

БУКАТИН МИХАИЛ ВЛАДИМИРОВИЧ

***Влияние производных бензимидазола  
на репродуктивную систему крыс-самцов***

14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

*АВТОРЕФЕРАТ*

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Научный руководитель:**

*Спасов Александр Алексеевич*

Академик РАН,  
Заслуженный деятель науки РФ,  
доктор медицинских наук, профессор

**Научный консультант:**

*Бугаева Любовь Ивановна*

доктор биологических наук,  
заведующая лабораторией лекарственной  
безопасности НИИ фармакологии  
ГБОУ ВПО «ВолгГМУ» Минздрава России

**Официальные оппоненты:**

*Черников Максим Валентинович*

доктор медицинских наук, доцент  
заведующий кафедрой биологии и физиологии  
«Пятигорского медико-фармацевтического  
института — филиала ГБОУ ВПО «ВолгГМУ»  
Минздрава России»

*Яворский Александр Николаевич*

доктор медицинских наук, профессор,  
Ученый секретарь ФГБУ «Научный центр  
экспертизы средств медицинского применения»  
Министерства здравоохранения Российской  
Федерации

**Ведущая организация:** Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «\_\_» октября 2013 г. в \_\_ ч. на заседании Диссертационного Совета Д 208.008.02 при ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, д. 1

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Автореферат разослан «\_\_» сентября 2013 г.

Ученый секретарь совета  
доктор биологических наук

Л.И. Бугаева

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** При разработке и внедрении новых препаратов в клиническую практику, является важным установление порогов вредности и (или) их безвредности и обоснование безопасных уровней воздействия на организм, а так же знание основных принципов и механизмов их общетоксического и токсического органоспецифического действий [Арзамасцев Е.В., 2005; Березовская И.В. и др., 2011; Миронов А.Н., 2012; Петров В.И. и др., 2012; Addis A. et al., 2000] и, в частности, - их репродуктивной токсичности [Немова Е.П. и др., 2007; Смольникова Н.М. и др., 2007; Дурнев А.Д., 2012; Maisa N. Feghali and Donald R. Mattison, 2011].

Несмотря на серьезные разработки проблемы доклинической оценки репродуктивной токсичности лекарственных средств, многие из них, как уже используемые в клинической практике, так и проходящие доклинические испытания, требуют детального изучения на предмет их безопасности в отношении репродуктивной функции мужчин [Фарбиревич В.Я. и др., 2011; Курило Л.Ф., 2011], что особенно актуально на фоне резко снижающегося уровня фертильности современной мужской популяции [Тер-Аванесов Г.В., 2004; Гамидов С.И., 2009; Клещев М.А. и др., 2011; Crosignani P.G., et al., 1998; WHO, 2010].

По мнению ряда авторов [Быков В.Л., 2000; Верткин А.В., 2006; Галимова Э.Ф., 2011; Сябаев Р.Д., 2012] «вклад современных ксенобиотиков и лекарственных препаратов в частности» в процесс снижения репродуктивности населения развитых стран весьма существенен. Для многих групп лекарственных препаратов показана возможность прямого, либо опосредованного воздействия как на «предтестикулярные», «тестикулярные» и «посттестикулярные» уровни, так и механизмы нейрональной регуляции мужской репродуктивной системы [Луцкий Д.Л., 2009; Курляндский Б.А., 2010; Brinkworth M.N. et al., 1997]. При этом, чем шире диапазон биологической активности лекарственных средств, тем выше риск вмешательства в процессы воспроизводства потомства [Гуськова Т.А., 2001; Березовская И.В., 2006; Журавлева М.В. и др., 2010]. С другой стороны, расширение спектра показаний препаратов, вплоть до использования здоровыми лицами, также может отразиться на их «репродуктивном здоровье» [Румянцева Г.Н., 2001; Сивочалова О.В. и др., 2008, 2013; Тюзиков И.А., 2013].

К группе веществ с широким спектром биологической активности могут быть отнесены производные бензимидазола, для которых показаны: дозозависимое взаимодействие с центральными серотонин-, дофамин- и холинергическими системами [Спасов А.А., и др., 1999, 2000, 2006; Черников М.В., 2008; Lopez-Rodriguez M.L. et al., 2006] и целый ряд других фармакологических эффектов – прямо или косвенно опосредующих возможность влияния соединений данной химической группы на «предтестикулярные» (ЦНС, ПНС, гипофиз), «тестикулярные» (гонады) и «посттестикулярные» (эпидидимисы и др. органы мочеполовой системы, участвующие в спермогенезе) уровни репродуктивной системы. При этом для представителей данной группы веществ показана возможность влияния на процессы репродукции [Хамидова Т.В. и др., 2005; Кузубова Е.А. и др., 2010; Бугаева Л.И. и др., 2007, 2012]. В тоже время, у широко используемых в клинической практике производных бензимидазола – препаратов дибазол и бемитил - указанные свойства не в полной мере представлены в доступной литературе. Наличие же у данных препаратов актопротекторного и иммуномодулирующего действия [Оковитый С.В. и др., 2005; Болахан А.В. и др., 2006; Шаршов Ф.Г., 2002; Шабанов П.Д. и др., 2006; Зарубина И.В. и др., 2006; Смирнов В.С., 2008] расширяет спектр их показаний у пациентов репродуктивного возраста, вплоть до назначения здоровым лицам, и, соответственно, обуславливает актуальность дальнейшего комплексного изучения их репродуктивной токсичности. Новое потенциальное лекарственное средство с антиоксидантной и мембранотропной активностью, находящееся на стадии доклинических исследований, вещество эноксифол [Спасов А.А. и др., 2003; Косолапов В.А., 2005; Гутенев С.М. и др., 2007], так же планируется к использованию в клинической практике лицам репродуктивного возраста. Вместе с тем, вопросы его

«предтестикулярного», «тестикулярного» и «посттестикулярного» действия исследованы недостаточно.

В связи с вышеизложенным, исследование у биологически активных производных бензимидазола – дибазола, эноксифола и бемитила репродуктивной токсичности, а так же изучение возможных механизмов их влияния на различные уровни регуляции мужской системы фертильности - представляется актуальной задачей.

Работа выполнялась в рамках научно-исследовательской темы «Изучение общетоксических, гонадотропных и эмбриотоксических свойств новых веществ с целью определения безопасности их применения», которая является составной частью плана научно-исследовательской работы Волгоградского государственного медицинского университета. Тема работы была утверждена на заседании Ученого Совета ВолгГМУ (протокол №9 от 29 мая 2013 года).

**Цель исследования.** Изучение влияния на процессы репродукции крыс-самцов биологически активных производных бензимидазола – дибазола, эноксифола и бемитила.

**Задачи исследования.**

1. Исследовать общетоксические и нейротоксикологические свойства, установить диапазоны безопасной и токсической активностей и определить «эффективные дозы» в пределах этих диапазонов активности у производных бензимидазола – дибазола, эноксифола и бемитила.

2. Исследовать влияние дибазола, эноксифола и бемитила на «предтестикулярный» уровень репродуктивной системы крыс-самцов при 5-ти дневном и 2-х месячном курсах введения - в дозах безопасного и токсического диапазонов их активности.

3. Исследовать влияние дибазола, эноксифола и бемитила на «тестикулярный» уровень репродуктивной системы крыс-самцов при 5-ти дневном и 2-х месячном курсах введения - в дозах безопасного и токсического диапазонов их активности.

4. Определить влияние производных бензимидазола на «посттестикулярный» уровень репродуктивной системы крыс-самцов при 5-ти дневном и 2-х месячном курсах введения - в дозах безопасного и токсического диапазонов их активности.

5. Провести сравнительный анализ безопасного и токсического действия указанных биологически активных производных бензимидазола на репродуктивную функцию крыс-самцов.

**Научная новизна.** Впервые для производных бензимидазола – дибазола, эноксифола и бемитила проведено комплексное изучение их влияния на «предтестикулярные», «тестикулярные» и «посттестикулярные» уровни репродуктивной системы крыс-самцов. Впервые на «предтестикулярном» уровне выявлено дозозависимое взаимодействие исследуемых производных бензимидазола с центральными холинергическими и моноаминергическими структурами, а также влияние на половое поведение крыс-самцов. Впервые показано на «тестикулярном» уровне влияние дибазола, эноксифола и бемитила на сперматогенез, а на «посттестикулярном» уровне установлено их влияние на процессы фертилизации сперматозоидов.

**Научно-практическая ценность работы.** Установленное для дибазола, эноксифола и бемитила влияние на процессы репродукции, обусловленное как нейротоксикологическими особенностями дозового воздействия на «предтестикулярные», «тестикулярные» и «посттестикулярные» уровни регуляции системы фертилизации, так и прямым гонадотропным действием данных производных бензимидазола, позволяет провести прогноз степени «польза/риск» с целью коррекции показаний и противопоказаний для их клинического применения.

**Реализация результатов исследования.** Полученные данные по влиянию на различные уровни регуляции процессов репродукции крыс-самцов производных бензимидазола – дибазола, эноксифола и бемитила, включены в пакет документов по доклиническому изучению эноксифола, а так же используются в научно-исследовательской работе НИИ фармакологии ВолгГМУ и Волгоградского медицинского научного центра.

Результаты работы включены в учебно-методические комплексы на кафедре фармакологии ВолгГМУ и на кафедре фармакологии и биофармации ФУВ ВолгГМУ, кафедре фармакологии Кубанского государственного медицинского университета, кафедре фармакологии и клинической фармакологии Ростовского государственного медицинского университета.

#### **Основные положения, выносимые на защиту.**

1. Производные бензимидазола – препараты дибазол и бемитил, а также вещество эноксифол в зависимости от дозы и длительности введения оказывают разнонаправленное влияние на «предтестикулярный», «тестикулярный» и «посттестикулярный» уровень репродуктивной системы крыс-самцов.

2. Препарат *дибазол* на «предтестикулярном» уровне регуляции репродуктивной системы: потенцирует эффекты никотина, фенамина, апоморфина (в дозах 0,1 мг/кг, 1 мг/кг, 5 мг/кг) и 5-ГТФ; активизирует процептивное половое поведение при 5-ти дневном введении в дозе 5 мг/кг и рецептивное - в дозе 160 мг/кг при 2-х месячном введении. Под действием препарата на «тестикулярном» и «посттестикулярном» уровнях репродуктивной системы в обеих дозах выявлены признаки выхолащивающей стимуляции на сперматогенез и снижение фертильности крыс-самцов.

3. Вещество *эноксифол* на «предтестикулярном» уровне регуляции репродуктивной системы потенцирует эффекты никотина, фенамина, апоморфина (в дозах 0,1 мг/кг и 5 мг/кг), 5-ГТФ, и оказывает влияние на половое поведение: не зависимо от курса введения у крыс-самцов под действием эноксифола в дозе 5 мг/кг снижается процептивное и рецептивное половое поведение, тогда как в дозе 60 мг/кг активируются процептивное и рецептивное поведение - при 5-ти дневном введении и только процептивное - при 2-х месячном курсе введения. На «тестикулярном» и «посттестикулярном» уровнях репродуктивной системы у крыс-самцов под действием эноксифола в дозе 5 мг/кг активируется сперматогенез и снижается оплодотворяющая способность. Под действием эноксифола в дозе 60 мг/кг, у крыс-самцов физиологический выброс сперматозоидов из тестикул в эпидидимисы и оплодотворяющая способность активируются.

4. Для препарата *бемитил* на «предтестикулярном» уровне регуляции репродуктивной системы показано разнонаправленное зависимое от дозы: взаимодействие с нейроанализаторами в дозе 5 мг/кг - потенцирование эффектов никотина, апоморфина (в дозе 0,1 мг/кг), 5-ГТФ и угнетение эффектов ареколина, фенамина и галоперидола; в дозе 160 мг/кг - потенцирование эффектов ареколина, апоморфина (в дозе 0,1 мг/кг), 5-ГТФ и угнетение эффектов никотина, фенамина и галоперидола; влияние на половое поведение: активация при 5-ти дневном курсе введения в дозе 5 мг/кг и угнетение в дозе 160 мг/кг – при различных курсах введения. Под действием бемитила на «тестикулярном» и «посттестикулярном» уровнях репродуктивной системы под действием бемитила при различных курсах введения в дозе 5 мг/кг активируются процессы сперматогенеза и фертилизации и, наоборот, угнетаются — в дозе 160 мг/кг.

**Апробация работы.** Основные материалы диссертации докладывались и обсуждались на: IV Международной конференции «Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам» 13-16 марта Москва, 2006 г.; III Международной научно-практической конференции «Современные медицинские технологии (диагностика, терапия, реабилитация и профилактика)», Москва-Барселона, 2006 г.; Межрегиональной научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Молодежь и наука: итоги и перспективы» YSRP-2006, Саратов, 2006 г.; II Международной научной конференции «Приоритетные направления развития науки, технологий и техники» Египет (Шарм-эль-Шейх), 2006 г.; 64-й открытой итоговой научной конференции молодых ученых и студентов ВолгГМУ «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины», Волгоград, 2006 г.; Международной научной конференции «Приоритетные направления развития науки (фармацевтические науки)» США (Нью-Йорк), 2007 г.; III Международной научной конференции «Современные проблемы

экспериментальной и клинической медицины», Тайланд – Камбоджа, 2008 г.; V Международной конференции «Исследование, разработка и применение высоких технологий в промышленности», Санкт-Петербург, 2008г.; V Конференции молодых ученых России с международным участием: «Фундаментальные науки и прогресс клинической медицины», Москва, 2008 г.; I Всероссийской молодежной научной конференции «Молодежь и наука на Севере», Сыктывкар, 2008 г.; Архангельской международной медицинской конференции студентов и молодых ученых, Архангельск, 2008 г.; Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 65-летию Ярославской государственной медицинской академии «Актуальные вопросы медицинской науки», Ярославль, 2009 г.; 63-й «Итоговой научной конференции молодых ученых», посвящённой 70-летию Молодежного научного общества Ростовского государственного медицинского университета, Ростов, 2009 г.; II Межрегиональной научной конференции «Актуальные проблемы медицинской науки и образования», Пенза, 2009 г.; 66,67,68 и 69-й открытых научно-практических конференциях молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины», Волгоград, 2008-2011 гг.; XIV Международной научной конференции «Инновационные медицинские технологии», Москва, 2012 г.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 23 работы, в том числе 3 в журналах, рецензируемых ВАК.

**Объем и структура работы.** Диссертация изложена на 212 страницах машинописного текста, иллюстрирована 9 рисунками, 59 таблицами. Состоит из введения, обзора литературы (глава I), материалов и методов (глава II) экспериментальной части (главы III-V), обсуждения результатов (глава VI), выводов и списка литературы, включающего 317 источников, в том числе 136 зарубежных.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследования

**Материалы исследования.** Исследования проведены на трех биологически активных производных бензимидазола: веществе *эноксифол\** (лабораторный шифр РУ-185) - (9-(2-диэтиламиноэтил)-2-(3,4-диоксифенил)имидазо-[1,2- $\alpha$ ]-бензимидазола дигидробромид; препаратах *дибазол* (бендазол, тромаседан) - 2-бензилбензимидазола гидробромид (Хим.-фарм. объединение «Фармакон», Санкт-Петербург, серия № 430288) и *бемитил* - 2-этилтиобензимидазола гидробромид (Хим.-фарм. объединение «Дарница», Украина).

В работе в ходе исследований по изучению взаимодействия с агентами, возбуждающими холинергические и моноаминергические структуры ЦНС были использованы: галоперидол («Gedeon Richter», Венгрия), апоморфина гидрохлорид («ICN Biomedical», США), 5-гидрокситриптофан (5-ОТФ), никотин (производства «SIGMA-ALDRICH», Германия) и ареколин («Фармакон», Россия).

Исследования выполнены на 1338 половозрелых аутбредных, конвекционных белых крысах обоего пола, массой 200-240 гр. и 140 белых нелинейных лабораторных мышах самцах массой 18-22 гр.

Животные содержались в виварии НИИ фармакологии ВолгГМУ с совмещенным (естественным и искусственным) световым режимом, при относительной влажности воздуха не более 65% и температуре +20-+24°C на стандартной полнорационной диете для лабораторных животных (ГОСТ Р 50258-92) и свободном доступе к воде в соответствии с правилами, принятым Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986; директива 86/609/ЕЕС), а также правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.3-96 и 51000.4-96).

\* Выражаем глубокую признательность ведущему научному сотруднику НИИ ФОХ РГУ, к.х.н. Вере Алексеевне Анисимовой за синтез и предоставление для исследований субстанции РУ-185 (Эноксифол).

**Методы исследования.** Острая токсичность вещества эноксифол и препаратов - дибазол и бемитил определялась на крысах-самцах при их внутрижелудочном введении [Беленький М.Л., 1961; Гуськова Т.А., 2010; Арзамасцев Е.В., 2012].

Расчет LD<sub>50</sub> проводили по методу Litchfield-Wilcoxon, с помощью пакета программ стандартного пробит-анализа Microsoft Excell 2000.

Исследование нейротоксикологического действия исследуемых биологически активных производных бензимидазола оценивали, с использованием балльной системы по S. Irvin (1964), при этом препарат дибазол испытывался в дозах – от 1,25 мг/кг до 2560 мг/кг; вещество эноксифол от 1,7 мг/кг до 1800 мг/кг; препарат бемитил – от 1,25 мг/кг до 640 мг/кг. Характер изменений функционально-поведенческого статуса животных, сопутствующий каждой вводимой дозе, представляли, в интегральном виде графически и по интегральной «дозовой траектории» рассчитывали терапевтический интервал, диапазоны безопасной нейротоксикологической активности и опасного нейротоксикологического действия. В пределах этих диапазонов определяли «эффективные дозы» (дозы веществ, вызывающие резкие изменения профиля функционально-поведенческой активности животных) [Бугаева Л.И. и др., 2000]. В дальнейшем, в этих «эффективных дозах» исследовали поведенческую активность животных в тесте «открытое поле» [Bures J., Buresova O., 1991; Воронина Т.А., 2005].

При изучении влияния на *репродуктивную функцию* исследуемые производные бензимидазола вводились подопытным животным (опытные группы) внутрижелудочно в течение 5 суток – «5-ти дневный курс», что соответствует однократному применению препаратов у человека [Арзамасцев Е.В. и др., 2005; Гуськова Т.А., 2008] и «2-х месячным курсом» - в течение 60 дней, что соответствует 1 циклу сперматогенеза у крыс-самцов [Рузен-Ранге В.П., 1982] - в «эффективных дозах», установленных на предыдущем этапе исследований как - «терапевтически эффективная безопасная» (для дибазола - 5 мг/кг, для эноксифола - 5 мг/кг и для бемитила - 5 мг/кг) и «высшая эффективная безопасная близкая к токсической» (для дибазола - 160 мг/кг, для эноксифола - 60 мг/кг и для бемитила - 160 мг/кг). Крысы-самцы группы контроля оставались интактными.

По окончании курсов введения биологически активных производных бензимидазола исследовали их вмешательство на «предтестикулярном» уровне репродуктивной системы – изучали взаимодействие дибазола, эноксифола и бемитила с агентами, возбуждающими центральные М-холинорецепторы – ареколин (25 мг/кг, в/бр.) [Хараузов Н.А., 1958; Аничков С.В., 1982] и Н-холинорецепторы - никотин (6 мг/кг, в/бр.) [Бородкин Ю.С., 1970], а также центральные моноаминорецепторы – фенамин (10 мг/кг, в/бр.) [Щелкунов Е.И., 1964; Островская Р.У. и др., 2012], галоперидол (1 мг/кг, в/бр.) [Андреева Н.И., 2005], апоморфин (0,1 мг/кг, 1 мг/кг и 5 мг/кг - п/к.) и 5-гидрокситриптофан (300 мг/кг, в/бр.) [Раевский К.С., Наркевич В.Б., 1976, 2005; Воронина Т.А., 2012; Vasse M. et al., 1985; Sonsalla P.K. et al., 1986], а также оценивали половую активность животных. О воздействии на «тестикулярном» уровне судили по изменению сперматогенеза - изучали спермиограмму и проводили морфометрию гонад, а для выявления «посттестикулярных» воздействий - изучали функциональные показатели сперматозоидов и оплодотворяющую функцию крыс-самцов.

*Исследование полового поведения* у крыс-самцов проводили с учетом рекомендаций Пошивалова В.П. (1976), Everit В.Ј. (1983), Буреш Я. и др. (1991), Кузубовой Е.А. (2001), Бугаевой Л.И. и др. (2006), Agmo А. (1997), при этом учитывали показатели процептивности (латентный период начала половой активности, длительность половой активности и количество «эмоциональных» подходов самца к самке) и рецептивности (число садок с интрамиссией и без интрамиссии).

Для *исследования оплодотворяющей способности крыс-самцов* проводили спаривание экспериментальных и контрольных самцов с интактными самками в течение 10 дней, в соответствии с правилами доклинической оценки безопасности фармакологических средств [Дурнев А.Д. и др., 2012; Amann R.P., 1982]. По истечении 10 дней от первой подсадки к самцам для спариваний от крыс-самок отсаживали самцов, в последующем -

через 10 суток – самок забивали и вычисляли «Индекс оплодотворяющей способности самцов». При этом у забеременевших самок определяли сроки беременности, количество желтых тел беременности, количество имплантированных плодов, количество живых плодов, а также определяли ориентировочные сроки зачатия.

При изучении влияния исследуемых производных бензимидазола на *сперматогенез*, крыс-самцов подвергали эвтаназии (декапитация под эфирным наркозом). Проводили макроскопическое обследование (кровенаполнение, воспалительные изменения, атрофия) органов репродуктивной системы самцов. Семенники и эпидидимисы выделяли и взвешивали на весах модели ВЛКТ-500 (Россия). Массу семенников и эпидидимисов (гр.) представляли в относительных величинах по отношению к весу животного (гр.), выраженную в процентах (коэффициент масс органов). Семенники фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина для последующего микроскопического исследования, а из эпидидимисов извлекали семенной материал, по которому исследовали спермиограмму.

В *спермиограмме* учитывали следующие показатели: длительность движения сперматозоидов выраженная в минутах; резистентность сперматозоидов по отношению к изменениям pH среды и их осмотическую стойкость; общее количество сперматозоидов ( $1 \cdot 10^6$ ) в 1 мл гомогената [Саноцкий И.В. и др., 1975; Евдокимов В.В., 1999; Петрищев В.С. и др., 2002; Дурнев А.Д. и др., 2012]; относительное количество неподвижных форм сперматозоидов (%); относительное количество патологических форм (деформации, удвоения и др.) сперматозоидов (%); общее количество неподвижных форм сперматозоидов ( $1 \cdot 10^6$ ); общее количество патологических форм сперматозоидов ( $1 \cdot 10^6$ ); количество потенциально активных сперматозоидов (у.е.) и коэффициент их фертилизации (у.е.).

*Морфологическую оценку состояния генеративного эпителия* проводили на бинокулярном микроскопе №851.327.646 GZ 0034 («Leika DM 750», Германия) при увеличении 10x90 по следующим показателям: индекс сперматогенеза - подсчитывали по 4-х балльной системе [Райцина С.С., 1982; Хилькевич Л.В., 1990; Дурнев А.Д. и др., 2012]; общее количество сперматогоний; процент канальцев со слущенным генеративным эпителием; процент канальцев с 12 стадией мейоза. Одновременно отмечали качественные изменения: отслоение эпителия от базальной мембраны, дегенеративные явления в генеративном эпителии, наличие гигантских клеток [Саноцкий И.В., 1970, Курило Л.Ф., 1989].

*Статистическую обработку данных* проводили с использованием пакета программ Statistica 6,0 (StatSoft, США) и Excel 2007 (MS Office 2007, США), о достоверности судили по двуххвостовому t- критерию Стьюдента с поправкой Бенферрони [Гланц С., 1999, Реброва О.Ю., 2006].

#### **Результаты исследований и их обсуждение.**

В исследованиях по определению границ LD<sub>50</sub> производных бензимидазола – дибазола, эноксифола и бемитила установлено (таблица 1), что с учетом классификации ксенобиотиков по уровню их токсичности [Саноцкий И.В., Уланова И.П., 1975; Березовская И.В., 2003, 2010], дибазол, эноксифол и бемитил могут быть отнесены к классу умеренно токсичных веществ.

В клинике токсических эффектов у исследуемых веществ, были выявлены характерные для бензимидазолов признаки отравления – влияние на центральные структуры, регулирующие поведенческие реакции животных, дыхательную и сердечнососудистую системы – проявляющиеся угнетением локомоторной активности, судорожной активностью, угнетением дыхания, отдышкой, полнокровием органов малого круга кровообращения, геморрагическим трансудатом в легких. Подобные токсические эффекты описаны и для других производных бензимидазола [Спасов А.А. и др., 1999; Бугаева Л.И. и др., 2010; Кузубова Е.А., 2012]. При этом с учетом литературных данных [Голиков С.Н., 1986; Курляндский Б.А., 2002; Куценко С.А., 2004; Ed. Hayes A.W., 1982] по ряду признаков отравления: общему психомоторному возбуждению, переходящему в генерализованные клонико-тонические судороги, можно предположить наличие в механизме токсического



действия дибазола центрального эрготропного компонента. По угнетению подвижности, дыхания, седации, релаксации можно предположить в механизме токсичности эноксифола наличие центрального депримирующего действия. На основании же клиники интоксикации бемитилом – глубокая седация, гиперсаливация, мелкоамплитудный тремор, можно предположить наличие в его токсических эффектах трофотропного механизма на фоне его общеугнетающего психотропного действия на ЦНС.

Таблица 1.

**Величины острой токсичности (мг/кг) производных бензимидазола при внутрижелудочном введении крысам-самцам.**

Исследуемое вещество	LD <sub>50</sub> (мг/кг)	Терапевтический интервал (ТИ)	Диапазон безопасной активности (ДБА)	Диапазон токсической активности (ДТА)
Дибазол	2560,10 (2443,72÷2675,74)*	от 1,25 мг/кг до 2560 мг/кг	от 1,25 мг/кг до 160 мг/кг	от 161 мг/кг до 2560 мг/кг
Эноксифол	1920,96 (1858,47 ÷ 1985,55)	от 1,9 мг/кг до 1900 мг/кг	от 1,9 мг/кг до 238 мг/кг	от 239 мг/кг до 1900 мг/кг
Бемитил	638,77 (553,38 ÷ 737,340)	от 1,25 мг/кг до 640 мг/кг	от 1,25 мг/кг до 160 мг/кг	от 161 мг/кг до 640 мг/кг

**Примечание:** \* - доверительный интервал.

По результатам изучения нейротоксикологического профиля данных производных бензимидазола – дибазола, эноксифола и бемитила установлены дозозависимые эффекты их воздействия на различные спектры поведенческих, нервно-мышечных и вегетотропных эффектов в функционально-поведенческой активности крыс-самцов. При этом выявлено, что препараты дибазол и бемитил в малых дозах (1,25 мг/кг до 10 мг/кг) вызывали активацию поведенческих реакций, тогда как в более высоких дозах под их действием поведенческие реакции у животных угнетались. Подобные эффекты у этих препаратов наблюдались и со стороны нервно-мышечной возбудимости. Вегетативные же эффекты дибазола и бемитила в безопасных дозах изменялись незначительно, тогда как в токсических дозах – отчетливо угнетались. При этом частота дыхания под действием бемитила и дибазола в малых дозах активировалась, а в токсических - угнеталась. В нейротоксикологическом профиле эноксифола установлено резкое угнетение поведенческих реакций крыс-самцов (снижение настороженности, спонтанной двигательной активности и др.), дозозависимое угнетение нервно-мышечной возбудимости (угнетение рефлекторной активности, снижение тонуса конечностей вплоть до релаксации) на фоне вегетотропных эффектов.

С помощью интегрального графического представления нейротоксикологического профиля дибазола, эноксифола и бемитила в виде «дозовых траекторий» (рис.1) были определены различные по эффекту дозозависимые уровни их активности. Так, при анализе прохождения «дозовой траектории» **дибазола** по отдельным секторам физиологической активности крыс, выделено 3 уровня активности: на 1-м уровне (в диапазоне доз от 1,25 до 5 мг/кг) отмечается преобладающее влияние препарата на поведенческие реакции, тогда как на 2-м уровне активности (дозы от 10 до 160 мг/кг) интегральная «дозовая траектория» смещается в сектор нервно-мышечных реакций, что можно расценивать как усиление влияния препарата на нервно-мышечную передачу; в интервале доз от 320 и до 2560 мг/кг – 3-й уровень активности препарата - спектр его действия постепенно смещается в сектор вегетотропных токсических реакций.

На «дозовой траектории» **эноксифола** выделяется 3 уровня активности: на 1-м уровне активности вещества, (в интервале доз от 1,9 мг/кг до 15 мг/кг), в нейротоксикологическом действии эноксифола преобладают вегетотропные эффекты; на 2-м уровне - интегральная «дозовая траектория» вещества находится преимущественно в секторе поведенческих реакций (дозы от 30 мг/кг до 238 мг/кг), указанная активность эноксифола в этих дозах приблизительно одинакова и максимальна; на 3-м уровне активности нейротоксикологические эффекты эноксифола формируются на интегральной «дозовой

траектории» в диапазоне доз от 475 мг/кг до 1900 мг/кг, при этом в действии эноксифола постепенно начинают вновь активироваться вегетотропные эффекты, что, вероятно, может свидетельствовать о превалировании токсикотропной динамики, формирующей эффекты, в последующем приводящие к гибели животных.

На интегральной «дозовой траектории», в нейротоксикологическом профиле **бемитила** выявляется преимущественно 2 уровня функционально-поведенческой активности: 1-й уровень активности – отражен на «дозовой траектории» в диапазоне доз от 1,25 мг/кг до 80 мг/кг и характеризуется превалированием активации поведенческих реакции у крыс-самцов; 2-й уровень – формируется в дозах от 160 мг/кг до 640 мг/кг, а в действии препарата превалируют эффекты влияния на вегетативную симптоматику, в последующем формирующих токсическую динамику изменений, следствием которой явилась 50% гибель животных.

На следующем этапе с помощью интегрального графического представления функционально-поведенческого профиля дибазола, эноксифола и бемитила в их «дозовом портрете» были определены различные по эффекту дозозависимые диапазоны активности: был проведен расчет терапевтического интервала, а затем, в его пределах определены диапазоны безопасного и токсического действия (таблица 1).

Из приведенных данных следует, что по широте диапазонов безопасной активности, исследуемые биологически активные производные бензимидазола, могут быть расположены в следующей последовательности: эноксифол > дибазол > бемитил.

В дальнейшем в диапазонах безопасной и токсической активностей изученных производных бензимидазола были выявлены «эффективные дозы», которые условно были обозначены как «терапевтически эффективная безопасная доза» и «высшая эффективная безопасная доза, близкая к токсической».

В решении вопроса о правильности выбора доз, которые составили для дибазола - 5 мг/кг и 160 мг/кг, для эноксифола - 5 мг/кг и 60 мг/кг и для бемитила - 5 мг/кг и 160 мг/кг, в последующем были проведены исследования по изучению влияния данных производных бензимидазола на поведенческую активность крыс-самцов в тесте «открытое поле».

Исследования по изучению влияния дибазола, эноксифола и бемитила на поведенческую активность крыс-самцов в тесте «открытое поле» выявили зависимые от дозы эффекты их влияния на поведенческую активность животных. Установлено, что наиболее чувствительным звеном в структуре изменений поведения крыс-самцов, под влиянием исследуемых биологически активных производных бензимидазола, является локомоторная активность и груминг. Так под действием эноксифола у крыс-самцов зависимо от дозы снижается локомоторная активность – наиболее значимо в дозе 5 мг/кг (на 71,9%, при  $p < 0,05$ ), а количество актов груминга увеличивается - наиболее значимо в дозе 60 мг/кг (на 300,0%, при  $p < 0,05$ ). Тогда как под влиянием дибазола и бемитила в «безопасных» дозах (5 мг/кг) у крыс усиливается локомоторная активность (на 10,2%, при  $p > 0,05$  и 75,5%, при  $p < 0,05$ , соответственно), при снижении уровня груминга (на 75,0%, при  $p < 0,05$  и 42,9,5%, при  $p < 0,05$ , соответственно). Выявленные эффекты влияния дибазола и бемитила в дозах из диапазона их безопасной активности (5 мг/кг) на показатели двигательной активности и груминга крыс, с учетом литературных данных [Кругликов Р.И., 1981; Воронина Т.А. и др., 2000; Калувев А.В., 2002, 2004; Belzung S.et al., 2002; Trainor В.С., 2011] - могут быть интерпретированы - как стресспротекторное действие препаратов, в основе которого, вероятно, лежат описанные ранее адаптивные механизмы действия дибазола [Беленький Е.Е., 1958, 1959; Кустов В.В., 1960; Амиров Р.О., 1963] и бемитила [Бобков Ю.Г. и др., 1984; Иежица И.Н., 2000]. У препаратов в дозах, соответствующих максимально безопасному диапазону их действия наблюдалась инверсия данных эффектов – снижение количества горизонтальных перебежек на 24,4% ( $p < 0,05$ ) у крыс-самцов на фоне внутрижелудочного введения дибазола в дозе 160 мг/кг, а также снижение локомоций на 49,0% ( $p < 0,05$ ) и рост уровня груминга на 108,6% ( $p < 0,05$ ) у крыс-самцов на фоне внутрижелудочного введения бемитила в дозе 160 мг/кг.

Таким образом, полученные данные об особенностях поведения крыс-самцов на фоне внутрижелудочного введения изучаемых биологически активных производных бензимидазола в дозах из различных диапазонов активности, вероятно, может служить доказательством различных зависимых от дозы механизмов их нейротоксикологической активности.

Учитывая данное обстоятельство, а также литературные данные о регулирующем влиянии моноаминергической и холинергической нейромедиаторных систем различных отделов головного мозга на уровень двигательной активности животных, их эмоциональность и систему репродукции [Аничков С.В., 1982; Арушанян Э.Б., 2001; Agmo A., 2003; Kondo Y. et. al., 2005; Goodman A., 2008; Torterolo P. et. al., 2011], сочли целесообразным изучить возможные механизмы центрального вмешательства дибазола, эноксифола и бемитила в «терапевтически эффективных безопасных» и «высших эффективных безопасных, близких к токсическим» дозах на **«предтестиккулярном» уровне регуляции репродуктивной системы**. Результаты данной серии исследований представлены в таблице 2.

Установлено, что при взаимодействии *дибазола* с нейроанализаторами центральных холинергических и моноаминергических структур увеличивается продолжительность «никотинового тремора» и «фенаминовой стереотипии», активируется «апоморфиновая стереотипия» и «апоморфиновая вертикализация», растет количество спонтанных эрекции и усиливается выраженность 5-ГТФ гиперкинеза, при этом отсутствует влияние на «ареколиновый гиперкинез» и «галоперидоловую каталепсию». Полученные данные могут свидетельствовать о наличии у дибазола центрального Н-холиномиметического, а также дофамино- и серотонинопозитивного действия.

В экспериментах по изучению взаимодействия *эноксифола* с нейроанализаторами центральных холинергических и моноаминергических структур у вещества установлено: потенцирование длительности «никотинового тремора» и «фенаминовой стереотипии», усиление выраженности «апоморфиновой вертикализации», дозозависимое увеличение количества зевательных движений, рост количества спонтанных эрекции (эноксифол в дозе 60 мг/кг) и усиление выраженности 5-ГТФ гиперкинеза, снижение уровня «галоперидоловой каталепсии», отсутствие влияния на «ареколиновый гиперкинез» и «апоморфиновую стереотипию». Таким образом, в эффектах эноксифола присутствуют компоненты позитивного центрального Н-холинергического действия, пресинаптическое дофаминергическое действие на уровне мезолимбической системы головного мозга и серотонинопозитивное действие.

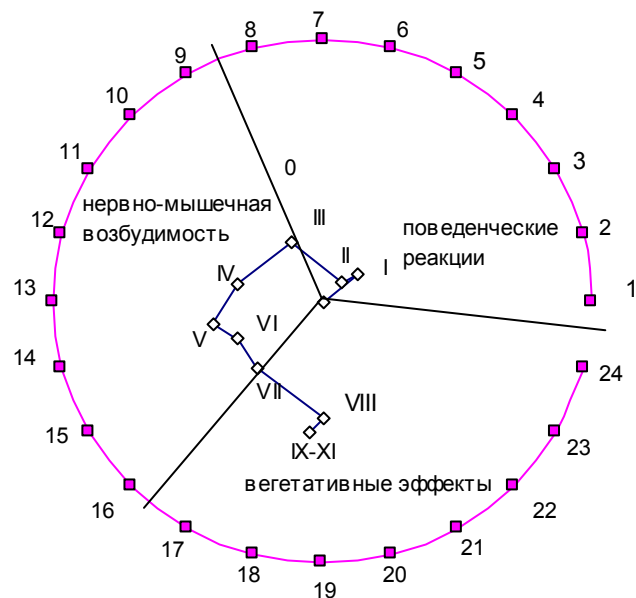
Характер же взаимодействия *бемитила* с нейроанализаторами центральных холинергических и моноаминергических структур напрямую зависит от дозы препарата. Так у препарата установлены зависимые от дозы эффекты: при введении препарата в дозе 5 мг/кг – укорочение продолжительности «ареколинового гиперкинеза», увеличение продолжительности «никотинового тремора» и количества зевательных движений; при введении препарата в дозе 160 мг/кг - удлинение продолжительности «ареколинового гиперкинеза» и «фенаминового гиперкинеза», укорочение продолжительности «никотинового тремора»; при введении препарата в дозах 5 мг/кг и 160 мг/кг – укорочение длительности «фенаминовой стереотипии», снижение выраженности «галоперидоловой каталепсии», дозозависимый рост количества спонтанных эрекции, дозозависимое усиление выраженности 5-ГТФ гиперкинеза, отсутствие влияния на «апоморфиновую стереотипию».

Таким образом, у бемитила в малых дозах присутствует М-холинонегативное и Н-холинопозитивное действие, при повышении дозы препарата возрастает его М-холинопозитивное и Н-холинонегативное вмешательство в ЦНС. Дофаминопозитивное пресинаптическое действие препарата на уровне мезолимбической системы выявлено в дозе бемитила - 5 мг/кг, тогда как в дозе 160 мг/кг данные эффекты инвертированы на дофаминонегативное действие. Кроме того, у бемитила отмечено дозозависимое центральное серотониномиметическое действие.

### Дибазол

Дозы препарата  
(мг/кг)

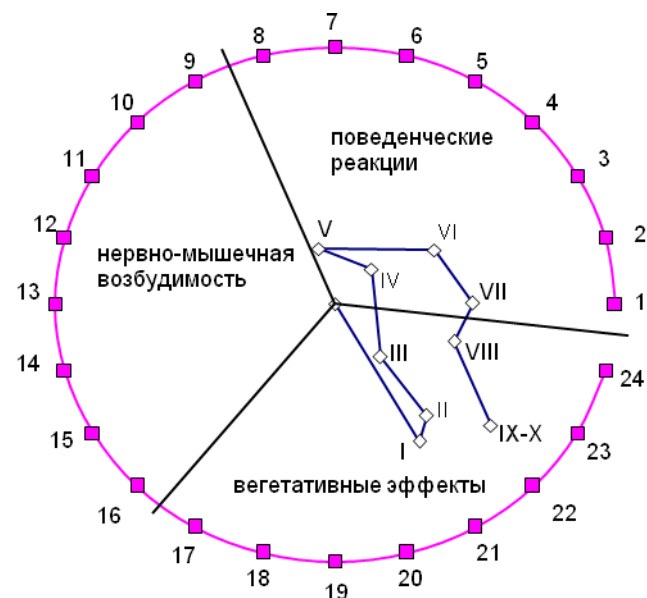
I -	1,25
II -	2,5
III -	5
IV -	10
V -	20
VI -	40
VII -	80
VIII -	160
IX -	320-640
X -	1280
XI -	2560



### Эноксифол

Дозы препарата  
(мг/кг):

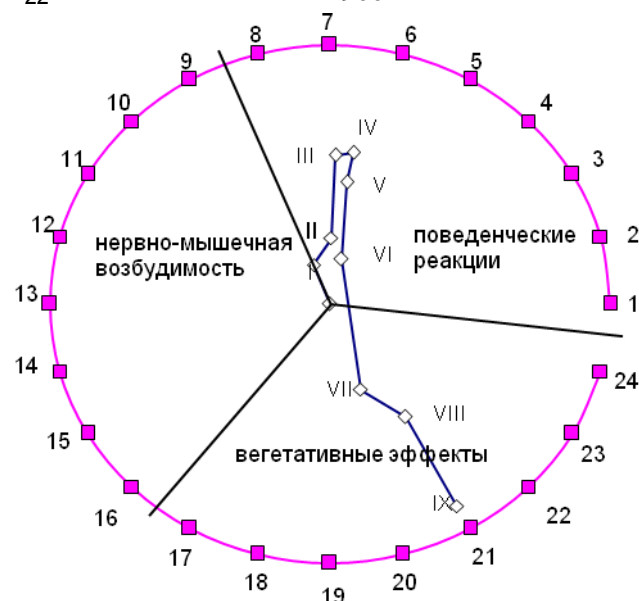
I -	1,9
II -	3,8-7,5
III -	15
IV -	30
V -	59
VI -	119
VII -	238
VIII -	475
IX -	950
X -	1900



### Бемитил

Дозы препарата  
(мг/кг):

I -	1.25
II -	2.5
III -	5
IV -	10
V -	20
VI -	80
VII -	160
VIII -	320
IX -	640



**Рис 1. Интегральная оценка нейротоксикологического профиля биологически активных производных бензимидазола.**

**Обозначения:** вокализации-1, настороженность-2, активность-3, стереотипия-4, беспокойство-5, агрессия-6, груминг-7, спонтанная двигательная активность-8, реакция на прикосновение-9, реакция на боль-10, реакция на стук-11, тремор-12, подергивание-13, судороги-14, расстройство передвижений-15, тонус конечностей-16, птоз-17, размеры зрачка-18, саливации-19, урикации-20, дефекации-21, температура тела-22, цвет кожных покровов-23, частота дыхания-24.

По результатам проведенных исследований можно заключить, что в нейротоксикологических эффектах препарата дибазол - превалирует эрготропный эффект, присутствуют центральное дофаминопозитивное и Н-холиномиметическое действие; вещества эноксифол – центральный депримирующий эффект, дофаминергическое действие на подкорковые центры головного мозга и центральное Н-холинергическое действие; препарата бемитил – трофотропное токсическое влияние и зависимое от дозы дофаминергическое и холинергическое действие.

Таблица 2.

**Взаимодействие производных бензимидазола с нейроанализаторами, возбуждающими центральные холинергические и моноаминергические структуры, in vivo\*.**

Вещество		Дибазол 5 мг/кг	Дибазол 160 мг/кг	Эноксифол 5 мг/кг	Эноксифол 60 мг/кг	Бемитил 5 мг/кг	Бемитил 160 мг/кг
С холиномиметически ми нейромедиаторами	Длительность «ареколинового гиперкинеза»					3,0↓*	2,0↑*
	Длительность «никотинового тремора»	12,0↑*	12,0↑*	13,0↑*	8,0↑*	9,0↑*	2,0↓*
С моноаминными нейромедиаторами	Длительность фенаминовой стереотипии	10,0↑*	9,0↑*		13,0↑*		2,0↓*
	Галоперидоловая каталепсия				3,0↓*		4,0↓*
	Апоморфиновая вертикализация (апоморфин в дозе 5 мг/кг)	11,0↑*	4,0↑*	4,0↑*	16,0↑*	13,0↑*	
	Апоморфиновая стереотипия (апоморфин в дозе 1 мг/кг)	4,0↑*	4,0↓*				
	Кол-во зевательных движений (апоморфин в дозе 0,1 мг/кг)	5,0↓*	4,0↑*		6,0↑*	7,0↑*	
	Кол-во эрекций (апоморфин в дозе 0,1 мг/кг)	32,0↑*			33,0↑*	8,0↑*	32,0↑*
	Выраженность 5- гидрокситрипто фанового гиперкинеза	10,0↑*	11,0↑*	11,0↑*	14,0↑*	9,0↑*	9,0↑*

**Примечание:** \* - представлены статистически значимые эффекты, «↑» - увеличение параметра на 10%, «↓» - уменьшение параметра на 10%, \* - значения статистически значимы по отношению к контролю при  $p < 0,05$ .

Наличие данных эффектов, с учетом литературных данных по механизмам регуляции репродуктивной системы [Йен С.С.К., Джаффе Р.Б., 1998; Каця Г.В. и др., 1994; Гомула А., 2009; Morales A. et al., 2004; Pawlisch В.А. et al., 2010], позволяет рассматривать исследуемые биологически активные производные бензимидазола как

«потенциально активные» в отношении «*предтестикулярного*» уровня регуляции системы фертилизации крыс-самцов.

В дальнейших исследованиях **репродуктивной токсичности** дибазола, эноксифола и бемитила их вводили двумя курсами: 5-ти дневным (короткий) - соответствует однократному приему у человека [Арзамасцев Е.В. и др., 2005; Гуськова Т.А., 2008] и 2-х месячным (длительный) – соответствует одному циклу сперматогенеза у крыс-самцов [Рузэнг-Ранге В.П., 1982]. По окончании курсов введения биологически активных производных бензимидазола исследовали их влияние на «предтестикулярном» уровне репродуктивной системы – изучали половую активность животных, о воздействии на «тестикулярном» уровне судили по изменению сперматогенеза - изучали спермиограмму и проводили морфометрию гонад, а для выявления «посттестикулярных» воздействий - изучали функциональные показатели сперматозоидов и оплодотворяющую функцию крыс-самцов.

На «*предтестикулярном*» уровне репродуктивной системы - как после 5-ти дневного введения, так и после 2-х месячного курса введения **дибазола**, обнаружено неоднозначное, зависимое от дозы препарата, влияние на процептивные и рецептивные компоненты полового поведения крыс-самцов (таблица 3). Установлено, что при коротком курсе введения под влиянием дибазола в дозе 5 мг/кг процептивное половое поведение крыс-самцов активируется (25,0%, при  $p < 0,05$ ), но рецептивность снижается (25,0%, при  $p < 0,05$ ). Схожие эффекты отмечались и под влиянием дибазола в дозе 160 мг/кг, при этом у опытных крыс-самцов отмечалось достоверное снижение и процептивного (30,0%) и рецептивного (88,9%) поведения. При курсовом 2-х месячном введении крысам-самцам дибазол дозозависимо достоверно активировал процептивное поведение (21,0% и 44,0%, соответственно дозам 5 мг/кг и 160 мг/кг). Однако в рецептивном поведении крыс-самцов получавших препарат в дозе 5 мг/кг обращает на себя внимание снижение числа покрытий интактных самок (18,5%, при  $p < 0,05$ ), которые в большинстве случаев негативно реагировали на попытки крыс-самцов к покрытию с интромиссиями, схожие эффекты наблюдались и после 5-ти дневного введения дибазола в обеих дозах. С учетом литературных данных [Bell M.R. et al., 2010; Guarraci F.A., 2010; Dadomo H. et al., 2011] можно предположить, что такое поведение крыс-самок, вероятно, может быть связано с изменением качественного фона выделяемых феромонов у данной группы самцов и во многом зависит от особенностей обмена тестостерона [Agmo A., 1997; Attila M. et al., 2010; Andersen M.L. et al., 2011]. Учитывая эти сведения, можно предположить возможность вмешательства дибазола в процессы нейроэндокринной регуляции репродуктивной функции крыс-самцов. Данное предположение согласуется с результатами исследований по взаимодействию дибазола с нейротрансмиттерами на «предтестикулярном» уровне регуляции репродуктивной системы и нашло свое подтверждение в дальнейших исследованиях.

На «*тестикулярном*» и «*посттестикулярном*» уровнях репродуктивной системы при исследовании сперматогенеза у крыс-самцов после 5-ти дневного введения дибазола в дозе 5 мг/кг общее количество сперматозоидов не изменялось, но при этом общее число патологических (28,8%, при  $p < 0,05$ ) и неподвижных (16,2%, при  $p > 0,05$ ) форм увеличивалось. Отмечалось так же снижение времени подвижности сперматозоидов (34,2%, при  $p < 0,05$ ), что возможно обусловлено обнаруженным у дибазола серотонинопозитивным действием, поскольку серотонин повышает концентрацию пролактина [Кация Г.В. и др., 1994; Иловойская И.А. и др., 2000; Гудин В.А., 2005; Мельниченко Г.А., 2008; Colao A. et al., 2004], а при этом, существует взаимосвязь между содержанием пролактина в плазме крови и числом подвижных сперматозоидов [Марова Е.И. и др., 2000; Тюзиков И.А., 2013; Вое-Hansen G.V. et al., 2006]. У самцов, получавших дибазол в дозе 160 мг/кг, общее количество сперматозоидов возрастало (11,9%, при  $p < 0,05$ ), но в тоже время, наблюдался рост патологических (28,2%, при  $p < 0,05$ ) и неподвижных (13,7%, при  $p < 0,05$ ) форм сперматозоидов, что, отразилось на снижении

времени их подвижности (24,0%, при  $p < 0,05$ ). При этом осмотическая резистентность сперматозоидов возрастала (12,4%, при  $p < 0,05$ ), а кислотная не изменялась, что, по мнению ряда авторов [Snell W.J. et al., 1996; Yang M.G. et al., 2005], может положительно сказываться на их оплодотворяющей способности, что и наблюдалось в дальнейших экспериментах.

Изменения в спермиограмме подтвердились *макроскопическими и морфометрическими исследованиями тестикул* у этих самцов, которые выявили достоверное дозозависимое увеличение коэффициентов масс гонад (21,4% и 33,3%, соответственно дозам 5 мг/кг и 160 мг/кг), при этом, под действием дибазола в дозе 160 мг/кг, в семенниках уменьшалось общее количество сперматогоний (10,0%, при  $p < 0,05$ ) и увеличивалось число канальцев с 12-й стадией мейоза (32,0%, при  $p < 0,05$ ), что, по мнению [Ефремов Е.А. и др., 2013], может указывать на активацию митотической фазы сперматогенеза. Рост же канальцев со слущенным эпителием (36,6%, при  $p < 0,05$ ) вероятно связан с нарушением процессов спермиации.

При изучении *спермиограммы* после 2-х месячного введения дибазола в обеих дозах не выявлено повреждающего действия на структурно-функциональные показатели спермиограммы. Отмечено позитивное влияние дибазола на подвижность сперматозоидов и на коэффициент фертилизации. При этом независимо от числа сперматозоидов в спермиограмме опытных крыс-самцов, обнаружено снижение содержания патологических и неподвижных форм сперматозоидов. Изменения, обнаруженные при изучении спермиограммы, подтвердились при морфологическом исследовании гонад. Было отмечено, что после 2-х месячного введения дибазола самцам в дозе 5 мг/кг росло число канальцев со слущенным эпителием (50,0%, при  $p < 0,05$ ) и с 12-й стадией мейоза (29,4%, при  $p < 0,05$ ). При микроскопии тестикул животных, которым дибазол вводили в дозе 160 мг/кг установлено, что одновременно с достоверным повышением мейотической активности и числа сперматогоний в канальцах тестикул (на 34,15 и 11,9%, соответственно) у данных самцов фиксируется двукратное увеличение количества канальцев со слущенным эпителием (на 95%, при  $p < 0,05$ ), что по данным литературы [Лысенко А.И. и др., 1991; Гольдберг Е.Д. и др., 2003] может указывать на выхолащивающую стимуляцию сперматогенеза.

При *исследовании оплодотворяющей способности* крыс-самцов после 5-ти дневного введения дибазола в обеих дозах у крыс-самцов активизируется оплодотворяющая способность, о чем свидетельствует более раннее зачатие у интактных самок, спаренных с этими самцами, которое произошло в среднем на 4 - 5 дней раньше, чем в контроле. В тоже время снижается количество и качество зачатий и как следствие снижается индекс оплодотворяющей способности крыс-самцов, что может свидетельствовать о снижении качества фертилизации их семени [Kidd S.A. et al., 2001; Levek-Motola N. et al., 2005; Alexander P.G. et al., 2010].

Схожие эффекты наблюдались и после 2-х месячного введения дибазола. Так от опытных крыс-самцов, получавших дибазол в дозе 5 мг/кг время наступления зачатий было в среднем на 3 дня раньше, чем в контроле, что указывает на активацию их оплодотворяющей способности. Одновременно с этим у оплодотворенных крыс-самок несколько снижалось качество зачатий, о чем свидетельствуют тенденции повышения эмбриональной гибели плодов. Однако выявленные эффекты у самок опытных групп не выходили за рамки физиологической нормы [Трахтенберг И.М., 1991; Neubert D., 2002].

При исследовании репродуктивных эффектов *эноксифола* на *«предтестикулярном»* уровне регуляции репродуктивной системы (таблица 4) установлено его дозозависимое влияние на половое поведение крыс-самцов. Так при коротком курсе введения вещество в дозе 5 мг/кг снижает процессы процептивного (45,2%, при  $p < 0,05$ ) и рецептивного (41,5%, при  $p < 0,05$ ) поведения. Тогда как в дозе 60 мг/кг, наоборот, активизирует и процепцию (39,8%, при  $p < 0,05$ ) и рецепцию (134,2%, при  $p < 0,05$ ). При курсовом 2-х месячном введении крысам-самцам в дозе 5 мг/кг эноксифол

также оказывает сдерживающее влияние на процептивное и рецептивное поведение, тогда как в дозе 60 мг/кг отмечается увеличение времени половой активности (65,0%, при  $p < 0,05$ ) и снижение количества подходов к интактным самкам (27,6%, при  $p < 0,05$ ), а также их покрытие опытными крысами-самцами (48,8%, при  $p < 0,05$ ). По литературным данным [Justel N.R. et al., 2009; Šlamberová R. et al., 2011] известно, что дофамин и его агонисты способны стимулировать процептивное поведение у грызунов, в тоже время дофамин и серотонин угнетают копулятивное поведение (рецептивность). Ранее, в серии экспериментов с нейроанализаторами, нами были показаны дозозависимые дофамино- и серотонинопозитивные эффекты у эноксифола, которые, возможно, и привели к активации процептивных компонентов полового поведения и угнетению копулятивности животных – наиболее выраженную в дозе 60 мг/кг.

Таблица 3.

**Влияние препарата дибазол (внутрижелудочное введение) при 5-ти дневном и 2-х месячном воздействии на репродуктивную функцию крыс-самцов<sup>#</sup>.**

Исследуемые показатели	5-ти дневное введение в дозах		2-х месячное введение в дозах	
	5 мг/кг	160 мг/кг	5 мг/кг	160 мг/кг
«Предтестикулярный» уровень репродуктивной функции				
Процептивность (у.е.)	<b>5,0<sup>↑*</sup></b>	<b>8,0<sup>↓*</sup></b>	<b>3,0<sup>↑*</sup></b>	
Рецептивность (у.е.)	<b>3,0<sup>↓*</sup></b>	<b>9,0<sup>↓*</sup></b>	<b>2,0<sup>↓*</sup></b>	<b>7,0<sup>↑*</sup></b>
«Тестикулярный» уровень репродуктивной функции				
Общее количество сперматозоидов в 1 ml ( $1 \cdot 10^6$ )	<b>0,5<sup>↓*</sup></b>	<b>1,0<sup>↑*</sup></b>		<b>5,0<sup>↓*</sup></b>
Индекс сперматогенеза (у.е.)				
Общее количество сперматогоний		<b>1,0<sup>↓*</sup></b>		<b>1,0<sup>↑*</sup></b>
Число канальцев со слущенным эпителием (%)		<b>4,0<sup>↑*</sup></b>	<b>5,0<sup>↑*</sup></b>	<b>9,5<sup>↑*</sup></b>
Число канальцев с XII стадией мейоза (%)		<b>3,0<sup>↑*</sup></b>	<b>3,0<sup>↑*</sup></b>	<b>3,0<sup>↑*</sup></b>
«Посттестикулярный» уровень репродуктивной функции				
Время подвижности сперматозоидов (мин.)	<b>3,0<sup>↓*</sup></b>	<b>2,0<sup>↓*</sup></b>	<b>3,0<sup>↑*</sup></b>	<b>4,0<sup>↑*</sup></b>
Осмотическая резистентность сперматозоидов	<b>1,0<sup>↑*</sup></b>	<b>1,0<sup>↑*</sup></b>		
Кислотная резистентность сперматозоидов	<b>0,5<sup>↓*</sup></b>		<b>1,0<sup>↓*</sup></b>	
Коэффициент фертилизации (у.е.)	<b>0,3<sup>↓*</sup></b>		<b>0,8<sup>↑*</sup></b>	<b>0,8<sup>↑*</sup></b>
Индекс оплодотворяющей способности ( $\sigma$ в %)				
Общая эмбриональная гибель плодов (%)	<b>5,9<sup>↑*</sup></b>	<b>3,3<sup>↑*</sup></b>	<b>4,6<sup>↑*</sup></b>	
Срок беременности (дни)	<b>3,0<sup>↑*</sup></b>	<b>2,0<sup>↑*</sup></b>	<b>1,0<sup>↑*</sup></b>	

**Примечание:** # - представлены статистически значимые эффекты по отношению к контролю при  $p \leq 0,05$ , «<sup>↑</sup>» - увеличение параметра на 10%; «<sup>↓</sup>» - уменьшение параметра на 10%; \* - изменения в количество раз относительно контроля.

На «тестикулярном» и «посттестикулярном» уровнях репродуктивной системы в серии экспериментов по изучению структурно-функциональных показателей *спермиограммы* и морфометрии гонад крыс-самцов установлено, что после короткого курса введения эноксифола в дозах 5 мг/кг и 60 мг/кг отмечается активация выброса сперматозоидов из тестикул в эпидидимисы. В этой связи в сменной жидкости достоверно повысилось количество сперматозоидов (55,3% и 15,1%, соответственно дозам 5 мг/кг и



60 мг/кг) и их патологических и неподвижных форм, и как следствие уменьшился коэффициент фертилизации. По литературным данным [Герасимов А.М. и др., 2003; Owen D.H. et al., 2005] увеличение абсолютного количества сперматозоидов в семенной жидкости, вследствие конкуренции за энергетический субстрат, может приводить к снижению времени их подвижности, что отмечалось и в наших исследованиях. При этом отмечено, что под действием эноксифола осмотическая резистентность сперматозоидов повышалась (в среднем на 8,7%, при  $p < 0,05$ ), что, вероятно, повысило их «фертилизующий потенциал» в половых путях самок [Sharma R.K. et al., 2001] и сказалось на результатах по улучшению качества зачатия и снижении эмбриональной гибели плодов у самок, спаренных с этими самцами.

При исследовании *спермиограммы* у крыс-самцов после курсового (2-х месячного) введения эноксифола обнаружено, что под его действием достоверно дозозависимо увеличивалось общее количество сперматозоидов (17,4% и 34,1%, соответственно дозам 5 мг/кг и 60 мг/кг), а так же общее количество их патологических форм (27,4%, в дозе 60 мг/кг), но при этом общее количество неподвижных форм сперматозоидов изменяется неоднозначно – уменьшается у крыс-самцов в дозе 5 мг/кг (23,4%, при  $p < 0,05$ ) и возрастает – в дозе 60 мг/кг (73,6%, при  $p < 0,05$ ). В тоже время, количество потенциально активных сперматозоидов оставалось повышенным в обеих опытных группах (в среднем на 25,5%, при  $p < 0,05$ ), тогда как коэффициент фертилизации возрастал только у самцов, получавших эноксифол в дозе 5 мг/кг, что, вероятно, и привело к увеличению количества имплантированных плодов у забеременевших самок от этих крыс-самцов.

Изменения, выявленные при изучении спермиограммы у опытных крыс-самцов, подтвердились и *морфологическими исследованиями* гонад. У экспериментальных самцов (при различных курсах введения) дозозависимо увеличивались признаки митотической и мейотической активностей в семенных канальцах (рост числа канальцев со слущенным эпителием и 12-й стадией мейоза). При этом неоднозначно изменялись коэффициенты масс семенников (достоверно возрастали – при коротком курсе введения эноксифола в дозе 60 мг/кг (11,8%) и снижались при курсовом введении эноксифола в дозе 5 мг/кг (11,4%). В тоже время, дозозависимое увеличение числа канальцев со слущенным эпителием, вероятно, свидетельствует о диссонансе в нормальных трофических взаимоотношениях между сперматогенными клетками и sustentоцитами [Макарова Н.П., 2006].

Данные влияния на репродуктивную систему нашло своё отражение и в исследованиях по *изучению оплодотворяющей способности* опытных крыс-самцов, получавших разными курсами эноксифол в дозах 5 мг/кг и 60 мг/кг. Установлено, что при коротком курсе введения в дозе 5 мг/кг эноксифол снижал индекс оплодотворяющей способности и сроки наступления беременности, что по ряду литературных данных [Di Sebastiano A.R. et al., 2011; Zhavbert E.S. et al., 2011] может быть следствием отмеченного ранее снижения параметров процептивного и рецептивного компонентов полового поведения. В тоже время в дозе 60 мг/кг, напротив, отмечалось ускорение наступления зачатий у интактных крыс-самок - в среднем на 7 дней по сравнению с контролем, что, вероятно, связано с активацией полового поведения в данной группе опытных крыс-самцов.

Схожие эффекты отмечены и при введении эноксифола в течение 2-х месяцев крысам-самцам в дозах 5 мг/кг и 60 мг/кг. При этом отмечено незначительное снижение индекса оплодотворяющей способности опытных крыс-самцов и ускорение времени наступления зачатий в среднем на 3 дня по отношению к контролю, что может быть связано с улучшением фертилизующих свойства сперматозоидов у экспериментальных крыс-самцов.

При исследовании репродуктивных эффектов *бемитила* на «*предтестикалярном*» уровне регуляции репродуктивной системы (таблица 5) установлено, что при 5-ти дневном введении под действием бемитила в дозе 5 мг/кг у крыс-самцов повышается

уровень процептивности (43,0%, при  $p < 0,05$ ) и активизируется рецептивность (82,9%, при  $p < 0,05$ ). Под действием препарата в дозе 160 мг/кг у крыс-самцов, напротив, снижается процептивные мотивации (19,0%, при  $p < 0,05$ ) и рецептивность (22,0%, при  $p < 0,05$ ).

При 2-х месячном введении крысам-самцам в зависимости от дозы бемитил изменяет у них процептивное и рецептивное поведение. Под действием бемитила в дозе 5 мг/кг у самцов снижается процептивное поведение (36,8%, при  $p < 0,05$ ), но удлиняется его длительность (29,1%, при  $p < 0,05$ ), что в большей степени обусловлено избеганием от этих самцов интактных самок. Под действием бемитила в дозе 160 мг/кг половая активность у крыс-самцов снижается, при этом достоверно угнетается и процептивность (41,4%) и рецептивность (70,7%). Таким образом, препарат оказывает в зависимости от дозы разнонаправленное влияние на процессы, регулирующие половую активность крыс-самцов. Так в экспериментах по выявлению взаимодействия бемитила с 5-гидрокситриптофаном, выявлено его серотонинопозитивное действие, наиболее выраженное в дозе 160 мг/кг, в тоже время серотонин снижает выработку гонадотропин-рилизинг гормона, который в свою очередь через угнетение выработки тестостерона, снижает половую активность крыс-самцов, особенно его рецептивные компоненты [Paredes R.G. et al., 2000], а также способен привести к снижению «репродуктивной привлекательности» самцов для самок [Galeeva A.Yu. et al., 2003; Hosokawa N. et al., 2010; Moshkin M.P. et al., 2011], что и наблюдалось в данных исследованиях.

При исследовании вмешательства **бемитила** на «тестикулярном» и «посттестикулярном» уровнях репродуктивной системы установлено, что при его 5-ти дневном введении в дозах 5 мг/кг и 160 мг/кг у крыс-самцов достоверно дозозависимо возрастали - общее количество неподвижных форм сперматозоидов (55,5% и 66,0%, соответственно дозам 5 мг/кг и 160 мг/кг) и осмотическая резистентность (в среднем на 21,5% в обеих дозах), а также снижался коэффициент фертилизации (5,5% и 6,9%, соответственно дозам 5 мг/кг и 160 мг/кг). В то же время, у крыс-самцов при 2-х месячном введении бемитила в дозе 5 мг/кг достоверно увеличивалось общее количество сперматозоидов (26,2%) и количество их потенциально активных форм (31,4%), а также время их подвижности (11,1%) и коэффициент фертилизации (4,2%). Тогда как у крыс-самцов, под действием бемитила в дозе 160 мг/кг были отмечены эффекты угнетения сперматогенеза, проявляющиеся в достоверном снижении общего количества сперматозоидов (29,6%), числа их потенциально активных форм (33,9%), понижении коэффициента фертилизации (6,3%) и повышении патологических форм (14,8%, при  $p > 0,05$ ). Разнонаправленные изменения отмечались и в функциональном состоянии сперматозоидов опытных крыс-самцов: снижение кислотной резистентности (13,0%, при  $p < 0,05$ ) при практически не измененной осмотической в 1-й группе и рост кислотной резистентности (17,5%, при  $p < 0,05$ ) – на фоне снижения осмотической резистентности (10,2%, при  $p < 0,05$ ) – во 2-й группе.

В зависимости от дозы при различных курсах введения бемитил неоднозначно влиял на *морфометрические параметры* сперматогенеза: в дозе 5 мг/кг практически не оказывал действие на генеративный эпителий и только способствовал увеличению количества канальцев со слущенным эпителием на 47,4,2%, ( $p < 0,05$ ) – после 2-х месячного курса. Тогда как в дозе 160 мг/кг – его угнетал, при этом значительно повышалось число канальцев со слущенным эпителием в семенниках (302,4% и 152,6%, соответственно при 5-ти и 2-х месячном курсах введения), что вероятно можно рассматривать как явления застойной ингибиции сперматогенеза. Выявленные изменения, вероятно, обусловлены как наличием кумулирующих свойств бемитила в семенниках [Сергеева С.А. и др., 2003, 2006; Смирнова Л.А., 2002, 2004], так и прямым действием препарата на генеративный эпителий [Кузубова Е.А., 2001; Бугаева Л.И. и др., 2006].

При исследовании влияния препарата бемитил на *оплодотворяющую способность* крыс-самцов выявлено, что под действием бемитила при различных курсах введения в дозе 5 мг/кг снижался индекс оплодотворяющей способности, но при этом у интактных

самок ускорились сроки наступления зачатия. У крыс-самцов, получавших 2-х месячным курсом бемитил в дозе 160 мг/кг, достоверно также снижался индекс оплодотворяющей способности, при этом качество беременности у ссаженных с ними самок было удовлетворительным: отмечался рост плодовитости, снижение постимплантационной эмбриональной гибели. Указанные изменения могут свидетельствовать о структурных перестройках сперматогенеза у крыс-самцов под воздействием бемитила, дозозависимо снижающих «фертилизующую способность» сперматозоидов.

Таблица 4.

**Влияние вещества эноксифол (внутрижелудочное введение) при 5-ти дневном и 2-х месячном воздействии на репродуктивную функцию крыс-самцов #.**

Исследуемые показатели	5-ти дневное введение в дозах		2-х месячное введение в дозах	
	5 мг/кг	160 мг/кг	5 мг/кг	160 мг/кг
«Предтестикулярный» уровень репродуктивной функции				
Процептивность (у.е.)	8,0↓*	7,0↑*	10,0↓*	4,0↑*
Рецептивность (у.е.)	4,0↓*	13,0↑*	6,0↓*	5,0↓*
«Тестикулярный» уровень репродуктивной функции				
Общее количество сперматозоидов в 1 ml (1*10 <sup>6</sup> )	6,0↑*	2,0↑*	2,0↑*	3,0↑*
Индекс сперматогенеза (у.е.)				
Общее количество сперматогоний				
Число канальцев со слущенным эпителием (%)	3,0↑*			3,0↑*
Число канальцев с XII стадией мейоза (%)	3,0↑*	4,0↑*	6,0↑*	6,0↑*
«Посттестикулярный» уровень репродуктивной функции				
Время подвижности сперматозоидов (мин.)	4,0↓*	4,0↓*	1,0↑*	1,0↑*
Осмотическая резистентность сперматозоидов	1,0↑*	1,0↑*	1,0↓*	
Кислотная резистентность сперматозоидов	0,5↓*			1,0↓*
Коэффициент фертилизации (у.е.)		0,3↓*	0,5↑*	0,4↓*
Индекс оплодотворяющей способности (♂ в %)	5,0↓*			
Общая эмбриональная гибель плодов (%)				3,6↑*
Срок беременности (дни)		5,0↑*	2,0↑*	3,0↑*

**Примечание:** #- представлены статистически значимые эффекты по отношению к контролю при  $p \leq 0.05$ , «↑» - увеличение параметра на 10%; «↓» - уменьшение параметра на 10%; \* - изменения в количестве раз относительно контроля.

Таким образом, на основании проведенных исследований можно заключить, что дибазол, эноксифол и бемитил оказывают выраженное влияние как на «предтестикулярном» уровне воздействия на репродуктивную систему, так и прямое влияние на «тестикулярном» и «посттестикулярном» уровнях системы фертилизации крыс-самцов. При этом в результате вмешательства изученных биологически активных производных бензимидазола на «предтестикулярном» уровне репродуктивной системы в механизмы, регулирующие половое поведение крыс-самцов, после краткосрочного (5-ти дневного) курса введения, установлено снижение рецептивного и процептивного поведения у животных, получавших дибазол в дозах 5 мг/кг и 160 мг/кг, бемитил - в дозе 160 мг/кг и эноксифол – в дозе 5 мг/кг. И напротив, данные показатели полового

поведения активировались у крыс-самцов, получавших эноксифол в дозе 60 мг/кг и бемитил – в дозе 5 мг/кг. При курсовом (2-х месячном) введении крысам-самцам установлено, что в их половом поведении процептивность увеличивалась под действием дибазола в дозе 5 мг/кг, эноксифола - в дозе 60 мг/кг и снижалась под действием эноксифола – в дозе 5 мг/кг и бемитила - в дозах 5 мг/кг и 160 мг/кг. В тоже время рецептивность активировалась только под действием дибазола в дозе 160 мг/кг, тогда как во всех остальных исследуемых дозах веществ – наблюдалось угнетение данного параметра полового поведения опытных животных, наиболее значимое в дозе бемитила - 160 мг/кг.

Таблица 5.

**Влияние препарата бемитил (внутрижелудочное введение) при 5-ти дневном и 2-х месячном воздействии на репродуктивную функцию крыс-самцов #**

Исследуемые показатели	5-ти дневное введение в дозах		2-х месячное введение в дозах	
	5 мг/кг	160 мг/кг	5 мг/кг	160 мг/кг
«Предтестикулярный» уровень репродуктивной функции				
Процептивность (у.е.)	<b>10,0↑*</b>	<b>2,0↓*</b>	<b>1,0↓*</b>	<b>6,0↓*</b>
Рецептивность (у.е.)	<b>8,0↑*</b>	<b>2,0↓*</b>		<b>7,0↓*</b>
«Тестикулярный» уровень репродуктивной функции				
Общее количество сперматозоидов в 1 ml (1*10 <sup>6</sup> )			<b>3,0↑*</b>	<b>3,0↓*</b>
Индекс сперматогенеза (у.е.)				<b>0,5↑*</b>
Общее количество сперматогоний				<b>2,0↓*</b>
Число канальцев со слущенным эпителием (%)		<b>30,0↑*</b>	<b>5,0↑*</b>	<b>15,2↑*</b>
Число канальцев с XII стадией мейоза (%)				
«Посттестикулярный» уровень репродуктивной функции				
Время подвижности сперматозоидов (мин.)		<b>1,0↓*</b>	<b>1,0↑*</b>	<b>2,0↑*</b>
Осмотическая резистентность сперматозоидов	<b>2,0↑*</b>	<b>2,0↑*</b>		<b>1,0↓*</b>
Кислотная резистентность сперматозоидов		<b>2,0↑*</b>	<b>1,0↓*</b>	<b>2,0↑*</b>
Коэффициент фертилизации (у.е.)	<b>0,6↓*</b>	<b>0,7↓*</b>	<b>0,4↑*</b>	<b>0,6↓*</b>
Индекс оплодотворяющей способности (♂ в %)				<b>5,0↓*</b>
Общая эмбриональная гибель плодов (%)	<b>3,2↑*</b>	<b>3,4↑*</b>	<b>4,2↑*</b>	
Срок беременности (дни)	<b>3,0↑*</b>		<b>2,0↑*</b>	

**Примечание:** #- представлены статистически значимые эффекты по отношению к контролю при  $p \leq 0.05$ , «↑» - увеличение параметра на 10%; «↓» - уменьшение параметра на 10%; \* - изменения в количество раз относительно контроля.

На «тестикулярном» и «посттестикулярном» уровнях репродуктивной системы у крыс-самцов на фоне 5-ти дневного курса введения дибазола, эноксифола и бемитила стимулировался сперматогенез. При этом стимулирующее влияние под действием эноксифола было выражено в большей степени, чем у дибазола и бемитила. При этом можно предположить наличие снижения фертилизующих свойств семени у крыс-самцов, получавших коротким курсом изучаемые вещества.

При курсовом (2-х месячном) введении под действием дибазола и бемитила у крыс-самцов отмечены явления нарушения сперматогенеза и снижение качества фертилизации

этих самцов, наиболее выраженные в дозах, приближенных к токсическому диапазону (160 мг/кг). Эффекты дибазола и бемитила в минимальных эффективных дозах (5 мг/кг) свидетельствовали о стимуляции сперматогенеза (увеличение общего количества сперматозоидов, времени их подвижности и коэффициента фертилизации) и активации мейотической активности в семенниках (рост числа канальцев с 12-й стадией мейоза). В тоже время уменьшение кислотной резистентности сперматозоидов в спермиограмме – привело к снижению их оплодотворяющих свойств. Стимулирующее влияние эноксифола на сперматогенез было более физиологичным, чем у дибазола и бемитила, а активация мейотической активности в тестикулах не носила выхолащивающий характер.

### **Выводы.**

1. Производные бензимидазола – *дибазол*, *бемитил* и *эноксифол*, в эксперименте оказывают влияние на репродуктивную систему крыс-самцов, выраженность которого зависит от дозового воздействия на «предтестикулярный», «тестикулярный» и «посттестикулярный» уровни регуляции генеративной функции крыс-самцов.
2. В нейротоксикологическом профиле препарата *дибазол* диапазон безопасной активности составляет от 1,25 мг/кг до 160 мг/кг, а диапазон токсической активности - от 161 мг/кг до 2560 мг/кг. При этом в дозе 5 мг/кг - «терапевтически эффективная безопасная доза» преобладают поведенческие и нервно-мышечные реакции, тогда как в дозе 160 мг/кг – «высшая эффективная безопасная доза, близкая к токсической» - вегетотропные реакции.
3. Для *дибазола* на «предтестикулярном», «тестикулярном» и «посттестикулярном» уровнях репродуктивной системы крыс-самцов установлено: увеличение продолжительности «никотинового тремора» и «фенаминовой стереотипии», активация «апоморфиновой стереотипии» и «апоморфиновой вертикализации», рост количества спонтанных эрекции и усиление выраженности 5-ГТФ гиперкинеза, при этом отсутствует влияние на «галоперидоловую катаlepsию» и «ареколиновый гиперкинез»; угнетение рецептивности при 5-ти дневном курсе введения в обеих дозах и активация рецептивности самцов при курсовом 2-х месячном введении препарата в дозе 160 мг/кг; признаки выхолащивающей стимуляции сперматогенеза и снижение фертильности сперматозоидов - в обеих дозах препарата при различных курсах введения крысам-самцам.
4. В нейротоксикологическом профиле вещества *эноксифол* диапазон безопасной активности составляет от 1,9 мг/кг до 238 мг/кг, а диапазон токсической активности - от 239 мг/кг до 1900 мг/кг. При этом в дозе 5 мг/кг - «терапевтически эффективная безопасная доза» преобладают вегетотропные эффекты, тогда как в дозе 60 мг/кг – «высшая эффективная безопасная доза, близкая к токсической» - поведенческие реакции. В тоже время ведущим механизмом его токсического действия является - прямое депримирующее влияние на ЦНС.
5. При изучении воздействия *эноксифола* на «предтестикулярный», «тестикулярный» и «посттестикулярный» уровни репродуктивной системы крыс-самцов установлено: потенцирование длительности «никотинового тремора» и «фенаминовой стереотипии», усиление выраженности «апоморфиновой вертикализации», дозозависимое увеличение количества зевательных движений, рост количества спонтанных эрекции (эноксифол в дозе 60 мг/кг), усиление выраженности 5-ГТФ гиперкинеза, снижение уровня «галоперидоловой катаlepsии», отсутствие влияния на «ареколиновый гиперкинез» и «апоморфиновую стереотипию»; угнетение полового поведения, снижение индекса оплодотворяющей способности и сроков наступления беременности – в дозе 5 мг/кг, и напротив – активация полового поведения и улучшение фертилирующих свойств - в дозе 60 мг/кг; при этом в обеих дозах после различных курсов введения вещество активизирует сперматогенез.

6. В нейротоксикологическом профиле препарата *бемитил* диапазон безопасной активности составляет от 1,25 мг/кг до 160 мг/кг, а диапазон токсической активности - от 161 мг/кг до 640 мг/кг. При этом в дозе 5 мг/кг - «минимально эффективная безопасная доза» превалирует активация поведенческих реакции, тогда как в дозе 160 мг/кг – «высшая эффективная безопасная доза, близкая к токсической» - в действии препарата превалируют эффекты трофотропного влияния на фоне его общеугнетающего психотропного действия на ЦНС.
7. Зависимое от дозы *бемитила* влияние на «предтестикулярный», «тестикулярный» и «посттестикулярный» уровни регуляции репродуктивной системы крыс-самцов предопределило и дозозависимость в эффектах. Установлены зависимые от дозы эффекты: при введении препарата в дозе 5 мг/кг – укорочение продолжительности «ареколинового гиперкинеза», увеличение продолжительности «никотинового тремора», увеличение количества зевательных движений; при введении препарата в дозе 160 мг/кг - удлинение продолжительности «ареколинового гиперкинеза», укорочение продолжительности «никотинового тремора», увеличение продолжительности «фенаминового гиперкинеза»; при введении препарата в дозах 5 мг/кг и 160 мг/кг – укорочение длительности «фенаминовой стереотипии», дозозависимый рост количества спонтанных эрекций, дозозависимое усиление выраженности 5-ГТФ гиперкинеза, снижение выраженности «галоперидоловой каталепсии», отсутствие влияния на «апоморфиновую стереотипию». При этом препарат в дозе 5 мг/кг при 5-ти дневном курсе активизирует рецептивное половое поведение крыс-самцов, а в дозе 160 мг/кг – угнетает. После 2-х месячного курса введения бемитил в дозе 5 мг/кг стимулирует процептивное поведение и угнетает процептивное и рецептивное половое поведение в дозе 160 мг/кг. В зависимости от дозы при различных курсах введения бемитил неоднозначно влияет на сперматогенез и фертилизующие свойства крыс-самцов: под действием бемитила в дозе 5 мг/кг активируются процессы сперматогенеза и фертилизации и, наоборот, угнетается сперматогенез и оплодотворяющая способность — в дозе 160 мг/кг.

#### Список работ опубликованных по теме диссертации.

1. Букатин, М.В. «Влияние дибазола (бендазол) на генеративную функцию крыс» / М.В. Букатин, Е.А. Кузубова, Л.И. Бугаева, А.А. Спасов // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. – 2007. - Том 70, №2. - С. 37-39.
2. Бугаева, Л.И. «Влияние эноксифола на поведенческую активность крыс-самцов» / Л.И. Бугаева, Е.А. Кузубова, А.А. Спасов, М.В. Букатин // *«Вестник ВолгГМУ»*. - 2012 .- №1. – С. 93-95.
3. Бугаева, Л.И. «Нейротоксикологические свойства препарата «Бендазол» / Л.И. Бугаева, Е.А. Кузубова, А.А. Спасов, М.В. Букатин // *«Вестник ВолгГМУ*. - 2012 г. - №2.- С. 83-86
4. Бугаева, Л.И. «Токсические свойства препарата дибазол при однократном введении крысам» / Л.И. Бугаева, Е.А. Кузубова, А.А. Спасов, С.А. Никитин, М.В. Букатин // *«Новые технологии в медицине (морфологические, экспериментальные, клинические и социальные аспекты)»* Сб. трудов, посвященный 70-летию Сталинградского-Волгоградского института-академии университета. - Волгоград, 2005. - Т. 61, вып.1.- С.36-37.
5. Кузубова, Е.А. «Влияние препарата дибазол на сперматогенез крыс при однократном введении»/ Е.А. Кузубова, Л.И. Бугаева, М.В. Букатин // *Материалы IV Международной конференции «Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам»* 13-16 марта. – Москва, 2006.- С 46.

6. Бугаева, Л.И. «Влияние эноксифола на гонадотропную функцию самцов» / Л.И. Бугаева, Е.А. Кузубова, **М.В. Букатин**, Д.Н. Реброва // «Успехи Современного "Естествознания"». - 2006, № 8. - С.56.
7. Букатин, М.В. «Изучение токсикологических свойств нового антиоксиданта из группы N<sub>9</sub> – замещенных имидазобензимидазолов» / **М.В. Букатин** // Материалы Межрегиональной научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Молодежь и наука: итоги и перспективы» YSRP-2006, 22-24 ноября 2006 года. – Саратов, 2006.-С. 60.
8. Бугаева, Л.И. «The influence of a new antioxidative preparation on the reproductive function of male-rats» / Л.И. Бугаева, Е.А. Кузубова, А.А. Спасов, **М.В. Букатин**, Д.Н. Реброва // «European journal of natural history». – 2007, № 1. – с.115-116.
9. **Букатин, М.В.** «Влияние препарата дибазол на половое поведение и показатели спермиограммы крыс-самцов» / **М.В. Букатин** // Материалы 64-й открытой итоговой научной конференции молодых ученых и студентов ВолГМУ «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины». 25-28 апреля 2006 г.- 2006 г.- С. 133.
10. Бугаева, Л.И. «Изучение профиля функционально-поведенческой токсичности препарата бемитил» / Л.И. Бугаева, Е.А. Кузубова, **М.В. Букатин** // «Современные наукоёмкие технологии». 2007, №11. - С. 68-69.
11. Бугаева, Л.И. «Investigation of neurogenic mechanism of dynamic-behavioural activity of Vendazol» / Л.И. Бугаева, А.А. Спасов, Е.А. Кузубова, **М.В. Букатин** // «European journal of natural history». - 2008, № 1. – С. 81
12. **Букатин, М.В.** «Применение нового метода интегральной оценки функционально-поведенческого профиля действия веществ в токсикологических исследованиях производных бензимидазола» / **М.В. Букатин** // Материалы 66-й открытой научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» 23-25 апреля 2008 г. - Волгоград, 2008. –С. 156.
13. **Букатин, М.В.** «New method application of the integral evaluation of dynamic-behavioural aspect of substances in toxicological research of benzimidazole's derivatives» // «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования, образование» Том 12 2008 г., с. 160-161
14. **Букатин, М.В.** «Изучение гонадотропных эффектов эноксифола у самцов крыс» / **М.В. Букатин** // «Вестник РАМН», приложение Тезисы V Конференции молодых ученых России с международным участием: «Фундаментальные науки и прогресс клинической медицины» 19-22 мая 2008 г. – Москва.- 2008, №6. - С.74-75
15. **Букатин, М.В.** «Изучение взаимодействия препарата бендазол с агентами, возбуждающими центральные моноаминергические и холинергические структуры» / **М.В. Букатин** // I Всероссийская молодежная научная конференция «Молодежь и Наука на севере» 14-18 апреля 2008 г. – Сыктывкар, 2008. – Т. II. - С.189.
16. **Букатин, М.В.**, «Исследование влияния биологически активных производных бензимидазола на функционально-поведенческий статус животных» / **М.В. Букатин** // Архангельская международная медицинская конференция студентов и молодых ученых (Архангельск 16-18 мая 2008): «Бюллетень Северного Государственного Медицинского Университета».- 2008.- №1 (выпуск XX). - С. 21-22.
17. **Букатин, М.В.** «Действие производного бензимидазола - препарата бемитил на половое поведение самцов крыс при краткосрочном курсе введения» / **М.В. Букатин** // Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием, посвященная 65-летию Ярославской государственной медицинской академии «Актуальные вопросы медицинской науки», (Ярославль 22-24 апреля 2009 г): сб. научн трудов. – Ярославль. – 2009. - С. 114-115.
18. **Букатин, М.В.** «Исследование поведенческой активности животных в тесте "открытое поле" на фоне предварительного перорального введения бендазола» / **М.В.**

- Букатин, А.Н.** Кривицкая, О.Ю. Овчинникова, А.В. Кузубов // «63-я итоговая научная конференция молодых ученых», посвящённая 70-летию Молодежного научного общества Ростовского государственного медицинского университета (Ростов, 24 апреля): сб. аннотаций докладов и материалов ДНЯ НАУКИ. - Ростов-на-Дону. – 2009. - С 179.
19. **Букатин, М.В.** «Изучение влияния препарата бемитил на сперматогенез при его краткосрочном, интрагастральном введении крысам-самцам» / **М.В. Букатин, В.Н. Сендрякова** // 67-я открытая научно-практическая конференция молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 22-24 апреля): материалы докладов.- Волгоград, 2009. - С.170
20. **Букатин, М.В.,** «Изучение острой токсичности производных бензимидазола – препаратов бендазол и бемитил»/ **М.В. Букатин** // Сборник трудов II Межрегиональной научной конференции «Актуальные проблемы медицинской науки и образования» (Пенза, 24-25 апреля).- Пенза, 2009. - С. 45-46.
21. **Букатин, М.В.** «Изучение токсических свойств препарата бемитил» **М.В. Букатин, А.В. Кузубов** // 68-я открытая научно-практическая конференция молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины», посвященная 75-летию ВолГМУ (Волгоград, 9-13 сентября 2010г): сб. материалов докладов.- Волгоград, 2010.- С.176
22. **Букатин, М.В.** «Морфометрическая характеристика гонад крыс-самцов, коротким курсом получавших бендазол» **М.В. Букатин, А.В. Кузубов** // 69-я открытая научно-практическая конференция молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» ВолГМУ (Волгоград, 27-30 апреля 2011): сб. материалов докладов.- Волгоград, 2011.- С.235-236.
23. **Букатин, М.В.** «Изучение влияния курсового введения бемитила на компоненты полового поведения крыс-самцов» / **М.В. Букатин, Л.И. Бугаева, Е.А. Кузубова** // «Современные наукоёмкие технологии». - 2013, №1. –С. 100-101.