
ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 616.64-092.4:546.46

ВЛИЯНИЕ СТАНДАРТИЗИРОВАННОГО РАСТВОРА МИНЕРАЛА БИШОФИТ НА СОСТОЯНИЕ СПЕРМАТОГЕНЕЗА КРЫС-САМЦОВ С АЛИМЕНТАРНЫМ ДЕФИЦИТОМ МАГНИЯ

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

Волгоградский государственный медицинский университет, НИИ фармакологии

Показано, что 2-месячное содержание крыс-самцов на магнидефицитной диете способствует снижению функции семяродного эпителия гонад и общего количества сперматозоидов, повышению содержания патологических и неподвижных форм. Пероральное 2-месячное введение этим самцам стандартизированного раствора минерала бишофит в дозе 0,01 мл/кг (0,4 мг/кг в пересчете на ионы магния) оказывает активирующее влияние на состояние сперматогенеза, улучшает функцию семяродного эпителия, повышает общее количество сперматозоидов, при этом уровень магния в крови крыс-самцов повышается незначительно.

Ключевые слова: дефицит магния, сперматогенез, бишофит.

DOI 10.19163/1994-9480-2017-2(62)-15-19

EFFECT OF THE STANDARDIZED BISCHOFITE SOLUTION ON THE SPERMATHOGENESIS OF MALE RATS WITH ALIMENTARY MAGNESIUM DEFICIENCY

**A. A. Spasov, L. I. Bugaeva, S. A. Lebedeva, A. Y. Getmanenko,
T. M. Corzhova, E. A. Kuzubova, M. V. Maltsev, N. S. Bugaeva**

Volgograd State Medical University, Research Institute of Pharmacology

We have demonstrated that 2 months' low magnesium diet reduces the function of the spermatogenous epithelium of gonads and the total sperm count, but increases the pathological and immobile forms in male rats. 2-month peroral administration of standardized bischofite solution in a dose of 0.01 mL/kg (0.4 mg/kg in terms of magnesium ions) in these males has an activating impact on the condition of spermatogenesis, improves the function of spermatogenous epithelium, improves the overall sperm count; the magnesium level in the blood of male rats increases insignificantly.

Key words: magnesium deficiency, spermatogenesis, bischofite.

Гипомагниемия — достаточно распространенное в настоящее время явление. Она может быть следствием несбалансированного питания, приема ряда лекарственных препаратов (диуретиков, аминогликозидов, противоопухолевых, противозачаточных) и пр. [8]. Дефицит магния у человека, выраженный в различной степени тяжести, может способствовать развитию сердечно-сосудистой патологии [11, 14], нарушениям со стороны гемостаза [13, 15], опорно-двигательного аппарата [12, 16] и процессов репродукции. В частности: у женщин наблюдается изменение в овуляторной цикличности, нарушение фертильности [2, 4]; у мужчин — снижение активности сперматогенеза, в тяжелых случаях — азооспермия, олигоспермия [10].

Анализ фармацевтического рынка позволил отметить недостаточное наличие отечественных магниесодержащих препаратов. В этой связи в ВолгГМУ в рамках региональной программы «Российский магний» ведется поиск и изучение эффективности использования в условиях нормы и патологии новых отечественных магниесодержащих препаратов, созданных на основе глубокой переработки минерала бишофит.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить влияние стандартизированного раствора минерала бишофит на состояние сперматогенеза крыс-самцов с алиментарной недостаточностью магния.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на 60 нелинейных половозрелых белых крысах-самцах массой 180—200 г, доставленных из питомника филиала ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА» России «Андреевка» (Московская область). Содержание животных и проведение экспериментов соответствовало «Принципам надлежащей лабораторной практики» (ГОСТ Р-53434-2009) и рекомендациям «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [7].

После прохождения 2-недельного карантина в виварии НИИ фармакологии ВолгГМУ крысы-самцы были разделены на 3 равные группы — опытную, группу интактного контроля и группу негативного контроля. Исследования проводили в 2 этапа. На I этапе для моделирования алиментарного дефицита магния крысы опытной группы и группы негативного контроля в течение 2 месяцев получали магнийдефицитную диету с добавлением полиминеральной смеси AIN-76 (MP Biomedicals, Ohio, США) и дистиллированную воду в качестве питья. Интактная группа содержалась в идентичных условиях, но при этом получала полноценный корм (зернопродукты, гранулированные комбикорма, свежие овощи) и отстоянную водопроводную воду. У животных оценивали общее состояние, измеряли массу тела (г). По окончании 2 месяцев у самцов в опытной и контрольных группах измеряли уровень магния в плазме крови и эритроцитах (спектрофотометрический метод по цветной реакции с титановым желтым [3]). Критерием развития гипомagneзмии считали снижение уровня магния в эритроцитах от 1,7 ммоль/л [5]. Затем часть самцов (по 5 особей из каждой группы) подвергали эктаназии (методом декапитации) и некропсии с выделением семенников и эпидидимисов. Выделенные органы взвешивали на электронных весах и по соотношению к массе тела вычисляли их коэффициенты масс (%). Из эпидидимисов извлекали семенную жидкость, в которой 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. Семенники фиксировали в 10%-м забуференном растворе формалина и после специфической гистологической проводки тканей проводили морфологическую оценку семяродного эпителия методом световой микроскопии на окрашенных срезах гонад 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), количества сперматогоний (в 20 канальцах), количества канальцев со слушленным семяродным эпителием (в 100 канальцах) и канальцев с 12-й стадией мейоза (в 100 канальцах) [6].

На II этапе изучали эффекты фармакологической коррекции дефицита магния раствором минерала бишофит. С этой целью опытной группе самцов на фоне продолжающейся дачи магнийдефицитной диеты вво-

дили внутрижелудочно 2-месячным курсом стандартизованный раствор минерала бишофит в экспериментально доказанной средней терапевтической дозе 0,01 мл/кг (0,4 мг/кг в пересчете на ионы магния) [9]. Условия содержания групп интактного и негативного контроля оставались без изменений. По окончании 2 месяцев у самцов оценивали уровни магния в плазме и эритроцитах и состояние сперматогенеза аналогично I этапу.

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

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам наблюдений за крысами-самцами опытной и обеих контрольных групп на I этапе исследования существенных изменений в их общем состоянии и поведении не отмечено. Прирост массы тела во всех группах был положительным и достоверно не различался. При этом по окончании 2 месяцев уровень магния в плазме крови и в эритроцитах у крыс, получавших диету, снизился относительно интактной группы самцов на 31,7 % ($p < 0,05$) и 30,2 % ($p > 0,05$) (таблица 1). Исследование состояния сперматогенеза у самцов с дефицитом магния на этом этапе позволило выявить тенденцию к снижению общего количества сперматозоидов (на 23,7 %, $p > 0,05$), при этом достоверно возросло число патологических (на 63,9 %) и неподвижных (на 21,9 %) форм сперматозоидов ($p < 0,05$), тогда как время их подвижности не изменялось. При морфометрической оценке состояния семяродного эпителия гонад у самцов в опытной группе и группе негативного контроля по отношению к интактному контролю отмечено достоверное увеличение числа канальцев со слушленным эпителием на 70 % ($p < 0,05$) и тенденции к снижению числа канальцев с 12-й стадией мейоза (на 12,5 %, $p > 0,05$), индекса сперматогенеза (на 4,7 %, $p > 0,05$) и количества сперматогоний в канальцах (на 11,5 %, $p > 0,05$), что согласуется и с данными ранее проведенных исследований [1]. В этой связи на II этапе эксперимента сочли целесообразным исследовать эффективность коррекции процессов сперматогенеза у самцов стандартизированным раствором минерала бишофит.

По результатам наблюдений за животными на II этапе исследования также не было обнаружено особых межгрупповых различий в их общем состоянии и поведении. Уровни магния в плазме и эритроцитах у самцов опытной группы по окончании 2 месяцев введения раствора бишофита также оставались сниженными относительно интактного контроля (таблица 1), а их повышение по отношению к группе негативного контроля было незначительным и составляло 4,8 % в плазме ($p > 0,05$) и 7,4 % в эритроцитах ($p > 0,05$), то есть, судя по уровням магния в крови самцов этих групп, эффективность фармакологической коррекции бишофитом четко не выявлялась.

Таблица 1

Влияние магнийдефицитной диеты и ее фармакологической коррекции на уровень магния в крови крыс-самцов (ммоль/л), $M \pm m$

Группа		I этап	II этап
Интактный контроль	плазма	1,50 ± 0,35	2,10 ± 0,04
	эритроциты	2,30 ± 0,16	2,90 ± 0,21
Негативный контроль	плазма	0,60 ± 0,12**	1,00 ± 0,15*
	эритроциты	1,00 ± 0,12	1,70 ± 0,13*
Опыт	плазма	0,60 ± 0,12**	1,10 ± 0,15*
	эритроциты	1,00 ± 0,12	1,90 ± 0,26*

Примечание. I этап — создание гипомagneзиемии, 2 месяца; II этап — коррекция гипомagneзиемии, 2 месяца.

*Изменения достоверны относительно интактного контроля, $p < 0,05$;

**изменения достоверны относительно интактного контроля, $p < 0,01$.

Вместе с тем, по результатам изучения состояния сперматогенеза у самцов в опытной группе прослеживались отчетливые положительные сдвиги по сравнению с группой негативного контроля. Так, в спермиограмме (таблица 2) у самцов негативного контроля относительно интактной группы зафиксирована выраженная тенденция к понижению общего количества сперматозоидов на 48,0 % ($p > 0,05$) и увеличение числа их патологических форм на 81,8 % ($p > 0,05$). Время подвижности сперматозоидов у группы негативного контроля также снижалось на

44,97 % ($p > 0,05$), тогда как количество неподвижных форм сперматозоидов значимо не изменялось. При гистологическом изучении семяродного эпителия (таблица 3) у самцов группы негативного контроля отмечено достоверное снижение индекса сперматогенеза на 11,9 % ($p < 0,01$), а также количества сперматогоний на 8,6 % ($p > 0,05$) и числа канальцев с 12-й стадией мейоза на 28,6 % ($p > 0,05$), при этом число канальцев со слущенным эпителием возрастало в 2,13 раза ($p < 0,05$).

В сравнении с группой негативного контроля у самцов, получавших 2-месячным курсом бишофит (таблица 2), выявлялось достоверное увеличение общего количества сперматозоидов более чем в 3,5 раза ($p < 0,01$) и времени их подвижности в 2 раза ($p < 0,05$), что превышало соответствующие показатели у группы интактного контроля. При этом у опытной группы существенных различий с негативным контролем по количеству патологических и неподвижных форм сперматозоидов не зафиксировано. При исследовании состояния семяродного эпителия (таблица 3) у опытной группы крыс-самцов обнаружены отчетливые положительные изменения относительно группы негативного контроля: индекс сперматогенеза повышался на 12,8 % ($p < 0,05$), достигая значений, близких к интактному контролю, с одновременным повышением количества сперматогоний на 18,5 % ($p < 0,05$) и мейотической активности в канальцах на 20 % ($p > 0,05$). При этом число канальцев со слущенным эпителием достоверно снижалось на 46,9 % ($p < 0,05$), что также практически соответствовало данному показателю у интактных самцов.

Таблица 2

Показатели спермиограммы у крыс-самцов с экспериментальной алиментарной гипомagneзиемией после коррекции раствором минерала бишофит ($M \pm m$)

Группа	ОКС, млн	Патологические формы, %	Неподвижные формы, %	Время подвижности, мин	Осмотическая резистентность, % NaCl	Кислотная резистентность, pH
Контроль интактный	45,50 ± 10,32	8,30 ± 0,25	28,5 ± 3,5	378,00 ± 42,00	2,50 ± 0,00	3,40 ± 0,22
Контроль-1 (Диета с низким уровнем магния, 4 месяца)	23,70 ± 4,33	15,00 ± 1,73	33,30 ± 4,41	208,00 ± 30,05	2,20 ± 0,17	3,50 ± 0,19
Стандартизованный раствор бишофита	84,30 ± 6,23**	16,30 ± 1,86	33,30 ± 6,67	420,00 ± 0,00*	2,30 ± 0,17	3,50 ± 0,32

*Изменения достоверны относительно интактного контроля, $p < 0,05$;

**изменения достоверны относительно интактного контроля, $p < 0,01$.

Таблица 3

Коррекция раствором бишофита после диеты без магния морфологических показателей семяродного эпителия крыс-самцов ($M \pm m$)

Показатели	Контроль интактный	Диета	Бишофит
Индекс сперматогенеза (у. е.)	3,40 ± 0,03	3,00 ± 0,06**	3,40 ± 0,01 [#]
Количество сперматогоний	64,40 ± 2,69	58,8 ± 2,2	69,70 ± 1,03 [#]
Число канальцев со слущенным эпителием	5,00 ± 0,58	10,7 ± 1,2*	5,70 ± 0,33 [#]
Число канальцев с 12-й стадией мейоза	2,30 ± 0,33	1,70 ± 0,33	2,00 ± 0,58

*Изменения достоверны относительно интактного контроля, $p < 0,05$;

**изменения достоверны относительно интактного контроля, $p < 0,01$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, из проведенных исследований можно заключить, что содержание крыс-самцов на магниевой дефицитной диете в течение 2 месяцев способствует развитию алиментарной гипомagneзмии средней степени тяжести. Данное состояние негативно сказывается на состоянии семяродного эпителия гонад у крыс-самцов, способствует угнетению сперматогенеза, снижению общего количества сперматозоидов и повышению содержания среди них патологических и неподвижных форм. Полученные результаты согласуются с более ранними исследованиями [1]. В проведенном исследовании показано, что использование на фоне алимен-

тарной гипомagneзмии стандартизированного раствора минерала бишофит 2-месячным курсом в экспериментально доказанной терапевтической дозе 0,01 мл/кг оказывает активизирующее влияние на состояние сперматогенеза (повышает индекс сперматогенеза, улучшает функцию семяродного эпителия, повышает общее количество сперматозоидов), при этом уровень магния в крови крыс-самцов повышается незначительно.

Из проведенных исследований можно предположить наличие эффективности фармакологической коррекции состояния сперматогенеза стандартизированным раствором минерала бишофит при 2-месячном пероральном введении крысам-самцам с алиментарным дефицитом магния.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гетманенко А. Ю., Бугаева Л. И., Спасов А. А., Лебедева С. А., Кузубова Е. А., Мальцев М. С. / Исследование полового поведения и сперматогенеза у крыс-самцов с экспериментальным дефицитом магния // Вестник ВолгГМУ. — 2016. — № 4 (60).
2. Дадак К. Дефицит магния в акушерстве и гинекологии // Акушерство, гинекология и репродукция. — 2013. — № 2. — С. 6—14.
3. 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 ред. В. Н. Сайтаниди. — М.: Колос, 2004. — 520 с.
4. Кошелева Н. Г., Аржанова О. Н., Плужникова Т. А. Невынашивание беременности: этиопатогенез, диагностика, клиника и лечение. — СПб, 2003. — 70 с.
5. 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. — № 1. — С. 15—21.
6. Методические указания по изучению репродуктивной токсичности фармакологических веществ. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. — М., 2005. — С. 87—100.
7. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. — М., 2005.
8. Спасов А. А. Магний в медицинской практике: монография / А. А. Спасов. — Волгоград: ООО «Отрок», 2000. — 272 с.
9. Харитоновна М. В., Сысоев Б. Б., Лебедева С. А., Кравченко М. С., Иежица И. Н., Спасов А. А. Скорость компенсации магниевого дефицита препаратами на основе природного минерала бишофит // Волгоградский научно-медицинский журнал. — 2011. — № 1. — С. 18—20.
10. 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.
11. Bo S., Pisu E. / Role of dietary magnesium in cardiovascular disease prevention, insulin sensitivity and diabetes // Current Opinion in Lipidology. — 2008. Feb — Vol. 19 (1). — P. 50
12. Durlach J. / Chronic fatigue syndrome and chronic primary magnesium deficiency (CFS and CPMD) // Magnesium Res. — 1992. — Vol. 5. — P. 68.
13. Durlach J., Bara M., Guet-Bara A. Magnesium level in drinking water: its importance in cardiovascular risk // Magnesium in Health and Disease. — London, 1989. — P. 173—182
14. Lei Jiang, Pengcheng He, Jiyan Chen, Yong Liu, Dehui Liu, Gengqiang Qin, Ning Tan. Magnesium Levels in Drinking Water and Coronary Heart Disease Mortality Risk // Nutrients. — 2016. — Vol. 8, 5.

REFERENCES

1. Getmanenko A. Ju., Bugaeva L. I., Spasov A. A., Lebedeva S. A., Kuzubova E. A., Mal'cev M. S. / Issledovanie polovogo povedeniya i spermatogeneza u kryss-samcov s jeksperimental'nym deficitom magnija // Vestnik VolgGMU. — 2016. — № 4 (60).
2. Dadak K. Deficit magnija v akusherstve i ginekologii // Akusherstvo, ginekologija i reprodukcija. — 2013. — № 2. — С. 6—14.
3. Kondrahin I. P., Arhipov A. V., Levchenko V. I., Talanov G. A., Frolova L. A., Novikov V. Je. Metody veterinarnoj klinicheskoj laboratornoj diagnostiki: Spravochnik / Pod red. V. N. Sajtanidi. — M.: Kolos, 2004. — 520 c.
4. Kosheleva N. G., Arzhanova O. N., Pluzhnikova T. A. Nevynashivanie beremennosti: jetiopatogenez, diagnostika, klinika i lechenie. — SPb, 2003. — 70 s.
5. Lebedeva S. A., Spasov A. A., Bugaeva L. I., Smirnov A. V., Tolokol'nikov V. A., Bundikova T. M. Vlijanie deficita magnija na povedencheskuju aktivnost', processy fertil'nosti i reproductivnye organy kryss-samok // Mikrojelementy v medicine. — 2016. — № 1. — S. 15—21.
6. Metodicheskie ukazaniya po izucheniju reproductivnoj toksichnosti farmakologicheskikh veshhestv. Rukovodstvo po jeksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju novyh farmakologicheskikh veshhestv. — M., 2005. — S. 87—100.
7. Rukovodstvo po jeksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju novyh farmakologicheskikh veshhestv. — M., 2005.
8. Spasov A. A. Magnij v medicinskoj praktike: monografija / A. A. Spasov. — Volgograd: ООО «Отрок», 2000. — 272 s.
9. Haritonova M. V., Sysuev B. B., Lebedeva S. A., Kravchenko M. S., Iezhica I. N., Spasov A. A. Skorost' kompensacii magnievogo deficita preparatami na osnove prirodnogo minerala bishofit // Volgogradskij nauchno-medicinskij zhurnal. — 2011. — № 1. — S. 18—20.
10. 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.
11. Bo S., Pisu E. / Role of dietary magnesium in cardiovascular disease prevention, insulin sensitivity and diabetes // Current Opinion in Lipidology. — 2008. Feb — Vol. 19 (1). — P. 50
12. Durlach J. / Chronic fatigue syndrome and chronic primary magnesium deficiency (CFS and CPMD) // Magnesium Res. — 1992. — Vol. 5. — P. 68.
13. Durlach J., Bara M., Guet-Bara A. Magnesium level in drinking water: its importance in cardiovascular risk // Magnesium in Health and Disease. — London, 1989. — P. 173—182
14. Lei Jiang, Pengcheng He, Jiyan Chen, Yong Liu, Dehui Liu, Gengqiang Qin, Ning Tan Magnesium Levels in Drinking Water and Coronary Heart Disease Mortality Risk // Nutrients. — 2016. — Vol. 8, 5.

15. Pohlmann U., Schmidt M., Golf S., Graef V., Roka L., Temme H., Riediger H., Neppel H., Baumgaertner B. C. Effects of magnesium on hemostasis in competitive swimmers before and after maximal exercise // Magnesium Bull. — 1990. — Vol. 12. — P. 47—51.

16. Prescott E, Norrgard J, Rotbol-Pedersen L., et al. Fibromyalgia and magnesia // Scand. J. Rheumatol. — 1992. — Vol. 21. — P. 206.

15. Pohlmann U., Schmidt M., Golf S., Graef V., Roka L., Temme H., Riediger H., Neppel H., Baumgaertner B. C. Effects of magnesium on hemostasis in competitive swimmers before and after maximal exercise // Magnesium Bull. — 1990. — Vol. 12. — P. 47—51.

16. Prescott E, Norrgard J, Rotbol-Pedersen L et al. Fibromyalgia and magnesia // Scand. J. Rheumatol. — 1992. — Vol. 21. — R. 206.

Контактная информация

Гетманенко Андрей Юрьевич — старший лаборант НИИ фармакологии, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: dustgod@mail.ru