

Утверждаю
ГОУ ВПО НижГМА Росздрава
Ректор НГМА

Член-корреспондент Шкарин В.В.

Отчет

о научно-исследовательской работе

**ВЛИЯНИЕ СКЭНАР-ТЕРАПИИ НА ПРОТЕКАНИЕ
БЕРЕМЕННОСТИ САМОК БЕЛЫХ
БЕСПОРОДНЫХ КРЫС**

договор № 17/12/04/02
от 17.12.2004

Исполнители

Щербатю Т.Г. - Зав.кафедрой биологии, д.б.н

Под эмбриотоксическими свойствами понимают способность того или иного вещества (влияния) оказывать токсическое действие на развивающиеся зародыши. Эмбриотоксичность может проявляться как в повышении уровня эмбриональной смертности, так и в виде анатомических, гистологических, цитологических, биохимических, нейрофизиологических отклонений от нормы, проявляющихся до или после рождения (тератогенное действие). Кроме того, эмбриотоксичность может проявляться в изменении массы тела, краниокаудального размера плодов, задержке, оссификации скелета, увеличении перинатальной смертности.

Цель работы

Изучить эмбриотоксическое и тератогенное действие короткоимпульсных низкочастотных электрических сигналов (СКЭНАР) различной интенсивности в антенатальном периоде развития подопытных животных.

Задачи исследования

1. По показателям предимплантационной и постимплантационной смертности дать оценку протекания беременности экспериментальных животных на разных сроках (10 и 20 дней) под влиянием СКЭНАР-воздействия.
2. Сравнить действие различных по частотности электрических импульсов (оптимальное и стресс влияние СКЭНАР-воздействия) на протекание беременности крыс по комплексным морфометрическим показателям.

Объект исследования

Лабораторные животные - самки белых беспородных крыс (72 животных), весом 250-300г.

Материалы и методы исследования

Работа проведена на базе кафедры биологии НГМА в сроки с 27.06.05 по 15.08.05.

Исследования проводились согласно указаниям по изучению репродуктивной токсичности фармакологических веществ (Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, М.: Ремедиум. 2000)

Лабораторные животные были разделены на 6 групп по 12 крыс в каждой группе. Группы формировались с учетом определенных сроков беременности и величиной воздействия прибором СКЭНАР, а именно: в 1, 2, 3 группах животных беременность составила 20 дней (предродовая ситуация), в 4, 5, 6 группах - 10 дней (середина срока беременности). Группы 1 и 4 составили контрольные животные, не подвергавшиеся СКЭНАР-воздействию, группы 2 и 5 получали 15-минутное воздействие СКЭНАРом с оптимальной частотой (40 имп. в пачке при постоянном режиме) ежедневно на протяжении 20 и 10 дней соответственно, группы 3 и 6 получали 15-минутное воздействие СКЭНАРом со стрессовой частотой (удвоенная оптимальная частота - 80 имп. в пачке при постоянном режиме) также ежедневно на протяжении 20 и 10 дней соответственно.

Самок подсаживали к самцам в соотношении 3:1, сроком на 2 эстральных цикла. Беременность фиксировали с помощью метода вагинальных мазков. День обнаружения в мазке сперматозоидов принимали за 1-й день беременности. Животные на протяжении всего эксперимента содержались в стандартных условиях вивария.

Воздействие производилось системно, для чего использовалась специально сконструированная клетка, пол которой состоял из металлических электродов, к которым подключался через внешний выход прибор СКЭНАР (модель «СКЭНАР 97.4+», пр-во: ОКБ «Ритм». г. Таганрог). Контрольные животные также выдерживались в клетке с экспозицией в 15 минут, но с выключенным прибором.

Эвтаназию самок осуществляли путем декапитации под эфирным наркозом. Вскрывали брюшную полость, вырезали матку, переносили в чашку Петри с физиологическим раствором. Вскрывали рога матки, подсчитывали количество живых, мертвых, резорбированных плодов, обследовали слизистую матки, отмечая места имплантации. Вынимали плоды, освобождая от оболочек. В яичниках подсчитывали количество желтых тел беременности.

Далее производился наружный осмотр и взвешивание плодов. Все живые плоды каждого помета обследовали под бинокулярным микроскопом типа МБС для обнаружения внешних видимых аномалий развития. После этого плоды взвешивали, отмечали состояние каждого плода и описывали аномалии, указывая массу каждого плода и суммарную массу плодов помета.

После наружного осмотра плодов, регистрации аномалий и взвешивания плоды каждого помета делились на 2 группы. Одну группу плодов (около 1/3) фиксировали в жидкости Буэна и использовали для изучения внутренних органов (методика Вильсона). Остальные плоды фиксировали в 96% этаноле и использовали для изучения состояния скелета (методика Доусона).

Показатели эмбриотоксичности: 1) пред- и постимплантационная смертность. 2) морфологические пороки развития, а также 3) общая задержка развития плодов.

Предимплантационная смертность определяли по разности между количеством желтых тел в яичниках и количеством мест имплантаций в матке; постимплантационную смертность по разности между количеством мест имплантаций и количеством живых плодов. Кроме этого, подсчитывалась общая эмбриональная смертность. Использовались следующие формулы:

$$ПРС - ЖТ - (\text{Э} + МИ) / ЖТ - 100\%,$$

$$ПОС - МИ / ЖТ - 100\%,$$

$$ОЭС - ПРС + ПОС,$$

где:

ПРС - предимплантационная смертность,

ПОС - постимплантационная смертность,

ОЭС - общая эмбриональная смертность,

МИ - число мест имплантации,

ЖТ - число желтых тел в яичниках,

Э - число живых эмбрионов

При статистической обработке за единицу наблюдения принимали помет, т.е. результаты, полученные при вскрытии одной самки.

Полученные данные были обработаны на IBM PC/ AT с помощью пакетов прикладных программ Statistica v.6.0 (Windows XP) и Microsoft Excel (Office XP) постимплантационную смертность с использованием методов одномерной статистики.

Результаты представлялись в виде $M \pm t$, где M - среднее арифметическое, m - стандартное отклонение. Достоверность различий средних определяли по t - критерию Стьюдента. Две выборки считались принадлежащими к разным генеральным совокупностям при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Во всех исследованных группах на десятый и двадцатый день беременности не было выявлено отставания развития эмбрионов относительно сроков беременности, что выражалось в следующем: плодные оболочки были правильно сформированы, амниотическая жидкость прозрачна, плацента полнокровна, без признаков склероза. При рассечении плодных оболочек и пересечении пуповины дыхание плодов становилось

самостоятельным, кожные покровы были розового цвета. Поверхность кожи имела морщинистый, крупноскладчатый вид, спина была выпрямлена, рот, глаза и уши закрыты. Морфологическое исследование эмбрионов, фиксированных в 96% этаноле и жидкости Буэна, не выявило каких-либо отклонений в строении скелета и локализации внутренних органов в опытных группах по сравнению с контрольными.

Массы плодов (1 плод) опытных групп не различались между собой и не отличались от контрольных групп и составляли в среднем $3.2 \pm 1,2$ г на 10 дней беременности и $5,5 \pm 2,1$ г на 20й день. Не отличалось достоверно и среднее количество эмбрионов на одну беременную самку, оно составило в первом случае $11,8 \pm 2,2$. во втором $12,3 \pm 1,9$.

Количество мертвых плодов было единичным и определялось равномерно по группам (в среднем $2 \pm 0,9$). В трех случаях (группы 1,3,5) наблюдалось заполнение плодами только одного рога матки. При визуальном осмотре плодов пороков развития выявлено не было. Также в единичных случаях, не имеющих статистической значимости по распределению во всех 6 группах, обнаруживались мертвые плоды (3 эмбриона на 72 животных).

Показатели ОЭС, ПРС и ПОС представлены в таблице 1, из которой хорошо видно, что статистически достоверных различий между группами на 2 сроках беременности по измеряемым величинам не наблюдается ($p > 0,05$).

Таблица 1

Основные морфометрические показатели (2 срока беременности) белых нелинейных крыс; при различных интенсивностях СКЭНАР-воздействия ($M \pm t$).

Группы животных	ОЭС. %		ПРС. %		ПОС, %	
	10 дней	20 дней	10 дней	20 дней	10 дней	20 дней
Контроль (n=12)	$13 \pm 1,7$	$15 \pm 2,4$	$10 \pm 0,8$	$11 \pm 1,9$	$3 \pm 1,1$	$4 \pm 0,5$
СКЭНАР оптима (n=12)	$14 \pm 2,0$	$13 \pm 1,8$	$13 \pm 0,5$	$11 \pm 1,1$	$2 \pm 1,6$	$2 \pm 0,8$
СКЭНАР стресс (n=12)	$15 \pm 2,2$	$13 \pm 2,7$	$12 \pm 1,3$	$10 \pm 1,8$	$3 \pm 0,7$	$3 \pm 0,7$

Примечания: • - $p < 0,05$ по t- критерию Стьюдента по отношению к группе контроля

Исходя из полученных результатов, можно сделать следующие **выводы**:

1. Регулярное систематическое СКЭНАР - воздействие не оказывает влияние на протекание беременности самок белых беспородных крыс в эксперименте на протяжении всего срока беременности.
2. Оптимальное и стрессовое влияние коротко импульсных низкочастотных электрических сигналов (СКЭНАР) приводят к одинаковым эффектам, не отличающимся по данным от контрольных групп подопытных животных.