде планирования беременности у женщин.

Установлено, что эффективными средствами фармакотерапии нарушений репродуктивной функции у женщин после длительного применения МГХ могут являться ПП, содержащие ДСИП либо 4–10АКТГ.

Установлено, что ПП, содержащие ДСИП либо 4–10АКТГ, корректируют отставание физического и сенсорно-моторного развития у потомства, материнские особи которого до беременности длительно принимали МГХ.

Показано, что коэффициенты и индексы физического и сенсорно-моторного развития могут быть использованы при проведении комплексной доклинической оценки влияния фармакологических средств на развитие потомства в постнатальном периоде.

Методология и методы исследования. Исследование было выполнено в два этапа (рисунок 1). На первом этапе исследования изучалось влияния 3-х ме-

сячного введения МГХ в 1,0 и 10,0ЭТД самкам крыс с месячного, 2-х месячного и 3-х месячного возраста на общее состояние животных, а также репродуктивную функцию и развитие потомства в постнатальном периоде. Задачей первого этапа исследования являлся выбор экспериментальной модели удовлетворяющей следующим основным требованиям – иметь наиболее выраженные нарушения репродуктивной функции при отсутствии или минимальных расстройствах со стороны внутренних органов и систем.



6

Рисунок 1 – Дизайн исследования

На втором этапе на разработанной экспериментальной модели (3-х месячного введения МГХ в 10,0ЭТД с месячного возраста до беременности) проводилось изучение влияние ПП на репродуктивную функцию самок и постнатальное развитие их потомства.

Набор использованных методов соответствует современному методическому уровню экспериментальных и лабораторных исследований. Примененные методы статистической обработки данных отвечают поставленной цели и задачам исследования. Исследования выполнены с соблюдением всех правил доказательной медицины.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. При 3-х месячном введении в 1,0 и 10,0ЭТД МГХ не оказывает существенного влияния на общее состояние самок крыс различных возрастных групп. 3-х трехмесячное ведение МГХ в 10,0ЭТД до беременности оказывает влияние на репродуктивную функцию подопытных самок крыс. Наиболее выраженные расстройства репродуктивной функции наблюдаются в группе животных, получавших МГХ до беременности, с месячного возраста.

2. 3-х месячное введение МГХ в 10,0ЭТД самкам крыс до беременности оказывает влияние на физическое и сенсорно-моторное развитие их потомства. Выраженность нарушений физического и сенсорно-моторного развития у потомства, материнские особи которого получали в течение 3-х месяцев МГХ до беременности, непосредственно зависит от возраста при начале его введения, причем, чем младше возраст, тем более выражены нарушения.

3. 14-и дневное введение пептидных препаратов, содержащих ДСИП и 4–10АКТГ, до беременности не оказывает значительного влияния, как на репродуктивную функцию крыс самок, так и на физическое и сенсорно-моторное развитие их потомства.

4. 14-и дневное введение пептидных препаратов, содержащих ДСИП и 4–10АКТГ, после 3-х месячного воздействия МГХ неполовозрелым самкам крыс в 10,0ЭТД дозе до беременности уменьшает степень выраженности нарушений репродуктивной функции, а также физического и сенсорно-моторного развития их потомства.

Реализация и внедрение полученных результатов. Рекомендации, разработанные на основании полученных в процессе исследований данных, используются в научной и практической деятельности Федерального государственного унитарного предприятия «Государственный научно-исследовательский институт прикладных проблем» Федеральной службы по техническому и экспертному контролю России.

Полученные в процессе работы материалы использованы при подготовке методических рекомендаций «Оценка морфофункциональных нарушений у по-

томства как результата воздействия экотоксикантов на организмы родительских особей» (МР ФМБА России 21.45-17).

Степень достоверности. Степень достоверности результатов определяется достаточным и репрезентативным объемом выборки, рандомизацией и формированием экспериментальных и контрольных групп, выбором адекватной экспериментальной модели, использованием современных методов оценки клинических и лабораторных показателей, комплексным подходом к оценке нарушений репродуктивной функции, физического и сенсорно-моторного развития потомства, а также достаточными сроками наблюдения. Использованные методы математической обработки результатов соответствуют поставленным задачам.

Апробация работы и публикация материалов исследования. Основные положения диссертации доложены на IV Съезде токсикологов России (Москва, 2013); конференции «Актуальные проблемы диагностики, профилактики и лечения профессионально обусловленных заболеваний» (Сочи, 2014); III Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы диагностики, профилактики и лечения профессионально обусловленных заболеваний» (Сочи, 2015); II Всероссийской научной конференции «Современная лекарственная токсикология: фундаментальные и прикладные аспекты» (Томск, 2017), научно-практической конференции «Преемственность и последовательность GXP как гарантия безопасности» (Санкт-Петербург, 2020).

По теме диссертации опубликованы 8 статей в изданиях, определенных перечнем ВАК Министерства науки и высшего образования России.

Личный вклад автора. Самостоятельно автором или при его непосредственном участии были получены экспериментальные результаты, которые подвергались статистической обработке, систематизации и оформлению в рукописи диссертации автором лично. Постановка задач, интерпретация полученных результатов осуществлялись совместно с научным руководителем.

Связь темы диссертации с тематикой научно-исследовательской работы учреждения. Настоящее исследование было выполнено в рамках докли-

нического изучения безопасности препаратов «Морфина гидрохлорид, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 5 мг и 10 мг», разработанных ФГУП «Московский эндокринный завод» во исполнение пп. 2 п. I раздела III «Плана мероприятий....» введенного в действие распоряжением Правительства Российской Федерации от 01 июля 2016 г. № 1403-р «Об утверждении плана мероприятий («дорожная карта») «Повышение доступности наркотических средств и психотропных веществ для использования в медицинских целях».

Разработка и внедрение указанных выше препаратов осуществляется в рамках реализации стратегии импортозамещения (обеспечения фармацевтического рынка отечественными лекарственными препаратами и повышения доступности обезболивающих наркотических средств для использования в медицинских целях), а также реализации программы по обеспечению онкологических больных обезболивающими лекарственными препаратами и улучшению качества жизни пациентов паллиативного профиля.

Структура и объем работы. Диссертация включает введение, обзор литературы, 3 главы, посвященные собственным исследованиям (общей характеристике материалов и методов, влияния хронического введения морфина гидрохлорида на общее состояние и репродуктивную функцию самок, а также развитие потомства, влияние пептидных препаратов на репродуктивную функцию самок и развитие потомства после хронического введения МГХ), заключение, выводы, практические рекомендации и список литературы. Работа изложена на 190 страницах машинописного текста, иллюстрирована 26 рисунками и 45 таблицами. Список литературы содержит 240 источников (161 отечественных и 79 иностранных).

ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

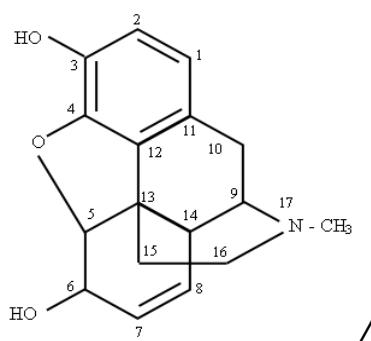
1.1. Токсикологическая характеристика морфина гидрохлорида

Фармакологическая группа: опиоидные наркотические анальгетики.

Химическое название: (7,8-дегидро-4,5альфа-эпокси-17-метилморфинан-3,6-альфа-диол) гидрохлорид

Брутто формула: C₁₇H₁₉NO₃

Структурная формула:



Токсические и летальные дозы. После приема 2 – 3 кратной разовой дозы у лиц, не злоупотребляющих наркотическими анальгетиками, могут развиваться проявления интоксикации. Смертельные дозы у взрослых для морфина при внутривенном введении составляют 0,1–0,3 г, после приема внутрь – 0,5–1,0 г соответственно. Толерантность к наркотическим анальгетикам у наркоманов значительно возрастает, и они могут переносить несколько летальных доз. Так, известны случаи, когда наркоманы употребляют в сутки до 3 – 10 грамм морфина.

Механизмы фармакологического и токсического действия. Механизмы фармакологического и токсического действия морфина в значительной мере совпадают. Морфин является агонистом опиоидных рецепторов (мю-, дельта-, каппа-). В основе его активности лежит способность подавлять таламические центры болевой чувствительности и блокировать передачу этих импульсов в кору больших полушарий. В нейрохимическом механизме главное значение имеет влияние этих соединений на нейромедиаторные процессы и в первую очередь – систему опиоидных рецепторов, естественными лигандами которых являются нейропептиды (энкефалины, эндорфины, динорфины).

Основой фармакологической активности морфина считается его способ-

ность регулировать процессы высвобождения других нейромедиаторов. Аналгетическое (антиноцицептивное) и аддиктивное (т.е. наркогенное) действия связывают с торможением высвобождения биогенных аминов норадреналина, дофамина и серотонина. Ведущий механизм влияния на высвобождение перечисленных нейротрансмиттеров – пресинаптический, в том числе и с участием нейромедиаторов иной химической природы. При этом морфин взаимодействует с пресинаптическими рецепторами неопиоидергических нейронов (т.н. пресинаптические опиоидные гетерорецепторы).

Влияние морфина на другие медиаторные системы мозга (холин-, ГАМК-ергические и др.) менее значимо для реализации их фармакологических эффектов. Тем не менее, некоторые из этих эффектов, такие как стимуляция триггерной зоны, центров вагуса, глазодвигательного нервов и т.д. могут быть частично объяснены этими влияниями. В то же время некоторые периферические проявления действия морфина (спазмы гладкой мускулатуры кишечника, бронхов и т.д.) обусловлены, в значительной мере, их влиянием на опиоидные медиаторные системы тканей [39].

Морфин угнетает передачу болевых импульсов в ЦНС, повышает порог болевой чувствительности при стимулах различной модальности, снижает эмоциональную оценку боли, вызывает эйфорию (повышает настроение, вызывает ощущение душевного комфорта, благодушия, радужных перспектив вне зависимости от реального положения вещей), которая способствует формированию лекарственной зависимости (психической и физической).

Морфин в высоких дозах оказывает снотворный эффект. Повышает тонус центра блуждающего нерва (брадикардия), может стимулировать хеморецепторы пусковой зоны рвотного центра и вызывать тошноту и рвоту, угнетает дыхательный и рвотный центры. Вызывает сужение зрачка за счет активации центра глазодвигательного нерва, повышает тонус бронхов и гладкомышечных сфинктеров внутренних органов (кишечника, желчевыводящих путей, мочевого пузыря). Повышает тонус гладкой мускулатуры внутренних органов (в т.ч. бронхов, вызывая бронхоспазм), усиливает сократительную способность миометрия, вызывает

спазм сфинктеров желчевыводящих путей и сфинктера Одди, повышает тонус сфинктеров мочевого пузыря, ослабляет перистальтику кишечника (приводит к развитию запора), увеличивает перистальтику желудка, ускоряет его опорожнение. Снижает секреторную активность желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), основной обмен и температуру тела, стимулирует выделение антидиуретического гормона. Вызывает расширение периферических кровеносных сосудов и высвобождение гистамина, что может привести к снижению артериального давления (АД), покраснению кожи, усилию потоотделения, покраснению белковой оболочки глаз.

Супраспинальную анальгезию, эйфорию, физическую зависимость, угнетение дыхания, возбуждение центров n. vagus связывают с влиянием на мюрецепторы. Стимуляция каппа-рецепторов вызывает спинальную анальгезию, а также седативный эффект и миоз. Возбуждение дельта-рецепторов вызывает анальгезию.

Кинетические характеристики морфина. Морфин легко вс�ывается практически при любом пути введения (исключая кожный). При пероральном приеме абсолютная биодоступность составляет приблизительно 25–30%. После приема внутрь отмечается эффект первого прохождения через печень, в результате чего лишь 20% препарата попадают в системный кровоток. Вне зависимости от пути введения морфин элиминируется слизистой желудка, а затем повторно всасывается в кишечнике. Распределяется по всему организму и достигает высоких концентраций в почках, печени, легких и селезенки, минимальные же концентрации были обнаружены в мозге. Объем распределения находится в диапазоне между 1,0 и 4,7 л/кг.

Метаболизм осуществляется преимущественно в печени и почках. Основная часть морфина связывается с глюкуроновой кислотой. Эту реакцию инициирует уридинифосфат-глюкуронозилтрансфераза. Продукты глюкуронизации морфина морфин-3-*b*-глюкуронид и морфин-6-*b*-глюкуронид отличаются по фармакологической активности. Так, морфин-6-*b*-глюкуронид обладает выраженной анальгетической активностью вследствие высокого сродства к опиоидным рецепторам, в

то время как морфин-3-*b*-глюкуронид повышает болевую чувствительность, и этот эффект не связан с опиоидергической нейропередачей.

Конъюгации с глюкуроновой кислотой подвергается не менее 60 % от всей дозы морфина. При этом количество образующегося морфин-3-*b*-глюкуронида в несколько раз выше по сравнению с морфин-6-*b*-глюкуронидом. Продукты глюкуронизации и сам морфин выводятся с мочой, либо подвергаются химическим превращениям в системе деметилаз и дегидрогеназ.

Наиболее изучен путь окисление морфина до морфинона под действием морфин-6-дегидрогеназы (при участии коферментов НАД⁺ и НАДФ⁺). Морфинон относится к активным метаболитам морфина и антагонизирует его фармакологические эффекты.

Период полуэлиминации морфина из плазмы составляет 2–4 часа. Выделение в неизмененной форме (10 %) и глюкуронидных метаболитов происходит с мочой. За первые сутки этим путем выводится до 70–75% морфина.

Показаниями к применению морфина являются: купирование острого болевого синдрома; длительное лечение хронической боли умеренной и сильной интенсивности; премедикация; лечение неукротимого кашля и диспноэ у детей при оказании паллиативной помощи.

Способ применения и дозы. Дозы подбираются лечащим врачом индивидуально в зависимости от выраженности болевого синдрома, возраста, состояния больного и предшествующего применения анальгетиков. Для детей старше 12 лет и взрослым пациентам с интенсивным болевым синдромом, а также в постоперационном периоде начальная доза составляет 5–10 мг каждые 4 часа. Повышение суточной дозы при персистирующих и прорывных болях проводится не более, чем на 50–100% каждые сутки. Максимальная суточная доза морфина для детей с персистирующим болевым синдромом не ограничивается. При нарушении функции печени или почек снижают дозу препарата.

Часто встречающиеся *неблагоприятные побочные реакции* (по классификации ВОЗ):

- головокружение, обморок, сонливость, необычайная усталость, общая

слабость;

- угнетение дыхательного центра;
- свистящее дыхание, гиперемия лица, сыпь кожи лица;
- тошнота и рвота (чаще в начале терапии), сухость во рту, анорексия, спазм желчевыводящих путей, холестаз (в основном желчном протоке), гастралгия, спазмы в желудке;
- повышенное потоотделение, дисфония.

Клиническая картина острых отравлений. Картина интоксикации морфином, в основном, включает церебральные и соматовегетативные расстройства. При интоксикации преобладают симптомы угнетения ЦНС (хотя при легких формах, наряду со своеобразной эйфорией, возможно кратковременное двигательное возбуждение) вялость, малоподвижность, стремление к покою, состояние тихого покоя, постепенно трансформирующееся в сон, сопор и (или) кому. У опийных наркоманов после введения в первые минуты – десятки минут чаще отмечается возбуждение, а не седация. Это соответствует представлениям о формировании синдрома измененной реактивности [40, 41].

Отравления морфином сопровождаются миозом с подавлением фотопреакции, гипертонусом скелетной мускулатуры (возможен тризм жевательной), иногда (главным образом у детей) генерализованными клонико-тоническими судорогами. Пирамидные знаки, менингеальные симптомы не характерны. Центральное происхождение имеет нередкая у этих больных гипотермия. Типично раннее подавление реакции на болевые раздражения. Наиболее серьезное проявление интоксикации – паралич дыхательного центра (брадипноэ, патологические ритмы, гаспинг с картиной острой дыхательной недостаточности), который у отравленных морфином и другими наркотическими анальгетиками развивается при сохранных рефлексах, а у отравленных кодеином и содержащими его препаратами – даже при сохраненном сознании (важный дифференциально-диагностический признак).

Легкие отравления наркотическими анальгетиками сопровождается своеобразной эйфорией, не резко выражеными соматовегетативными расстройствами.

При отравлениях средней тяжести преобладает угнетение или стимуляция ЦНС; соматовегетативная симптоматика умеренно выражена. Для тяжелой интоксикации, наряду с угнетением церебральных функций вплоть до сопора или комы, резко выраженными соматовегетативными расстройствами, характерно развитие состояний, угрожающих жизни (паралич дыхания, коллапс, отек легких).

Вынужденное прекращение введения морфина может привести к развитию абстинентного синдрома. Проявления абстинентного синдрома зависят от стадии наркотизации и в типичных случаях включают, наряду с астеническими расстройствами, психопатоподобными нарушениями, фобиями, кошмарными видениями, кратковременными бредовыми эпизодами и т.д. расширение зрачков, зевоту, насморк с частым чиханием, приступы озноба, чувства жара, двигательное беспокойство. Нестерпимый зуд в области вен, в которые вводился наркотик, особенно кустарный, боли в мезо- и гипогастрии, отсутствие аппетита, рвота, при тяжелой абстиненции – понос, а также типичная «ломка» с повышенной двигательной активностью и сильнейшими миалгиями; на высоте абстиненции наблюдается субфебрилитет, умеренная артериальная гипертензия, тахикардия, нередко – гипергликемия на фоне злобной депрессии.

1.2. Влияние опиатных наркотических анальгетиков на репродуктивную функцию

Химические вещества могут наносить значительный ущерб репродуктивному здоровью женщин, мужчин и их потомству [42, 43, 44, 45]. Следует отметить, что нарушение функции воспроизведения потомства, вследствие токсического действия ксенобиотиков на организм одного из родителей, может проявляться по прошествии многих месяцев дефектами зачатия, вынашивания, развития плода и инвалидацией растущего организма [42].

Особого внимания требует проблема длительного воздействия на организм небольших доз химических веществ, не сопровождающегося общими токсическими эффектами, а ограничивающегося специфическим действием на репродуктивную систему [46, 47].

Репродуктивная функция представляет собой совокупность сложнооргани-

зованных последовательно протекающих физиологических процессов в организмах отца, матери и плода. В свою очередь, нарушения репродуктивной функции проявляются репродуктивной дисфункцией, которая определяется как состояния, вызванные нарушениями работы органов половой системы в результате различных причин и механизмов регуляции их деятельности.

В нарушениях репродуктивной функции женского организма, возникающих под влиянием опиатных наркотических анальгетиков, можно выделить дисфункцию возникающую на фоне приема ОНА и после их отмены.

У женщин на фоне приема ОНА развивается токсическая дисфункция яичников, приводящая к нарушению менструальной функции и аменорее [48, 49], и в большинстве случаев – к бесплодию. В свою очередь, употребление беременными женщинами ОНА приводит к задержке внутриутробного развития плодов и увеличению количества преждевременных родов [49], низкой оценке по шкале Апгар при рождении [50], высокому риску материнской заболеваемости и смертности [51].

Указанные выше нарушения обусловлены действием опиатных наркотических анальгетиков на медиаторные системы:

- уменьшение высвобождения ацетилхолина снижает плацентарный кровоток, затрудняя поступление аминокислот и других питательных веществ от матери к плоду [52];
- повышение содержания периферических катехоламинов вызывает выраженную вазоконстирицию и увеличивает сократимость матки, что является причиной повышенной частоты самопроизвольных абортов в первом триместре беременности [49, 53, 54, 55].

Тем самым ОНА вызывают развитие плацентарной недостаточности [56], приводящей к внутриутробной гипоксии плода [54], способствуют развитию гестоза у беременных [53] и повышают риск преждевременной отслойки плаценты [53, 57].

Кроме того, ОНА относятся к числу поведенческих тератогенов [49, 58, 59]. Многочисленные исследования на грызунах указывают на тератогенное действие

опиоидов при назначении их во время беременности, в результате чего развиваются крациофициальные аномалии и дефекты нервной трубы [60, 61]. В то же время у человека подобных нарушений не наблюдалось [62]. Опиаты оказывают токсический эффект на остеобласти, что ведет к уменьшению остеокальцина и способствует более низкому весу новорожденных и скелетным изменениям [49, 63, 64, 65].

Вместе с тем, вопрос о возможности зачатия, течения беременности, ее исходов у женщин, принимавших ОНА по тем или иным причинам (с целью лечения или наркозависимости) до беременности, освещен не достаточно, а в доступной литературе нередко приводятся противоречивые данные.

В регуляции половой функции основная роль принадлежит нервной и эндокринной системам. ЦНС является высшим звеном регуляции гипоталамо-гипофизарно-овариальной системы, путем целого комплекса прямых и обратных взаимодействий обеспечивающая стабильность работы системы репродукции.

Специфическое влияние гипоталамуса на половую функцию связано с регуляцией деятельности половых желез и участием в организации нервных механизмов, необходимых для осуществления полового поведения в целом (рисунок 1.1). Специфической особенностью нервных клеток гипоталамуса является выделение ими рилизинг-гормонов, стимулирующих (либерины) или угнетающих (статины) секрецию гипофизом гормонов, непосредственно влияющих на периферические эндокринные железы-мишени. Известны два рилизинг-гормона, участвующих в регуляции секреции гонадотропных гормонов гипофиза – лютеинизирующий (ЛГ) и фолликулостимулирующий (ФСГ).

В регуляции выделения рилизинг-гормонов из нервных окончаний секретирующих их клеток участвуютmonoамины мозга и серотонин, под влиянием которых гипоталамические нейрогормоны попадают с током крови в переднюю долю гипофиза и действуют на клетки, секретирующие глюкопротеиды, ЛГ, ФСГ, тиреотропный гормон (ТТГ), адренокортикотропный гормон (АКТГ), пролактин и соматотропный гормон (СТГ).

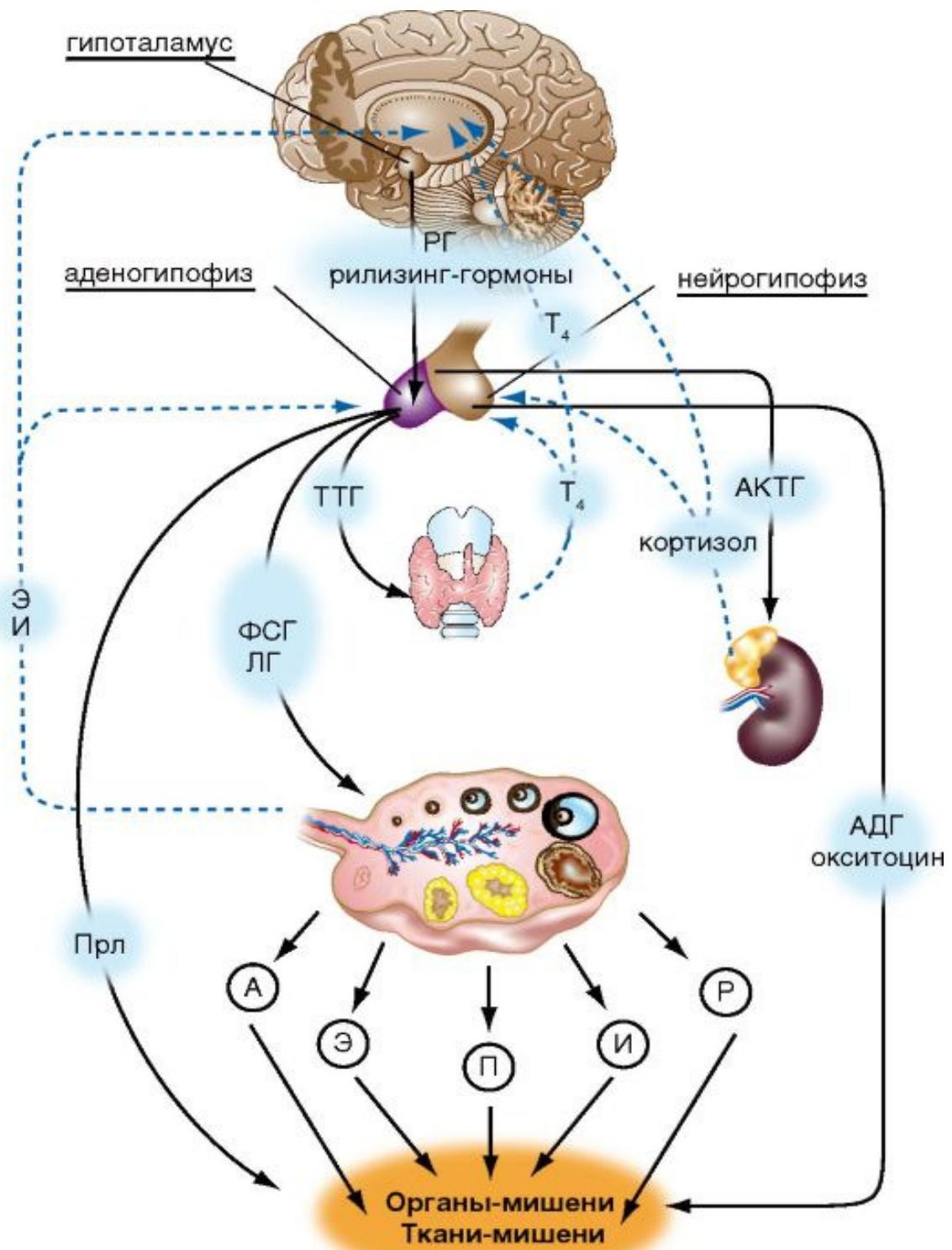


Рисунок 1.1 – Гормональная регуляция в системе гипоталамус – гипофиз – периферические эндокринные железы – органы мишени –

(РГ – рилизинг-гормоны; ТТГ – тиреотропный гормон; АКТГ – адренокотикотропный гормон; ФСГ – фолликулостимулирующий гормон; ЛГ – лутеинизирующий гормон; Прл – пролактин; П – прогестерон; Э – эстрогены; А – андрогены; Р – релаксин; И – ингибин; Т4 – тиroxсин, АДГ – антидиуретический гормон (вазопрессин))

(РГ – рилизинг-гормоны; ТТГ – тиреотропный гормон; АКТГ – адренокотикотропный гормон; ФСГ – фолликулостимулирующий гормон; ЛГ – лутеинизирующий гормон; Прл – пролактин; П – прогестерон; Э – эстрогены; А – андрогены; Р – релаксин; И – ингибин; Т4 – тиroxсин, АДГ – антидиуретический гормон (вазопрессин))

Лютенизирующему гормону принадлежит основная роль в регуляции секреции тестостерона, как в семенниках, так и в яичниках, а резкое повышение его концентрации у женщин перед овуляцией обеспечивает разрыв фолликула, выход яйцеклетки и последующую ее имплантацию в эндометрий (рисунок 1.2).

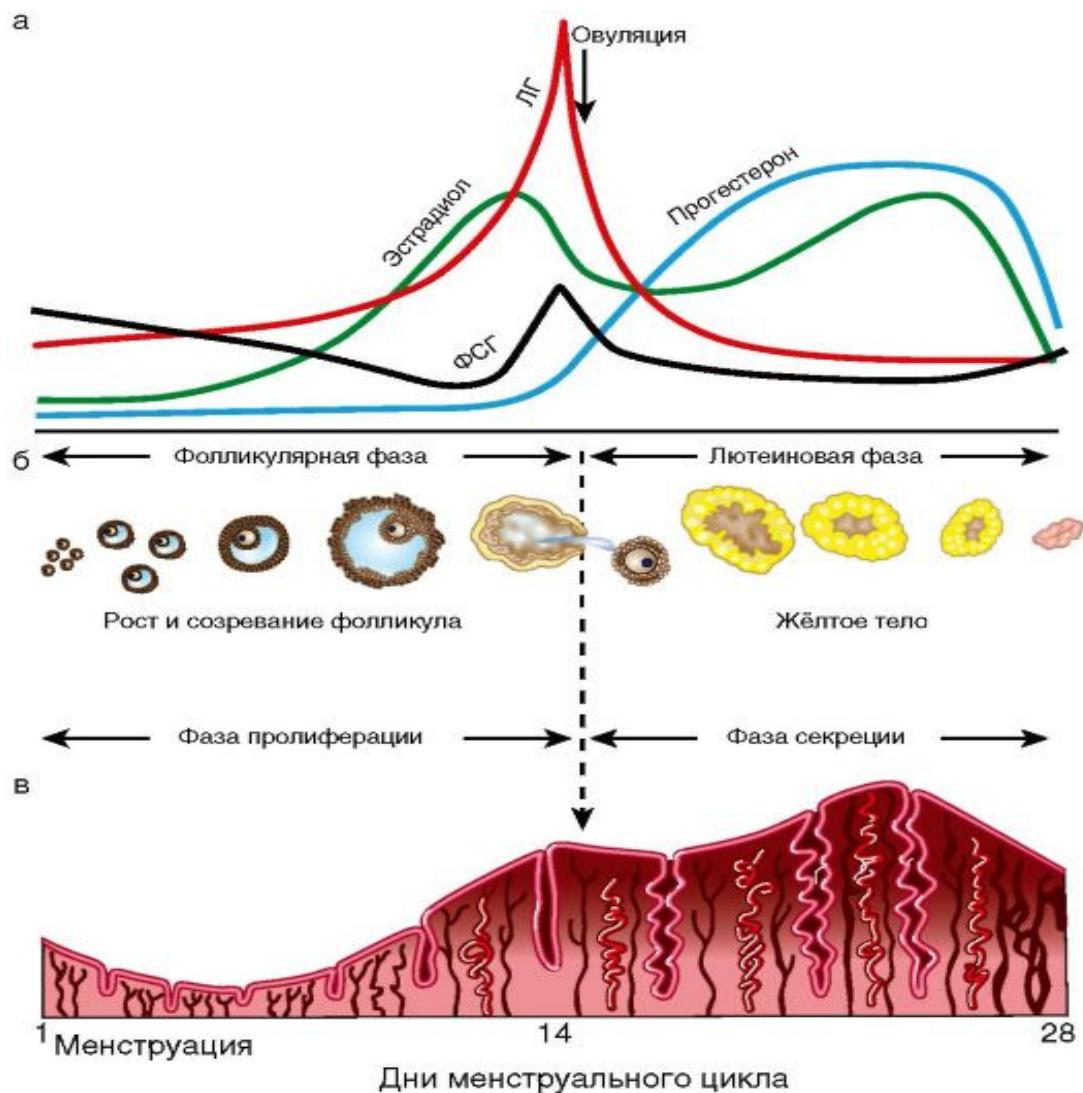


Рисунок 1.2 – Гормональная регуляция менструального цикла
(а – изменения уровня гормонов; б – изменения в яичнике;
в – изменения в эндометрии)

Фолликулостимулирующий гормон стимулирует рост и развитие фолликулов, а в семенниках вызывает пролиферацию клеток Сертоли и сперматогенного эпителия, что необходимо для последующей активации сперматогенеза.

Важное действие на половую систему оказывает и другой гормон adenогипофиза – пролактин, который с одной стороны стимулирует рост предстательной железы и семенных пузырьков, усиливая действие стероидных гормонов, с другой

стороны повышение его уровня снижает секрецию ЛГ, что отражается и на продукции половых гормонов.

В свою очередь, образующиеся в периферических железах половые стероиды оказывают влияние на гипоталамо–гипофизарную систему по принципу обратной связи за счет выделения гонадотропин-рилизинг гормона и гонадотропинов [66].

В экспериментальных исследованиях и клинических наблюдениях было показано, что ОНА и, в частности, морфин, как при однократном [67, 68], так и длительном [69, 70, 71, 72] применении в широком диапазоне доз (как в терапевтических, так и в токсических), снижают продукцию гипоталамического гонадотропин-рилизинг гормона, что приводит к:

- уменьшению уровня фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов;
- уменьшению уровня адренокортикотропного гормона и гидрокортизона;
- увеличению секреции пролактина и антидиуретического гормона [73].

В результате указанных выше нарушений эндокринной регуляции в организме женщины нарушается процесс образования зрелых, готовых к оплодотворению яйцеклеток. Это означает, что овуляция не происходит, вследствие чего не может возникнуть и беременность.

Учитывая представленные выше данные, в соответствии с существующей классификацией нарушения, вызываемые ОНА, могут быть отнесены ко вторичной (приобретенной) репродуктивной дисфункции, обусловленной нарушениями эндокринной регуляции.

1.3. Подходы к лечению нарушений репродуктивной функции

Для стандартизации алгоритмов обследования и лечения бесплодия у женщин экспертами ВОЗ был разработан перечень причин нарушений репродуктивной функции, к которым относятся:

- сексуальная дисфункция эндокринного генеза (гиперпролактинемия, органические нарушения гипоталамо-гипофизарной области, amenoreя с повышен-

ной выработкой фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), нерегулярный менструальный цикл и/или ановуляция);

- врожденная аномалия половых органов трубно-перитонеального генеза (двусторонняя непроходимость маточных труб, спаечный процесс в малом тазу, эндометриоз);
- приобретенная патология матки и канала шейки матки, туберкулез половых органов, ятрогенные причины, отрицательный посткоитальный тест (ПКТ), необъяснимое (отсутствие видимых причин при применении всех методов обследования) [74].

По данным литературы к наиболее распространенным формам нарушения репродуктивной функции женщин относятся трубно-перитонеальная (35–40%), наружный генитальный эндометриоз (17–50%) и эндокринная (30–40%) [75, 76, 77, 78, 79]. Как раз к последней из перечисленных форм относится гормональная дисфункция, обусловленная длительным приемом ОНА и проявляющаяся овуляторными расстройствами.

Эндокринное бесплодие – отсутствие беременности в течение 12 месяцев, связанное с нарушением овуляции: ановуляцией (отсутствием овуляции) или олигоовуляцией (редкими овуляциями). Причиной эндокринного бесплодия являются нарушения на различных уровнях в гипоталамо–гипофизарно–яичниковой системе, а также другие заболевания эндокринных желез, приводящие к дисфункции гипоталамо–гипофизарно–овариальной оси, формированию ановуляции и бесплодия [80].

В соответствии с классификацией ВОЗ нарушения овуляции делят на 4 группы [81]:

Группа I: Гипогонадотропная гипоэстрогенная ановуляция (функциональная гипоталамическая аменорея, гипогонадотропный гипогонадизм);

Группа II: Нормогонадотропная нормоэстрогенная ановуляция (синдром поликистозных яичников – СПКЯ);

Группа III: Гипергонадотропная гипоэстрогенная ановуляция (преждевременная недостаточность яичников, дисгенезия гонад);

Группа IV: Гиперпролактинемия.

Лечение эндокринного бесплодия включает методы восстановления естественной fertильности и методы вспомогательных репродуктивных технологий. Применение методов восстановления естественной fertильности считается наиболее рациональным. К таким методам относят:

- патогенетическое лечение причин, приведших к бесплодию (коррекция метаболических расстройств, лечение гиперпролактинемии, гиперандрогении, нарушений функции щитовидной железы, гипоталамо-гипофизарных расстройств);
- различные методы и схемы индукции овуляции [30, 82, 83];
- методы и схемы терапии гинекологических больных естественными природными факторами – грязелечение (пелоидотерапия) [84, 85, 86].

Методы вспомогательных репродуктивных технологий используются при отсутствии эффекта от лечения в течение 1 года. В настоящее время применяются: стандартная программа экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) – собственно ЭКО, ЭКО и перенос эмбрионов; трансцервикальный перенос гамет и зигот в маточные трубы; программа суррогатного материнства; ЭКО с интрацитоплазматической инъекцией сперматозоидов; программа донации ооцитов [87].

По данным литературы эффективность методов восстановления естественной fertильности при эндокринных формах бесплодия достигает 50%, при использовании методов вспомогательных репродуктивных технологий на один лечебный цикл – 20–35% [88, 89].

В настоящее время тактика диагностики и лечения женского бесплодия регламентирована Клиническими рекомендациями (протоколом лечения), утвержденными Российским обществом акушеров-гинекологов 28.12.2018 года и Российской ассоциацией репродукции человека 21.12.2018 года.

1.4. Нейропептиды, профиль фармакологической активности

В соответствии с существующими в настоящее время представлениями нейропептиды (НП) являются одной из важнейших систем поддержания постоян-

ства внутренней среды организма (гомеостаза) наряду с гормонами и нейромедиаторами.

Нейропептиды (от нейро ... и пептиды), биологически активные соединения, синтезируемые главным образом в нервных клетках, которые участвуют в регуляции обмена веществ и поддержании гомеостаза, воздействуют на иммунные процессы, играют важную роль в механизмах памяти, обучения, сна и т.д., могут действовать как медиаторы и гормоны [90, 91, 92, 93].

По нашему мнению наиболее правильным названием для этой группы биологически активных веществ является "регуляторные пептиды", которое определяет роль этих соединений в организме, а не их преимущественную локализацию.

В 1986 году И.П. Ашмариной и М.Ф. Обуховой была предложена теория «пептидного континуума», в соответствии с которой в организме существует динамическая система пептидных регуляторов (сложных регуляторных каскадов), управляющих всеми процессами жизнедеятельности. Это сложная иерархическая система, в которой изменение количества любого пептида приводит к изменению активности других НП, а, следовательно, к отдаленным по времени эффектам. При этом сами нейропептиды-индукторы обладают, кроме того, способностью непосредственно вызывать ряд биохимических и физиологических эффектов. Нейропептиды – это межклеточные передатчики информации, которые нередко одновременно выполняют функции нейромедиаторов, нейромодуляторов и дистантных регуляторов. Именно такая система является наиболее гибкой в меняющейся ситуации при поступлении новых сигналов [94].

НП представляют собой малые и средние по размеру пептиды, как правило, линейные, содержащие от 2 до 40–50 аминокислотных остатков. В настоящее время выделено не менее 1000 НП, которые, исходя из структурно-функциональных особенностей и места выделения, подразделяются приблизительно на 60 семейств [95].

Образуются НП вследствие последовательного гидролитического разложения пептида-предшественника (белка), в результате которого из одной исходной молекулы может образоваться несколько веществ, которые на каждом из этапов

могут обладать биологической активностью, отличающейся от начального и конечного продуктов [95, 96].

Предшественники НП синтезируются в клетках при трансляции гена, кодирующего пептид, после чего протеазы расщепляют молекулу на более короткие цепи, которые в последующем могут также подвергнуться трансформации. В нейроне образовавшийся НП транспортируется в пресинаптическую терминал, откуда выделяется в синаптическую щель. Одни НП способны выполнять функции медиаторов, осуществляя непосредственную передачу нервного импульса, другие изменяют метаболизм клетки, выполняя роль нейромодулятора, третьи способны реализовывать свою активность на достаточном удалении от места синтеза, что позволяет сравнивать их с гормонами. Функции многих НП дублируют друг друга, тем не менее, каждый имеет уникальный спектр активности. Подавляющее большинство НП действует на «медленные» метаботропные (неканальные) рецепторы, индуцируя через G-белки каскад реакций, в которых могут быть задействованы различные вторичные посредники (аденилатциклаза, фосфоинозитольная система, ионные каналы). Кроме того, НП способны изменять активность друг друга и некоторых гормонов (чаще ингибировать или активировать их синтез), что приводит к запуску каскадных реакций [97, 98].

НП участвуют в регуляции практически всех функций ЦНС – болевой чувствительности, состояния сон-бодрствование, полового поведения, процессов памяти и др. [99]. Они принимают участие в вегетативных реакциях организма, регулируя температуру тела, дыхание, артериальное давление, мышечный тонус и т.д. НП осуществляют контроль за экспрессией вторичных клеточных мессенджеров, цитокинов и других сигнальных молекул, а также за запуском генетических программ апоптоза, антиапоптотической защиты, участвуют в нейротрофических процессах [97]. Такие регуляторные (модуляторные) влияния устраниют общую дезинтеграцию во взаимодействии сложных и часто разнонаправленных молекулярно-биохимических механизмов, восстанавливая их нормальный баланс [96].

В настоящее время показано, что НП обладают следующими свойствами:

- способностью повышать устойчивость ЦНС к действию повреждающих факторов различной этиологии, в том числе оптимизировать метаболическую активность нейронов, восстанавливать нарушенный метаболизм и энергетический дефицит;
- способностью непосредственно активировать нейротрофические процессы (за счет стимуляции спрутинга и выработки нейротрофических факторов) тем самым препятствовать развитию нейрональной дегенерации различной этиологии;
- оказывать прямой и опосредованный антиоксидантный эффект [100].

Одна из особенностей регуляции состоит в том, что она наблюдается при их очень низких концентрациях пептидов порядка 10^{-18} – 10^{-12} М [101, 102]. В разных отделах мозга одни и те же НП могут выполнять или нейромедиаторные функции, или дистантные нейромодуляторные функции, а иногда сочетать эти функции.

Время полураспада НП может быть от нескольких секунд до 1 часа [103], а длительность их действия может измеряться часами и даже сутками в [95] отличии от нейромедиаторов, которые активны в течение 10^{-21} с. Установлено, что многие НП хорошо проникают через гематоэнцефалический барьер [100].

Наиболее полной и функциональной на сегодняшний день можно считать классификацию НП по семействам (основанную на сочетании трёх принципов: функционального, структурного и топологического) в связи с тем, что она учитывает наибольшее количество особенностей этих веществ [95, 104].

В соответствии с этой классификацией выделяют следующие группы нейропептидов: гипоталамические либерины и статины; опиоидные пептиды; меланокортины; вазопрессин–тоцины; панкреатические пептиды; глюкагон–секретины; холецистокинин; тахикинины; мотилин; нейротензины; бомбезины; кинины; ангиотензины; пептиды, кодируемые геном, подобным гену кальцитонина; атриопептиды; эндозепины; галанин; эндотелины.

Кроме НП, представленных в данной классификации, существует большое количество соединений, не включенных в нее в связи с невозможностью отнести их к существующим группам [104].

Наибольший интерес с позиции возможного влияния на изучаемую нами патологию представляют следующие группы нейропептидов – гипоталамические либерины и статины, меланокортины, бомбезины и галанин, а также не классифицированные НП: орексины, лептин, дельта-сон индуцирующий пептид (ДСИП), пептид, активирующий аденилатциклазу гипофиза (PACAP).

Создание теории биорегулирующей терапии спровоцировало создание новых лекарственных средств – пептидных биорегуляторов [105, 106, 107, 108, 109, 110], в том числе и содержащих НП из указанных выше классов. Однако, учитывая прикладной характер выполняемой работы, на основании анализа зарегистрированных в настоящее время в Государственном реестре лекарственных средств России нами были выбраны препараты, содержащие нейропептиды: аналог фрагмента 4–10 адренокортикотропного гормона: 4–10 АКТГ Семакс® (СМС®) и дельта-сон индуцирующий пептид (ДСИП) Дельтаферокс® (ДФС®).

1.4.1. Дельта-сон индуцирующий пептид

В 1977 году группой швейцарских исследователей во главе с М. Монье и Г. Шонненбергом был открыт дельта-сон индуцирующий пептид [111]. ДСИП является нонапептидом с молекулярной массой 848,98 Да и имеет формулу Trp – Ala – Gly – Gly – Asp – Ala – Ser – Gly – Glu [112].

В норме в организме ДСИП присутствует в ЦНС, периферических органах, тканях и биологических жидкостях. Наибольшее содержание ДСИП обнаружено в таламусе, несколько меньше в гипокампе и гипоталамусе. Как показывают исследования, ДСИП присутствует в таких важнейших сенсорных системах, как зрительная, обонятельная, осязательная, а также отделах мозга, регулирующих внутренние органы [111].

ДСИП-подобная имmunoreактивность была обнаружена:

- в областях гонадотропин–рилизинг–гормонподобной реактивности колокализованной с окситоцином–нейрофизином–1 [113, 114], меланин концентрирующим гормоном [115], тиреотропным гормоном [116], пептидами секреторных клеток желудочно-кишечного тракта [114];

- в меланокортикоропах промежуточной доли гипофиза в субпопуляции клеток с адренокортикоропином и альфа-меланотропином [117] и в большой субпопуляции кортикоропов дистальной части zona tuberalis [118];
- в мозге человека колокализованная с гонадотропин-рилизинг-гормон-подобной иммунореактивностью [119] и в гипофизе с гормоном роста [120].

Подобная локализация пептида позволяет предполагать его модулирующую роль в функционировании различных отделов гипоталамо-гипофизарной системы, реализующуюся по ауто- или паракринному механизму [113].

ДСИП синтезируется в клетках мозга, свободно проникает через гематоэнцефалический барьер и активно транспортируется по организму [121, 122, 123]. В биологических жидкостях (плазме и ликворе) ДСИП обратимо и специфично связывается с белком-носителем, оказывающим существенное воздействие на реализацию его биологических свойств (способствуя его активации или инактивации, взаимодействию с клетками-мишениями, охране от протеаз и т.д.), а также вносит вклад в развитие других характеристик, например, конформационных изменений и диссоциации образовавшегося комплекса, в зависимости от условий среды и состояния организма.

Установлено, что биологическое действие ДСИП связано с:

- регуляцией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси, и в частности, адренергической системы [124, 125];
- участием в процессах структурной модуляции синаптической пластичности и перестройке межнейронных взаимоотношений, определяя адаптацию функций нервной ткани к внешним условиям [126, 127, 128, 129];
- способностью ограничивать чрезмерное перекисное окисление липидов мембран клеток мозга и других органов, стимулируя накопление в них свободно-радикальных активных форм кислорода, уменьшая тем самым нарушения в функционировании их регуляторных мембранных систем [130];
- внедрением в липидный матрикс плазматической мембраны с образованием ионного канала [131, 132], а также реализовывать свое действие прямым воздействием на Na^+ - и Ca^{2+} -каналы [133] и регуляцией активности Ca^{2+} -, Mg^{2+} -,

$\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФаз [134];

- стимуляцией серотонинергической стресс-лимитирующей системы при одновременном снижении количества норадреналина и дофамина, и тем самым способствуя переводу стресс реакции на более эффективные и экономичные режимы [135, 136, 137, 138, 139];

Кроме того, важное значение для реализации биологических эффектов ДСИП имеет его взаимодействие с основными нейромедиаторными системами организма. Описано его влияние на распределение ГАМК, МАО-А, МАО-В и других нейромедиаторов [140]. Установлено, что ДСИП оказывает влияние на активность ГАМК-ergicической системы:

- вызывает длительное повышение уровня ГАМК в мозге;
- уменьшает содержание глутаминовой и аспарагиновой кислот, тем самым влияя на баланс возбуждающих и тормозных нейромедиаторных аминокислот;
- действует на активность ферментов синтеза и деградации ГАМК, а так же предотвращает истощение ГАМК-системы [141];
- оказывает регулирующее влияние на ГАМК, барбитуратный и бензодиазепиновый участки связывания ГАМК_A-рецептора [142], повышает сродство к лигандам, в том числе и эндогенным [143].

Было установлено, что ДСИП способен:

- уменьшать локомоторную активность, а также влиять на процессы терморегуляции, циркадные биоритмы и нейрональные электрофизиологические реакции [105, 110, 144];
- при воздействии на организм низких температур, гипоксии, гипероксии, химических веществ (эпилептогенов, алкоголя, наркотиков и др.) существенно снижать или предотвращать, вызываемые ими неблагоприятные эффекты и метаболические сдвиги [145, 146, 147, 148, 149], что позволяет говорить о его выраженном стресс-протективном и адаптогенном действии [150];
- регулировать многие послеродовые физиологические функции у новорожденных [151, 152].

Многочисленные исследования выявили широкий спектр фармакологических свойств этого пептида, который можно отнести к типичным нейромодуляторам, проявляющим полифункциональное и пролонгированное действие на организм [153]. Таким образом, представленные выше данные, свидетельствует о высокой физиологической активности ДСИП и полифункциональном характере биологических эффектов, вызываемых им.

1.4.2. Фрагмент 4–10 адренкортикотропного гормона

В 90-х годах прошлого века коллективом авторов под руководством академика РАМН И.П. Ашмарина был разработан и зарегистрирован препарат Семакс®, представляющий собой аналог фрагмента 4–10 АКТГ, защищенный от разрушительного действия пептидаз концевым трипептидом Pro – Gly – Pro (Met – Glu – His – Phe – Pro – Gly – Pro). СМС® имеет ряд важных преимуществ перед другими аналогами 4–10АКТГ: полное отсутствие токсических, побочных эффектов и гормональной активности; продолжительность действия, превышающая природный аналог более чем в 24 раза; быстро проникает через гематоэнцефалический барьер (в течение 4 мин) после интраназального применения.

Показано, что АКТГ–подобные пептиды: влияют на текучесть синаптических мембран; модулируют рецепторные функции, изменяя процессы фосфорилирования белков; тормозят глиальные реакции воспаления, синтез оксида азота, нейротоксичных цитокинов и лигандов к NMDA-рецепторам; уменьшают выраженность оксидантного стресса; обладают самостоятельным нейротрофическим эффектом [154]. Кроме того, СМС® оказывает специфические действие на холинергические нейроны базальных ядер переднего мозга [155], которое подтверждается достоверным повышением активности ацетилхолинэстеразы соответствующих структур мозга [156].

СМС® оказывает влияние на поведенческие акты (проявления положительных или отрицательных эмоций, механизмы активации оборонительных реакций, цикле бодрствование-сон, пищевое и половое поведение), регуляцию болевой чувствительности (энкефалины, киоторфин, ДСИП и др.), процессы обучения и памяти, поддержание водно-солевого баланса [157].

В экспериментах на животных показано, что СМС® в низких дозах (3–30 мкг/кг) обладает выраженным ноотропным эффектом, увеличивает адаптационные возможности мозга, повышая его устойчивость к стрессорным, гипоксическим и ишемическим повреждениям. В более высоких дозах (150–300 мкг/кг), оказывает выраженное антиоксидантное, антигипоксическое, ангиопротекторное и нейротрофическое действие [158, 159, 160].

Учитывая описанные выше механизмы действия, клиническое использование СМС® направлено на прерывание быстрых механизмов гибели клеток и уменьшение выраженности отдаленных последствий ишемии (блокаду провоспалительных цитокинов, молекул клеточной адгезии, торможение оксидативного стресса, нормализацию нейрометаболических процессов, ингибирование апоптоза, уменьшение когнитивного дефицита) [161, 162, 163].

На основании данных о выраженной саногенетической активности Семакс® используют в комплексной терапии нарушений мозгового кровообращения [164], закрытых черепно-мозговых травм, постреанимационной болезни [165], постинтоксикационной энцефалопатии, [158] и заболеваниях зрительного нерва различной этиологии [166]. В педиатрической практике – при перинатальных гипоксически-ишемических поражениях головного мозга [167, 168], минимальной мозговой дисфункции и синдроме дефицита внимания и гиперактивности [169, 170, 171].

Таким образом, пептидные препараты (ПП), содержащие ДСИП или 4–10АКТГ, обладают свойствами нейрорегуляторов, и могут быть изучены в качестве средств коррекции репродуктивной дисфункции, вызванной нарушениями эндокринной регуляции половой функции вследствие длительного приема опиатных наркотических анальгетиков.

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для решения поставленных задач проведены исследования *in vivo*. В экспериментах использовано 386 нелинейных белых самок крыс, находящихся в различных периодах онтогенеза: одно-, двух- и трехмесячных, средней массой 50, 140 и 200 г, соответственно, разводки ФГУП «ПЛЖ "Рапполово"». Кроме того, был в динамике клинически обследован – 541 родившийся детеныш, а также морфометрически – 509 20-дневных эмбрионов по методу Вильсона-Дыбана и 484 – по методу Доусона.

Перед проведением исследования животные карантинировались в течение 14 дней. Во время карантина и в процессе исследования животные содержались в соответствии с требованиями ГОСТ 33215-2014 и ГОСТ 33216-2014 на стандартном водном и пищевом рационе в отдельном помещении [172, 173, 174, 175]. Исследования на животных проводились в соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики [176]. За 2 часа до опытов кормление животных, находившихся на свободном водном режиме, прекращали. При рандомизации групп в качестве основного критерия использовали массу тела (отклонение массы тела в группе не более 10%).

Для проведения исследования был использован препарат Морфин производства ФГУП «Московский эндокринный завод», действующее вещество (7,8-дегидро-4,5альфа-эпокси-17-метилморфинан-3,6-альфа-диол) гидрохлорид в лекарственной форме таблетки, покрытые пленочной оболочкой по 5,0 и 10,0 мг (далее – МГХ). МГХ вводили внутрижелудочно (в/ж) в виде водной суспензии с помощью атравматического зонда в объеме 0,5 мл/100 г массы тела животного.

Оборот вещества в ФГБУН ИТ ФМБА России осуществлялся в соответствии с законодательством Российской Федерации [177, 178, 179] и лицензией на осуществление деятельности по обороту наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, культивированию наркосодержащих растений № ЛО-78-04-000022 от 05 апреля 2014 г.

При выборе исследуемых доз МГХ, режима и способа введения исходили из принятых в клинической практике дозировок и схем применения у соответ-

вующих возрастных категорий пациентов.

Для расчета доз, вводимых различным возрастным группам животных, были изучены показатели острой токсичности МГХ при однократном в/ж введении белым нелинейным крысам самкам. Расчет параметров острой токсичности производили методом наименьших квадратов пробит-анализа кривых летальности по Финни [180, 181] (таблица 2.1.).

Таблица 2.1.
Показатели острой токсичности МГХ при его однократном в/ж введении
самкам крыс различных возрастных групп

Группа животных	Токсикометрические характеристики				
	ЛД ₅₀ , мг/кг	min ЛД ₅₀ , мг/кг	max ЛД ₅₀ , мг/кг	ЛД ₁₆ , мг/кг	ЛД ₈₄ , мг/кг
Крысы-самки месячного возраста	929,7 ± 219,9	551,6	1382,7	529,4	1632,4
Крысы-самки 2-х месячного возраста	1080,6 ± 199,9	193,7	1967,4	591,0	1570,2
Крысы-самки 3-х месячного возраста	525,7 ± 141,4	286,2	811,0	296,8	931,2

Результаты токсикометрии, данные наблюдений в постинтоксициационном периоде острого отравления, а также результаты некропсии позволил отнести МГХ к III классу токсичности веществ для всех возрастных групп животных [182].

Широту терапевтического действия МГХ характеризовали значением его терапевтического индекса (ТИ), который рассчитывали как соотношение ЛД₅₀ и эквивалентной терапевтической дозы (ЭТД) при внутрижелудочном введении крысам [183]. Расчет величин testируемых доз производился в соответствии с «Руководством...» [184] с учетом коэффициентов пересчета (КП) для разных возрастных групп (таблице 2.2). Полученные значения терапевтических индексов позволили отнести выбранные дозы к малоопасным в соответствии с классификацией степеней опасности токсического действия лекарственных средств.

С учетом того, что исследования были выполнены в рамках доклинического

изучения безопасности препарата МГХ в соответствии с «Руководством...» нами для исследований были выбраны две дозы кратные одной и десяти эквивалентным терапевтическим [184]. Следует отметить, что использованная нами десятикратная эквивалентная терапевтическая доза (10,0ЭТД) соответствует дозам используемым другими исследованиями для моделирования нарушений репродуктивной функции вызванных длительным приемом ОНА [72]. В свою очередь, длительность введения МГХ была определена на основании проекта инструкции по применению, в которой была указана продолжительность равная 30 дням, а также требований «Руководства...» в соответствии с которыми при указанном курсе – изучение хронической токсичности должно осуществляться в течение 90 или более дней [184].

Таблица 2.2.

Расчет доз для хронического введения крысам самкам в зависимости от возраста при начале применения МГХ

Группа животных	ЛД ₅₀ , мг/кг	КП	ЭТД, мг/кг		ТИ
			1,0	10,0	
Крысы-самки месячного возраста	929,7	4,1	6,0	60,0	155,9
Крысы-самки 2-х месячного возраста	1080,6	4,8	7,2	72,0	150,1
Крысы-самки 3-х месячного возраста	525,7	6,0	5,0	50,0	105,1

Для чистоты экспериментов животным контрольных групп вместо МГХ вводили в/ж эквивалентные объемы воды для инъекций.

За 14 часов до забора крови для проведения клинического и биохимического исследований кормление животных, находившихся на свободном водном режиме, прекращали. После эвтаназии животных забор крови осуществляли в пробирки для клинического анализа, содержащие в качестве антикоагуланта ЭДТА.

Для сбора мочи животных помещали в обменные клетки фирмы «Tecniplast» (Италия) на 24 часа. Доступ к воде был свободным.

Эвтаназию животных осуществляли ингаляционным воздействием CO₂. Вскрытие, макроскопическое описание органов и тканей, а также забор материала

для гистологических исследований осуществляли в день эвтаназии.

2.1. Характеристика препаратов и методов их введения

В работе при изучении влияния ПП на репродуктивную способность крыс самок были использованы лекарственные формы препаратов Семакс® производства ЗАО «ИНПЦ "Пептоген"» и Дельтафирокс® производства ООО «ИЦ "Комкон"». Дельтафирокс® – воспроизведенный лекарственный препарат, референтным для которого является Дельтаран® (ЛП 003849-200916). Отличительной особенностью Дельтафирокса® является присутствие в его составе вспомогательного вещества – карнозина. Основные характеристики препаратов Семакс® и Дельтафирокс® представлены в таблице 2.3.

Таблица 2.3.
Характеристики готовых лекарственных форм пептидных препаратов
использованных в работе

Характеристики	Препараты	
	Семакс®	Дельтафирокс®
1	2	3
Состав	Семакс – 1 мг/мл; метиловый эфир параоксибензойной кислоты – 1 мг/мл; вода очищенная – до 1,0 мл	ДСИП – 0,3 мг; глицин – 3,0 мг; карнозин – 1,0 мг
Форма выпуска	Капли назальные 0,1% во флаконах с пробкой-пипеткой, дозирующей по 3,0 мл	Лиофилизат для приготовления раствора для интраназального (и/н) введения в ампулах по 1,0 мл.
Характеристика действующего вещества	Синтетический аналог фрагмента 4–10АКТГ (Met–Glu–His–Phe–Pro–Gly–Pro), лишенный гормональной активности (все аминокислоты в L-форме)	Синтетический аналог ДСИП (Trp–Ala–Gly–Gly–Asp–Ala–Ser–Gly–Glu)
Лекарственная форма	Бесцветная прозрачная жидкость	Порошок или пористая масса белого цвета
Фармакологическое действие	Нейрометаболическое, антиоксидантное, антигипоксическое, церебропротективное, ноотропное	Нейрометаболическое антиоксидантное, антигипоксическое, церебропротективное, ноотропное

продолжение таблицы 2.3

1	2	3
Фармакодинамика	Имеет разнообразные механизмы действия.	Имеет разнообразные механизмы действия.
Фармакокинетика	Всасывается со слизистой оболочки носовой полости, при этом усваивается до 60–70% в пересчете на активное вещество. Быстро распределяется во все органы и ткани, проникает через ГЭБ. При попадании в кровь подвергается достаточно быстрой деградации и выведению из организма с мочой. Метаболиты обладают сходной с действующим веществом фармакологической активностью.	Всасывается со слизистой оболочки носовых полостей. После и/н введения определяется в сыворотке крови в течение 6-и мин. Быстро разлагается в крови до отдельных аминокислот и коротких пептидов протеолитическими ферментами и выводится из организма. Метаболиты не обладают фармакологической активностью.
Способ применения и дозы	Путь введения и/н. Разовая доза для взрослых составляет 3–30 мкг/кг, суточная – 7–70 мкг/кг. Препарат назначают ежедневно в течение 3–5 дней, при необходимости курс лечения продлевают до 14 дней.	Путь введения и/н. Разовая доза для взрослых составляет 3–6 мкг/кг, суточная – 9–18 мкг/кг. Препарат назначают ежедневно в течение 5–7 дней, при необходимости курс лечения продлевают до 14 дней.

Учитывая то обстоятельство, что Дельтафирокс® не является зарегистрированным лекарственным средством, нами был проведен ряд исследований по доклиническому изучению его безопасности и эффективности.

Была показана хорошая переносимость и безвредность препарата в дозах 300 и более мкг/кг по ДСИП. При изучении показателей токсикометрии было показано, что готовая лекарственная форма ДФС® относится к V классу практически нетоксичных лекарственных веществ [185, 186].

Подострое (30 дней) и хроническое (90 дней) ежедневное введение препарата животным в дозах 2,15, 21,5 и 43,0 мг/кг (по ДСИП), превышающих рекомендованные для человека в сотни и тысячи раз, не оказывало неблагоприятного воздействия на общее состояние, основные адаптационные системы (нервную, сер-

дечно-сосудистую, кроветворную, выделительную и дыхательную), обмен веществ, а также основные параметры гомеостаза. Следует отметить также отсутствие у препарата раздражающего действия на слизистые оболочки при и/н пути введения. Кроме того было установлено, что препарат не обладает аллергизирующим и иммунодепрессивным, а также мутагенным и канцерогенным действием.

Введение препарата в дозе 50 и 500 мкг/кг не оказывало воздействия на репродуктивную функцию животных обоих полов. В экспериментах не было выявлено негативного влияния на плодовитость опытных животных, на пре- и постнатальное развитие потомства, что свидетельствовало об отсутствии у препарата гонадо- и эмбриотоксического действия.

При изучении влияния препарата на гормональный статус не было выявлено значимых изменений содержания гормонов в сыворотке крови у подопытных самок крыс (таблица 2.4).

Таблица 2.4
Влияние Дельтафирокса® на гормональный статус самок крыс ($M \pm m$)

Показатели	Группы животных		
	Контроль (n=10)	Дельтафирокс®	
		150 мг/кг (n=10)	300 мг/кг (n=10)
Кортизол, мкг/мл	$5,0 \pm 0,4$	$4,0 \pm 0,5$	$4,4 \pm 1,0$
Свободный тестостерон, пг/мл	$0,03 \pm 0,02$	$0,04 \pm 0,03$	$0,05 \pm 0,03$
Эстрадиол, пг/мл	$88,8 \pm 3,1$	$89,5 \pm 2,7$	$82,9 \pm 4,0$
T ₃ , нг/мл	$0,25 \pm 0,02$	$0,31 \pm 0,05$	$0,27 \pm 0,01$
Свободный T ₄ , нг/мл	$0,78 \pm 0,08$	$0,91 \pm 0,07$	$0,80 \pm 0,07$

Учитывая то обстоятельство, что активность субстанции ДСИП, полученной различными методами синтеза (твердо- и жидкофазным), а также готовых лекарственных форм может существенно различаться, нами был разработан метод экспресс оценки их биологической активности.

Метод основан на изменении длительности гексеналового сна на фоне предварительного введении ДСИП. Уменьшение длительности сна после введения гексенала в данном случае не связано со стимуляцией системы цитохро-

ма Р₄₅₀, как это интерпретируется в классическом варианте теста [187, 188, 189], а обусловлено уменьшением сродства ГАМК_A-рецептора к барбитуратам вызванного предварительным введением ДСИП.

Оценка биологической активности осуществляется по следующей методике:

- самцам нелинейных крыс массой 160–180 г и/н вводится субстанция ДСИП или готовая лекарственная форма препарата на его основе в дозе 300 мкг/кг;
- через 30 мин внутрибрюшинно вводится гексенал в дозе 90 мг/кг.

Критерием оценки являлась продолжительность гексеналового сна, чем короче сон – тем выше биологическая активность препарата. В таблице 2.5 представлены результаты, полученные при изучении длительности гексеналового сна после предварительного и/н введения субстанции ДСИП и препаратов Дельтаран® и Дельтафирокс®.

Таблица 2.5

Продолжительность гексеналового сна после интраназального введения пептидных препаратов ($M \pm m$, $n = 10$)

Препараты		Длительность гексеналового сна, мин	Особенности клинической картины
Название	Доза, мкг/кг		
Контроль	–	32,9 ± 4,4	При засыпании мелкие судорожные подергивания конечностей, во время сна единичные вздрагивания. Дыхание не ровное. При пробуждении заторможенность, оглушение, адинамия.
Субстанция ДСИП	150	25,9 ± 2,2	Спокойный сон без судорожных подергиваний и вздрагиваний, дыхание ровное. Пробуждение без оглушения и адинамии.
	300	23,4 ± 1,7*	
Дельтаран®	300	25,6 ± 1,6	Сексуальное возбуждение до сна. Сон спокойный без судорожных подергиваний и вздрагиваний, дыхание ровное. Пробуждение без заторможенности и оглушения.
Дельтафирокс®	300	20,5 ± 2,3**	
Семакс®	300	33,6 ± 2,6	

Примечание: * – отличие от контроля статистически значимо, $p < 0,05$; ** – отличие от группы, получавшей Дельтаран®, статистически значимо, $p < 0,05$.

Как видно из представленных данных, сокращение гексеналового сна было более выраженным при максимальной из использованных доз субстанции ДСИП, равной 300 мкг/кг. В свою очередь, биологическая активность убывала в ряду Дельтафирокс® > субстанция ДСИП > Дельтаран®, причем разница между крайними членами была статистически значимой ($p < 0,05$). Кроме того, препараты на основе ДСИП изменяли клинику наркоза и сокращали фазу пробуждения. В свою очередь, Семакс® не оказывал влияния на длительность гексеналового сна, однако облегчал выход животных из барбитуратного наркоза.

При изучении эффективности ДФС® нами были получены данные, свидетельствующие об ускорении выработки условных рефлексов в тестах УРАИ и УРПИ, а также повышении физической работоспособности в тестах летального плавания и бега на тредбане.

Учитывая результаты собственных исследований, а также литературных данных, нами были выбраны следующие схемы введения пептидных препаратов:

- Дельтафирокс® однократно и/н в дозе 300 мкг/кг/сутки (по ДСИП) в течение 14 дней [190];
- Семакс® однократно и/н в дозе 300 мкг/кг/сутки (по 4–10 АКТГ) в течение 14 дней [190, 191].

Во всех сериях экспериментов с введением крысам указанных препаратов животным контрольных групп и/н вводились аналогичные объемы физиологического раствора хлорида натрия.

2.2. Методы исследований

При выполнении работы были использованы токсикологические методы изучения гонадо- и эмбриотропного действия химических веществ, инструментальные, гематологические, биохимические, патоморфологические и другие методы исследований.

2.2.1. Изучение структуры эстрального цикла

Оценку фаз эстрального цикла (ЭЦ) производили при помощи цитологического анализа влагалищных мазков животных, основываясь на определении кле-

точной картины влагалищных выделений, соответствующих определенной стадии полового цикла. Забор материала для исследования производили с помощью прикосновения ватно-марлевого тампона к боковой стенке влагалища крысы. Взятый материал наносили на предметное стекло, окрашивали 0,5% спиртовым раствором метиленового синего и анализировали с помощью светового микроскопа.

На основании цитологического анализа влагалищных мазков определяли общую длительность эстрального цикла, длительность течкового и межтечкового периодов. Кроме того, рассчитывали коэффициент проэструса – эструса ($K(p+e)$) и метаэструса – диэструса ($K(m+d)$) по формуле (1):

$$K = a/b \times 100\%$$

1

где K – коэффициент периода цикла (%), a – количество дней, приходящихся на данный период цикла за время наблюдения, b – общая длительность полных циклов в сутках [192, 193].

2.2.2. Изучение показателей репродуктивной функции самок крыс

К самкам на период в два эстральных цикла подсаживали интактных самцов в соотношении 1 : 3 (один самец на три самки). Днем начала гестации считали день, в который в вагинальном мазке самок были обнаружены сперматозоиды. Учитывали число самок, подсаженных к самцам, количество оплодотворенных и беременных самок. В течение беременности проводили измерение массы тела самок в динамике. На основании указанных выше показателей рассчитывали индексы фертильности (ИФ) и беременности (ИБ) (таблица 2.6).

Таблица 2.6

Индексы, характеризующие репродуктивную функцию самок
и формулы их расчета

№	Индексы	Формула расчета
1	2	3
1.	Фертильности	$I\Phi = \frac{\text{Число оплодотворенных самок}}{\text{Число самок, подсаженных к самцам}} \times 100\%$

продолжение таблицы 2.6

1	2	3
2.	Беременности	$\text{ИБ} = \frac{\text{Число беременных самок}}{\text{Число оплодотворенных самок}} \times 100\%.$
3.	Предимплантационной гибели	$\text{ИПредИГ} = \frac{\text{КЖТ} - \text{КМИ}}{\text{КЖТ}} \times 100\%.$
4.	Постимплантационной гибели	$\text{ИПостИГ} = \frac{\text{КМИ} - \text{КЖП}}{\text{КМИ}} \times 100\%.$
Примечание: КЖТ – количество желтых тел; КМИ – количество мест имплантации; КЖП – количество живых плодов.		

На 20-й день беременности самок подвергали эвтаназии и вскрывали. Определяли количество желтых тел, мест имплантации, количество живых и погибших плодов, а так же регистрировали все случаи пре- и постимплантационной гибели. На основании полученных результатов рассчитывали индексы пред- (ИПредИГ) и постимплантационной гибели (ИПостИГ).

Макроскопически оценивали состояние эмбрионов, их внутренних органов и скелета. Морфометрические характеристики эмбрионов (масса тела, краинокaudальный размер (общая длина тела плода без хвоста; ККР), длина передних и задних конечностей, окружность грудной клетки), выявленные аномалии развития органов и тканей, а также состояние плацент фиксировали в протоколе вскрытия. Кроме того рассчитывали плацентарно-плодовый коэффициент (ППК) [194, 195].

2.2.2.1. Оценка физического развития эмбрионов

Оценка развития эмбрионов проводилась на основании индексов физического развития. Оцениваемые индексы, а также формулы их расчета представлены в таблице 2.7 [196, 197, 198, 199].

Таблица 2.7

Индексы, характеризующие физическое развитие эмбрионов
и формулы их расчета

№	Индексы	Формула расчета
1.	Кетле I	$I = \frac{\text{Масса тела (г)}}{\text{KKР (см)}}$
2.	Кетле II	$I = \frac{\text{Масса тела (г)}}{\text{KKР}^2 \text{ (см)}}$
3.	Бонгарда	$I = \frac{\text{Масса тела (г)}}{\text{KKР (см)} * \text{обхват груди (см)}}$
4.	Вервека (модификация)	$I = \frac{\text{KKР (см)}}{2 \text{ масса тела (г)} + \text{обхват груди (см)}}$
5.	Пинье	$I = \text{Масса тела (г)} - \text{KKР (см)} + \text{обхват груди (см)}$
6.	Эрисмана	$I = \text{обхват груди (см)} - 0,5 * \text{KKР (см)}$
7.	Ливи	$I = \frac{3\sqrt{\text{масса тела (г)}}}{\text{KKР (см)} * 100}$
8.	Рорера	$I = \frac{\text{масса тела (г)} * 100}{\text{KKР}^3 \text{ (см),}}$

Единицы измерений, используемые в расчетах индексов, были адаптированы в соответствии с особенностями объекта исследования. За длину тела принимали ККР, выраженный в сантиметрах. Массу тела плодов для определения индексов Кетле I и II, Ливи и Рорера вычисляли в граммах, для всех остальных единиц измерения были килограммы. Окружность грудной клетки измеряли в сантиметрах.

2.2.2.2. Оценка развития внутренних органов и скелета эмбрионов

Половину от общего количества полученных эмбрионов помещали в раствор Буэна для последующего морфометрического исследования по методу Вильсона [200] в модификации А.П. Дыбана [201, 202]. Остальные эмбрионы фиксировали в 96° этиловом спирте, обрабатывали 1% раствором КОН и промывали деионизированной водой, после чего окрашивали ализарином и обезвоживали в смеси глицерина с 96° этанолом для оценки состояния скелета по методике До-

усона [203, 204].

Степень развития скелета эмбрионов и оссификацию костной ткани оценивали согласно рекомендациям [205]. Оссификацию оценивали по глубине окраски по отделам: кости черепа, грудного отдела, верхних и нижних конечностей, включая кости пояса конечностей. Частоту встречаемости задержки/снижения оссификации выражали в процентах. Оценивали следующие показатели: наличие/отсутствие оссификации костей грудины; количество оссифицированных позвонков хвоста, пястных костей и костей плюсны, проксимальных и дистальных фаланг каждой конечности. Кроме того оценивали количество сросденных, неправильно сочлененных, удвоенных, дефектных позвонков и ребер.

2.2.3. Изучение развития потомства в постнатальном периоде

При изучении развития родившегося потомства исследовали параметры физического развития и скорость созревания сенсорно-двигательных рефлексов в динамике.

2.2.3.1. Изучение физического развития

Изучавшиеся параметры потомства, их физического развития, а также сроки регистрации представлены в таблице 2.8.

Таблица 2.8
Параметры потомства и их физического развития

№	Параметры	Сроки регистрации, с какого дня
1	2	3
1.	Пол (самцы/самки)	20
2.	Масса тела, г	4
3.	Отлипание ушной раковины, сутки	2
4.	Появление первичного волосяного покрова, сутки	5
5.	Прорезывание резцов, сутки	8
6.	Открытие глаз, сутки	12
7.	Опусканье семенников	23
8.	Открытие влагалища у самок, сутки	28

2.2.3.2. Изучение скорости созревания сенсорно-двигательных рефлексов

При изучении скорости созревания сенсорно-двигательных рефлексов в период вскармливания исследовали сроки появления безусловных и формирования условных рефлексов у потомства. Использованные тесты и изучавшиеся показатели, а также сроки их проведения представлены в таблице 2.9.

Таблица 2.9

Сенсорно-двигательные рефлексы и способы их изучения у потомства

№	Тесты	Способ проведения исследования и регистрируемые показатели	Начало тестирования, дни
1	2	3	4
1.	Переворачивание на плоскости	Крысят клали на спину на плоской по- верхности, отпускали и измеряли время, необходимое для возвращения в нормаль- ное положение. Рефлекс считался сформированным, если крысята возвра- щались на все 4 лапы. Проводили 1 раз в день не более чем по 30 сек до полного формирования рефлекса.	2
2.	Отрицательный геотаксис	Крысят помещали на наклонную плос- кость (25^0) головой вниз. Рефлекс считал- ся сформированным, если крысята пово- рачивались на 180^0 . Проводили 1 раз в день по 1 мин до полного формирования рефлекса.	5
3.	Избегание обры- ва	Крысят клали на возвышающуюся над клеткой платформу таким образом, чтобы передние лапы касались ее края. Рефлекс считался сформированным, если в тече- ние 10 сек крысенок отползал от края площадки. Исследования проводили 1 раз в день до полного формирования рефлек- са.	6
4.	Открытое поле–1	Крысят помещали на площадку размерами 30 x 30 см разбитую линиями на 36 квадратов. Регистрировали :	6
		– поднимание головы и передних лап;	8–9
		– ползание;	9–11
		– опору на задние конечности и подъем всего тела;	13–15

продолжение таблицы 2.9

1	2	3	4
		– двигательную активность (число пересеченных квадратов), умывания, обнюхивания, стойки, карабканье на стенки, прыжки, время отсутствия активности, возможные аномалии походки.	17–20
5.	Избегание обрыва (вызванное визуальным стимулом)	Животное помещали на площадку, поднятую на высоту 45 см над поверхностью. Избегание падения принимали за положительное решение. Исследования проводили однократно, после открытия глаз.	14–15

2.2.4. Прочие методы лабораторных исследований

Кроме выше перечисленных, в работе были использованы и другие лабораторные методы. Перечень методов исследований, изучавшиеся показатели, а также использовавшееся оборудование представлены в таблице 2.10.

2.3. Методы статистической обработки результатов исследований

За единицу наблюдения при статистической обработке полученных результатов принимали одну самку или один помет. Статистическая обработка результатов производилась с использованием пакета программа Statistica 6,0 для Windows. Расчет средних величин регистрируемых показателей проводился общепринятыми статистическими методами.

В случае нормального распределения показателей в экспериментальных группах и равенства дисперсий использовались методы параметрической статистики (сравнения показателей с использованием t-критерия Стьюдента для связанных и несвязанных выборок). Для сравнения средних величин и установления статистической значимости различий с контролем при отсутствии признаков нормального распределения проводили статистическую обработку по непараметрическим тестам (Вилкоксона для связанных и Манна-Уитни для несвязанных выборок). «Нормальность» распределения определяли по критерию Шапиро-Уилка. Различия считали достоверными, если Р составлял 95 и более процентов ($p < 0,05 - 0,01$). В отношении данных, принадлежащих к распределению, отличному от нормального, применяли непараметрический метод Манна–Уитни [206, 207].

Таблица 2.10

Перечень других методов исследования, использованных в работе

№	Метод исследования	Изучаемые показатели и использованное оборудование
1	2	3
1.	Открытое поле	Показатели: латентный период выхода, горизонтальная и вертикальная (стойки) активность, груминг, болюсы, скорость движения животных и расстояние, пройденное животным в течение эксперимента, общая двигательная активность, количество движений в центре площадки и на периферии регистрируются в течение 2-х мин наблюдения [208]. Определение производили с использованием автоматической системы «Open Field/Phenomaster/Activity» фирмы TSE Systems (Германия) к которой через USB-порт были подключены камеры для животных с прозрачными пластмассовыми боковыми стенками, дном и крышкой (размером 50×50×50 см). Над камерой размещался источник света. Характер и количество движений регистрировались с помощью ИК-лучей. Расчет показателей осуществлялся с помощью программного обеспечения к установке.
2.	Приподнятый крестообразный лабиринт	Показатели: латентный период (с); время полного обхода (с); количество возвратов; количество поворотов; количество диаметральных переходов; количество стоек [184, 209]. Определение проводили с использованием «Приподнятого крестообразного лабиринта» фирмы Columbus Instruments (США).
3.	Электрокардиографическое исследование	Показатели: высота пиков Р и R, продолжительность интервалов РQ и QT. Регистрацию ЭКГ проводили с использованием ветеринарного электрокардиографа «Поли-Спектр-8Е/8В» фирмы «Нейрософт» (Россия). Анализ ЭКГ проводили при помощи пакета прикладных программ, предназначенных для мелких млекопитающих.
4.	Неинвазивное артериальное давление	Показатели: систолическое и диастолическое артериальное давление. Определение проводили с помощью системы измерения неинвазивного артериального давления у мелких животных в составе комплекса для электрофизиологических исследований MP150WSW «Biopac Systems, Inc.» (США).

продолжение таблицы 2.10

1	2	3
5.	Биохимическое исследование сыворотки крови	<p>Показатели: концентрация общего белка, альбумина, мочевины, креатинина, глюкозы, холестерина, общего билирубина, активность аспартатаминотрансферазы (АсАТ), аланинаминотрансферазы (АлАТ), щелочной фосфатазы (ЩФ) лактатдегидрогеназы (ЛДГ). Определение производили на биохимическом анализаторе А-25 фирмы BioSystems (Испания) с использованием наборов того же производителя.</p> <p>Показатели: содержание лутеинизирующего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и прогестерона (ПГ) определялось методом ИФА анализа с использованием набора CSB-E12654, CSB-E06869, CSB-E07282 фирмы Cusabio Biotech Co., Ltd. (Канада).</p>
6.	Гематологическое исследование	<p>Показатели: количество эритроцитов крови (RBC), концентрация гемоглобина (HGB), гематокрит (HCT), средний объем эритроцитов (MCV), содержание гемоглобина в эритроците (MCH), средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), общее количество лейкоцитов (WBC), лейкоцитарная формула, количество тромбоцитов (PLT), средний объем тромбоцита (MPV), количество ретикулоцитов, среднее количество гемоглобина в ретикулоцитах (CHr). Определение производили на автоматическом гематологическом анализаторе Advia 2120 фирмы Siemens (Германия).</p>
7.	Исследование мочи	<p>Показатели: количество, цвет, прозрачность, pH, удельный вес, концентрацию глюкозы, белка, билирубина, уробилиногена, гемопигментов, кетонов, нитритов и лейкоцитов. Определение производили с использованием тест-полосок Aution Sticks 10EA (серии OEA2E03 exp. 2014-05) на полуавтоматическом мочевом анализаторе Aution Eleven AE-4020 (Япония). Микроскопический анализ осадка мочи проводили по методу Штернхаймера для суправитального окрашивания с использованием набора Restain urine (Финляндия) [210, 211].</p>

продолжение таблицы 2.10

1	2	3
8.	Патоморфологические исследования	Патоморфологическое исследование включало некропсию, макроскопическое исследование, взвешивание и гистологическое исследование внутренних органов. Биоптаты исследуемых тканей фиксировались в 10% растворе нейтрального формалина в течение 24 часов, далее материал проходил стандартную обработку в изопропиловом спирте и парафине для изготовления гистологических и гистохимических препаратов. Для микроскопического исследования срезы окрашивались гематоксилином и эозином. Морфологическое исследование гистологических препаратов, проводилось при помощи светооптического микроскопа Leica DM LS. Органы, подлежащие гистологическому исследованию: аорта, сердце, трахея, легкие с бронхами, тимус, пищевод, желудок, поджелудочная железа, печень (две доли), селезенка, почки (две), яичники (два), щитовидная железа, головной мозг.

ГЛАВА III. ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ МОРФИНА ГИДРОХЛОРИДА НА ОБЩЕЕ СОСТОЯНИЕ И РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ САМОК И РАЗВИТИЕ ПОТОМСТВА

При выполнении настоящего раздела исследования нами было изучено влияние длительного (3-х месячного) применения МГХ в 1,0 и 10,0-кратной эффективной терапевтической дозе на общее состояние самок крыс различных возрастных групп (месячных, 2-х и 3-х месячных), репродуктивную функцию, состояние плодов и развитие потомства в постнатальном периоде.

3.1 Влияние хронического введения МГХ на общее состояние крыс самок

В рамках оценки общего состояния животных нами было изучено влияние хронического применения МГХ на: поведение, двигательную и исследовательскую активность; динамику массы тела, потребление корма и воды; сердечно-сосудистую систему; функциональное состояние почек; морфологические показатели периферической крови; биохимические показатели крови; морфологическую картину внутренних органов.

3.1.1. Влияние на поведение животных

Учитывая то обстоятельство, что во всех возрастных группах получавших МГХ в 1,0ЭТД нарушения поведения были аналогичными и менее выраженными, чем в группах, получавших максимальную из изучавшихся доз, в настоящем разделе будут представлены результаты, полученные только при введении ксенобиотика в 10,0ЭТД.

В ходе 3-х месячного введения МГХ в 10,0ЭТД был отмечен ряд особенностей поведения животных в зависимости от возраста начала введения ксенобиотика. Так, в группах, получавших МГХ с месячного и 2-х месячного возраста, ко второй неделе исследования через 15–20 мин после введения ксенобиотика у животных развивалось психомоторное возбуждение, проявлявшееся выраженной двигательной активностью (животные бегали по клетке и играли друг с другом), сохранявшейся в течение часа, и повышенный аппетит («кидались» на корм и съедали в течение 10–15 мин суточную норму). Кроме того, для всех животных было характерно интенсивное почесывание на протяжении первых

2-х часов после введения ксенобиотика.

В свою очередь, у животных, получавших МГХ с 3-х месячного возраста, в течение первой недели сразу после введения ксенобиотика отмечалась «настороженность», которая спустя пять часов трансформировалась в повышенную двигательную активность. В эти же сроки у животных регистрировали выраженный экзофталм и активные чесательные движения. Однако уже к началу второй недели поведенческие реакции, вызванные введением МГХ, у животных всех возрастных групп не различались и проявлялись только возбуждением и повышенной двигательной активностью. В остальное время поведение животных во всех возрастных группах не отличалось от контрольных.

К концу первого месяца исследования животные всех опытных групп ко времени введения МГХ были апатичными. У части крыс, получавших МГХ с месячного и 2-х месячного возраста, перед введением ксенобиотика наблюдалось выраженное возбуждение (животные передвигались по клетке скачками и при первой возможности выпрыгивали из нее). В свою очередь, через 10–15 мин после введения МГХ у животных всех опытных групп наблюдалась повышенная активность, и появлялся аппетит. Длительность активного периода существенно не зависела от возраста животных, и в среднем составляла 1,0–1,5 часа. После чего животные успокаивались, становились апатичными, и вяло реагировали на внешние раздражители до следующего введения МГХ.

Спустя два месяца от начала эксперимента у животных всех возрастных групп до введения МГХ отмечалась выраженная «суевтильность», а также повышенная «прыгучесть». После введения МГХ животные становились активными, «веселыми», играли друг с другом, активно потребляли корм. Кроме того, регистрировалось уменьшение длительности активного периода по сравнению с первым месяцем введения в среднем до 1,0 часа. После такого периода гиперактивности животные становились малоподвижными, безразличными к окружающему, слабо реагировали на внешние раздражители.

К концу третьего месяца эксперимента поведение животных не отличалось от описанного выше. Однако, в эти сроки «суевтильность» и повышенная «прыгу-

честь» регистрировалась у всех животных. Кроме того, отмечалось прогрессивное сокращение продолжительности фазы повышенной двигательной активности после введения МГХ и увеличение периода апатии.

В течение первой недели после прекращения введения МГХ у всех животных наблюдалась «нервозность», наиболее выраженная в первые три дня. При этом полная неподвижность могла сменяться психомоторным возбуждением, сопровождавшимся выраженной двигательной активностью (скачкообразными передвижениями по клетке). Подобная реакция могла возникать как без видимых причин, так и быть обусловлена внешними раздражителями. Тем не менее, агрессивного поведения как внутри группы, так и по отношению к исследователю нами зарегистрировано не было. В дальнейшем «нервозность» сменилась «апатией» (животные были малоподвижными и слабо реагировали на внешние раздражители), которая прогрессивно нарастала в течение второй недели, эпизоды психомоторного возбуждения в эти сроки уже не регистрировались. Начиная с 3-й недели с момента прекращения введения МГХ наблюдалась постепенная активизация животных всех экспериментальных групп, а к концу 4-ой недели их поведение не отличалось от контрольных.

Приведенные выше данные свидетельствуют о том, что у животных во всех экспериментальных группах вне зависимости от возраста начала введения МГХ, а также от дозы, в которой он применялся, через 3-и месяца развивались стойкие изменения поведения, которые постепенно нивелировались после отмены ксенобиотика.

3.1.2. Влияние на двигательную и исследовательскую активность

Изучение двигательной и исследовательской активности животных в тесте «открытое поле» проводилось через сутки после введения последней дозы МГХ. При анализе структуры поведения животных в «открытом поле» через три месяца введения ксенобиотика обращало на себя внимание общность изменений, которые наблюдались в группах получавших МГХ в 1,0 и 10,0ЭТД с месячного и 3-х месячного возраста. В то время как в группе получавшей

Таблица 3.1

Влияние на структуру поведения самок крыс различных возрастных групп
3-х месячного введения МГХ ($M \pm m$, $n = 10$)

Показатели	Группы животных									
	Месячные		2-х месячные		3-х месячные					
	Кон- троль	Получавшие МГХ в дозе (мг/кг/сутки)	Кон- троль	Получавшие МГХ в дозе (мг/кг/сутки)	Кон- троль	Получавшие МГХ в дозе (мг/кг/сутки)				
		6,0		7,2		5,0				
Горизонтальные перемещения, число актов	48,8 ± 9,1	42,7 ± 8,3	42,5 ± 7,2	55,9 ± 10,6	64,3 ± 15,1	56,9 ± 18,0	54,8 ± 8,2	41,1 ± 12,5	38,7 ± 10,2	
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	36,5 ± 5,5	33,8 ± 4,4	30,5 ± 5,4	42,2 ± 4,7	46,5 ± 6,7	36,2 ± 8,7	38,7 ± 4,9	33,2 ± 5,6	27,6 ± 5,0	
Груминг, число актов	15,7 ± 3,1	10,9 ± 2,1	11,9 ± 2,5	21,4 ± 4,3	16,3 ± 5,2	18,1 ± 6,7	23,4 ± 3,0	15,0 ± 3,6	11,1 ± 3,4	
Среднее расстояние, пройденное животным, м	1,85 ± 0,3	1,61 ± 0,3	1,50 ± 0,3	1,99 ± 0,4	2,33 ± 0,5	3,10 ± 1,0	2,1 ± 0,4	1,4 ± 0,4	1,5 ± 0,4	
Средняя скорость, развиваемая животным, см/с	1,53 ± 0,3	1,33 ± 0,2	1,24 ± 0,2	1,65 ± 0,3	1,93 ± 0,4	2,75 ± 1,0	1,8 ± 0,3	1,2 ± 0,3	1,2 ± 0,4	
Общая двигательная активность, число актов	85,3 ± 14,4	76,4 ± 12,2	73,0 ± 12,2	98,1 ± 14,9	110,8 ± 21,1	92,0 ± 26,8	93,5 ± 12,7	74,3 ± 17,9	66,3 ± 15,0	
Двигательная активность в центре площадки, число актов	6,3 ± 2,0	7,3 ± 1,5	5,6 ± 2,5	6,6 ± 2,7	9,3 ± 3,0	6,4 ± 2,0	11,7 ± 2,4	5,9 ± 2,8	5,4 ± 2,8	
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	79,0 ± 13,3	69,1 ± 11,6	67,4 ± 10,5	91,5 ± 13,1	101,5 ± 19,0	86,7 ± 24,9	81,8 ± 10,6	68,4 ± 15,4	60,9 ± 12,7	

ксенобиотик с 2-х месячного возраста, как правило, отмечались противоположные тенденции, особенно при использовании минимальной дозы МГХ (таблица 3.1).

В группах, получавших МГХ с месячного и 3-х месячного возраста, отмечалась тенденция к снижению всех изучавшихся показателей, причем наиболее выраженная при использовании 10,0ЭТД. В группе, получавшей МГХ с 2-х месячного возраста в 1,0ЭТД, была зарегистрирована тенденция к повышению всех изучавшихся показателей по сравнению с контролем за исключением груминга, который был несколько снижен. В свою очередь, в группе, получавшей 10,0ЭТД, отмечалось уменьшение вертикальных перемещений, активности на периферии площадки и груминга, в то время как средняя скорость, развивающаяся животными, и пройденное расстояние были больше, чем в контроле, однако указанные изменения не носили статистически значимого характера.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что после 3-х месяцев введения МГХ не наблюдалось значимых изменений в двигательной и ориентировочно-исследовательской активности во всех опытных группах по сравнению с контрольными. Таким образом, после 3-х месячного введения самкам крыс различных возрастных групп МГХ в 1,0 и 10,0ЭТД не было выявлено значимых нарушений в поведении животных.

3.1.3. Влияние на потребление воды, корма и динамику массы тела

При изучении влияния длительного введения МГХ в 1,0 и 10ЭТД на потребление воды крысами самками различных возрастных групп было установлено, что изменения данного показателя носят разнонаправленный характер (таблица 3.2). Так, в группе, получавшей МГХ с месячного возраста в 1,0ЭТД, различий в потреблении воды в сравнении с контрольной группой выявлено не было. В то время как при введении ксенобиотика в 10,0ЭТД на 14–21 сутки эксперимента отмечалась тенденция к снижению потребления воды, сменявшаяся на 30-е сутки увеличением этого показателя вплоть до 90-х суток, причем на 60-е сутки различия с контролем были статистически значимыми ($p < 0,05$).

В группе, получавшей МГХ с 2-х месячного возраста в 1,0ЭТД, отмечалась

тенденция к увеличению потребления воды на 2-ой и 3-ий месяц эксперимента. В группе, получавшей ксенобиотик в 10,0ЭТД изменения носили разнонаправленный характер в течение всего периода наблюдения, так на 7-е сутки потребление воды было ниже, а на 60-е – выше, чем в контроле ($p < 0,05$).

В группе, получавшей МГХ с 3-х месячного возраста в 1,0ЭТД, отмечалось снижение потребления воды в течение всего периода наблюдения, а с 21-го дня указанные изменения носили статистически значимый характер ($p < 0,05$). У животных, получавших ксенобиотик в 10,0ЭТД, потребление жидкости было увеличено, а с 30-го дня эксперимента изменения носили статистически значимый характер по сравнению с контрольной группой.

Результаты, полученные при изучении влияния МГХ на потребление корма животными различных возрастных групп, представлены в таблице 3.3. Как видно из представленных данных у животных, получавших МГХ с месячного возраста в 1,0ЭТД, потребление корма было ниже на 14-е сутки, а в остальное время не отличалось от контроля. В группе, получавшей 10,0ЭТД, снижения потребления корма, наблюдавшееся на 14–60-е сутки и носило статистически значимый характер ($p < 0,05$).

В группе, получавшей МГХ со 2-го месяца в 1,0ЭТД, на 14-е сутки, а в группе, получавшей 10,0ЭТД, на 14 и 30-й дни отмечалось снижение потребления корма. В остальные дни данный показатель не отличался от контроля.

Наиболее стойкое снижение потребления корма было зафиксировано в группе, получавшей МГХ в дозе 1,0ЭТД с 3-х месячного возраста, где было отмечено стабильное изменение пищевого поведения в течение всего исследования, причем в большинстве случаев статистически значимое, в то время как при использовании 10,0ЭТД снижение потребления корма наблюдалось только на 7–14-е сутки (таблица 3.3).

При изучении влияния МГХ на динамику массы тела животных

Таблица 3.2

Потребление воды (мл/10 крыс/сутки) крысами самками разных возрастных групп получавшими МГХ ($M \pm m$, $n = 10$)

№ п/п	Группы животных	Сроки исследования (дни)						
		Фон	7	14	21	30	60	90
1	Контроль месячные	236,0 ± 2,0	243,0 ± 5,0	211,0 ± 7,0	261,0 ± 16,0	240,0 ± 26,0	217,0 ± 17,0	317,0 ± 43,0
2	Получавшие МГХ с месячного возраста в дозе 6,0 мг/кг/сутки	239,0 ± 3,0	243,0 ± 3,0	193,0 ± 7,0	268,0 ± 5,0	230,0 ± 7,0	220,0 ± 15,0	317,0 ± 15,0
3	Получавшие МГХ с месячного возраста в дозе 60,0 мг/кг/сутки	243,0 ± 3,0	234,0 ± 6,0	185,0 ± 13,0	246,0 ± 12,0	285,0 ± 17,0	287,0 ± 3,0*	333,0 ± 25,0
4	Контроль 2-х месячные	233,0 ± 6,0	235,0 ± 10,0	200,0 ± 4,0	309,0 ± 25,0	278,0 ± 18,0	267,0 ± 7,0	297,0 ± 9,0
5	Получавшие МГХ с 2-х месячного возраста в дозе 7,2 мг/кг/сутки	243,0 ± 5,0	243,0 ± 9,0	190,0 ± 12,0	310,0 ± 7,0	288,0 ± 5,0	307,0 ± 19,0	327,0 ± 38,0
6	Получавшие МГХ с 2-х месячного возраста в дозе 72,0 мг/кг/сутки	239,0 ± 5,0	208,0 ± 5,0*	195,0 ± 13,0	339,0 ± 29,0	271,0 ± 14,0	363,0 ± 32,0*	300,0 ± 6,0
7	Контроль 3-х месячные	241,0 ± 4,0	213,0 ± 15,0	218,0 ± 14,0	240,0 ± 7,0	243,0 ± 15,0	283,0 ± 3,0	273,0 ± 9,0
8	Получавшие МГХ с 3-х месячного возраста в дозе 5,0 мг/кг/сутки	239,0 ± 4,0	205,0 ± 3,0	190,0 ± 7,0	198,0 ± 8,0*	213,0 ± 3,0*	240,0 ± 6,0*	253,0 ± 3,0*
9	Получавшие МГХ с 3-х месячного возраста в дозе 50,0 мг/кг/сутки	240,0 ± 2,0	219,0 ± 10,0	233,0 ± 9,0	273,0 ± 14,0	310,0 ± 6,0*	340,0 ± 10,0*	337,0 ± 12,0*

Примечание: * – отличие от контроля значимо, при $p < 0,05$

Таблица 3.3

Потребление корма (г/10 крыс/сутки) крысами самками различных возрастных групп получавшими МГХ ($M \pm m$, $n = 10$)

№ п/п	Группы животных	Сроки исследования (дни)						
		Фон	7	14	21	30	60	90
1	Контроль месячные	98,0 ± 1,0	97,0 ± 1,0	129,0 ± 11,0	149,0 ± 1,0	198,0 ± 1,0	199,0 ± 1,0	151,0 ± 10,0
2	Получавшие МГХ с месячного возраста в дозе 6,0 мг/кг/сутки	98,0 ± 1,0	99,0 ± 1,0	106,0 ± 4,0*	148,0 ± 1,0	198,0 ± 1,0	199,0 ± 1,0	183,0 ± 15,0
3	Получавшие МГХ с месячного возраста в дозе 60,0 мг/кг/сутки	98,0 ± 1,0	98,0 ± 1,0	57,0 ± 9,0*	140,0 ± 4,0*	186,0 ± 9,0	162,0 ± 3,0*	148,0 ± 13,0
4	Контроль 2-х месячные	96,0 ± 2,0	96,0 ± 1,0	148,0 ± 1,0	167,0 ± 16,0	183,0 ± 7,0	198,0 ± 1,0	138,0 ± 4,0
5	Получавшие МГХ с 2-х месячного возраста в дозе 7,2 мг/кг/сутки	98,0 ± 1,0	98,0 ± 1,0	138,0 ± 5,0*	189,0 ± 7,0	172,0 ± 4,0	198,0 ± 1,0	129,0 ± 11,0
6	Получавшие МГХ с 2-х месячного возраста в дозе 72,0 мг/кг/сутки	100,0 ± 1,0	97,0 ± 1,0	129,0 ± 2,0*	178,0 ± 10,0	138,0 ± 6,0*	198,0 ± 2,0	129,0 ± 6,0
7	Контроль 3-х месячные	138,0 ± 3,0	132,0 ± 9,0	141,0 ± 4,0	146,0 ± 1,0	166,0 ± 12,0	176,0 ± 7,0	170,0 ± 7,0
8	Получавшие МГХ с 3-х месячного возраста в дозе 5,0 мг/кг/сутки	140,0 ± 1,0	119,0 ± 6,0	120,0 ± 4,0*	126,0 ± 1,0*	143,0 ± 8,0	155,0 ± 4,0*	157,0 ± 4,0*
9	Получавшие МГХ с 3-х месячного возраста в дозе 50,0 мг/кг/сутки	139,0 ± 2,0	102,0 ± 6,0*	122,0 ± 5,0*	137,0 ± 7,0	184,0 ± 9,0	169,0 ± 7,0	171,0 ± 8,0

Динамика массы тела (кг) у самок крыс различных возрастных групп
получавших МГХ ($M \pm m$, $n=10$)

№ п/п	Группы животных	Сроки исследования (дни)						
		Фон	7	14	21	30	60	90
1	Контроль месячные	0,050 ± 0,001	0,081 ± 0,003	0,123 ± 0,002	0,141 ± 0,003	0,161 ± 0,004	0,216 ± 0,004	0,222 ± 0,005
2	Получавшие МГХ с месячного возраста в дозе 6,0 мг/кг/сутки	0,049 ± 0,001	0,073 ± 0,002*	0,116 ± 0,003	0,139 ± 0,003	0,158 ± 0,004	0,216 ± 0,006	0,224 ± 0,007
3	Получавшие МГХ с месячного возраста в дозе 60,0 мг/кг/сутки	0,049 ± 0,001	0,065 ± 0,003*	0,102 ± 0,003*	0,126 ± 0,003*	0,142 ± 0,003*	0,200 ± 0,005*	0,207 ± 0,005*
4	Контроль 2-х месячные	0,089 ± 0,001	0,110 ± 0,001	0,132 ± 0,003	0,151 ± 0,003	0,227 ± 0,003	0,237 ± 0,005	0,246 ± 0,004
5	Получавшие МГХ с 2-х месячного возраста в дозе 7,2 мг/кг/сутки	0,088 ± 0,001	0,108 ± 0,002	0,133 ± 0,002	0,153 ± 0,002	0,220 ± 0,004	0,222 ± 0,003*	0,237 ± 0,004
6	Получавшие МГХ с 2-х месячного возраста в дозе 72,0 мг/кг/сутки	0,089 ± 0,002	0,109 ± 0,001	0,119 ± 0,003*	0,135 ± 0,003*	0,213 ± 0,003*	0,208 ± 0,004*	0,220 ± 0,005*
7	Контроль 3-х месячные	0,182 ± 0,002	0,206 ± 0,002	0,209 ± 0,003	0,220 ± 0,003	0,236 ± 0,003	0,257 ± 0,004	0,259 ± 0,004
8	Получавшие МГХ с 3-х месячного возраста в дозе 5,0 мг/кг/сутки	0,177 ± 0,003	0,200 ± 0,002*	0,202 ± 0,004	0,212 ± 0,003*	0,224 ± 0,004*	0,240 ± 0,005*	0,247 ± 0,004*
9	Получавшие МГХ с 3-х месячного возраста в дозе 50,0 мг/кг/сутки	0,180 ± 0,003	0,199 ± 0,003*	0,198 ± 0,002*	0,209 ± 0,003*	0,223 ± 0,003*	0,240 ± 0,004*	0,249 ± 0,004

Примечание: * – отличие от контроля значимо, при $p < 0,05$

различных возрастных групп следует отметить, что если в группах, получавших ксенобиотик в 1,0ЭТД, наблюдалась преимущественно тенденция к снижению этого показателя, то в группах, получавших 10,0ЭТД, изменения носили статистически значимый характер практически в течение всего периода наблюдения (таблица 3.4).

Подводя итог рассмотрению представленных в данном разделе параметров, следует заключить, что наиболее показательными были изменения массы тела самок крыс на фоне введения МГХ, которые имели односторонний характер, были наиболее выражеными и статистически значимыми по отношению к контролю при введении ксенобиотика в 10,0ЭТД для всех возрастных групп.

3.1.4. Влияние на сердечно-сосудистую систему

Влияние 3-х месячного введения МГХ на сердечно сосудистую систему крыс оценивали по показателям систолического (САД) и диастолического артериального давления (ДАД), частоте сердечных сокращений (ЧСС) и данным электрокардиографического исследования через 24 часа после заключительного введения ксенобиотика.

Результаты проведенных исследований представлены в таблице 3.5. 3-х месячное введение МГХ в 1,0 и 10,0ЭТД животным всех возрастных групп не оказывало влияния на такие показатели системной гемодинамики, как частота сердечных сокращений, систолическое и диастолическое артериальное давление. В свою очередь при анализе данных электрокардиографии следует отметить, что во всех экспериментальных группах зафиксировано увеличение вариабельности таких показателей как высота зубцов Р и R, а также длительности интервала QT, в то время как интервал PQ был подвержен изменениям в меньшей степени. Из представленных данных следует, что трехмесячное введение МГХ в диапазоне исследуемых доз крысам самкам всех возрастных групп не оказывало значимого влияния на изучавшиеся показатели сердечно-сосудистой системы.

Таблица 3.5

Влияние 3-х месячного введения МГХ на показатели сердечно-сосудистой системы
самок крыс ($M \pm m$, $n = 10$)

Показатели	Группы животных								
	Месячные		2-х месячные		3-х месячные				
	Контроль	Получавшие МГХ в дозе (мг/кг/сутки)	Контроль	Получавшие МГХ в дозе (мг/кг/сутки)	Контроль	Получавшие МГХ в дозе (мг/кг/сутки)			
							5,0	50,0	
САД, мм.рт.ст	120,5 ± 10,0	121,3 ± 12,0	125,2 ± 10,6	118,0 ± 13,5	120,3 ± 17,0	120,2 ± 11,0	123,1 ± 10,3	116,7 ± 10,4	120,0 ± 8,8
ДАД, мм.рт.ст	98,9 ± 8,6	99,5 ± 8,6	101,2 ± 8,4	94,8 ± 10,5	96,9 ± 14,4	99,3 ± 13,7	102,4 ± 7,1	91,4 ± 11,6	92,9 ± 12,1
ЧСС, уд/мин	510,2 ± 27,7	511,3 ± 22,5	497,5 ± 26,9	505,9 ± 29,1	503,5 ± 32,3	519,6 ± 18,0	511,6 ± 13,2	487,9 ± 52,0	492,3 ± 18,7
P, мВ	0,11 ± 0,01	0,07 ± 0,04	0,07 ± 0,03	0,10 ± 0,02	0,07 ± 0,03	0,08 ± 0,03	0,09 ± 0,03	0,09 ± 0,03	0,08 ± 0,02
R, мВ	0,47 ± 0,10	0,43 ± 0,12	0,47 ± 0,16	0,50 ± 0,16	0,57 ± 0,11	0,52 ± 0,26	0,52 ± 0,15	0,58 ± 0,25	0,53 ± 0,26
PQ, мс	49,3 ± 5,4	51,2 ± 13,0	47,4 ± ,6	48,3 ± 4,8	46,2 ± 2,8	48,1 ± 3,7	48,4 ± 4,0	47,9 ± 3,1	49,8 ± 1,2
QT, мс	79,8 ± 8,7	79,7 ± 13,0	79,3 ± 11,8	81,2 ± 9,7	74,0 ± 15,2	78,6 ± 14,1	75,4 ± 7,9	83,7 ± 16,5	78,7 ± 10,9

3.1.5. Влияние на параметры функционального состояния почек

Оценку функциональной активности почек после 3-х месячного введения МГХ проводили на основе данных, полученных при изучении анализа мочи и мочевого осадка.

При изучении влияния 3-х месячного применения МГХ на клинический анализ мочи животных, получавших ксенобиотик с месячного возраста во всем диапазоне доз, обращало на себя внимание статистически значимое ($p < 0,05$) снижение концентрации уробилиногена, билирубина, креатинина, белка, микроальбумина, глюкозы и тенденция к снижению кетонов, нитритов и аскорбиновой кислоты (таблица 3.6).

В группах, получавших МГХ с 2-х и 3-х месячного возраста, отмечались, в общем, сходные тенденции в изменении исследуемых показателей. В группе крыс, получавших ксенобиотик в 1,0ЭТД, было характерно повышение концентрации билирубина, кетонов и креатинина. В свою очередь для животных, получавших МГХ в 10,0ЭТД, характерным было увеличение концентрации билирубина, креатинина и снижение микроальбумина и глюкозы.

При анализе микроскопического организованного осадка мочи подопытных крыс после трехмесячного введения МГХ не было выявлено значимых отличий от контрольных групп животных (таблица 3.7).

Таким образом, спустя три месяца от начала применения МГХ, наиболее выраженные изменения функции почек были зарегистрированы в группе животных, получавшей ксенобиотик с месячного возраста. Выявленные в этой группе изменения и тенденции указывают на развитие у животных начальной стадии гепаторенальной дисфункции, что является прямым следствием введения МГХ. В свою очередь, анализ клинико-диагностических показателей мочи подопытных крыс самок показал, что 3-х месячное введение МГХ животным 2-х и 3-х месячного возраста во всем диапазоне доз выраженного влияния на функцию почек не оказывало.

Таблица 3.6

Влияние 3-х месячного введения МГХ на клинические показатели функций почек
у самок крыс ($M \pm m$, $n = 6$)

Показатели	Группы животных								
	Месячные		2-х месячные		3-х месячные				
	Кон- троль	Получавшие МГХ в дозе (мг/кг/сутки)	Кон- троль	Получавшие МГХ в дозе (мг/кг/сутки)	Кон- троль	Получавшие МГХ в дозе (мг/кг/сутки)			
						5,0	50,0		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Диурез, мл/сут	$5,4 \pm 2,6$	$6,1 \pm 0,9$	$11,5 \pm 2,8$	$8,6 \pm 3,5$	$9,0 \pm 2,8$	$8,5 \pm 1,4$	$7,8 \pm 2,7$	$4,22 \pm 0,35$	$8,6 \pm 1,0$
Цвет	светло-желтый - желтый	светло-желтый - желтый	светло-желтый	светло-желтый - желтый	светло-желтый - желтый	светло-желтый - желтый	светло-желтый - желтый	желтый	светло-желтый - желтый
Прозрачность	мутная, прозрачная	мутная	мутная, прозрачная	мутная	мутная	мутная	мутная, прозрачная	мутная, прозрачная	мутная, прозрачная
pH, ед	$6,7 \pm 0,3$	$6,5 \pm 0,2$	$6,9 \pm 0,2$	$6,6 \pm 0,2$	$6,5 \pm 0,2$	$6,9 \pm 0,4$	$6,9 \pm 0,3$	$6,5 \pm 0,2$	$7,0 \pm 0,2$
Плотность, г/мл	$1,027 \pm 0,003$	$1,026 \pm 0,003$	$1,021 \pm 0,004$	$1,028 \pm 0,002$	$1,027 \pm 0,003$	$1,024 \pm 0,003$	$1,025 \pm 0,003$	$1,030 \pm 0,003$	$1,029 \pm 0,001$
Уробилиноген, мг/дл	$0,68 \pm 0,19$	0,2*	0,2*	$0,68 \pm 0,19$	$1,08 \pm 0,40$	$0,68 \pm 0,19$	$0,52 \pm 0,19$	$0,52 \pm 0,19$	$0,52 \pm 0,19$

продолжение таблицы 3.6

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Билирубин, мг/дл	0,6 ± 0,2	0*	0*	0,4 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,2 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,4 ± 0,2
Кетоны, мг/дл	3,0 ± 1,0	1,0 ± 1,0	2,0 ± 1,0	3,0 ± 1,0	4,0 ± 1,0	3,0 ± 1,0	2,0 ± 1,0	3,0 ± 1,0	2,0 ± 1,0
Креатинин, мг/дл	110,0 ± 24,0	100,0 ± 27,0	60,0 ±10,0*	160,0 ± 24,0	220,0 ± 37,0	160,0 ± 24,0	160,0 ± 24,0	200,0 ± 24,0	180,0 ± 20,0
Белок, % животных с положительным признаком.	80,0	20,0	0*	60,0	80,0	60,0	60,0	80,0	40,0
Микроальбумины, мг/дл	112,0 ± 24,0	74,0 ± 22,0	46,0 ± 14,0*	112,0 ± 24,0	102,0 ± 29,0	102,0 ± 29,0	126,0 ± 24,0	136,0 ± 14,0	108,0 ± 17,0
Нитриты, % животных с положительным признаком.	40,0	0	20,0	60,0	60,0	60,0	0	0	0
Глюкоза, мг/дл	20,0 ± 12,0	0*	0*	40,0 ± 10,0	40,0 ± 10,0	10,0 ± 10,0	10,0 ± 10,0	10,0 ± 10,0	0
Аскорбиновая кислота, мг/дл	14,0 ± 9,0	0	0	2,0 ± 2,0	7,0 ± 5,0	2,0 ± 2,0	0	0	2,0 ± 2,0

Таблица 3.7

Влияние 3-х месячного введения МГХ на содержание элементов мочевого осадка
у самок крыс ($M \pm m$, $n = 6$)

Показатели	Группы животных								
	Месячные		2-х месячные		3-х месячные				
	Контроль	Получавшие МГХ в дозе (мг/кг/сутки)	Контроль	Получавшие МГХ в дозе (мг/кг/сутки)	Контроль	Получавшие МГХ в дозе (мг/кг/сутки)			
							5,0	50,0	
Эпителий плоский, кл в п/з	1,67 ± 0,84	1,58 ± 0,53	0,53 ± 0,34	2,38 ± 0,79	0,82 ± 0,22	0,99 ± 0,99	1,21 ± 0,55	1,23 ± 0,64	1,14 ± 0,43
Эпителий переходный, кл в п/з	1,06 ± 0,29	0,53 ± 0,22	0,44 ± 0,28	1,06 ± 0,36	0,88 ± 0,31	0,77 ± 0,44	0,99 ± 0,45	1,89 ± 0,87	0,44 ± 0,14
Лейкоциты, кл/мкл	10,82 ± 6,18	5,19 ± 1,70	3,96 ± 2,29	8,34 ± 3,31	6,3 ± 2,5	11,42 ± 5,49	6,93 ± 2,76	5,54 ± 0,22	7,74 ± 2,35
Цилиндры в п/з	0,88 ± 0,29	1,56 ± 0,52	0,44 ± 0,28	1,4 ± 0,4	0,97 ± 0,25	1,10 ± 0,38	1,76 ± 1,00	1,06 ± 0,41	0,88 ± 0,37
Эритроциты, кл/мкл	3,34 ± 3,12	0,35 ± 0,16	1,14 ± 0,63	1,23 ± 0,71	0,44 ± 0,44	3,52 ± 2,25	0,88 ± 0,54	0,70 ± 0,18	1,85 ± 0,61
Соли	41,7 ± 26,7	21,4 ± 20,8	1,50 ± 0,9	48,40 ± 8,9	57,2 ± 10,6	25,5 ± 9,3	25,7 ± 12,9	9,9 ± 6,6	27,1 ± 11,2

Примечание: * – отличие от контроля значимо, при $p < 0,05$

3.1.6. Влияние на морфологические показатели периферической крови

При проведении сравнительного анализа гематологических показателей у крыс самок различных возрастных групп, получавших в течение 3-х месяцев МГХ во всем диапазоне доз, достоверных изменений со стороны красной крови выявлено не было (таблица 3.8). Однако, обращала на себя внимание, тенденция к снижению количества тромбоцитов у животных, получавших МГХ с 2-х и 3-х месячного возраста в десятикратной эффективной терапевтической дозе.

При проведении сравнительного анализа показателей белой крови у крыс самок, получавших с месячного возраста в течение 3-х месяцев МГХ в 1,0ЭТД, была выявлена тенденция к развитию моноцито- и эозинофилопении, сочетавшихся с базофильно- и лимфоцитозом. В свою очередь, в группе животных, получавших 10,0 ЭТД на фоне выраженного лейкоцитоза ($p < 0,05$) наблюдалась тенденция к повышению абсолютного числа нейтрофилов, моноцитов, базофилов и неидентифицированных клеток, а также увеличение абсолютного количества лимфоцитов и эозинофилов ($p < 0,05$) в сравнении с контролем. Указанные данные могут свидетельствовать о снижении иммунобиологической резистентности организма при длительном введении морфина.

При изучении влияния МГХ на показатели белой крови у 2-х и 3-х месячных животных, получавших ксенобиотик в 1,0ЭТД, отмечались схожие изменения. Так, для этих групп животных была характерна тенденция к снижению абсолютного числа нейтрофилов и увеличение лейкоцитов при достоверном изменении их относительного количества ($p < 0,05$). Однако, в группе 2-х месячных животных также наблюдалась относительная и абсолютная эозинопения.

Было замечено, также, сходство изменений показателей белой крови в группах, получавших МГХ в 10,0ЭТД с 2-х и 3-х месячного возраста. Так для этих групп была характерна тенденция к увеличению относительного и абсолютного количества моноцитов на фоне незначительной лейкоцитопении.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что введение МГХ в 1,0

Таблица 3.8

Влияние 3-х месячного введения МГХ на показатели гемограммы у самок крыс ($M \pm m$, $n = 10$)

Показатели	Группы животных								
	Месячные		2-х месячные		3-х месячные				
	Контроль	Получавшие МГХ в дозе (мг/кг/сутки)	Контроль	Получавшие МГХ в дозе (мг/кг/сутки)	Контроль	Получавшие МГХ в дозе (мг/кг/сутки)			
							5,0	50,0	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Количество лейкоцитов, $10^3/\text{мкл}$	6,56 ± 1,09	7,98 ± 0,77	9,35 ± 1,34*	6,78 ± 1,17	7,03 ± 0,64	5,95 ± 1,04	8,00 ± 1,18	8,41 ± 1,38	7,34 ± 1,06
Количество эритроцитов, $10^6/\text{мкл}$	7,74 ± 0,18	7,06 ± 0,51	7,59 ± 0,32	8,00 ± 0,18	7,55 ± 0,17	7,60 ± 0,38	7,93 ± 0,10	7,84 ± 0,16	7,72 ± 0,18
Концентрация гемоглобина, г/дл	14,4 ± 0,2	13,9 ± 0,8	14,2 ± 0,5	14,4 ± 0,3	14,2 ± 0,3	14,5 ± 0,4	14,4 ± 0,2	14,3 ± 0,3	13,9 ± 0,8
Гематокрит, %	40,1 ± 0,8	37,8 ± 2,4	40,3 ± 1,6	41,3 ± 0,9	40,3 ± 0,9	41,0 ± 1,6	41,6 ± 0,5	41,2 ± 0,7	40,8 ± 1,0
Средний объем эритроцита, фл	51,9 ± 0,4	52,5 ± 0,7	53,2 ± 0,6	51,7 ± 0,6	53,3 ± 0,6	53,1 ± 0,9	52,6 ± 0,4	52,6 ± 0,3	52,8 ± 0,5
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг	18,6 ± 0,2	18,5 ± 0,4	18,9 ± 0,2	18,1 ± 0,3	18,9 ± 0,3	19,2 ± 0,5	18,2 ± 0,3	18,2 ± 0,2	17,9 ± 0,7
Количество тромбоцитов, $10^3/\text{мкл}$	635,3 ± 35,2	598,0 ± 43,2	615,1 ± 40,1	730,7 ± 68,2	647,4 ± 89,3	545,7 ± 61,2	837,6 ± 49,7	845,7 ± 49,9	683,6 ± 70,1
% нейтрофилов, %	26,2 ± 2,7	21,4 ± 3,0	19,7 ± 1,9	23,2 ± 1,9	19,0 ± 1,8*	22,6 ± 3,4	20,4 ± 1,5	12,2 ± 3,1*	19,7 ± 3,8

продолжение таблицы 3.8

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
% лимфоцитов, %	63,2 ± 3,0	68,8 ± 4,3	66,9 ± 3,1	68,2 ± 1,4	72,5 ± 0,9*	63,0 ± 3,4	69,9 ± 1,7	80,9 ± 4,7*	70,9 ± 5,1
% моноцитов, %	2,4 ± 0,2	1,7 ± 0,2*	2,2 ± 0,3	1,5 ± 0,2	1,5 ± 0,1	2,0 ± 0,3	1,9 ± 0,2	1,2 ± 0,3	3,1 ± 1,1
% эозинофилов, %	2,6 ± 0,4	1,5 ± 0,1*	3,1 ± 0,3	2,4 ± 0,5	1,6 ± 0,1	3,4 ± 0,4	3,6 ± 0,4	2,3 ± 0,7	2,9 ± 0,7
% базофилов, %	0,9 ± 0,1	1,1 ± 0,2	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,7 ± 0,1
% неидентифицированных, %	4,8 ± 1,2	5,5 ± 1,4	7,4 ± 1,5	4,0 ± 0,9	4,7 ± 0,6	8,2 ± 0,8	3,4 ± 0,6	2,7 ± 0,8	2,6 ± 0,7
Количество нейтрофилов, $10^3/\text{мкл}$	1,65 ± 0,23	1,66 ± 0,24	1,81 ± 0,19	1,49 ± 0,24	1,31 ± 0,10	1,29 ± 0,20	1,55 ± 0,22	1,05 ± 0,33	1,49 ± 0,33
Количество лимфоцитов, $10^3/\text{мкл}$	4,18 ± 0,69	5,56 ± 0,76	6,33 ± 0,60*	4,68 ± 0,83	5,12 ± 0,49	3,77 ± 0,59	5,69 ± 0,92	6,78 ± 1,09	5,13 ± 0,76
Количество моноцитов, $10^3/\text{мкл}$	0,16 ± 0,03	0,13 ± 0,02	0,20 ± 0,02	0,10 ± 0,02	0,10 ± 0,01	0,13 ± 0,03	0,14 ± 0,01	0,11 ± 0,04	0,20 ± 0,06
Количество эозинофилов, $10^3/\text{мкл}$	0,16 ± 0,03	0,12 ± 0,01	0,28 ± 0,03*	0,14 ± 0,01	0,11 ± 0,01*	0,21 ± 0,04	0,30 ± 0,06	0,18 ± 0,06	0,25 ± 0,08
Количество базофилов, $10^3/\text{мкл}$	0,06 ± 0,01	0,09 ± 0,02	0,08 ± 0,01	0,06 ± 0,02	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,07 ± 0,02	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,01
Количество неидентифицированных, $10^3/\text{мкл}$	0,34 ± 0,10	0,43 ± 0,11	0,65 ± 0,11	0,32 ± 0,10	0,34 ± 0,06	0,51 ± 0,12	0,25 ± 0,05	0,22 ± 0,07	0,21 ± 0,07

Примечание: * – отличие от контроля значимо, при $p < 0,05$; ^ – отличие от контроля значимо, при $p < 0,01$.

и 10,0ЭТД в течение трех месяцев 2-х и 3-х месячным животным приводило к слабо выраженным изменениям отдельных параметров лейкоцитарной формулы, судя по всему, не связанных с применением ксенобиотика.

3.1.7. Влияние на биохимические показатели крови

Нами было изучено влияние 3-х месячного введения МГХ на основные биохимические показатели плазмы крови в зависимости от дозы и возраста начала введения ксенобиотика (таблице 3.9).

Было установлено, что в группах, получавших МГХ с месячного и 2-х месячного возраста, наблюдалось статистически значимое снижение концентрации общего белка и альбумина во всем диапазоне доз, в то время как в группах, получавших ксенобиотик с 3-х месяцев, была зарегистрирована тенденция к гиперпротеинемии без изменения содержания альбумина. В свою очередь, концентрация глюкозы во всех опытных группах была в пределах контрольных значений.

В группах животных, получавших МГХ в 10,0ЭТД, было зарегистрировано повышение активности аспартат- и аланинаминотрансферазы. В то время как, активность щелочной фосфатазы в группе, получавшей МГХ с месячного возраста в 10,0ЭТД, была снижена, а у получавших с 2-х и 3-х месячного возраста – повышена по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Активность лактатдегидрогеназы во всех опытных группах была на уровне контрольных значений.

При изучении концентрации холестерина в группах, получавших МГХ с месячного и 2-х месячного возраста, было зарегистрировано достоверное его снижение, в то время как в группе, получавшей ксенобиотик с 3-х месячного возраста, отмечена тенденция к его повышению.

При анализе концентрации билирубина было установлено, что во всех возрастных группах при введении МГХ в 1,0ЭТД отмечалось его статистически значимое снижение, а при 10,0ЭТД – только тенденция к снижению.

Кроме того, во всех опытных группах тенденция к повышению концентрации креатинина и мочевины, причем при введении 10,0ЭТД

Таблица 3.9

Основные биохимические показатели сыворотки крови у самок крыс после 3-х месячного введения МГХ ($M \pm m$, $n = 10$)

Показатели	Группы животных								
	Месячные		2-х месячные		3-х месячные				
	Контроль	Получавшие МГХ в дозе (мг/кг/сутки)		Контроль	Получавшие МГХ в дозе (мг/кг/сутки)		Контроль	Получавшие МГХ в дозе (мг/кг/сутки)	
		6,0	60,0		7,2	72,0		5,0	50,0
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Общий белок, г/л	68,8 ± 1,0	62,4 ± 0,9*	64,9 ± 1,2*	67,6 ± 1,3	65,1 ± 1,3	62,8 ± 1,3*	65,9 ± 1,1	68,2 ± 0,6	67,6 ± 1,5
Альбумин, г/л	31,0 ± 0,7	27,4 ± 1,2*	28,1 ± 0,7*	33,3 ± 0,7	30,5 ± 0,8*	26,8 ± 1,0*	30,6 ± 1,2	32,0 ± 0,9	30,5 ± 0,9
Глюкоза, ммоль/л	5,2 ± 0,1	5,7 ± 0,4	5,2 ± 0,2	5,2 ± 0,4	5,3 ± 0,1	5,1 ± 0,2	5,0 ± 0,2	5,3 ± 0,2	5,5 ± 0,3
АлАТ, ЕД/л	44,4 ± 3,8	44,0 ± 2,8	68,4 ± 5,0*	45,3 ± 3,4	47,0 ± 3,4	73,9 ± 4,0*	50,5 ± 2,7	50,7 ± 3,8	66,3 ± 6,5*
АсАТ, ЕД/л	173,1 ± 6,3	184,8 ± 5,7	234,4 ± 14,4*	188,3 ± 7,3	197,8 ± 9,3	275,2 ± 28,1*	186,0 ± 10,5	179,3 ± 8,2	203,6 ± 11,5
Щелочная фосфатаза, ЕД/л	115,2 ± 5,7	120,0 ± 15,2	91,0 ± 5,3*	67,3 ± 7,3	67,3 ± 3,7	94,8 ± 8,3*	48,1 ± 4,0	57,9 ± 6,1	76,0 ± 8,2*
ЛДГ, ЕД/л	1315,3 ± 75,5	1449,4 ± 80,2	1390,2 ± 92,0	1560,1 ± 73,4	1510,0 ± 85,9	1648,5 ± 60,2	1414,8 ± 75,4	1460,9 ± 28,6	1353,1 ± 57,7
Холестерин, ммоль/л	1,5 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,0 ± 0,0*	1,5 ± 0,1	1,5 ± 0,1	0,9 ± 0,1*	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,5 ± 0,1

продолжение таблицы 3.9

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Билирубин общий, мкмоль/л	3,0 ± 0,3	1,5 ± 0,3*	2,5 ± 0,2	4,0 ± 0,3	2,6 ± 0,2*	3,6 ± 0,2	4,1 ± 0,3	3,1 ± 0,3*	3,6 ± 0,3
Мочевина ммоль/л	5,9 ± 0,4	7,2 ± 0,7	7,7 ± 0,5*	5,2 ± 0,5	6,0 ± 0,3	6,2 ± 0,5*	5,5 ± 0,2	5,9 ± 0,3	6,2 ± 0,2*
Креатинин, мкмоль/л	58,0 ± 1,9	62,4 ± 1,9	64,0 ± 2,3	70,3 ± 3,2	74,3 ± 3,8	75,7 ± 2,7	70,9 ± 1,9	71,9 ± 3,1	75,7 ± 6,4

во всех возрастных группах отмечалось увеличение концентрации мочевины по сравнению с контрольными группами.

Таким образом, длительное введение МГХ сопровождалось изменением биохимических показателей, свидетельствующим о транзиторном нарушении функции печени и почек, наиболее выраженным в группах, получавших ксенобиотик с месячного и 2-х месячного возраста, во всем диапазоне использованных доз. Данные изменения могут быть вызваны нарушением пищевого поведения, приводящего к снижению потребления корма и как следствие – к потере массы тела подопытных крыс.

3.1.8. Влияние на морфологию органов и тканей животных (патоморфологическое исследование)

Патоморфологическое исследование включало в себя макроскопическое исследование тканей и органов, в том числе определение их массовых коэффициентов, а также микроскопическое (гистологическое) исследование тканей.

3.1.8.1. Результаты макроскопического исследования

При макроскопическом исследовании у крыс всех экспериментальных групп было правильное телосложение. При наружном осмотре выделений из естественных отверстий не было обнаружено. Шерсть обычная, очаги облысения не определялись. Зубы сохранены. Видимые слизистые оболочки бледной окраски. Молочные железы самок без уплотнений на ощупь, выделения из сосков отсутствовали. Кожа, подкожная клетчатка и мышцы без изменений. Регионарные лимфатические узлы не изменены. Подчелюстные лимфатические узлы и слюнные железы овальной формы, бледно-желтого или розоватого цвета, с гладкой поверхностью, тонкой капсулой, не спаяны между собой и подлежащими тканями. Поверхность разреза однородной окраски. Щитовидная железа красноватого цвета, обычной величины и формы, умеренно плотной консистенции. Тимус треугольной формы, беловатого цвета, умеренно плотной консистенции.

Оболочки головного мозга тонкие, прозрачные. Вещество мозга обычной

плотности, поверхность мозга гладкая. На фронтальных разрезах мозга отчетливо выделялось серое и белое вещество. Желудочки мозга обычной величины, расширения нет.

Грудная и брюшная полости выпота не содержали. Положение внутренних органов грудной и брюшной полостей без особенностей. Париетальный и висцеральный листки плевры и брюшины тонкие, блестящие, гладкие.

Интима аорты гладкая, блестящая, беловатого цвета. Диаметр аорты не изменен. Листки перикарда тонкие, прозрачные, гладкие. Форма сердца без особенностей. Правый желудочек содержал незначительное количество темной жидкой крови. Клапаны сердца тонкие, блестящие, гладкие. Мышца сердца на разрезе однородной коричневатой окраски, умеренно плотная.

Просвет трахеи и крупных бронхов не изменен, слизистая оболочка не гиперемирована. Легкие воздушные, без уплотнений на ощупь, светло-розовой окраски.

Слизистая пищевода блестящая, гладкая, бледного цвета. Желудок обычной величины и формы. Слизистая оболочка безжелезистой части желудка складчатая, розоватая, блестящая. Слизистая тела желудка складчатая, розовая, блестящая. Мезентериальные лимфатические узлы мелкие, бледно-желтого цвета с гладкой поверхностью. Слизистая оболочка тонкого кишечника бледно-розового цвета, блестящая, гладкая. Слизистая оболочка толстой кишки сероватого цвета, блестящая, гладкая.

Форма и величина печени нормальные. Поверхность печени гладкая, однородной темно-красной окраски, капсула тонкая, прозрачная. Ткань печени на разрезеполнокровная, умеренно плотная.

Поджелудочная железа плоской формы, бледно-розового цвета, дольчатая, умеренно плотной консистенции. Селезенка обычной формы, темно-вишневого цвета, умеренно плотной консистенции. Поверхность органа гладкая, капсула тонкая. На разрезе, на темно-красном фоне селезенки видны мелкие сероватого цвета фолликулы.

Величина и форма почек не изменены. Поверхность почек коричне-

Таблица 3.10

Массовые коэффициенты ($\text{МК} \cdot 10^{-2}$) органов у самок крыс после 3-х месячного введения МГХ ($M \pm m, n = 10$)

Показатели	Группы животных							
	Месячные		2-х месячные		3-х месячные			
	Контроль	Получавшие МГХ в дозе (мг/кг/сутки)	Контроль	Получавшие МГХ в дозе (мг/кг/сутки)	Контроль	Получавшие МГХ в дозе (мг/кг/сутки)		
							5,0	50,0
Сердце	3,69 ± 0,17	3,80 ± 0,15	3,92 ± 0,29	3,66 ± 0,07	3,54 ± 0,05	3,83 ± 0,12	3,45 ± 0,12	3,49 ± 0,15 ± 0,09
Легкие с трахеей	7,44 ± 0,74	6,78 ± 0,41	7,01 ± 0,19	5,98 ± 0,31	6,52 ± 0,38	7,05 ± 0,31	6,92 ± 0,32	7,71 ± 0,52 ± 1,27
Тимус	1,58 ± 0,17	1,44 ± 0,14	1,34 ± 0,12	1,66 ± 0,28	1,74 ± 0,05	1,53 ± 0,09	1,10 ± 0,10	1,25 ± 0,12 ± 0,15
Печень	27,05 ± 0,83	27,66 ± 0,74	26,81 ± 0,48	27,28 ± 0,71	25,14 ± 0,95	27,12 ± 0,59	24,18 ± 0,53	25,28 ± 0,60 ± 0,75
Селезенка	4,42 ± 0,35	5,29 ± 0,44	4,32 ± 0,21	4,53 ± 0,23	4,91 ± 0,33	5,20 ± 0,42	3,63 ± 0,19	3,39 ± 0,21 ± 0,31
Почка (правая)	3,30 ± 0,11	3,04 ± 0,14	3,03 ± 0,03	3,10 ± 0,10	3,15 ± 0,06	3,34 ± 0,16	2,88 ± 0,11	3,11 ± 0,09 ± 0,14
Почка (левая)	3,23 ± 0,11	2,97 ± 0,11	3,15 ± 0,03	3,09 ± 0,10	3,08 ± 0,11	3,32 ± 0,13	2,93 ± 0,09	3,02 ± 0,08 ± 0,10*
Надпочечники	0,29 ± 0,03	0,30 ± 0,07	0,26 ± 0,02	0,25 ± 0,01	0,23 ± 0,02	0,24 ± 0,02	0,24 ± 0,03	0,30 ± 0,03 ± 0,03
Головной мозг	7,40 ± 0,45	7,03 ± 0,36	7,78 ± 0,22	7,06 ± 0,31	7,43 ± 0,15	8,12 ± 0,24*	7,62 ± 0,71	6,74 ± 0,63 ± 0,26
Яичники	0,44 ± 0,07	0,49 ± 0,11	0,41 ± 0,03	0,43 ± 0,07	0,37 ± 0,05	0,42 ± 0,09	0,40 ± 0,05	0,48 ± 0,04 ± 0,05

Примечание: * – отличие от контроля значимо, при $p < 0,05$

ватого цвета, гладкая, капсула тонкая, прозрачная, легко снимаемая. На разрезе органа хорошо различимы корковое и мозговое вещество.

Надпочечники окружной формы, бледно-желтого цвета, с гладкой поверхностью, умеренно плотные. На разрезе выделяется темноокрашенное мозговое вещество.

Мочевой пузырь заполнен прозрачной мочой. Слизистая оболочка пузыря гладкая, блестящая, бледной окраски.

Тело матки обычной плотности, величины и формы. Рога матки тонкие, слизистая – блестящая, бледная. Яичники темно-красного цвета, с неровной поверхностью, умеренно плотные.

В свою очередь, при изучении массовых коэффициентов органов крыс самок через 3-и месяц от начала введения МГХ достоверных отличий во всех экспериментальных групп по сравнению с контролем выявлено не было. Однако, обращало на себя внимание, увеличение массовых коэффициентов головного мозга у животных в группах, получавших 10,0ЭТД МГХ с месячного и 2-х месячного возраста, у которых они носили статистически значимый характер (таблица 3.10).

Следует отметить, что при проведении аутопсии и макроскопических исследований у животных всех экспериментальных групп, получавших МГХ в 10,0ЭТД с месячного, 2-х и 3-х месячного возраста, патологических изменений органов и тканей, а также межгрупповых различий в их строении выявлено не было. Отмечено увеличение массовых коэффициентов головного мозга в группах месячных и 2-х месячных самок, получавших МГХ в 10,0ЭТД ($p < 0,05$).

3.1.8.2. Результаты гистологического исследования

При гистологическом исследовании головной мозг был типового строения, с равномерным распределением нейронов и глиальных клеточных элементов, наличием тироидного вещества в цитоплазме нейронов (рисунок 3.1). Признаки острого или хронического поражения нейронов отсутствовали. Ядра нейронов светлые, ядерная мембрана тонкая, ядрышки четкие. В цитоплазме

определялось достаточное количество хроматофильной зернистости Нисселя: пылевидной в цитоплазме нейронов 2–3-го слоев и более крупной – в цитоплазме нейронов 5-го слоя коры больших полушарий. Нейроны разных ядерных образований среднего и продолговатого мозга содержали крупные глыбки тигроида. Ядра нервных и глиальных клеток не были изменены – ядерная мембрана тонкая, содержание хроматина нормальное, ядрышки четкие.

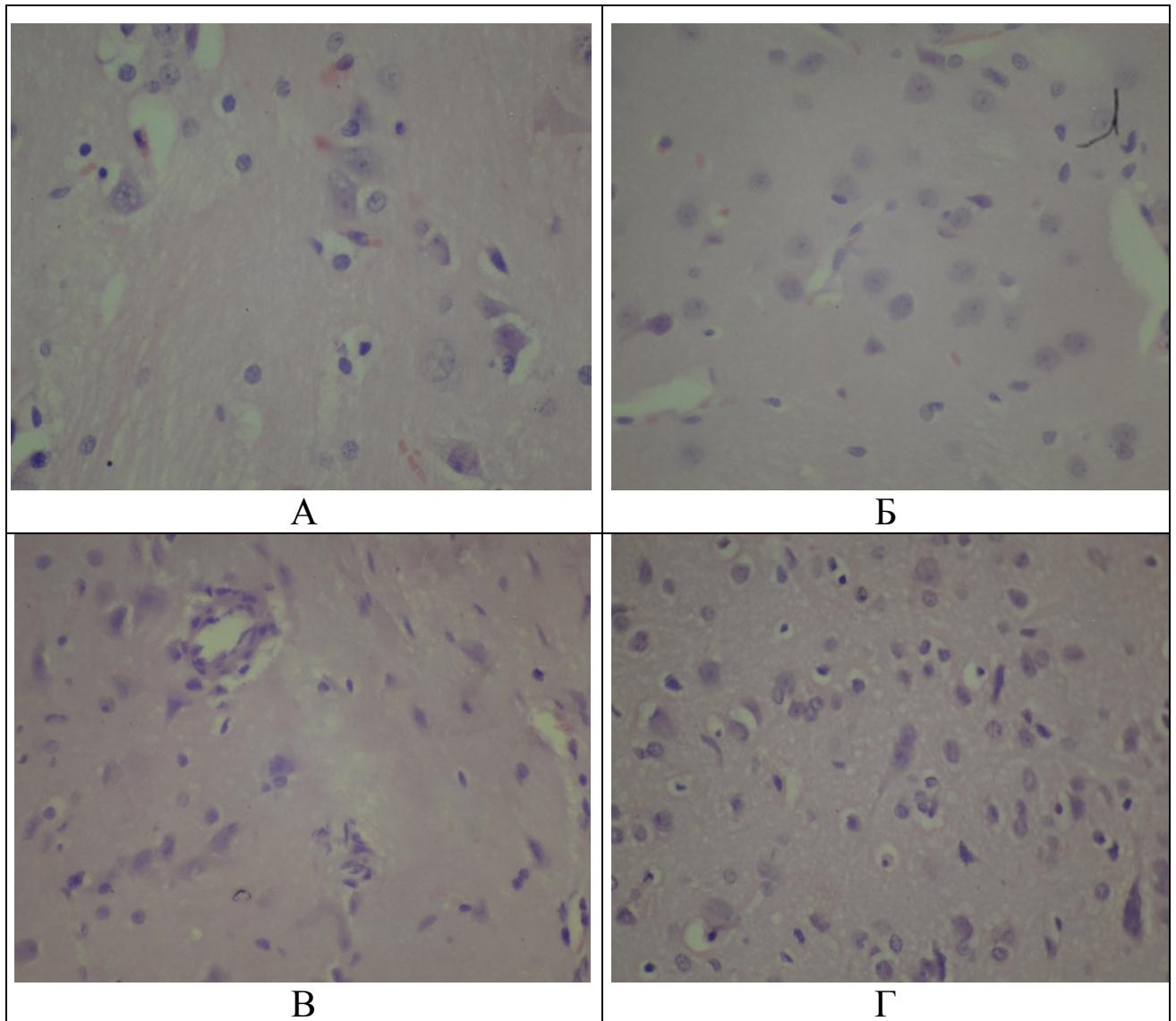


Рисунок 3.1 – Головной мозг крыс самок после 3-х месячного введения МГХ. Увеличение х 200 (А – контрольная группа, Б – группа, получавшая МГХ с месячного возраста, В – группа, получавшая МГХ с 2-х месячного возраста, Г – группа, получавшая МГХ с 3-х месячного возраста)

Клетки эндотелия внутренней оболочки аорты были с четкими ядрами. Деструкций эластических волокон средней оболочки не было выявлено. Поперечная исчерченность миофибрилл во всех отделах сердца была отчетливой, ядра кардиомицитов содержали достаточное количество хроматина, ядерная оболочка тонкая (рисунок 3.2). Очагов нарушений тинкториальных свойств цитоплазмы не было выявлено. Избыточного разрастания стромы (кардиофиброза) не наблюдалось.

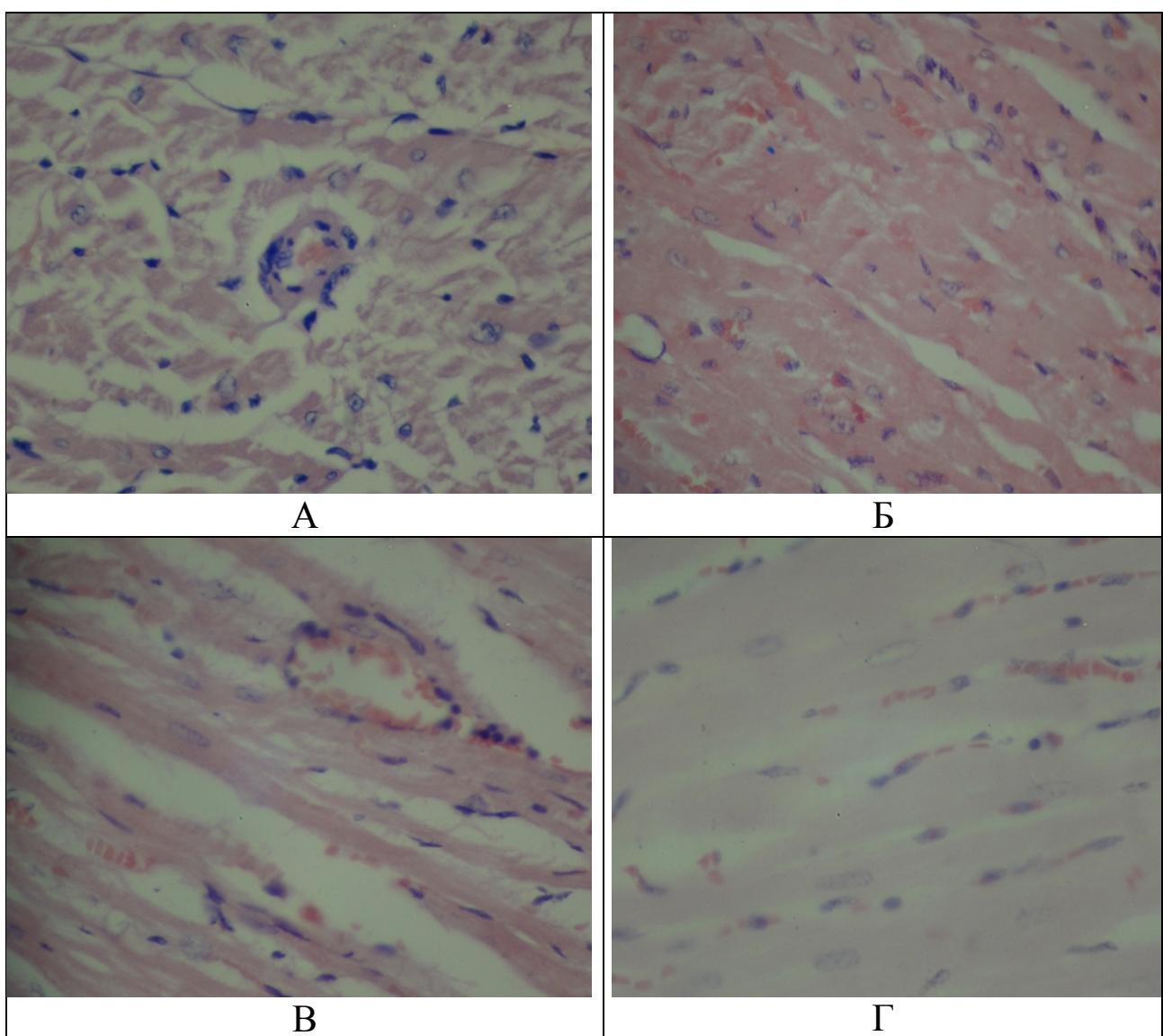


Рисунок 3.2 – Срез ткани миокарда крыс после 3-х месячного введения МГХ. Увеличение х 400 (А – контрольная группа, Б – группа, получавшая МГХ с 1-месячного возраста, В – группа, получавшая МГХ с 2-х месячного возраста, Г – группа, получавшая МГХ с 3-х месячного возраста)

Тимус сохранял выраженное дольчатое строение. Лимфоидные клетки (тимоциты), содержали четкие ядра с достаточным количеством хроматина и тонкой ядерной мембраной. Мозговое вещество тимуса содержало небольшое количество лимфоидных элементов, а также светлые эпителиальные клетки с крупными, бледно-окрашенными ядрами. Эпителиальные клетки образовывали концентрические фигуры, напоминающие жемчужины – тельца Гассаля.

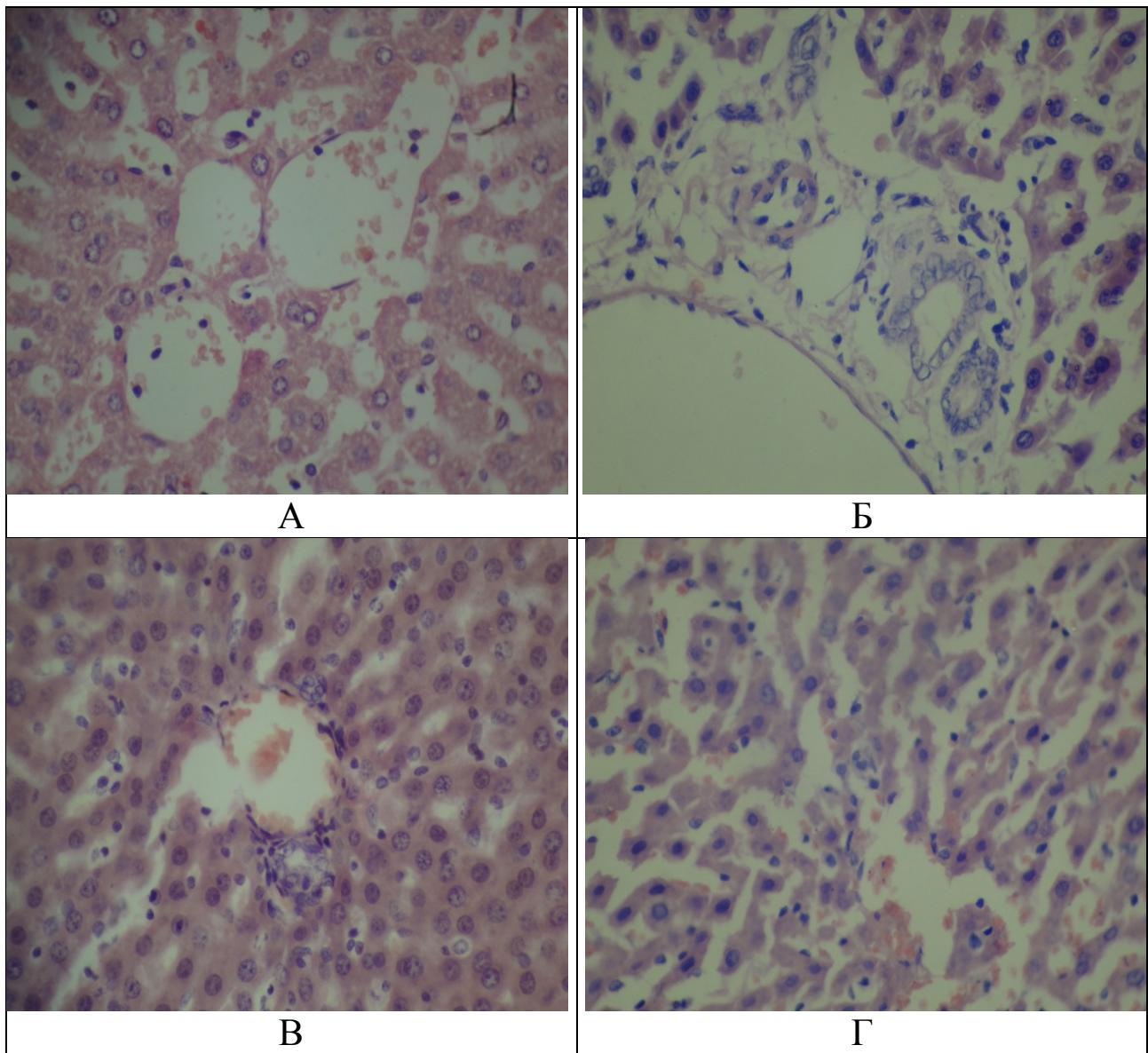


Рисунок 3.3 – Срез ткани печени крыс самок различных возрастных группах после 3-х месячного введения МГХ. Увеличение $\times 400$ (А – контрольная группа, Б – группа, получавшая МГХ с месячного возраста, В – группа, получавшая МГХ с 2-х месячного возраста, Г – группа, получавшая МГХ с 3-х месячного возраста)

Трабекулярное строение печени на срезах, полученных из разных долей, не было нарушено. Границы гепатоцитов были отчетливые, цитоплазма зернистая, слабо оксифильная. Очаговых нарушений тинкториальных свойств цитоплазмы не было выявлено. Ядра содержали четкие ядрышки и достаточное количество хроматина. Ядерная мембрана тонкая. Синусоиды печени полнокровные (рисунок 3.3).

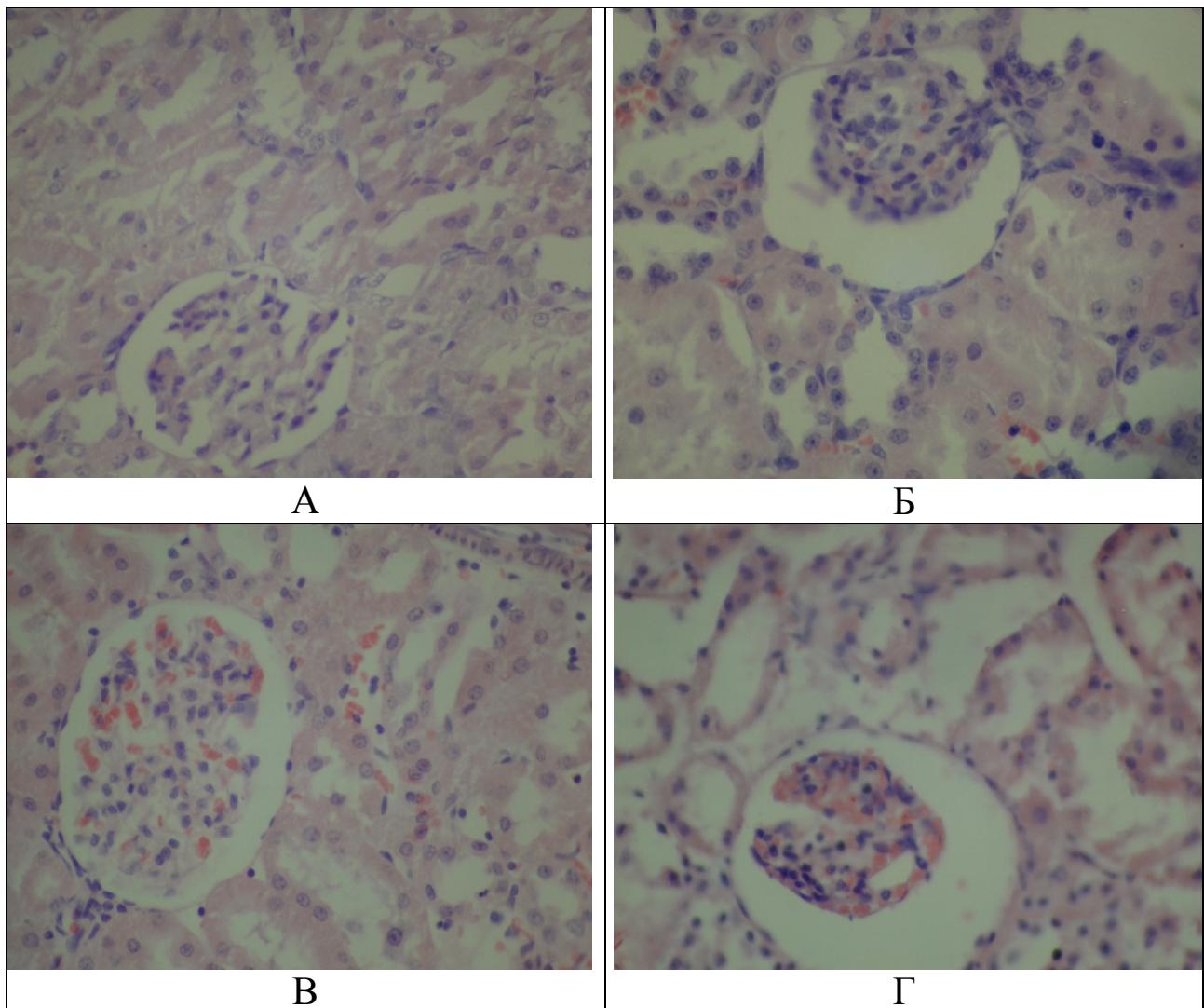


Рисунок 3.4 – Срез ткани почки крыс самок различных возрастных группах после 3-х месячного введения МГХ. Увеличение $\times 200$ (А – контрольная группа, Б – группа, получавшая МГХ с месячного возраста, В – группа, получавшая МГХ с 2-х месячного возраста, Г – группа, получавшая МГХ с 3-х месячного возраста)

Почки были с сохранением типового гистологического строения. Петли капилляров клубочков четко контурировались, были равномерно полнокровны.

Мочевое пространство капсулы клубочка не было расширено. Эпителий извилистых проксимальных и дистальных канальцев был эозинофильный, с равномерным прокрашиванием цитоплазмы и наличием четких внутрицитоплазматических гранул (рисунок 3.4).

Дефектов многослойного плоского неороговевающего эпителия слизистой пищевода выявлено не было.

Слизистая оболочка желудка была выстлана однослойным высокоприматическим (цилиндрическим) эпителием с базальными и апикальными клетками. Собственная пластинка была представлена рыхлой волокнистой неоформленной соединительной тканью с большим количеством расширенными кровеносных и лимфатических сосудов, проходящих в виде тонких прослоек между железами желудка. Мышечная пластинка слизистой оболочки располагалась на границе с подслизистой основой и состояла из трех слоев, образованных гладкой мышечной тканью: внутреннего и наружного циркулярных и среднего – продольного. Серозная оболочка была представлена слоем мезотелия и подлежащей рыхлой, волокнистой, неоформленной соединительной тканью.

Фолликулы щитовидной железы были заполнены небольшим количеством окси菲尔ного, слабовакуолизированного коллоида. Эпителий фолликулов был обычной высоты, ядра четкие. Сосуды стромы умеренно полнокровные.

В строении подчелюстных желез изменений выявлено не было. Эпителиальные клетки концевых отделов и выводных протоков был с четкими ядрами, деструкции клеток не наблюдалось.

В корковом веществе яичников самок были видны фолликулы разной величины и степени созревания. Фолликулярный эпителий не был изменен, ядра светлые, четкие, мозговое вещество яичников полнокровное.

Результаты гистологического исследования препаратов внутренних органов и тканей позволяют говорить о том, что патологических изменений, а также достоверных различий по морфометрическим показателям между контрольны-

ми и опытными группами животных, получавших МГХ с месячного, 2-х и 3-х месячного возраста выявлено не было.

3.2. Влияние хронического введения МГХ на репродуктивную функцию самок крыс

Влияние на репродуктивную функцию самок различных возрастных групп изучалось через 3-и месяца после введения МГХ в 10,0 ЭТД. В рамках исследования репродуктивной функции оценивали прирост массы тела беременных самок, плодовитость, репродуктивные показатели, состояние плацент и плодов, в том числе особенности развития внутренних органов и формирования скелета эмбрионов.

3.2.1. Влияние на прирост массы тела беременных самок

При изучении влияния МГХ на прирост массы тела было выявлено его разнонаправленное действие на самок различных возрастных групп в первые две недели беременности (таблица 3.11). Так в группах самок, получавших МГХ до наступления беременности с месячного и 2-х месячного возраста, характерным был более выраженный прирост массы тела на первой и менее выраженный характер на второй неделе беременности по сравнению с контрольными группами. Для животных, получавших ксенобиотик с 3-х месячного возраста, изменения в динамике прироста массы тела носили противоположный характер.

Таблица 3.11.
Влияние хронического (3-х месячного) введения МГХ на динамику
массы тела беременных крыс ($M \pm m$)

№ п/п	Группы животных 2	Прирост массы тела беременных самок (%)		
		1-я неделя	2-я неделя	3-я неделя
1	2	3	4	5
1.	Контроль месячные	$7,26 \pm 0,58$	$11,04 \pm 1,25$	$26,90 \pm 1,88$
2.	Получавшие МГХ с месячного возраста в дозе 60 мг/кг/сутки	$13,79 \pm 1,16^*$	$7,67 \pm 1,01$	$20,25 \pm 2,37^*$

продолжение таблицы 3.11

1	2	3	4	5
3.	Контроль 2-х месячные	$7,60 \pm 0,90$	$14,75 \pm 0,88$	$20,23 \pm 1,30$
4.	Получавшие МГХ с 2-х месячного возраста в дозе 72 мг/кг/сутки	$9,77 \pm 2,50$	$11,92 \pm 1,71$	$10,79 \pm 3,53^*$
5.	Контроль 3-х месячные	$12,21 \pm 0,85$	$12,30 \pm 0,82$	$26,28 \pm 1,98$
6.	Получавшие МГХ с 3-х месячного возраста в дозе 50 мг/кг/сутки	$9,73 \pm 1,72$	$14,22 \pm 2,29$	$17,21 \pm 1,68^*$
Примечание: * – отличие от контроля значимо, при $p < 0,05$				

В свою очередь, для всех экспериментальных групп было характерно достоверное ($p < 0,05$) снижение темпов прироста массы тела на третьей неделе беременности по сравнению с контролем.

Полученные данные свидетельствуют о том, что хроническое введение МГХ в десятикратной эффективной терапевтической дозе приводило к снижению темпов роста массы тела на 3-й неделе беременности у самок, начинавших получать ксенобиотик в месячном, 2-х и 3-х месячном возрасте в 1,33, 1,87 и 1,53 раза по сравнению с контрольными группами, соответственно.

3.2.2. Влияние на плодовитость крыс

При изучении влияния хронического воздействия МГХ на плодовитость крыс в зависимости от возраста начала его введения было установлено, что индекс фертильности был снижен только в группах, получавших ксенобиотик с месячного и 2-х месячного возраста на 20,0% и 8,3%, соответственно, по сравнению с контролем (таблица 3.12). В то время как индекс беременности был снижен во всех группах животных, получавших МГХ, вне зависимости от возраста начала его применения. В частности, в группе, получавшей ксенобиотик с месячного возраста он был наименьшим ($p < 0,05$). Обращало на себя внимание наличие зависимости – чем младше был возраст самок при начале введения МГХ, тем ниже был и индекс беременности.

Полученные данные свидетельствуют о том, что наиболее выраженные

нарушения плодовитости (показателей фертильности и беременности) были зарегистрированы в группе животных, длительно получавших ксенобиотик с месячного возраста.

Таблица 3.12
Влияние хронического введения МГХ на плодовитость крыс

Показатели	Группы животных					
	Получавшие МГХ с месяч- ного возраста		Получавшие МГХ с 2-х ме- сячного воз- раста		Получавшие МГХ с 3-х месячного возраста	
	K	MГХ	K	MГХ	K	MГХ
Количество самок, посажен- ных с самцами	12	15	12	12	10	10
Количество оплодотворен- ных самок	12	12	12	11	10	10
Количество беременных са- мок	12	6*	12	9	10	9
Индекс фертильности, %	100,0	80,0	100,0	91,7	100,0	100,0
Индекс беременности, %	100,0	50,0*	100,0	81,8	100,0	90,0
Примечание: K – контрольная группа; * – отличие от контроля значимо, $p < 0,05$						

3.2.3. Влияние на репродуктивные показатели крыс

При изучении зависимости репродуктивных показателей самок крыс от возраста начала длительного введения МГХ, было установлено, что ксенобиотик не оказывал статистически значимого влияния на продолжительность беременности и количество желтых тел во всех экспериментальных группах (таблица 3.13). Однако, в группе, получавшей ксенобиотик с 3-х месячного возраста, отмечалась тенденция к увеличению количества желтых тел по сравнению с контролем.

Также, было зарегистрировано снижение ($p < 0,05$) количества мест имплантации и живых эмбрионов в группах, получавших МГХ с месячного и 2-х месячного возраста. В тоже время, во всех опытных группах отмечалась

Таблица 3.13

Влияние хронического введения МГХ на репродуктивные показатели самок крыс, ($M \pm m$)

Показатели	Группы животных					
	месячные		2-х месячные		3-х месячные	
	Контроль (n=8)	МГХ (n=8)	Контроль (n=8)	МГХ (n=8)	Контроль (n=9)	МГХ (n=9)
Продолжительность беременности, дни	22,5 ± 0,5	22,7 ± 0,4	22,3 ± 0,5	22,5 ± 0,5	22,3 ± 0,5	22,7 ± 0,5
Количество желтых тел, (M ± m)	11,63 ± 0,75	11,50 ± 0,98	12,63 ± 0,73	12,43 ± 1,46	11,44 ± 0,69	14,56 ± 1,10
Количество мест имплантации, (M ± m)	10,13 ± 0,81	6,00 ± 1,45*	10,88 ± 0,61	7,57 ± 1,45*	10,44 ± 0,80	10,56 ± 1,55
Количество живых плодов (M ± m)	9,88 ± 0,85	5,63 ± 1,40*	10,50 ± 0,50	6,29 ± 1,39*	10,22 ± 0,85	9,33 ± 1,46
Резорбции (M ± m)	0,25 ± 0,16	0,38 ± 0,18	0,25 ± 0,16	1,29 ± 0,64	0,22 ± 0,15	0,78 ± 0,30
Индекс предимплантационной гибели, %	12,94 ± 3,87	42,46 ± 14,34*	12,67 ± 4,94	31,00 ± 13,12	9,78 ± 2,59	28,30 ± 8,53*
Индекс постимплантационной гибели, %	2,83 ± 1,93	6,71 ± 3,09	3,10 ± 1,54	17,63 ± 3,11*	3,48 ± 1,94	18,72 ± 11,62

тенденция к увеличению количества резорбций по сравнению с контролем, причем этот показатель был наиболее выражен в группе, получавшей морфин с 2-х месячного возраста. Следует также отметить, что у 50% животных из группы, получавшей морфин с месячного возраста, была зарегистрирована предимплантационная гибель половины плодов или всего помета. В группах, получавших ксенобиотик с 2-х и 3-х месячного возраста, предимплантационная гибель всего помета наблюдалась лишь в 14% и 11% случаев, соответственно.

Было установлено повышение индексов пред- и постимплантационной гибели во всех экспериментальных группах по сравнению с контрольными в 2,44–3,28 и 2,37–5,38 раза, соответственно. Причем индекс предимплантационной гибели был выше в группах, получавших МГХ с месячного и 3-х месячного, а постимплантационной гибели – у животных, получавших МГХ с 2-х месячного возраста. Также, отмечалась тенденция к повышению индекса постимплантационной гибели и снижению предимплантационной гибели с увеличением возраста начала приема МГХ самками.

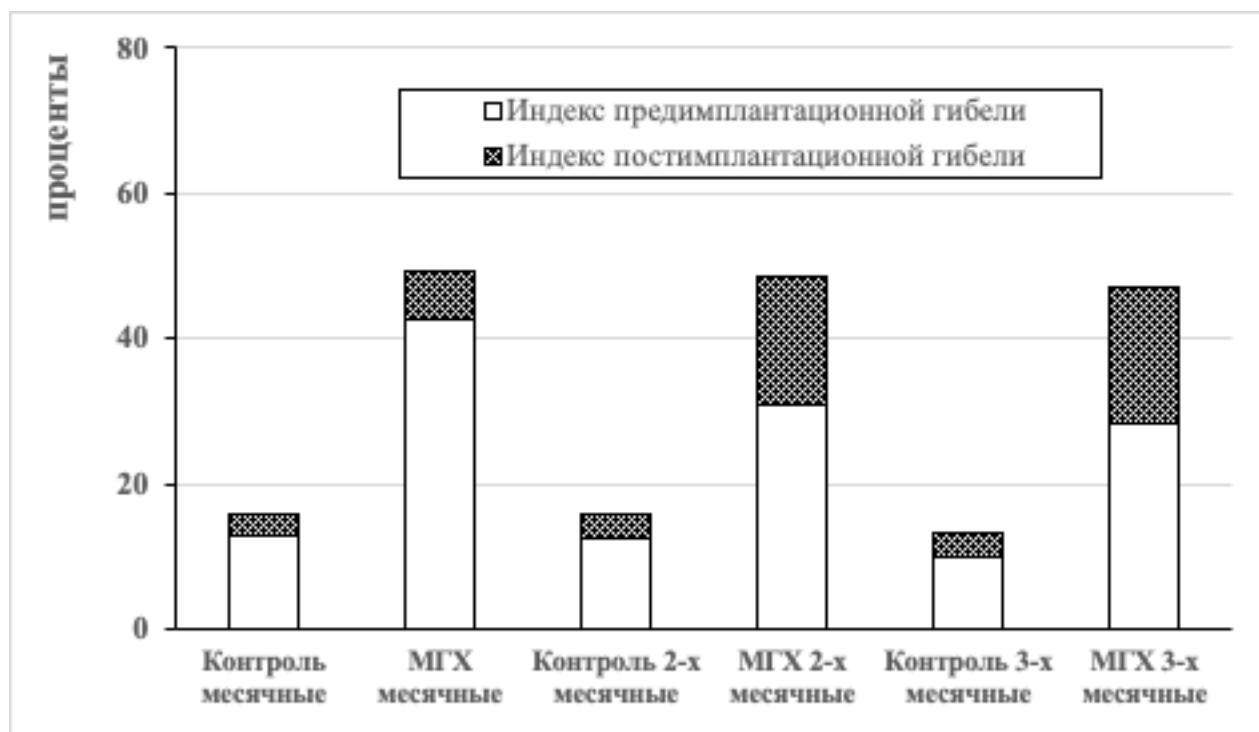


Рисунок 3.5 – Показатели пред- и постимплантационной гибели в зависимости от возраста при начале приема МГХ

Обращало на себя внимание, что суммарное количество погибших плодов до и после имплантации было во всех экспериментальных группах практически одинаковым (рисунок 3.5).

Указанные выше изменения свидетельствовали о том, что 3-х месячное введение МГХ в 10,0ЭТД оказывало существенное влияние практически на все показатели репродуктивной функции самок крыс всех возрастных групп. Следует отметить, наличие закономерности, в соответствии с которой чем младше был возраст начала введения ксенобиотика животным, тем более выраженными были изменения репродуктивных показателей. Нужно подчеркнуть, что при практически равных суммарных показателях пред- и постимплантационной гибели в группе, получавшей МГХ с 3-х месячного возраста, количество живых плодов было таким же, как в контроле, и соответственно в 1,66 и 1,48 раза больше, чем в группах, получавших ксенобиотик с месячного и 2-х месячного возраста ($p < 0,05$).

3.2.4. Влияние на состояние плацент и зародышей крыс

При внешнем осмотре плодов от животных, получавших в течение 3-х месяцев МГХ вне зависимости от возраста начала его применения, обращала на себя внимание их отечность, бледность покровных тканей, околоплодные воды были зеленоватыми в отличие от прозрачных в контроле. При внешнем осмотре плодов, как в опытных, так и в контрольных группах, не было выявлено каких-либо анатомических пороков развития.

Замечен тот факт, что в группах, получавших МГХ с месячного и 2-х месячного возраста, наблюдалось пропорциональное уменьшение количества живых плодов обоего пола по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

При изучении показателей физического развития значимых отличий краниокаудальных размеров, а также массы плодов во всех опытных группах, по сравнению с контрольными, выявлено не было (таблица 3.14). Однако, в группах самок, получавших МГХ с месячного и 2-х месячного возраста, наблюдалась тенденция к увеличению ККР и массы плодов вне зависимости от пола, в то время как для животных, получавших ксенобиотик с 3-х месячного возраста, была отмечена противоположная тенденция.

Таблица 3.14

Влияние хронического введения МГХ на состояние плацент и плодов крыс ($M \pm m$)

Обращало на себя внимание достоверное снижение суммарной массы плодов помёта у самок, получавших МГХ с неполовозрелого возраста, по сравнению с контролем, что, вероятно, связано с низкой численностью плодов в помете.

При оценке состояния плацент в опытных и контрольных группах различий по таким показателям, как масса и диаметр, выявлено не было. Однако, в группе, получавшей МГХ с месячного возраста, отмечалось увеличение плацентарно-плодового коэффициента по сравнению с контролем. У потомства в остальных возрастных группах изменений указанного показателя выявлено не было (рисунок 3.6).

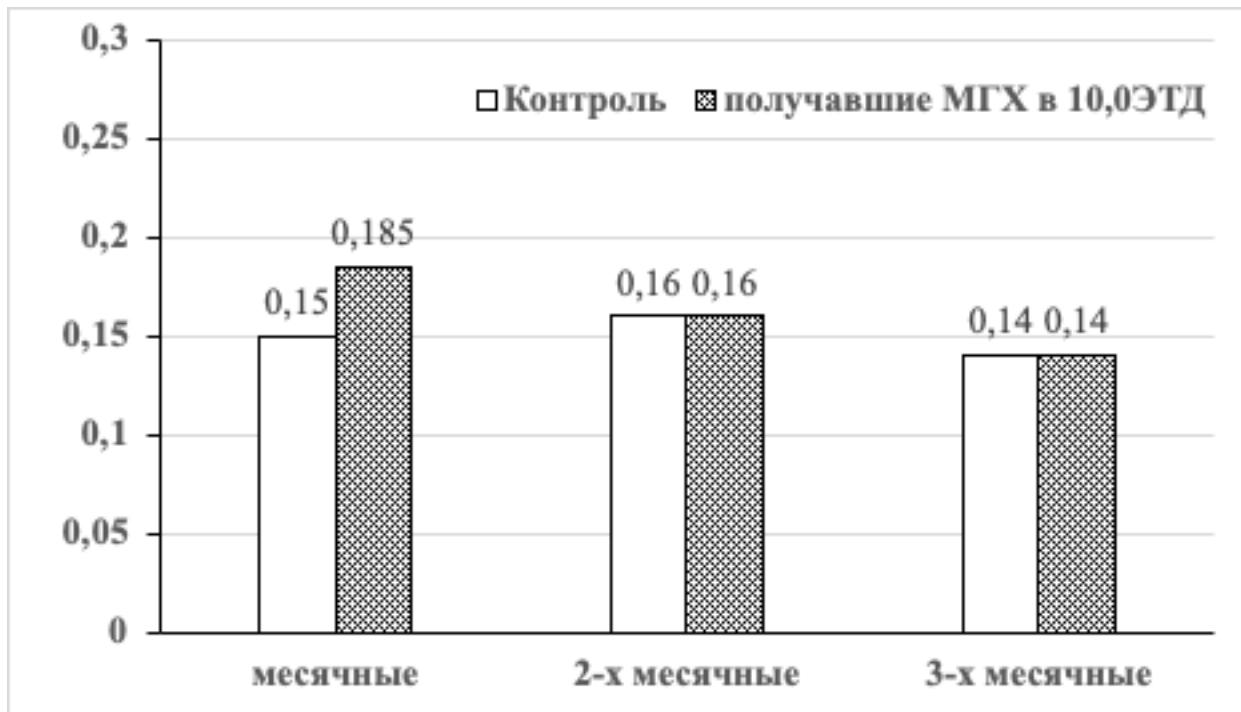


Рисунок 3.6 – Влияние 3-х месячного введения МГХ на плацентарно-плодовый коэффициент в группах с различным возрастом начала введения ксенобиотика

Полученные данные указывают на то, что наиболее чувствительными к последствиям длительного применения МГХ оказались плоды самок, получавших ксенобиотик с месячного, а наименее – с 3-х месячного возраста. Об этом свидетельствовало увеличение плацентарно-плодового коэффициента, характерное для развития компенсированной стадии хронической плацентарной недостаточности.

3.2.5. Влияние на частоту аномалий развития плодов

Влияние хронического воздействия МГХ на частоту встречаемости отклонений в развитии внутренних органов плодов крыс проводилось по методу Вильсона – Дыбана. На основании представленных в таблице 3.15 данных можно заключить, что 3-х месячное введение МГХ не приводило к развитию аномалий развития плодов крыс во всех опытных группах.

Таблица 3.15

Влияние хронического введения МГХ на частоту встречаемости отклонений в развитии внутренних органов плодов крыс по методу Вильсона – Дыбана

Параметры	Группы животных (возраст начала применения МГХ)					
	месячные		2-х месячные		3-х месячные	
	К	МГХ	К	МГХ	К	МГХ
1	2	3	4	5	6	7
Кровоизлияния в:						
– левую половину шеи	0	0	0	0	0	0
– щитовидную железу	0	0	0	0	0	0
– головной мозг	0	7*	4	12*	1	26*
– грудную полость	0	0	0	0	0	0
– брюшную полость	0	0	1	1	0	0
– надпочечники	0	0	0	0	0	0
Полнокровие:						
– предсердий	0	0	0	1	0	1
– желудочков сердца	1	0	0	1	0	0
– сагиттальных синусов	0	0	0	0	0	0
– сосудов вестибулярного аппарата	0	0	0	0	0	0
– сосудов легких	0	0	0	0	0	0
– сосудов тела	0	1	0	0	0	0
Расширение желудочков головного мозга	0	0	0	0	0	0
Гидронефроз	0	0	2	0	0	1
Гидроуртер	0	0	0	0	0	0

продолжение таблицы 3.15

1	2	3	4	5	6	7
Дистопия мочевого пузыря	0	0	0	0	0	0
Гидроцефалия	0	0	0	0	0	0
Дефект диафрагмы	0	0	0	0	0	0
Гипоплазия внутренних органов	0	0	0	0	0	0
Дефект твердого неба	0	0	0	0	0	0
Количество эмбрионов (м/ж)	12/14	13/9	18/23	11/9	23/25	25/20

Примечание: К – контрольная группа; * – отличие от контроля значимо, $p < 0,05$

Было выявлено наличие некоторых отклонений в развитии внутренних органов плодов в опытных группах. Так, были зафиксированы единичные случаи полнокровия предсердий, сосудов тела, кровоизлияний в брюшную полость, а также гидронефроза. Аналогичные отклонения в развитии внутренних органов с равной частотой встречались и у плодов в контрольных группах.

Отличительной особенностью эмбрионов всех опытных групп являлось увеличение количества случаев кровоизлияний в головной мозг, превышающих контрольные значения. Других отклонений в развитии внутренних органов у эмбрионов во всех группах не наблюдалось.

Приведенные выше данные свидетельствуют об отсутствии аномалий и существенных отклонений в развитии внутренних органов у плодов крыс, получавших в течение 3-х месяцев МГХ в 10,0 ЭТД вне зависимости от возраста начала введения ксенобиотика.

3.2.6. Влияние на формирование скелета у плодов

Изучение формирования зачатков костной структуры плода проводилось по методу Доусона. При исследовании эмбрионов крыс всех экспериментальных групп было зарегистрировано типичное строение костей скелета и черепа.

Зачатки костей грудины, верхних и нижних конечностей были окрашены в темно-фиолетовый цвет. Шейный, грудной, поясничный, крестцовый отделы позвоночника имели ярко выраженный процесс обызвествления. Наблюдались и

Таблица 3.16
Влияние хронического введения МГХ на развитие скелетов эмбрионов белых нелинейных крыс ($M \pm m$)

Параметры		Группы животных (возраст начала применения МГХ)					
		месячные		2-х месячные		3-х месячные	
		Контроль (n=42)	МГХ (n=30)	Контроль (n=34)	МГХ (n=26)	Контроль (n=28)	МГХ (n=46)
Длина зачатков костей, мм	плечевой	3,39 ± 0,03	3,09 ± 0,02*	3,09 ± 0,04	3,14 ± 0,06	3,52 ± 0,04	3,05 ± 0,03*
	локтевой	3,54 ± 0,04	3,10 ± 0,02*	3,13 ± 0,04	3,21 ± 0,08	3,34 ± 0,06	3,18 ± 0,04*
	бедренной	2,55 ± 0,04	2,31 ± 0,03*	2,28 ± 0,05	2,46 ± 0,08	2,58 ± 0,04	2,39 ± 0,03*
	большеберцовой	2,88 ± 0,03	2,83 ± 0,02	2,89 ± 0,02	2,97 ± 0,07	2,95 ± 0,04	2,87 ± 0,02
	малоберцовой	2,68 ± 0,04	2,72 ± 0,02	2,78 ± 0,03	2,89 ± 0,06	2,75 ± 0,05	2,76 ± 0,02
Количество точек окостенения	запястья	3,67 ± 0,07	3,59 ± 0,09	3,44 ± 0,09	3,43 ± 0,13	3,35 ± 0,13	3,43 ± 0,09
	стопы	3,98 ± 0,02	4,03 ± 0,03	4,09 ± 0,05	4,05 ± 0,05	4,00 ± 0,06	4,02 ± 0,68

точки окостенения позвонков хвостового отдела позвоночника. У плодов всех исследуемых групп зафиксировано 13 пар ребер, 7 шейных, 13 грудных, 6 поясничных и 5 крестцовых позвонков. В общем остеометрические исследования не выявили нарушений формирования скелета у плодов крыс во всех опытных группах по сравнению с контрольными.

При изучении длины зачатков и количества осифицированных костей конечностей эмбрионов было установлено, что изменения этих показателей отмечены у потомства самок, начавших получать МГХ с месячного и 3-х месячного возраста (таблица 3.16). В этих группах наблюдалось уменьшение длин зачатков передних (плечевой и локтевой костей) и задних (бедренной кости) конечностей. Изменений остальных показателей во всех опытных группах зарегистрировано не было.

Полученные данные свидетельствуют о том, что 3-х месячное введение МГХ в десятикратной эффективной терапевтической дозе не оказывало существенного влияния на формирование скелета у плодов самок, получавших ксенобиотик как с неполовозрелого (месячные и 2-х месячные), так и половозрелого возраста.

3.3. Влияние хронического введения МГХ на постнатальное развитие потомства

При выполнении данного раздела нами было изучено влияние 3-х месячного введения МГХ в 10,0ЭТД на потомство крыс, получавших ксенобиотик до беременности с неполовозрелого (месячного и 2-х месячного) и половозрелого (3-х месячного) возраста. Изучались следующие показатели потомства в постнатальном периоде: физическое развитие (в том числе динамика массы тела); скорость созревания сенсорно-двигательных рефлексов.

3.3.1 Влияние на физическое развитие потомства в постнатальном периоде

При изучении динамики прироста массы тела было установлено, что у всего потомства самок, получавших МГХ до беременности, наблюдалось отставание по массе тела ($p < 0,05$) по сравнению с контролем (таблица 3.17). Однако, если ста-

тистически значимое отставание по массе тела потомства крыс, получавших МГХ с месячного возраста, наблюдалось в течение всего периода наблюдения (21 дня), то для получавших с 2-х и 3-х месячного возраста, подобные изменения регистрировались в течение первых 14 и 7 дней, соответственно. Обращало на себя внимание, что в группе крысят родившихся от самок, получавших ксенобиотик с 2-х месячного возраста, отставание в приросте массы было наибольшим, а с 3-х месячного – наименьшим. Однако к концу 3-ей недели потомство животных, получавших МГХ с 2-х месячного возраста, не только догоняло по массе тела контрольных, но и перегоняло их.

Для оценки степени изменения массы тела в опытных группах по сравнению с контрольными и между собой нами был введен показатель – индекс дефицита/избытка массы тела (Ид/иМТ), который рассчитывался по формуле (1):

$$\text{Ид/иМТ} = \frac{P_1 - P_2}{P_1} \times 100\% \quad (1)$$

где P_1 – среднее значение массы тела потомства контрольной группы, в граммах; P_2 – среднее значение массы тела потомства опытной группы, в граммах.

Полученные индексы свидетельствовали о том, что у потомства крыс, получавших МГХ с месячного возраста, дефицит массы тела составлял $-22,9 \dots -9,3\%$ в течение всего периода наблюдения. В то время как в группе потомства, материнские особи которой получали МГХ с 2-х месячного возраста, в первые 14 дней дефицит составлял $-38,8 \dots -27,0\%$, а на 21-й день наблюдался уже избыток массы равный $8,6\%$ (рисунок 3.7). Наименее выраженными изменения были у потомства, рожденного от самок, получавших МГХ с 3-х месячного возраста. У таких крысят дефицит массы тела наблюдался только в течение первой недели жизни и в эти сроки не превышал $-15,7\%$, а на 7-й день $-5,2\%$.

При изучении физического развития потомства регистрировалось количество детенышней в помете, а также сроки появления у крысят следующих признаков: отлипание ушных раковин, формирование первичных покровов, прорезывание резцов, открытие глаз, опускание семенников, открытие влагалища.

Таблица 3.17

Влияние хронического введения МГХ на прирост массы тела (в граммах) потомства крыс
в постнатальном периоде ($M \pm m$)

№ п/п	Группы животных	Период наблюдения, сутки			
		4	7	14	21
1.	Контроль месячные	$11,13 \pm 0,15$	$16,00 \pm 0,18$	$31,63 \pm 0,13$	$49,00 \pm 0,26$
2.	Потомство самок, получавших МГХ с месячного возраста в дозе 60 мг/кг/сутки	$8,88 \pm 0,15^*$	$14,50 \pm 0,22^*$	$24,38 \pm 0,29^*$	$39,50 \pm 1,06^*$
3.	Контроль 2-х месячные	$9,25 \pm 0,19$	$14,88 \pm 1,09$	$27,00 \pm 1,69$	$38,06 \pm 2,55$
4.	Потомство самок, получавших МГХ с 2-х месячного возраста в дозе 72 мг/кг/сутки	$6,57 \pm 0,20^*$	$9,10 \pm 0,35^*$	$19,71 \pm 0,10^*$	$41,86 \pm 0,33$
5.	Контроль 3-х месячные	$10,08 \pm 0,41$	$16,75 \pm 0,14$	$30,54 \pm 0,29$	$50,25 \pm 0,47$
6.	Потомство самок, получавших МГХ с 3-х месячного возраста в дозе 50 мг/кг/сутки	$8,50 \pm 0,18^*$	$15,88 \pm 0,24^*$	$31,00 \pm 0,29$	$49,94 \pm 0,67$
Примечание: * – отличие от контроля значимо, $p < 0,05$					

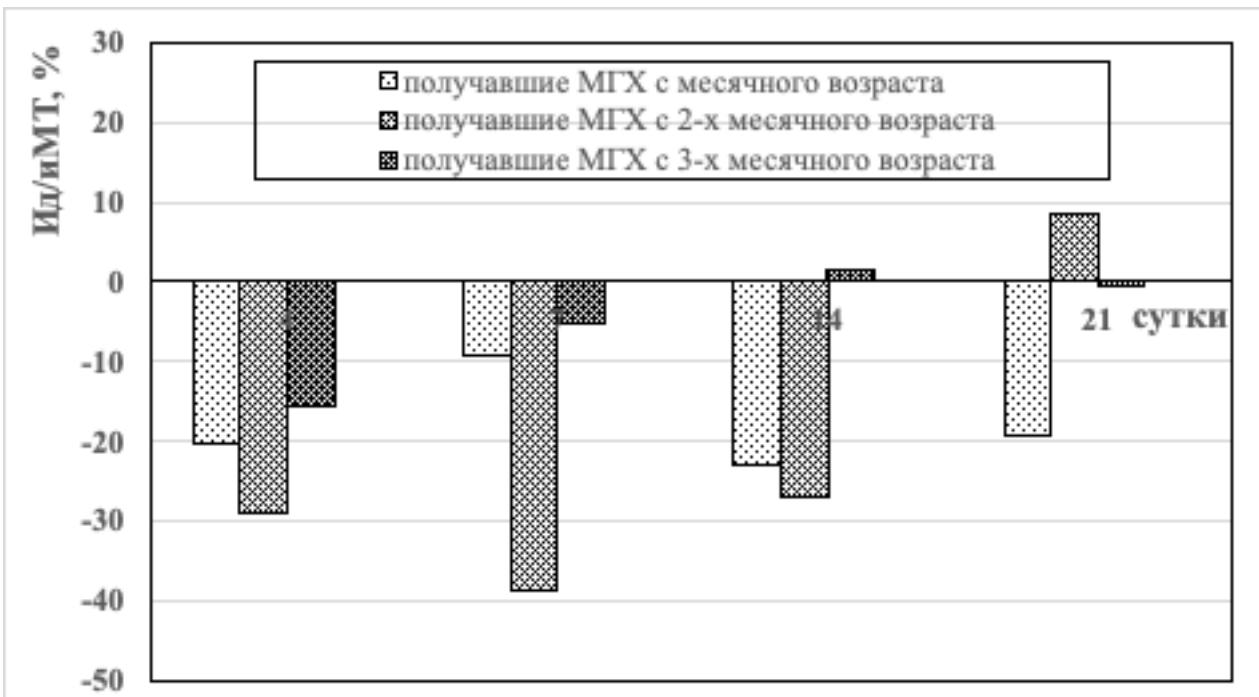


Рисунок 3.7 – Влияние 3-х месячного введения МГХ материнским особям на динамику массы тела их потомства в постнатальном периоде развития

Было установлено, что у потомства, родившегося от самок, получавших МГХ в 10,0ЭТД с месячного возраста, задержка развития была наиболее выраженной ($p < 0,05$). Об этом свидетельствовало отставание в сроках появления всех шести из изучавшихся нами признаков (таблица 3.18). В свою очередь у потомства, родившегося от самок, получавших ксенобиотик с 2-х месячного возраста, задержка физического развития была существенной ($p < 0,05$), однако, менее выраженной, а значимыми были отличия пяти признаков из шести. У потомства самок, получавших МГХ с половозрелого возраста, значимыми ($p < 0,05$) были различия с контролем только по четырем из изучавшихся признаков.

В связи со сложностью количественной оценки различий между опытными группами, имеющими разные контроли, а также различной значимостью изучаемых признаков нами был введен дифференциальный показатель – среднее отставание/опережение сроков физического развития (Со/оСФР) выраженное в сутках, который рассчитывался по общей формуле (2):

Таблица 3.18

Влияние МГХ на физическое развитие (ФР) потомства белых нелинейных крыс в постнатальном периоде ($M \pm m$)

№ ¹ п/п	Показатели	Группы животных						
		Контроль	Потомство самок, получавших МГХ с месячного возраста	Контроль	Потомство самок, получавших МГХ с 2-х месячного возраста	Контроль	Потомство самок, получавших МГХ с 3-х месячного возраста	
1	2	3	4	5	6	7	8	
Число детенышней в помете	ед	9,90 ± 0,43	5,67 ± 0,78*	10,56 ± 0,47	6,40 ± 0,91*	10,22 ± 0,33	9,33 ± 0,33	
	% от контроля	—	57,0	—	60,6	—	91,3	
1.	Отлипание ушной раковины	сутки	2,06 ± 0,11	4,05 ± 0,19*	2,60 ± 0,18	4,19 ± 0,22*	2,75 ± 0,22	3,57 ± 0,26*
		отставание ФР, сутки	—	1,99	—	1,59	—	0,82
2.	Первичный покров	сутки	5,13 ± 0,18	6,00 ± 0,18*	5,44 ± 0,18	5,62 ± 0,15	5,42 ± 0,22	5,94 ± 0,23
		отставание ФР, сутки	—	0,87	—	0,18	—	0,52
3.	Прорезывание резцов	сутки	8,75 ± 0,21	10,14 ± 0,23*	8,69 ± 0,15	10,00 ± 0,18*	8,54 ± 0,23	9,38 ± 0,22*
		отставание ФР, сутки	—	1,39	—	1,31	—	0,84

продолжение таблицы 3.18

1	2	3	4	5	6	7	8	
4.	Открытие глаз	сутки	13,05 ± 0,33	16,10 ± 0,28*	13,19 ± 0,53	15,19 ± 0,65*	13,42 ± 0,55	
		отставание ФР, сутки	–	3,05	–	2,00	–	
Со/oСФР ₁ , сутки				1,83		1,27		
ИФР ₁ , %				14,0		9,63		
5.	Опускание се- менников	сутки	24,89 ± 0,27	29,67 ± 0,50*	25,38 ± 0,34	26,84 ± 0,32*	25,68 ± 0,19	
		отставание ФР, сутки	–	4,78	–	1,46	–	
6.	Открытие вла- галища	сутки	36,26 ± 0,29	40,10 ± 0,42*	36,75 ± 0,52	40,81 ± 0,75*	36,38 ± 0,44	
		отставание ФР, сутки	–	3,84	–	4,06	–	
Со/oСФР ₂ , сутки		–		4,31	–	2,76	–	
ИФР ₂ , %				11,9		7,5		

Примечание: ¹ – номер признака (n) по порядку для расчета Со/oСФР в соответствии с формулой 2; * – отличие от контроля значимо, $p < 0,05$

$$\text{Со/oCФР} = \frac{\sum (F_{n1} - F_{nk}) + \dots (F_{nx} - F_{nk})}{N_x} \quad (2)$$

где F_n – среднее сроки появления признака n в опытной группе (в соответствии с таблицей 3.18), в сутках; F_{nk} – среднее сроки появления признака n в контрольной группе (в соответствии с таблицей 3.18), в сутках; N_x – количество изучавшихся признаков.

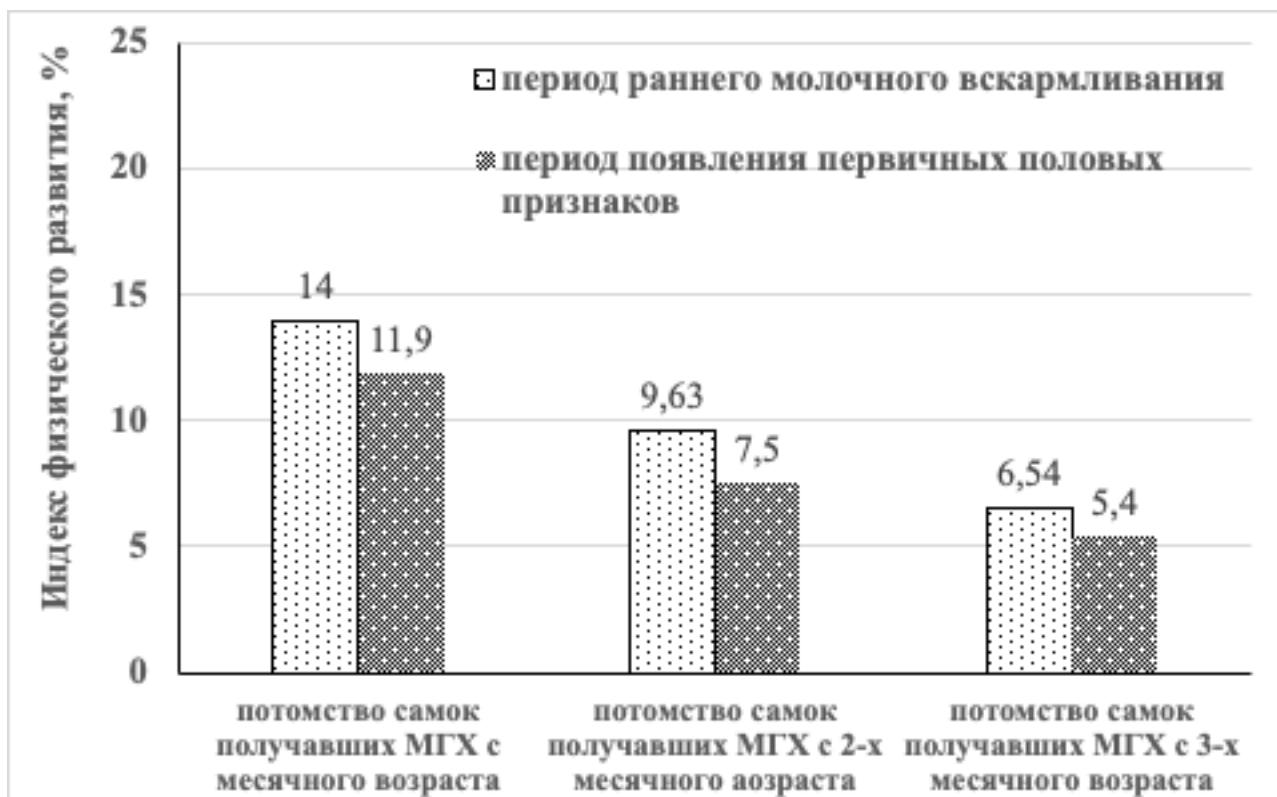


Рисунок 3.8 – Влияние 3-х месячного введения МГХ материнским особям на динамику ИФР потомства в постнатальном периоде

Среднее отставание/опережение сроков физического развития рассчитывалось для двух периодов. Со/oCФР₁ для периода раннего молочного вскармливания (признаки 1–4 таблицы 3.18) и Со/oCФР₂ для периода появления первичных половых признаков (признаки 5, 6 таблицы 3.18).

На основании Со/oCФР рассчитывались индексы физического развития для периода раннего молочного вскармливания (ИФР₁) и появления первичных половых признаков (ИФР₂) по формуле (3):

$$\text{ИФР}_{1,2} = \frac{\text{Со/oCФР}_{1,2}}{P_{1,2}} \times 100\% \quad (3)$$

где P_1 – сроки регистрации открытия глаз в контрольной группе для расчета ИФР₁, %; P_2 – сроки открытия влагалища в контрольной группе для расчета ИФР₂, %.

На рисунке 3.8 представлены индексы физического развития потомства, материнские особи которого до беременности длительно получали МГХ, начиная в различные периоды онтогенеза.

Как видно из представленных данных, у потомства самок, получавших ксенобиотик с препубертатного периода (месячного возраста), индексы физического развития, как в раннем периоде молочного вскармливания, так и в периоде появления первичных половых признаков были наиболее высокими, а в группе, получавшей с 3-х месячного возраста (половозрелых) – самыми низкими. В свою очередь в группе, получавшей МГХ с 2-х месячного возраста (пуперватного периода), они занимали промежуточное положение. Что позволяет расположить потомство крыс по степени выраженности задержки физического развития в зависимости от сроков начала введения ксенобиотика материнским особям в следующей последовательности: получавшие МГХ с месячного возраста > получавшие МГХ с 2-х месячного возраста > получавшие МГХ с 3-х месячного возраста.

3.3.2. Влияние на сенсорно-двигательное развитие потомство в постнатальном периоде

При изучении влияние МГХ на скорость созревания сенсорно-двигательных рефлексов у потомства белых нелинейных крыс в постнатальном периоде определяли сроки формирования следующих рефлексов: переворачивания на плоскости; отрицательного геотаксиса; избегания обрыва; поднимания головы и передних лап; ползания; опоры на задние конечности; подъема всего тела; избегания обрыва, вызванного визуальным стимулом.

Было установлено, что наиболее выраженное отставание в развитии сен-

сорно-двигательных рефлексов наблюдалось у потомства, рожденного от самок, получавших МГХ с месячного возраста (таблица 3.19). Причем обращало на себя внимание, что для всех рефлексов сроки формирования были значимо больше, чем в контроле ($p < 0,05$). В свою очередь, у потомства крыс, получавших ксенобиотик с 2-х месячного возраста, задержка формирования сенсорно-двигательных рефлексов была, судя по абсолютным значениям, менее выраженной, чем в предыдущем случае. Однако, сроки формирования шести из семи рефлексов были значимо больше, чем в контрольной группе ($p < 0,05$).

Наименее выраженным, однако, достоверным, было отставание в течение первых 8-и дней в формировании сенсорно-двигательных рефлексов у потомства крыс, получавших МГХ с 3-х месячного возраста. В дальнейшем отставания в сроках формирования рефлексов по сравнению с контролем зарегистрировано не было.

С целью сравнения отставания в сенсорно-моторном развитии потомства крыс, получавших МГХ в различные периоды онтогенеза, нами было рассчитано среднее отставание/опережение сроков сенсорно-двигательного развития (Со/oCCДР) выраженное в сутках, по формуле (4):

$$\text{Со/oCCДР} = \frac{\sum (S_{n1} - S_{n1k}) + \dots + (S_{nx} - S_{nkx})}{N_x} \quad (4)$$

где S_n – среднее сроки появления признака n в опытной группе (в соответствии с таблицей 3.19), в сутках; S_{nk} – среднее сроки появления признака n в контрольной группе (в соответствии с таблицей 3.19), в сутках; N_x – количество изучавшихся признаков.

На основании Со/oСФР рассчитывались индексы сенсорно-двигательного развития (ИСДР) по формуле (5):

$$\text{ИСДР} = \frac{\text{Со/oCCДР}}{P} \times 100\% \quad (5)$$

где P_1 – сроки формирования рефлекса избегания обрыва, вызванного визуальным стимулом в контрольной группе, сутки.

Таблица 3.19

Влияние МГХ на скорость созревания сенсорно-двигательных рефлексов (СДР) у потомства белых нелинейных крыс в постнатальном периоде в teste «Открытое поле – 1» ($M \pm m$)

№ ¹ п/п	Показатели	Группы животных (возраст начала применения МГХ)					
		месячные		2-х месячные		3-х месячные	
		Контроль	МГХ	Контроль	МГХ	Контроль	МГХ
1	2	3	4	5	6	7	8
1.	Переворачивание на плоскости	сутки	$4,38 \pm 0,18$	$6,09 \pm 0,61^*$	$4,38 \pm 0,15$	$5,78 \pm 0,28^*$	$4,94 \pm 0,20$
		отставание в СДР, сутки	–	1,71	–	1,40	–
2.	Отрицательный геотаксис	сутки	$6,24 \pm 0,23$	$8,87 \pm 0,60^*$	$6,86 \pm 0,30$	$8,70 \pm 0,63^*$	$6,48 \pm 0,25$
		отставание в СДР, сутки	–	2,63	–	1,84	–
3.	Избегание обрыва	сутки	$7,38 \pm 0,29$	$10,17 \pm 0,96^*$	$7,05 \pm 0,30$	$9,26 \pm 0,99^*$	$7,24 \pm 0,24$
		отставание в СДР, сутки	–	2,79	–	2,21	–
4.	Поднимание головы и передних лап	сутки	$8,43 \pm 0,22$	$10,43 \pm 0,81^*$	$8,29 \pm 0,10$	$10,00 \pm 0,63^*$	$8,76 \pm 0,14$
		отставание в СДР, сутки	–	2,00	–	1,71	–

продолжение таблицы 3.19

1	2	3	4	5	6	7	8	
5.	Ползание	сутки	10,00 ± 0,20	11,22 ± 0,41*	10,67 ± 0,14	10,83 ± 0,15	10,05 ± 0,20	10,30 ± 0,29
		отставание в СДР, сутки	–	1,22	–	0,16	–	0,25
6.	Опора на задние конечности, подъем всего тела	сутки	14,52 ± 0,31	18,04 ± 0,31*	14,33 ± 0,26	17,04 ± 0,65*	14,24 ± 0,37	14,22 ± 0,57
		отставание в СДР, сутки	–	3,52	–	2,71	–	- 0,02
7.	Избегание обры-ва, вызванное визуальным стимулом	сутки	14,95 ± 0,37	17,91 ± 0,34*	14,67 ± 0,28	16,61 ± 0,54*	14,57 ± 0,34	15,04 ± 0,54
		отставание в СДР, сутки	–	2,96	–	1,94	–	0,47
Со/oСДР, сутки		–	2,40	–	1,71	–	0,67	
ИСДР, %		–	16,05	–	11,67	–	4,60	

Полученные ИСДР для потомства самок крыс, получавших МГХ в различные сроки онтогенеза, представлены на рисунке 3.9. Из чего следует, что наибольшим отставание в СДР было у потомства крыс, получавших ксенобиотик с месячного, а наименьшим – с 3-х месячного возраста.

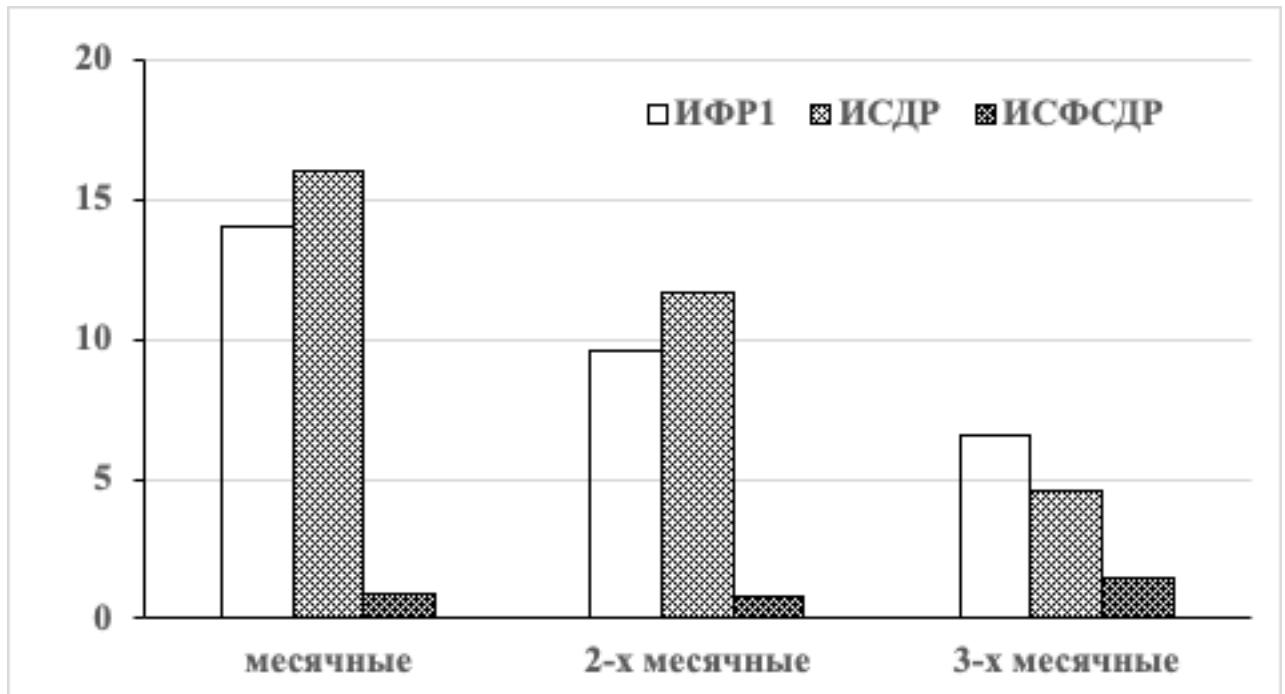


Рисунок 3.9 – Индексы развития потомства рожденного от крыс, получавших до зачатия в течение 3-х месяцев МГХ в различные периоды онтогенеза

Также, нами были рассчитаны индексы соответствия физического и сенсорно-двигательного развития (ИСФСДР) по формуле (6):

$$\text{ИСФСДР} = \frac{\text{ИФР}_1}{\text{ИСДР}} \quad (6)$$

Основываясь на полученных ИСФСДР можно говорить о том, что у потомства, материнские особи которого получали МГХ с месячного и 2-х месячного возраста, в первые две недели с момента рождения физическое и сенсорно-моторное развитие отставало пропорционально от контроля. В то время как у потомства самок крыс, получавших морфин с 3-х месячного возраста, наблюдалось отставание в сроках физического развития при относительной сохранности динамики сенсорно-двигательного развития (рисунок 3.9).

Таблица 3.20

Влияние МГХ на показатели двигательной активности в teste «Открытое поле–1»
у потомства белых нелинейных крыс в постнатальном периоде ($M \pm m$)

№ п/п	Показатели	Группы животных					
		месячные		2-х месячные		3-х месячные	
		Контроль	МГХ	Контроль	МГХ	Контроль	МГХ
1.	Горизонтальные передвижения, число актов	19,14 ± 2,75	61,65 ± 10,26*	20,71 ± 1,91	40,61 ± 10,69*	20,24 ± 3,07	27,65 ± 5,29
2.	Вертикальные стойки, число актов	11,76 ± 2,39	8,61 ± 1,69	10,76 ± 1,12	7,96 ± 1,68	11,00 ± 1,86	8,91 ± 1,72
3.	Заглядывания, число актов	1,76 ± 0,17	0,96 ± 0,53*	1,57 ± 0,13	0,48 ± 0,19*	1,81 ± 0,19	0,83 ± 0,27*
4.	Груминг, число актов	0,38 ± 0,11	2,91 ± 0,30*	0,48 ± 0,18	2,17 ± 0,37*	0,57 ± 0,20	1,04 ± 0,37

Примечание: * – отличие от контроля значимо, $p < 0,05$

При изучении двигательной и исследовательской активности было установлено, что во всех опытных группах по сравнению с контрольными наблюдались схожие изменения, проявлявшиеся увеличением количества горизонтальных передвижений и груминга, а также снижением числа вертикальных передвижений и заглядываний (таблица 3.20). Обращало на себя внимание, что указанные выше изменения были наиболее выражены у потомства крыс получавших МГХ с месячного возраста ($p < 0,05$), а наименее – у крысят, рожденных от самок, получавших ксенобиотик с 3-х месячного возраста. Полученные данные подтверждают результаты, полученные при изучении сроков формирования рефлекторной деятельности, и также свидетельствуют об отставании потомства крыс, получавших МГХ, в сенсорно-двигательном развитии от контрольных животных.

3.4. Обсуждение полученных результатов

При выполнении настоящего раздела нами решались следующие задачи:

- изучить влияние на организм и репродуктивную функцию самок крыс хронического воздействия МГХ в зависимости от дозы и возраста начала его введения;
- оценить физическое и сенсорно-двигательное развитие в постнатальном периоде у потомства самок крыс, подвергшихся хроническому воздействию МГХ до беременности в зависимости от возраста начала его введения.

В результате решения первой задачи должна была быть определена оптимальная экспериментальная модель, позволяющая оценить возможность использования пептидных препаратов для коррекции нарушений репродуктивной функции, вызванных длительным введением МГХ. Экспериментальная модель должна была удовлетворять следующим основным критериям – иметь наиболее выраженные нарушения репродуктивной функции при отсутствии или минимальных расстройствах со стороны внутренних органов и систем.

В связи с тем, что неблагоприятные эффекты химических веществ могут существенно зависеть от степени зрелости организма, исследования нами были выполнены на животных трех возрастных групп – месячных, 2-х и 3-х месячных, что при экстраполяции полученных результатов на человека соответствует дет-

скому, подростковому и взросому (половозрелому) возрасту [184].

На основании показателей токсикометрии при однократном внутрижелудочном введении были рассчитаны дозы МГХ для хронического введения животным различных возрастных групп эквивалентные одной и десятикратной эффективной терапевтической. Выбор был обусловлен тем обстоятельством, что указанные дозы являются общепринятыми при проведении доклинической оценки безопасности фармакологических субстанций и готовых лекарственных форм препаратов для проведения их государственной регистрации [184].

Результаты изучения общего состояния животных свидетельствовали о том, что:

- в процессе 3-х месячного введения МГХ во всех экспериментальных группах формировались стойкие дозозависимые стереотипные реакции, непосредственно связанные с введением ксенобиотика, не сочетавшиеся с нарушениями двигательной и ориентировочно-исследовательской активности;
- снижение скорости набора массы тела самками крыс происходило за счет уменьшения потребления корма, обусловленного изменениями пищевого поведения, сохранявшимися в группах получавших МГХ в максимальных дозах в течение всего периода наблюдения;
- 3-х месячное введение МГХ во всем диапазоне исследуемых доз крысам самкам всех возрастных групп не оказывало значимого влияния на сердечно-сосудистую систему;
- наиболее выраженные нарушения функции печени и почек наблюдались в группе, получавшей МГХ с месячного возраста в максимальной дозе, однако, выявленные изменения были незначительными, свидетельствовали о развитии у животных начальной стадии гепаторенальной дисфункций и могли быть квалифицированы как гепато-нефропатия легкой степени. Подобные изменения являются типичными для длительного применения МГХ даже в низких дозах и связаны с особенностями биотрансформации и кинетики последнего [212], а также с катаболическими процессами, обусловленными алиментарным фактором (снижением потребления корма и, как следствие этого, замедлением прироста массы т-

ла). С развитием выделительного нефроза также связано увеличение массовых коэффициентов головного мозга, у животных, получавших МГХ в максимальной дозе с месячного и 2-х месячного возраста, вследствие недостаточного выделения жидкости из организма, особенно на фоне ее избыточного потребления;

– введение МГХ во всем диапазоне доз в течение трех месяцев 2-х и 3-х месячным животным приводило к незначительным и невоспроизводимым изменениям отдельных параметров белой крови, вероятно, связанных с нарушением нормального состава влагалищной флоры, обусловленных расстройствами эстрального цикла.

Со стороны других органов и систем после 3-х месячного введения МГХ животным всех возрастных групп во всем диапазоне доз нарушений зарегистрировано не было.

По результатам проведенных исследований по влиянию длительного введения ксенобиотика нами для изучения репродуктивной функции самок была выбрана доза МГХ равная 10 ЭТД, не оказывавшая существенного влияния на общее состояние экспериментальных животных.

При изучении влияния 3-х месячного введения МГХ в 10,0 ЭТД на репродуктивную функцию самок крыс определялись следующие показатели: прирост массы тела беременных самок, плодовитость, репродуктивные показатели, состояние плацент и плодов (особенности развития внутренних органов и формирования скелета эмбрионов).

Значимые нарушения плодовитости были зарегистрированы только в группе животных, получавших МГХ с месячного возраста, в которой 80% самок, подсаженных к самцам, были оплодотворены, но из них только 50% были беременными ($p < 0,05$). Что свидетельствовало как о расстройствах полового поведения у этих животных, так и о серьезных нарушениях способности к зачатию потомства.

Нарушения репродуктивных показателей после применения МГХ были наиболее выраженными в группах, получавших ксенобиотик с месячного и 2-х месячного возраста. Для этих групп характерным было, с одной стороны, достоверное увеличение эмбриональной смертности, как за счет пред-, так и постим-

планационной гибели, а с другой – значительное уменьшение количества живых плодов ($p < 0,05$), сочетавшееся с увеличением их «массоростовых» характеристик (массы и ККР). Обращало на себя внимание наличие закономерности, в соответствии с которой, чем младше был возраст начала введения МГХ самкам, тем более значимыми были изменения репродуктивных показателей, что, вероятно, было связано с более выраженными нарушениями гормональной регуляции, начиная с препубертатного периода онтогенеза.

В группе, получавшей МГХ с месячного возраста, также были зарегистрированы нарушения циркуляторно-метаболического равновесия в фетоплацентарной системе [213, 214, 215] (увеличение плацентарно-плодового коэффициента), проявлявшиеся компенсаторной гиперплазией плацентарной ткани, свидетельствующей о компенсированной стадии хронической плацентарной недостаточности [216, 217, 218, 219].

Следует отметить, что у потомства самок, получавших МГХ с месячного и 3-х месячного возраста, наблюдалось уменьшение ($p < 0,05$) длин зачатков костей передних и задних конечностей, которые тем не менее свидетельствуют о незначительных нарушениях минерального обмена у материнских особей [219]. В свою очередь отсутствие изменений у потомства самок получавших МГХ с месячного возраста может быть объяснено небольшим количеством плодов в помете.

Подводя итог обсуждению влияния 3-х месячного введения МГХ на репродуктивную функцию самок крыс, с учетом всего комплекса выявленных нарушений, можно расположить животных различных возрастных групп по степени увеличения негативного действия ксенобиотика в 10,0 ЭТД в следующей последовательности: 3-х месячные < 2-х месячные < месячные.

При решении второй задачи – оценке физического и сенсорно-двигательного развитие в постнатальном периоде у потомства самок крыс, подвергшихся хроническому воздействию МГХ до беременности в зависимости от возраста начала его введения, нами были изучены: динамика массы тела; физическое развитие; скорость созревания сенсорно-двигательных рефлексов; двигательная и исследовательская активность.

Кроме стандартного, для экспериментальной биологии, подхода в работе для оценки развития потомства в постнатальном периоде нами был использован подход, применяемый в неонатологии и педиатрии [220, 221], адаптированный для исследований на мелких лабораторных животных. В рамках такого методического подхода оценивались избыток/дефицит массы тела, отставание/опережение физического и/или сенсорно-двигательного развития. Кроме того, нами были разработаны индексы и коэффициенты, позволяющие не только давать количественную оценку изменениям массы тела, степени физического и сенсорно-двигательного развития в опытных группах по сравнению с контрольными и между собой, а так же определять соответствие одних признаков, характеризующих развитие потомства, другим.

Во всех группах потомства, материнские особи которого длительно получали МГХ до беременности, на 4-е сутки был зарегистрирован достоверный ($p < 0,05$) дефицит массы тела. Данный феномен у потомства в группах, получавших ксенобиотик с 2-х месячного и месячного возраста, имел место сразу после рождения и был, по всей видимости, связан с нарушением питания (молочного вскармливания). Нарушения питания в дальнейшем приводили к задержке физического развития ($p < 0,05$) потомства в периоде раннего молочного вскармливания, причем, чем младше был возраст в начале приема ксенобиотика материнскими особями, тем более выраженной была задержка у потомства. В периоде появления первичных половых признаков отставание в сроках физического развития у потомства во всех группах сокращалось.

Отставание в физическом развитии у потомства в постнатальном периоде сочеталось с задержкой созревания сенсорно-двигательных рефлексов. Полученные данные свидетельствовали о том, что по степени отставания в сенсорно-двигательном развитии потомство, материнские особи которого получали МГХ, можно расположить в следующей последовательности: месячные $>$ 2-х месячные $>$ 3-х месячные.

Рассчитанные индексы соответствия физического и сенсорно-двигательного развития свидетельствовали о том, что у потомства, материнские особи которого

получали МГХ с месячного и 2-х месячного возраста, в периоде раннего молочного вскармливания физическое и сенсорно-двигательное развитие отставало от контроля пропорционально. В то время как у потомства самок крыс, получавших ксенобиотик с 3-х месячного возраста, наблюдалось отставание в сроках физического развития при относительной сохранности динамики сенсорно-двигательного развития. Указанные выше тенденции сохранялись и в более поздние сроки постнатального развития потомства, что в тесте «Открытое поле – 1» проявлялось увеличением количества горизонтальных передвижений и груминга, а также снижением числа вертикальных стоек и заглядываний.

Полученные данные свидетельствовали о том, что наиболее выраженные нарушения общего состояния и репродуктивной функции самок крыс, физического и сенсорно-двигательного развития у их потомства в постнатальном периоде возникали у животных, подвергшихся хроническому воздействию МГХ в максимальной дозе в препубертатном периоде (с месячного возраста).

ГЛАВА IV. ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ САМОК И РАЗВИТИЕ ПОТОМСТВА ПОСЛЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ МОРФИНА ГИДРОХЛОРИДА

В рамках настоящего раздела исследования нами было изучено влияние:

- 14-и дневного введения ДФС® или СМС® на поведение, репродуктивную функцию, состояние плодов и развитие потомства в постнатальном периоде у интактных 4-х месячных крыс самок;
- длительного (3-х месячного) введения МГХ в 10,0 ЭТД начатого в месячном возрасте крысам самкам на поведение, репродуктивную функцию, состояние плодов и развитие потомства в постнатальном периоде;
- 14-и дневного введения ДФС® либо СМС® после длительного (3-х месячного) введения МГХ в 10,0 ЭТД крысам самкам начатого в месячном возрасте на поведение, репродуктивную функцию, состояние плодов и развитие потомства в постнатальном периоде.

4.1. Влияние пептидных препаратов на поведение экспериментальных животных, в том числе после длительного применения МГХ

В ходе двухнедельного интраназального введения ДФС® либо СМС® интактным самкам крыс их поведение в целом было схожим с поведением животных контрольной группы. Однако следует отметить, что через 5–10 мин после введения СМС® у животных регистрировалась повышенная двигательная активность, сохраняющаяся в течение 1,5–2,0 часов. Кроме того для этих животных была характерна избыточная реакция на внешние раздражители, а также агрессивное поведение внутри группы в течение всего периода исследования. Указанные изменения свидетельствовали об изменении паттерна поведения вызванного применением СМС®, причем этот эффект сохранялся в течение 2-х недель после прекращения введения препарата.

В свою очередь, после введения ДФС® у животных отмечалось снижение двигательной активности по сравнению с контролем. Животные большую часть времени дремали, однако на внешние раздражители реагировали живо, агрессии внутри группы и к исследователю не проявляли. Подобное поведение сохранялось

на протяжении не менее 2-х недель после прекращения введения ДФС®.

Влияние МГХ на поведение животных в процессе 3-х месячного введения подробно описаны в п. 3.1.1. В течение первых 3-х дней после прекращения введения МГХ у всех животных наблюдалась выраженная «нервозность» которая постепенно уменьшалась к концу первой недели. На этом фоне регистрировались эпизоды выраженной двигательной активности – скачкообразных передвижений по клетке, которые могли возникать спонтанно или были вызваны внешними раздражителями. С начала второй недели «нервозность» сменилась «апатией», животные были малоподвижными, слабо реагировали на внешние раздражители, эпизоды психомоторного возбуждения не регистрировались. Начиная с 3-й неделе животные становились более активными и уже к концу 4-ой по поведению не отличалось от контрольных.

В свою очередь, в группах, получавших ПП после 3-х месячного введения МГХ, поведение животных существенно не отличалось от тех, которым вводили только ДФС® или СМС®. Так, для животных после введения СМС® характерными были повышенная двигательная активность и избыточная реакция на внешние раздражители, а для получавших ДФС® наоборот – снижение подвижности и реактивности. В свой черед «нервозность» в течение первой недели после прекращения введения МГХ и скачкообразные передвижения по клетке, а также «апатия» на второй неделе не регистрировались.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что при введении интактным животным наблюдалось разнонаправленное влияние ПП на поведение: для СМС® было характерно активирующее действие, а для ДФС® – седатирующее. В свою очередь применение ПП нивелировало нарушения поведения, вызванные предшествовавшим длительным введением МГХ.

4.2. Влияние пептидных препаратов на репродуктивную функцию самок крыс, в том числе после длительного применения МГХ

В рамках изучения влияния ПП и длительного введения МГХ на репродуктивную функцию самок крыс исследовались: эстральный цикл, содержание гормонов в сыворотке крови, динамика массы тела беременных

самок, плодовитость, репродуктивные показатели, состояние плацент, морфометрические показатели эмбрионов (в том числе и индексы физического развития), аномалии развития эмбрионов и внутренних органов плода, костного строения и формирования костной структуры.

4.2.1. Влияние пептидных препаратов на эстральный цикл, в том числе после длительного применения МГХ

При изучении влияния ПП на эстральный цикл интактных животных нами были использованы 4-х месячные самки крыс. Перед началом исследования на основании цитологического анализа влагалищных мазков было установлено, что 80,0% самок крыс имели устойчивый 4-х дневный эстральный цикл (ЭЦ), в то время как у 5,0 и 15,0% он составлял в среднем 3 и 5 дней, соответственно. Для проведения исследования нами были отобраны животные, у которых ЭЦ составлял 4-е дня и состоял из 4-х фаз: проэструса (предтечки), эструса (течки), метаэструса (послетечки) и диэструса (межтечки, или стадия покоя). При 4-х дневном эстральном цикле (при взятии мазков в 12 часов дня), на течковый (проэстру и эструс) и межтечковый (метаэструс и диэструс) периоды приходилось по 2-е суток [222, 223]. Повторное изучение структуры ЭЦ проводилось после 14-и дневного введения ДФС® и СМС® (таблица 4.1).

Было установлено, что в группе, получавшей ДФС®, 84,2% самок имели 4-х и 15,8% 5-и дневный эстральный цикл. В свою очередь у крыс, получавших СМС®, 4-х дневный цикл был зарегистрирован в 73,3%, а 5-и дневный – в 26,7% случаев, соответственно. Что соответственно отражалось в тенденции к увеличению общей длительности эстрального цикла и межтечкового периода, а также к уменьшению продолжительности течкового периода в группе, получавшей СМС®. Также, обращало на себя внимание, уменьшение коэффициентов проэструса–эструса и увеличение метаэструса–диэструса, а также отношения межтечкового/течковому периоду в группе получавшей СМС® по сравнению с контролем, однако указанные изменения не носили достоверного характера ($p > 0,05$). Полученные данные свидетельствует о том, что ДФС® и СМС® в выбранных дозах

Таблица 4.1

Влияние пептидных препаратов, МГХ и их последовательного применения, на структуру эстрального цикла половозрелых крыс ($M \pm m$)

Показатели	Группы животных					
	Контроль (n=20)	Получавшая				
		ДФС® (n=19)	СМС® (n=15)	МГХ (n=16)	МГХ и ДФС® (n=15)	МГХ и СМС® (n=16)
Общая длительность ЭЦ, сутки	$4,10 \pm 0,09$	$4,20 \pm 0,13$	$4,40 \pm 0,16$	$9,60 \pm 0,65^*$	$4,20 \pm 0,13\#$	$4,70 \pm 0,26\#$
Длительность течкового периода, сутки	$1,95 \pm 0,05$	$1,90 \pm 0,10$	$1,80 \pm 0,13$	$1,30 \pm 0,17^*$	$1,80 \pm 0,13\#$	$1,80 \pm 0,13\#$
Длительность межтечкового периода, сутки	$2,15 \pm 0,08$	$2,30 \pm 0,19$	$2,60 \pm 0,17$	$8,30 \pm 0,80^*$	$2,40 \pm 0,12\#$	$2,90 \pm 0,21\#$
K(п+э), %	$48,00 \pm 1,27$	$46,00 \pm 2,74$	$41,50 \pm 2,80$	$16,89 \pm 2,80$	$43,00 \pm 2,31$	$39,17 \pm 2,67$
K(м+д), %	$52,00 \pm 1,27$	$54,00 \pm 3,03$	$58,50 \pm 2,80$	$84,77 \pm 3,14$	$57,00 \pm 2,31$	$60,83 \pm 2,67$
Отношение межтечкового/течковому периоду	1,10	1,21	1,44	5,53	1,33	1,61
Примечание: * – отличие от контроля значимо, $p < 0,05$; # – отличие от группы, получавшей МГХ, значимо, $p < 0,05$.						

при курсовом введении в течение 14-и суток не оказывали значимого влияния на состав влагалищного мазка и структуру ЭЦ у интактных самок крыс.

В свою очередь, введение МГХ приводило к существенному изменению влагалищного содержимого в межтечковой стадии эстрального цикла, а также длительности и структуры эстрального цикла. Так, при изучении влагалищного мазка различий в содержимом и клеточном составе у животных контрольной и опытных группах (получавших МГХ, а также ксенобиотик и пептидные препараты) в течковом периоде эстрального цикла (фазы проэструса и эструса) выявлено не было (рисунок 4.1).

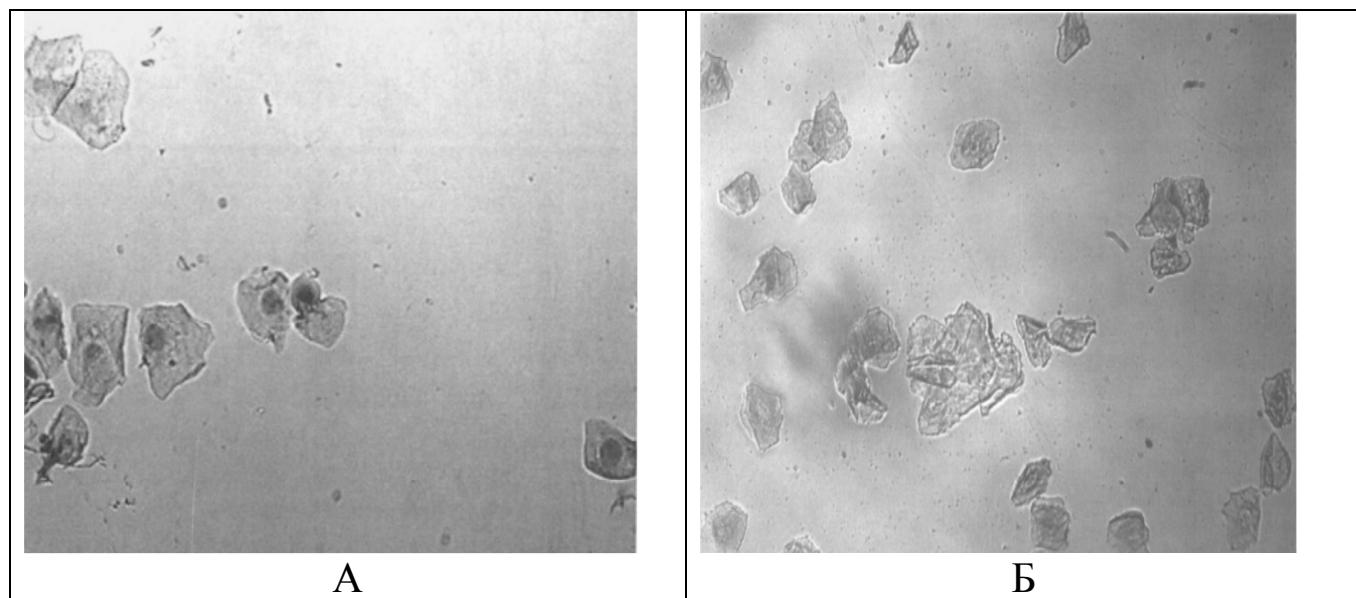


Рисунок 4.1 – Влагалищные мазки соответствующие течковому периоду эстрального цикла (А – фаза проэструса; Б – фаза эструса)

В межтечковый период в контроле и в группах, получавших ПП после МГХ, в начале фазы метаэструса мазок содержал ороговевшие чешуйки, лейкоциты и единичные эпителиальные клетки, а в конце – преобладали лейкоциты, появляясь слизь и исчезали чешуйки (рисунок 4.2А). Фаза диэструса характеризовалась значительным количеством слизи и множеством лейкоцитов (рисунок 4.2Б). В группе животных, получавших МГХ, во влагалищном мазке в межтечковом периоде чешуйки, эпителиальные клетки и лейкоциты не определялись, а идентифицировались в большом количестве грибы и бактерии (рисунок 4.2Б).

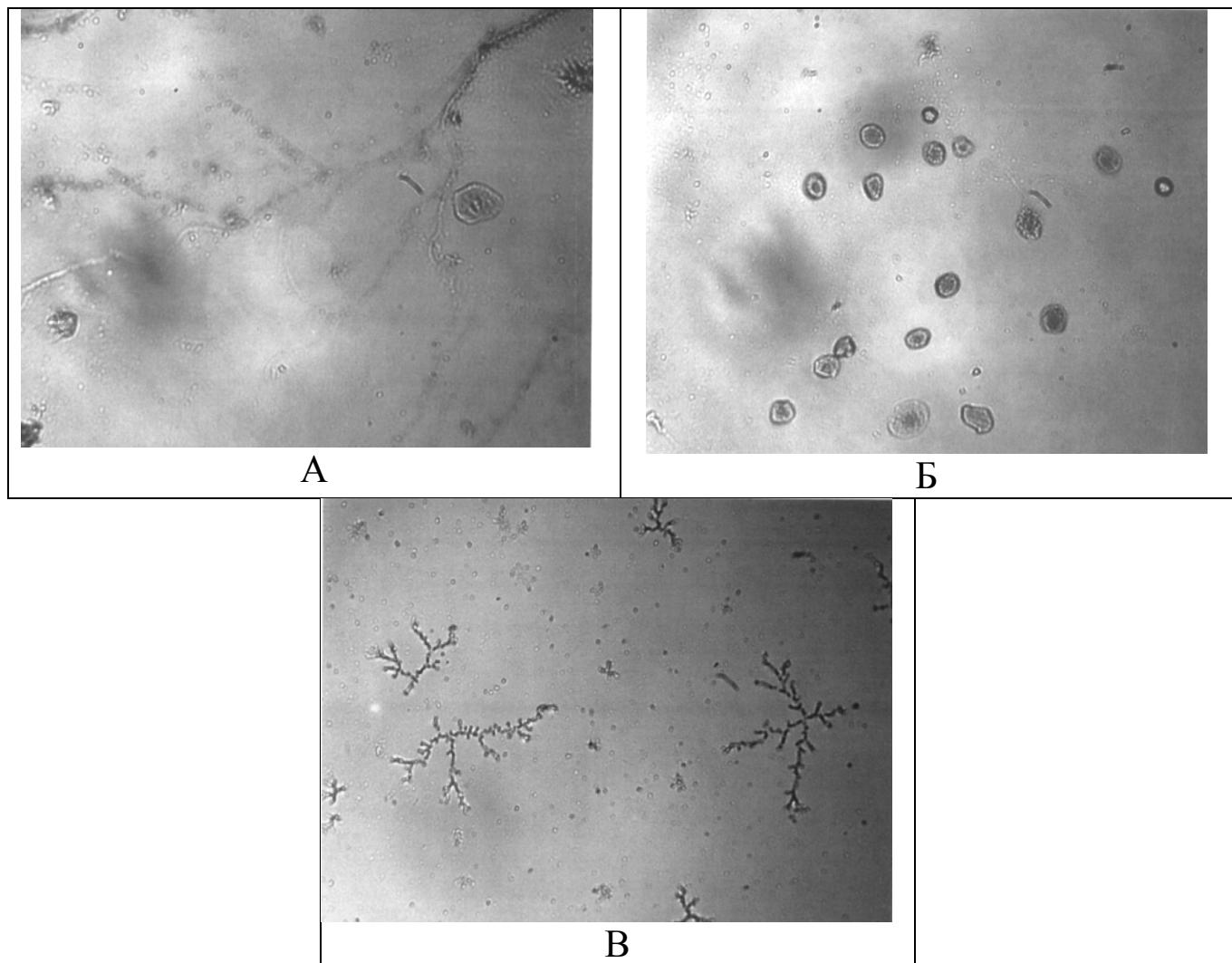


Рисунок 4.2. – Влагалищные мазки взятые у животных контрольной группы
(А – фаза диэструса Б – фаза метаэструса) и получавшей МГХ
(В – межтечковый период)

При изучении длительности и структуры ЭЦ было установлено, что в группе, получавшей МГХ, он составлял от 4 до 12 дней. Причем в 18,8% был зарегистрирован 4-х дневный эстральный цикл, в то время как у 81,2% животных он составил в среднем $9,60 \pm 0,65$ суток. Для этой группы также было характерно уменьшение длительности течкового периода до $1,50 \pm 0,17$ суток и увеличение межтечкового до $8,30 \pm 0,80$ суток ($p \leq 0,05$). Последнее было обусловлено как увеличением длительности метаэструса, так и диэструса (таблица 4.1, рисунок 4.3). О выраженности изменений свидетельствовали как коэффициенты проэструс–эструс и метаэструс–диэструс составлявшие $16,89 \pm 2,80$ и $84,77 \pm 3,14\%$, соответственно, так и отношение продолжительности межтечкового к течковому пери-

ду, которое в 4,94 раза превышало значения, полученные в контрольной группе.

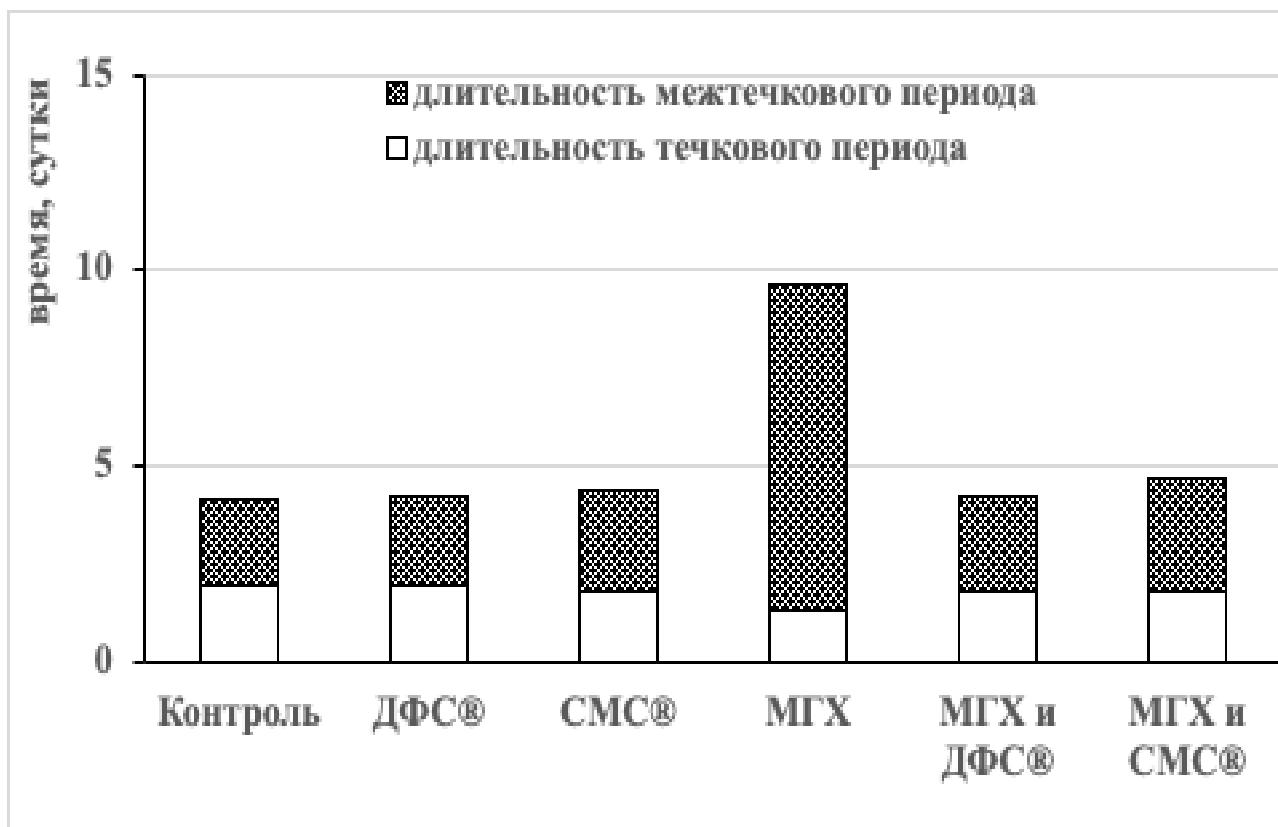


Рисунок 4.3 – Структура эстрального цикла у животных, получавших пептидные препараты после длительного введения МГХ

Применение ПП после хронического введения МГХ оказывало существенное влияние на длительность и структуру эстрального цикла, измененного применением последнего. Так, было установлено, что применение как ДФС®, так и СМС® уменьшало продолжительность полового цикла у крыс до 4-х суток в 86,7 и 68,8% случаев, соответственно. За счет чего длительность эстрального цикла в этих группах стала сопоставима с показателями, полученными в контроле (рисунок 4.2). В свою очередь отношение межтечкового к течковому периоду эстрального цикла у животных, получавших ДФС® и СМС®, составили 1,33 и 1,63 по сравнению с контрольной группой, соответственно.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что курсовое применение ДФС® или СМС® в выбранных нами дозах, приводило к нормализации структуры и длительности эстрального цикла у половозрелых самок инбредных крыс, нарушенных длительным предшествовавшим введением МГХ в 10,0 ЭТД.

4.2.2. Влияние пептидных препаратов на содержание гормонов в сыворотке крови самок крыс, в том числе после длительного применения МГХ

Нами было изучено содержание ФСГ, ЛГ и прогестерона в сыворотке крови самок крыс в межтечковом периоде после курсового введения ПП, длительного применения МГХ, а также и использования ДФС® и СМС® после длительного введения ксенобиотика. Было установлено, что применение ДФС® и СМС® не оказывало влияния на концентрации ФСГ, ЛГ и прогестерона в сыворотке крови самок крыс (таблица 4.2).

Таблица 4.2
Влияние пептидных препаратов, МГХ и их последовательного применения, на содержание гормонов в сыворотке крови самок крыс ($M \pm m$)

Группы животных	Содержание гормонов в сыворотке крови, МЕ/л		
	ФСГ (n=10)	ЛГ (n=10)	Прогестерон (n=10)
Контрольная	2,92 ± 0,31	3,57 ± 0,18	7,6 ± 0,6
– ДФС®	3,08 ± 0,45	3,61 ± 0,24	7,4 ± 0,5
– СМС®	2,87 ± 0,28	3,38 ± 0,33	7,2 ± 0,6
– МГХ	1,08 ± 0,52*	1,44 ± 0,56*	6,4 ± 0,6
– МГХ и ДФС®	2,76 ± 0,52#	3,45 ± 0,31#	7,4 ± 0,5
– МГХ и СМС®	2,68 ± 0,63#	3,28 ± 0,45#	7,1 ± 0,7

Примечание: * – различие с контролем значимо, $p < 0,05$; # – различие с группой, получавшей МГХ, значимо, $p < 0,05$.

В свою очередь 3-х месячное применение МГХ сопровождалось снижением ($p < 0,05$) содержания ФСГ и ЛГ в сыворотке крови самок, в то время как концентрация прогестерона имела лишь тенденцию к снижению.

Применение пептидных препаратов ДФС® и СМС® после длительного введения МГХ приводило к восстановлению содержания ФСГ и ЛГ в сыворотке крови самок при неизмененной концентрации прогестерона.

Полученные данные согласуются с результатами, полученными при изучении структуры ЭЦ, и свидетельствуют о том, что нарушения последнего обусловлены развитием гормональной дисфункции, вызванной длительным приемом МГХ, а применение ДФС® или СМС® позволяет восстановить гормональную ре-

гуляцию.

4.2.3. Влияние пептидных препаратов на динамику массы тела беременных самок, в том числе после длительного применения МГХ

При изучении влияния ПП на динамику массы тела беременных самок было установлено, что в группе животных, получавшей ДФС®, наблюдалось значимое ($p < 0,05$) снижение темпов прироста этого показателя на 2-ой и 3-ей неделе, в то время как у животных получавших СМС® оно отмечалось только на 3-ей неделе беременности (таблица 4.3).

Таблица 4.3
Влияние пептидных препаратов, МГХ и их последовательного применения, на динамику массы тела беременных крыс ($M \pm m$)

Группа животных	Прирост массы тела (%) в период наблюдения		
	1-я неделя	2-я неделя	3-я неделя
Контрольная	$12,50 \pm 0,85$	$13,30 \pm 0,82$	$23,54 \pm 1,98$
– ДФС®	$13,08 \pm 0,81$	$10,58 \pm 0,74^*$	$17,48 \pm 2,08^*$
– СМС®	$12,34 \pm 1,32$	$12,15 \pm 0,89$	$18,76 \pm 1,30^*$
– МГХ	$21,22 \pm 1,23^*$	$15,28 \pm 0,70$	$16,68 \pm 1,45^*$
– МГХ и ДФС®	$14,56 \pm 0,49^{\#}$	$11,83 \pm 0,51^{\#}$	$18,75 \pm 1,52$
– МГХ и СМС®	$12,90 \pm 1,76^{\#}$	$11,80 \pm 1,36^{\#}$	$17,81 \pm 1,38$

Примечание: * – отличие от контроля значимо, $p < 0,05$; # – различия с группой, получавшей МГХ, значимы, $p < 0,05$.

Также было установлено, что в группе, получавшей МГХ до зачатия, наблюдалось увеличение (в 1,7 раза) прироста массы тела на первой и снижение (в 1,2 раза) на последней неделе беременности по сравнению с контролем. В свою очередь, в группах, получавших пептидные препараты после длительного предшествовавшего применения МГХ не было выявлено значимых изменений темпов прироста массы тела беременных самок по сравнению контрольной группой, однако наблюдалось увеличение этого показателя на 2-ой и 3-ей неделе по сравнению с животными, получавшими только МГХ ($p < 0,05$).

4.2.4. Влияние пептидных препаратов на плодовитость самок крыс, в том числе после длительного применения МГХ

При изучении влияния ПП на плодовитость крыс было установлено, что в группах, получавших ДФС® и СМС® отмечалось снижение количества оплодотворенных самок по сравнению с контролем, причем для последней оно носило статистически значимый характер ($p < 0,05$). В то время как в группе получавшей ДФС® было зарегистрировано достоверное снижение количества беременных самок по сравнению с контролем. Данный факт отразился на уменьшении индекса фертильности для животных, получавших ДФС® и СМС®, на 10 и 25 %, а индекса беременности – на 18 и 9%, соответственно (таблица 4.4).

Длительное применение МГХ оказывало существенное влияние на плодовитость крыс. Так, в группе животных, получавшей только МГХ, наблюдалось снижение как количества оплодотворенных, так и беременных самок по сравнению с контролем, о чем свидетельствовало уменьшение индексов фертильности и беременности на 20 и 40%, соответственно.

Обращало на себя внимание, что применение пептидных препаратов после длительного предшествовавшего введения МГХ нивелировало вызванные им нарушения плодовитости у крыс. Об этом свидетельствовало увеличение количества оплодотворенных и беременных самок ($p < 0,05$) в группах, получавших ДФС® и СМС® после МГХ, в сравнении с группой, получавшей только МГХ.

4.2.5. Влияние пептидных препаратов на репродуктивные показатели самок крыс, в том числе после длительного применения МГХ

При изучении показателей репродуктивной функции крыс было установлено, что ДФС® и СМС® не оказывали статистически значимого влияния на продолжительность беременности, количество желтых тел и мест имплантации. Эмбриональная гибель в предимплантационном периоде так же достоверно не различалась в группах, получавших ПП и контроле (таблица 4.5). Однако, обращало на себя внимание увеличение индекса постимплантационной гибели в 2,2 раза в группе, получавшей ДФС®, в сравнении с контролем,

Таблица 4.4

Влияние пептидных препаратов, МГХ и их последовательного применения, на плодовитость крыс

Показатели	Контроль	Группы животных				
		Получавшие				
		ДФС®	СМС®	МГХ	МГХ и ДФС®	МГХ и СМС®
1	2	3	4	5	6	7
Количество самок, посаженных с самцами, гол.	20	20	20	25	18	19
Количество оплодотворенных самок, гол.	20	18	15*	20*	18#	19#
Количество беременных самок, гол.	19	14*	13	12*	16#	15*,#
Индекс фертильности, %	100	90	75	80	100	100
Индекс беременности, %	95	77,8	86,7	60	88,8	78,9

Примечание: * – отличие от контроля значимо, $p < 0,05$; # – различия с группой, получавшей МГХ, значимы, $p < 0,05$.

что и послужило причиной увеличения общей эмбриональной гибели (рисунок 4.4).

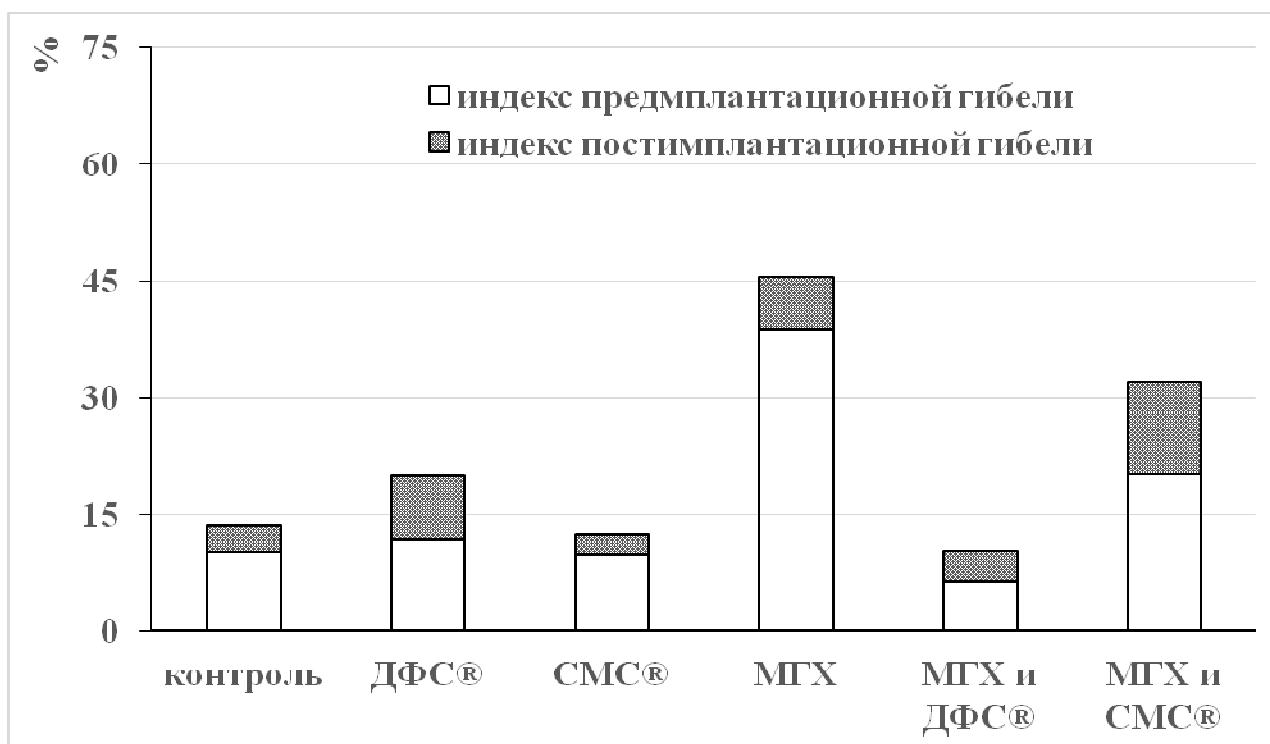


Рисунок 4.4 – Показатели общей эмбриональной гибели у животных, получавших пептидные препараты, МГХ и их последовательное назначение

Как видно из представленных данных, длительное введение МГХ вызывало серьезные нарушения репродуктивных показателей у крыс – снижение ($p < 0,05$) количества мест имплантации и живых плодов, и как следствие этого, увеличение индексов пред- и постимплантационной гибели в 3,9 и 1,8 раза по сравнению с контролем.

Применение после МГХ пептидных препаратов оказывало положительное влияние на показатели репродуктивности крыс. Причем эффекты, полученные при использовании ДФС®, были более выраженным, чем при СМС®. При назначении ПП количество мест имплантации, а так же живых плодов было выше ($p < 0,05$), чем в группе, получавшей МГХ, и сравнимо с показателями контрольной группы.

Таблица 4.5

Влияние пептидных препаратов, МГХ и их последовательного применения, на репродуктивные показатели крыс ($M \pm m$)

Показатели	Группы					
	Контроль	Получавшие				
		ДФС®	СМС®	МГХ	МГХ и ДФС®	МГХ и СМС®
1	2	3	4	5	6	7
Продолжительность беременности, дни	$22,67 \pm 0,55$	$22,40 \pm 0,55$	$22,17 \pm 0,45$	$22,60 \pm 0,55$	$22,00 \pm 0,71$	$22,20 \pm 0,84$
Количество желтых тел, шт.	$13,57 \pm 0,59$	$12,70 \pm 0,81$	$12,86 \pm 1,03$	$13,17 \pm 0,67$	$12,71 \pm 0,94$	$14,86 \pm 0,96$
Количество мест имплантации, шт.	$12,14 \pm 0,48$	$11,20 \pm 1,02$	$11,43 \pm 0,69$	$7,94 \pm 0,99^*$	$11,86 \pm 0,74\#$	$11,57 \pm 1,00\#$
Количество живых плодов, гол.	$11,71 \pm 0,55$	$10,40 \pm 1,06$	$11,14 \pm 0,74$	$7,44 \pm 0,96^*$	$11,43 \pm 0,87\#$	$10,00 \pm 0,72\#$
Индекс предимплантационной гибели, %	$9,98 \pm 1,90$	$11,89 \pm 6,61$	$9,74 \pm 3,63$	$38,73 \pm 7,37^*$	$6,20 \pm 2,53\#$	$20,09 \pm 8,53$
Индекс постимплантационной гибели, %	$3,70 \pm 1,80$	$8,12 \pm 2,62$	$2,81 \pm 1,90$	$6,86 \pm 1,91$	$3,96 \pm 2,89$	$12,03 \pm 3,68$

Примечание: * – отличие от контроля значимо, $p < 0,05$; # – различия с группой, получавшей МГХ, значимы, $p < 0,05$.

Обращало на себя внимание, что в группе, получавшей ДФС® после МГХ индексы пред- и постимплантационной гибели были ниже ($p < 0,05$), чем в группе, получавшей только МГХ, и существенно не отличались от контрольных. В то же время при использовании СМС® после МГХ индексы пред- и постимплантационной гибели были ниже, чем в группе получавшей только МГХ, но существенно выше, чем в контроле. При этом общая эмбриональная гибель в группе, получавшей СМС® после МГХ, была в 2,35 раза выше, чем в контроле и в 3,16 раза выше, чем в группе получавшей ДФС® после МГХ.

4.2.6. Влияние пептидных препаратов на состояние плацент и эмбрионов крыс, в том числе после длительного применения МГХ

При изучении влияния пептидных препаратов, МГХ и их последовательного применения на морфометрические показатели развития плодов крыс во всех экспериментальных группах уродств и видимых аномалий развития зафиксировано не было.

При исследовании влияния ПП на эмбрионы крыс было установлено, что применение пептидных препаратов не оказывало влияние на количество плодов, в то время как масса тела и ККР при применении ДФС® имели тенденцию к снижению, а при использовании СМС® были ниже ($p < 0,05$), чем в контроле (таблица 4.6). При назначении ПП наблюдалось уменьшение диаметра плаценты ($p < 0,05$) на фоне тенденции к увеличению ее массы, что, соответственно, приводило к увеличению плодово-плацентарного индекса (ППИ) по сравнению с контрольными значениями.

Применение МГХ приводило, с одной стороны, к уменьшению всех изучавшихся показателей плодов, причем если для количества и ККР эти изменения были значимыми ($p < 0,05$), то для массы – носили характер тенденции, а с другой к значимым ($p < 0,05$) изменениям плаценты – уменьшению диаметра и увеличению массы и ППИ.

Применение ПП после МГХ характеризовалось нормальным количеством плодов в помете, однако их масса и ККР были ниже, чем у животных контрольной группы. В свою очередь показатели плаценты имели разнонаправленные

Таблица 4.6

Влияние пептидных препаратов, МГХ и их последовательного применения, на состояние плацент и плодов крыс ($M \pm m$)

Показатели	Пол эмбрионов	Группы					
		Контроль (n=7/82)	Получавшие				
			ДФС® (n=6/61)	СМС® (n=6/69)	МГХ (n=10/75)	МГХ и ДФС® (n=5/58)	МГХ и СМС® (n=7/70)
1	2	3	4	5	6	7	8
Количество плодов в помете, гол.	мужской	5,67 ± 1,10	4,80 ± 1,10	6,17 ± 2,61	3,83 ± 1,10*	5,83 ± 2,51	5,40 ± 2,51
	женский	6,00 ± 0,84	5,40 ± 1,52	5,33 ± 1,82	3,67 ± 0,84*	5,67 ± 1,34#	4,60 ± 1,67
Краниокаудальный размер, мм	мужской	35,23 ± 1,33	32,18 ± 1,61	30,57 ± 0,61*	31,39 ± 1,33*	29,90 ± 0,55*	31,80 ± 0,92*
	женский	34,12 ± 1,20	31,04 ± 1,39	30,21 ± 0,69*	29,82 ± 0,88*	29,10 ± 0,55*	31,08 ± 0,70*
Масса плода, г	мужской	2,99 ± 0,31	2,84 ± 0,35	2,54 ± 0,07*	2,75 ± 0,30	2,28 ± 0,04*,#	2,79 ± 0,23
	женский	2,84 ± 0,29	2,65 ± 0,27	2,43 ± 0,07*	2,50 ± 0,23	2,21 ± 0,15*	2,61 ± 0,18

продолжение таблицы 4.6

1	2	3	4	5	6	7	8
Диаметр плаценты, мм	мужской	13,79 ± 0,22	12,61 ± 0,54*	12,96 ± 0,79	12,71 ± 0,33*	13,32 ± 0,76	13,66 ± 0,23
	женский	13,71 ± 0,15	12,26 ± 0,62*	12,29 ± 0,55*	12,10 ± 0,35*	13,31 ± 0,36#	13,28 ± 0,44#
Масса плаценты, г	мужской	0,51 ± 0,01	0,56 ± 0,04	0,53 ± 0,01	0,59 ± 0,02*	0,52 ± 0,01#	0,57 ± 0,02*
	женский	0,50 ± 0,01	0,54 ± 0,03	0,55 ± 0,01*	0,57 ± 0,02*	0,51 ± 0,01#	0,56 ± 0,02*
Плодово-плацентарный индекс	мужской	0,18 ± 0,02	0,21 ± 0,02	0,21 ± 0,01	0,23 ± 0,02*	0,23 ± 0,005*	0,21 ± 0,01
	женский	0,19 ± 0,02	0,21 ± 0,01	0,23 ± 0,01*	0,24 ± 0,01*	0,23 ± 0,01*	0,22 ± 0,01*

изменения в зависимости от использованного ПП. Диаметр плаценты и ее масса были сравнимы с показателями контрольной группы в случае применения ДФС® после МГХ. В группе, получавшей СМС® после МГХ, масса плаценты была выше чем в контроле ($p < 0,05$).

При изучении морфометрических характеристик эмбрионов было установлено, что после применения ПП такие показатели как длина передних и задних конечностей не отличаются от контрольных. В то же время в группах, получавших ДФС® и СМС® такие параметры, как длина тела эмбриона была снижена на 8,8 и 12,3%, а окружность грудной клетки меньше на 24,2 и 27,8%, соответственно, по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

Были также выявлены значимые отличия от контроля ($p < 0,05$) в группе, получавшей МГХ, по таким морфометрическим показателям эмбрионов, как длина тела и окружность грудной клетки в сторону уменьшения последних на 12,0 и 25,0% соответственно.

В свою очередь, применение пептидных препаратов ДФС® и СМС® после МГХ снижало выраженность уменьшения морфометрических показателей по сравнению с группой, получавшей только МГХ, но не предотвращало его.

Для оценки плодов нами были рассчитаны индексы физического развития, которые широко используются в детской, спортивной и военной антропометрии для определения задержки физического развития [224, 225, 226]. В настоящем исследовании метод индексов использовали для оценки степени биологического развития эмбрионов крыс (гестационного возраста) в антенатальном периоде онтогенеза.

Так, индекс Кетле I, характеризующий гармоничность развития тела эмбриона в группах, получавших пептидные препараты, не отличался от контроля (таблица 4.7). В то время как индексы Кетле II, Борнгарда и Пинье, были выше ($p < 0,05$), а индекс Эрисмана ниже в опытных группах, что свидетельствовало о более крепком телосложении эмбрионов в контроле. В свою очередь, на основании индекса Вервека можно говорить о том, что эмбрионы в группах получавших ДФС® и СМС® развивались по долихоморфическому, в то время

Таблица 4.7

Индексы физического развития плодов от самок крыс, получавших до беременности пептидные препараты, МГХ и их сочетание ($M \pm m$)

Группы животных	Индексы физического развития							
	Кетле I	Кетле II	Борнгарда	Вервека	Пинье	Эрисмана	Ливи	Рорера
Контроль (n=14)	0,828 ± 0,035	0,238 ± 0,004	0,00030 ± 0,00001	1,250 ± 0,031	0,690 ± 0,081	1,041 ± 0,057	34,475 ± 0,472	6,876 ± 0,098
ДФС® (n=12)	0,857 ± 0,037	0,271 ± 0,005*	0,00041 ± 0,00002*	1,498 ± 0,051*	1,052 ± 0,103*	0,526 ± 0,054*	37,558 ± 0,754*	8,642 ± 0,268*
СМС®, (n=12)	0,817 ± 0,010	0,269 ± 0,005*	0,00040 ± 0,002*	1,527 ± 0,047*	1,031 ± 0,058*	0,486 ± 0,058*	38,349 ± 0,485*	8,903 ± 0,287*
МГХ (n=12)	0,843 ± 0,036	0,274 ± 0,007*	0,00038 ± 0,00002*	1,409 ± 0,028*	0,859 ± 0,046	0,668 ± 0,064*	38,440 ± 0,573*	9,027 ± 0,247*
МГХ и ДФС® (n=12)	0,761 ± 0,005#	0,258 ± 0,004*#	0,00034 ± 0,00001*#	1,306 ± 0,009#	0,692 ± 0,015#	0,780 ± 0,024*	38,835 ± 0,426*	8,784 ± 0,235*
МГХ и СМС® (n=12)	0,852 ± 0,029	0,270 ± 0,005*	0,00035 ± 0,00001*#	1,288 ± 0,043#	0,648 ± 0,087#	0,921 ± 0,058	37,536 ± 0,402*	8,624 ± 0,181*

Примечание: * – отличие от контроля значимо, $p < 0,05$; # – различия с группой, получавшей МГХ, значимы, $p < 0,05$

как в контрольной – по мезоморфическому типу. Об «астеническом телосложении» (узкосложенности) эмбрионов опытных групп свидетельствовали, также, и индексы Ливи и Рорера, характеризующие показатели физической организации (пропорциональности) тела. Полученные данные свидетельствуют о пропорциональном снижении морфометрических показателей у эмбрионов крыс в группах, получавших пептидные препараты.

ПП оказывали положительное влияние на изменения морфометрических показателей эмбрионов, вызванные длительным введением МГХ, причем при использовании СМС® эффект был более выраженным, чем при применении ДФС®. Однако, их применение не приводило к полной нормализации морфометрических показателей эмбрионов.

4.2.7. Влияние пептидных препаратов на частоту аномалий развития плодов, в том числе после длительного применения МГХ

При исследовании влияния ПП на развитие аномалий внутренних органов плодов крыс по методу Вильсона–Дыбана было установлено, что в группах получавших ДФС® и СМС® имели место случаи полнокровия предсердий и желудочков сердца, однако, различий по частоте встречаемости этих показателей по сравнению с контролем зарегистрировано не было (таблица 4.8). Обращало на себя внимание, что частота кровоизлияний в грудную и брюшную полость в группе, получавшей СМС®, составляла 16,3 и 9,3% по сравнению с контролем, соответственно. В группе, получавшей ДФС®, различий с контролем по этим показателям зарегистрировано не было.

Было установлено, что в группе, длительно получавшей МГХ, зарегистрировались следующие статистически значимые ($p < 0,05$) изменения показателей: кровоизлияния в головной мозг в 34,0% (рисунок 4.5 Б); расширение желудочков головного мозга в 18,0% (рисунок 4.5 А); гидронефроз в 28,0% (рисунок 4.5А, 4.5Б). Кроме того, в этой группе наблюдалось полнокровие предсердий и желудочков сердца в 36,0 и 18,0 % случаев, соответственно (таблица 4.8).

Следует отметить, что даже при наличии макроскопических изменений в органах эмбрионов гистологических отклонений в их структуре не

Таблица 4.8

Влияние пептидных препаратов, МГХ и их последовательного применения, на частоту встречаемости отклонений в развитии внутренних органов плодов крыс (по методу Вильсона – Дыбана)

Изучаемые параметры*	Группа животных					
	Контроль (n = 64)	Получавшие				
		ДФС® (n = 39)	СМС® (n = 43)	МГХ (n = 50)	МГХ + ДФС® (n = 60)	МГХ + СМС® (n = 51)
1	2	3	4	5	6	7
Кровоизлияния в:						
– головной мозг	1 (1,6)	2 (5,1)	1 (2,3)	17 (34,0)*	0#	1 (2,0)
– грудную полость	0	0	7 (16,3)	4 (8,0)	0	2 (3,9)
Полнокровие:						
– предсердий	7 (10,9)	4 (10,3)	6 (14,0)	18 (36,0)*	2 (3,3) #	7 (13,7)
– желудочков сердца	1 (1,6)	3 (7,7)	1 (2,3)	9 (18,0)	2 (3,3)	7 (13,7)
Расширение желудочков головного мозга	0	0	0	9 (18,0)*	0#	0#
Гидронефроз	1 (1,6)	3 (7,7)	5 (11,6)	14 (28,0)*	0#	5 (9,8)

Примечание: в таблице указаны только те показатели, при изучении которых были выявлены изменения; * – отличие от контроля значимо, $p < 0,05$; # – различия с группой, получавшей МГХ, значимы, $p < 0,05$.

наблюдалось (рисунок 4.6 – 4.12).

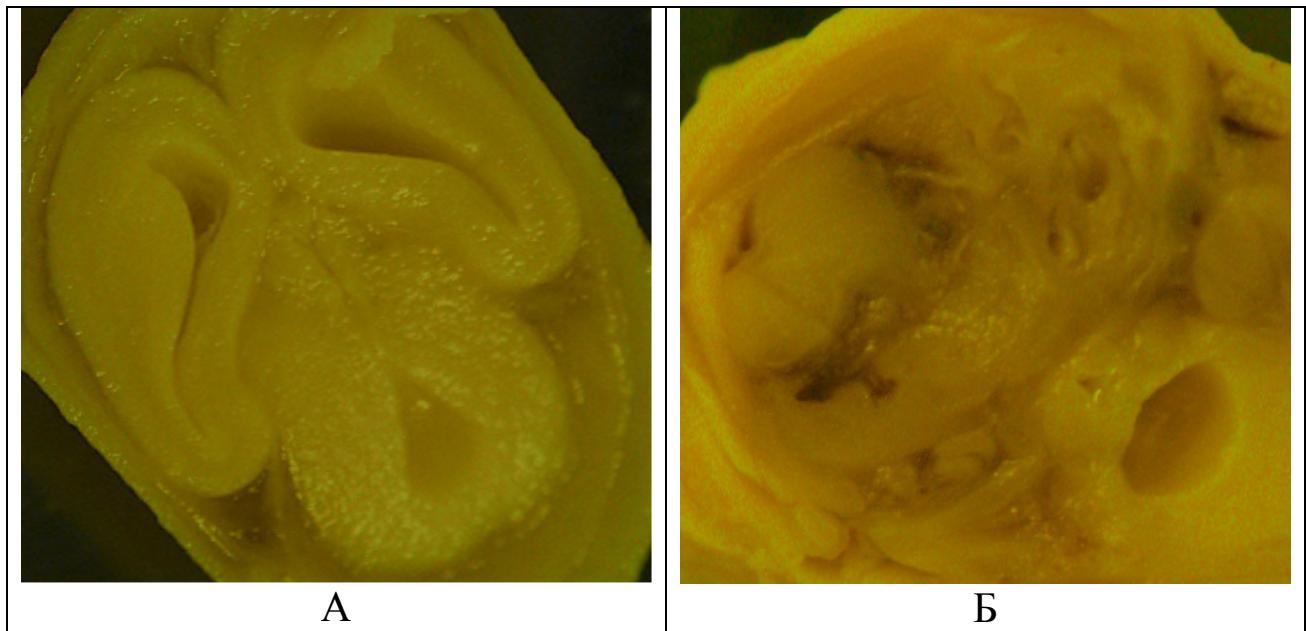


Рисунок 4.5 – Срез головного мозга плода крысы (А – расширение желудочков, увеличение х 25; Б – кровоизлияния, увеличение х 50)

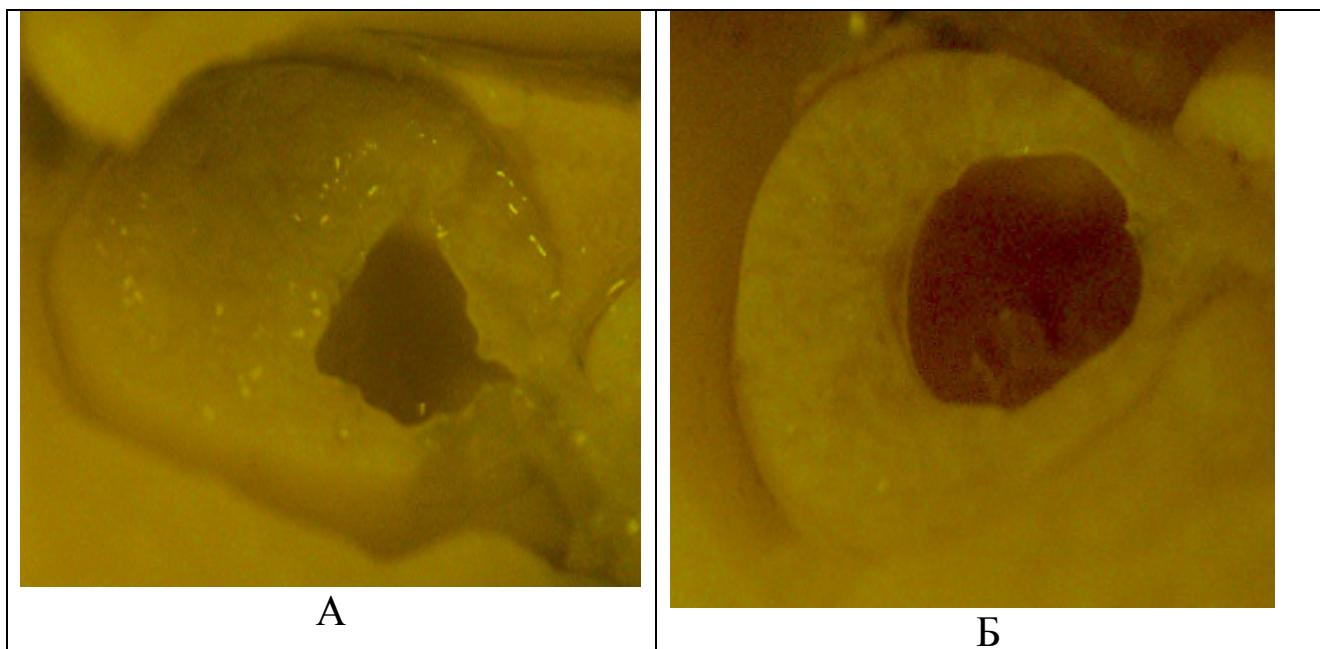


Рисунок 4.6 – Срез почки плода крысы, увеличение х 50 (А – умеренный, Б – выраженный гидронефроз)

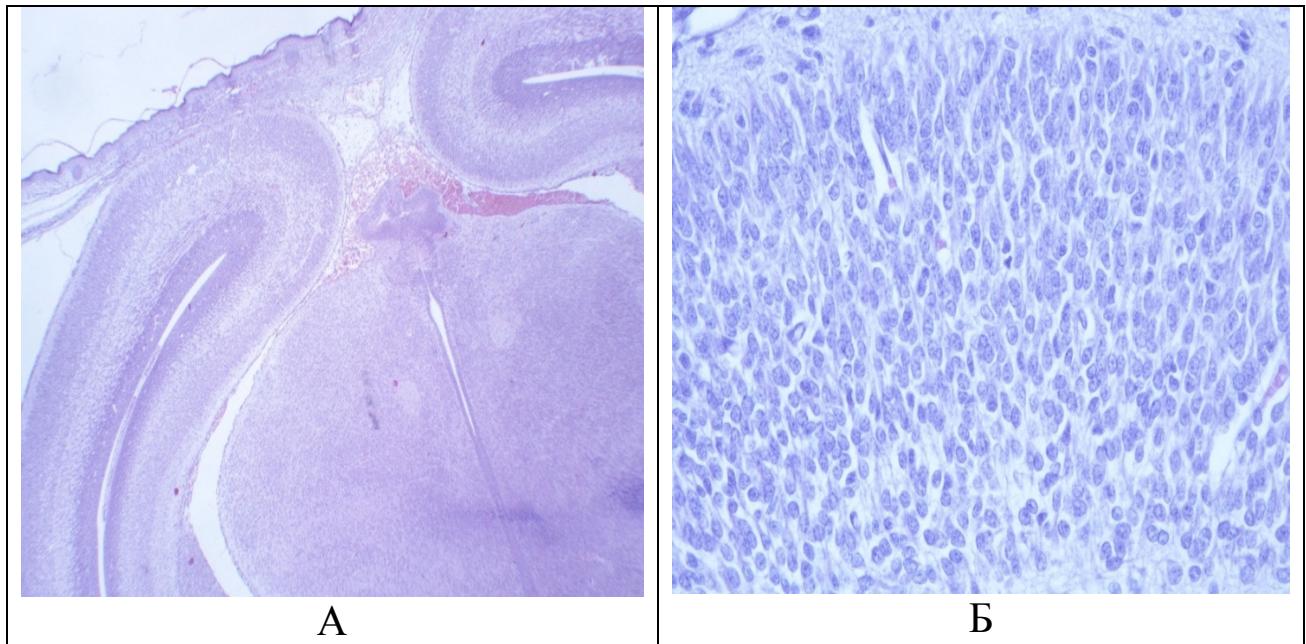


Рисунок 4.7 – Срез головного мозга плода крысы. Окраска гематоксилин эозин
(А – субарахноидальное кровоизлияние и точечное кровоизлияние
в ткань мозга, увеличение х 100; Б – кора без изменений,
увеличение х 400)

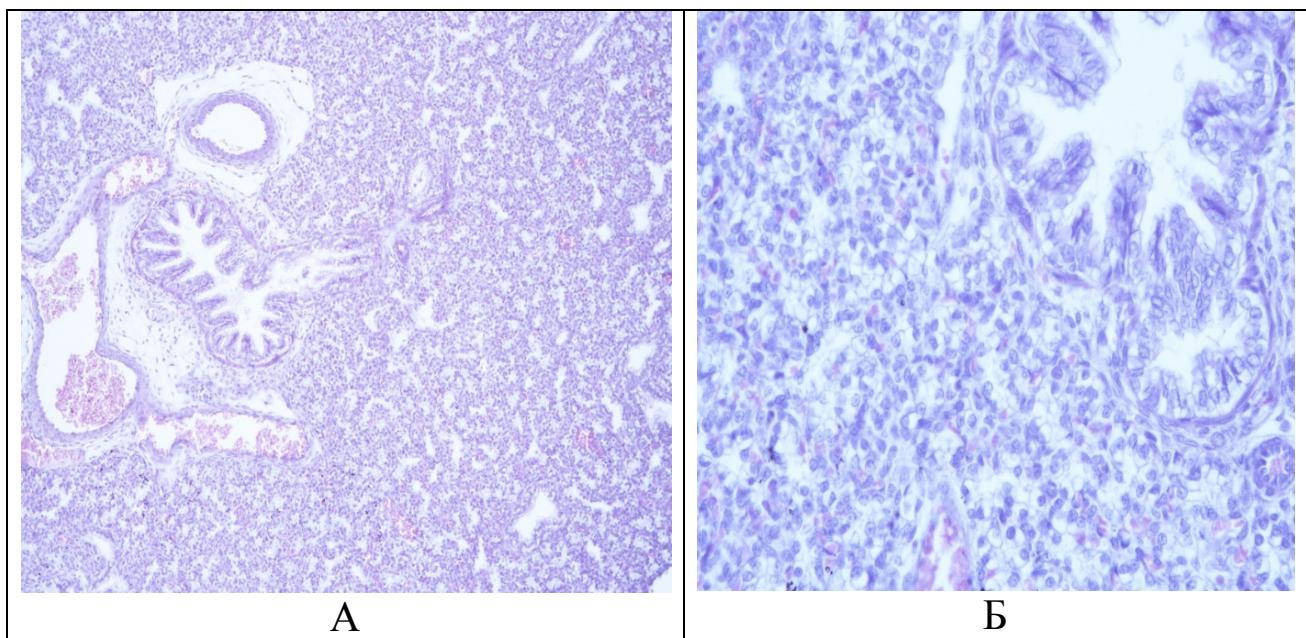


Рисунок 4.8 – Срез легкого плода крысы. Окраска гематоксилин эозин.
Легкие без признаков патологии (А – увеличение х 100,
Б – увеличение х 400)

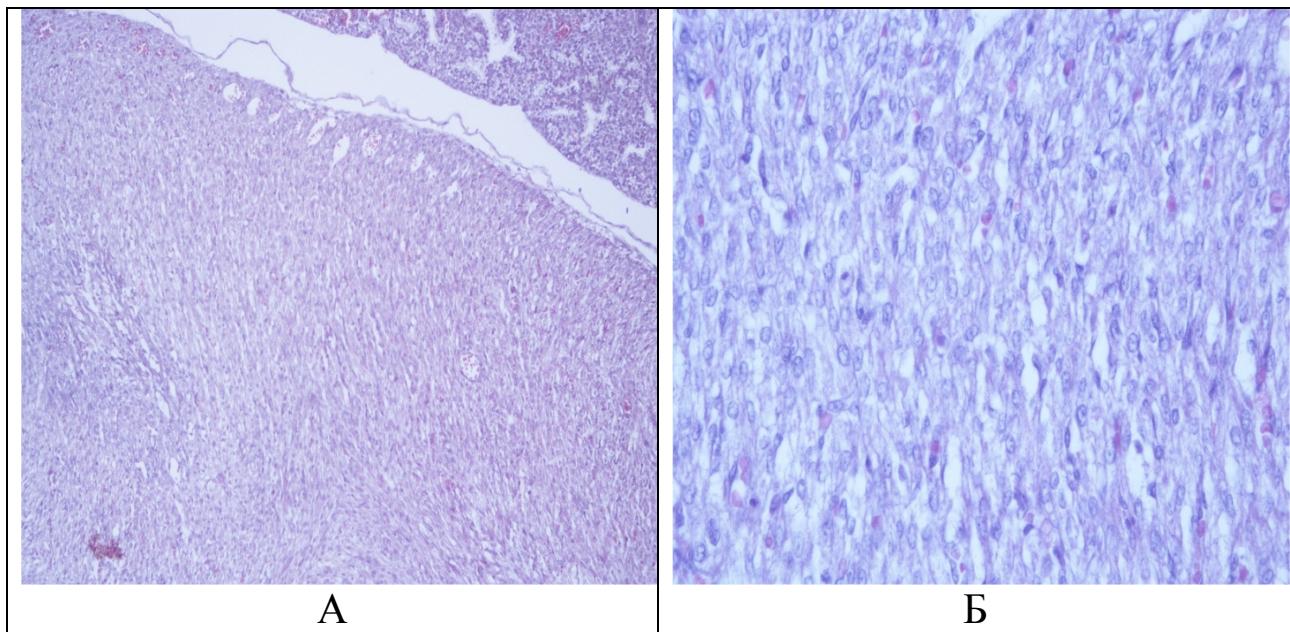


Рисунок 4.9 – Срез миокарда крысы. Окраска гематоксилином эозином
Миокард без признаков патологии (А – увеличение х 100,
Б – увеличение х 400)

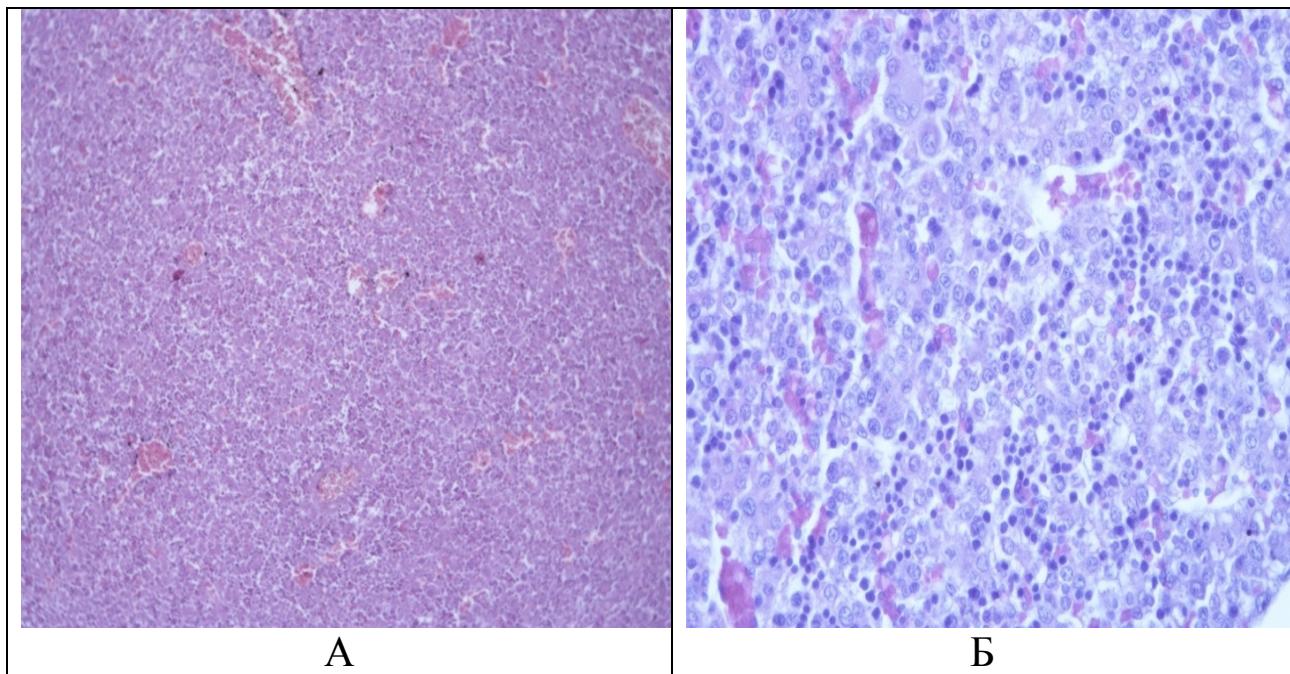


Рисунок 4.10 – Срез печени крысы. Окраска гематоксилином эозином.
Ткань печени без патологии (А – увеличение х 100,
Б – увеличение х 400)

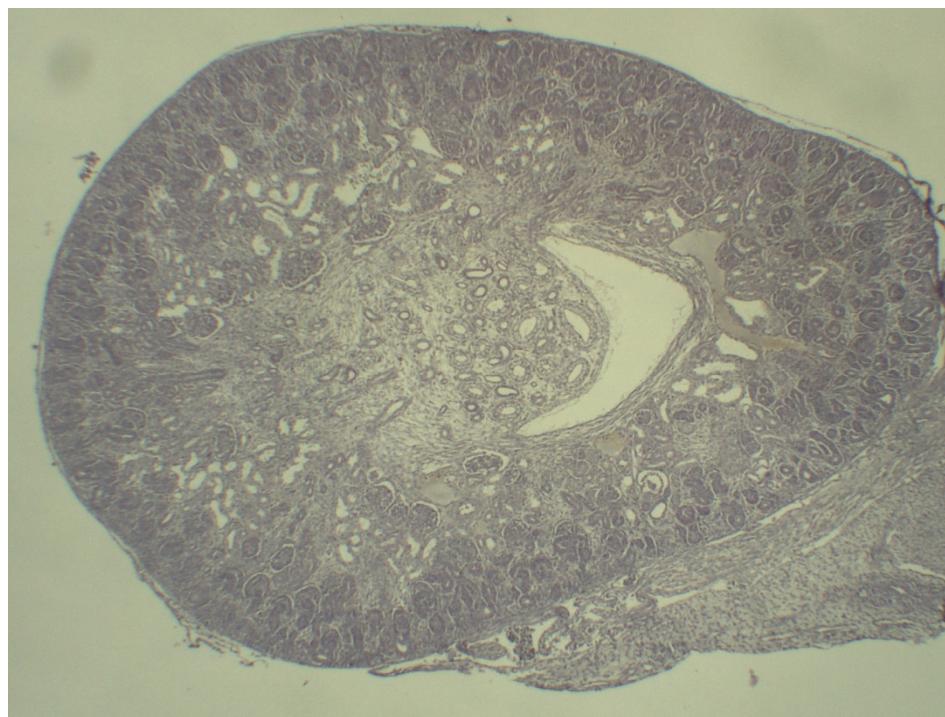


Рисунок 4.11 – Срез почки крысы. Окраска гематоксилин эозин.
Увеличение х 25. Ткань почки без патологии.

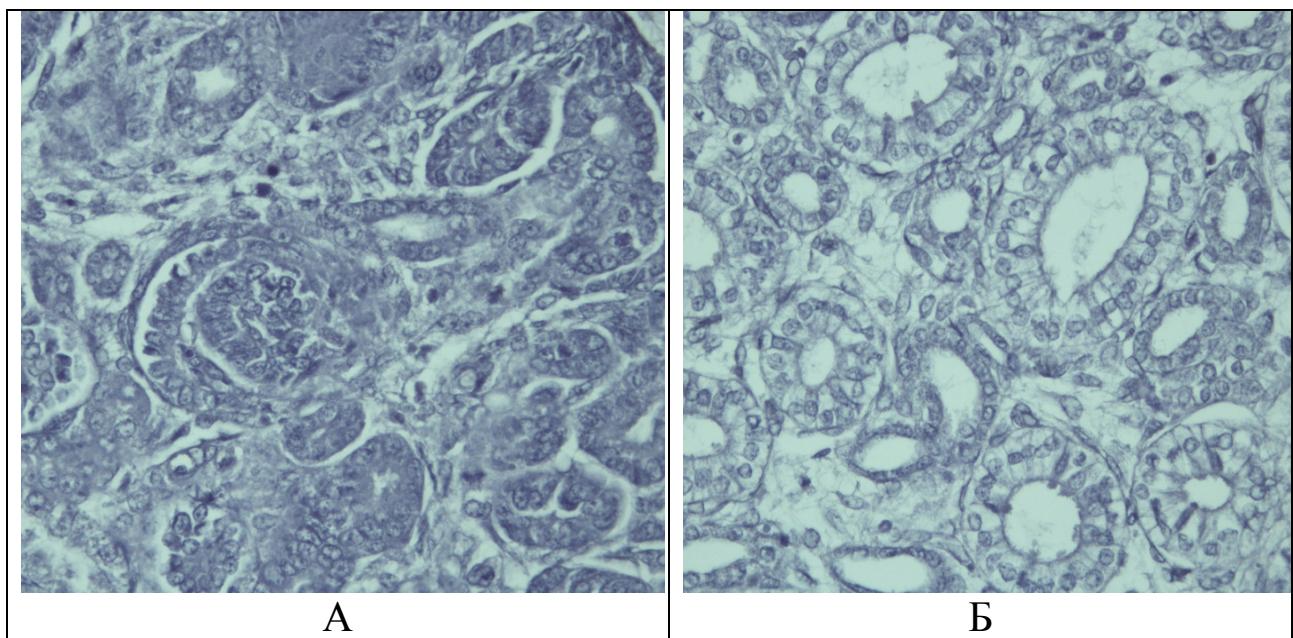


Рисунок 4.12 – Срез почки крысы. Окраска гематоксилин эозин. Увеличение х 400. Ткань почки без патологии (А – корковое,
Б – мозговое вещество)

При изучении влияния ПП на развитие внутренних органов у плодов в группе, получавшей ДФС® после МГХ, не было зарегистрировано никаких от-

клонений в развитии эмбрионов, а полнокровие внутренних органов было сравнимо с результатами, полученными в контроле. В свою очередь в группе, получавшей СМС® после МГХ, отклонения в развитии плодов наблюдались чаще, чем в контроле и реже, чем в группе, получавшей только морфин. Указанные изменения не носили статистически значимого характера за исключением частоты встречаемости расширений желудочков головного мозга ($p < 0,05$).

4.2.8. Влияние пептидных препаратов на формирование скелета у плодов, в том числе после длительного применения МГХ

При изучении влияния пептидных препаратов, МГХ и их последовательного применения на формирование костной структуры плодов не было зафиксировано атипичного строения и расположения костей скелета, а так же внешних аномалий развития костей лицевого отдела. Процесс обызвествления наблюдался практически во всех отделах позвоночника (шейный, грудной, поясничный, крестцовый), за исключением хвостового. У эмбрионов всех экспериментальных групп было зарегистрировано нормальное количество позвонков и пар ребер.

При остеометрических исследованиях плодов животных, получавших ПП, не было выявлено заметной асимметрии, выходящей за рамки анатомической нормы (таблица 4.9). У эмбрионов этих групп длина закладок окостенения в диафизах длинных трубчатых костей была практически одинаковой с обеих сторон.

При исследовании скелетов плодов в группе самок, получавших ДФС®, было установлено снижение ($p < 0,05$) длины закладок костей передних (локтевой и плечевой на 15,0 и 13,1%), а так же задних (бедренной, большеберцовой и малоберцовой на 25,0, 21,2 и 23,8%, соответственно) конечностей по сравнению с контролем. Аналогичные, но менее выраженные изменения были выявлены в группе, получавшей СМС®.

При изучении процесса формирования костной ткани было установлено снижение ($p < 0,05$) на 63% количества оссифицированных позвонков хвоста в группах, получавших ПП. Также наблюдалось достоверное снижение количеств-

Таблица 4.9

Влияние пептидных препаратов, МГХ и их последовательного применения до беременности крыс, на длину и количество точек оссификации костей у плодов ($M \pm m$)

Изучаемые параметры	Группа животных					
	Контроль (n= 42)	Получавшие				
		ДФС® (n= 43)	СМС® (n= 41)	МГХ (n= 56)	МГХ и ДФС® (n= 60)	МГХ и СМС® (n= 47)
Длина зачатков костей (мм)	локтевой	2,67 ± 0,06	2,27 ± 0,09*	2,39 ± 0,04*	2,49 ± 0,09*	2,37 ± 0,06*
	плечевой	2,51 ± 0,05	2,18 ± 0,06*	2,20 ± 0,05*	2,05 ± 0,40	2,05 ± 0,36
	бедренной	2,24 ± 0,05	1,68 ± 0,06*	1,77 ± 0,04*	1,82 ± 0,08*	2,38 ± 0,08
	большеберцовая	2,31 ± 0,09	1,82 ± 0,07*	1,93 ± 0,07*	2,08 ± 0,09*	1,95 ± 0,02*
	малоберцовая	2,22 ± 0,06	1,69 ± 0,06*	1,71 ± 0,04*	1,87 ± 0,09*	1,69 ± 0,06*
Количество оссифицированных	ребер	13	13	13	13	13
	позвонков хвоста	3,17 ± 0,12	1,14 ± 0,20*	1,17 ± 0,21*	0,46 ± 0,12*	0,15 ± 0,05*
	пястных костей	3,67 ± 0,07	2,81 ± 0,12*	2,95 ± 0,03*	2,54 ± 0,14*	2,53 ± 0,10*
	дистальных фаланг передней конечности	3,14 ± 0,13	1,21 ± 0,22*	1,24 ± 0,22*	0,60 ± 0,12*	0,30 ± 0,08*
	костей предплюсны	3,98 ± 0,02	3,14 ± 0,10*	3,24 ± 0,07*	2,66 ± 0,13*	3,00 ± 0,05*
	дистальных фаланг задней конечности	3,69 ± 0,07	1,19 ± 0,22*	1,37 ± 0,25*	0,61 ± 0,14*	0,33 ± 0,09*

Примечание: * – отличие от контроля значимо, $p < 0,05$; # – различия с группой, получавшей МГХ, значимы, $p < 0,05$.

ва центров окостенения в хрящевых моделях пястных костей и предплюсны в группе, получавшей ДФС®, на 23,4 и 21,0%; и в группе, получавшей СМС®, на 19,6 и 18,5 %, соответственно. При исследовании количества точек окостенения в дистальных фалангах конечностей было установлено снижение оссификации более чем на 60 % в группах, получавших ПП. Следует так же отметить, что проксимальные фаланги как задних, так и передних конечностей не были оссифицированы у эмбрионов всех групп.

При изучении процесса оссификации у эмбрионов, полученных от самок, длительно получавших МГХ, было зафиксировано как значимое уменьшение длины зачатков костей, так и количества точек окостенения мелких костей дистальных отделов передних и задних конечностей, а также позвонков хвоста в сравнении с показателями, полученными в контрольной группе ($p < 0,05$).

В свою очередь, в группах, получавших ПП после длительного применения МГХ, длина зачатков костей у эмбрионов существенно не отличалась от показателей, полученных в группе, которой вводился только МГХ, за исключением длины бедренной кости, которая была сравнимой с контролем. Что касается точек оссификации в дистальных отделах передних и задних конечностей, то их количество было существенно больше ($p < 0,05$) в группе, получавшей СМС®, чем в остальных опытных группах, но ниже, чем в контроле. Следует также отметить, что проксимальные фаланги как задних, так и передних конечностей не были оссифицированы у эмбрионов всех исследуемых групп.

4.3. Влияние пептидных препаратов, МГХ и их последовательного применения самкам до беременности на постнатальное развитие потомства

При выполнении данного раздела нами было изучено влияние курсового применения ПП, хронического введения МГХ, а также хронического введения ксенобиотика и последующего курсового применения пептидных препаратов на потомство крыс. В динамике изучались показатели физического, сенсорно-двигательного развития потомства, а также двигательной активности в постнатальном периоде.

4.3.1. Влияние пептидных препаратов, МГХ их последовательного применения самкам до беременности на физическое развитие потомства

При изучении прироста массы тела у потомства крыс, получавших ПП было установлено, что применение ДФС® не приводило к изменениям этого показателя в течение всего периода наблюдения, в то время как назначение СМС® сопровождалось в течение первой недели тенденцией, а на 2 и 3-й неделе достоверным снижением интенсивности прироста массы тела ($p < 0,05$) в сравнении с контролем (таблица 4.10).

У потомства самок, получавших МГХ было зарегистрировано снижение темпов прироста массы тела по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$) в течение всего периода наблюдения.

Обращала на себя внимание различная динамика прироста массы тела у потомства самок при назначении ПП после длительного применения МГХ. Так, в группе, получавшей ДФС®, масса тела потомства была достоверно ниже, чем в контроле только на 4-й день наблюдения, а в конце первой и на второй неделе отмечалась лишь тенденция к ее снижению. В то время как в конце первой недели и до конца наблюдения масса тела потомства крыс, получавших ДФС® после МГХ была выше ($p < 0,05$), чем в группе, которой вводился только МГХ.

У потомства, рожденного от крыс, получавших СМС® после МГХ, наблюдалось повышение ($p < 0,05$) интенсивности прироста массы тела по сравнению с контрольными значениями в конце 3-й и на 4-й неделе. В этой группе также масса тела была достоверно выше в течение всего периода наблюдения в сравнении с потомством, полученным от самок крыс, которым вводился только МГХ.

Для сравнения полученных результатов нами были рассчитаны индексы дефицита/избытка массы тела по формуле 1 (раздел 3.3). Было установлено, что введение ДФС® самкам перед беременностью сопровождалось незначительными (в пределах +4,88 ... -4,27 %) колебаниями Ид/иМТ у потомства, в то время как введение СМС® приводило к снижению Ид/иМТ на -11,48 ... -6,54% в течение всего периода наблюдения (рисунок 4.13).

Таблица 4.10.

Влияние МГХ и пептидных препаратов на прирост массы тела (в граммах) потомства белых нелинейных крыс в постнатальном периоде ($M \pm m$)

№ п/п	Группы животных	Период наблюдения, сутки			
		4	7	14	21
1.	Контроль, (n=25)	$10,24 \pm 0,31$	$17,28 \pm 0,47$	$33,28 \pm 0,43$	$51,48 \pm 0,55$
2.	Потомство самок, получавших ДФС®, (n=51)	$10,74 \pm 0,25$	$17,79 \pm 0,42$	$31,86 \pm 0,79$	$49,97 \pm 1,21$
3.	Потомство самок, получавших СМС®, (n=67)	$9,57 \pm 0,20$	$15,66 \pm 0,21$	$29,46 \pm 0,54^*$	$46,35 \pm 0,79^*$
4.	Потомство самок, получавших с месячного возраста в течение 3-х месяцев МГХ в 10 ЭТД, (n=31)	$9,04 \pm 0,19^*$	$14,26 \pm 0,35^*$	$26,73 \pm 0,56^*$	$42,79 \pm 0,59^*$
5.	Потомство самок, получавших с месячного возраста МГХ в 10,0ЭТД, а затем ДФС®, (n=34)	$9,36 \pm 0,24^*$	$16,58 \pm 0,48?$	$31,77 \pm 0,67?$	$52,66 \pm 1,08?$
6.	Потомство самок, получавших с месячного возраста МГХ в 10,0 ЭТД, а затем СМС®, (n=39)	$12,37 \pm 0,38^*,?$	$18,79 \pm 0,52?$	$33,43 \pm 0,64?$	$56,67 \pm 1,61^*,?$

Примечание: * – отличие от контроля значимо, $p < 0,05$; ? – отличие от группы, получавшей МГХ, значимо, $p < 0,05$.

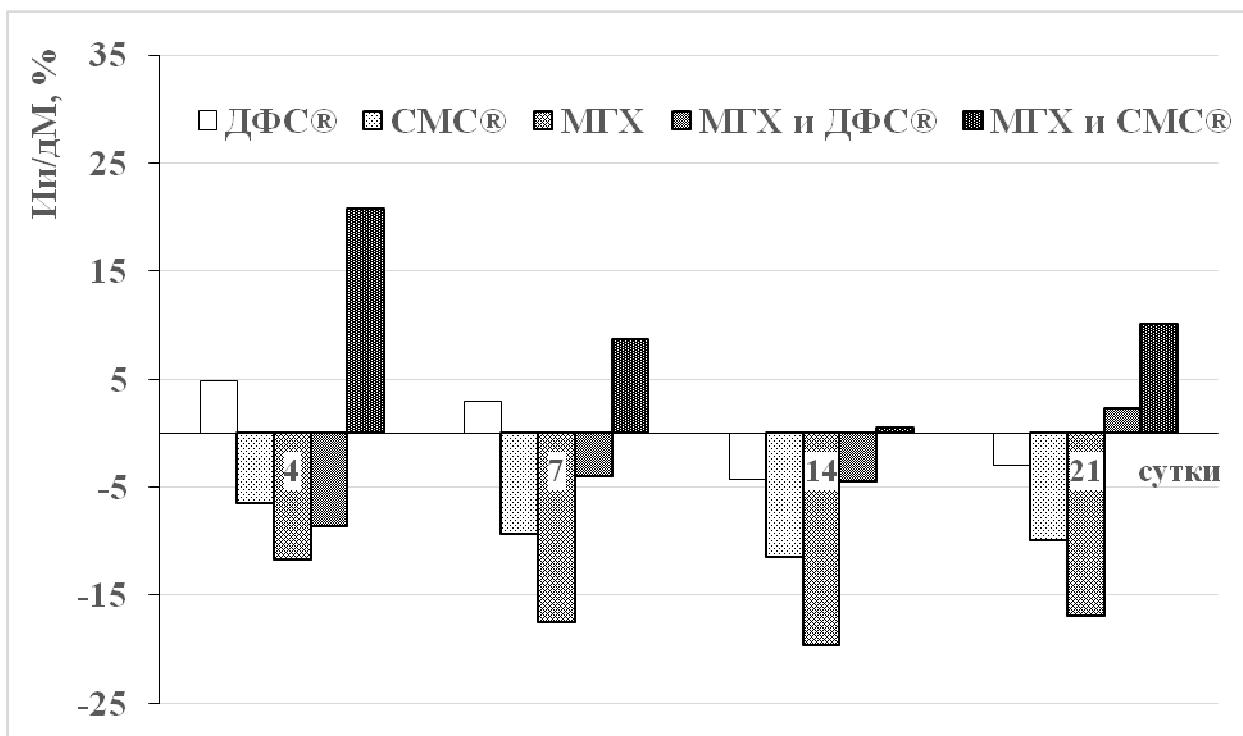


Рисунок 4.13 – Изменение индексов дефицита/избытка массы тела в постнатальном периоде у потомства самок, получавших пептидные препараты, МГХ, пептидные препараты после МГХ

В свою очередь, у потомства самок получавших МГХ дефицит массы тела (в пределах $-19,68 \dots -11,71\%$) регистрировался в течение всего периода наблюдения. Применение ДФС® после МГХ приводило к снижению этого показателя у потомства по сравнению с группой получавшей только МГХ. Также, обращало на себя внимание, что введение СМС® после МГХ самкам крыс приводило к развитию избытка массы тела у потомства в течение всего периода наблюдения в отличии от групп, получавших МГХ и СМС® по отдельности, в которых был зарегистрирован обратный эффект – ее дефицит.

При изучении физического развития потомства крыс, получавших пептидные препараты, МГХ, ПП после МГХ нами были рассчитаны коэффициенты $Co/oC\Phi P_1$ и $Co/oC\Phi P_2$ (формула 2, раздел 3.3.1) и ИФР₁ и ИФР₂ (формула 3, раздел 3.3.1). Исходные данные для расчетов представлены в таблице 4.11.

При анализе полученных результатов было установлено, что у детенышей животных, получавших до зачатия ПП, наблюдалось незначительное

Таблица 4.11

Влияние пептидных препаратов, МГХ и их последовательного применения, на физическое развитие (ФР) потомства белых нелинейных крыс в постнатальном периоде ($M \pm m$)

№ ¹ п/п	Показатели	Группы животных					
		Контроль, (n=25)	Потомство самок получавших				
			ДФС®, (n=51)	СМС®, (n=67)	МГХ, (n=31)	МГХ и ДФС®, (n=34)	МГХ и СМС®, (n=39)
1	2	3	4	5	6	7	8
1	Число детенышей в помете	ед	10,88 ± 0,48	10,00 ± 0,95	13,40 ± 0,93	5,78 ± 0,62*	8,50 ± 1,71
		% от контроля	–	91,91	123,16	53,13	89,61
2	Отлипание ушной раковины	сутки	2,12 ± 0,07	2,57 ± 0,07	2,69 ± 0,06	4,03 ± 0,14*	2,74 ± 0,08?
		Отставание в ФР, сутки	–	0,45	0,57	1,91	0,62
3	Первичный покров	сутки	4,28 ± 0,11	4,80 ± 0,06	4,90 ± 0,04	5,74 ± 0,09*	4,91 ± 0,05?
		Отставание в ФР, сутки	–	0,52	0,62	1,46	0,63
4	Прорезывание резцов	сутки	8,32 ± 0,10	9,38 ± 0,12	9,88 ± 0,05	10,06 ± 0,24*	9,47 ± 0,11
		Отставание в ФР, сутки	–	1,06	1,56	1,74	1,15

продолжение таблицы 4.11

отставание физического развития, о чем свидетельствовали значения коэффициентов (Со/oCФР_1) и индексов (ИФР_1) (периода раннего молочного вскармливания) равные 0,98–1,1 суткам и 7,08–7,30% соответственно. В свою очередь, значения коэффициентов (Со/oCФР_2) и индексов (ИФР_2) в периоде появления первичных половых признаков свидетельствовали не только об отсутствии отставания в физическом развитии у потомства животных, получавших ПП до зачатия, но для ДФС®, даже о некотором его опережении (рисунок 4.14). В то же время, обращало на себя внимание, что в группе получавшей СМС® среднее количество детенышней в помете было выше, чем в контроле и при назначении ДФС®.

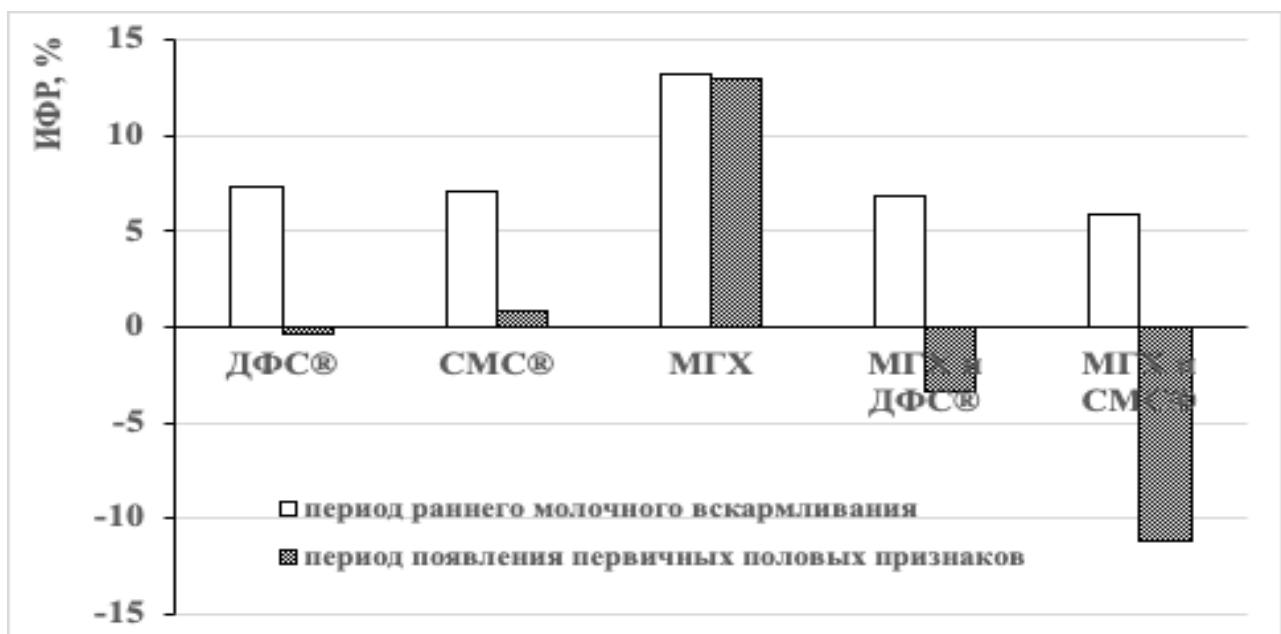


Рисунок 4.14 – Влияние пептидных препаратов и МГХ на динамику ИФР потомства в постнатальном периоде

При оценке физического развития детенышней крыс, получавших до зачатия МГХ, обращала на себя внимание существенная ($p < 0,05$) задержка физического развития, как в периоде раннего молочного вскармливания (Со/oCФР_1 – 1,83 сутки; ИФР_1 – 13,22%), так и при появлении первичных половых признаков (Со/oCФР_2 – 4,62 сутки; ИФР_2 – 13,02%). Отставание в физическом развитии от животных контрольной группы в период появления первичных половых признаков не уменьшалось. Следует отметить, что указанные выше изменения

наблюдались на фоне почти 2-х кратного уменьшения ($p < 0,05$) среднего количества детенышей в помете.

Введение МГХ и ПП самкам до беременности оказывало значимое ($p < 0,05$) положительное влияние как на среднее количество животных в помете, так и на показатели физического развития потомства в сравнении с группой, получавшей только МГХ. Также обращало на себя внимание, что в группах, получавших ПП после МГХ, Со/oСФР₁ и ИФР₁ в периоде раннего молочного вскармливания были не только ниже, чем в случае применения только МГХ или нейропептидов, но и имели отрицательные значения, что свидетельствовало об опережении физического развития в сравнении с контролем. В периоде появления первичных половых признаков у потомства крыс, получавших ПП после МГХ, наблюдалось значительное ($p < 0,05$) ускорение темпов физического развития по сравнению с контролем, причем в группе, получавшей СМС® оно было наиболее выраженным (Со/oСФР₂ – 3,96 сутки, ИФР₂ – 11,16%).

4.3.2. Влияние пептидных препаратов, МГХ и их последовательного введения самкам до беременности на сенсорно-двигательное развитие потомства

При изучении темпов сенсорно-двигательного развития потомства крыс, получавших до беременности пептидные препараты, МГХ и последовательное их назначение было установлено, что в группах, получавших ДФС® и СМС®, наблюдалось некоторое отставание темпов СДР по сравнению с контролем по большинству из изучавшихся показателей (таблица 4.12). У потомства самок, которым до беременности водился МГХ, наблюдалось отставание ($p < 0,05$) темпов СДР по всем из изучавшихся показателей. Применение ПП после МГХ предотвращало отставание в темпах СДР у потомства самок, получавших МГХ.

Для сравнения результатов, полученных при изучении влияния ПП, МГХ и их последовательного назначения самкам до беременности, на нами были рассчитаны коэффициенты Со/oССДР (по формуле 4, раздел 3.3) и ИСДР (по формуле 5, раздел 3.3) для всех экспериментальных групп. Для проведения расчетов были использованы данные, представленные в таблице 4.12.

Таблица 4.12

Влияние пептидных препаратов, МГХ и последовательного их применения, на скорость созревания сенсорно-двигательных рефлексов у потомства белых нелинейных крыс в постнатальном периоде ($M \pm m$)

№ п/п	Показатели	Группы животных						
		Контроль, (n=31)	Потомство самок получавших					
			ДФС®, (n=51)	СМС®, (n=67)	МГХ, (n=32)	МГХ и ДФС®, (n=34)	МГХ и СМС®, (n=39)	
1	2	3	4	5	6	7	8	
1	Переворачивание на плоскости	сут	4,38 ± 0,09	4,41 ± 0,11	4,33 ± 0,11	6,06 ± 0,18*	4,50 ± 0,17?	5,49 ± 0,25
		Отставание в СДР, сутки		0,03	- 0,05	1,68	0,12	1,11
2	Отрицательный геотаксис	сут	6,44 ± 0,20	7,41 ± 0,14	8,25 ± 0,12	8,91 ± 0,16*	6,91 ± 0,19?	7,62 ± 0,33
		Отставание в СДР, сутки		0,97	1,81	2,47	0,47	1,18
3	Избегание обрыва	сут	7,25 ± 0,16	7,69 ± 0,12	8,30 ± 0,11	9,97 ± 0,29	7,88 ± 0,17?	8,10 ± 0,07
		Отставание в СДР, сутки		0,44	1,05	2,72	0,63	0,85
4	Поднимание головы и пе- редних лап	сут	8,84 ± 0,28	10,75 ± 0,28	10,58 ± 0,07	10,22 ± 0,12*	9,00 ± 0,21?	9,59 ± 0,34
		Отставание в СДР, сутки		1,91	1,74	1,38	0,16	0,75

продолжение таблицы 4.12

1	2	3	5	7	4	6	8	
5	Ползание	сут	10,06 ± 0,04	12,20 ± 0,34	11,87 ± 0,33	12,88 ± 0,43*	10,85 ± 0,39	
		Отставание в СДР, сутки		2,14	1,81	2,82	0,79	
6	Опора на задние конечности, подъем всего тела	сут	13,94 ± 0,12	14,65 ± 0,15	15,22 ± 0,15	17,28 ± 0,38*	13,97 ± 0,37?	
		Отставание в СДР, сутки		0,71	1,28	3,34	0,03	
7	Избегание обрыва, вызванное визуальным стимулом (ИОВС)	сут	14,66 ± 0,15	15,81 ± 0,10	15,33 ± 0,07	17,47 ± 0,34*	15,26 ± 0,08?	
		Отставание в СДР, сутки		1,15	0,67	2,81	0,6	
Со/oСДР, сутки			1,04	1,19	2,46	0,40	1,01	
ИСДР, %			7,06	8,10	16,78	2,72	6,87	

Было установлено, что введение ПП самкам до беременности сопровождалось увеличением коэффициентов Со/oCCДР (в пределах – 1,04–1,19) и ИСДР (в пределах – 7,06–8,10), что свидетельствовало о незначительном отставании от контрольных в сенсорно-двигательном развитии потомства животных, получавших ДФС® и СМС®.

Длительное введение МГХ самкам до беременности сопровождалось увеличением ($p < 0,05$) сроков появления всех изучавшихся признаков сенсорно-двигательного развития. Коэффициент Со/oCCДР и ИСДР составили 2,46 и 16,78 соответственно, что свидетельствовало о серьезном отставании потомства животных этой группы от контрольных.

Обращало на себя внимание, что введение ПП после МГХ самкам крыс до беременности нивелировало отставание темпов сенсорно-двигательного развития потомства, вызванное МГХ. Следует также отметить, что в случае использования ДФС® после МГХ темпы сенсорно-двигательного развития потомства даже превышали показатели, полученные при изолированном использовании ДФС®.

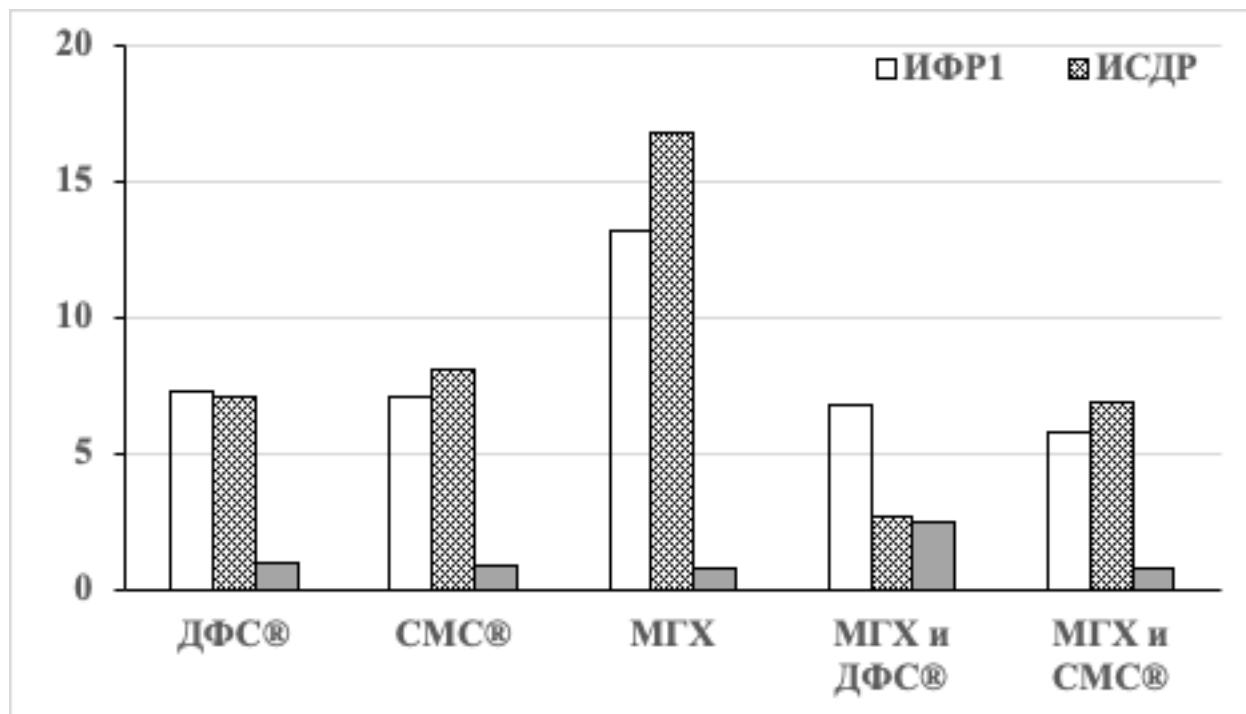


Рисунок 4.15 – Индексы развития потомства рожденного от крыс, получавших пептидные препараты и МГХ до зачатия

При оценке гармоничности развития потомства в постнатальном периоде можно говорить о том, что группе, получавшей ДФС® до беременности ИСФСДР (рассчитанный по формуле 6 раздел 3.3.3) был равен 1,06, что свидетельствовало о соответствии физического развития сенсорно-двигательному (таблица 4.12, рисунок 4.15). В то время как в группах получавших СМС®, МГХ и МГХ с СМС® до беременности ИСФСДР потомства находился в диапазоне 0,79 – 0,88, что говорило о том, что у этих животных СДР отставало от физического. И только в группе получавшей ДФС® после МГХ СДР опережало физическое.

При изучении двигательной активности потомства животных в teste «Открытое поле – 1» было установлено, что в группе животных, получавших ДФС® до беременности наблюдалось увеличение ($p < 0,05$) всех из изучавшихся показателей за исключением числа заглядываний (таблица 4.13). В свою очередь, применением СМС® сопровождалось тенденцией к увеличению числа вертикальных стоек и заглядываний при повышении ($p < 0,05$) количества актов груминга.

Введение МГХ самкам до беременности приводило к увеличению ($p < 0,05$) таких показателей как горизонтальные передвижения и груминг, а также к уменьшению количества вертикальных стоек и заглядываний. Использование пептидных препаратов после морфина у самок до беременности сопровождалось уменьшением ($p < 0,05$) числа горизонтальных передвижений и увеличением вертикальных стоек и заглядываний у потомства, а для группы, получавшей СМС®, также и груминга в сравнении с группой, получавшей только МГХ. Следует отметить, что в группе, получавшей ДФС® после МГХ, показатели двигательной активности у потомства не отличались от контрольных значений за исключением груминга. В то время как у потомства, материнские особи которого получавшей СМС® после морфина, они все были существенно выше, чем в контроле.

Также было изучено влияние ПП, МГХ и их последовательного введения самкам до беременности на поведение потомства мужского и женского пола

Таблица 4.13

Влияние МГХ и пептидных препаратов на показатели двигательной активности в teste «открытое поле–1» у потомства белых нелинейных крыс в постнатальном периоде ($M \pm m$)

Показатели	Группы животных					
	Контроль, (n=32)	Потомство самок получавших				
		ДФС®, (n=51)	СМС®, (n=67)	МГХ, (n=32)	МГХ и ДФС®, (n=34)	МГХ и СМС®, (n=39)
Горизонтальные передвижения, число актов	28,41 ± 3,27	40,88 ± 1,83*	28,45 ± 1,86	50,88 ± 3,86*	30,76 ± 2,64?	39,36 ± 2,22?
Вертикальные стойки, число актов	17,44 ± 1,75	34,08 ± 1,73*	23,09 ± 1,61	11,69 ± 1,65*	23,36 ± 2,70?	31,51 ± 2,14?
Заглядывания, число актов	1,25 ± 0,31	1,57 ± 0,16	1,82 ± 0,17	0,81 ± 0,18*	1,94 ± 0,20?	1,62 ± 0,15?
Груминг, число актов	0,69 ± 0,15	2,45 ± 0,32*	1,24 ± 0,25*	1,66 ± 0,25*	1,52 ± 0,44	2,08 ± 0,33?

Примечание: * – отличие от контроля значимо, $p < 0,05$; ? – отличие от группы, получавшей МГХ, значимо, $p < 0,05$.

Таблица 4.14

Влияние МГХ и пептидных препаратов на поведение в тесте «крестообразный лабиринт» потомства мужского пола ($M \pm m$)

Показатели	Группы животных					
	Контроль (n=10)	Потомство самок, получавших				
		ДФС® (n=10)	СМС® (n=10)	МГХ (n=10)	МГХ и ДФС® (n=10)	МГХ и СМС®, (n=15)
Латентный период, с	2,80 ± 0,77	6,90 ± 2,20*	4,20 ± 1,05	3,00 ± 1,00	4,80 ± 1,04	4,06 ± 1,42
Время полного обхода, с	75,80 ± 10,77	75,40 ± 10,62	69,60 ± 6,27#	106,80 ± 18,86	81,70 ± 8,37	94,20 ± 12,23
Кол-во возвратов, число актов	0,60 ± 0,13	0,10 ± 0,13	0,71 ± 0,27	0,60 ± 0,27	0#	0,62 ± 0,27
Кол-во поворотов:						
– левых	3,01 ± 0,53	3,42 ± 0,93	4,00 ± 0,80	4,21 ± 1,73	3,00 ± 0,93	3,61 ± 1,33
– правых	4,62 ± 0,93	4,42 ± 0,93	3,62 ± 0,93	3,11 ± 0,79	3,00 ± 0,93	3,33 ± 1,06
Кол-во диаметральных переходов, число актов	3,22 ± 0,66	2,24 ± 0,53	3,73 ± 0,53	2,21 ± 0,66	2,54 ± 0,39	2,41 ± 0,93
Стойки, число актов	19,70 ± 1,83	23,70 ± 2,57	16,50 ± 1,32	15,90 ± 2,64	13,30 ± 2,82	17,00 ± 1,32

Примечание: * – отличие от контроля значимо, $p < 0,05$; # – отличие от группы, получавшей МГХ, значимо, $p < 0,05$.

Таблица 4.15

Влияние МГХ и пептидных препаратов на поведение в тесте «крестообразный лабиринт» потомства женского пола ($M \pm m$)

Показатели	Группы животных					
	Контроль (n=10)	Потомство самок получавших				
		ДФС® (n=10)	СМС® (n=14)	МГХ (n=9)	МГХ и ДФС® (n=10)	МГХ и СМС®, (n=14)
Латентный период, с	2,60 ± 0,37	2,70 ± 0,50	3,57 ± 0,42	2,33 ± 0,29	4,80 ± 1,28	3,36 ± 0,62
Время полного обхода, с	73,40 ± 6,04	60,00 ± 8,21#	80,64 ± 8,96	105,11 ± 20,16	82,11 ± 11,34	95,79 ± 12,77
Кол-во возвратов, число актов	0,41 ± 0,27	0,11 ± 0,13#	0,31 ± 0,27	0,33 ± 0,13	0,10 ± 0,13#	0,36 ± 0,13
Кол-во поворотов:						
– левых	3,52 ± 1,33	3,11 ± 1,06	4,92 ± 1,32	4,44 ± 0,66	2,40 ± 0,66	3,71 ± 0,79
– правых	3,93 ± 0,66	5,22 ± 1,06	3,46 ± 0,93	4,55 ± 1,33	3,30 ± 0,80	3,35 ± 0,93
Кол-во диаметральных переходов, число актов	3,00 ± 0,53	3,30 ± 0,80	2,31 ± 0,66	2,78 ± 0,79	2,50 ± 0,53	3,51 ± 0,79
Стойки, число актов	22,20 ± 1,05	26,00 ± 2,35	16,86 ± 1,76*	21,22 ± 2,44	18,40 ± 2,60	17,36 ± 1,27

Примечание: * – отличие от контроля значимо, при $p < 0,05$; # – отличие значимо от группы получавшей МГХ, при $p < 0,05$.

в teste в «крестообразном лабиринте» (таблица 4.14, 4.15).

При статистическом анализе структуры поведения потомства самок, получавших до беременности ДФС® было установлено, что у детенышей мужского пола наблюдалось увеличение ($p < 0,05$) латентного периода по сравнению с контрольными значениями, что могло свидетельствовать о низком уровне тревожности и хорошей адаптации к новой обстановке, а также снижение ($p < 0,05$) количества повторных возвратов, характеризующих повышение исследовательской активности. В свою очередь у особей женского пола было зарегистрировано уменьшение ($p < 0,05$) времени полного обхода лабиринта и количества возвратов, что могло свидетельствовать об улучшении ориентации животных в пространстве. Представленные выше результаты свидетельствуют о положительном влиянии ДФС® на структуру поведения животных.

Введение СМС® самкам до беременности не оказывало значимого влияния на исследуемые показатели потомства мужского пола, однако обращала на себя внимание тенденция к уменьшению количества диаметральных переходов, правых поворотов, что могло свидетельствовать об улучшении динамики пространственной памяти. В то время как у потомства женского пола улучшение пространственной памяти было более выраженным, о чем свидетельствовало снижение ($p < 0,05$) количества поворотов, возвратов и диаметральных переходов, сочетавшееся со снижением исследовательской активности ($p < 0,05$) в сравнении с контролем.

При анализе структуры поведения потомства мужского и женского пола самок, получавших до беременности МГХ, не было выявлено достоверных отличий от контроля. Однако, обращало на себя внимание увеличение времени полного обхода лабиринта у потомства мужского и женского пола на 41 и 43%, соответственно. Также, у потомства мужского пола отмечалась тенденция к снижению исследовательской активности, о чем свидетельствовало снижение количества стоек на 19 %.

В свою очередь, использование ПП после МГХ у самок до беременности оказывало существенное влияние на показатели структуры поведения их по-

томства. Так, при использовании ДФС® наблюдалась тенденция к увеличению латентного периода выхода как у потомства мужского, так и женского пола на 60 и 106% соответственно, а также уменьшение времени полного обхода лабиринта на 24% у потомства обоих полов. Кроме того, было выявлено снижение ($p < 0,05$) количества возвратов у потомства женского пола, в то время как у особей мужского вообще не было зафиксировано повторных заходов. Представленные выше данные свидетельствуют о том, что у потомства самок, получавших до беременности последовательно МГХ и ДФС®, наблюдалось улучшение пространственной ориентации и краткосрочной памяти, снижение уровня тревожности и повышение эффективности исследовательской деятельности в сравнении с потомством животных, получавших до беременности только МГХ.

Введение СМС® после МГХ самкам до беременности сопровождалось уменьшением уровня тревожности у потомства мужского пола на 35%, а снижение времени полного обхода лабиринта на 12% и увеличение количества стоек на 7% свидетельствовали о стимуляции исследовательской активности в сравнении с группой, получавшей только МГХ. У потомства женского пола наблюдалась похожая, но менее выраженная картина структуры поведения. Однако, следует отметить, что указанные выше изменения являлись лишь тенденциями и не носили достоверного характера.

4.4. Обсуждение полученных результатов

В ходе выполнении раздела нами решались третья и четвертая задачи:

Изучить влияние ПП, содержащих ДСИП или 4–10АКТГ, на репродуктивную функцию самок крыс, а также физическое и сенсорно-двигательное развитие их потомства.

Оценить влияние пептидных препаратов, содержащих ДСИП или 4–10АКТГ, на репродуктивную функцию самок крыс после хронического воздействия МГХ, а также на физическое и сенсорно-двигательное развития их потомства.

При решении третьей задачи – изучении влияния на репродуктивную функцию самок крыс, а также физическое и сенсорно-двигательное развитие их потомства 2-х недельного введении ПП, содержащих ДСИП или 4–10АКТГ, в выбранных дозах интактным животным было установлено, что они:

- не оказывали значимого влияния, как на структуру, так и длительность эстрального цикла, а также концентрацию ЛГ и ФСГ и прогестерона в сыворотке крови;
- уменьшали плодовитость крыс, что проявлялось снижением количества оплодотворенных самок для СМС® ($p < 0,05$) вследствие выраженного активирующего действия [227, 228, 229] и беременных для ДФС® ($p < 0,05$) из-за выраженного транквилизирующего эффекта [230, 231];
- не оказывали значимого влияния на такие репродуктивные показатели как продолжительность беременности, количество желтых тел и мест имплантации, а также имплантационную гибель, за исключением ДФС®, применения которого увеличивало последнюю за счет постимплантационной составляющей ($p < 0,05$), однако снижали ($p < 0,05$) темпы прироста массы тела беременных самок (для ДФС® на 2-ой и 3-ей неделе, а для СМС® на 3-ей неделе беременности);
- не оказывали влияние на количество плодов, частоту встречаемости отклонений в развитии внутренних органов, в то время как масса тела и ККР при применении ДФС® имели тенденцию к снижению, а при использовании СМС® были ниже ($p < 0,05$), что могло быть обусловлено развитием плацентарной недостаточности (что проявлялось достоверным увеличением плодово-плацентарного индекса). В соответствии с индексами физического развития плоды были гармонично развитыми, однако имели астеническое телосложение;
- уменьшали ($p < 0,05$) длины закладок костей передних и задних конечностей, а также количество оссифицированных позвонков хвоста и мелких костей конечностей;
- не оказывали влияния на прирост массы тела у потомства крыс в течение всего периода наблюдения, за исключением СМС®, применение которо-

го сопровождалось достоверным его снижением ($p < 0,05$);

- вызывали незначительное отставание физического и сенсорно-двигательного развития у детенышей в периоде раннего молочного вскармливания, в то время как в периоде появления первичных половых признаков отставание нивелировалось. В группе получавшей ДФС® до беременности физическое развитие соответствовало сенсорно-двигательному, в то время как в группах получавших СМС® сенсорно-двигательное развитие несколько отставало от физического.

Представленные выше данные получены впервые и свидетельствуют о том, что ДФС® и СМС® при курсовом применении в высоких дозах оказывают сходное пролонгированное влияние [61] на репродуктивную функцию самок крыс, а также физическое и сенсорно-двигательное развитие их потомства. Основным механизмом, через который реализуется действие ДФС® и СМС® на репродуктивную функцию самок, судя по всему, является влияние на гипоталамо–гипофизарную систему [113, 123, 124].

При решении четвертой задачи было установлено, что длительное применения МГХ приводило к серьезным нарушениям репродуктивной функции самок крыс, а также физического и сенсорно-двигательного развития их потомства, что проявлялось:

- существенным изменением длительности и структуры эстрального цикла: увеличением общей продолжительности ($p < 0,05$) ЭЦ в 2,34 раза и межтечкового периода в 3,86 раза, а также уменьшением длительности течкового ($K(p+э) - 16,89 \pm 2,80\%$, $K(м+д) - 84,77 \pm 3,14\%$, отношение межтечкового/течковому периоду – 5,53) [232, 233];
- снижением ($p < 0,05$) концентрации в сыворотке крови ЛГ и ФСГ в 2,48 и 2,70 раза при неизмененной концентрации прогестерона [234, 235, 236, 237];
- снижением ($p < 0,05$) как количества оплодотворенных, так и беременных самок, о чем свидетельствовало уменьшение индексов fertильности и беременности на 20 и 40%, соответственно;

- серьезными нарушениями репродуктивной функции, что проявлялось снижением ($p < 0,05$) количества мест имплантации в 1,53 и живых плодов в 1,57 раза, и, как следствие этого, увеличением индексов пред- и постимплантационной гибели в 3,9 и 1,8 раза;
- снижением всех изучавшихся показателей физического развития плодов, причем если для количества и ККР эти изменения были достоверным ($p < 0,05$), то для массы – носили характер тенденции и сочетались со снижением в 1,2 раза ($p < 0,05$) прироста массы тела на последней неделе беременности, а также к достоверным ($p < 0,05$) изменениям плаценты – уменьшению диаметра и увеличению массы;
- уменьшением ($p < 0,05$) морфометрических показателей эмбрионов, таких как длина тела и окружность грудной клетки. В соответствии с индексами физического развития плоды были гармонично развитыми, однако имели астеническое телосложение;
- статистически значимым ($p < 0,05$) аномалиям внутренних органов плодов крыс: кровоизлияниям в головной мозг в 34,0%; расширением желудочков головного мозга в 18,0%; гидронефрозом в 28,0%;
- значимым ($p < 0,05$) уменьшением длины зачатков костей, количества точек окостенения мелких костей дистальных отделов передних и задних конечностей, а также позвонков хвоста у эмбрионов;
- существенной ($p < 0,05$) задержкой физического развития, как в периоде раннего молочного вскармливания (Со/oСФР₁ – 1,83 сутки; ИФР₁ – 13,22%), так и появления первичных половых признаков (Со/oСФР₂ – 4,62 сутки; ИФР₂ – 13,02%), сочетавшейся с достоверное снижение массы тела потомства в течение всего периода наблюдения;
- увеличением ($p < 0,05$) сроков появления всех изучавшихся признаков сенсорно-двигательного развития (Со/oССДР – 2,46 сутки, ИСДР – 16,78%), при этом СДР отставало от физического.

Подводя итоги, следует заключить, что длительное применение МГХ вызывает серьезные нарушения репродуктивной функции у самок крыс, сохра-

няющиеся даже после его отмены, а также задержку физического и сенсорно-двигательного развития их потомства. В соответствии с представленными выше данными МГХ обладает выраженным гонадотропным и эмбриотоксическим действием, в основе которого лежат нарушения в гипоталамо–гипофизарно–гонадной оси, вызванные угнетающим действием ксенобиотика на гипоталамические нервные пути, контролирующие секрецию рилизинг–гормонов и гонадотропинов [238, 239].

Было изучено влияния пептидных препаратов на нарушения репродуктивной функции самок крыс, вызванные длительным введением МГХ, а также физического и сенсорно–моторного развития их потомства. Было установлено, что применение ПП после МГХ:

- оказывало существенное влияние на поведение животных и не отличалось от групп, которым вводили только ДФС® или СМС®;
- приводило к нормализации структуры и длительности ЭЦ, а также концентрации ЛГ, ФСГ и прогестерона в сыворотке крови у самок крыс, нарушенных МГХ;
- восстанавливало темпы прироста массы тела у беременных самок по сравнению с животными, получавшими только МГХ ($p < 0,05$);
- нивелировало вызванные МГХ нарушения плодовитости у крыс увеличивая ($p < 0,05$) количество оплодотворенных и беременных самок, в сравнении с группой, получавшей только МГХ;
- приводило к восстановлению таких показателей репродуктивной функции, как количество мест имплантации и живых плодов, а для ДФС® и имплантационной гибели до контрольных величин, в то время как для СМС® последняя была выше, как за счет пред-, так и постимплантационной составляющей, но ниже, чем в группе, получавшей только МГХ ($p < 0,05$);
- характеризовалось нормальным количеством плодов в помете, однако их масса и ККР были ниже, чем у животных контрольной группы. В то время как параметры плаценты при использовании ДФС® были сравнимы с показателями контрольной группы, при СМС® – выше, чем в контроле ($p < 0,05$);

- характеризовалось отсутствием аномалий развития при использовании ДФС® и снижением количества при использовании СМС®. Не предотвращали нарушения формирования скелета у плодов, вызванные трансгенерационно МГХ, и процессов оссификации, за исключением СМС®;
- сопровождалось разнонаправленными изменениями, характеризующими физическое развитие потомства. Так, при использовании ДФС® наблюдался, как менее выраженный дефицит массы тела –8,59 ... –4,05%, который на 21-е сутки сменялся его избытком +2,29%, так и степень отставание в физическом развитии в периоде раннего молочного вскармливания (Со/оСФР₁, 0,94 суток, ИФР₁ 6,79%). В то время как в периоде появления первичных половых признаков наблюдалась тенденция к опережению физического развития (Со/оСФР₂, –1,19 суток, ИФР₂ –3,36%). В свою очередь у потомства самок получавших СМС® в течение всего периода отмечался избыток массы тела +1,46 ... +20,8% (наиболее выраженный на 4-е сутки после рождения) который сопровождался наименее выраженным отставанием в темпах физического развития в периоде раннего молочного вскармливания (Со/оСФР₁, 0,81 суток, ИФР₁ 5,85%), который сменялся его существенным опережение в периоде появления первичных половых признаков (Со/оСФР₂, –3,96 суток, ИФР₂ –11,16%);
- предотвращало отставание в темпах СМР у потомства самок, причем для ДФС® достоверно ($p < 0,05$) (Со/оСДР 0,40 суток, ИСДР 2,72%). При оценке гармоничности развития потомства в постнатальном периоде было установлено, что в группе, получавшей СМС®, физическое развитие соответствовало сенсорно-моторному, а в группе с ДФС® сенсорно-двигательное развитие опережало физическое;
- оказывало существенное влияние на структуру поведения их потомства. Так при использовании ДФС® наблюдалось улучшение пространственной ориентации и краткосрочной памяти, снижение уровня тревожности и повышает эффективность исследовательской деятельности в сравнении с потомством животных, получавших до беременности МГХ. Применение СМС® сопровождалось уменьшением уровня тревожности у потомства и стимуляции исследо-

вательская активность в сравнении с группой, получавшей только МГХ, однако, указанные выше изменения являлись лишь тенденциями и не носили достоверного характера.

Подводя итоги применению ПП после длительного предшествовавшего введения МГХ можно говорить о том, что ДФС® и СМС® способны полностью или частично устранять нарушения репродуктивной функции у самок, а также предупреждать нарушения физического и сенсорно-моторного развития у их потомства. Кроме того, полученные нами результаты применения ДФС® и СМС® ставят под сомнение точку зрения T. Kaminski (2006) в соответствии с которой в качестве возможной причины гормональных нарушений при длительном применении ОНА рассматривается длительная блокада ими мю-опиатных рецепторов, расположенных в ткани яичников, специфически подавляющих выработку стероидов последними [240].

Учитывая механизмы формирования нарушений репродуктивной функции у самок, физического и сенсорно-двигательного развития у их потомства, при длительном применении ксенобиотика, а также результаты, полученные при изучении влияния ДФС® и СМС® на указанные выше показатели, можно говорить о том, что изучавшиеся нами пептидные препараты, оказывают непосредственное влияние на нейро-эндокринную систему и могут быть отнесены к средствам этиопатогенетической терапии нарушений репродуктивной функции, вызванных длительным применением опиатных наркотических анальгетиков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последние годы в Российской Федерации становится актуальной проблема нарушения репродуктивной функции у женщин, проявляющейся бесплодием, возникшим после длительного приема ОНА, обусловленного различными причинами.

Анализ литературных данных свидетельствует о том, что существующие методы лечения бесплодия, вызванного применением ОНА, основанные на длительной заместительной гормональной терапии, также как и экспериментальные методы лечения с использованием конкурентных антагонистов опиатных рецепторов, оказываются малоэффективными. В этой связи поиск эффективных средств этиопатогенетической терапии нарушений репродуктивной функции, вызванной длительным приемом ОНА, является актуальной научной задачей, имеющей важное практическое значение.

Учитывая то обстоятельство, что по мнению большинства специалистов в основе бесплодия, вызванного длительным приемом ОНА, лежат нарушения, возникающие в гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси, поиск средств этиопатогенетической терапии обоснован среди веществ, обладающих влиянием на нейро-эндокринную регуляцию. К подобным средствам относятся изученные нами пептидные препараты, содержащие ДСИП и 4–10АКТГ.

Важной задачей проведения доклинических исследований эффективности лекарственных препаратов является разработка адекватной модели экспериментальной патологии, что возможно лишь при близкой идентичности и значимости патологических процессов у биообъекта и человека. В качестве классического биообъекта для моделирования изучаемых нарушений в экспериментальной токсикологии и фармакологии являются крысы, что обусловлено схожестью с человеком анатомического строения репродуктивных органов, плаценты, а также процессов гормональной регуляции функции воспроизведения потомства.

При разработке адекватной модели патологии репродуктивной системы, вызванной длительным применением опиатных наркотических анальгетиков,

необходимо было воспроизвести максимально выраженные репродуктивные расстройства при минимальной патологии со стороны внутренних органов и систем. Такое требование к модели экспериментальной патологии диктовалось тем обстоятельством, что при слабо выраженных расстройствах сложнее выявить основную причину возникающих нарушений, в связи с большой эластичностью компенсаторных реакций со стороны нейро-эндокринной системы. Моделью, соответствующей предъявляемым требованиям, по результатам проведенных исследований являлось длительное 3-х месячное введение МГХ неполовозрелым животным (месячного возраста) в 10,0ЭТД.

В доступной литературе не удалось найти сведения о влиянии изучаемых пептидных препаратов на репродуктивную функцию животных, что побудило провести соответствующие исследования перед оценкой влияния этих средств на создаваемую экспериментальную патологию. В дальнейшем результаты, полученные при изучении влияния пептидных препаратов на репродуктивные показатели интактных самок, использовались в качестве отрицательного контроля.

В процессе исследований было установлено, что 2-х недельное введение пептидных препаратов, содержащих ДСИП или 4–10АКТГ, в выбранных дозах интактным животным оказывало влияние на репродуктивную функцию самок, а также развитие их потомства в постнатальном периоде. Однако, несмотря на кажущееся большое количество показателей, подвергшихся изменению после применения ПП, их отклонения от контрольных значений были несущественными, хотя в ряде случаев и значимыми, и свидетельствовали о незначительном влиянии ДФС® и СМС® на репродуктивную функцию самок и постнатальное развитие потомства.

Изменения, обнаруженные при выполнении первого этапа исследования на животных, получавших МГХ с месячного возраста, подтвердились при выполнении второго этапа и свидетельствовали, как о хорошей воспроизводимости результатов моделирования экспериментальной патологии репродуктивной системы самок и постнатального развития потомства, так и соответствия экспе-

риментальной модели заданным требованиям.

После 3-х-месячного введения МГХ в 10,0 ЭТД самкам до беременности были зарегистрированы значимые ($p < 0,05$) нарушения эстрального цикла, концентрации половых гормонов в сыворотке крови, плодовитости, репродуктивных показателей, циркуляторно-метаболического равновесия в фетоплацентарной системе, аномалии развития и формирования скелета у плодов, а также нарушения физического и сенсорно-двигательного развития в постнатальном периоде развития потомства.

Применение пептидных препаратов, содержащих ДСИП или 4–10АКТГ, после длительного предшествовавшего введения МГХ приводило к нормализации структуры эстрального цикла и концентрации половых гормонов в сыворотке крови, нивелировало нарушения плодовитости, изменения репродуктивных показателей и аномалий развития эмбрионов, а также улучшало показатели физического и сенсорно-двигательного развития их потомства.

Следует отметить, что в рамках исследования нами была экспериментально апробирована система комплексной оценки физического и сенсорно-моторного развития потомства в постнатальном периоде, основанная на принятой в настоящее время в неонатологии системе оценки развития детей первого года жизни, включающая в себя определение дефицита /избытка массы тела, отставания/опережения физического и нервно-психического развития.

При изучении указанных выше показателей в качестве отправной точки для оценки конкретного ребенка, как правило, используются средние показатели по популяции. Однако подобное сравнение, как правило, не позволяет определить влияние конкретного фактора на изменение соответствующих показателей. Это обусловлено, с одной стороны, отсутствием связанной выборки, а с другой, с тем, что подобные сравнения носят в большей степени индивидуальный характер по причине того, что у людей достаточно редко одновременно рождается более одного ребенка.

В свою очередь, учитывая то обстоятельство, что моделирование на лабораторных животных позволяет создавать однофакторные модели, а в помете

мелких лабораторных животных насчитывается до десятка сибсов и более, возникают предпосылки объективизации указанных показателей с помощью статистических методов математического анализа, что позволяет наполнить указанные выше термины новым содержанием. На основании вышеизложенного нами были разработаны индексы и коэффициенты, позволяющие не только давать количественную оценку изменениям массы тела, степени физического и сенсорно-двигательного развития в опытных группах по сравнению с контрольными и между собой, но и определять соответствие одних видов развития потомства другим при воздействии различных факторов т.е. делать заключение о гармоничности развития в целом. Кроме того подобный подход может быть использован для экстраполяции полученных результатов с животных на человека.

Подводя итог проведенным исследованиям, с учетом механизмов формирования нарушений репродуктивной функции у самок, физического и сенсорно-двигательного развития у их потомства при длительном применении МГХ, а также результатов, полученных при изучении влияния ДФС® и СМС® на указанные выше показатели, можно заключить, что изучавшиеся нами пептидные препараты оказывают непосредственное влияние на нейро-эндокринную систему и могут быть отнесены к средствам этиопатогенетической терапии нарушений репродуктивной функции, вызванных длительным применением опиатных наркотических анальгетиков.

ВЫВОДЫ

1. 3-х месячное введение МГХ в 1,0 и 10,0ЭТД не оказывало существенного влияние на общее состояние самок крыс различных возрастных групп. Наиболее выраженными были изменения в группе животных, получавшей МГХ с месячного возраста в максимальной дозе, со стороны показателей характеризующих функцию печени и почек, однако они были не значительными и свидетельствовали о развитии у животных начальной стадии гепаторенальной дисфункции.

2. Наиболее выраженные нарушения репродуктивной функции самок по-

сле 3-х месячное введение МГХ в 10,0ЭТД были выявлены в группе получавшей ксенобиотик с месячного возраста. Так, в этой группе были зарегистрированы достоверные ($p<0,05$) нарушения плодовитости, репродуктивных показателей, циркуляторно-метаболического равновесия в фетоплацентарной системе, а также формировании скелета у плодов. По степени выраженности нарушений репродуктивной функции самок, получавших МГХ до беременности, можно расположить в следующей последовательности: месячные $>$ 2-х месячные $>$ 3-х месячные.

3. Наиболее выраженные нарушения развития в постнатальном периоде наблюдались у потомства, материнские особи которого получали МГХ с месячного возраста, о чем свидетельствовал достоверный ($p<0,05$) дефицит массы, а также задержка физического и сенсорно-моторного развития потомства. По степени отставания в физическом и сенсорно-моторном развитии потомство можно расположить в следующей последовательности: месячные $>$ 2-х месячные $>$ 3-х месячные.

4. 2-х недельное введение пептидных препаратов, содержащих ДСИП и 4–10АКТГ, в выбранных дозах оказывало влияние на репродуктивную функцию самок, что проявлялось значимым ($p<0,05$) уменьшением плодовитости, постимплантационной гибелью для ДФС®, снижением темпов прироста массы тела беременных самок, а также массы тела и кранеокаудального размера плодов, плацентарной недостаточностью, уменьшением длины закладок костей передних и задних конечностей, а также количество оссифицированных позвонков хвоста и мелких костей конечностей.

5. 2-х недельное введение ПП, содержащих ДСИП и 4–10АКТГ, в выбранных дозах оказывало влияние на потомство: снижало прирост массы тела при использовании СМС®, вызывало незначительное отставание физического и сенсорно-моторного развития у детенышей в периоде раннего молочного вскармливания.

6. Применение ПП содержащих ДСИП и 4–10АКТГ после длительного предшествовавшего введения МГХ оказывало положительное влияние на ре-

продуктивную функцию самок крыс. Так, применение ДФС® и СМС® приводило к нормализации структуры эстрального цикла и концентрации половых гормонов в сыворотке крови, нивелировало нарушения плодовитости и изменения показателей репродуктивной функции (количество мест имплантации, живых плодов и имплантационной гибели), характеризовалось нормальным количеством плодов в помете (с меньшей массой и ККР) и уменьшением количества аномалий развития эмбрионов, однако не предотвращали нарушения формирования скелета у плодов.

7. Введение ПП, содержащих ДСИП и 4–10АКТГ, самкам крыс до беременности после длительного предшествовавшего применения МГХ улучшало показатели физического и сенсорно-моторного развития их потомства. Так, применение ДФС® и СМС® приводило к менее выраженному отставанию в физическом развитии в периоде раннего молочного вскармливания, сменявшемуся его существенным опережением в периоде появления первичных половых признаков, предотвращало отставание в темпах сенсорно-моторного развития у потомства.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Разработанную модель целесообразно использовать при проведении доклинических исследований по оценке эффективности средств терапии нарушений женской репродуктивной системы, вызванных длительным приемом наркотических анальгетиков, а также нейроэндокринных механизмов действия пептидных препаратов.

2. После проведения необходимых клинических испытаний препараты Дельтафирокс® и Семакс® могут быть рекомендованы в качестве средств этиопатогенетической терапии нарушений репродуктивной функции у женщин, вызванных длительным приемом наркотических анальгетиков.

3. Показано, что пептидные препараты, содержащие ДСИП и 4–10АКТГ, вызывают нарушения репродуктивной функции и должны с осторожностью применяться в периоде планирования беременности у женщин.

4. Предложенная система оценки физического и сенсорно-моторного развития потомства может быть использована, как при проведении доклинических исследований репродуктивной токсичности новых лекарственных средств, так и при оценке влияния различных факторов окружающей среды на репродуктивную функцию родительских особей.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АКТГ	– адренокортикотропный гормон
4–10АКТГ	– фрагмент 4–10 адренокортикотропного гормона
АлАТ	– аланинаминотрансфераза
АсАТ	– аспартатаминотрансфераза
в/ж	– внутрижелудочно
ДАД	– диастолическое артериальное давление
ДСИП	– дельта-сон индуцирующий пептид
ДФС®	– Дельтаферокс®
ИБ	– индекс беременности
и/н	– интраназально
Ид/иМТ	– индекс дефицита/избытка массы тела
ИПостИГ	– индекс постимплантационной гибели
ИПредИГ	– индекс предимплантационной гибели
ИСДР	– индекс сенсорно-двигательного развития
ИСФСДР	– индекс соответствия физического и сенсорно-двигательного развития
ИФ	– индекс фертильности
ИФР	– индекс физического развития
КЖТ	– количество желтых тел
KKР	– краниокаудальный размер
КМИ	– количество мест имплантации
КП	– коэффициент пересчета
К(м+д)	– коэффициент метаэструса – диэструса
К(п+э)	– коэффициент проэструса – эструса
ЛГ	– лютеинизирующий гормон
ЛД ₅₀	– доза, вызывающая гибель 50% животных
ЛДГ	– лактатдегидрогеназа
МГХ	– морфин гидрохлорид
НП	– нейропептид
ОНА	– опиатные наркотические анальгетики
ПП	– пептидные препараты
ППК	– плацентарно-плодовый коэффициент
САД	– sistолическое артериальное давление
СДР	– сенсорно-двигательное развитие
СМС®	– Семакс®

СТГ	– соматотропный гормон
Со/oCCДР	– среднее отставание/опережение сенсурно-двигательного развития
Со/oСФР	– среднее отставание/опережение физического развития
ТИ	– терапевтический индекс
ТТГ	– тиреотропный гормон
ЧСС	– частота сердечных сокращений
ЩФ	– щелочная фосфатаза
ФСГ	– фолликулостимулирующий гормон
ЭТД	– эквивалентная терапевтическая доза
10,0ЭТД	– десятикратная эквивалентная терапевтическая доза
ЭКО	– экстракорпоральное оплодотворение
ЭЦ	– эстральный цикл

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zech, D.F. Validation of World Health Organization guidelines for cancer pain relief: A 10-year prospective study / D.F. Zech, S. Grond, J. Lynch [et al.] // Pain. – 1995. – Vol.63. – P.65–76.
2. Schrijvers, D. Emergencies in palliative care / D. Schrijvers, F. van Fraeyenhove // Cancer J. – 2010. – Vol.16, №5. – P.514–520.
3. Mystakidou, K. Pain management of cancer patients with transdermal fentanyl: a study of 1828 step I, II, & III transfers / K. Mystakidou, E. Parpa, E. Tsilika [et al.] // J. Pain. – 2004. – Vol.5. – P.119–132.
4. Верткин, А.П. Эффективное обезболивание в онкологии / А.П. Верткин, А.В. Тополянский, О.И. Гирель // Русский медицинский журнал. – 2003. – №26. – С.1455–1457.
5. Абузарова, Г.Р. Оpiатные анальгетики для терапии хронической боли у онкологических больных в России. История вопроса и перспективы / Г.Р. Абузарова, В.Э. Хороненко, Р.Р. Сарманаева // Анастезиология и реаниматология 2015. – №1. – С.19–25.
6. Звартай, М.В. Опиоидные анальгетики: пути совершенствования терапии болевых синдромов / М.В. Звартай, Э.Э. Пчелинцев, А.Н. Кубынин // Русский медицинский журнал, «Человек и лекарство». Актуальные вопросы медицины». – 2007. – Т.15. – №5. – С.417.
7. Ананьева, Л.П. Применение наркотических анальгетиков при лечении хронической неонкологической боли / Л.П. Ананьева // РМЖ. – 2008. – С.21.
8. Nicholson, B. Responsible prescribing of opioids for the management of chronic pain / B. Nicholson // Drugs. – 2003. – Vol.63, №1. – P.17–32.
9. Осипова, Н.А. Принципы клинического применения наркотических и ненаркотических анальгетических средств при острой и хронической боли. Методические указания. Практическое руководство для врачей. / Н.А. Осипова, Г.Р. Абузарова, В.В. Петрова. – М., 2005. – 79 с.
10. Штрибель, Х.В. Терапия хронической боли. Практическое руководство / Пер. с нем. ред. Н.А. Осипова, А.Б. Данилова, В.М. Осипова. – М.: «ГЭОТАР-Медиа», 2005. – 303 с.
11. Furlan, A.D. Opioids for chronic noncancer pain: a meta-analysis of effectiveness and side effects / A.D. Furlan, J.A. Sandoval, A. Mailis-Gagnon, E. Tunks // CMAJ. – 2006. – Vol.174. – P.11.

-
12. Савва, Н.А. Необходимые шаги по улучшению обезболивания у детей в России / Н.А. Савва, Э.В. Кумирова, А.А. Масчан // Паллиативная медицина и реабилитация. – 2013. – №4. – С.10–13.
13. Боль и аналгезия. Руководство для практикующих врачей. / М.Л. Машфорт, М.Г. Купер, М.Л. Кохен [и др.] / Перевод с англ. А.Н. Редькин. ред. рус. изд. А.А. Бунятян и др. – М.: «Литтерра», 2004. – 488 с.
14. Richardson, E. Increased risk of reproductive dysfunction in women prescribed opioids for musculoskeletal pain: a matched cohort study in the Clinical Practice Research Datalink / E. Richardson, J. Bedson, Y. Chen [et al.] // Eur. J. Pain. – 2018. – Vol.22, №9. – P.1701–1708.
15. Васечкин, В.Б. Наркологический диспансер №12 г. Москва Опийная наркомания и ее негативные эффекты в период беременности и на пренатальном и неонатальном этапах развития ребенка // Вопросы наркологии. – 2000. – №5. – С.65–73.
16. Сивочалова, О.В. Действие ксенобиотиков на процессы репродукции / О.В. Сивочалова, М.А. Фесенко / в кн.: Общая токсикология / под ред. Б.А. Курляндского, В.А. Филова. – М.: «Медицина», 2002. – С.445–468.
17. Арутюнян, А.В. Нарушение нейромедиаторного звена гипоталомической регуляции репродуктивной функции под влиянием нейротоксических ксенобиотиков / А.В. Арутюнян, М.Г. Степанов, А.В. Кореневский // Нейрохимия. – 1998.– Т.15. – №4.– С.264–270.
18. Smith, C.G. Drug abuse and reproduction / C.G. Smith, R.H. Asch // Fertility and sterility. – 1987. – Vol.48, №3. – P.355–373.
19. Hollister, L.E. Human pharmacology of drugs of abuse with emphasis on neuroendocrine effects / L.E. Hollister // Prog. Brain Res. – 1973. – Vol. 39. – P.373
20. Иванец, Н.Н. Героиновая наркомания / Н.Н. Иванец, М.А. Винникова. – М.: «Медпрактика», 2000. – 26 с.
21. Фридман, Л.С. Наркология / Л.С. Фридман, Н.Ф. Флеминг, Д.Х. Робертс, С.Е. Хфиман. – СПб.: «БИНОМ»–«Невский Диалект», 2000. – 320 с.
22. Лечение женского и мужского бесплодия. / под ред. В.И. Кулаков, В.Б. Леонова, Л.Н. Кузьмичева. – М.: МИА, 2005. – 592 с.
23. Weller, Y. Useful facts about reproductive medicine fertility testing. Question and answers / Y. Weller, M. Theis, B. Zawta // Dresden: Roshe Diagnostics

GmbH, 2001. disserCat <http://www.dissercat.com/content/morfofunktionalnye-osobennosti-stanovleniya-generativnoi-i-endokrinnoi-funktsii-semennikov-#ixzz5cIurOy2F>

24. Scolt, G. Danforths obstetrics and gynecology / G. Scolt, P. Saia, C. Hammond [et al.]. – Lippincott Willianis Wilkins. – 1999. – Vol.13, – P.197–211.

25. Арутюнян, А.В. Нарушения гипоталомической регуляции репродуктивной функции при воздействии нейротоксических соединений и мелатонина / А.В. Арутюнян, М.Г. Степанов, Г.О. Керкешко Э.К. Айламазян // Материалы международного конгресса «Окружающая среда и перинатальная медицина» // Журнал Акушерства и женских болезней. – 2003. – Т.ЛII, – Вып №2, – С.77–85.

26. Корнеева, И.Е. Современная концепция диагностики и лечения бесплодия в браке: автореф. дис. ... докт. мед. наук: 14.00.01. / Корнеева Ирина Евгеньевна.– М., 2003. – 38 с.

27. Назаренко, Т.А. Женское бесплодие, обусловленное нарушениями процесса овуляции (клиника, диагностика, лечение): автореф. дис. ... докт. мед. наук: 14.00.01 // Назаренко Татьяна Алексеевна : – М., 1998. – 39 с.

28. Овсянникова, Т.В. Эндокринное бесплодие у женщин при гиперпролактинемии / Т.В. Овсянникова // Гинекология. – 2004. – Т.6, №3. – С.121–123.

29. Бесплодный брак /под ред. В.Е. Радзинского – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2019. – 401 с.

30. Гинекология. Национальное руководство / под ред. В.И. Кулакова – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2011. – 1070 с.

31. Левицкая, Н.Г. Влияние модификации N-концевой области молекулы на выраженность ноотропного действия аналогов семакса / Н.Г. Левицкая, Н.Ю. Глазова, Е.А. Себенцова [и др.] // Российский симпозиум по химии и биологии пептидов. Тезисы стендовых сообщений. – М., 2003, – С.79.

32. Каплан, А.Я. Повышение устойчивости организма к гипоксии с помощью нейропептидного лекарственного препарата семакс / А.Я. Каплан, В.Б. Кошелев, В.Н. Незавибатько, И.П. Ашмарин // Физиология человека. – 1992. – Т. 18, №5. – С.104–107.

33. Федоров, А.Б. Динамика нейросенсорных показателей головного мозга, индуцированная введением нейропептидного фактора «Дельтаран» у детей с функциональными и органическими нарушениями функций центральной нервной системы. Отчет об испытании. – НИИ мозга человека РАН, – С.–Пб., 1999.

– 8 с.

34. Шабанов, П.Д. Фармакология пептидных препаратов / П.Д. Шабанов // Мед. акад. журн. – 2008. – Т.8, №4. – С.3–24.
35. Иванова, Н.Е. Результаты применения препарата Семакс при когнитивных нарушениях в остром периоде ишемического инсульта и при хронической ишемии мозга / Н.Е. Иванова // Эффект. фармакотер. – 2012. – №2. – С.34–39.
36. Евтушенко, И.С. Ноотропы и нейропротекторы в современной клинической нейрофармакологии / И.С. Евтушенко // Международный неврологический журнал. – 2013. – Т.57. – №3. – С.20–29.
37. Глоба ,О.В. Ноотропные препараты – нейропептиды в лечении неврологических расстройств у детей / О.В. Глоба, Л.М. Кузенкова, А.В. Горюнова, О.И. Маслова // Современные проблемы науки и образования. – 2008. – №4.; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=986>.
38. Strand, F.L. Neuropeptides: general characteristics and neuropharmaceutical potential in treating CNS disorders / F.L. Strand // Progress in Drug Research. – 2003. – Vol. 61. – P.1–37.
- 39 Клиника, диагностика, лечение, судебно-медицинская экспертиза отравлений алкоголем и его суррогатами: Пособие для врачей / Под общ. ред. Е.Ю. Бонитенко. – СПб.: Медкнига «ЭЛБИ-СПб», 2013. – 656 С.
40. Пятницкая, И.Н. Наркомания: Руководство для врачей / И.Н. Пятницкая. – М.: «Медицина», 1994. – 544 с.
41. Пятницкая, И.Н. Подростковая наркология / И.Н. Пятницкая, Н.Г. Найденова. – М.: «Медицина», 2002. – 256 с.
42. Производственные вредности и репродуктивная функция. Краткие заметки // Хроника ВОЗ. – 2006. – Т.40, №4. – С.731–733.
43. Саноцкий, И.В. Химический мутагенез как основа повреждения репродуктивных функций. Санитарная стандартизация мутагенов / И.В. Саноцкий // Актуальные проблемы репродуктивного здоровья в условиях антропогенного загрязнения. Материалы междунар. симпозиума – Казань, 2001. – С.170–171.
44. Фесенко, М.А. Вопросы охраны репродуктивного здоровья в современных системах химической безопасности / М.А. Фесенко, Е.Н. Макарова-Землянская // Профилактика нарушений репродуктивного здоровья от профессиональных и экологических факторов риска: материалы международного кон-

гресса. – Волгоград, 2004. – С.243–245.

45. Благодатин, В.М. Химические вещества как фактор риска нарушения репродуктивной функции женщин / В.М. Благодатин, А.В. Литовская, О.О. Новохацкая и др. // Журнал акушерства и женских болезней. – 2000. – Т.XLIX. – Вып.3. – С.3–9.
46. Сивочалова, О.В. Критерии оценки профессионального риска репродуктивного здоровья / О.В. Сивочалова, М.А. Фесенко // Материалы 6-ого Всероссийского конгресса «Профессия и здоровье». – М., 2006. – С. 136–138.
47. Никитин, А.И. Вредные факторы среды и репродуктивная система человека (ответственность перед будущими поколениями) / А.И. Никитин. – СПб.: «ЭЛБИ-СПб», 2005. – 216 с.
48. Альтушнер, В.Б. Наркомания: дорога в бездну / В.Б. Альтушнер, А.В. Надеждин – М.: «Просвещение», 2000. – 18 с.
49. Bennett, A.D. Perinatal substance abuse and the drug-exposed neonate / A.D. Bennett // Adv. Nurse Pract. – 1999. – Vol.7, №5. – P.32–36.
50. Wagner, C.L. The impact of prenatal drug exposure on the neonate / C.L. Wagner, L.D. Katikaneni, T.H. Cox [et al.] // Obstet. Gynecol. Clin. North Am. – 1998. – Vol.25, №1. – С.169–194.
51. Kandall, S.R. The methadone-maintained pregnancy / S.R. Kandall, T.M. Doberczak, M. Jantunen, J. Stein // Clin. Perinatol. – 1999. – Vol.26, №1. – P.173–183.
52. Gharagozlou, P. Pharmacological profiles of opioid ligands at kappa opioid receptors / P. Gharagozlou, E. Hashemi, T.M. DeLorey [et al.] // BMC Pharmacol. - 2006. – Vol.6, №3. – Режим доступа: <http://www.biomedcentral.com/1471-2210/6/3>
53. Little, B.B. Maternal and fetal effects of heroin addiction during pregnancy / B.B. Little, L.M. Snell, V.R. Klein [et al.] // J. Reprod. Med. – 1990. – Vol.35, №2. – P.159–162.
54. Серов, В.Н. Возможности применения эфферентных методов в лечении наркоманий у беременных / В.Н.Серов, А.М. Абубакирова, И.И. Баранов / Акушерство и гинекология. – 2001. – №1. – С.54–56.
55. Нисвандер, К. Справочник Калифорнийского университета / К. Нисвандер, А. Эванс. – М.: «Практика», 1999. – 704 с.
56. Malek, A. Impact of cocaine on human placental function using an in vitro perfusion system / A. Malek , D. Ivy, E. Blann [et al.] // J. Pharmacol. Toxicol.

Methods. – 1995. – Vol.33, №4. – C.213–219.

57. Keith, L.G. Substance abuse in pregnant women: Recent experience at the Perinatal Center for Chemical Dependency of Northwestern Memorial Hospital / L.G. Keith [et al.] // Obstet. Gynecol. – 1989. – Vol.73. – P.7151.
58. Echevarria, J. Neonatal findings in children of drug-addicted mothers / J. Echevarria, M. Callen, E. Alustiza [et al.] // Ann. Esp. Pediatr. – 1983. – Vol.19, №6. – P.439–443.
59. Симпсон, Д.Л. Генетика в акушерстве и гинекологии / Д.Л. Симпсон, М.С. Голбуе, Э.О. Мартин, Г.Е. Серто. – М.: «Медицина», 1985. – 351 с.
60. Серов, В.Н. Критические состояния в акушерстве. Руководство для врачей / В.Н. Серов, С.А. Маркин. – М.: «Медиздат», 2003. – 279 с.
61. Geber, W.F. Congenital malformations of the central nervous system produced by narcotic analgesics in the hamster / W.F. Geber, L.C. Schramm // Am. J. Obstet. Gynecol. – 1975. – Vol.123, №7. – P.707–713.
62. Lejeune, C. Management of drug addict pregnant women and their children / C. Lejeune, C. Floch-Tudal, S. Montamat [et al.] // Arch. Pediatr. – 1997. – Vol.4, №3. – C.263–270.
63. Kelly, J.J. The drug epidemic: effects on newborn infants and health resource consumption at a tertiary perinatal centre / J.J. Kelly, P.G. Davis, P.N. Henschke // J. Paediatr. Child Health. – 2000. – Vol.36, №3. – P.262–264.
64. Rico, H. Lower serum osteocalcin levels in pregnant drug users and their newborns at the time of delivery / H. Rico, C. Costales, J.A. Cabranes [et al.] // Obstet. Gynecol. – 1990. – Vol.75, №6. – P.998–1000.
65. Vavrinkova, B. Placental and umbilical cord changes in drug-addicted women / B. Vavrinkova, T. Binder, I. Vitkova, J. Zivny // Ceska. Gynekol. – 2001. – Vol.66, №5. – P.345–349.
66. Общая сексопатология. Руководство для врачей / Под ред. проф. Г.С. Васильченко – М.: «Медицина», 2005. – 512 с.
67. Fabbri, A. Neuroendocrine control of male reproductive function. The opioid system as a model of control at multiple sites / A. Fabbri, E.A. Jannini, L. Gnessi [et al.] // J. Steroid. Biochem. – 1989. – Vol.32. – P.145–150.
68. Vuong, C. The effects of opioids and opioid analogs on animal and human endocrine systems / C. Vuong, S.H. Van Uum, L.E. O'Dell [et al.] // Endocrine Reviews. – 2010. – Vol.31, №1. – P.98–132.

-
69. Евсеев, В.Д. Клинические особенности и динамика сексуальных дисфункций у больных опиоидной наркоманией (психиатрическая коморбидность и терапия): дис... канд. мед. наук: 14.01.06; 14.01.27 / Евсеев Вячеслав Дмитриевич. Томск, 2017. – 209 с.
70. Fereidoun, A. Decreased serum testosterone concentration in male heroin and methadone addicts / A. Fereidoun, G.A. Vagenakis, C. Longcope [et al.] // Steroids. – 1973. – Vol.22, №4. – P.467–472.
71. Белоус, Ю.А. Гипофизарная регуляция системы половых гормонов у больных алкоголизмом, наркоманиями и токсикоманиями / Ю.А. Белоус, И.А. Комаревцева, Д.В. Савенко // Вопросы наркологии. – 2005. – №2. – С.54–58.
72. Ali, R.A. Evaluation of the toxicity of accumulated dose to the gonads of tramadol an albino rat / R.A. Ali, M.M. Mohi-Aldin // Sci. Res. J. Pharm. Biol. Chem. Ind. Sciences. – 2018.– Vol.9 №6.– Р. 1786–1799.
73. Лелевич, С.В. Нейромедиаторные нарушения в мозжечке и стволе головного мозга крыс при хронической морфиновой интоксикации / С.В. Лелевич, В.В. Лелевич, А.А. Новокшонов // Журнал ГрГМУ, 2009. – №3.– С.54–56.
74. Эпидемиология бесплодия: Доклад научной группы ВОЗ. – М., 1977. – С.4–15.
75. Бесплодный брак / под ред. В.И. Кулакова – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2005. – 19 с.
76. Кондратьева, Т.А. Современные подходы к диагностике и лечению бесплодия / Т.А. Кондратьева, Н.В. Артымук // Мать и дитя в Кузбассе. – 2009. – Т.37, №2. – С.4–7.
77. Гинекологическая эндокринология / под ред. В.Н. Серова – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – 528 с.
78. Овсянникова, Т.В. Эндокринное бесплодие у женщин при гиперпролактинемии / Т.В. Овсянникова // Гинекология. – 2004. – Т.6, №3. – С.121–123.
79. Назаренко, Т.А. Стимуляция функции яичников / Т.А. Назаренко. – М.: «МЕДпресс-информ», 2015. – 288 с.
80. Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению / под ред. Г.Т. Сухих, Т.А. Назаренко. – М.: «ГЭОТАР-Медиа», 2010. – 518 с.
81. NICE Guideline "Fertility problems: assessment and treatment". September

-
2017. <https://www.nice.org.uk/terms-and-conditions#notice-of-rights>.
82. Poppe, K. Thyroid disorders in infertile women / K. Poppe, B. Velkneirs // Ann. Endocrinol. – 2003. – Vol.64, №1. – P.45–50.
83. Reaven, G. Diet and syndrome X / G. Reaven // J. Curr. Atheroscler. Rep. – 2000, Nov. – Vol.6. – P.503–507.
84. Дикке, Г.Б. Клиническое применение соли и грязи мертвого моря в лечении хронических заболеваний половых органов у женщин и мужчин: руководство для врачей / Г.Б. Дикке. – М., 2008. – 19 с.
85. Евсеева, М.М. Естественные и преформированные физические факторы в восстановительном лечении женщин с последствиями хронических воспалительных заболеваний органов малого таза: автореф. дис. ... докт. мед. наук: 14.00.51, 14.00.01/ Евсеева Марина Михайловна. – М., 2008. – 48 с.
86. Уткин, Е.В. Реабилитация женщин с нарушениями репродуктивной функции в условиях санатория: методические рекомендации / Е.В. Уткин, Н.В. Артымук – 2007. – 26 с.
87. Экстракорпоральное оплодотворение и его новые направления в лечении женского и мужского бесплодия (теоретические и практические подходы): руководство для врачей / под ред. В.И. Кулакова, Б.В. Леонова – М.: Медицинское информационное агентство, 2000. – 782 с.
88. Бесплодный брак /под ред. В.Е. Радзинского – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2019. – 401 с.
89. Гинекология. Национальное руководство / под ред. В.И. Кулакова – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2011. – 1070 с.
90. Естествознание. Энциклопедический словарь
https://dic.academic.ru/contents.nsf/natural_science/
91. Рыбников, В.Ю. Пептидная регуляция функций мозга / В.Ю. Рыбников, Н.Г. Закуцкий. – С-Пб.: BRA «Фолиант», 2000. – 40 с.
92. Шатаева, Л.К. Пептидная саморегуляция живых систем (факты и гипотезы) / Л.К. Шатаева, В.Х. Хавинсон, И.Ю. Ряднова – СПб.: «Наука», 2003. – 222 с.
93. Большая российская энциклопедия. / Науч.-ред. совет: Ю.С. Осипов (пред.) [и др.]; Отв. ред. С.Л. Кравец. – Т.22. – М.: «Большая Российская энциклопедия», 2013. – 767 с.
94. Ашмарин, И.П. Регуляторные пептиды, функционально-непрерывная

совокупность / И.П. Ашмарин, М.Ф. Обухова // Биохимия. – 1986. – Т.51, №4. – С.531–545.

95. Нейрохимия: учебник для биологических и медицинских ВУЗов. / И.П. Ашмарин, А.Е. Антипенко, В.В. Ашапкин [и др.] / под ред. акад. РАМН И.П. Ашмарина и проф. П.В. Стукалова. – М.: Изд. Института биомедицинской химии РАМН, 1996. – 470 с.

96. Гомазков, О.А. Мозг и нейропептиды: Справочно-информационное издание / О.А. Гомазков / Ин-т биомед. химии РАМН. – М.: Б.И., 1997. – 170 с.

97. Хомутов, А.Е. Регуляторные пептиды. Учебно-методическое пособие / А.Е. Хомутов, К.А. Пурсанов, З.В. Перепелюк. – Н. Новгород: Изд-во ННГУ, 2014. – 73 с.

98. Якубке, Х.-Д., Ешкайт Х. Аминокислоты. Пептиды. Белки. / Х.-Д. Якубке, Х. Ешкайт / Пер. с нем. Н.П. Запеваловой, Е.Е. Максимова, под ред. Ю.В. Митина. – М.: «Мир», 1985. – С.232–296.

99. Sewald, N. Peptides: Chemistry and biology / N. Sewald, H.-D. Jakubke. – Willey-VCH, 2002. – 543 р.

100. Шабанов, П.Д. Пептидные нейропротекторы / П.Д. Шабанов // Фармакология – практическому здравоохранению. – СПб., 2007. – С. 2–29.

101. Ашмарин, И.П. Об эффективности ультрамалых доз и концентраций биологически активных соединений / И.П. Ашмарин, Т.В. Лелекова, Л.Ц. Санжиева // Изв. Рос. АН. Сер. биол. – 1992. – № 4. – С.531–536.

102. Сазанов, Л.А. Действие сверхмалых доз (10^{-18} – 10^{-14}) биологически активных веществ: Общие закономерности, особенности и возможные механизмы / Л.А. Сазанов, С.В. Зайцева // Биохимия. – 1992.– Т.57, №10. – С.1443–1460.

103. Ашмарин, И.П. Нейропептиды в синаптической передаче / И.П. Ашмарин, М.А. Каменская. – М.: ВИНИТИ, 1988. – 179 с.

104. Соловьев, В.Б. Нейропептиды: структурно-функциональная классификация / В.Б. Соловьев / J. Actual Science. – Т.1, №4. – 2015. – С.22–35.

105. Морозов, В.Г., Хавинсон В.Х., Яковлев Г.М. [и др.] Механизмы биорегуляции. – СПб.: «Наука», 1992. – 39 с.

106. Козловская, Г.В. Психические нарушения у детей раннего возраста: (клиника, эпидемиология и вопросы реабилитации): автореф дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.18 / Козловская, Галина Вячеславовна: – М., 1995. – 48 с.

-
107. Комаров, В.Ф. Применение пептидных биорегуляторов в клинической медицине / В.Ф. Комаров // Геронтологические аспекты пептидной регуляции функций организма: Матер. межд. симп. – СПб.: Наука, 1996. – С.48.
108. Белогурова, М.Е. Влияние препарата дельтаран (на основе дельта-сон индуцирующего пептида) на показатели цитопении и состояние центральной нервной системы у детей, получавших высокодозную химиотерапию / М.Е. Белогурова, Т.Д. Викторович, Б.О. Войтенков [и др.] // II Съезд детских онкологов и гематологов России. – 2001. – С.37–38.
109. Рыжак, Г.А., Малинин В.В., Платонова Т.Н. Применение кортексина при лечении заболеваний центральной нервной системы. Методические рекомендации. – С.-Пб.: 2003. – 64 с.
110. Smith, C.U.M. Elements of molecular Neurobiology / 2-nd ed., Willy, England, 1996. – 522 р.
111. Schoenenberger, G.A. Characterization of a delta-electroencephalogram (-sleep)-inducing peptide / G.A. Schoenenberger, M. Monnier // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1977. – Vol.74, №3. – P.1282–1286.
112. Graf, M.V. Delta sleep-inducing peptide (DSIP)-like material exists in peripheral organs of rats in large dissociable forms / M.V. Graf, A.J. Kastin // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. – 1984. – Vol.177, №1. – P.197–204.
113. Белых, А.Е. Дельта-сон индуцирующий пептид: отдельные биологические эффекты и механизмы их развития / А.Е. Белых, И.И. Бобынцев // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2016. – №1.– С.79–90.
114. Ковальzon, B.M. Дельта-сон индуцирующий пептид - тридцать лет спустя / B.M. Ковальzon, T.B. Стрекалова // Нейрохимия. – 2006. – Т.23, №4. – С.276–282.
115. Vallarino, M. Immunohistochemical localization of delta sleep-inducing peptide (DSIP) in the brain and pituitary of the cartilaginous fish *Scyliorhinus canicula* / M. Vallarino, M. Feuilloley, L. Yon [et al.] // Peptides. – 1992. – Vol.13, №4. – P.645–652.
116. Bjartell, A. Immunoreactive delta sleep-inducing peptide in the rat hypothalamus, pituitary and adrenal gland: effects of adrenalectomy / A. Bjartell, F. Sundler, R. Ekman // Horm. Res. – 1991. – Vol.36, №1-2. – P.52–62.
117. Ekman, R. Immunoreactive delta sleep-inducing peptide in pituitary

adrenocorticotropin/alpha-melanotropin cells and adrenal medullary cells of the pig / R. Ekman, A. Bjartell, E. Ekblad, F. Sundler // Neuroendocrinology. – 1987. – Vol.45, №4. – P.298–304.

118. Charnay, Y. Immunohistochemical mapping of delta sleep-inducing peptide in the cat brain and hypophysis. Relationships with the LHRH system and corticotropes / Y. Charnay, L. Léger, J. Golaz [et al.] // J. Chem. Neuroanat. – 1990. – Vol.3, №5. – P.397–412.

119. Vallet, P.G. Distribution and colocalization of delta sleep-inducing peptide and luteinizing hormone-releasing hormone in the aged human brain: an immunohistochemical study / P.G. Vallet, Y. Charnay, C. Bouras // J. Chem. Neuroanat. – 1990. – Vol.3, №3. – P.207–214.

120. Bjartell, A. Delta-sleep inducing peptide: a Mammalian regulatory peptide / A. Bjartell. – Lund: Grahns Boktrycker. – 1990. – P.9–42.

121. Гурчин, Ф.А. Использование препарата "Дельтаран" у больных эпилепсией / Ф.А. Гурчин, А.Ф. Гурчин, Н.Ю. Королева [и др.] // Нейроиммунология (исследования, клиника, лечение). – С.-Пб, 2002. – С.75–77.

122. Петров, С.Л. Сверхмалые дозы пептида дельта-сон / С.Л. Петров, О.И. Эпштейн // Бюл. эксп. бiol. мед. Приложение. – 2003. – С.114–118.

123. Раджабов, С.Д. Применение дельтарана при лечении больных с последствиями тяжелой черепно-мозговой травмы / С.Д Раджабов // Материалы Конгресса "Мать и дитя": Тезисы докладов. – 2002, Ч.1. – С.93.

124. Бондаренко, Т.И. Молекулярные эффекты дельта-сон индуцирующего пептида в регуляции гомеостаза при стрессе / Т.И. Бондаренко, Т.А. Шустанова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2010. – Т.8, №12. – С.45–63.

125. Bjartell, A. Immunoreactive delta sleep-inducing peptide in the rat hypothalamus, pituitary and adrenal gland: effects of adrenalectomy / A. Bjartell, F. Sundler, R. Ekman // Horm. Res. – 1991. – Vol.36, №1-2. – P.52–62.

126. Мационис, А.Э. Рекомбинации ультраструктуры неокортекса зимоспящих в процессе адаптации к гипотермии / А.Э. Мационис, И.Ю. Павлов, Д.Э. Пашаева [и др.] // Бюл. эксп. бiol. мед. – 1996. – Т.122, №11. – С.582–589.

127. Matsionis, A. Morphometric analysis of synaptic plasticity of sensorimotor cortex under neuropeptidal correction of hypo- and hyperoxic damages / A. Matsionis, I. Pavlov, G. Kuraev [et al] // International Journal of Developmental

Neuroscience. – 1996. – Vol.14, №51. – P.84.

128. Povilaitite, P. Morphological basis of delta-sleep inducing peptide antistressory action: ultrastructural changes of axospinous synapses / P. Povilaitite, A. Matsionis, I. Pavlov [et al.] // International Journal of Developmental Neuroscience. – 1996. – Vol.14, №51. – P.85.

129. Бондаренко, Т.И. Влияние пептида дельта-сна на содержание гомо-карнозина в мозгу крыс при действии холодового стресса / Т.И. Бондаренко, А.А. Кричевская, И.Г. Папакина // Физiol. журн. СССР. – 1989. – Т.75, №12. – С.1788–1790.

130. Shustanova, T.A. Features of regulating delta sleep-inducing peptide by free radical processes in tissue and erythrocyte membranes in intact animals and under stress / T.A. Shustanova, T.I. Bondarenko, N.P. Miliutina [et al.] // Usp. Fiziol. Nauk. – 2003. – Vol.34, №1. – P.31–44.

131. Рыбальченко, В.К. Роль липидного матрикса плазматической мембранны в процессе передачи информации регуляторными пептидами / В.К. Рыбальченко, Б.Р. Могилевич, Г.В. Островская // Бюл. эксп. биол. мед. – 1993. – Т.115, №5. – С.477–478.

132. Zhang, S. Spontaneous assembly of a self-complementary oligopeptide to form a stable macroscopic membrane / S. Zhang, T. Holmes, C. Lockshin, A. Rich // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1993. – Vol.90, №8. – P.3334–3338.

133. Yanagawa, Y. A novel sodium channel inhibitor from Conus geographus: purification, structure, and pharmacological properties / Y. Yanagawa, T. Abe, M. Satake [et al.] // Biochemistry. – 1988. – Vol.27, №17. – P.6256–6262.

134. Лысенко, А.В. Изменение активности Ca₂₊-зависимых протеиназ и АТФаз при коррекции функционального состояния дельта-сон индуцирующим пептидом / А.В. Лысенко, А.М. Менджерицкий // Успехи физиол. наук. – 1994. – Т.25, №3. – С.87–90.

135. Стрекалова, Т.В. Дельта-сон индуцирующий пептид (ДСИП): проблемы эндогенного происхождения и биологической активности / Т.В. Стрекалова // Нейрохимия. – 1998. – Т.15, №3. – С.227–238.

136. Bogolepov, N.N. Structural-functional organization of neurons in the cerebral cortex of rats with different levels of resistance to emotional stress in conditions of exposure to delta sleep-inducing peptide / N.N. Bogolepov, E.N. Popova, E.V. Koplik [et al.] // Neurosci. Behav. Physiol. – 2004. – Vol.34, №6. – P.611–616.

-
137. Gershtein, L.M. Regulation by delta-sleep-inducing peptide of the neurochemical changes in the brain associated with dopaminergic system hyperactivity / L.M. Gershtein, E.L. Dovedova // Neurochem. Res. – 1999. – Vol.24, №9. – P.1135–1141.
138. Pollard, B.J. Delta sleep-inducing peptide / B.J. Pollard, C.J. Pomfrett // Eur. J. Anaesthesiol. – 2001. – Vol.18, №7. – P.419–422.
139. Yehuda, S. DSIP a tool for investigating the sleep onset mechanism: a review / S. Yehuda, R.L. Carasso // Int. J. Neurosci. – 1988. – Vol.8, №3-4. – P.345–353.
140. Sergutina, A.V. Neurochemical characteristics of the effects of delta sleep-inducing peptide in Wistar rats with hyperactivity of the dopaminergic system / A.V. Sergutina, L.M. Gershtein // Bull. Exp. Biol. Med. – 2000. – Vol.130, №11. – P.1074–1076.
141. Войтенков, В.Б. Влияние препарата пептида дельта-сна «Дельтаран» на продолжительность жизни, физиологические показатели и канцерогенез у мышей / В.Б. Войтенков, И.Г. Попович, М.А. Забежинский, И.И. Михалева // Успехи геронтологии. – 2009. – Т.22, №4. – С.646–654.
142. Иванов, М.Б. Влияние дельта-сон индуцирующего пептида на ГАМК_A-рецепторные структуры в эксперименте / М.Б. Иванов, В.А. Башарин, Е.Ю. Бонитенко [и др.] // Российский биомедицинский журнал Medline – 2005. – Т.6 (Ст. 171) – С.662–672
143. Иванов, М.Б. Влияние на межрецептурные взаимоотношения модуляции дельта-сон индуцирующим пептидом ГАМК_A-рецепторных структур / М.Б. Иванов В.А. Башарин, Е.Ю. Бонитенко [и др.] // Российский биомедицинский журнал Medline – 2005. – Т.6 (Ст. 172) – С. 673-682
144. Яковлев, Г.М., Новиков В.С.. Хавинсон В.Х. Резистентность, стресс, регуляция. – Л.: «Наука», 1990. – 237 с.
145. Прудченко, Н.А. Синтез и биологические свойства ряда новых аналогов пептида дельта-сна. Антиэпилептическое действие / Н.А. Прудченко, И.И. Сташевская, И.И. Михалева [и др.] // Биоорганич. химия. – 1993. – Т.19, №1. – С.43–55.
146. Менджерицкий, А.М. Дельта-сон индуцирующий пептид как модулятор ультраструктуры синапсов / А.М. Менджерицкий, И.И. Михалева, А.Е. Матсионис [и др.] // Морфология. – 1994. – Т.106, №4-6. – С.55–63.

-
147. Bondarenko, T.I. The effects of delta sleep-inducing peptide on the intensity of lipid peroxidation and xanthine oxidase activity in rat tissues during cold stress / T.I. Bondarenko, N.P. Milyutina, T.A. Shustanova [et al.] // Neurosis Behav. Physiol. – 2001. – Vol.31, №1. – P.83–86.
148. Shustanova, T.A. Regulation of free radical processes by delta-sleep inducing peptide in rattissues under cold stress / T.A. Shustanova, T.I. Bondarenko, N.P. Milyutina [et al.] // Biochemistry. – 2001. – Vol.66, №6. – P.632–639.
149. Popovich, I.G. Effect of delta-sleep inducing peptide-containing preparation Deltaran on biomarkers of aging, life span and spontaneous tumor incidence in female SHR mice / I.G. Popovich, B.O. Voitenkov, V.N. Anisimov [et al.] // Mech. Ageing. Dev. – 2003. – Vol.124, №6. – P.721–731.
150. Альперович, Д.В. Преадаптация организма к действию неблагоприятных факторов путем введения эндогенного адаптогена – дельта-сон-индуцирующего пептида / Д.В. Альперович, А.В. Лысенко, И.И. Михалева, А.М. Менджерицкий // Нейрохимия. – 1999. – Т.16, №1. – С.29–36.
151. Najimi, M. Immunohistochemical distribution of DSIP immunoreactivity in the human hypothalamus during the first postnatal year / M. Najimi, M. Bennis, E. Moyse [et al.] // A preliminary report. Folia Biol. (Praha). – 2001. – Vol.47, №2. – P.66–70.
152. Najimi, M. Distribution of delta sleep-inducing peptide in the newborn and infant human hypothalamus: an immunohistochemical study / M. Najimi, M. Bennis, E. Moyse [et al.] // Biol. Res. – 2001. – Vol.34, №1. – P.31–42.
153. Graf, M.V. Delta-sleep-inducing peptide (DSIP): an update / M.V. Graf, A.J. Kastin // Peptides. – 1986. – Vol.7. – P.1165–1187.
154. Hershkowitz, M. The effect of ACTH on rat brain synaptic plasma membrane lipid fluidity / M. Hershkowitz, H. Zwiers, W.H. Gispen // Biochim. Biophys. Acta. – 1982. – Vol.692, №3. – P.495–497.
155. Гриненников, И.А. Факторы пептидной природы в процессах пролиферации, дифференцировки и поддержания жизнеспособности клеток нервной системы млекопитающих / И.А. Гриненников, О.В. Долотов, Ю.И. Гольдина // Молекулярная биология. – 1999. – Т.33, №1. – С.120–126.
156. Алексидзе, Н.Г. Влияние (L-Phe7) и (D-Phe7) АКТГ4-7 и аналога АКТГ4-7 пролонгированного действия на активность ацетилхолинэстеразы головного мозга крыс / Н.Г. Алексидзе, М.В. Балавадзе, М.А. Пономарева-

-
- Степная [и др.] // Бюл. эксп. биол. мед. – 1983. – Т.96. – С.24–26.
157. Карвасарский, Б.Д. Неврозы: Руководство для врачей / Б.Д. Карвасарский. – М.: «Медицина», 1990. – 572 с.
158. Ашмарин, И.П. Ноотропный аналог адренокортикотропина 4-10- Семакс (15-летний опыт разработки и изучения) / И.П. Ашмарин, В.Н. Незавибатько, Н.Ф. Мясоедов [и др.] // Журнал Высшая нервная деятельность. – 1997. – Т.47, Вып.3. – С.420–430.
159. Волков, А.В. Результаты применения регуляторных пептидов при реанимации после остановки сердца в эксперименте / А.В. Волков, Ю.В. Заржецкий, А.Ю. Постнов [и др.] В кн.: Терминальные состояния и постстреанимационная патология организма: патофизиология, клиника, профилактика и лечение. – М.: Ин-т общей реаниматологии РАМН, 1992. – С.69–76.
160. Kaplan, A.Ya. Synthetic ACTH analogue semax displays nootropic-like activity in human / A.Ya. Kaplan, A.G. Kochetova, V.N. Nezavibatko [et al.] // Neuroscience Res. Comm. – 1996. – Vol.19, №2. – P.115–123.
161. Соколова, Н.А. Пренатальный гипоксический стресс: физиологические и биохимические последствия, коррекция регуляторными пептидами / Н.А. Соколова, М.В. Маслова, А.С. Маклакова, И.П. Ашмарин // Успехи физиологических наук. – 2002. – Т.33, №2. – С.56–67.
162. Левицкая, Н.Г. Исследование спектра физиологической активности аналога АКТГ4-10 гептапептида семакс / Н.Г. Левицкая, Н.Ю. Глазова, Е.А. Себенцова [и др.] // Нейрохимия. – 2008. – Т.25. – №1. – С.111–118.
163. Ляпина, Л.А. Комплекс гепарин-семакс, его влияние на антикоагулянтные и фибринолитические свойства плазмы крови животных / Л.А. Ляпина, В.Е. Пасторова, А.А. Каменский [и др.] // Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии. – 2000. – №3. – С.33–36.
164. Гусев, Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. – М.: «Медицина», 2001 – 328 с.
165. Ловать, М.Л. Влияние ноотропного препарата Семакс на поведенческие признаки абстинентного синдрома и влечеение к алкоголю у белых крыс, а также оценка его клинической эффективности и безопасности у пациентов, страдающих алкогольной зависимостью / М.Л. Ловать, М.А. Винникова, Н.А. Козырева [и др.] // Нейрохимия. – 2008. – Т.25, №1-2. – С.49–56.
166. Полунин, Г.С. Определение терапевтической эффективности нового

отечественного препарата Семакс при заболеваниях зрительного нерва / Г.С. Полунин, С.М. Нуриева, Д.Л. Баяндин [и др.] // Вестник офтальмологии. – 2000. – Т.116, №1. – С.15–18.

167. Маслова, М.В. Влияние на центральную нервную систему анте- и постнатальной гипоксии и их коррекция пептидными гормонами / М.В. Маслова, А.С. Маклакова, Н.А. Соколова [и др.] // Рос. физиолог. журнал. им. И.М. Сеченова. – 2002. – Т.88, №2. – С.184–190.

168. Самсонова, Т.В. Применение семакса в восстановительном лечении детей первого года жизни с перинатальным гипоксически-ишемическим поражением головного мозга / Т.В. Самсонова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2013. – №5. – С.109–114.

169. Шабалов, Н.П. Ноотропные и нейропротекторные препараты в детской неврологической практике / Н.П. Шабалов, А.А. Скоромец, А.П. Шумилина [и др.] // Вестник Военно-медицинской академии. – 2000. – Вып.2. – С.37.

170. Маслова, О.И., Кирдяшкина М.А. Оценка эффективности и безопасности лекарственного препарата «Семакс» при лечении МИД у детей, а также сравнительное изучение терапевтической эффективности ноотропных препаратов «Семакс» и «Глицин» при МЦЦ у детей. – М., 2001. – 8 с.

171. Студеникин, В.М. Об опыте и перспективах применения отечественного нейропептидного препарата в детской неврологии. / В.М. Студеникин, Л.А. Пак, В.И. Шелковский, С.В. Балканская // Лечащий врач. – 2009. – №5. – С.42–45.

172. ГОСТ 33215-2014 Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур. Использование и издательское оформление. – М.: Стандартинформ, 2016 – 18 с.

173. ГОСТ 33216-2014 Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами. Использование и издательское оформление. – М.: Стандартинформ, 2016 – 9 с.

174. ГОСТ Р 50258-92 Комбикорма полнорационные для лабораторных животных. Технические условия. – М.: «Издательство стандартов», 1992. – 9 с.

175. Приказ МЗ СССР №755 от 12.08.77 г. «О мерах по дальнейшему со-

вершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных».

176. Правила лабораторной практики. Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23 августа 2010 г. № 708н г. Москва. Зарегистрирован в Минюсте РФ 13 октября 2010 г. Регистрационный №18713.

177. Постановления Правительства РФ от 31.06.1998 № 681 «Об утверждении перечня наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в РФ».

178. Постановления Правительства РФ от 31.12.2009 № 1148 «О порядке хранения наркотических средств и психотропных веществ».

179. Постановления Правительства РФ от 06.08.1998 № 892 «Об утверждении правил допуска лиц к работе с наркотическими средствами и психотропными веществами».

180. Finney, D.J. Probit Analysis / 2-ed ed D.J. Finney. – New York: Cambridge University Press, 1952. – 256 р.

181. Прозоровский, В.Б. Использование метода наименьших квадратов для пробит-анализа кривых летальности / В.Б. Прозоровский // Фармакология и токсикология. – 1962. – Т.25, №1. – С.115–119.

182. Березовская, И.В. Прогноз безопасности лекарственных средств в доклинических токсикологических исследованиях / И.В. Березовская // Токсикол. вестник – 2010. – №5. – С.17–22.

183. Гуськова, Т.А. Токсикология лекарственных средств / Т.А. Гуськова. – М.: «Русский врач», 2003. – С.99–116.

184. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1 – М., 2012. – 944 с.

185. Hodge, C. Clinical toxicology of commercial products. Acute poisoning. / C. Hodge, R.E. Gosselin, R.P. Smith [et al.] / 4-th ed., – Baltimore: Williams & Wilkins, 1975. – 427 р.

186. Авдеева, О.И. Гармонизация исследований по проведению острой токсичности в соответствии с российскими и зарубежными требованиями / О.И. Авдеева, И.Е. Макаренко, М.Н. Макарова [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2015. – №1. – С.103–109.

187. Гижларян, М.С. Новые данные о применении гексеналовой пробы в

токсикологическом эксперименте / М.С. Гижларян // Гигиена труда. – 1976. – №10 . – С.49–50.

188. Ляхович, В.В. Индукция ферментов метаболизма ксенобиотиков / В.В. Ляхович, И.Б. Цырлов; отв. ред. А.А. Ясайтис. – Новосибирск: «Наука : Сиб. отд-ние», 1981. – 242 с.

189. Цейликман, В.Э. Поведенческая активность и некоторые маркеры синдрома посттравматических стрессовых расстройств среди показателей серотонинергической системы ферментов метаболизирующих глюкокортикоиды у крыс с разной продолжительностью гексеналового сна / В.Э. Цейликман, М.С. Лапшин, Д.А. Козочкин [и др.] // Бюл. Эксп. Биол. и мед. – 2016. – №4. – С.16–20.

190. Башарин, В.А. Нейропептиды и субстраты энергетического обмена в терапии тяжелых отравлений депримирующими веществами (экспериментальное исследование) : дис. ... д-ра мед. наук : 14.03.04 / Башарин Вадим Александрович: – Санкт-Петербург, 2011. – 298 с.

191. Левицкая, Н.Г. Влияние Семакса на эмоциональное состояние белых крыс в норме и на фоне действия холицистокинина тетрапептида / Н. Г. Левицкая, Д.А. Виленский, Е.А. Себенцова [и др.] // Известия РАН. Серия биологическая. – 2010. – №2. – С.231–237.

192. Котельников, А.В. Характеристика эстрального цикла белых крыс на разных этапах онтогенеза при введении витамина Е / А.В. Котельников, С.В. Котельникова // Вестник Астраханского государственного технического университета. – 2005. – №6. – Р.25–27.

193. Клочков, Д.В. Селекция на усиление кататонической реактивности крыс, половая функция и синхронизация эстральной цикличности / Д.В. Клочков, Т.А. Алехина // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2012. – № 16. – С.1025–1031.

194. Глуховец, Б.И. Патология последа / Б.И. Глуховец, Н.Г. Глуховец. – СПб.: «Грааль», 2002. – 448 с.

195. Милованов, А.П. Патология системы мать–плацента–плод: Руководство для врачей / А.П. Милованов – М.: «Медицина», 1999 – 448 с.

196. Сыркин, Л.А. О нормах физического развития детей школьного возраста. – М.: Гос. Изд-во, 1928. – 35 с.

197. Бунак, В.В. Методика антропометрических исследований /

В.В. Бунак. – М.: «Госмединформиздат», 1931. – 222 с.

198. Серебровская, М.В. Антропометрический справочник врача-педиатра, педолога и педагога / М.В. Серебровская; Государственный научный институт здоровья детей и подростков НКЗдрава в Москве. – М.: «Жизнь и знание», 1928. – 54 с.

199. Ярхо, А.И. О взаимоотношении роста, веса и окружности грудной клетки и их значении для оценки физического развития / А.И. Ярхо // Русский антропологический журнал. – 1924. – Т.13, Вып.3–4. – С.85–102.

200. Wilson, J.G. Methods for administering agents and detecting malformations in experimental animals / J.G. Wilson, J. Warkany // Teratology: Principles and Techniques. – Chicago: University of Chicago Press, 1965. – Р.262–277.

201. Дыбан, А.П. Основные методические подходы к тестированию тератогенной активности химических веществ / А.П. Дыбан, В.С. Баранов, И.М. Акимова // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1970. – Т.59. – №10. – С.89–100.

202. Seegmiller, R.E. Assessment of gross fetal malformations: the modernized Wilson technique and skeletal staining / R.E. Seegmiller, N. Cook, K. Goodwin, T. Leishman // Methods Mol. Biol. – 2012. – Vol.889. – P.451–453.

203. Dawson, A.B. A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin red S / A.B. Dawson // Stain Technol. – 1926. – Vol.1. – P.123–124.

204. Jensh, R.P. Rapid schedules for KOH-clearing and alizarin red S staining of fetal rat bone / R.P. Jensh, R.L. Brent // Stain Technol. – 1966. – Vol.41. – P.179–185.

205. Chapter 13 Teratology // Current Protocols in Toxicology. – John Wiley & Sons, 2006. – 2900 p.

206. Бейли, Н. Статистические методы в биологии / Н. Бейли – М.: «Мир», 1963. – 271 с.

207. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладной программы STATISTICA. – М Медиа Сфера, 2002 – 312 с.

208. Буреш, Я. Материалы и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Дж.П. Хьюстон. – М., «Высшая школа», 1991.– 397 с.

209. Шевчук, М.К. Использование методики крестообразного лабиринта

для токсикологической оценки безопасности слабоалкогольных напитков / М.К. Шевчук, А.Н. Петров // Токсикологический вестник. – 2005. – №3. – С.25–28.

210. Sternheimer, R. A supravital cytodiagnostic stain for urinary sediments / R. Sternheimer // JAMA. – 1975. – Vol.231. – P.826–832.

211. Миронова, И.И. Атлас осадков мочи / И.И. Миронова. – М.: «Триада», 2007. – 171 с.

212. Лелевич, С.В. Центральные и периферические механизмы алкогольной и морфиновой интоксикации : монография / С.В. Лелевич; МЗ Респ. Беларусь, УО «Гродн. гос. мед. ун-т». – Гродно : ГрГМУ, 2015. – 248 с.

213. Савельева, Г.М. Плацентарная недостаточность / Г.М. Савельева [и др.]. – М.: «Медицина», 1991 – 270 с.

214. Глуховец, Б.И. Восходящее инфицирование фетоплацентарной системы / Б.И. Глуховец, Н.Г. Глуховец. – М.: «Медпресс-информ», 2006. – 239 с.

215. Глуховец, И.Б. Органо- и гистометрические показатели пуповины в норме и при патологии беременности: автореф дис....канд. мед. наук: 14.00.15 / Глуховец Илья Борисович. – М., 2009 – 138 с.

216. Иванова, Л.А. Разновидности массометрических соотношений алло-да и плаценте в исходе доношенной беременности / Л.А. Иванова, Н.Б. Белая // Мат. Всеросс. конф. «100-летие Российского общества патологоанатомов». – СПб., 2009. – С.136–137.

217. Глуховец, Б.И. Клиническое значение и методологические основы макроскопического исследования последа в родильном стационаре / Б.И. Глуховец, Л.А. Иванова // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2012. – Т.4, №40. – С.224–227.

218. Bnirschke, R. Pathology of the human placenta / R. Bnirschke, P. Kaufman. – London, Spr. – Ver. – 1990. – P.134–136.

219. Капитан, Т.В. Пропедевтика детских болезней с уходом за детьми / Т.В. Капитан. – 5-е изд., доп. – М.: МЕДпресс информ, 2009. – 656 с.

220. Мазурин, А.М. Пропедевтика детских болезней / А.М. Мазурин, И.М. Воронцов – СПб: ИКФ «Фолиант», 2006. – 928 с.

221. Румянцев, А.Г. Наблюдение за развитием и состоянием здоровья детей : рук. для врачей / А.Г. Румянцев, М.В. Тимакова, С.М. Чечельницкая. – М.: «Медпрактика-М», 2004 (ПИК ВИНИТИ). – 386 с.

-
222. Савченко, О.Н. Экспериментальное бесплодие / О.Н. Савченко, Н.А. Арутюнян, М.Г. Степанов. – СПб.: «Наука», 1992. – 152 с.
223. Зарубина, Е.Г. Роль кисспептина в нормализации эстрального цикла взрослых половозрелых самок крыс / Е.Г. Зарубина, А.Н. Лысова // Электронный научный журнал ISSN2070-7428. Раздел «Медицинские науки». – 2015. – №2 //www.scienceeducation.ru.
224. Изак, С.И. Физическое развитие и биоэнергетика мышечной деятельности школьников / С.И. Изак, Т.В. Панасюк, Р.В. Тамбовцева. – Москва–Орел: ОРАГС, 2005. – 224 с.
225. Hood, R.D. Handbook of developmental toxicology / R.D. Hood. – Wilson, 1997. – 209 p.
226. Peters, P. Method in prenatal toxicology / P. Peters. – Stuttgart: G. Tr. Publ, 1977. – 1537 p.
227. Себенцова, Е.А. Нейротропные эффекты семакса в неонатальном периоде и на фоне повреждения дофаминергической системы мозга: дис... канд. биол. наук: 03.00.13 / Себенцова Елена Андреевна. – М., 2005. – 161 с.
228. Самотруева, М.А. Влияние семакса на психоэмоциональное состояние крыс в условиях информационного воздействия / М.А. Самотруева, А.Л. Ясеняvsкая, А.А. Цибизова [и др.] // Здоровье и образование в XXI веке. – 2016. – Т.18. – №2 – С.705–708.
229. Ясеняvская, А.Л. Изучение психотропных эффектов семакса на различных моделях стресса / А.Л. Ясеняvская, В.Х. Мурталиева // Астраханский медицинский журнал. – 2017. – Т.12. – №1 – С.72–81.
230. Войтенков, В.Б. Влияние пептида дельта-сна на продолжительность жизни и развитие опухолей у мышей: дис... канд. мед. наук: 14.00.53 / Войтенков Владислав Борисович. – С.-Пб., 2009. – 151 с.
231. Рахманова, Э.И. Антистрессорные эффекты структурных аналогов дельта-сон индуцирующего пептида у крыс разного возраста: дис... канд. биол. наук: 03.00.04 / Рахманова Эльмина Икрамовна. – Махачкала, 2004. – 152 с
232. Packman, P.M. Morphine inhibition of ovulation: reversal by naloxone / P.M. Packman, J.A. Rothchild // Endocrinology. – 1976. – Vol.99, №1. – P.7–10.
233. Pang, C.N. Morphine inhibition of the preovulatory surges of plasma luteinizing hormone and follicle stimulating hormone in the rat / C.N. Pang, E. Zimmermann, C.H. Sawyer // Endocrinology. – 1977. – Vol.101, №6. – P.1726–

1732.

234. Daniell, H.W. Opioid endocrinopathy in women consuming prescribed sustained-action opioids for control of nonmalignant pain / H.W. Daniell // J. Pain. – 2008. – Vol.9. – P.28–36.
235. Colameco, S. Opioid-induced endocrinopathy / S. Colameco, J.S. Coren // J. Am. Osteopath. Assoc. – 2009. – Vol.9. – P.20–25.
236. Katz, N. The impact of opioids on the endocrine system / N. Katz, N.A. Mazer // Clinical J. Pain. – 2009. – Vol.25, №2. – P.170–175.
237. Marwa, A.A. Effects of opioid (Tramadol) treatment on testicular functions in adult male rats, the role of nitric oxide and oxidative stress. / A.A. Marwa, K. Adel, // Clin. Exper. Pharmacol. Physiology. – 2014. – Vol.41, №4. – P.317–323.
238. Ching, M Morphine suppresses the proestrus surge of GnRH in pituitary portal plasma of rats / Ching M // Endocrinology. – 1983. – Vol.112. – P.2209–2211.
239. Howlett, T.A. Endogenous opioid peptides and hypothalamo-pituitary function / T.A. Howlett, L.H. Rees // Ann. Rev. Physiol. – 1986. – Vol.48. – P.527–536.
240. Kaminski, T. The involvement of protein kinases in signalling of opioid agonist FK 33-824 in porcine granulosa cells / T. Kaminski // An. Reproduct. Sci. – 2006. – Vol.91, №1, – P.107–122.