

УДК: 616.681-008.64-021.3:612.616.31+612.115.3:599.323.45

Д.Ю. Кустов, И.В. Кокина, А.С. Косторев, Т.А. Реготун, Я.С. Валигун

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ГЕПАРИНА НА ПОВЕДЕНИЕ БЕЛЫХ КРЫС С МОДЕЛЬЮ АУТОИММУННОГО ГИПОГОНАДИЗМА

Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького

Реферат. *Статья посвящена изучению динамики изменения груминговой и двигательной активности у интактных крыс и крыс с моделью аутоиммунного гипогонадизма, а также влияния длительного воздействия гепарина на изучаемые показатели в обеих группах. Иммунизацию животных осуществляли путём введения гомогената аллогенной ткани семенников и яичников. Регистрация груминга проводилась по собственной методике. В результате проведенных исследований было установлено, что развитие аутоиммунного гипогонадизма приводит к существенному снижению количества элементарных груминговых актов, однако время, затраченное животными на груминг, наоборот, увеличивается. Интенсивность груминга, как показатель комфортного поведения, снижалась на поздних сроках эксперимента. Двигательная активность у опытных особей также была снижена. Длительное введение гепарина приводило к нормализации груминговой и двигательной активности на поздней стадии эксперимента. В нашем исследовании впервые была проведена оценка груминга в качестве индикатора развития аутоиммунного гипогонадизма как примера системной аутоиммунной патологии.*

Ключевые слова: *аутоиммунный гипогонадизм, груминг, гепарин*

Актуальность. Ухудшение экологической обстановки в мире в целом, и в нашем регионе — в частности, вызванное непрекращающимися военными действиями, жизнь в условиях постоянного стрессового воздействия приводят к существенному увеличению риска развития системных аутоиммунных патологий, причём со сдвигом дебюта заболевания в сторону более раннего возраста.

Существование единой нейроиммунноэндокринной системы подтверждено многочисленными исследованиями [1], однако, на наш взгляд, следует расширить этот термин, включив в него психологический компонент. Таким образом, психонейроиммунноэндокринная система

является мощной реактивной системой организма, реагирующей на любые внешние воздействия перестройкой своей функциональной активности. В условиях постоянного дестабилизирующего психического воздействия, коим можно считать военный конфликт, дисбаланс всех звеньев психонейроиммуноэндокринной системы неизбежен. Следует подчеркнуть, что иммунные и эндокринные нарушения зачастую длительное время находятся в латентной стадии и не имеют чётко сформированной клинической картины. Кроме того, этиопатогенез системных аутоиммунных заболеваний (САЗ) до сих пор во многом остаётся не выясненным. САЗ затрагивают различные органы и системы, приводя к образованию «порочных кругов», результатом которых являются самоподдерживание и усугубление патологических сдвигов. Всё вышперечисленное затрудняет профилактические, диагностические и терапевтические мероприятия, направленные, в конечном итоге, на поддержание и улучшение качества жизни пациента.

Хотя аутоиммунный гипогонадизм (АИГ) не занимает доминирующее положение в ряду САЗ, так как встречается реже других системных патологий, и не представляет непосредственной угрозы жизни пациента, однако он является причиной бесплодия, а потому имеет важное социальное и медицинское значения. По данным Всемирной Организации Здравоохранения, порядка 15% всех пар в мире являются бесплодными [15]. При этом, мужское и женское бесплодие встречаются с одинаковой частотой. В более чем 20% случаев причиной нарушения репродуктивной функции является АИГ с наличием антиспермальных (АС-АТ) и антиовариальных (АО-АТ) антител [14].

Для диагностики АИГ обычно применяют определение уровня аутоантител, гормональный контроль и гистологические исследования. Но в настоящее время чёткий алгоритм диагностики АИГ не разработан, что затрудняет оценку распространённости данной патологии среди населения и проведение эффективного её лечения [5]. Кроме того, АИГ может провоцировать развитие других САЗ, например, таких, как ревматоидный артрит и аутоиммунный тиреоидит, и быть, таким образом, частью полисистемного аутоиммунного расстройства.

Огромное значение приобретают диагностика, профилактика и лечение АИГ в регионах, находящихся в условиях длительного военного конфликта, т.к. в его результате может нарушаться демографическое состояние социума, приводящее к общему снижению популяции, проживающей в данных регионах, что, в отдалённой перспективе, будет негативно сказываться на экономическом развитии и приводить к деградации этноса.

С другой стороны, АИГ, влияя на функциональную активность гонад и регуляторные механизмы гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы, будет оказывать опосредованное воздействие и на психическую деятельность индивида, в том числе — на поведение. Таким образом, с большой долей вероятности можно предположить, что, с одной стороны, длительный стресс будет провоцировать развитие САЗ, в частности, АИГ, а с другой — само развитие АИГ будет активно влиять на психонейроиммуноэндокринную систему, вызывая нарушения в психической деятельности, что находит своё отражение в изменении поведения.

Груминг (реакции самоочищения поверхности тела) для животных является важным зоосоциальным компонентом поведения, обуславливающим и одновременно отражающим иерархическое положение особи и её способность к воспроизводству потомства. Помимо этого, груминг представляет собой стресс-зависимую форму поведения и, как таковой, может служить маркером «комфортности» животного [7].

Имеющийся опыт успешного применения гепарина в качестве иммуномодулятора при аллергических и псевдоаллергических заболеваниях позволяет предположить возможность его применения и при аутоиммунной патологии, хотя в литературе данные о его использовании при АИГ не были найдены.

Цель работы. Установить закономерности изменения груминговой и общей двигательной активности у крыс с моделью аутоиммунного гипогонадизма до и после коррекции гепарином.

Материал и методы исследования. Эксперименты проводили на беспородных белых крысах массой 220–300 г. Все животные были разделены на 2 основные группы — интактную (И), состоящую из 32 особей, и опытную (АИГ), включавшую 40 животных обоего пола (таблица). В группе интактных особей выделяли контрольную подгруппу из 10 животных, которым вводили гепарин подкожно по 500 МЕ/кг в течение всего периода эксперимента. В свою очередь, опытная группа подразделялась на 2 подгруппы: иммунизированные крысы (20 особей) и иммунизированные крысы, которым аналогично вводили гепарин (20 особей).

Таблица

Экспериментальные группы (состояние животных)	Количество особей	Условия тестирования		
		Сроки тестирования, сут.	Доза введения	Тип введения
Интактные (И)	22	1–30	—	—
Интактные + гепарин (И+Г)	10	30–90	Гепарин (0,05 мл)	Подкожно, в течение 13 недель
Животные с АИГ-моделью (АИГ)	20	30–90	Гомогенат ткани яичников или семенников (0,6 мл) в НАФ (0,4 мл)	Подкожно, однократно
Животные с АИГ-моделью + гепарин (АИГ+Г)	20	30–90	Гепарин (0,05 мл)	Подкожно, в течение 13 недель

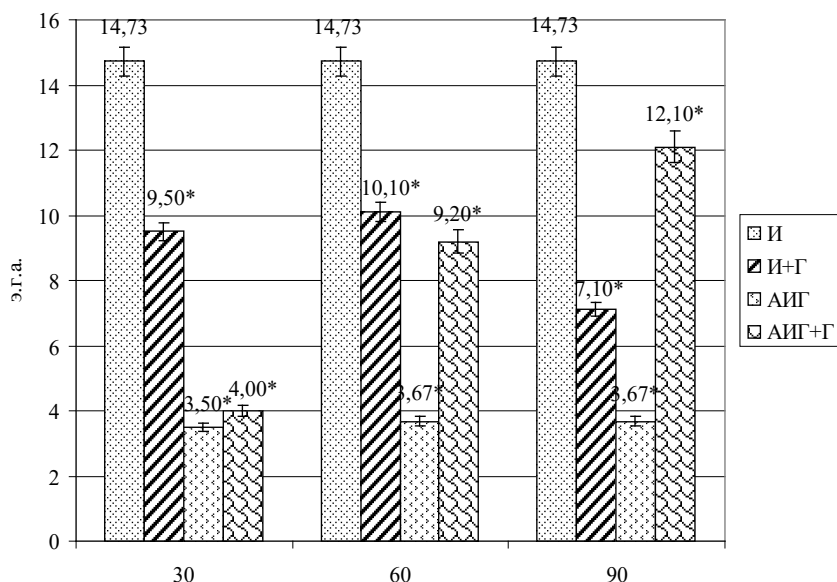


Рис. 1. Изменения груминговой активности умыывания у крыс на разных этапах эксперимента. Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с интактной группой

Моделирование АИГ осуществляли внутрибрюшинным введением гомогената аллогенной ткани семенников и яичников (самцам и самкам соответственно) в эмульсии неполного адьюванта Фрейнда (НАФ) [11]. К 30-м суткам эксперимента наблюдалось формирование АИГ, подтвержденное исследованием уровня половых гормонов, АС-АТ и АО-АТ в крови.

Наблюдение за реакциями самоочищения проводили в разное время в течение всего светового дня. Для регистрации показателей груминга животных помещали в биоритмокамеру разработки лаборатории теоретической и прикладной нейрофизиологии ДонНМУ. Первые 15 минут отводились для адаптации к условиям камеры, после чего в течение последующих 15 ми-

нут проводили визуальное наблюдение и подсчет 4-х разных видов спонтанных движений очищения кожи (умыывание, лизание, чесание и отряхивание) [13]. Кроме того, в качестве дополнительных показателей мы определяли общее количество движений самоочищения и общее время, затрачиваемое животным на груминг, за период наблюдения, интенсивность груминга и процент времени груминга [12]. Одно движение самоочищения принималось за один элементарный груминговый акт (э.г.а.). Фиксировалась также общая двигательная активность животного (то есть

перемещение по клетке), которое было выражено в процентном отношении к общему времени наблюдения. Регистрация груминговой активности осуществлялась на 30-й, 60-й и 90-й дни эксперимента.

Анализ результатов наблюдений проводили при помощи программ Excel и Statistica 6.0. Для обработки данных, полученных в процессе исследования, применялись методы описательной статистики, вычислялось значение среднего арифметического (\bar{X}) и доверительного интервала (ДИ) при $\alpha = 0,05$. При сравнении двух выборок нормального распределения использовался критерий Стьюдента, в остальных случаях — критерий Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение. Нарисунках 1–4 представлена динамика изменений элементарных груминговых актов в процессе развития АИГ и при коррекции сформированного заболевания введением гепарина. Как видно из рисунка 1, уровень активности умыывания на всех этапах исследования был достоверно ниже данных интактной группы ($14,73 \pm 2,35$ э.г.а.). Так на 30-й день в группе И+Г количество актов умыывания составило $9,50 \pm 1,99$ э.г.а., в группе АИГ — $3,50 \pm 1,73$ э.г.а., а в группе АИГ+Г — $4,00 \pm 1,60$ э.г.а. К 60-му дню наблюдалось небольшое увеличение

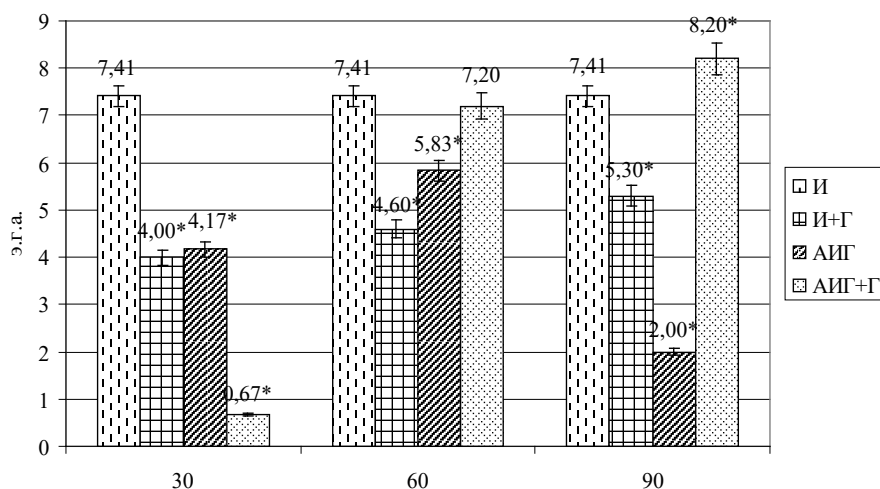


Рис. 2. Изменения груминговой активности чесания у крыс на разных этапах эксперимента. Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с интактной группой

значений показателя до $10,10 \pm 1,32$ э.г.а. в группе И+Г и до $3,67 \pm 1,31$ э.г.а. в группе АИГ, а в группе АИГ+Г рост показателя был значителен и достиг $9,20 \pm 0,95$ э.г.а. К концу исследования в группе И+Г уровень актов умывания снизился ($7,10 \pm 0,85$ э.г.а.), в группе АИГ остался прежним ($3,67 \pm 0,97$ э.г.а.), а в группе АИГ+Г значительно вырос и составил $12,10 \pm 0,99$ э.г.а.

При исследовании актов чесания, значения данного показателя на протяжении всего эксперимента претерпевали различные колебания (рис. 2). В интактной группе животных уровень показателя был равен $7,41 \pm 2,39$ э.г.а. На 30-й день он достоверно снизился до $4,00 \pm 0,83$ э.г.а. в группе И+Г, до $4,17 \pm 1,63$ э.г.а. в группе АИГ и до $0,67 \pm 0,83$ э.г.а. в группе АИГ+Г. К 60-му дню отмечался рост показателя во всех группах (И+Г — $4,60 \pm 0,93$ э.г.а.; АИГ — $5,83 \pm 4,16$ э.г.а.; АИГ+Г — $7,20 \pm 1,01$ э.г.а.). На 90-й день количество актов чесания продолжило увеличиваться в группах И+Г ($5,30 \pm 0,83$ э.г.а.) и АИГ+Г ($8,20 \pm 0,65$ э.г.а.), а в группе АИГ снизилось до $2,00 \pm 0,88$ э.г.а.

Из рисунка 3 видно, что во всех испытуемых группах показатель лизания значительно ниже такового в интактной группе. Так, если у группы И количество актов лизания составило $6,82 \pm 1,71$ э.г.а., то на 30-й день оно упало до $4,30 \pm 1,01$ э.г.а. в группе И+Г, до $5,17 \pm 3,59$ э.г.а. в группе АИГ и до $1,17 \pm 0,60$ э.г.а. в группе АИГ+Г. На 60-й день произошло увеличение показателя до $4,40 \pm 0,73$ э.г.а. и $4,05 \pm 0,78$ э.г.а. в группах И+Г и АИГ+Г, соответственно, а в группе АИГ показатель снизился до $3,83 \pm 2,55$ э.г.а. К концу эксперимента во всех

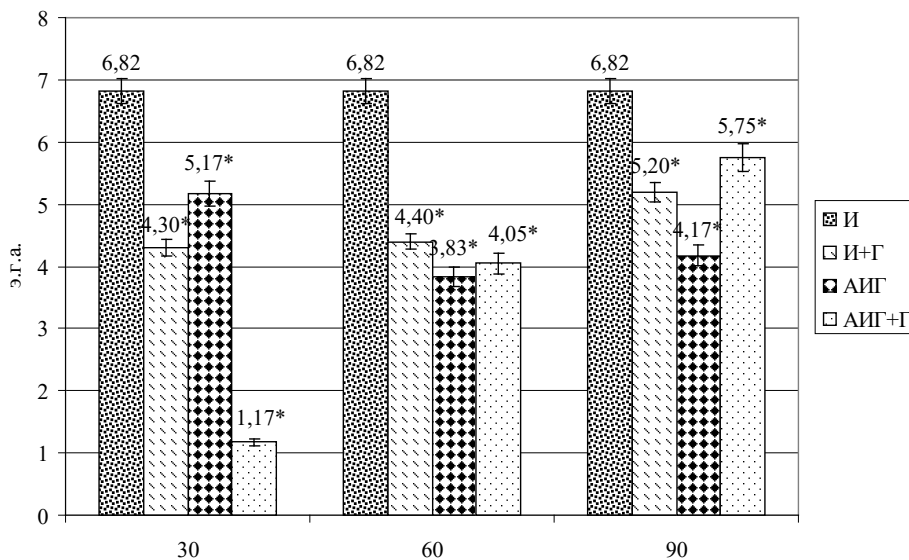


Рис. 3. Изменения груминговой активности лизания у крыс на разных этапах эксперимента. Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с интактной группой

группах наблюдался рост количества актов лизания: И+Г — $5,20 \pm 0,76$ э.г.а.; АИГ — $4,17 \pm 2,65$ э.г.а.; АИГ+Г — $5,75 \pm 0,76$ э.г.а., что по-прежнему оставалось достоверно ниже физиологической нормы.

Уровень отряхивания в интактной группе был равен $6,55 \pm 2,35$ э.г.а. (рис. 4). К 30-му дню исследования количество актов отряхивания составляло $4,40 \pm 1,28$ э.г.а. в группе И+Г, $1,33 \pm 2,24$ э.г.а. в группе АИГ, и $1,83 \pm 1,63$ э.г.а. — в группе АИГ+Г. На 60-й день наблюдалось увеличение данного параметра до $4,70 \pm 1,10$ э.г.а. в группе И+Г, $1,83 \pm 1,18$ э.г.а. в группе АИГ, и $4,40 \pm 1,03$ э.г.а. — в группе АИГ+Г. К 90-му дню рост показателя продолжился, хотя и оставался достоверно ниже

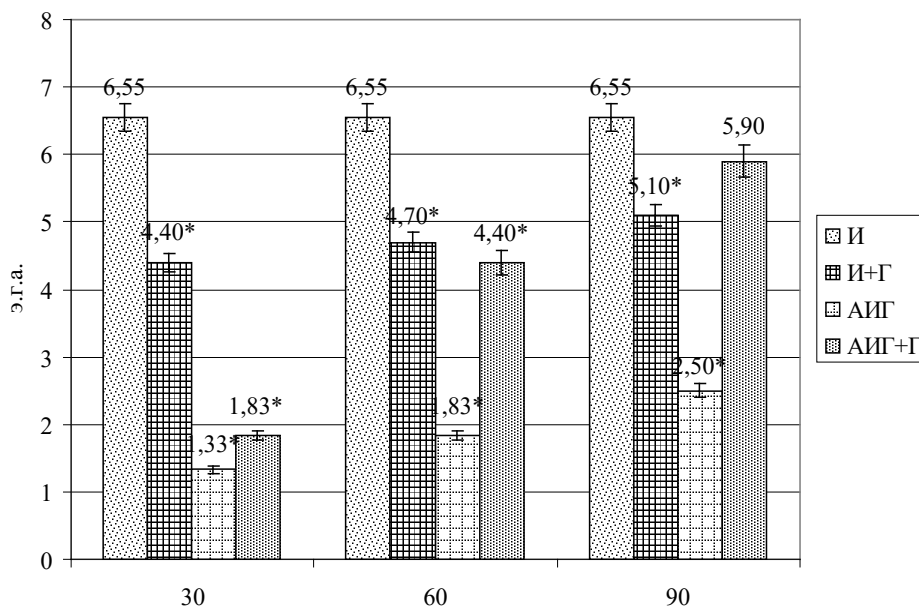


Рис. 4. Изменения груминговой активности отряхивания у крыс на разных этапах эксперимента. Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с интактной группой

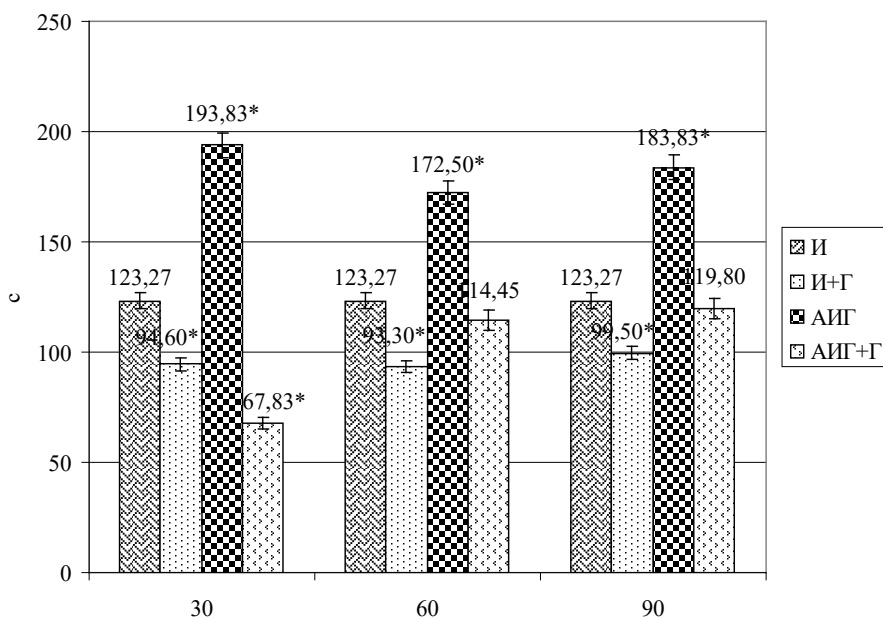


Рис. 5. Сравнение средних значений времени груминга у крыс в динамике развития АИГ и после терапии гепарином.
Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с интактной группой

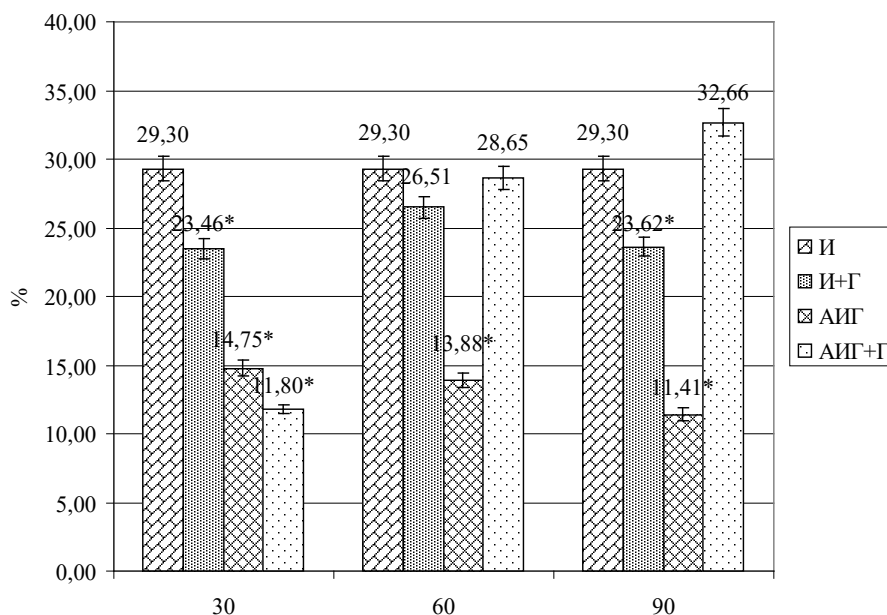


Рис. 6. Сравнение средних значений интенсивности груминга у крыс в динамике развития АИГ и после терапии гепарином.
Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с интактной группой

установленной нами физиологической нормы (по группам: И+Г — $5,10 \pm 0,90$ э.г.а.; АИГ — $2,50 \pm 1,50$ э.г.а.; АИГ+Г — $5,90 \pm 1,14$ э.г.а.)

Все перечисленные элементы груминга имели сходную направленность изменений на разных этапах эксперимента, заключающаяся в том, что груминговая активность животных постепенно снижалась в динамике развития аутоиммунного гипонатризма. Длительное введение гепарина оказывало стабилизирующий эффект на груминговую активность, причём в большей степени — на поздних сроках эксперимента. При этом уровень груминга у ин-

тактных крыс, получавших инъекции гепарина, был ниже установленной физиологической нормы.

Время, затраченное на груминговую активность подопытными крысами, на начальном этапе развития АИГ было выше, чем у интактных особей (рис. 5). В интактной группе время груминга было равно $123,27 \pm 9,56$ с. К 30-му дню эксперимента в группах И+Г и АИГ+Г время груминга достоверно снизилось до $94,60 \pm 6,31$ с и $67,83 \pm 18,89$ с, соответственно, а в группе АИГ достоверно выросло до $193,83 \pm 152,70$ с. На 60-й день было зафиксировано снижение данного показателя в группах И+Г и АИГ до $93,30 \pm 10,05$ с и до $172,50 \pm 84,55$ с, соответственно. Что же касается группы АИГ+Г, рост показателя продолжился и достиг к 60-му дню $114,75 \pm 22,26$ с. К 90-му дню в группе И+Г время груминга незначительно выросло до $99,50 \pm 13,03$ с, в группе АИГ составило $183,83 \pm 101,89$ с, а в группе АИГ+Г практически приблизилось к установленной нами физиологической норме и равнялось $119,80 \pm 23,59$ с.

Интенсивность груминга у животных интактной группы была равна $29,30 \pm 3,73\%$ (рис. 6). По сравнению с интактной группой, в экспериментальных уровень интенсивности был достоверно ниже на протяжении всех этапов исследования, кроме группы АИГ+Г на 90-й день. К 30-му дню в группе И+Г интенсивность груминга равнялась $23,46 \pm 2,86\%$, в группе АИГ данный показатель составил $14,75 \pm 12,35\%$, а в группе АИГ+Г — $11,80 \pm 4,81\%$. На 60-й день эксперимента интенсивность груминга групп, получавших гепарин, претерпевала рост до $26,51 \pm 5,16\%$ и $28,65 \pm 10,23\%$ в И+Г и АИГ+Г, соответственно, а в группе АИГ, напротив, снизилась до $13,88 \pm 11,03\%$. К

90-му дню интенсивность снизилась в группах И+Г ($23,62 \pm 3,30\%$) и АИГ ($11,41 \pm 7,51\%$), а в группе АИГ+Г, наоборот, выросла до $32,66 \pm 7,06\%$, что было достоверно выше физиологической нормы.

В интактной группе процент времени груминга был равен $13,70 \pm 1,06\%$ (рис. 7). На 30-й день эксперимента в группах И+Г и АИГ+Г процент времени снизился до $10,51 \pm 0,70\%$ и $7,54 \pm 2,10\%$, соответственно, а в группе АИГ вырос до $21,54 \pm 16,97\%$. На 60-й день было зафиксировано снижение данного показателя в группах И+Г и АИГ до $10,37 \pm 1,12\%$ и до $19,17 \pm 9,39\%$, соответственно, что же касается группы АИГ+Г, рост показателя продол-

жился и достиг $12,75 \pm 2,47\%$. К 90-му дню в группе И+Г процент времени груминга незначительно вырос до $11,06 \pm 1,45\%$, в группе АИГ составил $20,43 \pm 11,32\%$, а в группе АИГ+Г практически приблизился к установленной нами физиологической норме и равнялся $13,31 \pm 2,62\%$.

Уровень двигательной активности иммунизированных животных по сравнению с интактной группой не претерпевал значительных изменений на всех стадиях исследования, кроме последней контрольной точки (рис. 8).

Так, показатель двигательной активности крыс интактной группы составил $3,67 \pm 0,65\%$.

У животных с моделью АИГ на 30-й день наблюдалось незначительное снижение до $3,33 \pm 1,20\%$ и на 60-й — до $3,17 \pm 0,60\%$. Только на 90-й день эксперимента произошло достоверное снижение данного параметра до $1,33 \pm 0,41\%$.

Исходя из вышеизложенного, можно заключить, что груминговая и двигательная активность у крыс с моделью АИГ существенно снижалась, достигая минимума на поздней стадии развития патологии. Тогда же наблюдалось снижение интенсивности груминга как интегративного показателя состояния «комфортности» животного. При этом, время груминга в подопытной группе АИГ было выше, чем у интактных особей, на всех этапах тестирования. Следует отметить, что аналогичные общие тенденции поведенческих изменений наблюдались нами и при других экспериментальных САЗ — атопическом дерматите, ревматоидном артрите, аутоиммунном тиреоидите, с характерными различиями в структуре э.г.а. [4, 6, 10].

Применение гепарина в качестве корректора со-

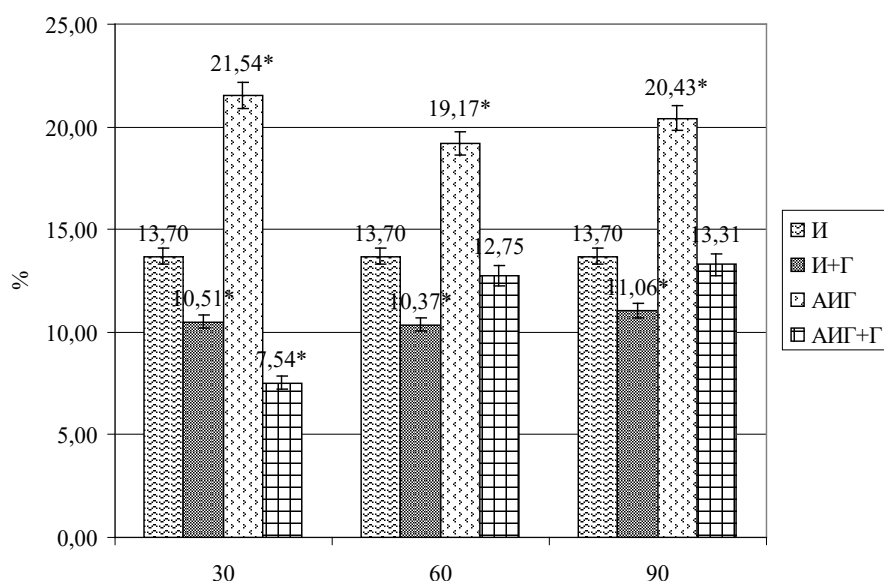


Рис. 7. Сравнение средних значений процента времени груминга у крыс в динамике развития АИГ и после терапии гепарином. Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с интактной группой

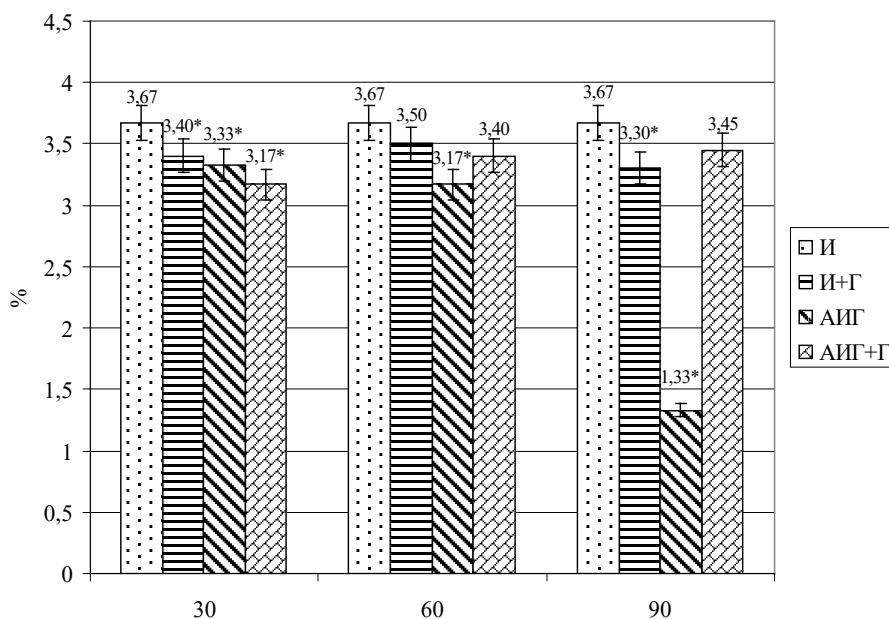


Рис. 8. Сравнение средних значений двигательной активности у крыс в динамике развития АИГ и после терапии гепарином. Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с интактной группой

стояния психонейроиммуноэндокринной системы при АИГ показало его эффективность в низких дозах на поздней стадии эксперимента. При этом, введение гепарина интактным животным оказывало значительно менее выраженный эффект на груминговую и двигательную активность, чем аналогичное его введение иммунизированным крысам. Хотя о механизмах воздействия длительного введения гепарина на поведение сведений практически нет, можно сделать ряд предположений. Поскольку гепарин способен проникать через гематоэнцефалический барьер [9], мы не можем исключить его влияния на мозговые структуры, отвечающие за формирование поведенческих паттернов груминга. Так, было показано, что гепарин в малых дозах способен трансформировать реактивность ЦНС, причём его эффект сходен с эффектами известных психостимуляторов [8]. Некоторые авторы предполагают, что действие гепарина опосредуется через гепаринсвязывающие белки, максимальные колебания активности которых после стрессорного воздействия были обнаружены в гиппокампе и стриатуме [2], т.е. в отделах лимбической системы, ответственных за поведение. Авторы делают вывод, что гепарин снижает тревожность и увеличивает исследовательскую активность мышей, следовательно, способен повысить устойчивость животных в ситуации, провоцирующей повышенную тревожность [3].

С другой стороны, эффекты гепарина могут реализовываться через опиоидные рецепторы, что было продемонстрировано Кондашевской М.В. с соавт. при исследовании обучаемости крыс, которым регулярно вводили гепарин в низких дозах [8]. Тогда становится более понятным усиленный эффект гепарина на иммунизированных животных, полученный в нашем эксперименте: по-видимому, оба механизма действуют синергично, с одной стороны, повышая активность отделов мозга, ответственных за груминг, а с другой — снижая стрессорный эффект аутоиммунного воспаления, за счёт воздействия через опиоидные рецепторы. Не стоит также пренебрегать возможностью существования более сложного комплекса механизмов действия гепарина на пове-

дение, включающего взаимоотношения с рецепторами к половым гормонам на нейронах структур мозга, ответственных как за моторную, так и за психоэмоциональную составляющие груминга.

Выводы. В динамике развития аутоиммунного гипогонадизма груминговая и двигательная активность претерпевала существенное снижение, наибольшей выраженности достигавшее на поздней стадии заболевания. При этом время груминга удлинялось. Подобные эффекты могут быть связаны как со стрессовым воздействием развивающегося АИГ на ЦНС, так и с перманентно прогрессирующим воспалительным процессом.

Длительное введение гепарина приводило к нормализации показателей груминга и двигательной активности у иммунизированных животных, что связано с наличием сложных регуляторных механизмов, обеспечивающих стрессопротекторное и стимулирующее воздействие гепарина на нейроны ЦНС.

Полученные результаты позволяют предложить использование показателей груминга в качестве диагностического маркера при системных аутоиммунных расстройствах для оценки их влияния на психонейроиммуноэндокринную систему.

Дальнейшие исследования позволят глубже понять механизмы этиопатогенеза аутоиммунного гипогонадизма и разработать эффективные методы коррекции нарушений психонейроиммуноэндокринной системы при данной патологии.

D.Yu. Kustov, I.V. Kokina, A.S. Kostorev, T.A. Regotun, Ya.S. Valigun

INFLUENCE OF LONG-TERM HEPARIN ADMINISTRATION ON THE BEHAVIOUR OF WHITE RATS WITH AN AUTOIMMUNE HYPOGONADISM MODEL

Abstract. *The article covers the dynamic study of grooming and locomotor activity in intact rats versus those with an autoimmune hypogonadism model, as well as influence of the heparin prolonged administration on the studied indices in both groups. The animals were immunised by an allogenic testicular/ovarian homogenate injection. The grooming was registered using our own patented technique. The study showed that autoimmune hypogonadism development caused a significant decrease of elementary grooming acts count while the time spent on grooming was increasing. The late stages of the experiment demonstrated lowered grooming*

intensity as the evidence of discomfort behaviour. The locomotor activity in the immunised animals was also diminished. Long-term administration of heparin has normalised the grooming and locomotor activity in the late stage of the experiment. Our work is the first one to estimate grooming as a development indicator of such a systemic autoimmune pathology as autoimmune hypogonadism.

Key words: *autoimmune hypogonadism, grooming, heparin*

ЛИТЕРАТУРА

1. Акмаев И.Г. Современные представления о взаимодействиях регулирующих систем, нервной, эндокринной и иммунной // Успехи физиол. наук. — 1996. — Т.27, №1. — С. 3-20.
2. Белоусова, Т.В., Ушакова Г.А. Изменение гепарин-связывающей активности белков мозга крыс после однократного воздействия ионизирующего излучения в дозе 0,25 Гр. // Радиационная биология. Радиоэкология. — 2002., 43 (3). — С. 268-273.
3. Влияние диазепама и гепарина на поведенческие реакции крыс в тесте «открытое поле» / [А.Е. Хомутов, К.А. Пурсанов, О.В. Лушникова, Ю.А. Романова] // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. — 2014. - №3(1). — С. 48–52.
4. Влияние индуцированного аутоиммунного тиреоидита на поведение / [Д.Ю. Кустов, И.В. Кокина, Я.С. Валигун, Т.А. Реготун] // Вестник здравоохранения. — Вып. 1, Ч.2. — Донецк, 2016. — С. 294–297.
5. Гзгзян А.М. Клиническая характеристика больных с нормогонадотропным гипогонадизмом аутоиммунного происхождения // Вестник Санкт-Петербургского Университета — 2007. — Вып.1. — С. 23–29.
6. Груминговое поведение крыс с моделью ревматоидного артрита до и после коррекции нейротропными веществами / [В.Н. Казаков, Н.И. Тарапата, Д.Ю. Кустов, И.В. Кокина] // Архив клинической и экспериментальной медицины. — 2012. — Т.21, №1. — С. 8–10.
7. Калувев А.В. Стресс, тревожность и поведение. К: Энигма. — 1998. — 92 с.
8. Кондашевская М.В., Кудрин В.С., Клодт П.М. Новые аспекты действия гепарина. // Бюлл. exper. биол. и медицины. — 2000., 130 (12). — С.613–616.
9. Кудряшов Б. А. Ляпина Л. А., Азиева Л. Д. Комплексное соединение гепарина с гистамином, его физико-химические и биологические свойства // Вопр. мед. химии. — 1990., 36 (4) — С. 55–57.
10. Особенности поведенческих реакций при синдроме нейрогуморальной дисрегуляции в условиях действия галогенизированных производных нитробензола / [В.Н. Ельский, С.В. Зяблицев, И.В. Кокина, Д.Ю. Кустов] // Достижения клинической и экспериментальной медицины. — Тернополь, 2010. — №2 (13). — С. 47–50.
11. Патент №114861 UA МПК G09B 23/28 Способ моделирования аутоиммунного гипогонадизма. Кустов Д.Ю., Кокина И.В., Реготун Т.А., Валигун Я.С. Косторев А.С. Опубл. 27.03.2017. Бюл. №6.
12. Патент №16150, UA. МКВ: А61В5/00. Спосіб оцінки стану організму тварини. Кустов Д.Ю., Ракша-Слюсарева О.А., Слюсарев О.А., Друпп Ю.Г. Заява №u200602422 від 06.03.2006. Друк. 17.07.2006. Бюл. №7.
13. Свицерская Г.Е., Дмитриева Л.Е., Развитие груминга в онтогенезе крыс и мышей // Журн. эволюционной биохимии и физиологии. — 1993, Т.29, №4. — С. 36-39.
14. Bronson R.A. Antisperm antibodies: a critical evaluation and clinical guidelines. // J. Reprod. Immunol. - 1999. - V.45, №2. - P. 159-183.
15. WHO laboratory manual for the examination of human sperm and semem-cervical mucus interaction. - WHO, 4-th edn.: Cambridge universiti press, 1999. - 128 p.