

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ МОРФИНА ГИДРОХЛОРИДА И ПОСЛЕДУЮЩЕГО ВВЕДЕНИЯ НЕЙРОПЕПТИДОВ МАТЕРИНСКИМ ОСОБЯМ ДО БЕРЕМЕННОСТИ НА РАЗВИТИЕ ПОТОМСТВА В ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

¹Белякова Н.А., ²Бонитенко Е.Ю., ¹Носов А.В., ³Лисицкий Д.С., ¹Горбунова Л.В.

*¹Федеральное 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

*²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт медицины труда им. академика Н.Ф. Измерова»*

105275, Москва, пр. Буденного, д. 31

*³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический
университет»*

197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.14

Резюме

Целью исследования являлась оценка влияния морфина гидрохлорида и последующего применения дельта-сон индуцирующего пептида (ДСИП) или аналога фрагмента 4–10 адренотропного гормона (4–10АКТГ) материнским особям до беременности на развитие потомства в постнатальном периоде.

Исследование выполнялось в два этапа. На первом самкам крыс с месячного возраста в течение 3-х месяцев внутривенно вводился морфин гидрохлорид, затем в течение 2 недель пептидный препарат, после чего они спаривались с интактными самцами. На втором этапе у родившегося потомства исследовали параметры физического и сенсорно-двигательного развития по стандартным методикам, а также изучали поведенческие реакции в тесте «крестообразный лабиринт». Для комплексной оценки развития потомства в постнатальном периоде были использованы индексы физического и сенсорно-двигательного развития, а также рассчитан индекс гармоничности развития.

Было установлено, что ДСИП и 4–10АКТГ способны в значительной степени устранять нарушения физического и сенсорно-двигательного развития у потомства, материнские особи которого до беременности длительно получали МГХ. Это свидетельствует о том, что изучавшиеся пептидные препараты способны оказывать регулирующее влияние не только на

нарушения гипоталамо–гипофизарно–гонадной оси материнских особей, вызванные длительным приемом морфина гидрохлорида, но и на гипоталамо–гипофизарную систему их потомства в постнатальном периоде развития. Данный факт, в свою очередь, позволяет отнести препараты содержащие ДСИП или аналог фрагмента 4–10АКТГ к средствам этиопатогенетической терапии нарушений репродуктивной функции, вызванных применением наркотических анальгетиков.

Ключевые слова: морфин гидрохлорид, нейропептиды, фрагмент 4–10 адренокортикотропного гормона, семакс®, дельта-сон индуцирующий пептид, дельтаферокс®, физическое развитие потомства, сенсорно-двигательное развитие потомства, постнатальное развитие, репродуктивная функция самок, индекс физического развития, индекс сенсорно-двигательного развития, индекс гармоничности развития.

**EFFECT OF LONG-TERM USE OF MORPHINE HYDROCHLORIDE AND
SUBSEQUENT ADMINISTRATION OF NEUROPEPTIDES TO MATERNAL
INDIVIDUALS BEFORE PREGNANCY ON THE OFFSPRING DEVELOPMENT
IN THE POSTNATAL PERIOD**

¹Belyakova N.A., ²Bonitenko E.U., ¹Nosov A.V., ³Lisitsky D.S., ¹Gorbunova L.V.

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

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

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

105275, Moskva, pr. Budennogo, d.31

*³FSBEI HE StPSCPU Federal State Budgetary Educational Institution of Hight Education «Sant-
Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University»*

197022, Sankt-Peterburg, ul. Prof. Popova, d.14

Summary

The study purpose was the assessment the of morphine hydrochloride (MHC) and the subsequent use of delta-sleep inducing peptide (DSIP) and an analog of fragment 4-10 of adrenocorticotrophic hormone (4–10ACTH) effects in maternal individuals before pregnancy on the offspring development in the postnatal period.

The study was realised in two stages. At the first stage, female rats from the age of one month were intragastrically inputed with morphine hydrochloride for 3 months, followed by peptide preparations for 2 weeks, after which they mated with intact males. At the second stage, the the born offspring parameters of physical and sensory-motor development were studied in according to standard methods, as well as behavioral reactions were studied in the "cross-shaped maze" test. For a comprehensive assessment of the offspring development in the postnatal period, the indices of physical and sensory-motor development were used, and the index of harmony of development was calculated.

It was found that DSIP and 4-10ACTH are able to a large extent eliminate violations of physical and sensory-motor development in offspring whose maternal individuals received MHC for a long time before pregnancy. This indicates that the investigated peptide preparations can have a regulatory effect not only on the disorders of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis of maternal individuals

caused by prolonged use of MCH, but also on the hypothalamic–pituitary system of their offspring in the postnatal period of development. This fact allows us to attribute medicines containing DSIP and an analog of the fragment 4-10ACTH to the means of etiopathogenetic therapy of reproductive disorders caused by the use of narcotic analgesics.

Keyword: morphine hydrochloride, neuropeptides, fragment 4–10 of adrenocorticotrophic hormone, semax®, delta sleep inducing peptide, deltaferox®, offspring physical development, offspring sensory-motor development, postnatal development, reproductive function of female, index of physical development, index of sensory-motor development, index of harmony of development.

Введение

В последние годы в Российской Федерации существенно возросло число обращений за медицинской помощью пациентов с нарушениями репродуктивной функции, возникшими после 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], так и у неонкологических больных [4, 5, 6, 7] любого возраста, включая детский [8, 9], а с другой – с увеличением числа реконвалесцентов после комплексного лечения наркотической зависимости у лиц репродуктивного возраста [10, 11].

В клинических исследованиях было показано, что морфин, так же, как и другие ОНА, часто провоцирует гормональный дисбаланс у пациентов обоих полов [12]. 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 и после отмены ОНА [13, 14].

В научной литературе имеются данные о том, что у большинства (около 90%) женщин, постоянно употребляющих ОНА, значительно снижается возможность наступления беременности. Причиной данного феномена, как правило, является нарушение выработки гормонов гипофиза, что приводит к возникновению вторичной дисфункции яичников [15]. Причиной подобных нарушений являются изменения, возникающие в гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси [16, 17] и, в первую очередь, вследствие угнетающего действия ОНА на гипоталамические нервные пути, контролирующие секрецию гонадотропинов как у мужчин, так и женщин [18].

В настоящее время лечение репродуктивных нарушений, вызванных применением ОНА, основано на синдромальном подходе, основным компонентом которого является длительная заместительная гормональная терапия [19, 20, 21]. Эффективность подобной методики, как правило, не очень значительна, однако ее применение сопровождается стойкими нарушениями, вызванными угнетением продукции собственных гормонов [22, 23].

В проведенных нами исследованиях было показано, что в качестве средств терапии нарушений репродуктивной функции у материнских особей, вызванных длительным применением морфина, могут быть использованы нейропептиды и, в частности, дельта-сон индуцирующий пептид (ДСИП) и аналог фрагмента 4–10 адренокортикотропного гормона (4–10АКТГ) [24]. Однако, учитывая то обстоятельство, что последствия длительного введения морфина гидрохлорида и последующего применения нейропептидов материнским особям до беременности могут проявляться не только репродуктивными расстройствами, но и

нарушениями развития детенышей, нами было изучено физическое и сенсорно-двигательное развитие потомства в постнатальном периоде.

Целью исследования являлась оценка влияния морфина гидрохлорида и последующего применения дельта-сон индуцирующего пептида и аналога фрагмента 4–10АКТГ материнским особям до беременности на развитие потомства в постнатальном периоде.

В работе нами были использованы лекарственные формы препаратов Семакс® (СМС®; производства ЗАО «ИНПЦ «Пептоген»), действующим веществом которого является 4-10 АКТГ и Дельтаферокс® (ДФС®; производства ООО «ИЦ «Комкон»», воспроизведенный лекарственный препарат, референтным для которого является Дельтаран® ЛП 003849-200916)) – действующее вещество – ДСИП.

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на потомстве белых нелинейных самок крыс, которым морфин гидрохлорид (МГХ) вводили в течение 3-х месяцев в десятикратной эквивалентной терапевтической дозе, начиная с месячного возраста при средней массе 50–60 г. Пептидные препараты вводили после МГХ в течение двух недель ежедневно однократно интраназально в виде 0,1% раствора в дозе 300 мкг/кг. Животным контрольной группы вводили интраназально воду для инъекций в эквивалентном объеме.

Перед проведением исследования самки крыс 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 [25].

Исследование выполнено в два этапа. На первом всем животным кроме контрольных с месячного возраста в течение 3-х месяцев внутрижелудочно вводили МГХ в дозе 60 мг/кг.

После чего из животных были сформированы следующие группы:

1. Контрольная.
2. Опытная, получавшая в течение 3-х месяцев МГХ;
3. Опытная, получавшая в течение 3-х месяцев МГХ и в последующем 14 дней ДФС® в дозе 300 мг/кг.
4. Опытная, получавшая в течение 3-х месяцев МГХ и в последующем 14 дней СМС® в дозе 300 мг/кг.

К самкам группы №2 через 14 дней после завершения введения морфина на период в два эстральных цикла подсаживали интактных самцов в соотношении 1 : 3 (один самец

Индексы, характеризующие физическое и сенсорно-двигательное развитие потомства
в постнатальном периоде и формулы их расчета

№ п/п	Индексы	Формула расчета	Примечание
1.	Индекс дефицита/избытка массы тела	$\text{Ид/иМТ} = \frac{P_1 - P_2}{P_1} \times 100\%$	где P_1 – среднее значение массы тела потомства контрольной группы, в граммах; P_2 – среднее значение массы тела потомства опытной группы, в граммах.
2.	Среднее отставание/опережение сроков физического развития	$\text{Co/oCFP} = \frac{\sum (F_{n1} - F_{n1к}) + \dots (F_{nx} - F_{nxк})}{N_x}$	Рассчитывали для периода раннего молочного вскармливания (Co/oCFP_1) и появления первичных половых признаков (Co/oCFP_2), сутки. где F_n – средние сроки появления признака n в опытной группе, сутки; $F_{нк}$ – средние сроки появления признака n в контрольной группе, сутки; N_x – количество изучавшихся признаков.
3.	Индекс физического развития	$\text{ИФР}_{1,2} = \frac{\text{Co/oCFP}_{1,2}}{P_{1,2}} \times 100\%$	Рассчитывали для периода раннего молочного вскармливания (ИФР_1) и появления первичных половых признаков (ИФР_2). 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 , %.
4.	Среднее отставание/опережение сроков сенсорно-двигательного развития	$\text{Co/oCCDP} = \frac{\sum (S_{n1} - S_{n1к}) + \dots (S_{nx} - S_{nxк})}{N_x}$	где S_n – средние сроки появления признака n в опытной, сутки; $S_{нк}$ – средние сроки появления признака n в контрольной группе, в сутки; N_x – количество изучавшихся признаков
5.	Индекс сенсорно-двигательного развития	$\text{ИСДР} = \frac{\text{Co/oCCDP}}{P} \times 100\%$	где P_1 – сроки формирования рефлекса избегания обрыва, вызванного визуальным стимулом в контрольной группе, сутки
6.	Индекс соответствия физического развития сенсорно-двигательному	$\text{ИСФСДР} = \frac{\text{ИФР}_1}{\text{ИСДР}}$	Рассчитывается для периода раннего молочного вскармливания

на три самки). Подсадку самцов к самкам группы №3 и №4 проводили после окончания введения нейропептидов. 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 массу тела.

На втором этапе у родившегося потомства исследовали параметры физического (ФР) и сенсорно-двигательного (СДР) развития в динамике. Изучали 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 исследовали 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, карабкание на стенки, прыжки, время отсутствия активности, возможные аномалии походки), избегание обрыва вызванное визуальным стимулом. Кроме того изучали поведенческие реакции в тесте «крестообразный лабиринт». Для комплексной оценки развития потомства в постнатальном периоде были использованы индексы физического и сенсорно-двигательного развития, представленные в таблице 1 [26].

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 P составлял 95 и более процентов ($p < 0,05–0,01$) [27, 28].

Результаты исследований

При изучении интенсивности прироста массы тела у потомства крыс, получавших МГХ, было зарегистрировано достоверное снижение данного показателя 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 использовании пептидных препаратов после длительного применения МГХ (таблица 2). Так в группе, получавшей ДФС[®], прирост массы тела потомства был достоверно ниже, чем в контроле только на 4-й день наблюдения, а в конце первой и на второй неделе отмечалась лишь тенденция к его снижению. В то время как в конце первой недели и до конца наблюдения прирост массы тела потомства крыс, получавших ДФС[®] после ксенобиотика, был достоверно выше ($p < 0,05$), чем в группе, которой вводили только МГХ.

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

Таблица 2.

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

№ п/п	Группы животных	Период наблюдения, сутки			
		4	7	14	21
1.	Контроль	10,24 ± 0,31	17,28 ± 0,47	33,28 ± 0,43	51,48 ± 0,55
2.	Потомство самок, получавших в течение 3-х месяцев МГХ в 10 ЭТД	9,04 ± 0,19*	14,26 ± 0,35*	26,73 ± 0,56*	42,79 ± 0,59*
3.	Потомство самок, получавших в течение 3-х месяцев МГХ в 10,0ЭТД, а после чего ДФС®	9,36 ± 0,24*	16,58 ± 0,48#	31,77 ± 0,67#	52,66 ± 1,08#
4.	Потомство самок, получавших в течение 3-х месяцев МГХ в 10,0 ЭТД, а после чего СМС®	12,37 ± 0,38*,#	18,79 ± 0,52#	33,43 ± 0,64#	56,67 ± 1,61*,#

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

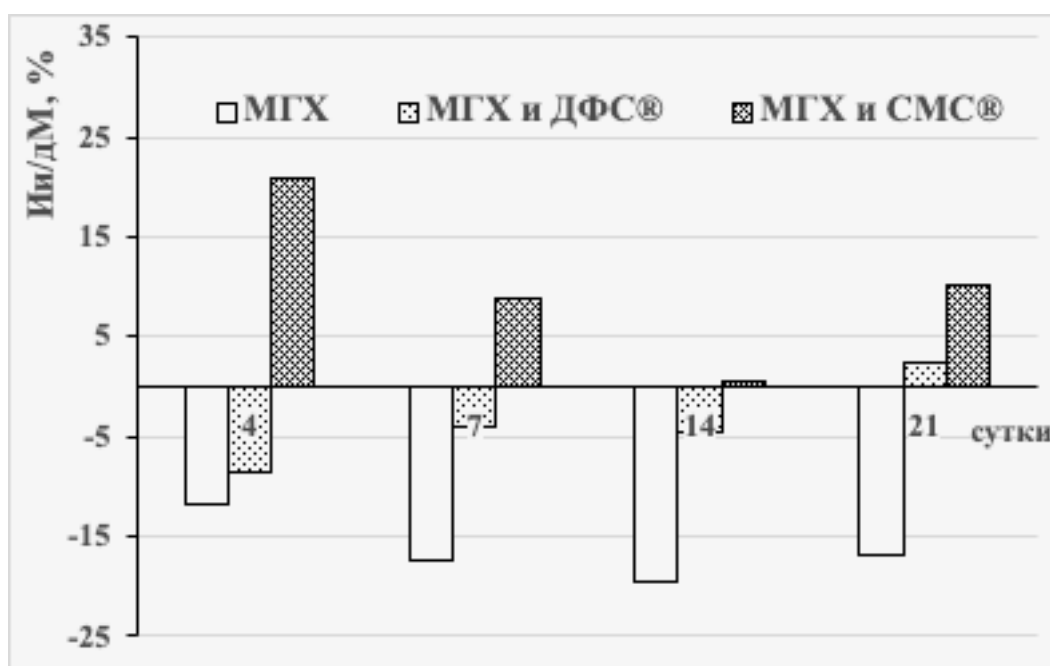


Рисунок 1 – Изменение индексов дефицита/избытка массы тела в постнатальном периоде у потомства самок, получавших МГХ и пептидные препараты

Для сравнения полученных результатов нами были рассчитаны индексы дефицита/избытка массы тела (рисунок 1). Было установлено, что у потомства самок, получавших МГХ, дефицит массы тела (в пределах $-19,68 \dots -11,71\%$) регистрировался в течении всего периода наблюдения. В то время как применение ДФС[®] после ксенобиотика приводило к снижению выраженности дефицита массы у потомства по сравнению с группой, получавшей только МГХ. Так же обращало на себя внимание, что введение СМС[®] после ксенобиотика самкам крыс приводило к развитию избытка массы тела у потомства в течении всего периода наблюдения в отличие от групп, получавших МГХ и СМС[®] по отдельности, в которых был зарегистрирован обратный эффект – ее дефицит.

При изучении физического развития потомства крыс нами были рассчитаны коэффициенты $Co/oCFR_1$ и $Co/oCFR_2$ и $ИФР_1$ и $ИФР_2$. Исходные данные для расчетов представлены в таблице 3.

Таблица 3

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

№ ¹ п/п	Показатели		Группы животных			
			Контроль	Потомство самок получавших		
				МГХ	МГХ и ДФС [®]	МГХ и СМС [®]
1	2		3	4	5	6
1	Число детенышей в помете	ед	10,88 ± 0,48	5,78 ± 0,62*	8,50 ± 1,71	9,75 ± 0,85#
		% от контроля	—	53,13	78,13	89,61
2	Отлипание ушной раковины	сутки	2,12 ± 0,07	4,03 ± 0,14*	2,74 ± 0,08#	2,93 ± 0,07#
		Отставание ФР, сутки	—	1,91	0,62	0,87
3	Первичный покров	сутки	4,28 ± 0,11	5,74 ± 0,09*	4,91 ± 0,05#	4,88 ± 0,12#
		Отставание ФР, сутки	—	1,46	0,63	0,6
4	Прорезывание резцов	сутки	8,32 ± 0,10	10,06 ± 0,24*	9,47 ± 0,11	8,63 ± 0,28#
		Отставание ФР, сутки	—	1,74	1,15	0,31
5	Открытие глаз	сутки	13,84 ± 0,47	16,06 ± 0,27*	15,21 ± 0,42#	15,29 ± 0,46#
		Отставание ФР, сутки	—	2,22	1,37	1,45
Со/оСФР ₁ , сутки			—	1,83	0,94	0,81

ИФР ₁ , %			–	13,22	6,79	5,85
6	Опускание семенников	сутки	24,04 ± 0,30	29,35 ± 0,36*	24,13 ± 0,26#	22,25 ± 1,03#
		Отставание ФР, сутки	–	5,31	0,09	– 1,79

продолжение таблицы 3

1	2	3	4	5	6	
7	Открытие влагалища (ОВ)	сутки	35,44 ± 0,41	39,36 ± 0,25*	34,16 ± 0,68#	29,32 ± 1,67*,#
		Отставание ФР, сутки	–	3,92	– 1,28	– 6,12
Со/оСФР ₂ , сутки			–	4,62	– 1,19	– 3,96
ИФР ₂ , %			–	13,02	– 3,36	– 11,16

Примечание: ¹ – номер признака (n) по порядку для расчета Со/оСФР в соответствии с формулой 2; * – отличие от контроля достоверно, при $p < 0,05$; # – отличие от группы получавшей МГХ достоверно, при $p < 0,05$.

При анализе полученных результатов было установлено, что у детенышей животных, получавших МГХ, наблюдалась существенная ($p < 0,05$) задержка физического развития, как в периоде раннего молочного вскармливания (Со/оСФР₁ – 1,83 сутки; ИФР₁ – 13,22%), так и появления первичных половых признаков (Со/оСФР₂ – 4,62 сутки; ИФР₂ – 13,02%) (рисунок 2). Причем 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 достоверного ($p < 0,05$) почти 2-х кратного уменьшения среднего количества детенышей в помете.

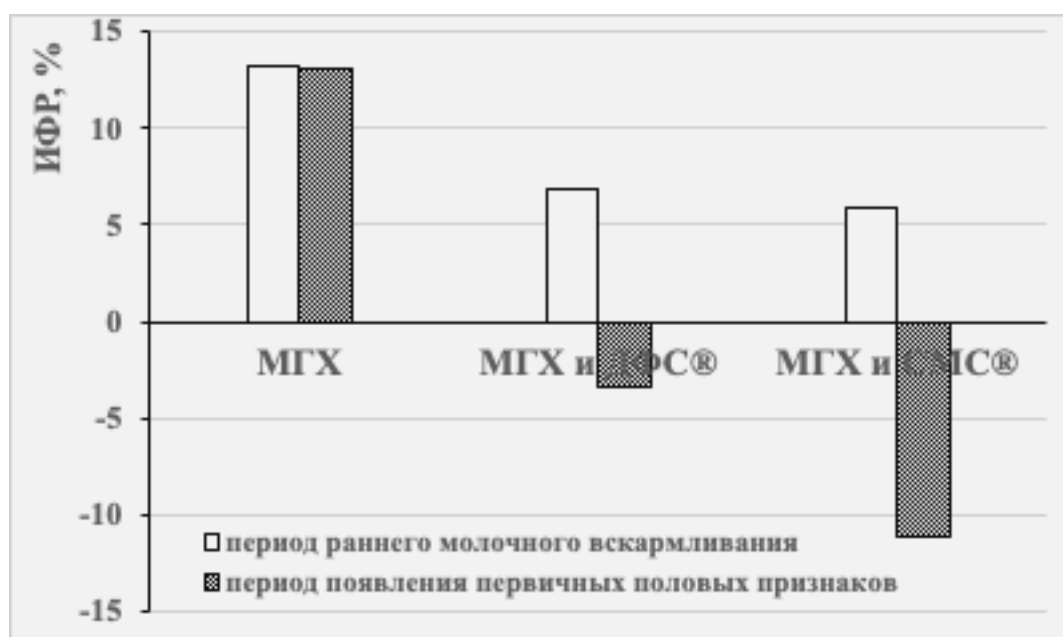


Рисунок 2 – Влияние МГХ и пептидных препаратов на динамику ИФР потомства в постнатальном периоде

Введение пептидных препаратов после морфина гидрохлорида самкам до беременности оказывало достоверное ($p < 0,05$) влияние как на среднее количество детенышей в помете, так и на показатели физического развития потомства в сравнении с группой, получавшей только ксенобиотик. Также обращало на себя внимание, что в группах, получавших пептидные препараты после МГХ Со/оСФР₁ и ИФР₁ в периоде раннего молочного вскармливания были не только ниже, чем в случае применения только МГХ, но и имели отрицательные значения, что свидетельствовало об опережении физического развития в сравнении с контролем. В свою очередь в периоде появления первичных половых признаков у потомства крыс, получавших пептидные препараты 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/оСФР₂ – 3,96 сутки, ИФР₂ – 11,16%).

При изучении темпов сенсорно-двигательного развития потомства крыс, получавших до беременности МГХ и пептидные препараты, было установлено, что в группе, получавшей МГХ, наблюдалось достоверное ($p < 0,05$) отставание темпов СМР по всем из изучавшихся показателей. В то время как применение пептидных препаратов после МГХ предотвращало отставание в темпах СМР у потомства самок, получавших МГХ.

Для сравнения результатов, полученных при изучении влияния МГХ и последующего введения пептидных препаратов самкам до беременности, нами были рассчитаны коэффициенты Со/оССДР и ИСДР для всех экспериментальных групп. Для проведения расчетов были использованы данные, представленные в таблице 4.

Таблица 4

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

№ ¹ п/п	Показатели		Группы животных			
			Контроль	Потомство самок получавших		
				МГХ	МГХ и ДФС®	МГХ и СМС®
1	2		3	4	5	6
1	Переворачивание на плоскости	сутки	4,38 ± 0,09	6,06 ± 0,18*	4,50 ± 0,17#	5,49 ± 0,25
		Отставание СДР, сутки	—	1,68	0,12	1,11
2	Отрицательный геотаксис	сутки	6,44 ± 0,20	8,91 ± 0,16*	6,91 ± 0,19#	7,62 ± 0,33

		Отставание СДР, сутки	–	2,47	0,47	1,18
3	Избегание обрыва	сутки	7,25 ± 0,16	9,97 ± 0,29	7,88 ± 0,17#	8,10 ± 0,07
		Отставание СДР, сутки	–	2,72	0,63	0,85
4	Поднимание головы и передних лап	сутки	8,84 ± 0,28	10,22 ± 0,12*	9,00 ± 0,21#	9,59 ± 0,34
		Отставание СДР, сутки	–	1,38	0,16	0,75
5	Ползание	сутки	10,06 ± 0,04	12,88 ± 0,43*	10,85 ± 0,39	10,95 ± 0,36
		Отставание СДР, сутки	–	2,82	0,79	0,89
6	Опора на задние конечности, подъем всего тела	сутки	13,94 ± 0,12	17,28 ± 0,38*	13,97 ± 0,37#	15,49 ± 0,20
		Отставание СДР, сутки	–	3,34	0,03	1,55
7	Избегание обрыва, вызванное визуальным стимулом	сутки	14,66 ± 0,15	17,47 ± 0,34*	15,26 ± 0,08#	15,38 ± 0,18#
		Отставание СДР, сутки	–	2,81	0,6	0,72
Со/оСДР, сутки			–	2,46	0,40	1,01
ИСДР, %			–	16,78	2,72	6,87
Примечание: ¹ – номер признака (п) по порядку для расчета Со/оСДР в соответствии с формулой 4; * – отличие от контроля достоверно, при p < 0,05; # – отличие от группы получавшей МГХ достоверно, при p < 0,05.						

Было установлено, что длительное введение МГХ самкам до беременности сопровождалось достоверным ($p < 0,05$) увеличением сроков появления всех изучавшихся признаков сенсорно-двигательного развития. Коэффициент Со/оССДР и ИСДР составили 2,46 и 16,78 соответственно, что свидетельствовало о серьезном отставании в развитии животных этой группы от контрольных (рисунок 3).

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

При оценке гармоничности развития потомства в постнатальном периоде можно говорить о том, что в группе, получавшей МГХ до беременности, ИСФСДР был равен 0,79, что свидетельствовало об отставании физического развития от сенсорно-двигательного (рисунок 3). В то время как в группах, получавших МГХ и СМС® до беременности, ИСФСДР потомства был равен 0,85, что говорило о том, что у этих животных СДР отставало от

физического, однако в меньшей степени, чем в предыдущей группе. И только в группе, получавшей ДФС® после морфина гидрохлорида, СДР опережало физическое (ИСФСДР равен 2,5).

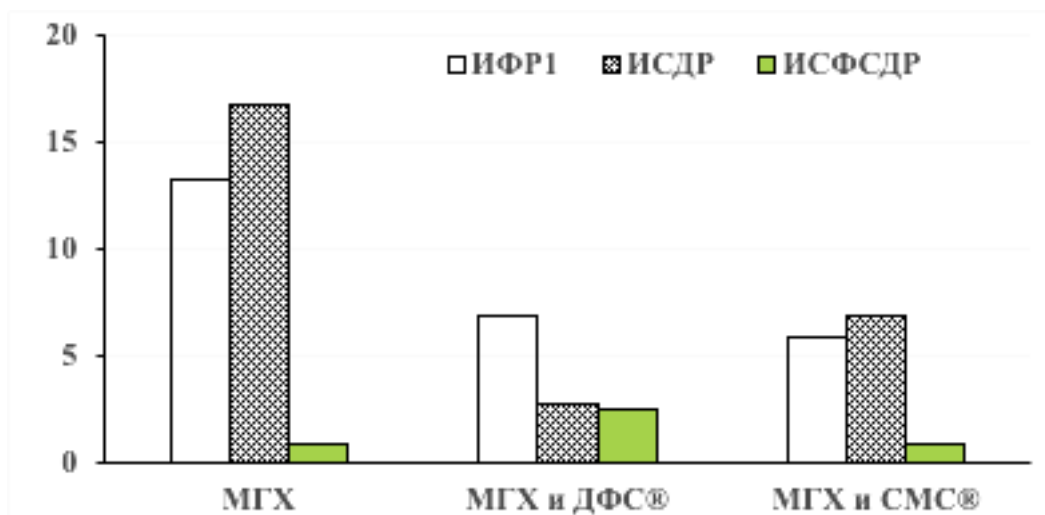


Рисунок 3. – Индексы развития потомства, рожденного от крыс, получавших МГХ и пептидные препараты до беременности

При изучении двигательной активности потомства животных в тесте «Открытое поле – 1» было установлено, что в группе животных, получавших МГХ до беременности наблюдалось, с одной стороны, достоверное ($p < 0,05$) увеличению таких показателей как горизонтальные передвижения и груминг, а с другой – уменьшение количества вертикальных стоек и заглядываний (таблица 5). В свою очередь использование пептидных препаратов после МГХ у самок до беременности сопровождалось достоверным ($p < 0,05$) уменьшением числа горизонтальных передвижений и увеличением вертикальных стоек и заглядываний, а для группы, получавшей СМС®, и груминга у потомства в сравнении с группой, получавшей только МГХ. Следует также отметить, что в группе, получавшей ДФС® после ксенобиотика, показатели двигательной активности у потомства не отличались от контрольных значений за исключением груминга. В то время как у потомства, материнские особи которого получали СМС® после МГХ, они все были существенно выше, чем в контроле.

Также нами было изучено влияние МГХ и последующего применения пептидных препаратов самкам до беременности на поведение потомства мужского и женского пола в тесте «крестообразный лабиринт» (таблица 6).

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 %.

Таблица 5

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

Показатели	Группы животных			
	Контроль	Потомство самок, получавших		
		МГХ	МГХ и ДФС®	МГХ и СМС®
Горизонтальные передвижения, число актов	28,41 ± 3,27	50,88 ± 3,86*	30,76 ± 2,64#	39,36 ± 2,22#
Вертикальные стойки, число актов	17,44 ± 1,75	11,69 ± 1,65*	23,36 ± 2,70#	31,51 ± 2,14#
Заглядывания, число актов	1,25 ± 0,31	0,81 ± 0,18*	1,94 ± 0,20#	1,62 ± 0,15#
Груминг, число актов	0,69 ± 0,15	1,66 ± 0,25*	1,52 ± 0,44	2,08 ± 0,33#
Примечание: * – отличие от контроля достоверно, при $p < 0,05$; # – отличие от группы получавшей МГХ достоверно, при $p < 0,05$.				

Таблица 6

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

Показатели		Группы животных			
		Контроль (n=10/10)	Потомство самок, получавших		
			МГХ (n=10/9)	МГХ и ДФС® (n=10/10)	МГХ и СМС® (n=15/14)
1	2	3	4	5	6
Латентный период, с	мужской	2,80 ± 0,77	3,00 ± 1,00	4,80 ± 1,04	4,06 ± 1,42
	женский	2,60 ± 0,37	2,33 ± 0,29	4,80 ± 1,28	3,36 ± 0,62
Время полного обхода, с	мужской	75,80 ± 10,77	106,80 ± 18,86	81,70 ± 8,37	94,20 ± 12,23
	женский	73,40 ± 6,04	105,11 ± 20,16	82,11 ± 11,34	95,79 ± 12,77
Кол-во возвратов, число актов	мужской	0,60 ± 0,13	0,60 ± 0,27	0#	0,62 ± 0,27
	женский	0,41 ± 0,27	0,33 ± 0,13	0,10 ± 0,13#	0,36 ± 0,13
Кол-во поворотов:					
– левых	мужской	3,01 ± 0,53	4,21 ± 1,73	3,00 ± 0,93	3,61 ± 1,33
	женский	3,52 ± 1,33	4,44 ± 0,66	2,40 ± 0,66	3,71 ± 0,79

продолжение таблицы 6

1	2	3	4	5	6
– правых	мужской	4,62 ± 0,93	3,11 ± 0,79	3,00 ± 0,93	3,33 ± 1,06
	женский	3,93 ± 0,66	4,55 ± 1,33	3,30 ± 0,80	3,35 ± 0,93
Кол-во диаметральных переходов, число актов	мужской	3,22 ± 0,66	2,21 ± 0,66	2,54 ± 0,39	2,41 ± 0,93
	женский	3,00 ± 0,53	2,78 ± 0,79	2,50 ± 0,53	3,51 ± 0,79
Стойки, число актов	мужской	19,70 ± 1,83	15,90 ± 2,64	13,30 ± 2,82	17,00 ± 1,32
	женский	22,20 ± 1,05	21,22 ± 2,44	18,40 ± 2,60	17,36 ± 1,27
Примечание: * – отличие от контроля достоверно, при $p < 0,05$; # – отличие достоверно от группы получавшей МГХ, при $p < 0,05$.					

Использование пептидных препаратов после МГХ у самок до беременности оказывало существенное влияние на показатели структуры поведения их потомства. 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 достоверное ($p < 0,05$) снижение 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 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%. В свою очередь снижение времени полного обхода лабиринта на 12% и увеличение количества стоек на 7% свидетельствовали о стимуляции исследовательской активности в сравнении с группой, получавшей только ксенобиотик. 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.

Заключение

В результате исследования установлено, что длительное введение МГХ самкам до беременности приводило к серьезным нарушениям физического и сенсорно-двигательного

развития их потомства, что проявлялось:

- существенной ($p < 0,05$) задержкой ФР, как в периоде раннего молочного вскармливания, так и появления первичных половых признаков, сочетавшейся с достоверным снижением прироста массы тела потомства в течение всего периода наблюдения;

- достоверным ($p < 0,05$) увеличением сроков появления всех изучавшихся признаков сенсорно-двигательного развития, при этом СДР отставало от физического.

В свою очередь применение нейрпептидов после длительного предшествовавшего введения МГХ:

- сопровождалось разнонаправленными изменениями, характеризующими физическое развитие потомства. Так, при использовании ДФС® наблюдался менее выраженный дефицит массы тела, который на 21-е сутки сменялся его избытком, а также уменьшение степени отставания в ФР в периоде раннего молочного вскармливания. В то время как в периоде появления первичных половых признаков наблюдалась тенденция к опережению ФР. В свою очередь у потомства самок, получавших СМС® в течение всего периода наблюдался отмечался избыток массы тела, который сопровождался наименее выраженным отставанием в темпах ФР в периоде раннего молочного вскармливания, который сменялся его существенным опережением в периоде появления первичных половых признаков;

- предотвращало отставание в темпах СМР у потомства, причем для ДФС® достоверно ($p < 0,05$). При оценке гармоничности развития потомства в постнатальном периоде было установлено, что в группе, получавшей СМС® физическое развитие соответствовало сенсорно-двигательному, 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 повышение эффективности исследовательской деятельности. Применение СМС® сопровождалось уменьшением уровня тревожности и стимуляции исследовательской активности, однако указанные выше изменения являлись лишь тенденциями и не носили достоверного характера.

Подводя итоги можно говорить о том, что ДФС® и СМС® способны в значительной степени устранять нарушения физического и сенсорно-двигательного развития у потомства, материнские особи которого до беременности длительно получали МГХ. Это свидетельствует о том, что изучавшиеся пептидные препараты способны оказывать регулирующее влияние не только в отношении нарушений гипоталамо–гипофизарно–гонадной оси материнских особей, вызванных длительным приемом морфина гидрохлорида [Ошибка! Закладка не определена.], но и на гипоталамо–гипофизарную систему их потомства в постнатальном

периоде развития. Данный факт позволяет отнести препараты, содержащие дельта-сон индуцирующий пептид или аналог фрагмента 4–10 адренокортикотропного гормона, и в частности, Дельтаферокс® и Семакс® к средствам этиопатогенетической терапии нарушений репродуктивной функции, вызванных применением наркотических анальгетиков.

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, №1. – P.65–76.
2. 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, №2. – P.119–132.
3. Абузарова, Г.Р. Опиатные 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.
4. Звартау, М.В. Опиоидные анальгетики: пути совершенствования терапии болевых синдромов / М.В. Звартау, Э.Э. Пчелинцев, А.Н. Кубынин // Русский медицинский журнал, «Человек и лекарство». Актуальные вопросы медицины». – 2007. – Т.15, №5. – С.417
5. Ананьева, Л.П. Применение наркотических анальгетиков при лечении хронической неонкологической боли / Л.П. Ананьева // РМЖ. – 2008. – С.21
6. Nicholson, B. Responsible prescribing of opioids for the management of chronic pain / B. Nicholson // Drugs. – 2003. – Vol.63, №1. – P.17–32.
7. 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.
8. 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.
9. Штрибель, Х.В. Терапия хронической боли. Практическое руководство / Х.В. Штрибель / Пер. с нем. ред. Н.А. Осипова [и др.]. – М.: «ГЭОТАР-Медиа», 2005. – 303 с.
10. 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.
11. Васечкин, В.Б. Наркологический диспансер №12 г. Москва Опиийная наркомания и ее негативные эффекты в период беременности и на пренатальном и неонатальном этапах развития ребенка // Вопросы наркологии. – 2000. – №5. – С.65–73.

12. 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.
13. Арутюнян, А.В. Нарушение нейромедиаторного звена гипоталамической регуляции репродуктивной функции под влиянием нейротоксических ксенобиотиков / А.В. Арутюнян, М.Г. Степанов, А.В. Корневский // Нейрохимия. – 1998.– Т.15, №4. – С.264–270.
14. Smith, C.G. Drug abuse and reproduction / C.G. Smith, R.H. Asch // Fertility and sterility. – 1987. – Vol.48, №3. – P.355–373.
15. 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
16. Smith, C.G. Drug abuse and reproduction / C.G. Smith, R.H. Asch // Fertility and sterility. – 1987. – Vol.48, №3. – P.355–373.
17. Scolt, G. Danforth's obstetrics and gynecology / G. Scolt, P. Saia, C. Hammond [et al.]. – Lippincott Williams Wilkins, 1999. – 1155 p.
18. Арутюнян, А.В. Нарушения гипоталамической 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.
19. 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.
20. 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.
21. Овсянникова, Т.В. Эндокринное бесплодие у женщин при гиперпролактинемии / Т.В. Овсянникова // Гинекология. – 2004. – Т.6, №3. – С.121–123.
22. Бесплодный брак /под ред. В.Е. Радзинского – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2019. – 401 с.
23. Гинекология. Национальное руководство / под ред. В.И. Кулакова – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2011. – 1070 с.
24. Белякова, Н.А. Коррекция пептидными препаратами нарушений репродуктивной функции самок крыс, вызванных длительным применением морфина / Н.А. Белякова, Е.Ю. Бонитенко, А.В. Носов, К.Е. Бонитенко // Российский биомедицинский журнал Medline.ru.– 2019. – Т.20, Ст.9. – С.81–93.

25. 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.

26. Белякова, Н.А. Развитие потомства, новые подходы к оценке в экспериментальной биологии и медицине / Н.А. Белякова, Е.Ю. Бонитенко, А.В. Носов // Medline. – 2020. – Т.21, Ст.87. – С.1115–1133.

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

28. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладной программы STATISTICA / О.Ю. Реброва. – М.: «Медиа Сфера», 2002 – 312 с.