

ВОСПРОИЗВЕДЕНИЕ ПОТОМСТВА ПАРАМЕЦИЙ И МЛЕКОПИТАЮЩИХ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВЕЛИЧИНАХ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА СРЕДЫ

Е.Б. САБИТОВА
К.М. РЕЗНИКОВ
А.Д. БРЕЗДЫНЮК

*Воронежская государственная
медицинская академия*

e-mail: sabitova84@mail.ru

В статье приведены данные о воспроизведении потомства лабораторными крысами при употреблении самками жидкостей с различным окислительно-восстановительным потенциалом (католита и анолита). Отклонений развития у потомства этих животных зарегистрировано не было. При выращивании *Parameciumcaudatum* в среде с добавлением католита и анолита наблюдалось изменение характера движений инфузорий, а также замедление скорости их роста.

Ключевые слова: репродукция, анолит, католит.

Введение. В настоящее время среди различных факторов внешней среды, способных вызывать отклонения в развитии плода, важная роль принадлежит лекарственным веществам. В отечественной литературе содержится обширный список лекарственных веществ, которые можно принимать в период беременности [8,10].

Общее действие жидкостей с различным окислительно-восстановительным потенциалом (ОВП) легко установить на простейших (*Parameciumcaudatum*). Особое значение имеют знания о действии ОВП среды на эмбрион, плод и последующее развитие новорожденного.

Цель: установить возможность влияния жидкостей с различным ОВП на репродуктивную способность.

Материалы и методы исследования. *Parameciumcaudatum* легко культивировать и при исследовании ее роста и размножения возможно быстро получить большой объем цифровой информации. Для культивирования парамеций использовалась среда Лозина-Лозинского. В пробирки наливалась культура инфузорий в стационарной фазе роста, после чего в них добавляли дистиллированную воду (контроль), вещество с биоцидной активностью (фенол), католит или анолит в разведении 1/10, 1/100, 1/1000. Штатив с пробирками помещался в термостат при 25°C. Через 0,5; 1,0; 3,0; 6,0 и 24,0 часа из каждой пробирки бралось по 0,1 мл жидкости с инфузориями и ею заполнялись микроаквариумы. Под микроскопом оценивалось состояние парамеций по следующим критериям: индифферентность – клетки совершают равномерные броуновские движения; биоактивность – движения клеток изменены: биоцидность-50 – погибло около 50% клеток; биоцидность-100 – гибель 100% клеток. В контроле при каждом наблюдении было не менее 100 парамеций, совершающих равномерные броуновские движения. Для изучения скорости роста инфузорий-туфелек при культивировании в среде с добавлением католита и анолита производился пересев культуры инфузорий в среду с добавлением католита 1/100 и 1/1000 и анолита в таких же концентрациях. Ежедневно размеры клеток измерялись в камере Горяева. Наблюдение велось под микроскопом, оценивались размеры клеток в 100 полях зрения.

Исследования проводились также на 90 мышках обоего пола, 178 самцах крыс, 283 самках крыс, 552 детенышах крыс и 18 самках кроликов. Все животные были отобраны по массе и возрасту и перед экспериментами проходили карантинный период продолжительностью в 21 день. Содержание и кормление животных проводилось в соответствии с «Санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) (ГОСТ Р 50258-92). При проведении эксперимента на животных были соблюдены все этические правила и нормы по отношению к ним [5]. Процесс декапитации крыс проводили под общим ингаляционным наркозом, убедившись, что у животного отсутствует болевая чувствительность и утрачено сознание. Для проведения исследования использовали растворы с положительным (анолит $pH=6,9 \pm 0,5$ ОВП = +720 ± 15 мВ) и отрицательным (католит $pH=9,2 \pm 0,5$ ОВП = минус 515 ± 55 мВ).



Изучение влияния электроактивированных водных растворов на репродуктивную систему определяли на основе морфологического и функционального анализа состояния яичников, цитологического исследования вагинального содержимого, иммуно-флюоресцентного метода определения уровня лютеинизирующего гормона и эстрадиола в плазме крови самок кроликов [2]. Проводилась оценка способности к оплодотворению и зачатию, наблюдение за беременностью и родоразрешением у крыс, наблюдение за физическим и нервно-психическим развитием детенышей, проводили висцеральное исследование органов по Стейплсу [9]. Достоверность изменений устанавливали с использованием критериев Стьюдента и непараметрического критерия Т-Вилькоксона. Для оценки взаимосвязи между некоторыми качественными признаками пользовались четырехпольной таблицей и критерием χ^2 [3].

Результаты и обсуждение. Материалы по исследованию на парамециях представлены в таблице.

Таблица

Экспресс-оценка биологической активности электроактивированных водных растворов

	Экспозиция, часы				
	0,5	1,0	3,0	6,0	24,0
Контроль (дист. вода)	-	-	-	-	-
Фенол 1/10000	+	+	+	+	+
Католит 1/10	-	-	-	-	-
Католит 1/100	-	БА: штопоробразные движения		-	-
Католит 1/1000	-	-	-	-	-
Анолит 1/10	+	+	+	+	+
Анолит 1/100	±	±	±	±	±
Анолит 1/1000	-	БА: маятникообразные движения		-	-

(-) – отсутствие биологической активности, инфузории совершают хаотичные броуновские движения; БА – движения инфузорий изменены; (±) – погибло около 50% инфузорий; (+) – 100% гибель.

В контрольной пробирке с добавлением дистиллированной воды 1/1000 инфузории совершают хаотичные броуновские движения. При добавлении в культуру биоцида – фенола 1/10000 – наблюдалась гибель 100% клеток. В пробирках с анолитом в разведении 1/10 также наблюдалась 100% гибель инфузорий-туфельек. При культивировании *Parameciumcaudatum* в среде с добавлением анолита 1/100 погибло около 50% клеток. При добавлении в питательную среду с инфузориями католита в разведении 1/100 через 1 час экспозиции движения клеток становились штопоробразными. При добавлении католита 1/1000 парамеции сохраняли хаотичное броуновское движение. Через 1 час после начала культивирования инфузорий в среде с добавлением анолита в разведении 1/1000 движения клеток становились маятникообразными.

Биоцидное действие анолита в разведениях 1/10 или 1/100 может быть объяснено следующим образом. Известно, что в анолите содержится так называемый «активный» кислород (В.И.Прилуцкий, В.М.Бахир, 1997). Как химический окислитель «активный» кислород нарушает работу окислительно-восстановительных ферментов. Окисляя каталитические группы в активном центре, он мешает участию их в отрыве водорода от субстрата и передаче протонов и электронов на дыхательную цепь. Широко распространено мнение, что к кислороду наиболее чувствительны сульфгидрильные группы белков и небелковых соединений. Окисляя сульфгидрильные группы в дисульфидные, кислород подавляет функции всех ферментных белков и коферментов, тем самым резко угнетая тканевое дыхание клетки. Биоцидный эффект католита может быть связан с его высоким значением рН. Как известно, щелочи легко разрушают микробную клетку, гидролизуют белки, омыляют жиры, расщепляют углеводы.

Двигательная активность парамеций во многом формируется на основе работы ионных каналов, вмонтированных в мембрану ресничек, и является характеристикой,

отражающей функциональное состояние клетки (Ахмадеева А.К., Платов К.В., 2003). При этом *Parameciumcaudatum* функционирует в направлении сохранения мембранного потенциала. Для сохранения разности потенциалов на мембране у *Paramecium* срабатывает адаптационный механизм, который заключается в изменении транспортировки ионов через каналы. В результате снижения мембранного потенциала клетки двигаются медленнее или вращаются на месте вокруг одного конца (штопоро- и маятникообразное движение). Таким образом, католит в разведении 1/100 и анолит в разведении 1/1000 изменяют двигательную активность парамеций при экспозиции 1 час, возможно, в результате изменения мембранного потенциала клетки.

Происходят и изменения размеров *Parameciumcaudatum* при культивировании в среде с добавлением католита 1/100 и анолита 1/1000.

При культивировании в стандартных условиях инфузория-туфелька достигает величины взрослой особи (около 250 мкм) за 6-8 дней. При культивировании в среде с добавлением католита в разведении 1/100 парамеции достигали размеров 250 мкм за 28 дней; в среде с добавлением анолита 1/1000 – за 12-13 дней, а в соотношении 1/2000 их деление начинается сразу же.

Из данных литературы известно, что подавление репродуктивной функции при длительном введении некоторых фармакологических веществ может быть обусловлено угнетением формирования половой мотивации и полового влечения, поэтому в эксперименте была исследована способность к оплодотворению и зачатию. Достоверное повышение индекса плодовитости и беременности на 30% у животных из экспериментальных групп (получавших католит и анолит) по сравнению с животными из контрольной группы свидетельствуют о высокой половой активности самцов и самок в исследуемых группах.

Более полное представление о действии растворов с отрицательным и положительным ОВП 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% [4]. Нами не выявлено значительного изменения уровня ЛГ и эстрадиола в плазме крови половозрелых небеременных самок кроликов при инъекционном введении им католитас рН=9,2±0,5, ОВП= -615±55мВ и анолита срН=6,9±0,5, ОВП=+720±15мВ.

При употреблении внутрь растворов с отрицательным и положительным ОВП вместо питьевой воды самками крыс в течение 30 дней цитологическая картина влажной эпителии на разных стадиях полового цикла не отличалась от самок контрольной группы. Следовательно, католит и анолит не нарушают структуру и продолжительность эстрального цикла. Морфологическое исследование яичников крыс показало нормальный рост фолликулов.

Во всех экспериментах при приеме растворов с отрицательным и положительным ОВП в течение длительного времени во время, до и после беременности нами выявлено, что у самок всех групп беременность протекала благополучно, заканчивалась родами. Выживаемость крысят во всех исследуемых группах на 7-е сутки при получении растворов с отрицательным и положительным ОВП родителями в течение 3 половых циклов перед оплодотворением, а самками еще и во время беременности и грудного вскармливания составляет 100%. На вскрытии при визуальном осмотре у крысят не выявлено внешних аномалий, не обнаружено видимых признаков нарушений функций внутренних органов.

Таким образом, жидкости с различным уровнем ОВП по-разному влияют на состояние как одноклеточные особи, так и на теплокровных животных.

Выводы:

1. При культивировании *Parameciumcaudatum* в среде с добавлением католита и анолита в разведении 1/100 скорость роста инфузорий существенно снижается, их размножение происходит в более поздние сроки развития. Дальнейшее уменьшение концентрации анолита и католита в инкубационной жидкости приводит к уменьшению сроков размножения.

2. Католит и анолит не опасны при беременности, не изменяют гормональный уровень самок, их введение не нарушает развития эмбрионов и плодов, не изменяет сроки родов и не нарушает состояния новорожденных животных.



Литература

1. Бабушкин, О.С. Стратегия использования ЭХА растворов в многопрофильной больнице / О.С. Бабушкин, В.А. Назин // Электрохимическая активация : доклады и краткие сообщения 3-го междунар. симпозиума. – 2001. – С. 46-50.
2. Беленький, М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.Л. Беленький. – Л., 1963. – 152 с.
3. Гублер, Е.В. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях / Е.В. Гублер, А.А. Генкин. – Л. : Медицина, 1973. – 144 с.
4. Кулаков, В.И. Бесплодный брак / В.И. Кулаков. – М., 2005. – С. 10-21.
5. Матюшин, А.И. Деонтология медико-биологического эксперимента / А.И. Матюшин, В.С. Осняч, Т.Н. Павлова. – М., 1987. – 75 с.
6. О лечебном применении электрохимически активированных растворов в медицине / В.М. Мельникова, Н.В. Локтионова, Г.П. Беликов, С.В. Мальгинов // Электрохимическая активация : доклады и краткие сообщения 3-го междунар. симпозиума. – М., 2001. – С. 92-95.
7. Резников, К.М. Свойства воды и информационные аспекты формирования эффектов действия электроактивированных водных растворов / К.М. Резников // Прикладные информационные аспекты медицины. – 2006. – Т. 2, № 1. – С. 46-49.
8. Руководство по безопасному материнству / В.И. Кулаков, В.Н. Серов, Ю.И. Барашнев и др. – М. : Триада-Х, 1998. – 531 с.
9. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. В.П. Фисенко. – М., 2000. – 398 с.
10. Шабалов, Н.П. Современная терапия в неонатологии / Н.П. Шабалов. – СПб., 2000. – 6 с.

PROCREATION OF MAMMALIAS AND PROTOZOA IN THE MEDIUM WITH DIFFERENT REDOX POTENTIAL

E.B. SABITOVA
K.M. REZNIKOV
A.D. BREZDYNUK

Voronezh State Medical Academy

e-mail: sabitova84@mail.ru

The paper presents data on fertility in laboratory rats after intaking of liquids with different redox potential (catholyte and anolyte). There were not abnormalities in the offspring of these animals. We registered changes of movements of *Paramecium caudatum* and slowing their growth during culturing in the medium with catholyte and anolyte.

Key words: reproduction, catholyte, anolyte.