А.Д. Брездынюк

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОАКТИВИРОВАННЫХ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ

Каф.фармакологии ГОУ ВПО ВГМА им. Н.Н. Бурденко Росздрава

Резюме. Представлены данные о выявлении возможности действия электроактивированных водных растворов на репродуктивную функцию. Установлено, что католит и анолит не оказывают эмбриотоксического и тератогенного действия на лабораторных животных.

Ключевые слова: католит,анолит, репродукция,эмбриотоксичность.

Актуальность. Современное состояние репродуктивного здоровья характеризуется низкой рождаемостью, снижающимся уровнем общего и репродуктивного здоровья населения, ростом соматической патологии у беременных женщин, относительно низким (около 30%) уровнем нормальных родов и возрастающим числом больных детей (Фролова О.Г., Ильичева И.А., 2003, Кулаков В.И., 2005). В настоящее время среди различных факторов внешней среды, способных вызывать отклонения в развитии плода, важная роль принадлежит лекарственным веществам. Следствием действия лекарственных веществ на плод могут быть выкидыши, недоношенность, переношенность, перинатальная патология, развитие врожденных иммунологических или иных заболеваний, пороки развития, смерть плода и новорожденного (Маркова И.В., Шабалов Н.П., 1993, Fanafoff A.A., Martin R.J., 2002).

Известно, что электроактивированные растворы имеют высокую биологическую активность: католит, обладает электродонорными свойствами и способностью восстанавливать клеточные мембраны, а анолит- выраженными бактерицидными свойствами за счет наличия в нем сильных окислителей и свободных радикалов (Пустовалов В.А., 2006; Резников К.М., 2006).

Из литературных данных известно широкое применение ЭАВР в медицине (Бакутин В.В. с соавт., 1999; Белоусова Р.А. с соавт., 1999; Девятов В.А., 1999, 2001; Бабушкин О.С., Назин В.А.,2001; Мельникова В.М. с соавт.,2001 и др.). Однако с фармакологических позиций их эффекты изучены слабо, особое значение для их дальнейшего использования в практической медицине имеют знания о действии этих растворов на эмбрион, плод и последующее развитие новорожденного.

Материал и методы исследования. Исследования выполнены на 1121 животных разных видов, из которых 90 мышей обоего пола, 18 самок кроликов, 178 самцов крыс, 283 самки крысы и 552 детеныша крыс. Все животные были отобраны по массе и возрасту и перед экспериментами проходили карантинный период продолжительностью в 21 день.

Крысы были распределены на 3 равные группы: 1-я (В) – контрольные животные, получавшие - питьевую воду, 2-я (К) – особи получавшие, католит в течение 3 половых циклов при свободном доступе, 3-я (А) - особи получавшие, анолит в течение 3 половых циклов при свободном доступе.

Мыши были разделены на 5 групп по 6 особей в каждой группе для каждого из исследуемых веществ, 30 мышей составили контрольную группу.

Кролики были разделены на 3 группы по 6 самок, которым внутривенно в течение 6 дней в краевую вену уха вводили католит, анолит и стерильную воду из расчета 1,5 мл на 1000 г массы тела (побочных эффектов не наблюдалось).

Содержание и кормление животных проводилось в соответствии с «Санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) (ГОСТ Р 50258-92). Процесс декапитации крыс проводили под общим ингаляционным наркозом, убедившись, что у животного отсутствует болевая чувствительность и утрачено сознание.

В работе мы использовали методы определения острой токсичности (М.Л.Беленький, 1963). Изучение влияния электроактивированных водных растворов на репродуктивную систему определяли на основе морфологического и функционального анализа состояния яичников, цитологического исследования вагинального содержимого (Сахаров П.П., 1952), иммуноферментного метода определения уровня ЛГ и эстрадиола в плазме крови самок кроликов с помощью измерительного прибора «BIO-RAD Model 550 MICROPLATE READER». С целью исследования влияния ЭАВР на репродуктивную систему животных проводилась оценка способности к оплодотворению и зачатию, вычисление индексов беременности и плодовитости, наблюдение за беременностью и родоразрешением у крыс, оценка выживаемости детенышей на 7 сутки, наблюдение за физическим и нервно-психическим развитием детенышей (еженедельное изменение длины и массы тела, сроки открытия глаз, отлипания ушей, появление шерстного покрова и т. д.), висцеральное исследование органов по Стейплсу. Для изучения двигательной активности, исследовательской деятельности, эмоциональности и в какой-то степени тревожности у крысят в 2-х месячном возрасте проводили тест «Открытое поле» (Гельман В.Я., Кременевская С.И., 1990; Фисенко В.П., 2000). Для установления возможности безопасного применения ЭАВР нами проведено морфологическое исследование, направленное на выяснение гистологических особенностей строения почек, печени, желудка, тонкой кишки, яичников, матки и эмбрионов крыс при пероральном применении электроактивированных водных растворов.

Достоверность изменений внутри групп устанавливали с использованием критерия Стьюдента, между группами с применением непараметрического критерия Т-Вилькоксона. Для оценки взаимосвязи между некоторыми качественными признаками пользовались четырехпольной таблицей и критерием X^2 (Афифи А., 1982; Гланц С., 1999).

Полученные результаты и их обсуждение. При исследовании острой токсичности католита и анолита при различных способах введения (подкожном, внутрибрюшинном, пероральном при свободном доступе в качестве растворов замещающих питье) показано, что они не обладают токсическими свойствами при однократном введении, то есть не было гибели даже при введении больших доз ЭАВР. В дальнейших экспериментах, где ЭАВР использовали внутрь у самок длительностью до 30 суток, у самцов до 70 суток, также не отмечалось никаких токсических проявлений их действия.

У самцов, принимавших ЭАВР, начиная с 4-й недели, отмечалось достоверное повышение темпов роста массы тела на 27,6% в группе католита, и на 26,4% в группе анолита по сравнению с животными группы контроля (p<0,05), разница в динамике роста у животных обеих опытных групп увеличивалась на протяжении всего последующего периода и к концу 9 недели наблюдения составила в среднем около 38% (см. рис.).

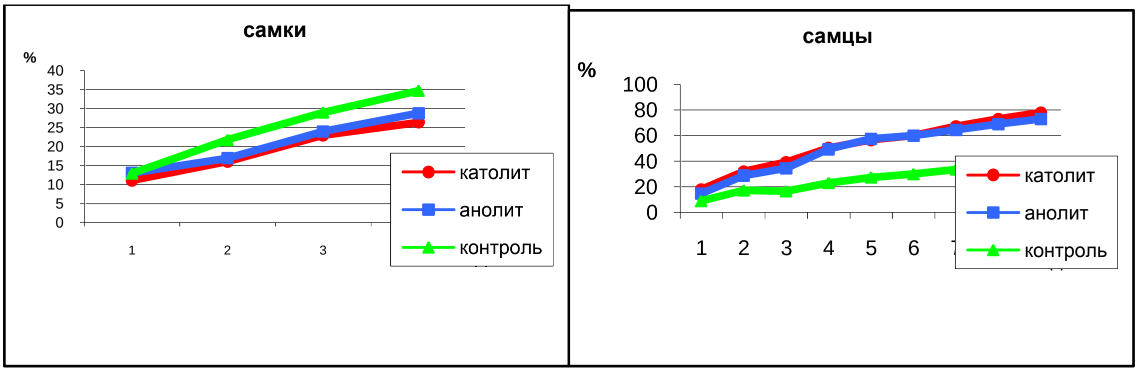

Рис. Динамика изменения прироста массы тела самок и самцов крыс, *-p<0,05 по отношению к контролю

В эксперименте была исследована способность к оплодотворению и зачатию, вычислены индексы плодовитости и беременности. Определена высокая способность самцов крыс к оплодотворению и зачатию при приеме ЭАВР, о чем свидетельствует достоверное повышение индекса плодовитости на 33,3% у животных из группы К и группы А и индекса беременности на 9,0% и 31,0% (p<0,05) соответственно по сравнению с животными из контрольной группы. У самок крыс отмечается только повышение способности к зачатию, т.е. увеличение индекса беременности соответственно на 18,0% и 40,0% (p<0,05) по сравнению с контролем.

При анализе полового цикла и его отдельных фаз у самок крыс из групп К и А цитологическая картина влагалищного эпителия на разных стадиях полового цикла не отличалась от самок контрольной группы В; у животных из группы К, продолжительность эстрального цикла увеличилось на 8,8%, у животных из группы А на 19,4% (p<0,05).

Морфологическое исследование яичников крыс показало, что во всех 3-х группах имеет место нормальный рост фолликулов. Различий на гистологическом уровне в яичниках крыс между группой К, группой А и контрольной группой не установлено.

Более полное представление о действии католита и анолита на генеративную функцию дает определение уровня эстрадиола и лютеинизирующего гормона (ЛГ) в плазме крови половозрелых небеременных самок кроликов, так как по данным литературы наиболее распространенной формой женского бесплодия является ановуляторная (эндокринная) форма 18-27% (Кулаков В.И., 2005).

У животных в группе анолита отмечалось повышение уровня ЛГ на 67,0% ($p<0{,}05$), в группе католита - снижение уровня ЛГ на 26,0% ($p<0{,}05$) по сравнению с контрольными животными. Изменения уровня эстрадиола у животных в обеих опытных группах не превышает 10% по сравнению с контрольными животными.

Важное значение для характеристики эмбриотоксического действия лекарственных средств могут иметь данные о гибели крысят в начале постнатального периода жизни. Выживаемость крысят во всех исследуемых группах на 7 сутки при получении ЭАВР родителями в течение 3 половых циклов перед оплодотворением, а самками еще и во время беременности и грудного вскармливания составляет 100%.

Отрицательное влияние ЭАВР на физическое развитие потомства не выявлено, за исключением крысят, родившихся от самок, получавших в течение 3 половых циклов до беременности, во время всего срока беременности и в период грудного вскармливания католит при свободном доступе. Их показатели, начиная с 3-й недели жизни, значительно отличались от остальных: масса тела меньше в среднем на 36,0% ($p<0{,}05$), а длина тела- на 14,0% ($p<0{,}05$) от таковой у детенышей, рожденных от самок из контрольной группы.

В экспериментах на самцах и самках исследовали влияние ЭАВР на темпы физического развития крысят. Наблюдения проводились за детенышами в период грудного вскармливания. Крысята, принимавшие католит в пре-, интра- и постнатальном периоде отставали в развитии по показателю открытие глаз.

Для получения информации о влиянии электроактивированных водных растворов на внутренние органы потомства, нами проведено вскрытие 133 крысят в 30 дневном возрасте, родители которых получали ЭАВР в период 3 половых циклов, а самки еще и во время беременности и грудного вскармливания, (вилочкавая железа, сердце, почки и яички у мужских особей детенышей крыс). На 30-е сутки постнатального периода у детенышей из всех экспериментальных групп достоверных изменений в абсолютной массе вилочковой железы, сердца, почек и яичек не отмечалось. На вскрытии при визуальном осмотре у крысят не выявлено внешних аномалий. Не обнаружено видимых признаков нарушений функций внутренних органов.

Кроме того, анализировали продольные срезы плодов на 20 недели беременности. Никаких морфологических пороков развития у плодов при приеме ЭАВР родителями перед зачатием и во время беременности нами не выявлено.

В дополнительном исследовании нами изучена возможность влияния ЭАВР на внутренние органы крысят 2-го поколения, т.е. родившиеся от крысят, родители которых принимали ЭАВР до зачатия во время течения беременности и в период грудного вскармливания. При вскрытии 48 крысят 2-го поколения в 30 дневном возрасте визуально изменений ни в одном из органов нами не обнаружено.

Более полное представление об отдаленном действии католита и анолита на центральную нервную систему детенышей дают эксперименты в тесте «Открытое поле».

Введение внутрь ЭАВР самкам в течение 3 эстральных циклов до зачатия, во время беременности и в период грудного вскармливания, а самцам в течение 3 циклов сперматогенеза до зачатия по-разному отражается на поведенческих реакциях их детенышей. Более выраженные проявления возможного усиления тормозных процессов католита и анолита отмечаются у детенышей, рожденных от самцов, принимавших ЭАВР. Об этом свидетельствует достоверное снижение результатов по 4 показателям: клетки, норки, бортик и вертикальная стойка, то есть уменьшение двигательной, исследовательской активности и эмоциональной реакции.

Для установления возможности безопасного применения ЭАВР нами проведено морфологическое исследование почек, печени, желудка, тонкой кишки, яичников, матки и эмбрионов крыс при пероральном применении электроактивированных водных растворов. Различий на гистологическом уровне в органах и эмбрионах крыс при приеме ЭАВР внутрь самками в течение 21 дня до беременности и в течение 20 дней беременности при свободном доступе между животными группы католита, группы анолита и контрольной группы нами не выявлено.

Выводы. Католит с pH=9,2±0,5 и ОВП = – 615±55мВ и анолит с pH=6,9±0,5, ОВП = +720±15мВ при различных способах введения экспериментальным животным (подкожном, внутрибрюшинном, пероральном при свободном доступе в течение 30 суток в качестве растворов замещающих питье) не оказывает на них токсического действия.

Электроактивированные водные растворы при длительном приеме внутрь в качестве замещающих питье растворов при свободном доступе вызывают увеличение массы тела у половозрелых самцов крыс с 4-й по 9-ю неделю наблюдения. Введение анолита приводит к повышению индекса плодовитости и индекса беременности.

Введение ЭАВР самкам крыс в течение 3 половых циклов при свободном доступе не нарушает структуру и продолжительность эстрального цикла, не вызывает морфологических изменений яичников, не изменяет уровня ЛГ и эстрадиола в плазме крови, не влияет на течение беременности, сроки родов и постнатальную гибель новорожденных, не снижает численность и массу потомства на момент рождения.

Электроактивированные водные растворы не оказывают эмбриотоксического действия, выживаемость крысят на 7 сутки при приеме ЭАВР в интра- пре- и постнатальный период развития составляет 100%. Не установлено нарушений во внутренних органах при вскрытии крысят 2-го поколения.

Ежедневный прием самками крыс католита в качестве замещающих питье растворов при свободном доступе в течение 3 половых циклов до беременности, всего срока беременности и периода грудного вскармливания вызывает у их потомства снижение темпов прироста массы и длины тела, и отставание в нарастании массы тела по отдельным срокам физического развития, а также приводит к усилению тормозных процессов у крысят в течение первых 2-х месяцев развития.

Литература.

1. Афифи А. Статистический анализ. Подход с использованием ЭВМ : пер. с англ. / А. Афифи, С. Эйзен. - М. : Мир, 1982. – 301 с.
2. Бабушкин О.С. Стратегия использования ЭХА растворов в многопрофильной больнице / О.С. Бабушкин, В.А. Назин // Электрохимическая активация : докл. и кратк. сообщ. Третьего Международ. симпозиума. - М., 2001. - С. 46-50.
3. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.Л. Беленький. - Л., 1963. - 152 с.
4. Белоусов Ю.Б. Клиническая фармакология и фармакотерапия / Ю.Б Белоусов, В.С. Моисеев, В.К. Лепахин. - М. : Универсум Паблишинг, 1997. – 46 с.
5. Гельман В.Я. Получение обобщенных критериев для оценки поведения крыс в условиях «открытого поля» / В.Я. Гельман, С.И. Кременевская // Физиологический журнал СССР. - 1990. - Т. 76, № 4. - С. 553-556.
6. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. - М. : Практика, 1999. – 462 с.
7. Девятов В.А. Использование нейтрального анолита АНК при предупреждении гнойных осложнений воспалительных заболеваний / В.А. Девятов, С.В.Петров, Г.А. Белобородов // Электрохимическая активация : докл. и кратк. сообщ. Третьего Международ. симпозиума. - М., 2001. - С. 133-135.
8. Кулаков В.И. Акушерство и гинекология. Клинические рекомендации / В.И. Кулаков. – М., 2005. – 423 с.
9. Кулаков В.И. Бесплодный брак / В.И. Кулаков. – М., 2005. – 121 с.
10. Маркова И.В. Клиническая фармакология новорожденных / И.В. Маркова, Н.П. Шабалов. – СПб. : Сотис, 1993. – 375 с.
11. О лечебном применении электрохимически активированных растворов в медицине / В.М. Мельникова [и др.] // Электрохимическая активация : докл. и кратк. сообщ. Третьего Международ. симпозиума. - М., 2001. - С. 92-95.
12. Пустовалов В.А. Технология электрохимической активации водных растворов и получение стандартных электроактивированных растворов / В.А. Пустовалов // Прикладные информационные аспекты медицины. – 2006. - Т. 9, № 1. - С. 15–21.

13. Резников К.М. Свойства воды и информационные аспекты формирования эффектов действия электроактивированных водных растворов / К.М. Резников // Прикладные информационные аспекты медицины. – 2006. - Т. 9, № 1. - С. 3–14.
14. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. В.П. Фисенко. – М., 2000. – 398 с.
15. Сахаров П.П. Лабораторные животные / П.П. Сахаров, А.И. Метелкин, Е.И. Гудкова. - М. : Медгиз, 1952. – 308 с.
16. Фролова О.Г Вопросы охраны репродуктивного здоровья в решениях коллегий Минздрава РФ 2002 г. / О.Г. Фролова, И.А. Ильечева // Акушерство и гинекология. - 2003. - № 4. - С. 3.
17. Шабалов Н.П. Современная терапия в неонатологии / Н.П. Шабалов. - СПб., 2000. – 6 с.
18. Neonatal-Perinatal Medicine (Diseases of the Fetus and Infant) / ed. A.A. Fanafoff, R.J. Martin. – Mosby, 2002. – 1732 p.

Abstract

A.D. Brezdynjk

THE INFLUENCE OF ELECTROACTIVE WATER SOLUTIONS ON REPRODUCTIVE FUNCTION

Dep. of Pharmacology, N.N. Burdenko VSMA

The article provides information on influence electroactivated water solutions on reproductive function. On during investigation with catolyte and anolyte on experimental animals we find wear no embryo toxically and feta toxically effects.

Key words: anolyte, katholyte, reproduction, embriotoxity