

На правах рукописи

Зайнаева Татьяна Павловна

**СИСТЕМА «МАТЬ-ПЛАЦЕНТА-ПЛОД»
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ СТРЕССЕ У ЖИВОТНЫХ С РАЗЛИЧНОЙ
ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ СТРЕСС-УСТОЙЧИВОСТЬЮ**

03.03.01 – физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Архангельск – 2017

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России на кафедре нормальной физиологии

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент **Егоркина Светлана Борисовна**

Официальные оппоненты:

Полунин Иван Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, Заслуженный работник Высшей школы РФ, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» (г. Астрахань) Минздрава России, заведующий кафедрой нормальной физиологии

Лебедев Андрей Викторович, кандидат медицинских наук, ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» (г. Архангельск) Минздрава России, доцент кафедры патологической физиологии.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К.Анохина» (г.Москва)

Защита диссертации состоится «__» _____ 2017 года. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.004.01 при ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу: 163000, г. Архангельск, пр. Троицкий, д. 51.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке и на сайте ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу: 163000, г. Архангельск, пр. Троицкий, д. 51; www.nsmu.ru.

Автореферат разослан «__» _____ 2017 г.

**Ученый секретарь
совета по защите диссертаций
на соискание ученой степени кандидата
наук, доктора наук
доктор медицинских наук, профессор**

Вилова Татьяна Владимировна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. В современной репродуктивной физиологии одним из актуальных вопросов является изучение влияния факторов внешней среды на материнский организм, течение беременности, эмбриональное и постнатальное развитие потомства. Репродуктивная способность определяет приспособленность организма к действию стрессорного фактора и является маркером неблагоприятной экологической ситуации.

По данным авторов (Циркин В.И. и др., 2012; Smith J. et al., 2000; Pittman Q., 2008; Stone A. et al., 2008; Slattery D. et al., 2008) беременность повышает устойчивость организма самки к стрессорным воздействиям. При этом главным «исполнителем» успешного пролонгирования и завершения гестационного процесса является система «мать-плацента-плод», которая формируясь на ресурсной основе организма, обеспечивает интеграцию функциональных элементов, рецепторов и нервно-гуморальных механизмов с целью создания оптимальных условий для развития плода (Милованов А.П., 2001; Пятышкина Н.А., 2008; Сидорова И.С., 2010). Устойчивость системы «мать-плацента-плод» к действию различных раздражителей неодинакова и зависит, с одной стороны, от повреждающего потенциала стресс-фактора, с другой, от индивидуальных ресурсов, предопределяющих эффективность адаптации этой функциональной системы (Маклаков А.Г., 2001; Савченков Ю.И., 2011; Чистякова Н.В., 2013). Особую роль в формировании адаптации организма к действию раздражителей различной природы играет его индивидуальная стресс-резистентность. Показано, что устойчивость к стрессу формируется на основе генетических особенностей организма, и ее фенотипической изменчивости в ходе онтогенетического развития (Пшенникова М.Г., 2003; Судаков К.В., 2005; Мулик А.Б. и др., 2009; Васильева Н.Н., 2013; Коплик Е.В. и др., 2013).

В настоящее время интенсивное использование электрической и электромагнитной энергии обуславливает многократное увеличение электромагнитного фона окружающей среды. Особый интерес представляют исследования эффектов электромагнитных низкочастотных излучений, которые рассматриваются ВОЗ как «комфортные» или предельно допустимые. По мнению Г.В. Федорович (2006), А.П. Чёрного (2013) эти частоты оказываются более опасными, чем высокочастотные излучения, поскольку обладают «нетепловым» или информационным воздействием.

Результатом негативного действия электромагнитных излучений являются изменения на физиологическом, биохимическом и морфологическом уровнях (Пряхин Е.А., 2007; Полина Ю.В., 2009; Кошарный В.В. и др., 2011; Трифонова Н.Ю. и др., 2015; Esmekeya M.A. et al., 2011). При этом репродуктивная система страдает раньше других, что проявляется снижением генеративной способности и увеличением частоты патологии беременности (Савченков Ю.И. и др., 2001; Шилкова Т.В., 2011). Особо чувствительны к действию электромагнитных излучений эмбриональные клетки, поскольку активно пролиферируют и обладают высоким уровнем метаболизма (Белкин А.Д., 1999; Замай Т.Н., 2005).

Однако, в настоящее время, остаются малоизученными физиологические механизмы развития адаптационных процессов при действии стрессорных факторов на состояние системы «мать-плацента-плод» как в клинических, так и экспериментальных условиях.

Цель и задачи исследования. Оценить стресс-индуцированные физиологические и морфологические изменения в системе «мать-плацента-плод» у экспериментальных животных с различной прогностической стресс-устойчивостью.

Для достижения указанной цели поставлены следующие задачи:

1. Изучить содержание гормонов стресса (11-оксикортикостероидов и катехоламинов) у виргинных и беременных самок с различной прогностической стресс-устойчивостью в условиях прерывистой иммобилизации, техногенного вращающегося электрического поля (ВЭП) и при сочетанном их влиянии.
2. Сравнить физиологические и морфологические изменения в системе «мать-плацента-плод» при стрессорных воздействиях различной модальности.
3. Определить особенности стресс-индуцированных изменений системы «мать-плацента-плод» у экспериментальных животных в зависимости от их индивидуальной стресс-устойчивости.

Научная новизна.

В работе впервые проведен сравнительный анализ физиологических и морфологических показателей системы «мать-плацента-плод» в динамике развития стресса различной модальности. Впервые показано, что техногенное вращающееся электрическое поле у беременных самок вызывает увеличение содержания 11-оксикортикостероидов (11-ОКС), повышение адаптационного индекса Гаркави -

Квакиной, увеличение эмбриональной смертности и сопровождается переходом опытных животных из группы стресс-резистентных в группу стресс-предрасположенных, что позволяют верифицировать его, как стрессорный фактор техногенной природы.

Впервые выявлена особенность стресс-индуцированных изменений в системе «мать-плацента-плод» у экспериментальных животных в зависимости от их индивидуальной стресс-устойчивости. Дополнены сведения о том, что беременность является особым физиологическим состоянием, которое повышает толерантность женского организма к действию стрессорных факторов для создания оптимальных условий развития плода и «сглаживает» межгрупповые различия по устойчивости к стрессу при действии незначительных по силе и близких по модальности к естественным раздражителям.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Хронический стресс различной модальности (иммобилизация, ВЭП, их сочетание) сопровождается изменением физиологических показателей у беременных самок: содержанием гормонов стресса (11-ОКС и катехоламинов), адаптационного индекса Гаркави-Квакиной и поведенческой активности животного.

2. Прерывистая иммобилизация, ВЭП, и сочетание этих воздействий приводят к изменению морфологических показателей в системе «мать-плацента-плод»: клеточного состава эндометрия, массы, объёма, площади последов и площади межворсинчатого пространства.

3. Физиологические и морфологические изменения в системе «мать-плацента-плод» при стрессорных воздействиях зависят как от модальности стресса, так и от индивидуальной прогностической стресс-устойчивости экспериментальных животных.

Научно-практическая значимость работы и внедрение результатов.

Работа является первым экспериментальным исследованием по изучению влияния хронической иммобилизации и техногенного вращающегося электрического поля на систему «мать-плацента-плод» у животных с различной прогностической стресс-резистентностью. Результаты проведенных исследований использованы как в научно-исследовательской, так и в клинической практике. Экспериментальная модель вращающегося электрического поля, разработанная нами совместно с кафедрой вычислительной техники факультета информатики и вычислительной техники ИжГТУ,

может применяться в научно-экспериментальных лабораториях с целью изучения влияния техногенных факторов на биологические объекты (патент на полезную модель №166292 «Устройство для исследования влияния вращающегося электрического поля на биологические объекты» заявка №2016100293).

Полученные в ходе эксперимента результаты, могут быть использованы в клинике акушерства, так как позволяют формировать теоретический базис для разработки научно-обоснованных мер профилактики и рекомендаций по коррекции влияния техногенных факторов и длительной иммобилизации на беременных женщин и их потомство.

Результаты диссертационной работы внедрены в лечебно-профилактическую деятельность государственного автономного учреждения здравоохранения республики Татарстан, города Казань «Городская поликлиника №4» (акт внедрения от 10.11.2016). Результаты исследования внедрены в учебный процесс на кафедрах нормальной физиологии, патологической физиологии, гистологии, цитологии и эмбриологии, кафедрах биофизики для студентов и аспирантов ФГБОУ ВО ИГМА (акт о внедрении от 01.11.2016).

Личный вклад автора.

Автор лично подготовил план, программу и задачи исследования, собрал и проанализировал отечественные и зарубежные публикации по теме диссертации, самостоятельно выполнил все экспериментальные работы. Совместно с кафедрой вычислительной техники факультета информатики и вычислительной техники ИжГТУ автором разработана и зарегистрирована экспериментальная установка (патент на полезную модель №166292 «Устройство для исследования влияния вращающегося электрического поля на биологические объекты» заявка №2016100293). Автор лично выполнил математико-статистическую обработку и анализ полученных результатов, которые опубликовал в виде тезисов и статей в научных изданиях. Автором самостоятельно написан текст диссертации и автореферата.

Апробация работы.

Результаты исследования представлены или доложены на XV Юбилейной Всероссийской медико-биологической конференции молодых исследователей (с международным участием) «Фундаментальная наука клиническая медицина. Человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 2012); XII Межвузовской научной конференции

молодых ученых и студентов (Ижевск, 2012); XII Межвузовской научной конференции молодых ученых и студентов (Ижевск, 2013); XXII съезд физиологического общества им. И.П. Павлова (Волгоград, 2013), XII Международная научно-техническая конференция «Приборостроение в XXI веке. Интеграция науки, образования и производства» (Ижевск, 2016).

Область исследования. Диссертационная работа выполнена в соответствии с паспортом научной специальности 03.03.01 – физиология:

п. «1» «Изучение закономерностей и механизмов поддержания постоянства внутренней среды организма»;

п. «2» «Анализ механизмов нервной и гуморальной регуляции, биохимических и биофизических процессов, определяющих динамику и взаимодействие физиологических функций», а также поведенческие акты в условиях стресса.

Сведения о публикациях. По материалам диссертации опубликовано 16 научных работ, в том числе 4 работы – в ведущих научных рецензируемых журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией. Получен патент на полезную модель №166292 «Устройство для исследования влияния вращающегося электрического поля на биологические объекты» заявка №2016100293 от 05.09.16.

Структура и объем диссертации.

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения, выводов и списка литературы. Материал диссертации изложен на 113 страницах машинописного текста и иллюстрирован 2 схемами, 9 рисунками и 10 таблицами. Библиографический список состоит из 305 источников, из них 204 отечественных и 101 зарубежный.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Хронические опыты проведены на 181 беспородных крысах самках массой 230-270 грамм. Протокол эксперимента, содержание животных и выведение их из опыта осуществляли в соответствии с принципами биоэтики, изложенными в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985 г.) и приказе МЗ РФ №708н от 23.08.2010. «Об утверждении правил лабораторной практики». Проведение исследования одобрено

комитетом по биомедицинской этике Ижевской государственной медицинской академии, аппликационный № 306 от 24.04.2012.

До начала и после окончания опытов с целью определения устойчивости исследуемых животных к стрессу проводили тестирование по методике «открытого поля» в течение 5 минут и определяли показатель «коэффициент устойчивости» (Куст) (Коплик Е.В., 2002). Процесс регистрации и оценку поведенческих показателей животных осуществляли с использованием программного комплекса RATEST (Юдицкий А.Д. др., 2014). В зависимости от поведения в «открытом поле» животные были разделены на две группы, в которых изучаемые показатели достоверно различались между собой. Животных первой группы условно обозначали как «активные» стресс-устойчивые (СУ) (Куст = 2,00 - 5,00), второй группы - «пассивные» стресс-неустойчивые (СН) (Куст = 0,30 - 0,70). В ходе эксперимента проведены 3 серии опытов. В первой серии беременных крыс (n=30) подвергали действию хронической прерывистой иммобилизации. Во второй серии беременных животных (n=27) помещали в экспериментальную модель техногенного вращающегося электрического поля. В третьей серии опытов беременных самок (n=29) подвергали сочетанному действию техногенного вращающегося электрического поля с хронической прерывистой иммобилизацией. Хроническую прерывистую иммобилизацию моделировали путем жесткой фиксации животных к лабораторным станкам за 4 конечности брюшком кверху ежедневно по 60 минут в течение 10 дней. Действие техногенного вращающегося электрического поля (ВЭП) осуществляли, помещая крыс в центральную часть установки, моделирующей ВЭП (патент на полезную модель №166292 «Устройство для исследования влияния вращающегося электрического поля на биологические объекты» заявка №2016100293). Опыты проводили в первой половине дня ежедневно по 60 минут в течение 10 дней. Беременных самок в опыт брали с 10 дня беременности, поскольку данные сроки является «критическими» и включает процессы гастрюляции, обособление основных зачатков, ранний и поздний органогенез (Бородин Ю.И. и др., 2014). Первый день беременности устанавливали на основании обнаружения сперматозоидов во влагалищных мазках или наличия вагинальной пробки (Бессалова Е.Ю., 2006). Группой контроля служили «активные» и «пассивные» виргинные (небеременные) (n=25) и беременные самки (n=32), не подвергавшиеся экспериментальным воздействиям. Животных опытных и контрольной групп выводили из эксперимента путем введения

этамилал-натрия в дозе 60мг/кг внутривенно, осуществляли забор крови из полостей сердца, а также проводили аутопсию самок и плодов.

При макроскопическом исследовании последов оценивали степень их кровенаполнения, форму, цвет и консистенцию, а также осуществляли органометрию (измерение массы, объема и площади последов). У извлеченных плодов оценивали внешний вид и определяли массу тела. Показатель общей эмбриональной смертности рассчитывали по формуле Щербака (1976).

$$\text{Общая эмбриональная смертность (\%)} = (B - A) / B \times 100$$

Где А - количество живых плодов, В - количество желтых тел.

Для микроскопического изучения последов срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и изучали под микроскопом. В лабиринтном отделе плаценты площадь межворсинчатого пространства оценивали посредством наложения на цифровое изображение 100-точечной измерительной сетки в программе Adobe Photoshop CS2. Площадь межворсинчатого пространства пересчитывали по формуле Пика $S=n+k/2-1$, где n - число узлов внутри многоугольника, k - число граничных узлов. В эндометрии рогов матки экспериментальных животных подсчитывали общее количество нейтрофилов и лимфоцитов (Кучерявых Л.Е., 2001).

В плазме крови экспериментальных животных определяли содержание гормонов надпочечников: 11-оксикортикостероидов (ОКС) по флуоресценции в серно-спиртовом растворе (Резников А.Г., 1980) и катехоламинов (Шоу в модификации Матлиной Э.Ш., 1968).

Неспецифическую резистентность экспериментальных животных оценивали по адаптационному индексу (АИ) Гаркави-Квакиной-Уколовой. АИ вычисляли как отношение лимфоцитов к сегментоядерным нейтрофилам: 0,30 и меньше свидетельствовало о наличии стресса; 0,31 - 0,50 - реакции тренировки; 0,51 - 0,70 - реакции спокойной активации; 0,71 и больше - реакции повышенной активации (Гаркави Л.Х. и др., 1990).

Статистический анализ проводили по декадам с использованием программ Statistica 6.0, Microsoft Excel 2005. Статистическая достоверность данных установлена для независимых выборок на основании U-критерия Манна-Уитни. Для выявления корреляционной зависимости использовали ранговый тест Спирмена. Различия выборок считали достоверными при уровне значимости $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Система «мать-плацента-плод» в условиях хронического иммобилизационного стресса у крыс с различной стресс-устойчивостью

В данной экспериментальной серии изучали влияние 10-дневной прерывистой иммобилизации на содержание гормонов стресса (11-ОКС и катехоламинов), изменение индекса Гаркави-Квакиной и клеточного состава эндометрия у самок с учетом их индивидуальной прогностической стресс-устойчивости, а также морфофункциональное состояние последов и плодов.

Прерывистая 10-дневная иммобилизация виргинных самок повышала содержание 11-ОКС: у «активных» особей с $212 \pm 82,9$ мкг/л до 2198 ± 137 мкг/л ($p \leq 0,001$), у «пассивных» с $228,4 \pm 37,5$ мкг/л; до $2864,2 \pm 128,6$ мкг/л ($p \leq 0,001$), то есть более чем в 10 раз, что позволяет рассматривать это воздействие как стрессорное (Сорокин А.В., 2009; Щербаков Д.Л., 2014; Daviu N. et al., 2014) (рис. 1).



Рис. 1. Абсолютное содержание 11-ОКС (мкг/л) в плазме крови крыс-самок при хроническом иммобилизационном стрессе.

Примечание: I – контроль виргинные самки; II – опыт виргинные самки; III – контроль беременные самки; IV – опыт беременные самки; * - статистически значимые отличия от контроля (* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$), # - статистически значимые отличия между СУ и СН (# - $p \leq 0,05$; ## - $p \leq 0,01$)

У беременных особей (стресс-устойчивых и стресс-неустойчивых) на 10 день иммобилизации не изменялось содержание гормонов стресса в плазме крови (11-ОКС и катехоламинов), адаптационный индекс Гаркави-Квакиной соответствовал «реакции тренировки».

Вероятно, повышение толерантности материнского организма к стрессорным раздражителям обусловлено большим содержанием эстрадиола и прогестерона в плазме крови, а также выработкой фертильных факторов (α_2 -микроглобулин фертильности,

трофобластический- β_1 -глико-протеид), которые ослабляют действие адреналина и адреноректорикотропного гормона и снижают их уровень содержания в организме (Терещенко С.Н. и др., 2007; Хадарцев А.А. и др., 2012).

Морфометрическое исследование последов, полученных от опытных самок не выявило статистически достоверных изменений по сравнению с контролем. Последы имели как дисковидную, так и овальную форму с эксцентричным прикреплением пупочного канатика. Материнская и плодовая поверхность органа темно-красного цвета, в 15% случаев с белесоватыми мелкоточечными вкраплениями.

При микроскопическом исследовании в плацентах наблюдалось повышение кровенаполнения лабиринта, приводящее к увеличению количества, площади материнских лакун и плодовых сосудов. Площадь межворсинчатого пространства лабиринтной зоны плаценты достоверно увеличилась у «активных» животных до $393341,9 \pm 33292$ мкм² ($p \leq 0,01$), «пассивных» до $370572,7 \pm 47675$ мкм² ($p \leq 0,01$) при исходном значении 44874 ± 3998 мкм² и 42763 ± 3522 мкм² соответственно. Фетальные капилляры имели как обычный, так и расширенный просвет. По данным А.П. Милованова (1999); Н.А. Пятышкиной (2008) расширение межворсинчатого пространства обусловлено повышением кровенаполнения последов и способствует большему контакту ворсин хориона с материнской кровью, в результате формируются условия для лучшего поступления кислорода к плоду.

Сравнительный анализ эмбриологических показателей показал, что хроническая прерывистая иммобилизация у животных не изменяет массометрические параметры плодов и сопровождается уменьшением численности помета по сравнению с контрольной группой. В группе стресс-устойчивых животных эмбриональная смертность увеличилась с $18,6 \pm 0,2\%$ до $26 \pm 1,13\%$ ($p \leq 0,01$), в группе стресс-неустойчивых животных с $10,9 \pm 0,3\%$ до $11,9 \pm 0,3\%$ ($p \geq 0,05$). Вероятно, наблюдаемое уменьшение численности плодов обусловлено изменением репродуктивной стратегии системы «мать-плацента-плод», направленной на «сброс» части элементов этой функциональной системы (Бородин Ю.И. и др., 2014). В результате снижения репродуктивной нагрузки каждый из оставшихся плодов получал определенные метаболические преимущества для роста и развития.

Оценка клеточного состава эндометрия рогов матки у иммобилизованных самок не выявила достоверного изменения соотношения количества нейтрофилов и

лимфоцитов по сравнению с контрольной группой животных. По данным Л.Е. Кучерявых (2001) состояние поверхности слизистой эндометрия (морфология, количество иммунокомпетентных клеток) является отражением иммунных процессов, происходящих в матке. Отсутствие достоверного изменения количественного соотношения нейтрофилов и сегментоядерных нейтрофилов в отпечатке эндометрия у опытных животных указывает на сохранение «терпимости» местного иммунитета матки.

Таким образом, 10-дневная прерывистая иммобилизация для беременных самок не являлась значимым стрессорным фактором, способным нарушить материнско-плодовые взаимоотношения, а структурные перестройки последов (увеличение материнских лакун) были направлены на улучшение кровоснабжения плодов.

2. Система «мать-плацента-плод» в условиях техногенного вращающегося электрического поля у крыс с различной стресс-устойчивостью

Вращающееся электрическое поле, экспериментальная модель которого использовалась в наших опытах, сопровождалась изменением поведенческой активности животных, гормонального профиля крови (11-ОКС и катехоламины) как у виргинных, так и у беременных самок (стресс-устойчивых и стресс-неустойчивых), а также приводила к повышению индекса напряжения по Гаркави-Квакиной.

Оценка поведенческой активности беременных самок показала, что ВЭП модифицирует поведенческие реакции животного в тесте «открытое поле». Так, из 12 стресс-резистентных опытных особей с коэффициентом устойчивости от 2,00 до 5,00 после 10-дневного воздействия ВЭП 11 животных перешли в группу стресс-предрасположенных, так как их коэффициент устойчивости составил от 0,2 до 0,4. Изменение двигательной активности с переходом животного из группы СУ в группу СН позволяет предположить о наступлении срыва адаптационных механизмов животного.

У виргинных особей при действии ВЭП наблюдалось достоверное увеличение содержания кортикостероидов и уменьшение катехоламинов в плазме крови по сравнению с интактными животными. Так, содержание кортикостероидов у «активных» животных возрастало примерно в 15 раз, у «пассивных» животных в 24 раза, по сравнению с контрольными величинами этих гормонов у интактных животных. Количество катехоламинов при этом снижалось у СУ животных до $0,006 \pm 0,0005$ мкг/л

($p \leq 0,01$), у СН особей до $0,005 \pm 0,0003$ мкг/л ($p \leq 0,01$) при исходном значении $0,05 \pm 0,03$ мкг/л и $0,05 \pm 0,007$ мкг/л соответственно.

У беременных самок действие ВЭП сопровождалось повышением уровня 11-ОКС у СУ на 123,2% ($p \leq 0,05$), у СН на 164,2% ($p \leq 0,01$). Изменение содержания катехоламинов при этом имело разнонаправленный характер, достоверно увеличивалось у стресс-предрасположенных самок до $0,08 \pm 0,015$ мкг/л ($p \leq 0,01$), и снижалось у стресс-резистентных особей до $0,02 \pm 0,006$ мкг/л ($p \leq 0,01$). Известно, что катехоламины, как быстрореагирующие гормоны, имеют пик активности непосредственно вслед за действием раздражителя и действуют непродолжительное время. Главной задачей этих «пусковых» гормонов является мобилизация энергетических резервов, активизация окислительно-восстановительных процессов и обеспечение срочного приспособления организма к действию сверхпороговых раздражителей среды (Верин В.К. и др., 2011).

В экспериментальных работах А.В. Горбуновой (2005), Р.М. Худоеркова (2007), К.В. Судакова и др. (2010) показано, что разная степень увеличения стресс-гормонов у животных с различной устойчивостью к стрессу, объясняется особенностями реализации регулирующих систем, а именно генетически запрограммированной активацией нейромедиаторной системы в гипоталамо-лимбико-ретикулярных структурах мозга.

По данным Л.Х. Гаркави и др. (2007) адаптационные реакции на различные по силе раздражители неодинаковы. При этом возникновение приспособительных реакций возможно только к сильным раздражителям и проявляются они «реакцией тренировки» и «реакцией активации». Адаптационный индекс Гаркави-Квакиной при действии ВЭП соответствовал у «активных» особей «реакции спокойной активации» - $0,52 \pm 0,04$, у «пассивных» - «реакции тренировки» - $0,48 \pm 0,03$ при исходном его значении у беременных самок $0,45 \pm 0,07$; $0,44 \pm 0,03$ соответственно. Установлено, что «реакция активации» характеризуется большими энергетическими затратами, чем «реакция тренировки», волнообразными изменениями - синтеза и распада веществ в организме. Однако истощения резервов не наблюдается (Забудский Ю.И., 2002; Гаркави Л.Х. и др., 2007; Мифтахутдинов А.В., 2011). Увеличение адаптационного индекса Гаркави-Квакиной у стресс-устойчивых животных при действии ВЭП возможно объяснить большей активностью регуляторных систем организма, участвующих в реализации стресса, по сравнению со стресс-неустойчивыми особями.

Морфологическое исследование последов экспериментальных животных выявило изменения во внезародышевых органах между контрольной и опытной группами, как у «активных», так и «пассивных» самок (табл. 1).

Таблица 1

Плацентометрические и эмбриологические показатели при действии техногенного ВЭП на беременных крыс

Показатель		Масса плаценты (г)	Объем плаценты (см ³)	Площадь плаценты (см ²)	Площадь МВП (мкм ²)	Масса плодов (г)	Общая эмбриональная смертность (%)
Контроль	СУ (n=13)	0,57±0,04	0,56±0,05	1,77±0,15	44874 ±3998	4,1±0,62	18,6±0,2
	СН (n=19)	0,61±0,06	0,58±0,08	1,76±0,14	42763±3522	3,0±0,58	10,9±0,3
ВЭП	СУ (n=12) *	0,47±0,01	0,32±0,04	1,33±0,06	623094±97298	1,9±0,1	54,8±4,1
	СН (n=15) **	0,42±0,01	0,42±0,04	1,44±0,06	596162 ±98863	1,4±0,01	47,9±3,9

Примечание: * - статистически значимые отличия от контроля (* - $p \leq 0,05$;

** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$); # - статистически значимые отличия между СУ и СН животными (# - $p \leq 0,05$; ## - $p \leq 0,01$); МВП - межворсинчатое пространство

Поседы опытной группы имели преимущественно овальную форму с эксцентричным прикреплением пупочного канатика. Материнская поверхность последов темно-багрового цвета с точечными белесоватыми очажками, плодовая поверхность багрово-цианотичная. По периферии плаценты в 36% случаев определялся плотный белесоватый ободок, в 6% случаев кровяные сгустки. Внеплацентарные оболочки полупрозрачные, бледно-серого цвета с полнокровными сосудами.

При микроскопии в плодной части плаценты наблюдалось значительное расширение резко полнокровных материнских сосудов и их разрывы. В отдельных синусоидах содержались агрегированные эритроциты, обуславливающие сладж и стаз крови. Определялись единичные крупные узлы трофобласта.

Сравнительный анализ эмбриологических параметров показал, что вращающееся электрическое поле приводит к достоверному снижению массы плодов и увеличению эмбриональной смертности (табл. 1).

Выявленные морфологические изменения последов и плодов могут свидетельствовать о развитии плацентарной недостаточности, при этом наиболее выраженные компенсаторные изменения в последах проявлялись у стресс-резистентных самок. Основой патофизиологических сдвигов в плаценте является нарушение маточно-плацентарно-плодового кровотока вследствие спазма маточных артерий и эндотелиальной дисфункции сосудов при повышенных уровнях гормонов стресса в плазме крови (Серова О.Ф. и др., 2007; Ушакова Г.А. и др., 2008).

Известно, что для оптимизации функций плаценты при действии патогенных факторов, в провизорном органе запускается ряд компенсаторно-приспособительных реакций, проявляющихся изменением морфометрических показателей, величины межворсинчатого пространства, кровенаполнения и централизацией кровоснабжения последа (Милованов А.П., 1999; Пятышкина Н.А., 2008; Бородин Ю.И. и др., 2014). Уменьшение площади и объема последов, наблюдаемые достоверно у стресс-устойчивых самок, позволяют судить о перераспределении тока крови к месту имплантации (централизация кровоснабжения) и формированию «экономичного режима» работы с исключением периферической зоны плаценты, что необходимо для сохранения беременности. Замедление роста последа уменьшает потребление кислорода клетками ворсин хориона и тем самым формируются условия для большей его отдачи плоду (Милованов А.П., 1999; Пятышкина Н.А., 2008). Расширение межворсинчатого пространства в лабиринтном отделе плаценты, наиболее выраженное у стресс-резистентных самок, обусловлено увеличенным притоком крови и необходимо для сближения кровотоков матери и плода с целью создания оптимальных условий поступления кислорода к плоду (Милованов А.П., 1999). Агрегированные эритроциты и сдвиг, наблюдаемые в синусоидах последов в ходе экспериментов, свидетельствуют об изменении реологических свойств крови и нарушении микроциркуляции в плаценте. Эти нарушения приводят к трофическим и гипоксическим изменениям в тканях, проявляющиеся в наших опытах компенсаторным разрастанием клеток трофобласта с формированием узлов.

3. Система «мать-плацента-плод» в условиях сочетанного воздействия вращающегося электрического поля и прерывистой иммобилизации у крыс с различной стресс-устойчивостью

Сочетанное воздействие ВЭП и иммобилизации у виргинных самок (стресс-устойчивых и стресс-неустойчивых) приводило к достоверному увеличению содержания кортикостероидов в плазме крови и снижению уровня катехоламинов к 10 дню эксперимента. У беременных самок модель сочетанного воздействия ВЭП и иммобилизации также достоверно изменяла содержание гормонов стресса в плазме крови, в зависимости от индивидуальной устойчивости животного к стрессу. Так, содержание 11-ОКС повышалось у СУ крыс на 49,8% ($p \leq 0,05$), у СН 44,5% ($p \leq 0,05$). Уровень катехоламинов к концу эксперимента в группе СУ животных снижался до $0,017 \pm 0,0007$ мкг/л ($p \leq 0,01$), у СН животных он не отличался от контрольных значений. Адаптационный индекс Гаркави-Квакиной при сочетанном действии техногенного ВЭП и иммобилизации повышался и соответствовал «реакции спокойной активации»: у «активных» животных он возрастал до $0,51 \pm 0,08$, у «пассивных» - $0,58 \pm 0,03$ при исходном значении $0,45 \pm 0,07$; $0,44 \pm 0,03$ соответственно. При оценке поведенческой активности беременных СН самок было выявлено, что все животные после действия техногенного ВЭП и иммобилизации сохранили статус СН. При этом коэффициент устойчивости к стрессу снизился с 0,4 - 0,9 (до воздействия) до 0,2 - 0,4 (после воздействия), что указывает на снижение уровня адаптации животного к факторам внешней среды (Мамылина Н.В. и др., 2013; Юдицкий А.Д. и др., 2014).

Последы, полученные от опытных животных «рыхлые», овальной формы с эксцентричным прикреплением пупочного канатика. Материнская и плодовая поверхность последа багрово-цианотичного цвета с белесоватыми очагами, бороздами и выраженным сосудистым рисунком. В 14% случаев по периферии плаценты определялись кровяные сгустки. Внеплацентарные оболочки полупрозрачные, серого цвета с полнокровными сосудами. Морфометрия последа у опытных животных не выявила статистически достоверных изменений (табл. 2). При микроскопическом исследовании лабиринтного отдела плацент выявлено разрастание стромы, уменьшение числа материнских лакун и плодовых капилляров. При этом просвет межворсинчатого пространства расширен у СУ до 183283 ± 24593 мкм² ($p \leq 0,01$), у СН до 199387 ± 28911 мкм² ($p \leq 0,01$) (табл. 2). В отдельных синусоидах содержались сладжированные

эритроциты. В фетальных сосудах определялось скудное количество форменных элементов крови, местами они запустевшие.

Таблица 2

Плацентометрические и эмбриологические показатели при сочетанном действии техногенного ВЭП и иммобилизации на беременных крыс

Показатель		Масса плаценты (г)	Объем плаценты (см ³)	Площадь плаценты (см ²)	Площадь МВП (мкм ²)	Масса плодов (г)	Общая эмбриональная смертность (%)
Контроль	СУ (n=13)	0,57±0,04	0,56±0,05	1,77±0,15	44874 ±3998	4,1±0,62	18,6±0,2
	СН (n=19)	0,61±0,06	0,58±0,08	1,76±0,14	42763±3522	3,0±0,58	10,9±0,3
ВЭП и иммобилизация	СУ (n=13)	0,55±0,02	0,61±0,08	1,65±0,09	183283±24593 **	3,1±0,1 #	78,4±8,5 **
	СН (n=16)	0,48±0,03	0,45±0,1	1,39±0,1	199387±28911 **	1,2±0,2 *	82±5 **

Примечание: * - статистически значимые отличия от контроля (* - $p \leq 0,05$;

** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$); # - статистически значимые отличия между СУ и СН животными (# - $p \leq 0,05$; ## - $p \leq 0,01$); МВП - межворсинчатое пространство

Анализ корреляционных отношений между содержанием стресс-гормонов и площадью межворсинчатого пространства показал, что при сочетанном с прерывистой иммобилизацией действии ВЭП, сильная связь наблюдалась только между уровнем 11-ОКС и площадью материнских лакун у СУ самок ($r=0,85$, при 0,71 в контроле).

Вероятно, незначительное изменение макро-морфометрических показателей плаценты в наших опытах, а именно её массы, объема и площади, можно объяснить процессом замещения паренхимы органа соединительной тканью, которая исполняет роль каркаса органа и не обеспечивает функциональную активность плаценты. Результатом таких деструктивных морфологических и гемодинамических перестроек является нарушение метаболической, транспортной функции плаценты, и как следствие высокая эмбриональная гибель и снижение массы полученных плодов. Под влиянием

ВЭП в условиях иммобилизации общая эмбриональная смертность увеличилась у стресс-устойчивых самок до $78,4 \pm 8,5$ % ($p \leq 0,01$), у стресс-неустойчивых особей до 82 ± 5 % ($p \leq 0,01$). Средняя масса полученных плодов снижалась в обеих группах, но достоверно у «пассивных» самок и составила для «активных» животных $3,11 \pm 0,16$ г ($p \geq 0,05$), для «пассивных» - $1,23 \pm 0,21$ г ($p \leq 0,01$). Исследование отпечатков эндометрия у опытных крыс выявило достоверное снижение иммунокомпетентных клеток в слизистой матки только у «активных» животных: лимфоцитов до $25,6 \pm 4,5$ ($p \leq 0,01$) при контроле $151 \pm 18,2$ и полное исчезновение нейтрофилов. Уменьшение количества нейтрофилов и лимфоцитов в отпечатках слизистой матки, наблюдаемое у наших экспериментальных животных, может свидетельствовать о нарушении иммунного статуса эндометрия, что приводит к нарушению процессов имплантации и плацентации, и как следствие к высокой эмбриональной смертности (Рачкова О.В., 2012; Terada N. et al., 1991; Young P.C., 1993; Gunin A.G. et al., 2003).

Таким образом, наши исследования показали, что иммобилизация беременных самок и пребывание их в условиях ВЭП сопровождалось изменением уровня гормонов (11-ОКС и катехоламинов) в крови самки, увеличением адаптационного индекса Гаркави-Квакиной и активацией компенсаторно-приспособительных реакций в плаценте. При этом выраженность физиологических изменений в материнском организме и структурных перестроек в последах определялась видом стрессорного воздействия и индивидуальной реактивностью организма животного.

Так, 10-дневная прерывистая иммобилизация для беременных самок не являлась сильным стрессорным фактором, способным нарушить материнско-плодовые взаимоотношения, а структурные перестройки последов (увеличение межворсинчатого пространства) были направлены на улучшение кровоснабжения плодов.

В условиях вращающегося электрического поля наблюдалось снижение ресурсов компенсаторно-приспособительных реакции системы «мать-плацента-плод», при этом несовершенство адаптивных механизмов приводило к снижению морфофункциональных показателей плаценты и ограничению репродуктивных возможностей самки. При сочетанном воздействии иммобилизации и ВЭП происходили значительные изменения в материнском организме, перестройки в последах, свидетельствующие о срыве адаптационных возможностей, что вынуждало «мать» отказаться от вынашивания беременности для сохранения собственной

жизнеспособности.

Проведенный анализ корреляционных отношений между содержанием 11-ОКС и площадью межворсинчатого пространства показал сильную прямую связь при изолированной иммобилизации и сочетании её с ВЭП. При этом в условиях изолированного действия ВЭП на беременных самок, наблюдалась обратная корреляционная связь между этими показателями. Вероятно, изменения в фетоплацентарном комплексе, при действии ВЭП обусловлены прямым влиянием его на плаценту, что согласуется с данными А.Д. Белкина (1999), Т.Н. Замай (2005) о высокой чувствительности активнопролиферирующих клеток (мезенхимальные, эмбриональные) к действию электромагнитного излучения.

Отсутствие разницы в физиологических и морфологических показателях системы «мать-плацента-плод» между «активными» и «пассивными» самками при 10-дневной иммобилизации позволяет предположить, что беременность способна «сглаживать» межгрупповые различия по устойчивости к стрессу при действии слабых раздражителей, близких по модальности к естественным и не способна нивелировать эти различия в условиях сильных, техногенных стрессоров (ВЭП и сочетание ВЭП с иммобилизацией). При этом механизмы сохранения репродуктивной функции и собственного гомеостаза у стресс-устойчивых самок выражены эффективнее, чем у стресс-неустойчивых особей.

ВЫВОДЫ

1. Хроническая прерывистая иммобилизация не приводит к изменению содержания 11-ОКС и катехоламинов в крови беременных крыс, при этом наблюдается увеличение площади межворсинчатого пространства лабиринтной части плаценты и возрастает у «активных» особей общая эмбриональная смертность.

2. Вращающееся электрическое поле вызывает изменение уровня 11-ОКС и катехоламинов в крови экспериментальных животных, и морфометрических показателей последов. Структурные перестройки плацент в этих условиях (снижение массы, объема, площади, расширение межворсинчатого пространства) наиболее выражены у стресс-резистентных особей.

3. Состояние беременности у экспериментальных животных при изолированных воздействиях (иммобилизация и ВЭП) ограничивает повышение уровня гормонов стресса. Компенсаторно-приспособительные изменения фетоплацентарного

комплекса направлены на создание оптимальных условий развития плода.

4. Сочетанные воздействия ВЭП и иммобилизации превышают охранительные резервы организма беременной и приводят к отказу от репродуктивной функции, что подтверждается значительными гормональными и структурно-функциональными перестройками в системе «мать-плацента-плод». **Большая** степень изменений которых наблюдается у стресс-неустойчивых самок и их последов.

5. Индивидуальная стресс-устойчивость особей определяет степень изменений содержания 11-ОКС и катехоламинов в крови, структурных перестроек последов, и гибель плодов при различных стрессорных воздействиях. У стресс-устойчивых самок сохранность репродуктивной функции и механизмов самосохранения выше, чем у стресс-неустойчивых особей.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Щербакова, О.И. Действие аппарата «Оскон-био» на экспериментальных животных в условиях электромагнитной нагрузки/ О.И. Щербакова, Т.П. Щепина, Л.З. Зиганшина // Материалы IV межрегиональной межвузовской научной конференции молодых ученых и студентов. – Ижевск, 2007. - С. 36-37.

2. Щепина, Т.П. Влияние электромагнитной нагрузки на содержание оксикортикостероидов и течение беременности у опытных крыс в условиях иммобилизационного стресса / Т.П. Щепина, О.В. Харина // Материалы II Международной студенческой конференции с участием молодых ученых «Клинические и теоретические аспекты современной медицины». – Москва, 2010. - С. 114-115.

3. Щепина, Т.П. Изменение уровня гормонов стресса у экспериментальных крыс в условиях электромагнитной нагрузки / Т.П. Щепина, С.В. Шабалина, С.Б. Егоркина // Новые методы физической терапии и междисциплинарный подход в реабилитации заболеваний нервной системы и опорно-двигательного аппарата. – Ижевск, 2010. - С. 16-17.

4. Щепина, Т.П. Пилотные исследования по определению влияния электромагнитной нагрузки как фактора, провоцирующего угрозу прерывания беременности на ранних сроках беременности / Т.П. Щепина, О.В. Харина // Вестник Смоленской медицинской академии. - 2010. - С. 199.

5. Загидуллина, З.С. Влияние стресса на продолжительность эстрального цикла и содержание 11-ОКС у экспериментальных животных // З.С. Загидуллина, Т.П. Щепина, Н.Д. Балуева // Медицинский академический журнал. - 2011. - Т. 11. - С. 25-26.
6. Щепина, Т.П. Изменение уровня катехоламинов в крови беременных крыс с различной прогностической устойчивостью к стрессу / Т.П. Щепина, Ю.И. Кузьмина, А.В. Исаков // Фундам. наука клин. мед. - 2012. - Т. 15. - С. 327-328.
7. Щепина, Т.П. Влияние хронического иммобилизационного стресса на морфофункциональные характеристики фетоплацентарного комплекса беременных крыс / Т.П. Щепина, С.Б. Егоркина // XXII съезд Физиологического общества имени И. П. Павлова: Тезисы докладов. – Волгоград, 2013. - С. 609-610.
8. Егоркина, С.Б. Влияние вращающегося электрического поля на репродуктивный потенциал экспериментальных животных / С.Б. Егоркина, Т.П. Щепина // IV Съезд физиологов СНГ, Дагомыс, Россия, 8-12 октября 2014 г. - 2014. - С. 162.
9. Некрасова, Д.А. Влияние иммобилизационного стресса и вращающегося электрического поля на фетоплацентарную систему экспериментальных животных / Д.А. Некрасова, Т.П. Щепина // Современные аспекты медицины и биологии: материалы XIV межвузовской научно- практической конференции молодых ученых и студентов. Ижевск 21-24 апреля 2014 г. – Ижевск, 2014. - С. 36-37.
10. Юдицкий, А.Д. Паттерны поведения и мотивации крыс с различной прогностической устойчивостью к стрессу / А.Д. Юдицкий, А.А. Пермяков, Е.В. Елисеева, Т.П. Щепина, Л. С. Исакова // Вестник Удмуртского ун-та. - 2014. - № 6 - 4.- С. 72 - 82.
11. Щепина, Т.П. Влияние вращающегося электрического поля на репродуктивный потенциал экспериментальных животных / Т.П. Щепина, Д.А. Некрасова, С.Б. Егоркина // **Здоровье населения и среда обитания.** - 2014. - №8. - С. 53-55.
12. Зайнаева, Т.П. Система мать-плацента-плод при экспериментальном стрессе у крыс с различной прогностической стрессоустойчивостью [Электронный ресурс] // Т.П. Зайнаева, С.Б. Егоркина / Современные проблемы системной регуляции физиологических функций: Материалы Конференции. М., 2015. - С. 244-247. - Режим доступа: <http://znanium.com/catalog.php?bookinfo=529553>.

13. Зайнаева, Т.П. Состояние репродуктивной системы экспериментальных животных в условиях вращающегося электрического поля низкой частоты / Т.П. Зайнаева, А.В. Гушин, С.Б. Егоркина // *Магнитные явления: сб. ст. / Под общ. ред. проф. Г.В. Ломаева. - Вып. 5. - Ижевск, 2015. - С. 126-130.*

14. Зайнаева, Т.П. Система мать-плацента-плод в условиях техногенного вращающегося электромагнитного поля у крыс с различной прогностической стрессоустойчивостью / Т.П. Зайнаева, С.Б. Егоркина // **Вестник новых медицинских технологий.** Электронное издание. -2016. - №2. Публикация 2-9. - Режим доступа: URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2016-2/2-9.pdf> (дата обращения: 05.05.2016).

15. Зайнаева, Т.П. Влияние вращающегося электрического поля на систему «мать – плацента – плод» у крыс с разной прогностической стрессоустойчивостью / Т.П. Зайнаева, С.Б. Егоркина // **Экология человека.** - 2016. - № 8. - С. 3-7.

16. Зайнаева, Т.П. Влияние вращающегося электрического поля низкой частоты на систему «мать-плацента-плод» / Т.П. Зайнаева, С.Б. Егоркина // *Приборостроение в XXI веке - 2016. Интеграция науки, образования и производства: сб. материалов XII Междунар. науч.-техн. конф. - Ижевск, 23–25 нояб. 2016 г. - Ижевск, 2016. - С. 17-19.*

17. Пат. 166292 Российская Федерация. Устройство для исследования влияния вращающегося электрического поля на биологические объекты / Егоркина С.Б., заявитель и патентообладатель ГБОУ ВПО Ижевская государственная медицинская академия. - № 2016100293; заявл. 05.09.16; опубл 01.11.16.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

11-ОКС	11-оксикортикостероиды
АИ	адаптационный индекс
ВЭП	вращающееся электрическое поле
Куст	коэффициент устойчивости
МВП	межворсинчатое пространство
СУ	стресс-устойчивые крысы
СН	стресс-неустойчивые крысы