ВЛИЯНИЕ НА СПЕРМАТОГЕНЕЗ КРЫС САМЦОВ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО АДЕНОЗИНА С АНТИДЕПРЕССИВНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

**Л.И. Бугаева, Е.А. Кузубова, М.В. Мальцев, А.А. Озеров,
Т.М. Авилова, Е.Б. Лаврова, А.А. Колмаков**

*ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации*

В экспериментах на крысах при двухмесячном введении нового производного аденозина (вещества адепрофен) в дозах 10 мг/кг (терапевтическая доза, ТД) и 150 мг/кг (15 ТД) установлено отсутствие повреждающего влияния на активность сперматогенеза. Отмечено, что под действием адепрофена в дозе 10 мг/кг у самцов не изменяется индекс сперматогенеза, но при этом повышается количество сперматогоний и число канальцев с 12-й стадией мейоза в гонадах. Одновременно, в семенной жидкости у этих самцов не отмечено изменений в общем количестве сперматозоидов и содержании их патологических форм, тогда как содержание в них неподвижных форм отчетливо снижается. Под действием адепрофена в дозе 150 мг/кг у самцов индекс сперматогенеза не изменяется, повышаются мейотическая активность в канальцах семенников и количество сперматогоний в канальцах. При этом общее количество сперматозоидов в семенной жидкости несущественно снижается, с одновременной тенденцией сокращения в них неподвижных форм сперматозоидов. Полученные экспериментальные данные могут свидетельствовать о положительном влиянии адепрофена на процессы сперматогенеза и функцию семяродного эпителия гонад крыс самцов, что вероятно, может положительно отразиться на фертилизующих свойствах сперматозоидов.

Ключевые слова: адепрофен, производное аденозина, сперматогенез, индекс сперматогенеза.

DOI 10.19163/1994-9480-2019-2(70)-47-50

EFFECT ON SPERMATOGENESIS OF MALE RATS NEW ADENOSINE DERIVATIVE WITH ANTIDEPRESSANT ACTIVITY

**L.I. Bugaeva, E.A. Kuzubova, M.V. Mal'cev, A.A. Ozerov,
T.M. Avilova, E.B. Lavrova, A.A. Kolmakov**

FSBEI HE «Volgograd State Medical University» of Public Health Ministry of the Russian Federation

In experiments on rats with a 2-month administration of a new derivative of adenosine (substance adeprofen) in doses of 10 mg/kg (therapeutic dose, TD) and 150 mg/kg (15 TD), there is no damaging effect on spermatogenesis. It is noted that under the action of adeprofen at a dose of 10 mg/kg in males the index of spermatogenesis does not change, but the number of spermatogonia and the number of tubules from the 12th stage of meiosis in the gonads increase. At the same time, in the seminal fluid in these males, no changes were noted in the total number of spermatozoa and the content of their pathological forms, whereas the content of stationary forms in them is clearly reduced. Under the action of adeprofen at a dose of 150 mg/kg in males, the spermatogenesis index does not change, the meiotic activity in the testicle canaliculi and the number of spermatogonia in the canaliculi increase. At the same time, the total number of spermatozoa in the seminal fluid is insignificantly reduced, with the simultaneous tendency of reduction in them of fixed forms of spermatozoa. The experimental data obtained may indicate a positive effect of adeprofen on spermatogenesis and the function of the gland epithelium of male rats, which probably can have a positive effect on the fertilizing properties of spermatozoa.

Key words: adeprofen, adenosine derivative, spermatogenesis, spermatogenesis index.

Новое производное аденозина – адепрофен (лабораторный шифр ВМА 99-82) с выраженной антидепрессивной и анксиолитической активностями, по степени токсичности относится к классу умеренно-токсичных [1, 2, 5] с широким диапазоном терапевтического индекса. В настоящее время данное вещество активно исследуется фармакологами, рассматривается возможность его последующего внедрения в клиническую практику. Известно, что одним из важнейших негативных последствий в действии антидепрессивных лекарственных средств является их угнетающее влияние на мужскую репродуктивную функцию, где наблюдается снижение фертильности, угнетение сперматогенеза, снижение либидо, нарушение эрекции [4, 9, 10]. С учетом этого в настоящем исследовании сочли целесообразным оценить влияние адепрофена, проявляющего высокую антидепрессивную и анксиолитическую активности [6], на функцию семяродного эпителия гонад.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение влияния адепрофена (при 2-месячном введении и 2-месячной отмены введения) на сперматогенез крыс самцов.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 60 половозрелых лабораторных крысах самцах, доставленных из специализированного питомника РАМН (г. Москва) массой 230–250 г, 4-месячного возраста, содержащихся в стандартных условиях вивария. Исследование проведено в соответствии с рекомендациями «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств» 2012 г. [3]. Перед началом эксперимента крысы самцы были расформированы на 3 равные группы (по 20 особей): 1-я группа самцов была контрольной, которой внутривенно вводили дистиллированную

Таблица 1

Влияние адепрофена на функциональное состояние сперматозоидов и морфологические показатели функционального состояния семяродного эпителия крыс ($M \pm m$)

Показатели	Контрольная группа, дистиллированная вода, 20 мл/кг	Опытная группа 1, 10 мг/кг	Опытная группа 2, 150 мг/кг
<i>Показатели функционального состояния сперматозоидов</i>			
Общее количество сперматозоидов, $1 \cdot 10^6$	23,40 $\pm$ 0,72	22,60 $\pm$ 0,98	21,30 $\pm$ 1,05
Патологические формы, %	21,9 $\pm$ 1,5	20,30 $\pm$ 1,57	20,00 $\pm$ 1,14
Неподвижные формы, %	23,10 $\pm$ 1,04	16,90 $\pm$ 0,77***	17,40 $\pm$ 0,78**
Время подвижности, мин.	210,00 $\pm$ 12,11	189,20 $\pm$ 5,54	182,50 $\pm$ 8,34
<i>Показатели функционального состояния семяродного эпителия</i>			
Индекс сперматогенеза, у. е.	3,30 $\pm$ 0,02	3,30 $\pm$ 0,02	3,30 $\pm$ 0,02
Количество сперматогоний	38,40 $\pm$ 1,35	42,70 $\pm$ 1,39*	41,20 $\pm$ 1,30
Число канальцев со слущенным эпителием	5,70 $\pm$ 0,21	5,00 $\pm$ 0,37	5,50 $\pm$ 0,22
Число канальцев с 12-й стадией мейоза	2,30 $\pm$ 0,21	2,70 $\pm$ 0,21	2,70 $\pm$ 0,21

*Результаты статистически достоверны относительно группы контроля при $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

воду в дозе 20 мл/кг (данный объем использовался для растворения субстанции адепрофена), 2-я и 3-я группы крыс самцов были опытными, которым адепрофен вводили внутривенно в дозах 10 мг/кг (экспериментально доказанная терапевтически эффективная) и 150 мг/кг (превышающая терапевтическую дозу в 15 раз). Длительность курса введения адепрофена самцам составляла 2 месяца, что соответствует одному циклу сперматогенеза [3, 8]. По окончании курса введения субстанции у крыс самцов исследовали спермиограмму и состояние семяродного эпителия, такие же исследования проводили через 2 месяца после отмены введения адепрофена. С этой целью крыс самцов подвергали эвтаназии (методом декапитации) и некропсии [3, 7, 8]. На вскрытии у них выделяли семенники и эпидидимисы. Из эпидидимисов извлекали семенную жидкость (эякулят) [7, 8], а семенники после их гистологической обработки исследовали морфометрически. В семенной жидкости подсчитывали такие показатели спермиограммы, как общее количество сперматозоидов (ОКС) ($1 \cdot 10^6$), содержание в них дегенеративных и неподвижных форм (%), время подвижности (мин). На гистологических препаратах семенников подсчитывали общее количество сперматогоний, число канальцев со слущенным эпителием и 12-й стадией мейоза, рассчитывали индекс сперматогенеза.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Microsoft Excel, о достоверности судили по t-критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам исследований, проведенных на части крыс самцов (контрольной и 2 опытных групп) по окончании 2-месячного курса введения адепрофена выявлено отсутствие повреждающего влияния на показатели сперматогенеза.

Так, из приведенных в табл. 1 данных видно, что у крыс самцов в 1-й опытной группе общее количество сперматозоидов, содержание в них патологических форм и время их подвижности практически не изменялись относительно контрольных величин.

При этом обращает на себя внимание, что относительное количество неподвижных форм сперматозоидов в семенной жидкости у этих самцов снижалось на 26,8 % ($p < 0,001$). У самцов во 2-й опытной группе прослеживалась слабая тенденция снижения общего количества сперматозоидов на 9,0 % ($p > 0,05$) и времени их подвижности на 13,1 % ($p > 0,05$).

Данные эффекты были статистически незначимы и не выходили за рамки физиологической нормы. Также у этих самцов было обнаружено незначительное снижение относительного количества патологических форм сперматозоидов на 8,7 % ($p > 0,05$), и отчетливое сокращение количества неподвижных форм сперматозоидов на 24,6 % ($p < 0,01$).

По результатам морфометрических исследований не отмечено изменений коэффициентов масс гонад у опытных и контрольных животных. При оценке состояния семяродного эпителия на препаратах гонад у крыс самцов, получавших адепрофен, не зафиксировано существенных изменений в индексе сперматогенеза. Вместе с тем, у самцов в 1-й и 2-й опытных группах было отмечено (табл. 1) повышение общего количества сперматогоний на 11,2 ($p < 0,05$) и 7,3 % ($p > 0,05$), соответственно группам, тогда как число канальцев со слущенным эпителием незначительно, но отчетливо снижалось на 12,3 % ($p > 0,05$) у самцов в 1-й опытной группе и не изменялось относительно контроля во 2-й опытной группе, а мейотическая активность в канальцах у самцов 1-й и 2-й опытных групп достоверно, но отчетливо возросла на 17,4 % ($p > 0,05$). Из полученных данных можно предположить наличие мягкого активирующего влияния адепрофена на функцию семяродного эпителия крыс самцов.

В исследованиях, проведенных после 2-месячной отмены (табл. 2), были отмечены отдаленные эффекты воздействия адепрофена на функции семяродного эпителия в гонадах. Наряду с этим выявлялось, что у самцов в 1-й опытной группе общее количество сперматозоидов не различалось с контролем, а время подвижности сперматозоидов несколько повышалось (на 7,8 %, $p > 0,05$). Также у этих самцов наблюдалось снижение относительного количества патологических и неподвижных форм сперматозоидов на 13,0 % ($p < 0,05$) и 10,1 % ($p < 0,05$) соответственно. При исследовании спермиограммы у самцов во 2-й опытной группе зафиксировано статистически незначимое понижение общего количества сперматозоидов (на 7,8 %, $p > 0,05$) и времени их подвижности (на 13,7 %, $p > 0,05$). Однако данные эффекты не выходили за рамки референтных значений. Также у этих самцов было отмечено, что содержание патологических форм сперматозоидов не различались с контролем, тогда как количество неподвижных их форм достоверно снижалось на 9,7 % ($p < 0,05$).

Таблица 2

Влияние адепрофена на функциональное состояние сперматозоидов и морфологические показатели функционального состояния семяродного эпителия крыс после отмены ($M \pm m$)

Показатели	Контрольная группа, дистиллированная вода, 20 мл/кг	Опытная группа 1, 10 мг/кг	Опытная группа 2, 150 мг/кг
Показатели функционального состояния сперматозоидов			
Общее количество сперматозоидов, $1 \cdot 10^6$	26,40 $\pm$ 1,02	27,10 $\pm$ 1,42	24,40 $\pm$ 0,49
Патологические формы, %	22,30 $\pm$ 0,63	19,40 $\pm$ 0,95*	22,80 $\pm$ 0,61
Неподвижные формы, %	23,80 $\pm$ 0,53	21,40 $\pm$ 0,74*	21,50 $\pm$ 0,71*
Время подвижности, мин.	280,00 $\pm$ 11,25	301,70 $\pm$ 8,33	241,70 $\pm$ 16,41
Показатели функционального состояния семяродного эпителия			
Индекс сперматогенеза (у.е.)	3,30 $\pm$ 0,02	3,40 $\pm$ 0,03	3,30 $\pm$ 0,02
Количество сперматогоний	42,10 $\pm$ 0,93	43,10 $\pm$ 1,45	43,90 $\pm$ 1,62
Число канальцев со слущенным эпителием	5,00 $\pm$ 0,26	4,30 $\pm$ 0,33	4,50 $\pm$ 0,34
Число канальцев с 12-й стадией мейоза	2,30 $\pm$ 0,21	2,50 $\pm$ 0,22	2,30 $\pm$ 0,21

*Данные статистически достоверны относительно группы контроля при $p < 0,05$.

В морфометрических исследованиях, проведенных через 2 месяца после отмены введения адепрофена, также не было обнаружено изменений в состоянии семяродного эпителия гонад. Так, в 1-й опытной группе у самцов прослеживалось статистически незначимое повышение индекса сперматогенеза (3,0 %), с одновременным повышением количества канальцев с 12-й стадией мейоза (8,7 %) и снижением числа канальцев со слущенным эпителием (14,0 %). При этом у самцов во 2-й опытной группе индекс сперматогенеза, количество сперматогоний, число канальцев с 12-й стадией мейоза и количество канальцев со слущенным эпителием не различались с контролем.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на основании проведенных исследований можно сделать заключение, что новое производное аденозина (адепрофен) с антидепрессивной и анксиолитической активностями при 2-месячном введении крысам самцам в дозах 10 и 150 мг/кг, не оказывает негативного влияния на процессы сперматогенеза. Отмечено, что под действием не изменяется индекс сперматогенеза, но при этом улучшается функциональное состояние сперматозоидов (снижается содержание патологических и неподвижных форм сперматозоидов) и функция семяродного эпителия гонад (повышается количество сперматогоний и мейотическая активность в канальцах семенников, снижается количество канальцев со слущенным эпителием). С учетом представленных сведений можно также предположить положительное влияние адепрофена на фертилизующие свойства сперматозоидов.

На основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Адепрофен (новое производное аденозина) при 2-месячном курсе введения самцам в дозах 10 и 150 мг/кг не оказывает патологического влияния на процессы сперматогенеза самцов.

2. Адепрофен (новое производное аденозина) при 2-месячном введении крысам самцам в дозах 10 и 150 мг/кг не оказывает влияния на индекс сперматогенеза и общее количество сперматозоидов, снижает содержание патологических и неподвижных форм сперматозоидов.

ЛИТЕРАТУРА

- Березовская И.В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения // Химико-фармацевтический журнал. – 2003. – Т. 37. – № 3. – С. 32–34.
- Бугаева Л.И., Озеров А.А., Денисова Т.Д., Морозова Ю.А., Лебедева С.А. Токсические свойства нового производного нуклеозида при однократном интрагастральном введении половозрелым животным // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2013. – № 4. – С. 101–103.

3. Дурнев А.Д., Смольникова Н.М., Скосырева А.М. и др. Методические рекомендации по изучению репродуктивной токсичности лекарственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (Ч. 1). – М.: Гриф и К, 2012. – С. 80–93.

4. Информационный бюллетень ВОЗ № 369 [Электронный ресурс]. Депрессия, октябрь 2012. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs369/ru/index.html>.

5. Ковалев Д.Г., Бугаева Л.И., Озеров А.А. Изучение уровня безвредности нового производного аденина, проявляющего антидепрессивную активность при однократном введении в максимальных дозах // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2010. – № 4. – С. 15–17.

6. Ковалев Д.Г., Николаенко Н.А. Исследование антидепрессивной активности нового соединения ряда 9-(2-арилоксиэтил)аденина ВМА 99-82 // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2007. – № 4. – С. 50–52.

7. Руководство по андрологии / Под ред. О.Л. Тиктинского. – Л.: Медицина, 1990. – 416 с.

8. Саночкий И.В., Фоменко В.Н. Отдаленные последствия влияния химических соединений на организм. – М.: Медицина, 1979. – 390 с.

9. Саночкий И.В., Фоменко В.И. и др. Методы экспериментального исследования по установлению порогового действия промышленных ядов на генеративную функцию с целью гигиенического нормирования. Методические указания НИИ гигиены, труда и профзаболеваний АМН СССР. – М.: Медицина, 1978. – 24 с.

10. Baldwin D.S., Foong T. Antidepressant drugs and sexual dysfunction // *The British Journal of Psychiatry*. – 2013. – № 202. – P. 396–397.

11. Montejo A., Prieto N., Terleira A., et al. Better sexual acceptability of agomelatine (25 and 50 mg) compared with paroxetine (20 mg) in healthy male volunteers. An 8-week, placebo-controlled study using the PRSEXDQ-SALSEX scale // *Psychopharmacol.* – 2009. – № 24 (1). – P. 111–120.

REFERENCES

1. Berezovskaya I.V. Klassifikatsiya himicheskikh veshchestv po parametram ostroj toksichnosti pri parenteral'nykh sposobakh vvedeniya [Classification of chemicals according to the parameters of acute toxicity with parenteral routes of administration]. *Himiko-farmaceuticheskij zhurnal* [Chemical Pharmaceutical Journal], 2003, Vol. 37, no. 3, pp. 32–34. (In Russ.; abstr. in Engl.).

2. Bugaeva L.I., Ozerov A.A., Denisova T.D., Morozova YU.A., Lebedeva S.A. Toksicheskie svoystva novogo proizvodnogo nukleozida pri odnokratnom intragastral'nom vvedenii polovozrelym zhivotnym [Toxic properties of a new derivative of a nucleoside after a single intragastric administration to mature animals]. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Journal of Volgograd

State Medical University], 2013, no. 4, pp. 101–103. (In Russ.; abstr. in Engl.).

3. Durnev A.D., Smol'nikova N.M., Skosyreva A.M. i dr. Metodicheskie rekomendatsii po izucheniyu reproduktivnoj toksichnosti lekarstvennykh sredstv. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv (CH. 1) [Methodical recommendations on the study of reproductive toxicity of drugs. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs (Part 1)]. Moscow: Grif i K, 2012. P. 80–93.

4. Informacionnyj byulleten' VOZ no. 369 [Elektronnyj resurs]. Depressiya, oktyabr' 2012 [WHO Newsletter No. 369. Depression]. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs369/ru/index.html>.

5. Kovalev D.G., Bugaeva L.I., Ozerov A.A. Izuchenie urovnya bezvrednosti novogo proizvodnogo adenina, proyavlyayushchego antidepressivnuyu aktivnost' pri odnokratnom vvedenii v maksimal'nykh dozakh [Study of the level of safety of a new derivative of adenine, showing antidepressant activity after a single dose in maximum doses]. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Journal of Volgograd State Medical University], 2010, no. 4, pp. 15–17. (In Russ.; abstr. in Engl.).

6. Kovalev D.G., Nikolaenko N.A. Issledovanie antidepressivnoj aktivnosti novogo soedineniya ryada 9-(2-aryloksietil)adenina VMA 99-82 [Investigation of the antidepressant activity of a new compound in the series of 9-(2-aryloxyethyl) adenine BMA 99-82]. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Journal of Volgograd State Medical University], 2007, no. 4, pp. 50–52. (In Russ.; abstr. in Engl.).

7. Rukovodstvo po andrologii [Guide to Andrology]. In O.L. Tiktinskiy (ed.). Leningrad: Medicina, 1990. 416 p.

8. Sanockij I.V., Fomenko V.N. Otdalennye posledstviya vliyaniya himicheskikh soedinenij na organizm [Fomenko Remote effects of chemical compounds on the body]. Moscow: Medicina, 1979. 390 p.

9. Sanockij I.V., Fomenko V.I. i dr. Metody eksperimental'nogo issledovaniya po ustanovleniyu porogovogo dejstviya promyshlennykh yadov na generativnuyu funktsiyu s cel'yu gigienicheskogo normirovaniya [Experimental methods for determining the threshold effect of industrial poisons on the generative function for the purpose of hygienic rationing]. Metodicheskie ukazaniya NII gigieny, truda i profzabolevanij AMN SSSR. Moscow: Medicina, 1978. 24 p.

10. Baldwin D.S., Foong T. Antidepressant drugs and sexual dysfunction. *The British Journal of Psychiatry*, 2013, no. 202, pp. 396–397.

11. Montejo A., Prieto N., Terleira A., et al. Better sexual acceptability of agomelatine (25 and 50 mg) compared with paroxetine (20 mg) in healthy male volunteers. An 8-week, placebo-controlled study using the PRSEXDQ-SALSEX scale. *Psychopharmacol.*, 2009, no. 24 (1), pp. 111–120.

Контактная информация

Бугаева Любовь Ивановна – д. б. н., заместитель директора НИИ фармакологии, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: li_bugaeva@mail.ru