

**РАЗВИТИЕ ПОТОМСТВА, НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ В
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ**

¹Белякова Н.А., ²Бонитенко Е.Ю., ¹Носов А.В.

*²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства»*

192019, г. Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, д.1

телефон/факс: (812) 365-06-80

e-mail: institute@toxicology.ru

*¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт медицины труда им. академика Н.Ф. Измерова»
105275, Москва, пр. Буденного, д. 31*

Резюме

Целью исследования являлась апробация нового подхода оценки физического и сенсорно-двигательного развития потомства самок крыс, получавших морфин гидрохлорид (МГХ) в течении 3-х месяцев до беременности на различных этапах онтогенеза, начиная с препубертатного. У родившегося потомства исследовали параметры физического и сенсорно-двигательного развития в динамике. Предложены индексы, 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 признаков развития потомства другим.

Ключевые слова: морфин, физическое развитие потомства, сенсорно-двигательное развитие потомства, постнатальное развитие, репродуктивная функция самок, индекс физического развития, индекс сенсорно-двигательного развития, индекс гармоничности развития.

**PHYSICAL AND SENSORY-MOTOR DEVELOPMENT OFFSPRING, NEW
APPROACHES ASSESSMENT IN EXPERIMENTAL BIOLOGY AND MEDICINE**

¹Belyakova N.A., ²Bonitenko E.U., ¹Nosov A.V.

¹*FGBUN IT FMBA Federal State Budgetary Institution of Science «Institute of toxicology of
the Federal medical-biological agency»*

192019, g. Sankt-Peterburg, ul. Behtereva, d.1, telefon/faks: (812) 365-06-80.

²*FGBNU NII MT FMBA Federal State Budgetary Science Institution «Scientific institute of
occupational medicine named after academician N.F. Izmerova»*

105275, Moskva, pr. Budennogo, d. 31

Summary

The purpose of the study was to test a new approach to assessing the physical and sensory-motor development of the offspring of female rats receiving morphine hydrochloride (MHC) for 3 months before pregnancy at various stages of ontogenesis, starting with prepubescent. The parameters of physical and sensory-motor development in dynamics were studied in the born offspring. Indices are proposed that allow not only to quantify changes in body weight, the degree of physical and sensory-motor development in the experimental groups in comparison with the control groups and among themselves, but also to determine the correspondence of some signs of offspring development to others.

Keyword: morphine, physical development offspring, sensory-motor development offspring, postnatal development, reproductive function of female, index of physical development, index of sensory-motor development, index of harmony of development.

Введение

В настоящее время при изучении воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды на организм при проведении токсикологических, радиобиологических и других медико-биологических исследований большое внимание уделяется их влиянию, как на репродуктивную функцию родительских особей, так и на антенатальное развитие плодов и постнатальное развитие потомства [1, 2, 3, 4]. Обращает на себя внимание, что если оценка репродуктивной функции родительских особей и антенатального развития плодов, как правило, сложностей не вызывает, то описание постнатального развития потомства сопряжено с определенными сложностями. И в первую очередь это связано с тем, что отсутствуют подходы, как дифференциальной оценке изучаемых показателей, так и подходов к сравнению в группах с различными контролями.

В качестве тест объекта при изучении развития потомства, как правило, используются мелкие лабораторные животные, и чаще всего крысы. Выбор биообъекта в качестве тест системы обусловлен сходством, как репродуктивной системы крыс и человека в целом, так и процессов развития плодов в антенатальном, и потомства в постнатальном периоде. Оценка потомства включает в себя два основных компонента – физическое развитие (ФР) и скорость созревания сенсорно-двигательных рефлексов (сенсорно-двигательное развитие: СДР) [1, 2].

Определения физического и сенсорно-двигательного развития потомства животных в постнатальном периоде в доступной литературе нам найти не удалось. Однако учитывая то обстоятельство, что развитие потомства животных происходит по аналогии с человеком, то в данном случае могут быть использованы определения принятые в педиатрии. Следует отметить, что аналогом нервно-психического развития ребенка для животных будет созревание сенсорно-двигательных рефлексов, в связи с более низкой организацией последних [5].

Физическое развитие ребенка представляет собой последовательный процесс роста, обусловленный увеличением массы тела, длины, развитием отдельных частей тела и биологического созревания ребенка соответственно его возрастному периоду. В свою очередь под нервно-психическим (психомоторным) развитием – понимается совершенствование интеллектуальных и двигательных умений ребенка, отражающее его взаимодействие с внешней средой. Указанные выше показатели характеризуют физическую зрелость организма и нервной системы, а также «нормальность» развития ребенка в целом, определяемую сравнением с должнствующими данными [6].

При оценке развития детей в педиатрии широко используются показатели свидетельствующие об отставании или опережении конкретного ребенка по темпам развития от должнствующего [7, 8], в то время как в экспериментальной биологии и медицине

подобный подход в настоящее время не используется, в связи, с чем нами была предпринята попытка актуализировать его применительно к экспериментальным исследованиям.

В связи с выше сказанным целью настоящего исследования являлось апробация нового подхода оценки физического и сенсорно-двигательного развития потомства на примере хронического воздействия морфина гидрохлорида на материнские особи, получавшие ксенобиотик до беременности на различных этапах онтогенеза.

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на потомстве белых нелинейных самок крыс, которым морфин гидрохлорид (МГХ) вводился в течении 3-х месяцев в десятикратной эквивалентной терапевтической дозе начиная с месячного, 2-х и 3-х месячного возраста, средней массой 50, 140 и 210 г соответственно. 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 33215-2014 на стандартном водном и пищевом рационе в отдельном помещении. Исследования на животных проводились в соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики [9]. За 2 часа до опытов кормление животных, находившихся на свободном водном режиме, прекращали.

Исследование было выполнено в 3-и этапа. На первом этапе были определены показатели острой токсичности МГХ при однократном внутрижелудочном введении белым нелинейным крысам самкам для расчета доз вводимых различным возрастным группам. Расчет параметров острой токсичности производился методом наименьших квадратов пробит-анализа кривых летальности по Финни [10, 11]. Широту терапевтического действия МГХ характеризовали значением его терапевтического индекса (ТИ), который рассчитывали как соотношение ЛД₅₀ и эквивалентной терапевтической дозы (ЭТД) при внутрижелудочном введении крысам [12]. Расчет величин тестируемых доз производился с учетом коэффициентов пересчета (КП) для разных возрастных групп (таблице 1) [2].

Таблица 1

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

На втором этапе из животных были сформированы шесть групп:

1. Контроль месячные.
2. Опытная, получавшая с месячного возраста в течение 3-х месяцев внутриматочечно МГХ в дозе 60 мг/кг.
3. Контроль 2-х месячные
4. Опытная, получавшая с 2-х месячного возраста в течение 3-х месяцев внутриматочечно МГХ в дозе 72 мг/кг.
5. Контроль 3-х месячные
6. Опытная, получавшая с 3-х месячного возраста в течение 3-х месяцев внутриматочечно МГХ в дозе 50 мг/кг.

После окончания введения МГХ к самкам на период в два эстральных цикла подсаживали интактных самцов в соотношении 1 : 3 (один самец на три самки). Наличие сперматозоидов на следующий день в вагинальном мазке считалось первым днем беременности. На всем протяжении беременности до родов (21–23 день) наблюдали за физическим состоянием самок и контролировали вес тела.

На третьем этапе у родившегося потомства исследовались параметры физического (ФР) и сенсорно-двигательного развития (СДР) в динамике. Изучались следующие параметры ФР потомства: пол, динамика массы тела, отлипание ушной раковины, появление первичного волосяного покрова, прорезывание резцов, открытие глаз, опускание семенников, открытие влагалища. При изучении СДР в периоде раннего молочного вскармливания исследовались сроки появления безусловных и формирования условных рефлексов у потомства: переворачивание на плоскости, отрицательный геотаксис, избегание обрыва, «Открытое поле –1» (поднимание головы и передних лап; ползание; опору на задние конечности и подъем всего тела; двигательную активность (число пересеченных квадратов, умыкания различного рода, обнюхивания, стойки, карабкање на стенки, прыжки, время отсутствия активности, возможные аномалии походки), избегание обрыва вызванное визуальным стимулом.

Статистическая обработка результатов производилась с использованием пакета программа Statistica 6,0 для Windows. Расчет средних величин регистрируемых показателей проводился общепринятыми статистическими методами. Различия считали достоверными, если Р составлял 95 и более процентов ($p < 0,05–0,01$) [13, 14].

Результаты исследований

При изучении динамики массы тела было установлено, что у всего потомства самок получавших МГХ до беременности наблюдалось достоверное ($p < 0,05$) снижение массы тела по сравнению с контролем (таблица 2). Однако, если достоверное снижение массы тела

потомства крыс, получавших МГХ с месячного возраста, наблюдалось в течении 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 ксенобиотики с 2-х месячного возраста, отставание в наборе веса 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.

Таблица 2

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 ± 0,15	16,00 ± 0,18	31,63 ± 0,13	49,00 ± 0,26
2.	Потомство самок, получавших МГХ с месячного возраста в дозе 60 мг/кг/сутки	8,88 ± 0,15*	14,50 ± 0,22*	24,38 ± 0,29*	39,50 ± 1,06*
3.	Контроль 2-х месячные	9,25 ± 0,19	14,88 ± 1,09	27,00 ± 1,69	38,06 ± 2,55
4.	Потомство самок, получавших МГХ с 2-х месячного возраста в дозе 72 мг/кг/сутки	6,57 ± 0,20*	9,10 ± 0,35*	19,71 ± 0,10*	41,86 ± 0,33
5.	Контроль 3-х месячные	10,08 ± 0,41	16,75 ± 0,14	30,54 ± 0,29	50,25 ± 0,47
6.	Потомство самок, получавших МГХ с 3-х месячного возраста в дозе 50 мг/кг/сутки	8,50 ± 0,18*	15,88 ± 0,24*	31,00 ± 0,29	49,94 ± 0,67
Примечание: * – отличие от контроля достоверно, при $p < 0,05$					

Для оценки степени изменения массы тела в опытных групп 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 ... –9,3% в течение всего периода наблюдения. В то время как в группе материнские особи, которой получали МГХ с 2-

х месячного возраста у потомства в первые 14 дней дефицит составлял $-38,8 \dots -27,0\%$, а на 21-й день наблюдался уже избыток массы равный $8,6\%$ (рисунок 1). Наименее выраженными изменения были у потомства, рожденного от самок, получавших МГХ с 3-х месячного возраста, у них дефицит массы тела наблюдался только в течение первой недели жизни, и в эти сроки не превышал $-15,7\%$, а на 7-й день $-5,2\%$.



Рисунок 1 – Влияние 3-х месячного введения МГХ материнским особям на динамику массы тела их потомства в постнатальном периоде развития

При изучении ФР было установлено, что у потомства, родившегося от самок, получавших МГХ в 10,0 ЭТД с месячного возраста, задержка развития была наиболее выраженной ($p < 0,05$). О чем свидетельствовало отставание в сроках появления всех шести из изучавшихся нами признаков (таблица 3). В свою очередь у потомства, родившегося от самок получавших ксенобиотики с 2-х месячного возраста, задержка физического развития была существенной ($p < 0,05$), однако менее выраженной, а значимыми были отличия пяти признаков из шести. В то время как у потомства самок, получавших МГХ с половозрелого возраста, достоверными ($p < 0,05$) 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 показатель – среднее отставание/опережение сроков физического развития (Со/оСФР) выраженное в сутках, которое рассчитывалось по общей формуле (2):

Таблица 3

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 детенышей 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

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	14,75 ± 0,77
		отставание ФР, сутки	—	3,05	—	2,00	—	1,33
Со/оСФР ₁ , сутки				1,83		1,27		0,88
ИФР ₁ , %				14,0		9,63		6,54
5.	Опускание семенников	сутки	24,89 ± 0,27	29,67 ± 0,50*	25,38 ± 0,34	26,84 ± 0,32*	25,68 ± 0,19	26,50 ± 0,32*
		отставание ФР, сутки	—	4,78	—	1,46	—	0,82
6.	Открытие влагалища	сутки	36,26 ± 0,29	40,10 ± 0,42*	36,75 ± 0,52	40,81 ± 0,75*	36,38 ± 0,44	39,44 ± 0,32*
		отставание ФР, сутки	—	3,84	—	4,06	—	3,06
Со/оСФР ₂ , сутки			—	4,31	—	2,76	—	1,96
ИФР ₂ , %				11,9		7,5		5,4
Примечание: ¹ – номер признака (n) по порядку для расчета Со/оСФР в соответствии с формулой 2; * – отличие от контроля достоверно, при p < 0,05								

$$Co/oCФР = \frac{\sum (F_{n1} - F_{n1к}) + \dots (F_{nx} - F_{nxк})}{N_x} \quad (2)$$

где F_n – среднее сроки появления признака n в опытной группе (в соответствии с таблицей 3) в сутках; $F_{нк}$ – среднее сроки появления признака n в контрольной группе в сутках; N_x – количество изучавшихся признаков.

Среднее отставание/опережение сроков физического развития было рассчитано для двух периодов. $Co/oCФР_1$ для периода раннего молочного вскармливания (признаки 1–4 таблицы 3) и $Co/oCФР_2$ для периода появления первичных половых признаков (признаки 5, 6 таблицы 3).

На основании $Co/oCФР$ были рассчитаны индексы физического развития для периода раннего молочного вскармливания ($ИФР_1$) и появления первичных половых признаков ($ИФР_2$) в процентах по формуле (3):

$$ИФР_{1,2} = \frac{Co/oCФР_{1,2}}{P_{1,2}} \times 100\% \quad (3)$$

где P_1 – сроки регистрации открытия глаз в контрольной группе для расчета $ИФР_1$, %; P_2 – сроки открытия влагалища в контрольной группе для расчета $ИФР_2$, %.

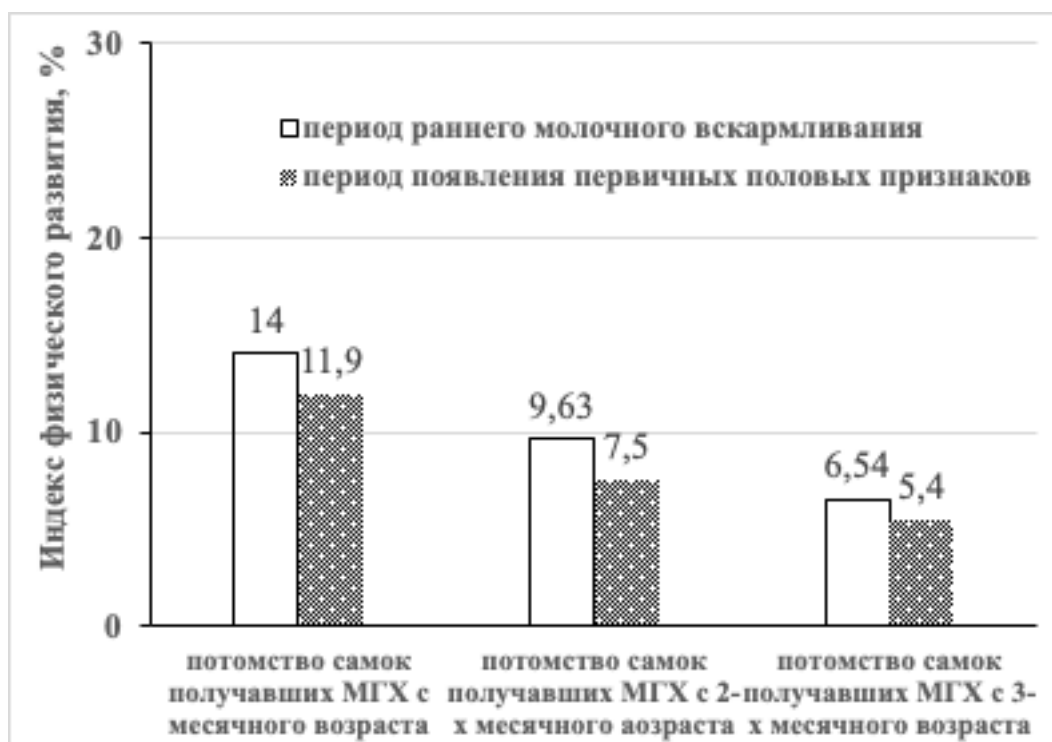


Рисунок 2 – Влияние 3-х месячного введения МГХ материнским особям на динамику ИФР потомства в постнатальном периоде

На рисунке 2, представлены ИФР потомства, материнские особи которого получали МГХ в различные периоды онтогенеза до беременности.

Как видно из представленных данных у потомства самок, получавших ксенобиотик с 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 самыми низкими. В свою очередь в группе получавшей МГХ с 2-х месячного возраста они занимали промежуточное положение. Что позволяет расположить потомство крыс, по степени увеличения задержки физического развития в зависимости от сроков начала введения ксенобиотика в следующей последовательности: получавшие МГХ с 3-х месячного, 2-х месячного, месячного возраста.

При изучении влияние МГХ на скорость созревания сенсорно-двигательных рефлексов у потомства белых нелинейных крыс в постнатальном периоде было установлено, что наиболее выраженное отставание в развитии сенсорно-двигательных рефлексов наблюдалось у потомства, рожденного от самок, получавших МГХ с месячного возраста (таблица 4). Причем обращало на себя внимание, что для всех рефлексов сроки формирования были достоверно больше, чем в контроля ($p < 0,05$). 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 достоверно ($p < 0,05$) больше, чем в контрольной группе.

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

С целью сравнения отставания в СДР потомства крыс, получавших МГХ в различные периоды онтогенеза, нами было рассчитано среднее отставание/опережение сроков сенсорно-двигательного развития ($Co/oCCDP$) выраженное в сутках, по формуле (3):

$$Co/oCCDP = \frac{\sum (S_{n1} - S_{n1k}) + \dots (S_{nx} - S_{nxk})}{N_x} \quad (3)$$

где S_n – среднее сроки появления признака n в опытной группе (в соответствии с таблицей 4) в сутках; S_{nk} – среднее сроки появления признака n в контрольной группе в сутках; N_x – количество изучавшихся признаков.

Таблица 4

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

№ ¹ п/п	Показатели		Группы животных					
			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 ± 0,18	6,09 ± 0,61*	4,38 ± 0,15	5,78 ± 0,28*	4,94 ± 0,20	5,65 ± 0,29*
		отставание в СДР, сутки	–	1,71	–	1,40	–	0,71
2.	Отрицательный геотаксис	сутки	6,24 ± 0,23	8,87 ± 0,60*	6,86 ± 0,30	8,70 ± 0,63*	6,48 ± 0,25	8,35 ± 0,44*
			–	2,63	–	1,84	–	1,87
3.	Избегание обрыва	сутки	7,38 ± 0,29	10,17 ± 0,96*	7,05 ± 0,30	9,26 ± 0,99*	7,24 ± 0,24	8,43 ± 0,38*
		отставание в СДР, сутки	–	2,79	–	2,21	–	1,19
4.	Поднимание головы и передних лап	сутки	8,43 ± 0,22	10,43 ± 0,81*	8,29 ± 0,10	10,00 ± 0,63*	8,76 ± 0,14	9,00 ± 0,32
		отставание в СДР, сутки	–	2,00	–	1,71	–	0,24
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

продолжение таблицы 4

1	2		3	4	5	6	7	8
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 обрыва, 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/оСДР, сутки			–	2,40	–	1,71	–	0,67
ИСДР, %			–	16,05	–	11,67	–	4,60
Примечание: ¹ – номер признака (n) по порядку для расчета Со/оСДР в соответствии с формулой 4; * – отличие от контроля достоверно, при p < 0,05								

После чего на основании Со/оССР были рассчитаны индексы сенсорно-двигательного развития (ИСДР) в процентах по формуле (4):

$$\text{ИСДР} = \frac{\text{Со/оССР}}{P} \times 100\% \quad (4)$$

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

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

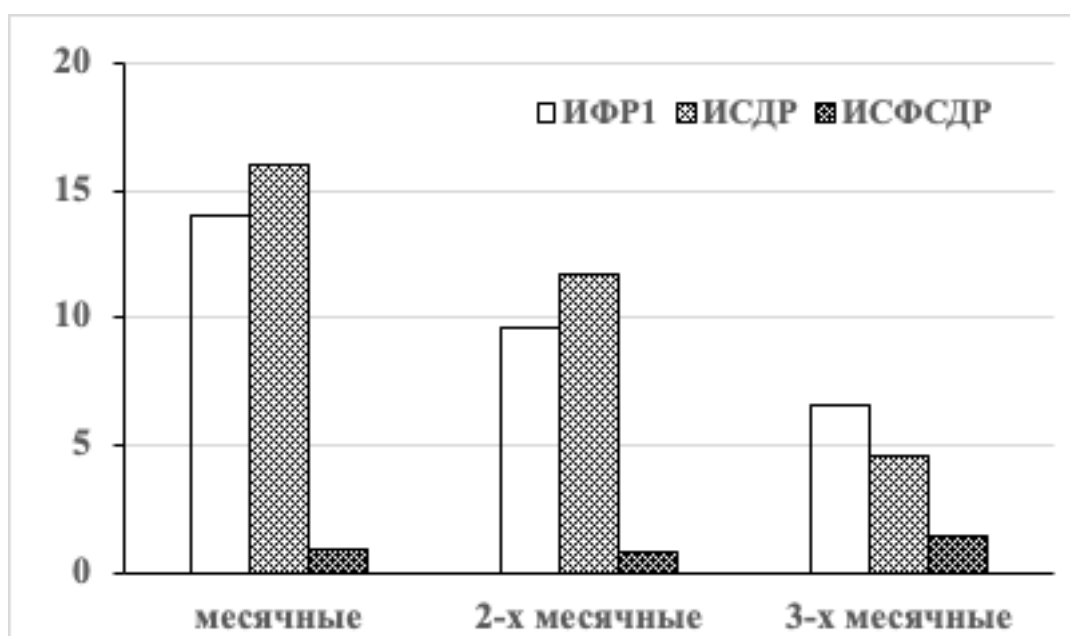


Рисунок 3 – Индексы развития потомства рожденного от крыс, получавших до зачатия в течение 3-х месяцев МГХ в различные периоды онтогенеза

В свою очередь для сравнения соответствия темпов физического и сенсорно-двигательного развития на основании ИФР₁ и ИСДР нами были рассчитаны индексы соответствия физического развития сенсорно-двигательному (индекс гармоничности развития: ИСФСДР) в периоде раннего молочного вскармливания по формуле (5):

$$\text{ИСФСДР} = \frac{\text{ИФР}_1}{\text{ИСДР}} \quad (5)$$

Таблица 5

Влияние МГХ на показатели двигательной активности в тесте «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 достоверно, при $p < 0,05$							

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 ФР при относительной сохранности динамики СДР (рисунок 3).

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 5). Обращало на себя внимание, что указанные выше изменения были наиболее выраженными 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.

Обсуждение результатов

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

В свою очередь отставание в физическом развитии в постнатальном периоде сочеталось с задержкой созревания сенсорно-двигательных рефлексов. Полученные данные свидетельствовали о том, что физическое и сенсорно-двигательное развитие потомство находится в обратной зависимости от возраста начала приема МГХ материнскими особями.

Рассчитанные нами 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 пропорционально от контроля. 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. 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 передвижений и заглядываний.

Кроме того, в рамках настоящего исследования нами была экспериментально апробирована система комплексной оценки физического и сенсорно-двигательного развития потомства в постнатальном периоде, основанная на принятой в настоящее время в неонатологии системы оценки развития детей первого года жизни и адаптированная под исследования на мелких лабораторных животных.

При изучении развития ребенка в качестве отправной точки для оценки используются средние показатели нормы для популяции. Однако подобное сравнение, как правило, не позволяет определить влияние конкретного фактора на изменение соответствующих показателей развития. 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 насчитывает десять плодов и более, возникают предпосылки объективизации указанных показателей с помощью статистических методов математического анализа, что позволяет наполнить указанные выше термины новым содержанием. На основании выше сказанного нами были разработаны индексы, позволяющие не только давать количественную оценку изменениям массы тела, степени физического и сенсорно-двигательного развития в опытных групп по сравнению с контрольными и между собой, но и определять соответствие одних видов развития потомства другим при воздействии различных факторов т.е. говорить о гармоничности развития в целом. Кроме того подобный подход может быть использован для экстраполяции полученных результатов с животных на человека.

Заключение

На примере хронического воздействия морфина гидрохлорида на материнские особи, получавшие ксенобиотик до беременности на различных этапах онтогенеза нами был апробирован новый подход к комплексной оценке физического и сенсорно-двигательного развития потомства в постнатальном периоде.

Были разработаны индексы, 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 видов развития потомства другим.

Отличительной особенностью предложенного подхода является его универсальность, позволяющая не только получить конкретные числовые значения задержки различных видов развития потомства в постнатальном периоде для их дальнейшего сравнения. Кроме того предложенный подход позволяет проводить количественную оценку всех видов развития потомства если количество изучаемых признаков больше одного.

Список литературы

1. Гуськова, Т.А. Основные проблемы безопасности лекарственных средств / Т.А. Гуськова // Фарматека. – 2006. – №5. – С.151–156.
2. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1 – М., 2012. – 944 с.
3. Amann, R.P. Use of animal models for detecting specific alterations in reproduction / R.P. Amann // Fundam. Appl. Toxicol. – 1982. – Vol.2, №4 – P.13–16.
4. Vorhees, C.V. Methods for detecting long-term CNS dysfunction after prenatal exposure to neurotoxins / C.V. Vorhees // Drug Chem. Toxicol. – 1997. – Vol. 20, № 4. – P.387–399.
5. Дыбан, А.П. Раннее развитие млекопитающих / А.П. Дыбан. – Л.: «Наука», 1988. – 228 с.
6. Васильева, Е.И. Физическое и психомоторное развитие детей / Е.И. Васильева. – ГБОУ ВПО ИГМУ МЗСР РФ. – Иркутск: ИГМУ, 2012. – 44 с.
7. Мазурин, А.М. Пропедевтика детских болезней / А.М. Мазурин, И.М. Воронцов – СПб: ИКФ «Фолиант», 2006. – 928 с.
8. 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 ВИНТИ). – 386 с.
9. 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.
10. Finney, D.J. Probit Analysis / 2-ed ed D.J. Finney. – New York: Cambridge University Press, 1952. – 256 p.
11. 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.
12. Гуськова, Т.А. Токсикология лекарственных средств / Т.А. Гуськова. – М.: «Русский врач», 2003. – С.99–116.
13. Бейли, Н. Статистические методы в биологии / Н. Бейли – М.: «Мир», 1963. – 271 с.
14. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладной программы STATISTICA. – М Медиа Сфера, 2002 – 312 с.