

УДК 612.64: 615.9

РЕАКТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ КРЫС НА ФОНЕ НАГРУЗКИ ШРОТОМ СЕМЯН ВИНОГРАДА

© 2014 О.Н. Павлова¹, О.Н. Пинаева¹, Т.В. Гарипов², А.А. Супильников¹¹ Медицинский институт «РЕАВИЗ», г. Самара² Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана

Поступила в редакцию 10.12.2014

В статье представлены результаты по динамике реактивных изменений репродуктивной системы крыс на фоне нагрузки шротом семян винограда. Оценка производилась по следующим параметрам: эмбриональная (пред- и постимплантационной) гибель плодов; отставание в развитии, проявляющееся уменьшением массы тела и кранио-каудальных размеров плодов; функциональная активность репродуктивных органов самцов и самок.

Ключевые слова: *шрот, виноград, репродуктивная система, зародыш, кранио-каудальные размеры, плодово-плацентарный индекс*

Одним из самых значительных отражений оптимального функционирования организма является состояние репродуктивной системы. На всех стадиях онтогенетического развития формирование данной системы является наиболее энергоемким, требующим максимально разнообразных элементов питания. Одним из субстратов содержащих широкий спектр таких биологически активных соединений, как ресвератрол, пирокатехин, биофлавоноиды, аминокислоты, витамины группы В, Д, а также богатый набор ценных минеральных компонентов является виноградный шрот. Введение шрота как элемента сложносоставных кормов экономически оправдано, так как это побочный продукт пищевой промышленности [1, 2]. Существует возможность использования шрота семян винограда для коррекции различных патологических состояний организма.

Цель работы: оценка состояния репродуктивной системы крыс для выявления возможного биологического действия шрота.

Для реализации поставленной цели предстояло решить следующие **задачи:** в зависимости от длительности поступления шрота семян винограда в организм крыс оценить эмбриональную (пред- и постимплантационную) гибель плодов; отставание в развитии, проявляющееся уменьшением массы тела и кранио-каудальных размеров плодов; функциональную активность репродуктивных органов самцов и самок.

Материалы и методы. Исследование проводили на белых беспородных половозрелых

здоровых крысах, которые содержались в виварии в стандартных условиях. В эксперименте участвовали 80 самок и 32 самца одного месяца рождения, массой 190-210 г., которые были разделены поровну на 8 групп (табл. 1) и в соответствии с групповой принадлежностью получали шрот семян винограда в виде суспензии.

Суспензию шрота семян винограда готовили на дистиллированной воде и вводили животным ежедневно в соответствии с групповой принадлежностью и установленным сроком внутрижелудочно в дозе 10 мг/100 г веса тела, объемом 1 мл. Контрольным животным вводили дистиллированную воду объемом 1 мл. За животными вели ежедневное наблюдение. Для получения самок с датированным сроком беременности использовали 4-4,5 месячных крыс, которым вечером подсаживали самцов (из расчета 1 самец на 2-3 самки), а утром брали влагалищные мазки. Учитывая, что у крыс покрытие происходит в 1-2 часа ночи, считали день обнаружения спермы в мазке первым днем беременности. Затем самцов отсаживали от самок. Беременных крыс содержали в отдельных клетках, обеспечив их необходимой подстилкой для устройства гнезда. С первого дня беременности за животными устанавливали наблюдение. Контролировали состояние и поведение самок, регистрировали динамику изменения массы тела, продолжительность беременности, течение родов.

Учет результатов эксперимента проводили при забое беременных самок на 20-й день беременности. После эвтаназии взрослых крыс путем дислокации шейных позвонков на вскрытии в яичках подсчитывали количество желтых тел, в матке – места имплантации, число живых и погибших зародышей. Учитывали также состояние плаценты. Эмбриональный материал внимательно осматривали, оценивали анатомическое строение плодов, определяли массу плодов и кранио-каудальные размеры [3].

Павлова Ольга Николаевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры медико-биологических дисциплин. E-mail: casiopeya13@mail.ru

Пинаева Ольга Николаевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры медико-биологических дисциплин. E-mail: o_pinaeva@mail.ru

Гарипов Талгат Валлирахманович, доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий кафедрой физиологии

Супильников Алексей Александрович, кандидат медицинских наук, доцент, первый проректор по научной деятельности

Таблица 1. Группы экспериментальных животных

Номер группы	Материалы исследования
1	самки и самцы получали суспензию шрота семян винограда в течение 21 дня до оплодотворения.
2	самки получали суспензию шрота семян винограда в течение 21 дня до оплодотворения, самцы получали воду дистиллированную
3	самцы получали суспензию шрота семян винограда в течение 21 дня до спаривания с самками, самки получали воду дистиллированную.
4	самки получали суспензию шрота семян винограда 21 день до наступления беременности, а также с 1 по 13 сутки беременности
5	самки получали суспензию шрота семян винограда 21 день до наступления беременности, а также с 14 по 20 сутки беременности
6	самки получали суспензию шрота семян винограда с 1 по 13 сутки беременности
7	самки получали суспензию шрота семян винограда с 14 по 20 сутки беременности
8	контрольная группа животных
9	самцы получали суспензию шрота семян винограда на протяжении 41 дня

Показателями эмбриотоксического действия шрота семян винограда считали эмбриональную (пред- и постимплантационную) гибель плодов и отставание в развитии, проявляющееся уменьшением массы тела и кранио-каудальных размеров плодов. Предимплантационную эмбриональную смертность рассчитывали по разнице между количеством желтых тел и количеством мест имплантации в матке. Постимплантационную гибель определяли по разнице между числом имплантаций и числом живых плодов. Изучали также общую эмбриональную смертность, размер помета, выход живых плодов.

Новорожденных крысят осматривали, регистрировали кранио-каудальные размеры, определяли массу тела. В яичниках подсчитывали количество атретических тел яичников, графовых пузырьков, фолликул с одним слоем гранулезных клеток, фолликул с двумя и более слоями гранулезных клеток. В семенниках оценивались следующие показатели – массовый коэффициент семенников; массовый коэффициент придатков; массовый коэффициент предстательной железы; патологические формы сперматозоидов. Цифровой материал подвергали статистической обработке с определением критерия Стьюдента с использованием программы Sigma Stat 6.0 [3].

Результаты исследования. На протяжении всего периода беременности не было отмечено достоверных различий в динамике массы тела беременных самок во всех экспериментальных группах по сравнению с контролем (табл. 2).

Результаты количественной оценки репродуктивной функции крыс и состояния потомства в антенатальном периоде на фоне нагрузки шротом семян винограда, представлены в табл. 3. По результатам, представленным в табл. 3 видно, что среднее количество крысят в помете в экспериментальных группах 2, 3, 4, 6, и 7 соответствовало контролю. При этом в 1 группе среднее количество крысят в помете по сравнению с контрольными животными было достоверно меньше на 14,00%, а в пятой группе – достоверно больше на 11,2%. Количество желтых тел из расчета на одну самку во 3, 4, 5, 6 и 7 экспериментальных группах было примерно на одном уровне и соответствовало живот-

ным контрольной группы. При этом в 1 группе среднее количество желтых тел из расчета на одну самку было больше на 13,04%, а во второй группе – больше на 17,39% относительно контроля. Количество мест имплантации из расчета на одну самку в группах 3, 5, 6 и 7 так же соответствовало контролю, а в группах 1, 2 и 4 было выше на 15,32%, 18,02% и 19,82% соответственно.

Доимплантационная гибель зародышей в 1 и 5 экспериментальных группах соответствовала контролю. Во второй экспериментальной группе наблюдалась большая доимплантационная гибель зародышей, чем в контрольной группе на 14,8%, а в 3, 4, 6 и 7 экспериментальных группах гибель была ниже, чем в контроле, на 18,5%, 55,6%, 22,2% и 33,3% соответственно. Постимплантационная гибель зародышей в 5 экспериментальной группе соответствовала контролю, а во всех остальных группах была существенно выше: в 1 группе на выше на 800%, во второй – на 550%, в 3 и 7 группах – выше на 75%, в 4 – выше на 325% и в 6 группе – выше на 100% относительно контроля. Таким образом, общая смертность зародышей в 3, 4, 5 и 6 экспериментальных группах соответствовала контрольной группе, а в 1 и 2 экспериментальных группах была достоверно выше, чем в контроле на 106,5% и 83,9% соответственно. В седьмой группе общая смертность зародышей была ниже на 19,4% по отношению к контролю.

Средняя масса плодов у животных 1, 3, 4, 6 и 7 групп почти не отличалась от контроля. В остальных экспериментальных группах масса плодов была достоверно выше, чем у животных контрольной группы: во 2 группе – на 13,1%, в 5 группе – на 16,1%. Кранио-каудальный размер плодов в группах 3, 4, 6 и 7 соответствует контролю, а в группах 1, 2, и 5 достоверно больше на 11,8%, 18,7% и 12,6% соответственно относительно контроля. При этом коэффициент массы/длины плодов во всех группах был примерно одинаков и соответствовал контролю. Средняя масса плаценты в группах 1, 3, 4, 6 и 7 соответствовала контролю, а в остальных группах была достоверно больше: во 2 группе – на 13,2%, в 5 группе – на 23,7% относительно контроля. При этом плодово-плацентрный индекс во всех группах был примерно одинаков и соответствовал контролю.

Таблица 2. Динамика массы тела беременных самок

Срок беременности	Группы животных							
	1	2	3	4	5	6	7	8
до начала эксперимента	205,4±7,19	203,8±7,33	200,1±7,20	211,6±6,98	198,8±7,16	207,7±7,89	197,8±6,52	203,6±7,33
7 дней	239,1±7,41	237,2±8,54	238,9±7,64	241,5±8,94	244,4±10,02	233,3±8,39	231,2±8,09	236,6±8,75
14 дней	274,9±9,62	268,1±9,11	272,2±9,53	277,3±9,43	282,2±9,88	274,2±9,59	279,4±10,89	284,7±10,82
20 день	313,3±9,71	301,5±11,46	309,4±11,45	307,2±9,53	316,1±12,01	303,6±9,41	315,9±11,69	311,1±11,51

Таблица 3. Репродуктивная функция крыс и состояние потомства в антенатальном периоде при нагрузке шротом семян винограда

Показатели		Контрольная группа (8)	Группы, получавшие шрот семян винограда						
			1	2	3	4	5	6	7
количество	самок	10	10	10	10	10	10	10	10
	плодов/самку	10,7±0,38	9,2±0,32 ¹	10,5±0,37	10,2±0,35	11,6±0,44	11,9±0,37 ¹	11,2±0,32	10,8±0,35
	желтых тел/самку	13,8±0,44	15,6±0,58 ¹	16,2±0,50 ¹	13,1±0,46	14,5±0,55	15,1±0,51	14,1±0,54	13,3±0,39
	мест имплантации/самку	11,1±0,35	12,8±0,46 ¹	13,1±0,48 ¹	10,9±0,38	13,3±0,45 ¹	12,2±0,44	12,0±0,43	11,5±0,42
гибель зародышей доимплантационная	абс.	2,7±0,08	2,8±0,09	3,1±0,11 ¹	2,2±0,07 ¹	1,2±0,04 ¹	2,9±0,10	2,1±0,08 ¹	1,8±0,06 ¹
гибель зародышей постимплантационная	абс.	0,4±0,012	3,6±0,126 ¹	2,6±0,086 ¹	0,7±0,022 ¹	1,7±0,061 ¹	0,3±0,011	0,8±0,029 ¹	0,7±0,025 ¹
общая смертность	абс.	3,1±0,08	6,4±0,21 ¹	5,7±0,22 ¹	2,9±0,08	2,9±0,11	3,2±0,12	2,9±0,11	2,5±0,08 ¹
средняя масса плода, г	20 день эмбрионального развития	1,37±0,046	1,46±0,051	1,55±0,057 ¹	1,31±0,045	1,49±0,053	1,59±0,054 ¹	1,41±0,049	1,47±0,053
	кранио-каудальные размеры плода, см	2,62±0,091	2,93±0,097 ¹	3,11±0,115 ¹	2,73±0,098	2,89±0,106	2,95±0,109 ¹	2,67±0,096	2,84±0,094
коэффициент массы/длины плодов		0,52±0,017	0,50±0,016	0,50±0,018	0,48±0,015	0,52±0,019	0,54±0,019	0,53±0,020	0,52±0,016
средняя масса плаценты, г		0,38±0,013	0,36±0,012	0,43±0,015 ¹	0,35±0,013	0,41±0,014	0,47±0,016 ¹	0,39±0,014	0,37±0,012
плодово-плацентарный индекс		0,27±0,009	0,25±0,007	0,28±0,010	0,27±0,009	0,28±0,008	0,30±0,010	0,28±0,011	0,25±0,008
результаты внешнего осмотра плодов									
количество обследованных плодов	абс.	113	98	107	115	122	127	119	111
количество плодов с аномалиями развития	общее/%	3/2,6	4/4,1	2/1,9	0	2/1,6	0	5/4,2	0
результаты оценки состояния внутренних органов плодов									
количество обследованных плодов	абс.	113	98	107	115	122	127	119	111
количество плодов с аномалиями развития	общее/%	7/6,1	3/3,1	4/3,7	1/0,9	0	1/0,8	3/2,5	0
результаты исследования развития костной системы плодов крыс на фоне нагрузки шротом семян винограда									
количество обследованных плодов	абс.	113	98	107	115	122	127	119	111
задержка ossификации грудной кости (грудины)	общее/%	0	0	0	0	0	0	2/1,7	1/0,9
задержка ossификации подъязычной кости	общее/%	2/1,7	0	0	0	0	0	0	1/0,9
задержка ossификации костей пясти и плюсны	общее/%	0	0	0	0	0	0	1/0,8	2/1,8
отсутствие конечностей	общее/%	0	0	0	0	0	0	0	0

Примечание: различия достоверны при P<0,05: ¹ – по сравнению с показателями животных контрольной группы

Результаты внешнего осмотра плодов показали, что в группах 3, 5 и 7 аномалий развития не наблюдается. При этом в контрольной группе было выявлено 3 плода с нарушениями внешнего развития (2,6%), в группе 1 – 4 крысенка (4,1%) и в группе 2 – 2 плода (1,9%), в группе 4 – 2 плода (1,6%) и в группе 6 – 5 крысят (4,2%). Результаты исследования развития костной системы плодов крыс на фоне нагрузки шротом семян винограда показали, что задержка оссификации грудной кости наблюдалась только у 2 крысят (1,7%) в 6 экспериментальной группе и 1 крысенка (0,9%) в 7 экспериментальной группе. Задержка оссификации подъязычной кости наблюдалась у 2 крысят (1,7%)

контрольной группы и 1 крысенка (0,9%) в 7 экспериментальной группе. Задержка оссификации костей пясти и плюсны наблюдалась у 1 крысенка (0,8%) 6 группы и 2 крысят (1,8%) 7 экспериментальной группы. Отсутствия конечностей у крысят зафиксировано не было.

Результаты оценки состояния внутренних органов плодов (табл. 4) показали, что аномалии в развитии наблюдались в контрольной группе у 7 крысят (6,1%) в 1 группе – у 3 плодов (3,1%), во 2 группе – у четырех крысят (3,7%), в 3 и 5 группах по одному крысенку (0,9 и 0,8% соответственно) и в 6 группе – у трех крысят (2,5%).

Таблица 4. Результаты обследования внутренних органов плодов крыс

Показатели	Контрольная группа (8)	Группы, получавшие шрот семян винограда						
		1	2	3	4	5	6	7
полнокровие сосудов печени	0	0	2/1,85	0	0	0	0	0
кровоизлияния в печени	0	0	0	1/0,9	0	1/0,8	0	0
подкожное кровоизлияние	0	1/1,03	0	0	0	0	0	0
кровоизлияние в почках	0	1/1,03	0	0	0	0	0	0
кровоизлияние в кишечнике и желудке	0	0	2/1,85	0	0	0	0	0
кровоизлияние в мозговых оболочках	7/6,1	1/1,03	0	0	0	0	3/2,5	0

Результаты оценки состояния семенников крыс показали (табл. 5), что массовый коэффициент семенников, придатков и предстательной железы у групп получавших виноградный шрот практически совпадает с контрольной группой, а патологические формы сперматозоидов у этих же групп встречаются чаще на 2,9% и 5,7% соответственно. По результатам эксперимента было выявлено, что, в основном показатели, используемые как

маркеры состояния репродуктивной системы самок (табл. 6) у опытной группы выше: атретических тел яичников больше на 12%; граафовых пузырьков больше на 4%; фолликул с двумя и более слоями гранулезных клеток больше на 20,4%. Однако, фолликул с одним слоем гранулезных клеток у самок экспериментальной группы было меньше на 8,3% по сравнению с контролем.

Таблица 5. Функциональные показатели состояния семенников крыс на фоне нагрузки шротом семян винограда

Показатели	Контрольная группа (8)	Группы, получавшие шрот семян винограда	
		1	9
массовый коэффициент семенников	8,5±0,29	8,3±0,31	8,7±0,33
массовый коэффициент придатков	3,9±0,13	3,2±0,12 ¹	3,4±0,12 ¹
массовый коэффициент предстательной железы	3,3±0,12	3,2±0,09	3,0±0,11
патологические формы сперматозоидов, %	38,7±1,35	41,6±1,49	44,4±1,69 ¹

Примечание: различия достоверны при P<0,05: ¹ – по сравнению с показателями животных контрольной группы

Таблица 6. Результаты количественной оценки структурных элементов яичников крыс на фоне нагрузки шротом семян винограда

Структурные элементы яичников	Контрольная группа (8)	Группа 1
атретические тела яичников	1193,5±42,93	1341,2±50,96 ¹
граафовы пузырьки	6,5±0,21	6,8±0,25
фолликулы с одним слоем гранулезных клеток	657,8±24,95	603,5±21,73
фолликулы с двумя и более слоями гранулезных клеток	82,3±2,72	99,1±3,67 ¹

Примечание: различия достоверны при P<0,05: ¹ – по сравнению с показателями животных контрольной группы.

Выводы:

1. На фоне нагрузки виноградным шротом не наблюдается достоверных различий в динамике массы тела беременных самок.

2. В зависимости от длительности поступления шрота в организм отмечено увеличение среднего количества крысят в помете и мест имплантации из расчета на самку.

3. На фоне нагрузки виноградным шротом снижается общая смертность эмбрионов, увеличивается масса и кранио-каудальный размер плодов, также средняя масса плаценты

4. Введение шрота в рацион крыс на ранних этапах беременности вызывает незначительную задержку оксификации костей;

5. Виноградный шрот на репродуктивную систему самцов практически не оказывает положительного влияния, но выявлена положительная

динамика в развитии репродуктивной системы самок.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Павлова, О.Н. Реактивные изменения ткани печени крыс в результате нагрузки шротом семян винограда / О.Н. Павлова, Т.В. Гарипов, Ю.В. Григорьева и др // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2013. Вып. 3. С. 85-89.
2. Павлова, О.Н. Оценка морфологического состава крови крыс на фоне нагрузки внутрижелудочно шротами семян винограда, граната и кунжута // Известия Самарской государственной сельскохозяйственной академии. 2012. Вып. №1. С. 43-47.
3. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. П.У. Хабриева. 2-изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. 832 с.

REACTIVE CHANGES OF RATS REPRODUCTIVE SYSTEM ON THE BACKGROUND LOADING BY GRAPES SEEDS MEAL

© 2014 O.N. Pavlova¹, O.N. Pinayeva¹, T.V. Garipov², A.A. Supilnikov¹

¹ Medical Institute "REAVIZ", Samara

² Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman

Results on dynamics of reactive changes of rats reproductive system on the background loading by grapes seeds meal are presented in article. The assessment was made in the following parameters: embryonic (before - and post-implantation) fetuses death; the lag in development which is shown in reduction of body weight and the cranio-caudal sizes of fetuses; functional activity of reproductive organs of males and females.

Key words: *meal, grapes, reproductive system, germ, cranio-caudal sizes, fetus and placental index*

Olga Pavlova, Candidate of Biology, Associate Professor at the Medical and Biological Disciplines Department. E-mail: casiopeya13@mail.ru

Olga Pinaeva, Candidate of Biology, Associate Professor at the Medical and Biological Disciplines Department. E-mail: o_pinaeva@mail.ru

Talgat Garipov, Doctor of Veterinary, Professor, Head of the Physiology Department

Andrey Supilnikov, Candidate of Medicine, Associate professor, First Deputy Rector on Scientific Work