

ФАРМАКОЛОГИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ

ВЛИЯНИЕ ЛАДАСТЕНА НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ СТРЕССИРОВАННЫХ КРЫС-САМЦОВ

Т. В. Хамидова¹, Ю. Л. Чигиринский², И. С. Морозов

В экспериментах на стрессированных крысах-самцах изучали влияние ладастена (бромантана) на развитие стресс-реакции и репродуктивную активность. Установлено, что у стрессированных крыс-самцов, получавших ладастен, восстанавливаются прирост массы тела и ориентировочные реакции, активизируется сперматогенез (повышается количество сперматозоидов и их подвижность), нормализуется оплодотворяющая способность сперматозоидов, снижается эмбриональная гибель потомства.

Ключевые слова: ладастен, производное адамантана, хронический стресс, репродуктивная функция, функциональные показатели сперматозоидов, фертильность, эмбриональные параметры потомства

ВВЕДЕНИЕ

Актопротекторные средства способствуют повышению или сохранению работоспособности в осложненных условиях [1, 4, 9]. Эти вещества активируют пластические процессы в центральных и периферических структурах нервной системы, улучшают энергетический обмен, влияют на нейромедиаторные процессы [7, 9, 14]. Известно, что ладастен относится к группе актопротекторов, является малотоксичным веществом [5] и не оказывает отрицательного действия на репродуктивную функцию крыс-самцов [13]. Поэтому можно предположить наличие у него защитного действия при длительном стрессе.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния ладастена на развитие стресс-реакции и репродуктивную функцию крыс-самцов при хроническом стрессировании.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 82 половозрелых белых лабораторных крысах обоего пола, массой 150 – 300 г. Проводили 2 серии экспериментов: 1-я — интактный контроль ($n = 13$) и стрессируемая группа ($n = 18$); 2-я — интактный контроль ($n = 13$) и животные, подвергавшиеся стрессу и получавшие внутрижелудочно ладастен в дозе 30 мг/кг ($n = 7$) [9]. Исследуемое вещество на протяжении в его эксперимента (6 нед) вводили крысам-самцам ежедневно. Стрессирование самцов проводили иммобилизацией за кожную складку (1,5 ч, 2 раза в неделю) в течение 6 нед (примерно один цикл сперматогенеза). При этом оце-

нивали общее состояние, шерстный покров, определяли динамику прироста массы тела крыс по отношению к исходным данным. По окончании курса введения ладастена и стрессирования исследовали поведенческую активность у самцов в тесте “открытое поле” [7]. В последующем (в течение 12 дней) их спаривали с интактными крысами-самками в следующих вариантах: 1 — контроль (к интактным самцам подсаживали интактных самок); 11 — опыт (стрессированных самцов, не получавших ладастен, или получавших препарат, спаривали с интактными самками). После спаривания и эвтаназии (эфирный наркоз) у самцов исследовали функциональную активность сперматозоидов по показателям: подвижность, абсолютное количество и количество патологически измененных сперматозоидов с использованием стандартных методов [10]. О развитии стресс-реакции надпочечников, тимуса, селезенки, семенников, эпидидимуса судили по их весовым коэффициентам. Таким образом, состояние процесса адаптации у испытуемых крыс-самцов оценивали по динамике прироста массы тела, двигательной-поведенческой активности, весовым коэффициентам надпочечников, селезенки, тимуса. Спаренных с самками самок через 20 дней умерщвляли (дислокация шейных позвонков). На вскрытии подсчитывали количество желтых тел беременности, мест имплантации и плодов, рассчитывали индекс беременности, до- и постимплантационную эмбриональную гибель плодов.

Статистическую достоверность различий между опытными и контрольными группами определяли по методу Стьюдента [2] на IBM совместимом компьютере.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В 1-й серии экспериментов, на протяжении всего периода стрессирования, у подопытных крыс-самцов масса тела не изменялась. У интактных животных через 6 нед прирост массы тела составил 12,1 %. Верти-

¹ НИИ фармакологии и кафедра фармакологии (зав. — проф. А. А. Спасов) Волгоградской медицинской академии, Волгоград, 400066, пл. Павших борцов, 1.

² Волгоградский государственный технический университет, Волгоград, 400131, пр. им. В. И. Ленина, 28.

кальная двигательная и исследовательская активность стрессированных самцов превышали контрольный уровень в среднем на 143,7 % ($p < 0,05$) и 83,8 % ($p < 0,05$) соответственно (табл. 1). При этом весовые коэффициенты надпочечников у этих самцов оказались выше в 2 раза ($p < 0,05$) контрольных, тогда как масса тимуса и селезенки практически не изменялись. В работах [1, 8, 11] на экспериментальных моделях показано, что параметрами, определяющими развитие стресс-реакций являются: отсутствие процессов катаболизма; отсутствие депрессии двигательного поведения; гипертрофия коры надпочечников; отсутствие атрофии тимико-лимфатической системы. Основываясь на этих данных, можно предположить, что хроническое воздействие эмоционально-болевого раздражителя привело к развитию общего адаптационного синдрома.

Во 2-й серии экспериментов введение ладастена (30 мг/кг) самцам в условиях стресса нормализовало прирост массы тела. У животных, получавших ладастен, исследованные показатели составили $18,4 \pm 4,35$ %, в то время как у контрольных самцов прирост массы тела составил $23,56 \pm 4,33$ %. Горизонтальная двигательная активность у подопытных животных этой серии была повышенной, как и в первой серии. Но вертикальная двигательная активность превышала контрольный уровень лишь на 40,2 % без статистической значимости. Исследовательская активность не отличалась от контрольных показателей (см. табл. 1). При сравнении изменений двигательной активности у животных стрессуемых (группа дельта-стресс) и животных, подвергнутых стрессу и получавших ладастен (группа дельта-стресс + ладастен), выявили, что введение ладастена не усугубляет действие стресса на горизонтальную двигательную активность, но статистически значимо снижает повышенную вертикальную двигательную и исследовательскую активность стрессированных крыс. Ладастен также увеличивает эмоциональность стрессированных

животных и значения груминга. Таким образом, произошло нивелирование действия стресса на ориентировочно-исследовательскую активность животных. Эти данные согласуются в облегчающим действием на ориентацию животных в стрессогенной обстановке другого производного адамантана, амантадина [1]. У стрессированных животных под действием ладастена отмечали снижение весовых коэффициентов надпочечников в среднем на 50 % ($p < 0,05$) по отношению к контрольной группе и на 76,2 % ($p < 0,05$) относительно стрессированных крыс-самцов, не получавших ладастен. Полученные данные позволяют предполагать, что ладастен влияет на течение стресс-реакции, нормализуя некоторые показатели, измененные под действием стресса (прирост массы тела, вертикальная двигательная и исследовательская активность). Дополнением к этому предположению служит также нивелирование действия стресса на состояние репродуктивной функции животных, получавших ладастен.

В первой серии экспериментов у стрессированных самцов наблюдали статистически значимое снижение подвижности сперматозоидов (73,3 %) и их абсолютного количества (49,1 %). Количество патологических форм сперматозоидов увеличивалось более чем в 2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой (табл. 2). У тех животных, которым на фоне стресса вводили ладастен, абсолютное количество сперматозоидов статистически достоверно повышалось в среднем на 112,7 %, подвижность сперматозоидов была ниже уровня контроля на 11,6 % ($p < 0,05$), количество патологических форм сперматозоидов не отличалось от контрольной группы. Сравнительный анализ полученных данных между собой (показатели групп дельта-стресс и дельта-стресс + ладастен 30) показал, что положительное действие ладастена на подвижность и абсолютное количество сперматозоидов стрессированных самцов является статистически значимым (см. табл. 2).

Таблица 1. Влияние бромантана на двигательную активность стрессированных (6 недель) крыс-самцов ($M \pm m$)

Варианты опытов	n	Активность				Груминг
		горизонтальная двигательная	вертикальная двигательная	исследовательская	эмоциональная	
<i>1-я серия</i>						
Контроль	8	$22,5 \pm 3,24$	$3,5 \pm 0,4$	$3,2 \pm 0,77$	$2,9 \pm 0,84$	$1,6 \pm 0,47$
Стресс	17	$30,5 \pm 3,38$	$8,5 \pm 1,08^*$	$5,9 \pm 0,69^*$	$1,6 \pm 0,54$	$3,2 \pm 0,75$
Дельта-стресс	17	$35,7 \pm 15,01$	$143,7 \pm 30,73$	$83,8 \pm 21,42$	$-43,2 \pm 18,58$	$144,3 \pm 57,32$
<i>2-я серия</i>						
Контроль	10	$28,7 \pm 4,83$	$5,3 \pm 1,05$	$5,1 \pm 1,02$	$2,1 \pm 0,59$	$0,6 \pm 0,25$
Стресс + бромантан, 30 мг/кг	7	$41,4 \pm 3,32$	$7,4 \pm 0,83$	$5,4 \pm 0,53$	$3,9 \pm 1,30$	$3,6 \pm 0,49^*$
Дельта стресс + бромантан, 30 мг/кг	7	$44,4 \pm 11,59$	$40,2 \pm 15,65^{**}$	$6,4 \pm 10,37^{**}$	$83,7 \pm 61,92^{**}$	$495,2 \pm 81,49^{**}$

Примечание. Здесь и в табл. 2 дельта стресс, дельта стресс + бромантан 30 — отклонение показателя от среднего соответствующей контрольной группы (%). Изменения достоверны при $p \leq 0,05$ по отношению: * — к контрольной группе; ** — к группе дельта-стресс. n — количество животных, использованных в эксперименте.

Таблица 2. Влияние бромантана (6-недельный стресс крыс-самцов) на показатели функционального состояния сперматозоидов ($M \pm m$)

Варианты опытов	<i>n</i>	Подвижность, мин	Абсолютное количество, млн	Патологические формы, %
<i>1-я серия</i>				
Контроль	8	181,3 ± 5,57	50,3 ± 7,92	24,6 ± 5,05
Стресс	10	48,5 ± 4,80*	25,7 ± 5,13*	48,9 ± 7,74*
Дельта-стресс	10	– 73,2 ± 2,59	– 49,5 ± 9,96	99,1 ± 30,80
<i>2-я серия</i>				
Контроль	9	185,0 ± 4,16	28,1 ± 4,67	7,3 ± 1,95
Стресс + бромантан, 30 мг/кг	7	163,6 ± 4,13*	59,8 ± 3,09*	8,4 ± 1,74
Дельта-стресс + бромантан, 30 мг/кг	7	– 11,6 ± 2,23**	112,7 ± 11,01**	14,8 ± 23,94

У стрессируемых самцов весовые коэффициенты семенников не изменялись, а эпидидимусов — снижались в среднем на 18,9 % ($p < 0,05$) в сравнении с контрольными животными. Курс ладастена в дозе 30 мг/кг стрессируемым самцам способствовал нормализации весовых коэффициентов эпидидимусов и не влиял на весовые коэффициенты семенников.

Таким образом, возможно, действие хронического эмоционального стресса (иммобилизация) приводит к активации системы гипофиз-гипоталамус-надпочечники (ГГН), что согласуется с исследованиями других авторов [8, 11, 12]. Особенностью данного вида стресса является отсутствие угнетения системы гипофиз-гипоталамус-гонады (ГГГ), тогда как в работе [12] (сепарационный стресс) отмечали снижение активности системы ГГГ. Можно предположить, что ладастен в условиях хронического стресса понижает активность системы ГГН (снижение весовых коэффициентов надпочечников), но не усугубляет действие стресса на ось ГГГ. При этом важно отметить, что ладастен нивелирует влияние стресса на прирост массы тела крыс-самцов, их двигательную активность, функциональные показатели сперматозоидов.

Таблица 3. Влияние ладастена (курсовое введение крыс-самцам) на показатели эмбрионального развития при хроническом стрессе ($M \pm m$)

Варианты спаривания самец/самка	Количество		
	желтых тел	мест имплантации	плодов
<i>1 вариант</i>			
Интактный/интактная ($n = 8$)	12,0 ± 1,15	8,9 ± 1,33	8,4 ± 1,33
<i>2 вариант</i>			
Стресс/интактная группа-1 ($n = 5$)	13,2 ± 1,31	7,6 ± 1,08	4,2 ± 1,91
Стресс + бромантан 30/интактная ($n = 9$)	10,8 ± 0,62	9,7 ± 0,54	9,7 ± 0,55*

Примечание. Здесь и в табл. 4: * — изменения достоверны по отношению к группе-1 второго варианта спаривания при $p < 0,05$. *n* — количество животных, использованных в эксперименте.

Для оценки значимости изменений функциональных показателей сперматозоидов под действием ладастена проводили исследование фертильности самцов, сроков зачатия и эмбриональных показателей потомства. При спаривании стрессированных самцов с интактными самками у последних отмечали увеличение индекса беременности в 2,5 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контрольным спариванием. Сроки зачатия спаренных самок наступали в первые дни после подсадки самцов. Индекс беременности самок после подсадки к стрессированным самцам, получавшим ладастен в дозе 30 мг/кг, был выше контрольного показателя на 25 % ($p > 0,05$). Зачатие у животных в этом варианте спаривания отмечали в те же сроки. Что и у контрольных животных.

У интактных самок после спаривания со стрессированными самцами, не получавшими препарат, количество желтых тел было на уровне контрольной группы, но число мест имплантации и количество плодов снизилось на 14,6 и 50 % соответственно (табл. 3). Ладасстен при введении самцам на фоне стресса нормализовал исследуемые показатели эмбрионального развития у самок, спаренных с ними. При этом наблюдали увеличение количества плодов у беременных самок на 15,8 % по сравнению с контролем и на 130,9 % ($p < 0,05$) по сравнению с интактными самками, спаренными со стрессированными самцами (см. табл. 3).

Таблица 4. Влияние бромантана (курсовое введение крыс-самцам) на показатели эмбриональной гибели при хроническом стрессе ($M \pm m$)

Варианты спариваний самец/самка	Эмбриональная гибель (%)	
	доимплантационная	послеимплантационная
<i>1 вариант</i>		
Интактный/интактная ($n = 8$)	26,4 ± 9,30	9,6 ± 5,60
<i>2 вариант</i>		
Стресс/интактная группа-1 ($n = 5$)	39,3 ± 9,53	48,8 ± 17,45
Стресс + бромантан 30/интактная ($n = 9$)	9,9 ± 2,40*	1,1 ± 1,05*

У беременных самок, спаренных со стрессированными самцами, получавшими ладастен, были выявлены изменения показателей эмбриональной гибели (табл. 4). Как видно из таблицы, действие самого стресса приводило к значительному увеличению до- и постимплантационной гибели в среднем на 48,8 и 408,3 % соответственно. Ладастен, вводимый стрессированным самцам, способствовал снижению эмбриональной гибели у спаренных с ними самок. Доимплантационная гибель у этих самок была ниже контрольных значений на 62,5 %, а после имплантации составила 1,1 %.

ВЫВОДЫ

1. Ладастен при введении стрессуемым крысам-самцам в дозе 30 мг/кг в течение 6 нед нормализует прирост массы тела и ориентировочно-исследовательскую активность.

2. У стрессуемых самцов ладастен повышает абсолютное количество сперматозоидов, нормализует их подвижность и количество патологических форм.

3. Ладастен при введении стрессированным крысам-самцам нормализует у спаренных с ними самок индекс беременности и нивелирует действие стресса на эмбриональную гибель и показатели пренатального развития потомства.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. В. Вальдман, М. М. Козловская, О. С. Медведев, *Фармакологическая регуляция эмоционального стресса*, Медицина, Москва (1979).

2. А. И. Венчиков, В. А. Венчиков, *Основные приемы статистической обработки результатов наблюдения в области физиологии*, Медицина, Москва (1974).
3. Ю. Г. Бобков, В. М. Виноградов, *Фармакологическая регуляция процессов утомления*, Москва (1982), сс. 7 – 83.
4. Ю. Г. Бобков, В. М. Виноградов, В. Ф. Катков, *Фармакологическая коррекция утомления*, Медицина, Москва (1984).
5. Л. И. Бугаева, Г. П. Дудченко, Л. С. Мазанова и др., *II Российский национальный конгресс "Человек и лекарство"*, Москва (1995), с. 48.
6. Я. Буреца, О. Бурешова, Д. П. Хьюстон, *Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения*, Высш. шк., Москва (1991), с. 210.
7. Л. Т. Киричек, Ю. Г. Бобков, *Фармакол. и токсикол.*, № 6, 42 – 44 (1991).
8. Т. Кокс, *Стресс*, Медицина, Москва (1981).
9. И. С. Морозов, Н. В. Климовап, Н. И. Авдюнина и др., *VII Научно-практическая конференция стран СНГ*, 5 – 7 сентября, 166 – 167 (1995).
10. И. В. Саноцкий, В. Н. Фоменко, *Отдаленные последствия влияния химических соединений на организм*, Медицина, Москва (1979).
11. Г. Селье, *Стресс без дистресса*, Прогресс, Москва (1979).
12. W. L. Castro and K. S. Matt, *Physiol. Behav.*, **61**(4), 477 – 481 (1997).
13. T. V. Khamidova, A. A. Spasov, L. I. Bugaeva, et al., *J. Physiol. Biochem. (Rev. Esp. Fisiol.)*, **53**(1), 152 (1997).
14. A. A. Spasov, L. I. Bugaeva, I. N. Yozhitsa, et al., **1 – 2** (3), 86 (1997).

Поступила 04.08.03

EFFECT OF LADASTEN ON REPRODUCTION FUNCTION IN FEMALE RATS

T. V. Khamidova¹, Yu. L. Chigirinskii², and I. S. Morozov³

¹ Pharmacology Department, Institute of Pharmacology, Volgograd State Medical Academy, Ministry of Public Health of the Russian Federation, pl. Pavshikh Bortsov 1A, Volgograd, 400066 Russia

² Volgograd State Technical University, pr. Lenina 28, Volgograd, 400131 Russia

³ Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Baltiiskaya ul. 8, Moscow, 125315 Russia

The effect of ladasten (bromantan) on the development of emotional stress and reproduction activity was studied in male rats. Ladasten administration led to restoration of the stress-violated orientational reactions and body weight, activation of the spermatogenesis (increase in the number and mobility of spermatozoas), normalization of the fertilizing capacity of spermatozoas, and reduction in the loss of embryos.