

РЕПРОДУКТИВНАЯ СПОСОБНОСТЬ САМЦОВ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА И СПОСОБЫ ЕЕ КОРРЕКЦИИ

Е.М. Волкова, С.Б. Карат

Полесский государственный университет, Пинск, Беларусь

В настоящее время наблюдается снижение воспроизводительной способности высокопродуктивных животных, одной из главных причин которого является воздействие таких стресс-факторов как нарушение условий кормления, содержания, эксплуатации и т.д. [1].

Несмотря на то, что многие аспекты влияния стресса на организм раскрыты, некоторые вопросы остаются до конца неизученными, в частности реакция организма на воздействие стресс-факторов различного генеза. Особенно это касается самцов, половая потенция и качество спермы которых отражаются на репродуктивной способности самок [2].

Доказано влияние ЭПБ-24 в отношении живых организмов. Это объясняется их структурным сходством со стероидными гормонами животных и насекомых. По последним данным исследований учёных известно, что брассиностероиды приводят к увеличению мышечной массы и физической работоспособности. Данный факт используется при производстве спортивного питания, которое уже принимают спортсмены. Повышает работоспособность, оказывает адаптогенное, иммуномодулирующее, антивирусное действие, а также положительно влияет на липидный обмен.

Предполагается антиканцерогенная и цитотоксическая активность фитогормонов, но пока не изучена на молекулярном уровне. В связи с этим, целью настоящей работы явилось определение морфофункциональных основ и разработка практических приемов коррекции длительного воздействия стресс-факторов на репродуктивную систему самцов лабораторных мышей.

Материалы и методы исследований. Экспериментальные исследования проводили в 2 этапа на базе лаборатории УО «Полесский государственный университет». Нами было сформировано 3 группы лабораторных мышей: Стресс, Стресс + ЭПБ, Контроль.

У животных группы «Стресс» было смоделировано состояние психоэмоционального стресса с помощью метода принудительного плавания по методу Sherwood A. У животных группы «Стресс + ЭПБ» также было смоделировано состояние психоэмоционального стресса, но при этом в воду им ежедневно добавляли ЭПБ 24. Животные третьей группы не находились под воздействием стресса, не употребляли ЭПБ 24 и являлись Контролем.

По результатам исследований сделана оценка репродуктивной способности самцов в условиях стресса и сделаны выводы о влиянии препарата 24-эпибрасинолид на структуру эритроцитов и гормонопозитивную функцию надпочечников и семенников лабораторных мышей в условиях стресса.

В результате проведенных анализов, результаты представлены как среднее арифметическое. Общий математический анализ данных производили по стандартным методам вариационной статистики, с использованием программы статистического анализа данных STATISTIKA 6.0.

Методы исследований:

1. Метод принудительного плавания по Sherwood A. был предложен с целью проверки формирования депрессивноподобного статуса у лабораторных животных. Каждую лабораторную мышь мы помещали в сосуд, заполненный водой до отметки на высоте 30 см, температура воды составляла 24–25°C (Рисунок). Лабораторные мыши опытных групп плавали 1 раз в день в течение 1 недели. Первоначально время однократного плавания составило 5 минут, каждый день оно возрастало на 1 минуту. Общий объем нагрузки составил 56 минут. Спустя 1 неделю после начала опыта животные выводились из эксперимента декапитацией с одновременным отбором проб крови для гематологического, гормонального и органов для гистологического исследований [3].



Рисунок – Принудительное плавание

2. Метод гуманной эвтаназии животных. Для эвтаназии могут быть использованы различные химические, фармакологические средства, не вызывающие беспокойства животных, в т.ч. использование инъекционных фармакологических препаратов, ингаляционных средств и летучих ингаляционных анестетиков.

3. Методика морфологического исследования эритроцитов и гематологических показателей крови. Гематологические показатели крови определяли на анализаторе QBC Autoread Plus.

4. Методика определения концентрации гормонов в сыворотке крови. Набор реагентов ИФА-КОРТИЗОЛ предназначен для количественного определения кортизола в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа на стрипованных полистироловых планшетах.

5. Визуальная микроскопическая оценка спермы. Оценка по густоте, вязкости, определение концентрации спермиев в сперме (подсчет спермиев в камере Горяева).

Обсуждение результатов. В исследованиях предполагалось, что психоэмоциональный и физический стресс будет сопровождаться отклонением от нормы гематологических показателей крови лабораторных мышей; угнетением гормонопозитивной функции (повышением концентрации кортизола); ухудшением качества спермы (снижение концентрации спермиев; двигательной активности).

В качестве способа повышающего устойчивость организма к постоянному воздействию физических стресс-факторов было испытано назначение ЭПБ-24.

В результате исследований нами было установлено, что у животных группы «Стресс», которые находились под воздействием стресса и не употребляли ЭПБ-24, наблюдаются отклонения от нормы следующих показателей: гематокрит, сегментоядерные нейтрофилы, моноциты. Также у одной из мышей была обнаружена плазматическая клетка (табл. 1).

Таблица 1. – Общий анализ крови лабораторных мышей группы «Стресс»

Показатель	Измерения	Норма
Гемоглобин, г/л	112,25 ± 0,95	111 ± 4
Гематокрит, %	36 ± 1,29	28 ± 2
МСНС, %	33,65 ± 0,31	33 ± 2
СОЭ, мм/ч	2	2 ± 0,1
Сегментоядерные нейтрофилы, %	23 ± 3,19	16 ± 1
Лимфоциты, %	63,25 ± 1,18	63 ± 2
Моноциты, %	8,25 ± 0,75	4,7 ± 0,7
Плазматическая клетка	1	Не содержится

У подопытных животных группы «Стресс + ЭПБ» и «Контроль» отклонений от физиологической нормы не выявлено, что подтверждает положительное влияние использования гормона ЭПБ-24 (табл. 2, 3).

Таблица 2. – Общий анализ крови лабораторных мышей группы «Стресс + ЭПБ»

Показатель	Измерения	Норма
Гемоглобин, г/л	113,25 ± 1,03	111 ± 4
Гематокрит, %	28,75 ± 0,25	28 ± 2
МСНС, %	33,70 ± 0,11	33 ± 2
СОЭ, мм/ч	2	2 ± 0,1
Сегментоядерные нейтрофилы, %	16,25 ± 0,25	16 ± 1
Лимфоциты, %	64,25 ± 0,48	63 ± 2
Моноциты, %	4,88 ± 0,06	4,7 ± 0,7
Плазматическая клетка	Не содержится	Не содержится

Результаты исследований на общий анализ крови лабораторных мышей группы «Стресс + ЭПБ» показали, что при использовании гормона ЭПБ-24 все показатели стабилизировались и находились в пределах физиологической нормы (табл. 3).

Таблица 3. – Общий анализ крови лабораторных мышей группы «Контроль»

Показатель	Измерения	Норма
Гемоглобин, г/л	113,75 ± 0,75	111 ± 4
Гематокрит, %	29,50 ± 0,29	28 ± 2
МСНС, %	34,13 ± 0,31	33 ± 2
СОЭ, мм/ч	2	2 ± 0,1
Сегментоядерные нейтрофилы, %	16,50 ± 0,29	16 ± 1
Лимфоциты, %	64,25 ± 0,48	63 ± 2
Моноциты, %	4,95 ± 0,10	4,7 ± 0,7
Плазматическая клетка	Не содержится	Не содержится

Результаты клинического анализа крови лабораторных мышей показали, что длительное воздействие стресс-факторов на организм животных приводит к существенным изменениям состава крови и структуры эритроцитов.

При морфологической оценке эритроцитов установлено, что длительное воздействие психоэмоционального стресса приводит к развитию у лабораторных мышей пойкилоцитоза. У таких животных процентное отношение деформированных эритроцитов возрастает по сравнению с контролем в 1,6 раз.

Таблица 4. – Морфологическая оценка эритроцитов

Показатель	Группы животных		
	Стресс	Стресс + ЭПБ	Контроль
Деформированные эритроциты, %	7,90 ± 0,33	5,39 ± 0,12	4,95 ± 0,10

При этом у животных, подвергнутых стрессу, но которые употребляли ЭПБ-24, данный показатель оказался практически на уровне значений контрольной группы (табл. 4). Обнаруженные отклонения в морфологии эритроцитов могут свидетельствовать как об окислительных нарушениях, так и изменении метаболизма клеточных мембран.

Также нами было проведено количественное определение концентрации кортизола, как маркера интенсивности стрессового воздействия в сыворотке крови лабораторных мышей. Результаты представлены в таблице 5.

Стресс сопровождался закономерным повышением концентрации кортизола. Наибольшее значение концентрации гормона обнаружено в группе лабораторных мышей «Стресс», которые находились под воздействием стресса и не употребляли ЭПБ-24.

Таблица 5. – Концентрация кортизола у подопытных животных

Гормон	Стресс	Стресс + ЭПБ	Контроль
Кортизол	256,75 ± 13,85	96,06 ± 10,64	57,03 ± 0,03

Полученные данные гормонального исследования крови указывают на то, что применение ЭПБ-24 оказывает положительное влияние на эндокринную функцию семенников и надпочечников лабораторных мышей в условиях стресса. Уровень кортизола снижается в 2,7 раза по сравнению с лабораторными мышами, находящимися в условиях психоэмоционального стресса.

Сравнительный анализ качества эякулята лабораторных мышей показал, что морфофункциональные изменения в репродуктивной системе самцов, возникающие в результате длительного воздействия на организм стресс-факторов, возможно корректировать с помощью ЭПБ-24.

Определено, что в сперме самцов группы «Стресс», которые находились под воздействием стресса и не употребляли ЭПБ-24, по сравнению с «Контролем» снижается количество спермиев в 2,1 раза, подвижность спермиев – в 1,2 раза (табл. 6).

Таблица 6. – Морфологические показатели спермы животных

Характеристики	Стресс	Стресс + ЭПБ	Контроль
Густота	Редкая	Густая	Густая
Количество спермиев, млн.	260,75 ± 1,84	453,50 ± 5,24	541,00 ± 5,12
Подвижность, %	59,28 ± 0,24	70,43 ± 0,17	71,45 ± 0,41
Вязкость, см	0,5	0,5	0,5

Полученные данные свидетельствуют о том, что под влиянием психоэмоциональных и физических стресс-факторов ухудшается качество спермы самцов и, вследствие, снижается репродуктивная способность. Применение ЭПБ является высокоэффективным селективным методом улучшения качества эякулята, сниженного в результате длительного воздействия стресс-факторов на организм самцов, о чем свидетельствуют полученные результаты.

Выводы:

1. Психоэмоциональный стресс оказывает существенное влияние на организм самцов, которое проявляется угнетением воспроизводительной способности.

2. Гематологический анализ крови показал, что стресс отрицательно влияет на организм лабораторных мышей. У подопытных животных группы «Стресс», которые находились под воздействием стресса и не употребляли ЭПБ-24, были выявлены отклонения по многим показателям. А у подопытных животных группы «Стресс + ЭПБ», которые находились под воздействием стресса и употребляли ЭПБ-24, не выявлены отклонения от физиологической нормы, что подтверждает положительное влияние использования гормона ЭПБ-24.

3. Длительное воздействие психоэмоционального стресса приводит к развитию у лабораторных мышей пойкилоцитоза. У таких животных процентное отношение деформированных эритроцитов возрастает по сравнению с контролем в 1,6 раз. При этом у животных, подвергнутых стрессу, но которые употребляли ЭПБ-24, данный показатель оказался практически на уровне значений контрольной группы.

4. Морфологические изменения надпочечников и половых желез у подопытных животных группы «Стресс» приводят к увеличению концентрации кортизола в 4,6 раза по сравнению с Контролем.

5. В условиях длительного воздействия стресс-факторов на организм самцов ухудшается качество их спермы: снижается концентрация спермиев в 2,1 раза; двигательная активность в 1,2 раза.

6. Применение ЭПБ-24 нормализует гормонопозитивную функцию надпочечников и семенников лабораторных мышей, находящихся в состоянии психоэмоционального стресса: концентрация гормона кортизол снижается в 2,7 раза.

7. Применение ЭПБ-24 является новым эффективным способом улучшения качественных показателей спермы, полученной от самцов, находящихся в условиях постоянного воздействия стресс-факторов. Его применение положительно влияет на количество спермиев, а также позволяет уменьшить число неподвижных спермиев на 9-10 %.

В связи с этим, для профилактики нарушения воспроизводительной способности самцов, находящихся в условиях постоянного воздействия стресса, эффективным является введение в рацион раствора гормона ЭПБ-24 в концентрации 0,002 г/л каждый день в течение 1 недели.

Список использованных источников

1. Козло, Н.Е. Воспроизводство животных / Н.Е. Козло. – М.: КолосС, 1984. – 287 с.
2. Подсеваткин, В.Г. Динамика поведенческих реакций и уровня кортизола у мышей под влиянием комбинированного применения мексидола, диазепамы, тимогена и гипербарической оксигенации в условиях иммобилизационного стресса / В.Г. Подсеваткин [и др.]; под общ. Ред. В.Г. Подсеваткин. – Саранск, 2008. – Т. 71. – № 1. – С. 22-25.
3. Sherwood, A. Physiological determinants of hyperreactivity to stress in borderline hypertension / A. Sherwood, A.L. Hinderliter, K.C. Light // Hypertension. – 1995. – 25(3). – P.384-390.