

**Влияние стресса, вызванного хронической изоляцией,
на генеративную функцию крыс-самцов****Л.И. Бугаева¹, В.В. Багметова¹✉, М.В. Мальцев^{1,2}, А.В. Кузубов¹, Е.Б. Лаврова¹,
Е.А. Кузубова¹, М.Н. Багметов¹**¹ Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия² Волгоградский государственный университет, Волгоград, Россия

Аннотация. В исследованиях на белых беспородных половозрелых крысах-самцах 3,5–4-месячного возраста показано, что стресс, вызванный хронической 2-месячной социальной изоляцией, оказывает негативное влияние на половое поведение и отдельные показатели сперматогенеза. Выявлено, что длительная социальная изоляция угнетает половое поведение крыс-самцов: статистически значимо увеличивается латентный период первого эмоционального подхода исследуемого самца к интактной самке, уменьшается суммарное время эмоциональных подходов, время аногенитального обнюхивания самки и количества актов аллогруминга. При этом хронический изоляционный стресс не оказывает статистически значимого влияния на общее количество сперматозоидов в эякуляте крыс-самцов, но способствует увеличению неподвижных форм сперматозоидов, снижению времени подвижности сперматозоидов и их кислотной резистентности по сравнению с показателями интактных животных.

Ключевые слова: изоляционный стресс, хроническая изоляция, репродукция, половое поведение, сперматогенез, сперматозоиды, спермограмма, крысы-самцы

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации в рамках государственного задания «Влияние новых потенциальных психотропных препаратов с поливалентным типом действия на генеративную функцию крыс-самцов в условиях нормы и экспериментальной патологии» от 17.03.2021 № 121032400175-2.

ORIGINAL RESEARCHES

Original article

doi: <https://doi.org/10.19163/1994-9480-2023-20-2-83-87>**Influence of stress caused by chronic isolation on the reproductive function of male rats****L.I. Bugaeva¹, V.V. Bagmetova¹✉, M.V. Maltsev^{1,2}, A.V. Kuzubov¹, E.B. Lavrova¹,
E.A. Kuzubova¹, M.N. Bagmetov¹**¹ Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia² Volgograd State University, Volgograd, Russia

Abstract. Studies on white outbred 3.5–4-month-old male rats showed that stress caused by chronic 2-month social isolation has a negative impact on reproductive function. A negative effect of long-term social isolation on the sexual behavior of male rats was revealed: a statistically significant increase in the latent period until the first emotional approach to the female, a decrease in the total time of emotional approaches, the time of anogenital sniffing of the female partner, and the number of allogrooming acts. At the same time, chronic isolation stress does not have a statistically significant effect on the total number of spermatozoa in the ejaculate of male rats, but it contributes to an increase in immobile forms, a decrease in the time of spermatozoa motility and their acid resistance compared to intact animals.

Keywords: isolation stress, chronic isolation, reproduction, sexual behavior, spermatogenesis, spermatozoa, spermogram, male rats

Funding. The work was carried out with the financial support of the Ministry of Health of the Russian Federation within the framework of the state task "The effect of new potential psychotropic drugs with a polyvalent type of action on the generative function of male rats under normal and experimental pathology conditions" dated 03/17/2021 No. 121032400175-2.

Социальная изоляция, вызывающая сенсорную депривацию и ограничивающая возможность реализации врожденных и приобретенных паттернов социального поведения, является мощным стресс-фактором как для человека, так и для животных [1, 2, 3, 4]. В литературе встречается много работ, посвященных изучению различных нейрохимических, физиологи-

ческих, морфофункциональных и поведенческих нарушений, вызванных изоляционным стрессом, а также возможности их коррекции [2, 4, 5]. Тем не менее, многие аспекты остаются не в полной мере изученными, в частности влияние хронического изоляционного стресса на процессы репродукции. Нейрофизиологические нарушения, вызванные изоляционным стрессом,

затрагивают не только эмоциональную сферу [1, 2, 5, 6], но и такую сложную форму внутривидового социального поведения, как половое, которое во многом определяет способность к репродукции.

Исследование последствий длительной социальной изоляции имеет существенное прикладное значение. Применительно к человеку изоляционный стресс распространяется на категории лиц, которые находятся в условиях ограниченной социальной среды – в тюрьмах, специнтернатах, поселениях, работающих вахтовым методом на удаленных промышленных объектах и т. п. Применительно к животным, социальная изоляция отмечается у особей, содержащихся вне естественной среды обитания – зоопарках, домашних и других подобных условиях с отсутствием внутривидовых контактов [1, 2]. Кроме того, в клинической картине целого ряда психоневрологических заболеваний доминируют нарушения, а в ряде случаев и утрата межличностных контактов [5]. Актуальности данной проблеме придали пандемия новой коронавирусной инфекции COVID-19, во время которой люди во всем мире были вынуждены находиться в условиях длительной социальной изоляции с целью предупреждения распространения данного заболевания [2, 3, 7]. В современных условиях с неуклонно возрастающим использованием дистанционных технологий, служб доставки, различных виртуальных сервисов, возможностей дистанционной работы и обучения социальная изоляция становится неотъемлемой частью социокультурной среды человека [3, 7]. Важно отметить, что контингент людей, попадающих в социальную изоляцию, включает все больше лиц молодого фертильного возраста. В связи с этим высока актуальность изучения особенностей влияния хронической социальной изоляции на процессы репродукции. Полученные данные могут стать основой для создания подходов к поиску и разработке средств коррекции последствий негативного влияния данного состояния на организм.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение влияния стресса, вызванного хронической социальной изоляцией, на генеративную функцию крыс-самцов.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено в соответствии с ГОСТ Р 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», а также требованиями Директивы 2010/63/еу Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 г по охране животных, используемых в научных целях. Эксперименты проводили на белых нелинейных половозрелых крысах-самцах массой 180–220 г, 3,5–4-месячного возраста, полученных из Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Научный центр биомедицин-

ских технологий Федерального медико-биологического агентства», филиал «Столбовая» (р.п. Столбовая, Московская обл., Россия).

Крысы были разделены на две группы ($n = 12$ в каждой): «животные интактные» и «животные + стресс». Интактные животные размещались в клетках по 5 особей. Животные группы «животные + стресс» содержались в индивидуальных клетках с полной изоляцией от контактов с другими особями в течение 2 месяцев, что соответствует одному полному циклу сперматогенеза [8].

По окончании двухмесячного периода социальной изоляции у крыс-самцов исследовали состояние сперматогенеза и половое поведение.

Для изучения полового поведения использовали установку SexPov (ООО «НПК Открытая Наука», Москва, Россия, изготовленную по заказу ВолгГМУ). Всех крыс-самцов за 1 сутки до эксперимента предварительно адаптировали к экспериментальной площадке в течение 15 мин. Перед началом наблюдений испытуемого самца помещали в установку на 5 мин. Затем в центр установки подсаживали крысу-самку. Предварительно у крысы-самки определялась фаза эстрального цикла. Для эксперимента использовались только эстрирующие самки. Наблюдения за животными вели в течение 1 ч в полной темноте при инфракрасном освещении, дистанционно при помощи инфракрасных камер наблюдения. В ходе наблюдений фиксировались следующие показатели: латентный период половой активности (время от подсадки самки до первого проявления самцом элементов «ухаживания» облизывания, обнюхивания, груминг); длительность половой активности (общий период времени, затраченное самцом на «ухаживание» за самкой и ее покрытий); число «эмоциональных» подходов самца к самке, а также количество покрытий самцом самку [9].

Для оценки сперматогенеза часть самцов (по 6 особей из каждой группы) подвергали эвтаназии методом декапитации с помощью гильотины (ООО «НПК Открытая Наука», Москва, Россия). На вскрытии выделяли семенники и эпидидимисы, которые макроскопически осматривали и взвешивали, определяли коэффициент массы органов. Из эпидидимисов извлекали семенную жидкость и подсчитывали следующие показатели спермограммы: общее количество сперматозоидов (10^6), а также содержание в них неподвижных форм в абсолютных числах и в процентах, также определяли время подвижности сперматозоидов (в минутах) и кислотную резистентность (pH) [9, 10].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакетов программ: Microsoft Office Excel 2007, (Microsoft, USA), Statistica 6,0 (StatSoft, Inc., USA). Для проверки распределения на нормальность использовали критерий Шапиро – Уилка. Статистический анализ данных выполняли

с использованием t-критерия Стьюдента. Статистически значимыми расценивались эффекты при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований полового поведения крыс-самцов, подвергшихся социальной изоляции в течение 2 месяцев, представлены в табл. 1. Так, у крыс-самцов, подвергшихся хроническому изоляционному стрессу, отмечалось статистически значимое в сравнении с показателем интактных животных увеличение латентного периода до первого эмоционального подхода к самке, при этом суммарное время эмоциональных подходов статистически значимо уменьшалось. Количество эмоциональных подходов к самке у самцов, подвергшихся изоляционному стрессу, имело тенденцию к уменьшению по отношению к показателю группы интактных животных, однако различия не были статистически значимы. Аналогичным образом, у изолированных в течение 2 месяцев крыс-самцов прослеживалась тенденция к увеличению садок без интормиссии ($p > 0,05$) и полное отсутствие садок с интормиссией. Помимо этого, у самцов крыс, находившихся в течение 2 месяцев в условиях изоляционного стресса, отмечалось статистически значимое по отношению к показателю интактных самцов уменьшение времени аногенитального обнюхивания самки партнера и количество актов аллогруминга.

Таблица 1

Влияние стресса, вызванного хронической социальной изоляцией, на половое поведение крыс-самцов

Показатели	Животные интактные	Животные + стресс
Латентный период до первого эмоционального подхода к самке, с	22,67 ± 5,21	46,67 ± 1,08*
Время эмоционального подхода, с	406,7 ± 57,0	367,33 ± 17,45*
Количество эмоциональных подходов	33,67 ± 8,95	22,33 ± 11,19
Количество садок без интормиссии	4,33 ± 1,78	5,67 ± 1,47
Количество садок с интормиссией	2,33 ± 0,82	0 ± 0
Аногенитальное обнюхивание, с	21,33 ± 1,82	12,67 ± 1,71*
Аллогруминг, кол-во	8,33 ± 2,86	1,67 ± 1,08*

* Результаты статистически значимы относительно группы «животные интактные» при $p < 0,05$.

Результаты изучения влияния стресса, вызванного хронической 2-месячной социальной изоляцией, на сперматогенез крыс-самцов представлены в табл. 2. Коэффициенты массы гонад и эпидидимусов у стресси-

рованных крыс-самцов имели тенденцию к увеличению по сравнению с показателями интактных самцов, однако различия не были статистически значимы. Общее количество сперматозоидов у самцов крыс, подвергшихся социальной изоляции, практически не отличалось от показателя интактных животных, однако количество неподвижных форм было статистически значимо больше как в абсолютных, так и в относительных значениях. Кроме того, у длительно социально изолированных крыс-самцов регистрировалось статистически значимое по отношению к показателям интактных животных снижение времени подвижности сперматозоидов и их кислотной резистентности.

Таблица 2

Влияние стресса, вызванного хронической социальной изоляцией, на сперматогенез крыс-самцов

Показатели	Животные интактные	Животные + стресс
Коэффициент массы гонад	0,83 ± 0,12	0,95 ± 0,02
Коэффициент массы эпидидимисов	0,24 ± 0,05	0,32 ± 0,01
Общее количество сперматозоидов, 1×10^6	24,80 ± 1,14	21,83 ± 1,95
Общее количество неподвижных форм, 1×10^6	10,67 ± 0,89	19,00 ± 1,06*
Неподвижные формы, %	43,30 ± 5,68	73,70 ± 5,28*
Время подвижности, с	265,0 ± 24,9	203,0 ± 17,9*
Кислотная резистентность (pH)	5,60 ± 0,35	3,40 ± 0,33*

* Результаты статистически значимы относительно группы «животные интактные» при $p < 0,05$.

Таким образом, у самцов крыс, находившихся в условиях длительной социальной изоляции, снижалась активность полового поведения с самкой партнером, что коррелирует с данными о снижении коммуникативного поведения животных изолянтов [1]. Следует отметить, что в показателях спермограммы самцов, подвергшихся длительной социальной изоляции, общее количество сперматозоидов не имело статистически значимых отличий от показателя интактных самцов крыс, однако количество неподвижных форм статистически значимо возрастало, снижалось время их подвижности и кислотная резистентность, что свидетельствует о негативном влиянии стресса, вызванного хронической социальной изоляцией на генеративную функцию. Одним из доминирующих механизмов негативного влияния стресса на физиологические функции организма можно рассматривать активацию перекисного окисления липидов и снижение активности

антиоксидантных ферментов, что могло послужить причиной нарушений сперматогенеза, повреждения мембран сперматозоидов и угнетения их подвижности [5, 6].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, показано, что стресс, вызванный хронической 2-месячной социальной изоляцией, оказывает негативное влияние на генеративную функцию крыс-самцов. Выявлено, что под действием длительной социальной изоляции в половом поведении крыс-самцов: статистически значимо увеличивается латентный период первого эмоционального подхода к самке, уменьшается суммарное время эмоциональных подходов, период времени аногенитального обнюхивания самки партнера и количества актов аллогруминга. При этом хронический изоляционный стресс не оказывает статистически значимого влияния на общее количество сперматозоидов в эякуляте крыс-самцов, но способствует увеличению неподвижных форм, снижению времени подвижности сперматозоидов и их кислотной резистентности по сравнению с показателями интактных животных.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Лебедев А.А., Пшеничная А.Г., Якушина Н.Д. и др. Влияние антагониста рецепторов кортиколиберина астрессина на агрессию и тревожно-фобические состояния у самцов крыс, выращенных в социальной изоляции. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2017;15(3):38–47.
2. Прохвятилов А.Ю. Воздействие относительной социальной изоляции на психическое состояние как социально-психологическая проблема. *Академический журнал*. 2007; 5:103–113.
3. Хасуев А.Э. Социальная изоляция и самоизоляция человека: социально-философский анализ. *Экономические и гуманитарные исследования регионов*. 2020;2:122–128.
4. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Русановский В.В., Стрельцов В.Ф. Поведенческие и нейрохимические последствия социальной изоляции. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2003;2(4):26–44.
5. Ясенявская А.Л., Мурталиева В.Х. «Социальный» стресс как модель оценки эффективности новых стресс-протекторов. *Астраханский медицинский журнал*. 2017; 12(2):23–35.
6. Ясенявская А.Л., Генатуллина Г.Н., Андреева Л.А. и др. Влияние глипролинов на интенсивность перекисного окисления липидов в иммунокомпетентных органах крыс-самцов в условиях информационного стресса. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2022;42(2):51–57.
7. Щербакова А.С., Босов М.С., Борисова О.В. Социально-психологические последствия социальной изоляции населения в период пандемии (COVID-19). *Социальная интеграция и развитие этнокультур в евразийском пространстве*. 2020;3(9):262–265.

8. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.

9. Бугаева Л.И., Кузубова Е.А., Мальцев М.В. и др. Влияние нового производного глутаминовой кислоты (нейроглутам) с антидепрессивной активностью на генеративную функцию крыс-самцов. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2017;80(3):10–13.

10. Бугаева Л.И., Кузубова Е.А., Мальцев М.В. и др. Влияние агониста рецепторов GPR-119 (соединения ZB-16) на сперматогенез и оплодотворяющую функцию крыс-самцов. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2020;3(75):103–106. doi: 10.19163/1994-9480-2020-3(75)-103-106.

REFERENCES

1. Lebedev A.A., Pshenichnaya A.G., Yakushina N.D. et al. Effect of corticoliberin a stressin receptor antagonist on aggression and anxiety-phobic states in male rats raised in social isolation. *Obzory po klinicheskoi farmakologii i lekarstvennoi terapii = Reviews of clinical pharmacology and drug therapy*. 2017;15(3):38–47. (In Russ.).
2. Prokhvatilov A.Yu. The impact of relative social isolation on the mental state as a socio-psychological problem. *Akademicheskii zhurnal = Academic Journal*. 2007;5:103–113. (In Russ.).
3. Khasuev A.E. Social isolation and self-isolation of a person: socio-philosophical analysis. *Ekonomicheskie i humanitarnye issledovaniya regionov = Economic and humanitarian studies of the regions*. 2020;2:122–128. (In Russ.).
4. Shabanov P.D., Lebedev A.A., Rusanovsky V.V., Streltsov V.F. Behavioral and neurochemical consequences of social isolation. *Obzory po klinicheskoi farmakologii i lekarstvennoi terapii = Reviews of clinical pharmacology and drug therapy*. 2003;2(4):26–44. (In Russ.).
5. Ysenyavskaya A.L., Murtaliev V.H. “Social” stress as a model for assessing the effectiveness of new stress protectors. *Astrakhanskii meditsinskii zhurnal = Astrakhan Medical Journal*. 2017;12(2):23–35. (In Russ.).
6. Ysenyavskaya A.L., Genatullina G.N., Andreeva L.A. et al. Effect of gliprolines on the intensity of lipid peroxidation in immunocompetent organs of male rats under informational stress. *Sibirskii nauchnyi meditsinskii zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2022;42(2):51–57. (In Russ.).
7. Shcherbakova A.S., Bosov M.S., Borisova O.V. Socio-psychological consequences of social isolation of the population during a pandemic (COVID-19). *Sotsial'naya integratsiya i razvitie etnokul'tur v evraziiskom prostranstve = Social integration and development of ethnocultures in the Eurasian space*. 2020;3(9):262–265. (In Russ.).
8. Nonclinical Drug Study Guidelines. PART 1. Moscow, Grif and K Publ., 2012. 944 p. (In Russ.).
9. Bugaeva L.I., Kuzubova E.A., Maltsev M.V. et al. Effect of a novel glutamic acid derivative (neuroglutam) with

antidepressant activity on the generative function of male rats. *Экспериментальная и клиническая фармакология = Experimental and Clinical Pharmacology*. 2017;80(3):10–13. (In Russ.).

10. Bugaeva L.I., Kuzubova E.A., Maltsev M.V. et al. The influence of the agonist of receptors GPR-119 (com-

pounds ZB-16) on spermatogenesis and fertilization function of male rats. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta = Journal of Volgograd State Medical University*. 2020;3:103–106. (In Russ.). doi: 10.19163/1994-9480-2020-3(75)-103-106.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Информация об авторах

Любовь Ивановна Бугаева – доктор биологических наук, старший научный сотрудник по специальности «токсикология», заведующая лабораторией токсикологии, Научный центр инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; li_bugaeva@mail.ru

Виктория Владимировна Багметова – доктор медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории синтеза инновационных лекарственных средств отдела синтеза и фармтехнологий, Научный центр инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-4861-0217>, vvbagmetova@gmail.com

Михаил Васильевич Мальцев – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории токсикологии отдела экспериментальной фармакологии и токсикологии, Научный центр инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; m_maltsev_biol@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3205-6493>

Александр Васильевич Кузубов – прикрепленный для подготовки диссертации на соискание ученой степени кандидата наук без освоения программ аспирантуры лаборатории токсикологии отдела экспериментальной фармакологии и токсикологии, Научный центр инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; akuzubov@yandex.ru

Елена Борисовна Лаврова – младший научный сотрудник лаборатории токсикологии отдела экспериментальной фармакологии и токсикологии, Научный центр инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; elena.lavrova34@mail.ru

Багметов Мирослав Николаевич – кандидат медицинских наук, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; miros1@rambler.ru

Статья поступила в редакцию 26.02.2023; одобрена после рецензирования 20.04.2023; принята к публикации 12.05.2023.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Information about the authors

Lyubov I. Bugaeva – Doctor of Biological Sciences, Senior Researcher in the specialty "Toxicology", Head of the Laboratory of Toxicology, Scientific Center for Innovative Medicinal Products with Pilot Production, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; li_bugaeva@mail.ru

Victoria V. Bagmetova – Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Senior Researcher at the Laboratory of Synthesis of Innovative Medicines of the Department of Synthesis and Pharmaceutical Technologies, Research Center for Innovative Medicines with Pilot Production, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; vvbagmetova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4861-0217>

Mikhail V. Maltsev – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of Toxicology of the Department of Experimental Pharmacology and Toxicology, Scientific Center for Innovative Medicines with Pilot Production, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; m_maltsev_biol@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3205-6493>

Kuzubov A. Vasilyevich – attached to prepare a dissertation for the degree of Candidate of Sciences without mastering postgraduate programs of the Laboratory of Toxicology of the Department of Experimental Pharmacology and Toxicology, Scientific Center for Innovative Medicines with Pilot Production, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; akuzubov@yandex.ru

Elena B. Lavrova – Junior Researcher at the Laboratory of Toxicology of the Department of Experimental Pharmacology and Toxicology, Scientific Center for Innovative Medicines with Pilot Production, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; elena.lavrova34@mail.ru

Miroslav N. Bagmetov – Candidate of Medical Sciences, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; miros1@rambler.ru

The article was submitted 26.02.2023; approved after reviewing 20.04.2023; accepted for publication 12.05.2023.