

УДК 611.82+611.8:611.43:591.46:612

© Е. Ю. Бессалова, 2013

## РЕГУЛЯТОРНЫЕ ЭФФЕКТЫ КСЕНОГЕННОЙ ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ

**Е. Ю. Бессалова***Кафедра нормальной анатомии (зав.– д.мед.н., проф. Пикалюк В. С.), ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С. И. Георгиевского». 95006 Украина, г. Симферополь, ул. А. Невского, 27А. E-mail: evgu@ukr.net*

### XENOGENIC CEREBROSPINAL FLUID'S REGULATION EFFECTS

**Ye.Yu. Bessalova**

#### SUMMARY

Significant effects on white rats neuro-endocrine system organs structure and function was established after lactating cow's cerebrospinal fluid (SCF) parenteral injections. A general principle of a xenogenic CSF is distinguished. It is a modeling of a donor's functional status within the recipient's organism. Considering no immunopathological response while the experimental study onto injection of CSF and it's anatomophysiological effects complex assessment there were set up challenging perspectives for directional bioactive drug product to be developed on a base cow's CSF and to be used in fields of medical and veterinary science, animal breeding and experimental morphology.

### РЕГУЛЯТОРНІ ЕФЕКТИ КСЕНОГЕННОЇ ЦЕРЕБРОСПІНАЛЬНОЇ РІДИНИ

**Є. Ю. Бессалова**

#### РЕЗЮМЕ

Встановлений виражений ефект цереброспинальної рідини (ЦСР) лактуючих корів при її парентеральному введенні на структуру і функцію органів нейроендокринної системи білих щурів. Встановлений загальний принцип дії ксеногенної ЦСР – моделювання в організмі реципієнта функціонального стану донора. Зважаючи на відсутність імунопатологічних реакцій на введення ксеногенної ЦСР в ході експерименту і комплексний аналіз її анатомо-фізіологічних ефектів, створені перспективи для розробки біопрепаратів направленої дії на основі ЦСР корів для використання в медицині, ветеринарії, тваринництві та експериментальній морфології.

**Ключевые слова:** цереброспинальная жидкость, нервная система, эндокринная система, репродуктивная система, регуляция, белые крысы.

В общей системе координации гомеостаза важную роль играет цереброспинальная жидкость (ЦСЖ) как непосредственная гуморальная среда органов ведущего иерархического уровня – головного и спинного мозга [2, 4, 6, 7]. Функции и биологические свойства ЦСЖ связаны с наличием в ней широкого спектра биологически активных веществ различного происхождения, образующих уникальные комбинации, отражающие физиологическое состояние донора [4, 5]. Выявлены разнообразные эффекты ЦСЖ коров при парентеральном введении, указана перспектива использования ее в качестве основы лекарственных препаратов вследствие отсутствия межвидовой и индивидуальной иммунологической несовместимости [1, 3, 4, 5, 6]. Работа вышла из крымской ликворологической школы, основателем которой является проф. В. В. Ткач, его исследования базировались на трудах Л. С. Штерн и показали высокую биологическую активность ЦСЖ, косвенно показав также и ее роль в нейрогуморальной регуляции. Представленная работа открывает новый этап изучения ликвора, объясняя функциональные механизмы гуморальной регуляции с участием ЦСЖ и показывая их морфологическую основу – точки приложения эффектов

ЦСЖ на интегрирующие системы организма. Это является важным звеном в раскрытии биологической роли ЦСЖ и необходимо для создания на ее основе биопрепаратов для лечения заболеваний в ветеринарии и медицине, а также использования ее как сырьевой базы для выделения биологически активных веществ.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Предмет исследования: морфофункциональные показатели головного мозга, органов эндокринной и репродуктивной систем самцов и самок белых крыс. Данные параметры комплексно изучены при парентеральном введении ксеногенной ЦСЖ в различные периоды онтогенеза в эксперименте. ЦСЖ получали у лактирующих коров прижизненно методом субокципитальной пункции и сохраняли в жидком азоте. ЦСЖ вводили внутрибрюшинно белым крысам из расчета дозы 2 мл/кг массы тела однократно молодым животным (на третьей неделе внутриутробного развития, в 1-е, 10-е, 30-е и 90-е сутки жизни), а также однократно и многократно зрелым животным на протяжении 10–15-го месяцев жизни, чередуя однократное, двукратное введение и сезонные курсы по 15 инъекций. Сроки взятия материала установили таким образом, чтобы выявить ранние (до 30 сут.)

и отдаленные (до 180 сут.) эффекты действия ЦСЖ. Использован комплексный подход, объединяющий функциональные и морфологические методики исследования органов с учетом полового диморфизма, онтогенетического и хронобиологического факторов. Используются макроскопические, микроскопические морфологические методы, в том числе биометрические, по общепринятой методике исследований, а также статистические методы обработки полученных количественных показателей. Критерием значимости отличий количественных данных принят  $t$ -критерий при  $p \leq 0,05$ . Работу проводили в соответствии с этическими принципами (протокол комиссии по вопросам биоэтики № 13 от 15.03.2012 г.).

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Регуляторные эффекты ксеногенной ЦСЖ отражают ее комплексное действие на морфофункциональные показатели органов.

Ксеногенная ЦСЖ изменяет размерно-весовые параметры головного мозга белых крыс в различные периоды онтогенеза, вызывая прирост массы головного мозга вне зависимости от возраста и пола (на 2,0–17,6 %,  $p \leq 0,05$ ) и увеличение индекса энцефализации (на 36,0–67,5 %,  $p \leq 0,001$ ). Эффект ЦСЖ на темпы прироста массы головного мозга уменьшается с возрастом крыс и увеличивается при многократных инъекциях, не имеет выраженных половых особенностей, реализация репродуктивного цикла самок увеличивает чувствительность тканей мозга к ксеногенному биопрепарату ликвора о чем свидетельствует значимый отдаленный эффект многократного введения ЦСЖ у рожавших и лактирующих самок.

Ксеногенная ЦСЖ изменяет поведенческие реакции белых крыс в привычных и стрессогенных условиях «открытого поля»: однократное и двукратное введение ЦСЖ вызывает реакцию стимуляции, сменяющуюся реакцией торможения синхронно у самок в период течки и самцов, что проявляется первоначальным увеличением исследовательской активности и уровня тревожности по сравнению с контролем (до 64,1 %,  $P \leq 0,01$  и 167,1 %,  $P \leq 0,001$  соответственно) с последующим прогрессивным снижением исследовательской активности на 10-е сутки (до 60,6 %,  $P \leq 0,01$  у самок и до 52,3 % у самцов,  $P \leq 0,001$ ) и на 30-е сутки (до 58,3 %,  $P \leq 0,001$  у самок и до 49,9 % у самцов,  $P \leq 0,01$ ). Многократные инъекции ЦСЖ вызывают прогрессивное снижение активности самцов и самок белых крыс в открытом поле, что свидетельствует о высокой устойчивости крыс подопытной группы к стрессовому воздействию.

ЦСЖ, вызывает различные структурные изменения гипофиза в зависимости от сроков ее введения и пола животных: при внутриутробном

введении оказывает ингибирующее действие на гипофиз, что проявляется уменьшением общей площади его максимального среза (на 18,0–30,3 %,  $P \leq 0,05$ ), при постнатальном введении вызывает, напротив, ростостимулирующий эффект, увеличивая общую площадь (на 9,0–65,0 %,  $P \leq 0,05$  и  $P \leq 0,01$ ). Изменения плоскостного соотношения гистотопографических параметров гипофиза крыс касаются преимущественно промежуточной доли. Отдаленный эффект действия ЦСЖ вне зависимости от пола животных и сроков ее введения – это статистически значимая стимуляция роста промежуточной доли (до 35,3 %,  $P \leq 0,001$ ). У самок первичное действие ЦСЖ вызывает дифференцированный прирост тканей гипофиза в зависимости от сроков проведения инъекций: при внутриутробном введении – увеличение промежуточной доли (на 73,5 %,  $P \leq 0,01$ ), при введении в первые сутки жизни – увеличение аденогипофиза (на 6,5 %,  $P \leq 0,05$ ) и уменьшение нейрогипофиза (на 9,7 %,  $P \leq 0,05$ ), при введении на десятые сутки – увеличение нейрогипофиза (на 19,1 %,  $P \leq 0,05$ ) и уменьшение аденогипофиза (на 6,7 %,  $P \leq 0,05$ ). Курсовое введение ЦСЖ половозрелым самкам через день в течение месяца вызывает стойкий отдаленный эффект на гипофиз белых Ксеногенная СМЖ вызывает изменения трабекулярной части аденогипофиза на клеточном уровне: снижение содержания хромофилов при введении СМЖ в 1-е сутки жизни, при сочетании введения СМЖ, беременности, родов, лактации, а также, напротив, прирост числа хромофилов при введении СМЖ на 10-е, 30-е сутки и в период зрелости, преимущественно за счет ацидофилов. Выявлены ультраструктурные признаки стимуляции соматотропоцитов при введении СМЖ в антенатальном периоде, гонадотропоцитов и тиреотропоцитов – при введении СМЖ после рождения, вплоть до формирования клеток кастрации и клеток тиреоидэктомии. Введение СМЖ зрелым крысам вызывает активацию соматотропоцитов и базофильных клеток, появление лактотропоцитов у нелактующих самок. крыс: значительный прирост его массы и объема (на 13,7 % и на 27,9 % соответственно,  $P \leq 0,05$ ) при снижении удельного веса (на 11,9 %,  $P \leq 0,05$ ) вследствие изменений внутренней структуры – увеличения аденогипофиза (на 10,6 %,  $P \leq 0,05$ ) и уменьшения нейрогипофиза (на 55,8 %,  $P \leq 0,05$ ).

Исследование интерфолликулярного эпителия щитовидной железы и фолликулов показало: ЦСЖ, введенная во внутриутробном периоде, вызывает у самок задержку дифференцировки ткани железы, а у самцов, напротив, – ускорение темпа возрастных преобразований; введение ЦСЖ зрелым особям (однократное, курсовое и самкам в период беременности) вызывает прирост

паренхимы, уменьшение коллоида и стромы. Изменение функции щитовидной железы при введении ЦСЖ отражено изменением уровня ее гормонов и гистофизиологических индексов. При курсовом введении ксеногенной ЦСЖ в период зрелости выявлен прирост тироксина в сыворотке крови у самок и самцов при нормальном содержании трийодтиронина. Динамика функциональных индексов такова: фолликулярно-коллоидный индекс (показатель зрелости) уменьшается – при введении ЦСЖ самцам во внутриутробном периоде, увеличивается – при введении ЦСЖ беременной самке и курсовом ее введении самкам и самцам, что сопровождается приростом интерфолликулярного эпителия; индекс Брауна (показатель функциональной активности) уменьшается при введении ЦСЖ беременной самке.

Введение ЦСЖ оказывает воздействие на длительность эстральных циклов и соотношение их фаз, нивелируя сезонные колебания, оказывая эффект более сильный, чем фотопериод – важнейший природный фактор. В результате курсового введения ЦСЖ с интервалом 1 день в течение месяца существенно изменяются поведенческие реакции крыс, связанные с репродукцией – поведение спаривания и половая мотивация самцов и самок. У самцов происходит уменьшение числа садок и их длительности (на 32,0%,  $P \leq 0,05$  и 38,6%,  $P \leq 0,05$  соответственно), уменьшается количество эякуляций (на 32,4%,  $P \leq 0,05$ ) и время до наступления периода рефрактерности (на 37,3%,  $P \leq 0,05$ ). У самок ослабевает лордозная реакция: снижается число проявлений лордоза, общая длительность лордоза (на 36,7%,  $P \leq 0,05$  и 32,9%,  $P \leq 0,05$  соответственно). Курсовое введение ЦСЖ изменяет проявление половой мотивации. У подопытных крыс, в отличие от контроля, не наблюдается предпочтения животного противоположного пола, как в опытах с самками, так и в опытах с самцами: время, проведенное у перегородки с крысой противоположного пола в опыте меньше у самок и самцов на 38,9%,  $P \leq 0,01$  и 22,8%,  $P \leq 0,05$  соответственно. Курсовое введение ЦСЖ существенно снижает показатели фертильности самцов и самок. Наблюдается полное, но обратимое бесплодие у самцов (100% на протяжении месяца) и снижение плодovitости самок: пролонгация беременности и уменьшение количества крысят в приплоде (на 5,6%,  $P \leq 0,05$  и 23,9%,  $P \leq 0,05$  соответственно).

ЦСЖ, введенная до наступления полового созревания, вызывает стойкий выраженный ингибирующий эффект на семенник: снижение массы, объема на ранних этапах после введения ЦСЖ и спустя 6 месяцев после инъекций. Однократная инъекция ксеногенной ЦСЖ самцам белых крыс внутриутробно, в 1-е и 30-е сутки жизни приводит к задержке роста семенника: снижению

его массы (на 17,-59,9%,  $P \leq 0,001$ ), объема (на 11,-38,3%,  $P \leq 0,05-0,01$ ) и относительной массы (на 14,-56,6%,  $P \leq 0,05-0,001$ ).

Ксеногенная ЦСЖ лактирующих коров вызывает изменения биометрических показателей матки. В перинатальном периоде наиболее чувствительным отделом матки к ЦСЖ является рог матки, но при внутриутробном введении ЦСЖ длина рога матки уменьшается (на 27,5% в раннем периоде наблюдения и на 18,5% – в отдаленном периоде,  $P \leq 0,05$ ), а при введении в первые сутки жизни, напротив, увеличивается в раннем периоде наблюдения (на 24,6%,  $P \leq 0,05$ ). При введении ЦСЖ крысам в возрасте 30 суток выявлена противоположная динамика размеров тела матки и маточных рогов: увеличение длины и диаметра маточных рогов в промежуточном и отдаленном периодах наблюдения (на 24,1% и 47,7%, соответственно, при  $P \leq 0,05$ ), но уменьшение объема тела матки в раннем и промежуточном периодах наблюдения (на 33,0%,  $P \leq 0,001$  и 32,6%,  $P \leq 0,05$  соответственно). После наступления полового созревания ЦСЖ вызывает уменьшение объема тела матки в отдаленном периоде при ее введении беременным самками (на 29,5%,  $P \leq 0,05$ ), а также при многократном введении на протяжении трех месяцев (на 44,1%,  $P \leq 0,05$ ). ЦСЖ оказывает дифференцированное действие на оппозитные рога матки: на правый рог эффект более выражен, чем на левый. Это вызывает усиление естественной структурной асимметрии матки, делая отличия длины рогов матки у самок подопытной группы статистически значимыми (преобладание длины правого рога над левым на 13,7,  $P \leq 0,05$  и 35,5%,  $P \leq 0,01$  соответственно).

Ксеногенная ЦСЖ оказывает протекторное действие на онтогенетические процессы и возрастные изменения резистентности организма белых крыс. Изменения соотношения лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов не достигают уровня напряжения неспецифических адаптационных реакций. На втором году жизни выявлен компенсаторный эффект, производимый инъекциями ЦСЖ, при развитии возрастной дезадаптации у самцов белых крыс. При курсовом парентеральном введении ЦСЖ белым крысам в возрасте 5–15 месяцев, наблюдается увеличение средней продолжительности жизни самцов и самок (на 13,7%,  $P \leq 0,05$  и 22,8%,  $P \leq 0,01$  соответственно).

## ВЫВОДЫ

Выявлены комплексные структурные и функциональные изменения органов регуляторных систем при введении ксеногенной ЦСЖ, что показывает ее роль в качестве морфофизиологического субстрата регуляции функций. Широкий спектр морфофункциональных изменений органов

регуляторных систем делает перспективной разработку биопрепаратов на основе ЦСЖ для ветеринарии и медицины. Перспективно исследование биохимической основы регуляторных эффектов ксеногенной ЦСЖ с учетом видоспецифичности ее биологически активных веществ.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бессалова Е. Ю. Морфрфункциональные изменения яичников млекопитающих животных при парентеральном введении ксеногенной спинномозговой жидкости: Дис... канд. мед. наук.– Симферополь, 2006.– 224 с.

2. Гриневич В. В., Акмаев И. Г., Волкова О. В. Основы взаимодействия нервной, эндокринной и иммунной систем.– СПб.: Simposium, 2004.—159 с.

3. Заднипряный И. В. Морфофункциональные изменения транспортных систем при парентераль-

ном введении спинномозговой жидкости в норме и при экспериментальной гиперхолестеринемии: Дис... канд. мед. наук: 14.00.02.– Симферополь, 1981.– 205 с.

4. Кубышкин А. В., Ткач В. В. (мл), Жирко Д. Б. Ликворотерапия – новое в лечении нервно-психических заболеваний // Таврический медико-биологический вестн.– 2003.– Т.6, № 2 .– С. 239–244.

5. Пикалюк В. С., Бессалова Е. Ю., Ткач В. В. (мл), Кривенцов М. А., Киселев В. В., Шаймарданова Л. Р. Ликвор как гуморальная среда организма.– Симферополь, ИТ «АРИАЛ», 2010.– 192 с.

6. Фридман А. П. Основы ликворологии. (Учение о жидкости мозга).– Л.: Медицина, 1971.– 648 с.

7. Штерн Л. С. Непосредственная питательная среда органов и тканей. Физиологические механизмы, определяющие ее состав и свойства.– М.: Изд-во АН СССР, 1960.– 551 с.