

УДК: 615.362:611.82:[636.2:612.663]

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ НА СИСТЕМУ РЕПРОДУКЦИИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

*Бессалова Е. Ю.\*, Пикалюк В. С., Королев В. А.*

*ДУ «Крымский государственный медицинский университет имени С. И. Георгиевского»*

*бул. Ленина 5/7, 95006, Симферополь, Украина,*

*(получена 9.03.2013, опубликована 15.04.2013)*

Работа посвящена изучению биологических эффектов цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) лактирующих коров, при введении ее самцам и самкам белых крыс в качестве ксеногенного биопрепарата. Исследование системы репродукции проведено при помощи физиологических и морфологических методов, выявлен выраженный, но обратимый ингибирующий эффект ЦСЖ, взятой в период физиологической ановуляции донора, на систему репродукции реципиентов. Гонадингибирующий эффект ЦСЖ выявлен как у самок, так и у самцов, обратим и зависим от возраста реципиентов и кратности введения ЦСЖ – максимальные изменения получены при введении ЦСЖ в перинатальный период и при многократных инъекциях. Зафиксированы следующие изменения: снижение показателей спаривания и половой мотивации; динамика длительности эстральных циклов и соотношения их фаз; снижение показателей фертильности самок и временное бесплодие у самцов; снижение массы семенников и яичников, уровня половых гормонов в сыворотке крови, ановуляция, обусловленная атрезией полостных фолликулов, структурные изменения органов-мишеней овариальных гормонов. Работа подтвердила гипотезу отсутствия иммунологической несовместимости ЦСЖ различных таксонов млекопитающих и гипотезу ее контрацептивного действия при взятии в период физиологической ановуляции донора. Прижизненное взятие, криоконсервация, отсутствие фильтрации позволили сохранить естественные свойства ЦСЖ и рассматривать вводимую нами жидкость как биологическую среду и биопрепарат одновременно, объединив общетеоретическую и практическую значимость результатов работы.

**Ключевые слова:** половая система, самки, самцы, цереброспинальная жидкость, регуляция функций, анатомия, физиология, лактация, биологически активные вещества.

\*[evgu@ukr.net](mailto:evgu@ukr.net)

### **Введение.**

Цереброспинальная жидкость (ЦСЖ) является важнейшей гуморальной средой, обеспечивающей интеграцию нервной, эндокринной и иммунной систем в соответствии с концепцией единой регуляторной системы организма и межорганных взаимосвязей внутри этих систем [1, 2]. Как непосредственная внутренняя среда головного мозга, ЦСЖ является носителем информации высших регуляторных центров данных систем [3]. Уникальной особенностью ЦСЖ является отсутствие межвидовой иммунологической несовместимости, позволяющее использовать доступную ЦСЖ коров для изготовления ксеногенных биопрепаратов [4]. Перспективность данного направления определила утилитарную сторону научного поиска. Наше исследование, являющееся моделью ксеноликворотерапии, подтвердило отсутствие иммунологической несовместимости ксеноликвора коров и внутренней среды крыс. ЦСЖ содержит биологически активные вещества (БАВ), воздействующие на организм на всех уровнях

регуляции. Период полужизни большинства БАВ в ликворе больше, чем в сыворотке крови и других средах [2]. Благодаря тесной взаимосвязи ЦСЖ с регуляторными центрами, она быстро реагирует на изменение гомеостаза в организме донора и приобретает новые биологические свойства. Сочетания гормонов в ЦСЖ образуют динамичные комбинации, зависящие от функционального статуса организма. Известные многочисленные экспериментальные и клинические исследования эффектов ЦСЖ на организм реципиента позволяют сформулировать общую направленность ее действия как моделирование физиологического состояния донора [5, 6]. Ликвор стельных коров на поздних сроках обладает выраженным контрактильным действием на матку, что, по-видимому, обусловлено содержанием простагландинов и окситоцина в нем, а также наличием гипоталамических, эпифизарных и гипофизарных гормонов [2, 4]. Таким образом, изменяя функциональный статус коров-доноров, можно получать ЦСЖ с заданными свойствами для

создания биопрепаратов направленного действия. Поскольку послеродовой период у млекопитающих протекает на фоне физиологической ановуляции, предполагали, что ЦСЖ коров, полученная в первые недели после отела, обладает контрацептивными свойствами, что подтверждено экспериментально. Прижизненное взятие, криоконсервация, отсутствие фильтрации позволили сохранить естественные свойства и рассматривать вводимую нами ЦСЖ как биологическую среду и биопрепарат одновременно, объединив теоретическую и практическую значимость результатов. Для изучения свойств ксеногенной ЦСЖ и разработки биопрепаратов на ее основе необходимо комплексное исследование эффектов ее действия на морфофункциональные показатели репродуктивной системы на разных иерархических уровнях, что определило задачи работы.

#### Материал и методы исследования.

ЦСЖ получали методом субокипитальной пункции у лактирующих коров и сохраняли в жидком азоте [7]. ЦСЖ вводили крысам внутримышечно из расчета дозы 2 мл на 1 кг массы однократно и многократно курсами через день на протяжении месяца (короткий интенсивный курс), раз в неделю на протяжении трех месяцев (длительный неинтенсивный курс). Курсовая доза составила около 8 мл, поскольку число инъекций и разовая доза были идентичны. Эксперимент проведен на самцах и самках белых крыс – потомках крыс линии Вистар 3-4-го поколения в количестве 262 особей. Работу проводили в соответствии с этическими принципами (протокол комиссии по вопросам биоэтики № 13 от 15.03.2012 г.). Исследованы основные возрастные группы крыс – ЦСЖ вводили от внутриутробного периода до зрелости. Крыс выводили из эксперимента в несколько этапов для выявления ранних изменений (через 30 сут после введения СМЖ) и отдаленных эффектов (через 90 сут). Крысам контрольной группы внутримышечно вводили 0,9% раствор NaCl по той же схеме в аналогичной дозе. Исследование полового поведения, половой мотивации, показателей фертильности проводили по общепринятым методикам [8, 9, 10]. Определение уровня половых гормонов сыворотки крови крыс (эстрадиол и прогестерон – у самок; тестостерон – у самцов) проводили иммуноферментным методом. Исследование семенников, яичников и матки включало органомерические исследования и гистологические исследования по стандартным методикам [8]. При анализе количественных показателей результаты

сводили в структурированную базу данных, рассчитывали среднюю арифметическую для группы, ошибку средней, среднееквадратическое отклонение, коэффициент вариации, отклонение величины в опыте от величины в контроле. Статистическая обработка проведена с помощью лицензионных программ «MS Office – Excel» согласно рекомендациям производителей программного обеспечения. При использовании метода вариационной статистики для оценки значимости отличий цифровых данных использовали t-критерий Стьюдента. Достоверными считали результаты при значении  $p \leq 0,05$ ; перед использованием параметрического критерия проверяли распределение на нормальность.

#### Результаты исследования и их обсуждение.

Основными физиологическими репродуктивными составляющими, изученными в нашей работе, являются: структура, длительность и ритмичность эстральных циклов самок, поведенческие реакции на рецептивную особь противоположного пола, поведение спаривания, показатели фертильности самок и самцов, качественные и количественные характеристики приплода, уровень половых гормонов в сыворотке крови.

ЦСЖ лактирующих коров как естественная гуморальная среда мозга при поступлении в организм вне ГЭБ вызывает существенные изменения в репродуктивной сфере крыс.

Длительность эстральных циклов и соотношение их фаз у крыс в норме зависимы от фотопериода: в зимнее и осеннее время длительность эстральных циклов пролонгирована (до 14,1%,  $p \leq 0,001$ ) по сравнению с весенне-летним периодом за счет стадии диэструса (коэффициент диэструса увеличен до 24,4%,  $p \leq 0,001$ ). Введение ЦСЖ оказывает воздействие на длительность циклов и на соотношение их фаз, нивелируя сезонные колебания после любого режима введения ЦСЖ во все сезоны года, оказывая эффект более сильный, чем фотопериод – важнейший природный фактор. Отмечено стабилизирующее действие ЦСЖ на длительность эстральных циклов (сезонные отличия длительности циклов в подопытной группе после введения СМЖ не превышают 2,4%), стимулирующий эффект на цикличность самок в период становления репродукции в зимнее время.

У самцов в результате курсового введения ЦСЖ существенно меняется поведение при спаривании: происходит уменьшение общего числа садок и их общей 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 общее время до наступления периода рефрактерности (на 37,3%,  $p \leq 0,05$ ). У самок в результате курсового введения ЦСЖ 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), фиксируются случаи избегания самца и агрессии (20% и 40% случаев).

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, по сравнению с контролем; взаимодействие с особями своего пола не меняется.

Курсовое введение ЦСЖ вызывает обратимое бесплодие у самцов (100% на протяжении месяца) и снижает плодовитость самок: происходит пролонгация беременности и уменьшается количество крысят в приплоде (на 5,6%,  $p \leq 0,05$  и 23,9%,  $p \leq 0,05$  соответственно).

Курсовое введение ЦСЖ вызывает снижение уровня эстрадиола в сыворотке крови у самок (на 19,3%) и тестостерона – у самцов (на 21,0%).

*Морфологические исследования* органов репродукции выявили выраженный ингибирующий эффект инъекций ЦСЖ на гонады (семенники и яичники), а также мишени овариальных гормонов (матка, рога матки, маточные трубы).

Однократная инъекция ксеногенной ЦСЖ самцам белых крыс во внутриутробном периоде, в 1-е и 30-е сутки жизни приводит к задержке роста семенника: снижению его массы (на 17,9-59,9%,  $p \leq 0,001$ ), объема (на 11,3-38,3%,  $p \leq 0,05-0,01$ ) и относительной массы (на 14,7-56,6%,  $p \leq 0,05-0,001$ ). ЦСЖ, введенная до наступления полового созревания, вызывает стойкий выраженный ингибирующий эффект: зафиксировано снижение массы, объема и относительной массы семенника не только на ранних этапах после введения ЦСЖ, но и у половозрелых крыс, спустя 6 месяцев после инъекций. У зрелых крыс отдаленные эффекты ЦСЖ на биометрические параметры семенников отсутствуют даже при многократном введении ЦСЖ.

В.В. Бондаренко ранее изучены морфологические изменения семенников свиней и крыс при введении ксеногенной ЦСЖ лактирующих коров [11]. В семенниках наблюдалось нарушение

гематотестикулярного барьера, изменения генеративного и инкреторного аппарата, степень выраженности изменений пропорциональна кратности введения и дозе ЦСЖ. При введении ЦСЖ свиньям молочно-возрастного периода наблюдается либо временное бесплодие (при однократном введении ЦСЖ), либо стойкое бесплодие (при двукратном введении). Эффект также более выражен при введении ЦСЖ молодняку в сравнении с животными, находящимися в периоде ранней половой зрелости. Автор установил, что варьируя дозами, параметрами введения ЦСЖ, принимая во внимание возраст животных, можно достигать прогнозируемых состояний, что нашло практическое применение в свиноводстве.

Изучение структуры *яичников* позволило выявить морфологическую основу вышеизложенных функциональных эффектов ЦСЖ у самок. Парентеральное введение ликвора вызывает морфологические изменения в яичниках крыс, связанные с регрессией паренхиматозных элементов, нарушением процессов фолликулогенеза, активацией стромальных компонентов. Степень выраженности и характер гистологических перестроек в яичниках зависят от возрастного периода животных, получавших ксеногенный ликвор. Максимальные изменения структуры яичников выявлены при введении ликвора на ранних этапах постнатального развития. При однократном введении ЦСЖ крысам до наступления полового созревания, происходит задержка роста яичников и дифференцировки их тканей. Однократное введение ЦСЖ после наступления полового созревания вызывает минимальный эффект. При многократном введении ЦСЖ половозрелым крысам вначале происходит увеличение числа растущих фолликулов с формированием крупных желтых тел, составляющих в дальнейшем основную массу паренхимы гонад, с последующей атрезией всех растущих фолликулов и ановуляцией. Репродуктивная функция при этом восстанавливается спустя 30-50 суток. Ановуляция вызвана блокированием роста полостных фолликулов на этапе селекции доминантных фолликулов, гибелью овоцитов, образованием атретических тел.

Ксеногенная ЦСЖ вызывает изменения структуры мишеней овариальных гормонов (тела матки, рогов матки, маточных труб), преобладает ингибирующий эффект.

В перинатальном периоде наиболее чувствительным отделом матки к ксеногенной ЦСЖ является рог, при введении ЦСЖ во внутриутробном

периоде длина рога матки уменьшается (на 27,5% в раннем периоде наблюдения и на 18,5% - в отдаленном,  $p \leq 0,05$ ), 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 динамика касается преимущественно тела матки, 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 самкам в период расцвета репродукции (на 44,1%,  $p \leq 0,05$ ). Инъекции ЦСЖ в этих опытах вызывают также асимметрию длины маточных рогов, что указывает на сохранение пластичности данного показателя на протяжении жизни. В ряде случаев уменьшение объема тела матки может сопровождаться увеличением длины или диаметра рогов матки, в частности, при введении ликвора в 1-е и 30-е сутки жизни и при многократном курсовом введении его на протяжении 90-180 суток, что может быть связано с изменением гормонально зависимого тонуса различных слоев миометрия маточного рога.

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 (при многократном введении ЦСЖ на протяжении 3-х месяцев половозрелым самкам и при однократном введении ЦСЖ в возрасте 30 суток) статистически значимыми (преобладание длины правого рога над левым на 13,7,  $p \leq 0,05$  и 35,5%,  $p \leq 0,01$  соответственно), вследствие чего увеличивается коэффициент асимметрии длины рогов матки. При исследовании гистологического строения маточных труб выявлены признаки дистрофии эпителиального покрова и подлежащей соединительной ткани собственной пластинки слизистой оболочки.

Репродукция – одна из важнейших составляющих физиологии живых организмов, в связи с этим, в основу возрастной периодизации крыс положены этапы развития половой функции. При

работе со зрелыми крысами мы учитывали репродуктивный статус и соблюдали его соответствие в контроле и опыте: у самцов – наличие опыта садок, у самок – предшествующую беременность, лактацию, стадию эстрального цикла. В зависимости от уровня рассмотрения циклических изменений в организме самок полиэстрических млекопитающих в структуре эстрального цикла выделяют овариальный, генитальный и экстрагенитальный циклы: структурные и функциональные показатели регуляторных систем и периферических органов самок зависимы от репродуктивного цикла. По этой причине интерпретацию результатов структурных и функциональных исследований на самках мы проводили, ориентируясь на стадию эстрального цикла, взятие ЦСЖ – в послеродовой период, учитывая репродуктивный статус донора. Циклическая деятельность яичников заключается в периодическом созревании и овуляции доминантных фолликулов и последующем развитии из их оболочек желтых тел. Стимулы, контролирующие смену регуляторных механизмов в разные фазы цикла, генерируются в яичниках и реализуются путем влияния овариальных гормонов и пептидов на высшие центры регуляции [12]. Система регуляции репродукции представлена иерархическим каскадом, включающим гипоталамический, гипофизарный и гонадный уровни, взаимосвязанные по принципу обратных «плюс-минус» взаимодействий. ЦСЖ является субстратом, участвующим в осуществлении центральных и периферических прямых и обратных реакций регуляции репродукции, коллектором БАВ различных групп, содержание которых определяется синтезом и проницаемостью гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) в двух направлениях. ЦСЖ лактирующих коров содержит БАВ, ингибирующие репродукцию. При лактационной аменорее в ЦСЖ донора увеличено содержание пролактина, ингибина, опиатов, являющихся супрессорами выработки гонадотропинов, снижена концентрация гонадолиберина [12]. Установлена роль нервной обратной связи от половых желез в обеспечении гонадотропной функции гипофиза, что также указывает на посредническую роль ЦСЖ во взаимосвязи центральных нервных и периферических эндокринных структур.

Адекватность использования ЦСЖ самок для инъекций самцам связана с общностью гормональной регуляции мужской и женской гонад гормонами гипоталамо-гипофизарной системы (гонадолиберин, ФСГ, ЛГ – общие для самцов и самок). Наши исследования выявили у самцов феминизирующий

эффект ЦСЖ на структуру гипофиза и ингибирующее действие на семенник, то есть БАВ ЦСЖ нашли точки приложения на регуляторные системы самцов. При парентеральном введении ЦСЖ, БАВ всасываются в системный кровоток реципиента, действуют на периферии, проникая сквозь структуры ГЭБ, воздействуют и на центральные регуляторные образования, запуская каскад эндогенных реакций. Вероятно, реакция гипоталамуса на ксеногенную ЦСЖ принадлежит ведущая роль в реализации ее эффектов, так как кора мозга лучше защищена структурами ГЭБ от экзогенных воздействий. Для большинства БАВ установлено как центральное, так и периферическое происхождение либо в идентичной химической организации, либо в схожей, позволяющей взаимодействовать как с центральными, так и с периферическими рецепторами [2, 13]. В связи с этим, периферическое введение ЦСЖ, даже без учета ее проникновения сквозь ГЭБ, вызывает мощный эффект за счет появления на периферии центральных БАВ и наличия рецепторов к ним в периферических тканях. Ввиду наличия ГЭБ, нельзя провести параллель между естественным регуляторным действием ЦСЖ и эффектами ее периферического (внебарьерного) введения в виде биопрепарата. Напротив, известен антагонизм центрального и периферического действия, а также наличие ряда центральных регуляторных эффектов для большинства БАВ, реализация которых на периферии невозможна [13, 14]. ЦСЖ выполняет функции транспортного пути ауторегуляции секреции ряда регуляторных осей. Структуры головного мозга, расположенные «выше» гипофиза, регулируют репродукцию самцов и самок за счет нейрогуморальных воздействий трансгипофизарно и парагипофизарно [15]. ЦСЖ, как гуморальная среда мозга играет важную роль в реализации данных эффектов. Сложный состав ЦСЖ, активная фракция которой состоит из сбалансированного динамического комплекса БАВ, обладающего суммарным полифункциональным действием, не позволяет провести фармакокинетический анализ ее отдельных компонентов. Многофакторное действие ЦСЖ на регуляторные системы реципиента не позволяет с достаточной надежностью выделить из комплекса регуляторных механизмов значимость тех или иных составляющих в генезе отдельных эффектов. В этих условиях представление о фармакодинамике ЦСЖ можно получить экспериментально и говорить об эффектах ЦСЖ в целом, а не отдельных ее компонентов; описывать эффект на конкретную

группу особей, указав вид, пол, возраст, физиологический статус.

Во второй половине 20-го века благодаря развитию молекулярной биологии обнаружены пептидные гормоны и мессенджеры с небольшой молекулярной массой, которые объединены в группу регуляторных пептидов. Известно более 300 регуляторных пептидов, осуществляющих связь генома с нейроэндокринной системой. Они играют роль переносчиков информации на всех уровнях (над-, меж-, внутриклеточных). Пептидергическая регуляция гомеостаза – составляющая механизма биорегуляции [16]. Теоретическое положение о пептидергической регуляции нашло применение в разработке биопрепаратов группы цитомединов. Цитомедины способны индуцировать процессы дифференцировки в популяции клеток, из которых они выделены. Так, эпиталамин, выделенный из эпиталамуса коров, воздействует на гипоталамо-гипофизарно-эпифизарный комплекс: повышает чувствительность гипоталамуса к эндогенным регуляторным воздействиям, нормализует выработку гонадотропинов, восстанавливая гормональный баланс при старении, стимулирует клеточный иммунитет, что изучено в эксперименте и применяется в репродуктивной медицине и гериатрии [16]. Биорегулирующая терапия и ликворотерапия схожи по ряду параметров. ЦСЖ как биопрепарат имеет много общего с цитомединами, полученными из мозга (комплексный механизм действия, химический состав, малая дозировка, получение от животного другого вида). В организме постоянно по вертикали и по горизонтали взаимодействует множество функциональных систем. Обмен и транспортировка информации в каждой из них осуществляется с помощью специфических эквивалентов. Совокупность данных процессов составляет общую информационную среду – динамический информационный каркас организма. Потоки нервных сигналов и молекул информируют мозг о состоянии тканей и происходящих в них метаболических изменениях. Отдельные молекулы осуществляют взаимодействие функциональных систем по иерархическому мультипараметрическому принципу, другие – участвуют в их последовательном взаимодействии во времени. Из мозга поступают нервные сигналы и БАВ, осуществляющие регуляторные влияния. Информация все время циркулирует в динамической организации функциональных систем – от потребности к ее удовлетворению и постоянно оценивается аппаратом

акцептора результата действия [17]. ЦСЖ в физиологических условиях принадлежит важнейшая роль, как в центральных механизмах обмена информации – в месте ее естественной циркуляции, так и в периферических – за счет всасывания ЦСЖ в кровь и проникновения ее БАВ на периферию. При введении ЦСЖ в качестве биопрепарата преобладает ее периферическое действие, но и центральное действие имеет место, так как сам факт введения СМЖ увеличивает проницаемость ГЭБ и вещества, производные нервной ткани, обладающие высоким сродством к его структурам, проникают за барьер. Церебролизин, цитомедины, ксеногенная ЦСЖ – это биопрепараты, представляющие собой фрагменты информационной среды, обладающие естественными модулирующими потенциями.

Действие ксеногенной ЦСЖ на гонады обусловлено широким спектром БАВ, оно, по-видимому, не ограничено эстрогенами, гонадотропинами, гонадолиберинном и эпителиальными факторами. На наш взгляд, суждение о действии конкретных БАВ ЦСЖ может быть информативным только при очень широком ее биохимическом анализе, иначе данные выводы будут весьма фрагментарными. К сожалению, в рамках данного эксперимента такие исследования были невозможны, учитывая видоспецифичность диагностикумов, их клиническую направленность, ограничивающую спектр БАВ, значимый для диагностики основных патологических состояний. Мы строго придерживались стандарта физиологического состояния донора – ановуляция после отела, на основании чего косвенно судим об общем регуляторном фоне, что весьма надежно, поскольку базируется на биологических законах.

Ингибирующее гонадотропное действие интенсивного курсового введения ЦСЖ привело к обратимому бесплодию самцов и снижению фертильности самок. Эти изменения обусловлены нарушением спаривания (изменением поведения), процессов сперматогенеза и овогенеза, гормонального дисбаланса. Спустя месяц после окончания инъекций самцов подопытной группы спаривали с интактными самками, получено полноценное потомство. Восстановление эстральных циклов самок, как ведущих репродуктивных составляющих, также отмечено через месяц после прекращения инъекций. Обратимость эффектов ЦСЖ на зрелых особей является перспективной при использовании ее как сырья для биопрепаратов.

При анализе поведения спаривания выявлены значительные отличия между контрольной и подопытной группами. Механизмы, регулирующие половое поведение самцов крыс, условно делятся на центральный и периферический [18]. Для центрального механизма характерна активация, повышение уровня полового возбуждения, приводящего к спариванию. О вовлеченности мотивационной составляющей можно судить по латентному периоду первой садки и по длительности периода восстановления после эякуляции. Такие показатели как латентный период садок, латентный период до начала эякуляции, период после эякуляции у самцов контрольной и подопытной групп в наших исследованиях не отличаются. Данные показатели определяются мотивационным механизмом центральной нервной регуляции [18] и сохраняются при гипогонадном состоянии крыс, то есть менее зависимы от эндокринного статуса и состояния семенников. Периферический механизм регулирует непосредственно процесс спаривания и эякуляции. Работу этого звена регуляции характеризует количество интромиссий, необходимых для наступления эякуляции, латентный период эякуляции. Важной интегральной характеристикой является и общее число эякуляций за время тестирования. Снижение этих показателей в наших опытах указывает преимущественно на гипоталамо-гипофизарные и периферические гонадотропные эффекты ЦСЖ при введении ее зрелым особям, что подтверждается морфологическими исследованиями семенников и яичников.

Изменение полового поведения, связанное с изменением функции гонад и регуляторных отделов мозга – классический пример нейроэндокринного взаимодействия. В данной цепи регуляции обратную связь с мозгом осуществляют гормоны, секрецию которых стимулируют продукты, выделяемые аденогипофизом. Тиреоидные гормоны и стероидные гормоны половых желез и надпочечников влияют на активность нейронов в различных участках мозга, изменяя их электрическую активность и запуская нервные импульсы к нейронам, не имеющим рецепторов к данному гормону. Информация об уровне гормонов в крови поступает не только в структуры гипоталамо-гипофизарно-эпифизарной системы, но и в мозговые центры, влияющие на поведение, и таким путем происходит координация гормонального статуса и поведения. При более широком рассмотрении вопроса к половому поведению следует отнести такие зависимые от пола

реакции, направленные на воспроизводство потомства, как материнский и гнездостроительный инстинкты. В этологии половое поведение, наряду с пищевым поведением, относят к консуматорному поведению, жестко определенному рефлекторными реакциями. Эффекты ксеногенной ЦСЖ на все составляющие репродуктивной функции являются следствием ее участия в межорганных нейроэндокринных взаимодействиях.

Изменения структуры матки как органа-мишени овариальных гормонов представляют интерес для понимания комплексных процессов в репродуктивной сфере при парентеральном введении ЦСЖ, а также имеют практический интерес для разработки лекарственных биопрепаратов с перспективой использования в гинекологии для коррекции гиперпластических процессов в эндометрии вследствие возрастного прогрессирования эстрогенизации, связанной с особенностями репродукции человека. Матка является органом-мишенью овариальных гормонов и тест-объектом, прямо отражающим уровень эстрогенов, недоразвитие тела матки и асимметрия маточных рогов свидетельствуют о гипозэстрогенизации. Точкой приложения эффекта большинства биопрепаратов, используемых в акушерстве и гинекологии, является гипофиз и их регулирующее влияние на репродуктивную систему вторично. В данной работе исследован органный (анатомический) уровень организации матки как мишени овариальных гормонов для общего суждения о комплексных эффектах ксеногенной ЦСЖ, что являлось целью работы. Нами установлено, что в перинатальном периоде рог матки является наиболее чувствительным к действию ксеногенной ЦСЖ, но при введении ЦСЖ во внутриутробном периоде длина рога матки уменьшается (что, вероятно, указывает на гипоплазию), а при введении в первые сутки жизни, напротив, увеличивается, но за счет уменьшения диаметра, что говорит об гипозэстрогенизации (по данным органомерии в различные стадии эстрального цикла). При введении ЦСЖ крысам в период полового созревания и зрелости выявлено преимущественное уменьшение тела матки. Заслуживает внимания дифференцированное действие ЦСЖ на оппозитные рога матки, что вызывает усиление структурной асимметрии матки. Гетерохрония роста рогов матки также указывает на гипозэстрогенный эффект, перспективный с практической точки зрения.

#### **Выводы.**

Таким образом, наше исследование выявило каскад взаимосвязанных структурных и функциональных изменений органов репродуктивной системы, в условиях внебарьерного введения ксеногенной ЦСЖ как высокоактивной гуморальной среды центров нейроэндокринной регуляции. Курсовое введение ЦСЖ вызывает снижение уровня половых гормонов в сыворотке крови: эстрадиола у самок и тестостерона у самцов. В результате введения ЦСЖ изменяются поведенческие реакции крыс, связанные с репродукцией: поведение, проявление половой мотивации у самцов и самок. Снижаются показатели фертильности самцов и самок: зафиксировано полное, но обратимое (на протяжении месяца) бесплодие у самцов, снижение плодовитости самок (продлонгация беременности, уменьшение числа крысят в приплоде). Выявлен ингибирующий гонадотропный эффект ксеногенной ЦСЖ на размеры семенников, яичников как органов-мишеней гипофизарного гонадотропина и матки как органа-мишени овариальных гормонов. Преимущественно ингибирующий эффект ЦСЖ оказывает и на матку, изменяя органомерические показатели рога матки и тела матки; оказывая дифференцированное действие на оппозитные рога матки, ЦСЖ вызывает усиление ее структурной асимметрии; гипоплазия матки и гетерохрония роста ее рогов являются косвенными признаками гипозэстрогенизации.

Автор посвящает свою работу памяти профессора Ткача Владислава Викторовича – основателя ликворлогической школы Украины.

#### **Список использованной литературы:**

1. Пальцев М.А. Руководство по нейроиммуноэндокринологии. — 2-е изд. / М.А. Пальцев, И.М. Кветной. — М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2008. — 512 с.
2. Бадалян Л.О. Актуальные проблемы нейроэндокринологии: пептидергическая система мозга / Л.О. Бадалян, О.И. Герасимова, Г.А. Герасимов. — М.: ВНИИМИ МЗ СССР, 1982. — 60 с.
3. Ликвор как гуморальная среда организма / [В.С. Пикалюк, Е.Ю. Бессалова, В.В. (мл.) Ткач и др.]. — Симферополь, ИТ «АРИАЛ», 2010. — 192 с.
4. Фридман А.П. Основы ликворологии. (Учение о жидкости мозга) / А.П. Фридман. — Л.: Медицина, 1971. — 648 с.
5. О ликворотерапии больных с центральными двигательными нарушениями / Г.А. Вартамян, М.В. Неуймина, Ф.А. Гурчин, Т.С. Матвеева

// Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. — 1992. — Т. 92, № 1. — С. 72–75.

6. The some immunobiological properties of a cerebrospinal fluid: cytotoxic, cytolytic effects, use of a cerebrospinal fluid as a nutrient medium for the cultivation of cells and tissues / M.A.Kriventsov, V.V. (jr) Tkach, Ye. Yu. Bessalova, V.V. Kiselev // Таврический медико-биологический вестник (English Edition). — 2007. — Т. 10, № 3. — С. 257–259.

7. Технические условия прижизненного взятия и хранения спинномозговой жидкости крупного рогатого скота по Ткачу В.В. (мл.). / [В.В. (мл.) Ткач, А.В. Самсонова, Ю.С. Гажеман и др.] // Материалы 79-й межвузовской науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых Крымского государственного медицинского университета им. С.И. Георгиевского. — Симферополь, 2007. — С. 43.

8. Бессалова Е.Ю. Особенности постановки морфологического эксперимента при изучении репродуктивной функции млекопитающих: тез. доп. Всеукр. наук. конф. “Актуальні питання вікової анатомії та ембріотопографії” / Е.Ю. Бессалова // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. — 2006. — Т. 5, № 2. — С. 90–91.

9. Методические рекомендации по использованию поведенческих реакций животных в токсикоогических исследованиях для целей гигиенического нормирования / Авторы-сост.: [Е.Н. Бурцаккая, В.Ф. Витер, Л.А. Тимофиевская и др.]. — К.: Радянська Україна, 1980. — 46 с.

10. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения: Пер. с англ. Е.Н.

Живописцевой / под ред. Батуева А.С. — М.: Высшая школа, 1991. — 399 с.

11. Бондаренко В.И. Морфофункциональные изменения семенников некоторых млекопитающих при парентеральном введении прижизненно взятой цереброспинальной жидкости крупного рогатого скота: дис... канд. мед. наук: спец. 14.00.02 «Анатомия человека» / Бондаренко В.И. — Симферополь, 1989. — 180 с.

12. Волкова О.В. Морфогенетические основы развития и функции яичников / О.В. Волкова, Т.Г. Боровая. — М., 1999. — 253 с.

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

14. Multiplicity of cerebrospinal fluid functions: New challenges in health and disease / [C.E. Johanson, J.A. Duncan, P.M. Klinge et al.] // Cerebrospinal Fluid Res. — 2008. — Vol. 14. — P. 5-10.

15. Регуляторные системы организма человека / [В.А. Дубинин, А.А. Каменский, М.Р. Сапин и др.]. — М.: Дрофа, 2003. — 368 с.

16. Пептидергическая регуляция гомеостаза / [В.Х. Хавинсон, И.М. Кветной, В.В. Южаков и др.]. — СПб: Наука, 2003. — 194 с.

17. Зилов В.Г. Элементы информационной биологии и медицины: Монография/ В.Г. Зилов, К.В. Судаков, О.И. Эпштейн. — М.: МГУЛ, 2000. — 248 с.

18. Beach F. Sexual exhaustion and recovery in male rats / F. Beach, L. Jordan // Q.J. Exp. Psychol. — 1996. — № 8. — P. 121–133.

## БІОЛОГІЧНІ ЕФЕКТИ ЦЕРЕБРОСПІНАЛЬНОЇ РІДИНИ НА СИСТЕМУ РЕПРОДУКЦІЇ ССАВЦІВ

*Бессалова О. Ю., Пикалюк В. С., Королев В. А.*

*ДУ «Кримський державний медичний університет ім. С. І. Гергієвського»*

*бул. Леніна 5/7, 95006, Сімферополь, Україна*

Робота присвячена вивченню біологічних ефектів цереброспинальної рідини (ЦСР) корів під час періоду лактації, шляхом уведення самцям та самкам білих щурів як ксеногенного препарату. Дослідження системи репродукції проведено за допомогою фізіологічних та морфологічних методів, було виявлено виражений, але зворотного характеру інгібуючий ефект ЦСР, він отриманий в період фізіологічної ановуляції донора та впливав на систему репродукції реципієнтів. Гонадігібуючий ефект ЦСР було відмічено як у самок, так і у самців, він зворотний та залежний від віку реципієнтів та кратності уведення ЦСР – максимальні зміни отримані при уведенні ЦСР в перинатальний період та при багаторазових ін'єкціях. Зафіксовано такі зміни: зниження показників спарювання й статеві мотивації; динаміка тривалості астральних циклів та співвідношення їх фаз; зниження показників фертильності самок та тимчасове безпліддя у самців; зниження маси сім'яників та яєчників, рівня статевих гормонів у сировотці крові, ановуляція, зумовлена атрезією порожнинних фолікул, структурні зміни органів-цілей оваріальних гормонів. Робота підтвердила гіпотезу про відсутність імунологічної несумісності ЦСР різних таксонів ссавців і гіпотезу її контрацептивного впливу у період фізіологічної овуляції донора. Прижиттєвий відбір, криоконсервація, відсутність фільтрації допомогли зберегти природні властивості ЦСР та вивчити уведену нами рідину одночасно як



біологічне середовище та біопрепарат, що й об'єднало загальнотеоретичну та практичну цінність результатів роботи.

**Ключові слова:** статеві система, самки, самці, цереброспінальна рідина, регуляція функцій, анатомія, фізіологія, лактація, біологічно активні речовини.

## BIOLOGICAL EFFECTS OF CEREBROSPINAL FLUID ON MAMMAL'S REPRODUCTIVE SYSTEM

*Bessalova Ye. Yu., Pikalyuk V. S., Korolev V. A.*

*State Institution "Crimea State Medical University named after S. I. Georgievskiy"*

*5/7 Lenina Av., 95006, Simferopol, Ukraine*

The article is devoted to study biological effects of cerebrospinal fluid of lactate cows with its injection into female and male white rats as a xenogenic medicine. We studied the reproductive systems by physiological and morphological methods. We pointed significant, but reversible inhibitory effect of cerebrospinal fluid derived during physiological anovulation of a donor, we analyzed this effect of the recipient's reproductive system. Inhibitory effect of cerebrospinal fluid on gonad was identified both in male and female organisms. This effect is reversible and dependable on recipient's age and cerebrospinal fluid frequency of administration. Thus, the peak changes were observed during cerebrospinal fluid injection in perinatal period and numerous injections. There were the following changes: mating number and sexual motivation reducing; dynamic of estrous cycle and phases of cycle duration; female's fertility decrease and temporary male infertility; testicles and ovary weight reductions, reproductive hormones level in blood serum, anovulation was caused by atresia of tertiary follicles and structural changes of target-organs for ovarian hormones. The article has validated the hypothesis about absence of cerebrospinal fluid immunogenetic disparity of different mammal species and hypothesis about its contraceptive effect on derived samples during the donor's physiological anovulation. We preserved normal characteristics of cerebrospinal fluid by intravital derivation, cryoconservation and we did not do filtration. Thus, we studied injected fluid as biological media and the biogenic medicine.

**Key words:** reproductive system, female, male, cerebrospinal fluid, function regulation, anatomy, physiology, lactation, bioactive substances.