

## ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛОВОГО ПОВЕДЕНИЯ И СПЕРМАТОГЕНЕЗА У КРЫС-САМЦОВ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ДЕФИЦИТОМ МАГНИЯ

*А. Ю. Гетманенко, Л. И. Бугаева, А. А. Спасов, С. А. Лебедева, Е. А. Кузубова, М. С. Мальцев*

*Волгоградский государственный медицинский университет,  
Научно-исследовательский институт фармакологии*

Исследованы половые мотивации и состояние сперматогенеза у крыс-самцов при экспериментально вызванном алиментарном дефиците магния. Выявлено увеличение уровня процептивных и снижение рецептивных половых мотиваций на фоне гипомагниемии. Отмечено повышение количества дегенеративных и неподвижных форм сперматозоидов, а также дегенеративные процессы в семяродном эпителии семенных канальцев (угнетение мейотической активности, рост числа канальцев со слущенным эпителием) и снижение индекса сперматогенеза.

*Ключевые слова:* дефицит магния, репродуктивная функция, половое поведение, сперматогенез.

## STUDY OF SEXUAL BEHAVIOR AND SPERMATOGENESIS IN MALE RATS WITH EXPERIMENTAL MAGNESIUM DEFICIENCY

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

*Volgograd State Medical University,  
Research Institute of Pharmacology*

Sexual motivation and state of spermatogenesis in male rats with experimentally induced alimentary deficiency of magnesium have been studied. An increase in the level of proceptive and reducing of receptive sexual motivation in the hypomagnesemic state. It was noted 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, growth in the number of tubules with desquamated epithelium) and decreased spermatogenesis index.

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

В настоящее время актуальны исследования влияния микро- и макроэлементов на состояние организма. Магний, являясь одним из ключевых макроэлементов, принимает непосредственное участие в важнейших обменных процессах. В научной литературе достаточно широко представлены сведения о развитии на фоне гипомагниемии 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 представлены данные по влиянию дефицита магния на процессы репродуктивности и фертильности. При этом в экспериментах на животных установлено [7, 15] отрицательное влияние алиментарной гипомагниемии на процессы эмбриогенеза и фетогенеза. Подобные эффекты были выявлены также и в акушерско-гинекологической практике у беременных женщин [4, 6, 9]. Вместе с тем, практически не освещен вопрос воздействия дефицита магния на мужскую половую систему. Имеющиеся сведения неоднозначны и противоречивы, причем 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 магнидефицитного состояния на репродуктивную функцию крыс-самцов.

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить половые мотивации и состояние сперматогенеза у крыс-самцов при алиментарном дефиците магния.

### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводились на 90 нелинейных половозрелых крысах-самцах массой 190—230 г, доставленных из питомника государственного предприятия НИИ гигиены, токсикологии и профпатологии МЗ РФ г. Волгограда и прошедших 2-недельный карантин в виварии НИИ фармакологии ВолгГМУ. При проведении экспериментов учитывали «Принципы надлежащей лабораторной практики» (ГОСТ Р-53434-2009) и правила, принятые Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986).

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 магнидефицитной диеты у опытной и контрольной групп самцов измеряли уровень магния в плазме крови и эритроцитах спектрофотометрическим 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 и состояние процессов сперматогенеза.

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 поведением самца после подсадки самки вели в течение 60 мин. Отмечали: процептивные половые мотивации (латентный период первого «эмоционального» подхода самца к самке (время от подсадки самки до первого проявления самцом элементов «ухаживания»: облизывания, обнюхивания, груминг); количество «эмоциональных» подходов самца к самке; длительность половой активности (общий период времени, затраченного самцом на «ухаживание» за самкой и ее покрытие) и рецептивные половые мотивации – количество покрытий (с/без интромаиссии).

Состояние сперматогенеза исследовали у самцов после их эвтаназии (методом декапитации на гильотине под легким эфирным наркозом). На вскрытии у этих самцов выделяли семенники и эпидидимисы, которые затем взвешивали на электронных весах, и по соотношению к массе тела вычисляли их коэффициенты масс (%). Для последующей гистологической обработки семенники фиксировали в 10%-м растворе нейтрального

формалина, в дальнейшем из них изготавливали препараты тканей для микроскопического обследования. Из эпидидимисов путем продольного разреза и помещения в физиологический раствор извлекали семенную жидкость. При микроскопическом исследовании семенной жидкости определяли общее количество сперматозоидов (ОКС, млн), количество неподвижных и дегенеративных форм (%), время подвижности (мин.), кислотную (рН) и осмотическую (концентрация хлорида натрия, г/100 мл) резистентности сперматозоидов. 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 слушанным семяродным эпителием (в 100 канальцах) и с 12-й стадией мейоза (в 100 канальцах) [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 животными опытной и контрольной групп существенных изменений в общем состоянии (состояние шерстного и кожного покровов, видимых слизистых оболочек) отмечено не было. Прирост массы тела в обеих группах был положительным и практически не различался. Результаты измерения уровня магния позволили выявить, что концентрации магния у самцов, в течение 2 месяцев содержащихся на магнидефицитной диете, относительно группы контрольных самцов снизились в плазме крови и в эритроцитах на 31,7 % ( $p > 0,05$ ) и 30,2 % ( $p < 0,05$ ), соответственно составили 0,7 и 1,3 ммоль/л. Полученные данные, с учетом более ранних сведений [7], могут свидетельствовать о развитии экспериментальной алиментарной гипомagneзиемии у опытной группы самцов. В дальнейшем у этих самцов изучили половое поведение и сперматогенез. Из результатов исследований, представленных в табл. 1, видно, что относительно группы контроля в половом поведении крыс самцов с экспериментальной гипомagneзиемией (опытная группа) отчетливо повышались процептивные половые мотивации, но снижались рецептивные.

Таблица 1

**Показатели половой мотивации у крыс-самцов (тест «ПЗП», в течение 60 мин. наблюдений) с экспериментальной алиментарной гипомagneзиемией в паре с интактными крысами-самками ( $M \pm m$ )**

Группа	Латентный период первого подхода к самке, с	Количество «эмоциональных» подходов к самке	Общее время «ухаживания», с	Количество покрытий	Количество интромаиссий
Контроль интактный	79,3 ± 44,79	10 ± 2,4	350 ± 111	11,0 ± 10,01	2,5 ± 2,50
Диета (2 месяца)	19,1 ± 5,04	17 ± 2,9	890 ± 212	0,4 ± 0,20	0,0

**Показатели спермиограммы у крыс-самцов с экспериментальной алиментарной гипомagneзией ( $M \pm m$ )**

Группа	ОКС, млн	Время подвижности, мин.	Патологические формы	Неподвижные формы	Осмотическая резистентность	Кислотная резистентность	Масса гонад	Масса эпидидимисов
Контроль интактный	34,6 ± 5,19	>300	16,0 ± 1,60	31,2 ± 2,43	2,0 ± 0,16	3,7 ± 0,10	3,2 ± 0,17	1,2 ± 0,03
Диета (2 месяца)	33,3 ± 2,19	>300	28,9 ± 2,78	38,4 ± 1,21	2,0 ± 0,16	3,6 ± 0,12	3,3 ± 0,15	1,2 ± 0,06

В рецептивном поведении у опытных самцов отмечено сокращение на 75,9% ( $p > 0,05$ ) латентного периода первого «эмоционального» подхода к интактной крысе самке, увеличение количества таких «эмоциональных» подходов на 82,1% ( $p > 0,05$ ) и повышение длительности периода «ухаживания» за самками на 154,1% ( $p < 0,05$ ). В то же время, в рецептивном поведении у данной группы опытных самцов наблюдалось снижение количества покрытий самок на 96,1% ( $p > 0,05$ ), при этом интросиссии отсутствовали.

Поскольку поведенческие реакции и половые мотивации у животных находятся под непосредственным контролем центральных нейрогуморальных факторов, предположили, что ослабление рецептивных половых мотивации у крыс-самцов, находящихся на 2-месячной безмагниевого диеты, вероятно, может свидетельствовать о возникновении у них нарушений в обмене половых гормонов (тестостерона и эстрогенов). При этом 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 этих отклонений. Из литературных источников известно, что сокращение поступления магния в организм может приводить к нарушениям, в половой сфере, связанным с фертильностью у мужчин [16], а исследования гормонального статуса пожилых мужчин выявили достоверную прямую зависимость уровня магния с уровнем тестостерона в сыворотке крови [19], что также не исключает наличие негативного влияния дефицита магния на процессы сперматогенеза.

Для проверки высказанных предположений на следующем этапе работы у опытных и контрольных крыс-самцов исследовали спермиограмму и функциональное состояние семяродного эпителия. По результатам исследования спермиограммы (табл. 2) у опытных самцов обнаружено отсутствие значимых различий с контролем по показателям общего количества сперматозоидов, времени их подвижности, осмотической и кислотной резистентности. Наряду с этим, в спермиограмме опытной группы крыс-самцов прослеживалось отчетливое повышение числа патологических форм сперматозоидов на 80,6% ( $p > 0,05$ ),

а также и неподвижных форм сперматозоидов на 23,1% ( $p > 0,05$ ).

При оценке морфологических показателей функционального состояния семяродного эпителия (табл. 3) у опытных крыс-самцов зафиксированы тенденции снижения индекса сперматогенеза (на 4,7%,  $p > 0,05$ ), количества сперматогоний канальцах (на 11,5%,  $p > 0,05$ ) и числа канальцев с 12-й стадией мейоза (на 12,5%,  $p > 0,05$ ), тогда как число канальцев со слущенным эпителием достоверно возросло на 70% ( $p < 0,05$ ). Выявленные изменения в семенниках, а также и результаты более ранних исследований [12], вероятно, могут свидетельствовать о начале дегенеративных изменений в семяродном эпителии у крыс-самцов с экспериментальной гипомagneзией, что и явилось возможной причиной вышеуказанных отклонений в их спермиограмме.

Таблица 3

**Показатели сперматогенеза крыс-самцов с экспериментальной алиментарной гипомagneзией ( $M \pm m$ )**

Показатели	Контроль интактный	Диета (2 месяца)
Индекс сперматогенеза (у. е.)	3,4 ± 0,07	3,2 ± 0,16
Количество сперматогоний	55,0 ± 1,94	48,7 ± 3,53
Число канальцев со слущенным эпителием	3,3 ± 0,33	5,7 ± 0,33*
Число канальцев с 12-й стадией мейоза	2,7 ± 0,33	2,3 ± 0,33

\*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 и сперматогенеза. На фоне магний-дефицитного состояния в поведении у крыс-самцов зафиксировано усиление рецептивных 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.

## 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. Дадак К. Дефицит магния в акушерстве и гинекологии // Акушерство, гинекология и репродукция. — 2013. — № 2. — С. 6—14.
5. 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 Сайтаниди В. Н. — М.: Колос, 2004. — 520 с.
6. Кошелева Н. Г., Аржанова О. Н., Плужникова Т. А. Невынашивание беременности: этиопатогенез, диагностика, клиника и лечение. — СПб, 2003. — 70 с.
7. 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. — № 16 (1). — С. 15—21.
8. Методические указания по изучению репродуктивной токсичности фармакологических веществ. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. — М., 2005. — С. 87—100.
9. Мубаракшина О. А. Особенности применения препаратов магния беременными женщинами // Фарматека. — 2013. — № 18. — С. 2—5.
10. Недогода С. В. Роль препаратов магния в ведении пациентов терапевтического профиля // Лечащий врач. — 2009. — № 6. — С. 16—19.
11. Смирнов А. В., Паньшин Н. Г., Спасов А. А., Иежица И. Н., Харитонов М. В. / Структурные изменения эндотелия сосудов сердца у крыс при дефиците магния // Микроэлементы в медицине. — 2008. — Т. 9, Вып. 1—2. — С. 29—30.
12. Смирнов А. В., Шмидт М. В., Паньшин Н. Г., Смирнова Т. Ф., Спасов А. А., Харитонов М. В., Желтова А. А., Черников М. В. Морфологические изменения некоторых органов крыс при дефиците магния // Вестник новых медицинских технологий. — 2011. — Т. XVIII, № 2. — С. 63.
13. Спасов А. А. Магний в медицинской практике. — Волгоград, 2000. — 272 с.
14. Спасов А. А., Иежица И. Н., Харитонов 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.
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. 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.
19. Maggio M., Ceda G. P., Lauretani F. Magnesium and anabolic hormones in older men // Int J Androl. — 2011. — Vol. 15. — 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. — Vol. 27. — P. 49—52.
21. 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. — Vol. 15. — P. 131—136.

## Контактная информация

**Спасов Александр Алексеевич** — д. м. н., профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой фармакологии, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: [aspasov@mail.ru](mailto:aspasov@mail.ru)