

13. Струков А. И., Соловьева И. П. Морфология туберкулеза в современных условиях. – М.: Медицина, 1986. – 228 с.
14. Франк Г. А. и др. Формулировка патологоанатомического диагноза при некоторых инфекционных и паразитарных болезнях Класс I «Некоторые инфекционные и паразитарные болезни» МКБ-10. Клинические рекомендации / Российское общество патологоанатомов. – М.: Практическая медицина, 2016. – 30 с.
15. Фтизиатрия: национальное руководство / Под ред. М. И. Перельмана. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 512 с.
16. Цинзерлинг А. В., Цинзерлинг В. А. Современные инфекции: патологическая анатомия и вопросы патогенеза: руководство. – 2 изд. исправл. и доп. – М.: Сотис, 2002. – 346 с.
17. Цинзерлинг В. А., Чухловина М. Л. Инфекционные поражения нервной системы: вопросы этиологии, патогенеза и диагностики: руководство для врачей. – Элби-СПб, 2005. – 447 с.
18. Diagnostic Pathology of Infectious Diseases/ ed. R. L. Kradin. – Saunders. Elsevier. – 2010. – 644 p.
19. Milner D. A., Pecora N., Solomon I., Soong T. R. Diagnostic Pathology. Infectious Diseases. Elsevier, 2015.

**А. А. Сласов, А. Ю. Гетманенко, Л. И. Бугаева,
С. А. Лебедева, Т. М. Коржова, Е. А. Кузубова, М. С. Мальцев**

Волгоградский государственный медицинский университет;
Научно-исследовательский институт фармакологии;
Волгоградский медицинский научный центр

ВЛИЯНИЕ АЛИМЕНТАРНОЙ ГИПОМАГНЕЗИИ НА ПРОЦЕССЫ РЕПРОДУКЦИИ КРЫС-САМЦОВ

УДК 615.015:546.46:591.16

В исследованиях на крысах-самцах с экспериментальной гипомagneзией установлены эффекты активизации процептивного полового поведения, но снижения рецептивного поведения и оплодотворяющей функции сперматозоидов. Со стороны сперматогенеза у данных самцов не обнаружено существенных нарушений в продукции семяродного эпителия гонад и индексе сперматогенеза, но при этом прослеживалось повышение числа канальцев со слущенным эпителием и снижение числа канальцев с 12-й стадией мейоза. В спермиограмме у самцов с экспериментальной гипомagneзией на фоне не измененного общего количества сперматозоидов фиксировалось повышение числа патологических и неподвижных форм.

Ключевые слова: эксперименты на крысах-самцах, алиментарный дефицит магния, репродуктивная функция, половое поведение, сперматогенез.

**A. A. Spasov, A. Yu. Getmanenko, L. I. Bugaeva,
S. A. Lebedeva, T. M. Korjova, E. A. Kuzubova, M. S. Maltsev**

INFLUENCE OF ALIMENTARY HYPOMAGNESEMIA ON PROCESSES OF REPRODUCTION IN MALE RATS

Sexual behavior and the condition of spermatogenesis in male rats with experimentally induced alimentary deficiency of magnesium have been studied. In sexual behavior, reduced receptive sexual motivation was registered. In spermatogenesis, an increased number of degenerative and immobile forms of spermatozoa, as well as degenerative processes in the epithelium of the seminiferous tubules (inhibition of meiotic activity, increased number of tubules with desquamated epithelium) and decreased spermatogenesis index were observed.

Key words: magnesium deficiency, reproductive function, sexual behavior, spermatogenesis.

В настоящее время актуальны исследования по оценке влияния микро- и макроэлементов на состояние организма. При этом известно, что магний, являясь одним из ключевых макроэлементов, принимает непосредственное участие в важнейших обменных процессах. В научной литературе достаточно широко представлены экспериментальные и клинические данные по развитию на фоне гипомagneзии

различных патологических изменений со стороны ЦНС (нарушение умственной работоспособности, нервные и психические расстройства [14]), сердечно-сосудистой системы (повышение риска ИБС, структурные изменения эндотелия сосудов [11]), иммунной системы [6, 10] опорно-двигательного аппарата (развитие остеопороза, мышечные судороги [1,13]) и пр. Менее освещены данные по влиянию дефицита

магния на процессы репродуктивности и фертильности. В экспериментах на беременных крысах самках с алиментарной гипомagneзиемией показаны [7, 15] негативные изменения в пренатальном развитии плодов. Подобные эффекты выявлялись и в акушерско-гинекологической практике у беременных женщин [4, 6, 9]. Сведения по влиянию дефицита магния на мужскую половую систему немногочисленны и противоречивы. В различных работах утверждается как наличие взаимосвязи половой дисфункции у мужчин с уровнем магния в крови [16, 17, 19], так и то, что отчетливой связи между ними не прослеживается [18, 20, 21].

Учитывая вышеприведенные сведения, сочли целесообразным изучить влияние магнийдефицитного состояния на репродуктивную функцию крыс-самцов.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить половое поведение, состояние сперматогенеза и оплодотворяющую функцию сперматозоидов у крыс-самцов при алиментарном дефиците магния.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на 90 нелинейных половозрелых крысах-самцах и 40 крысах самках массой 190–230 г, доставленных из питомника государственного предприятия НИИ гигиены, токсикологии и профпатологии МЗ РФ Волгограда и прошедших 2-недельный карантин в виварии НИИ фармакологии ВолгГМУ. Содержание животных и проведение экспериментов соответствовало «Принципам надлежащей лабораторной практики» (ГОСТ Р-53434-2009) и рекомендациям «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [8].

Перед началом эксперимента крысы-самцы были разделены на 2 равные группы – опытную и контрольную. Для моделирования алиментарного дефицита магния крысы опытной группы в течение 2 месяцев получали диету с добавлением полиминеральной смеси без солей магния AIN-76 (MP Biomedicals, Оуо, США) и обессоленную воду. Контрольная группа была интактной, содержалась в идентичных опыту условиях, но при этом получала полноценный корм (зернопродукты, гранулированные комбикорма, свежие овощи) и отстоянную водопроводную воду.

В течение всего эксперимента у животных оценивали общее состояние, измеряли массу тела (г). По окончании 2 месяцев дачи магнийдефицитной диеты у опытной и контрольной групп самцов измеряли уровень магния в плазме крови и эритроцитах спектрофотометричес-

ким методом по цветной реакции с титановым желтым [5]. Критерием развития гипомagneзиемии считали снижение уровня магния в эритроцитах от 1,7 ммоль/л [7].

Впоследствии у крыс-самцов из обеих групп исследовали половое поведение, состояние процессов сперматогенеза и оплодотворяющую способность.

Половое поведение (в паре с интактными эстрирующими самками) у крыс-самцов исследовали в установке «открытое поле», модифицированной под «площадку зоосоциальных предпочтений» (ПЗП) [2].

Установка «ПЗП» представляла собой квадратную площадку 100×100 см с бортиками высотой 60 см, разделенную непрозрачными пластиковыми перегородками высотой 60 см на 4 отсека, сообщающихся в центре. В первом, втором и третьем отсеках размещали соответственно: поилку, кормушку с зерном, пластиковый домик. Четвертый отсек установки был свободным, в него за 20 мин до начала тестирования подсаживали испытуемого самца. Впоследствии в центральную часть установки помещали испытуемую крысу-самку.

Наблюдения за подопытным самцом после подсадки самки вели в течение 60 минут. Отмечали процептивное и рецептивное половое поведение. В процептивном поведении учитывали латентный период первого «эмоционального» подхода самца к самке (время от подсадки самки до первого проявления самцом элементов «ухаживания» – облизывание, обнюхивание, груминг); количество «эмоциональных» подходов самца к самке; длительность половой активности (общий период времени, затраченный самцом на «ухаживание» за самкой и попытки ее покрытий). В рецептивном поведении учитывали количество покрытий самцом самку (с/без интромиссий).

Состояние сперматогенеза исследовали у самцов после их эвтаназии (методом декапитации на гильотине под легким эфирным наркозом) и некропии с выделением семенников и эпидидимисов. Выделенные органы взвешивали на электронных весах, и по соотношению к массе тела вычисляли коэффициенты масс (%).

Из эпидидимисов путем продольного разреза и помещения в физиологический раствор извлекали семенную жидкость, в которой определяли общее количество сперматозоидов (ОКС, млн), количество неподвижных и дегенеративных форм (%), время подвижности (мин), кислотную (pH) и осмотическую (концентрация хлорида натрия, г/100 мл) резистентности сперматозоидов. После фиксации семенников (10%-й раствор формалина) и специфической

проводки тканей [22] изготавливали гистологические препараты для микроскопического обследования.

Морфологическую оценку семяродного эпителия на окрашенных срезах гонад проводили по показателям: индекса сперматогенеза (в 100 канальцах по 4-балльной системе, фиксировали наличие в каждом канальце сперматогоний, сперматоцитов I и II порядков, сперматид и сперматозоидов), общее количество нормальных сперматогоний (в 20 канальцах), количество канальцев со слущенным семяродным эпителием (в 100 канальцах) и с 12-й стадией мейоза (в 100 канальцах) [8].

Оплодотворяющую способность оценивали по результатам спаривания самцов исследуемых групп с интактными самками в соотношении 1:2. Спаривание животных проводили в течение 10 дней, затем самок отсаживали от самцов и по прошествии 10 дней подвергали их эвтаназии (метод декапитации под легким эфирным наркозом).

Определяли наличие беременности, проводили вскрытие беременных самок, выделяли яичники и рога матки, подсчитывали количество жёлтых тел беременности, мест имплантации, плодов и резорбций, вычисляли индекс беременности и показатели пре- и постимплантационной гибели плодов (%) [8].

Полученные результаты статистически обрабатывали с помощью программы Microsoft Excel, достоверность оценивали по t-критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам 2-месячных наблюдений за крысами самцами опытной и контрольной групп существенных изменений в общем состоянии (состояние шерстного и кожного покровов, видимых слизистых оболочек) не отмечено. Прирост массы тела в обеих группах был положительным и практически не различался. Результаты измерения уровня магния у опытной группы самцов по окончании 2-месячной дачи диеты позволили зафиксировать снижение концентрации магния, относительно контрольной группы самцов в плазме крови и в эритроцитах на 31,7 % ($p > 0,05$) и 30,2 % ($p < 0,05$), что соответствовало содержанию магния 0,7 ммоль/л – в плазме и 1,3 ммоль/л – в эритроцитах. В дальнейшем у этих самцов изучили половое поведение и сперматогенез и оплодотворяющую функцию.

Из результатов исследований отмечены неоднозначные эффекты в половом поведении (табл. 1). Относительно контроль группы в процептивном поведении у опытной группы самцов отмечено сокращение на 75,9 % ($p > 0,05$) латентного периода (ЛП) первого «эмоционального» подхода (ЭП) к интактной самке, увеличение количества ЭП на 82,1 % ($p > 0,05$) и повышение длительности времени «ухаживания» за самками на 154,1 % ($p < 0,05$). Одновременно в рецептивном поведении у самцов в опытной группе снижалось количество покрытий самок на 96,1 % ($p > 0,05$), при этом интромиссии отсутствовали.

Таблица 1

Показатели полового поведения у крыс-самцов (тест «ПЗП», в течение 60 мин наблюдений) с экспериментальной алиментарной гипомagneмией в паре с интактными крысами-самками (M + m)

Группа	Латентный период первого подхода к самке, с	Количество «эмоциональных» подходов к самке	Общее время «ухаживания», с	Количество покрытий	Количество интромиссий
Контроль интактный	79,30 ± 44,79	10,00 ± 2,40	350 ± 111	11,00 ± 10,01	2,50 ± 2,50
Диета (2 месяца)	19,10 ± 5,04	17,00 ± 2,90	890 ± 212	0,40 ± 0,20	0,0

Поскольку поведенческие реакции и половые мотивации у животных находятся под непосредственным контролем центральных нейрогуморальных факторов, предположили, что ослабление рецептивного полового поведения у крыс-самцов с алиментарным дефицитом магния, по-видимому, может свидетельствовать о возникновении дисбаланса обмена половых гормонов (тестостерона и эстрогенов). Подобные изменения половых мотиваций при дефиците магния (усиление процептивности и снижение рецептивности) также наблюдались в более ранних исследованиях на крысах-самках [7], что, вероятно, может указывать на

сходные патогенетические механизмы развития таких отклонений. При этом из литературных источников известно, что снижение магния в организме может сопровождаться нарушениями в половой сфере, связанными с фертильностью у мужчин [16], а в исследованиях гормонального статуса у пожилых мужчин выявлялась достоверная прямая зависимость уровня магния с уровнем тестостерона в сыворотке крови [19], что также не исключает негативного влияния дефицита магния на процессы сперматогенеза.

Для проверки высказанных предположений сочли целесообразным изучить спермиограмму и функциональное состояние семяродного эпи-

телиа гонад самцов. В спермиограмме (табл. 2) у опытной группы самцов не обнаружено существенных различий с контролем по показателям общего количества сперматозоидов, времени их подвижности, осмотической и кислотной ре-

зистентности. Вместе с тем в спермиограмме у опытных самцов отмечено отчетливое повышение содержания числа патологических форм (на 80,6 %, $p > 0,05$) и неподвижных форм (на 23,1 %, $p > 0,05$) сперматозоидов.

Таблица 2

Показатели спермиограммы у крыс-самцов с экспериментальной алиментарной гипомagneзией (M + m)

Группа	ОКС, млн	Время подвижности, мин	Патологические формы	Неподвижные формы	Осмотическая резистентность	Кислотная резистентность	Масса гонад	Масса эпидидимисов
Контроль интактный	34,60 ± 5,19	>300	16,00 ± 1,60	31,20 ± 2,43	2,00 ± 0,16	3,70 ± 0,10	3,20 ± 0,17	1,20 ± 0,03
Диета (2 месяца)	33,30 ± 2,19	>300	28,90 ± 2,78	38,40 ± 1,21	2,00 ± 0,16	3,60 ± 0,12	3,30 ± 0,15	1,20 ± 0,06

Таблица 3

Показатели сперматогенеза крыс-самцов с экспериментальной алиментарной гипомagneзией (M + m)

Показатели	Контроль интактный	Диета (2 месяца)
Индекс сперматогенеза, у.е.	3,40 ± 0,07	3,20 ± 0,16
Количество сперматогоний	55,00 ± 1,94	48,70 ± 3,53
Число канальцев со слущенным эпителием	3,30 ± 0,33	5,70 ± 0,33**
Число канальцев с 12-й стадией мейоза	2,70 ± 0,33	2,30 ± 0,33

* – Различия достоверны при $p < 0,01$.

При этом по результатам морфологических исследований препаратов гонад в функциональном состоянии семяродного эпителия (табл. 3) у опытных крыс-самцов были зафиксированы недостоверные тенденции снижения количества сперматогоний в канальцах (на 11,5 %, $p > 0,05$), числа канальцев с 12-й стадией мейоза (на 12,5 %, $p > 0,05$), но отчетливое повышение числа канальцев со слущенным эпителием на 70 % ($p < 0,05$), что, вероятно, и поспособствовало повышению в спермиограмме патологических и неподвижных форм сперматозоидов.

Таким образом, проведенными исследованиями было установлено отсутствие существенного влияния на продукцию сперматогенеза, поскольку общее количество сперматозоидов в спермиограмме практически не изменялось.

Вместе с тем отчетливое повышение числа дегенеративных форм сперматозоидов в спермиограмме может негативно сказываться на процессах оплодотворяющей функции.

Данное предположение в некоторой степени согласуется с результатами спаривания опытных самцов с интактными самками. Из результатов, приведенных в табл. 4, видно, что у самцов с алиментарным дефицитом магния количество оплодотворенных самок было на 12,5 % ($p > 0,05$) ниже, чем в контроле, при этом у забеременевших опытных самок было достоверно снижено число желтых тел беременности на 13,1 % ($p < 0,05$), мест имплантации на 21,4 % ($p < 0,01$), количество плодов на 19,3 % ($p < 0,05$), предимплантационная гибель плодов повышалась относительно контроля в 3,3 ($p > 0,05$).

Таблица 4

Показатели оплодотворяющей способности крыс-самцов с экспериментальной алиментарной гипомagneзией при спаривании с интактными самками (M + m)

Группа	Число желтых тел беременности	Число мест имплантации	Кол-во плодов	Индекс беременности	Предимплантационная гибель, %	Постимплантационная гибель, %
Контроль интактный	12,50 ± 0,43	12,00 ± 0,45	11,50 ± 0,56	100,00 ± 0,00	3,80 ± 2,63	4,30 ± 1,92
Диета без солей магния	10,90 ± 0,46*	9,40 ± 0,53**	9,30 ± 0,57*	87,50 ± 8,18	12,60 ± 5,24	1,60 ± 1,59

* – Различия достоверны при $p < 0,05$;

** – различия достоверны при $p < 0,01$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенных исследований можно сделать заключение о наличии неоднозначного влияния алиментарного дефицита магния на процессы полового поведения, оплодотворяющей функции и сперматогенеза. На фоне магнидефицитного состояния в половом поведении у крыс-самцов зафиксировано усиление процептивных мотиваций, но отчетливое снижение рецептивных. Со стороны сперматогенеза у самцов не отмечено изменений в общем количестве сперматозоидов и их подвижности, но при этом обращает на себя внимание увеличение числа патологических и неподвижных форм сперматозоидов и рост числа канальцев со слущенным эпителием, что может свидетельствовать о возникновении дегенеративных изменений в гонадах, негативно отражающихся на способности к зачатию потомства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акарачкова Е. С., Кадырова Л. Р., Котова О. В. Дефицит магния как причина и следствие остеопороза // Фарматека. – 2016. – № 7.
2. Бугаева Л. И., Спасов А. А., Кузубова Е. А. Влияние препарата бромантан на половое поведение и процессы зачатия у крыс // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2004. – Т. 67, № 3. – С. 58–60.
3. Буданов П. В. Лечение предменструального синдрома: современные представления и перспективы // Трудный пациент. – 2012. – № 10, № 2–3. – С. 34–37.
4. Волков А. В., Елецкий Ю. К. Основы гистологии с гистологической техникой. – М.: Медицина, 1982. – 304 с.
5. Дадак К. / Дефицит магния в акушерстве и гинекологии // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2013. – № 2. – С. 6–14.
6. Кондрахин И. П., Архипов А. В., Левченко В. И., Таланов Г. А., Фролова Л. А., Новиков В. Э. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: справочник / под редакцией В. Н. Сайтаниди. – М.: Колос, 2004. – 520 с.
7. Кошелева Н. Г., Аржанова О. Н., Плужникова Т. А. Невынашивание беременности: этиопатогенез, диагностика, клиника и лечение. – СПб., 2003. – 70 с.
8. Лебедева С. А., Спасов А. А., Бугаева Л. И., Смирнов А. В., Толокольников В. А., Бундикова Т. М. Влияние дефицита магния на поведенческую активность, процессы фертильности и репродуктивные органы крыс-самок // Микроэлементы в медицине. – 2016. – № 16 (1). – С. 15–21.
9. Мубаракшина О. А. Особенности применения препаратов магния беременными женщинами // Фарматека. – 2013. – № 18. – С. 2–5.
10. Недогада С. В. / Роль препаратов магния в ведении пациентов терапевтического профиля // Лечащий Врач. – 2009. – № 6. – С. 16–19.
11. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под ред. А. Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
12. Смирнов А. В., Панышин Н. Г., Спасов А. А., Иежица И. Н., Харитонова М. В. Структурные изменения эндотелия сосудов сердца у крыс при дефиците магния // Микроэлементы в медицине. – 2008. – Т. 9, Вып. 1–2. – С. 29–30.
13. Смирнов А. В., Шмидт М. В., Панышин Н. Г., Смирнова Т. Ф., Спасов А. А., Харитонова М. В., Желткова А. А., Черников М. В. Морфологические изменения некоторых органов крыс при дефиците магния // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. – Т. XVIII, № 2. – С. 63.
14. Спасов А. А. Магний в медицинской практике. – Волгоград, 2000. – 272 с.
15. Спасов А. А., Иежица И. Н., Харитонова М. В., Желтова А. А. Нарушение обмена магния и калия и его фармакологическая коррекция // Вестник Оренбургского гос. ун-та. – 2011. – № 15 (134). – С. 131–135.
16. Толокольников В. А., Смирнов А. В., Спасов А. А., Бугаева Л. И., Лебедева С. А., Быхалов Л. С. Сравнительная характеристика патоморфологических изменений матки крыс при развитии дефицита магния в условиях фармакологической коррекции // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 3.
17. Amar K. Chandra, Pallav Sengupta, Haimanti Goswami, Mahitosh Sarkar. Effects of Dietary Magnesium on Testicular Histology, Steroidogenesis, Spermatogenesis and Oxidative Stress Markers in adult rats // Indian Journal of Experimental Biology. – 2013. – Vol. 51. – P. 37–47.
18. Arpad B., Karoly B., Laszlo H. Biological, biochemical and morphological observations on animals with chronic magnesium deficiency // Magnesium Res. – 1989. – Vol. 2. – P. 228–237.
19. Maggio M., Ceda G. P., Lauretani F. Magnesium and anabolic hormones in older men // Int J Androl. – 2011. – P. 1365–2605.
20. Pandey V. K., Parmeshwaran M., Soman S. D. Concentrations of morphologically normal, motile spermatozoa: Mg, Ca and Zn in the semen of infertile men // The Science of the Total Environment. – 1983. – № 27. – P. 49–52.
21. Saaranen M., Suistomaa U., Kantola M., et al. Lead, magnesium, selenium and zinc in human seminal fluid: comparison with semen parameters and fertility // Human Reproduction. – 1987. – Vol. 2, № 6. – P. 475–479.
22. Wai Yee Wong, Gert Flik, Pascal M. W. Groenen, et al. The impact of calcium, magnesium, zinc, and copper in blood and seminal plasma on semen parameters in men // Reproductive Toxicology. – 2001. – № 15. – P. 131–136.