

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА X1 В АКТИВАЦИИ ПОЛОВОЙ ФУНКЦИИ У ИНТАКТНЫХ САМЦОВ КРЫС

*¹Учитель М.Л., ¹Маевский Е.И.; ²Байрамов А.А., ^{2,3}Шабанов П.Д., ⁴Трунин Р.А.,
¹Гришина Е.В., ¹Богданова Л.А., ¹Закаров А.М., ¹Гусейнов Г.Р.*

¹Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино;

²Федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, г.Санкт-Петербург, ³Военно-медицинская академия им. С.М.Кирова, г.Санкт-Петербург; ⁴ООО «Экомедсервис», г.Тула. eim11@mail.ru

РЕЗЮМЕ:

Препарат X₁, полученный на основе естественных метаболитов – субстратов энергетического и пластического обмена, способствует активации половой функции у интактных самцов крыс в хроническом опыте. Анализ показал, что в механизме действия препарата X₁ включает его влияние на динамику ряда нейрональных и эндокринных факторов, регулирующих половую функцию самцов крыс на центральном мотивационном уровне (либидо) и периферическом копуляторном уровне (эякуляция). В хроническом опыте обнаружено усиление дофаминергической активности в структурах лимбической системы головного мозга, которая способствует реализации половой функции у интактных самцов крыс. Испытанный препарат X₁ вызывает не значимое повышение содержания основного андрогена – тестостерона у интактных самцов крыс.

Ключевые слова: половая функция самцов крыс, нейромедиаторные системы, дофамин, тестостерон.

STUDY THE EFFECTIVENESS OF X1 IN ACTIVATION SEXUAL FUNCTION IN INTACT MALE RATS

*¹UCHITEL ML, ¹MAEVSKY EI, ²BAYRAMOV AA, ^{2,3}SHABANOV PD, ⁴TRUNIN RA,
¹GRISHINA EV, ¹BOGDANOVA LA, ¹ZAKAROV AM, ¹GUSEYNOV GR*

¹Institute of theoretical and experimental biophysics, Pushchino; ²Almazov Federal Medical Research Center, ST. PETERSBURG, ³Military Medical Academy, St. Petersburg; ⁴LTD "Ekomedservis" Tula. eim11@mail.ru

Drug X₁ was prepared on the basis of natural metabolites - substrates of energy and plastic metabolism. It promotes activation of sexual function in intact male rats in chronic experiments. Analysis has showed that the mechanism of drug X₁ action includes its effect on the dynamics of a number of neuronal and endocrine factors which regulate sexual function of male rats at the central level by changing a motivational (libido), and at the peripheral copulative level (ejaculation). In chronic experiments it has revealed an increased dopaminergic synaptic activities in the structures of the limbic system, which contribute to the realization of sexual function in intact male rats. The tested drug X₁ contributes to the realization of sexual function in examined animals due to a slight increase in the content of the main androgen - testosterone in intact male rats.

Key words: sexual function of male rats, neurotransmitter systems, dopamine, testosterone.

ВВЕДЕНИЕ

Еще лет 40-50 тому назад необходимость поддержания половой активности у практически здоровых особей мужского пола могла бы вызвать недоумение. Но, к сожалению, за прошедшие годы условия существования населения изменились не в лучшую сторону. Ухудшение экологической обстановки в целом, смещение социальных ценностей, падение интереса к созданию семьи – поистине основной ячейки общества в угоду конъюнктурным, деловым и финансовым интересам, на фоне постоянного психо-эмоционального стресса, вызванного нарастающей социальной и финансовой неопределенностью, не способствовали улучшению здоровья населения и привели к тому, что, казалось бы, абсолютно здоровые мужчины невольно и болезненно для себя утрачивают восприятие женщины как объекта, достойного любви и совместной семейного жизни. Именно поэтому возникла актуальная проблема не увеличения наработки и повышения у здоровых особей , вроде бы, нормального уровня мужских половых гормонов, способствующих увеличению копулятивной активности, а мягкого не гормонального воздействия на центральные механизмы регуляции полового поведения, обеспечивающие увеличение остроты и свежести гендерного восприятия мужчин и появлению конструктивного отношения к «рецептивным» особям женского пола. Современная эндокринология и фармакология со времен В.М.Дильмана [Dilman, Ostroumova, 1984] свидетельствуют, что подобным воздействием может быть регуляторная метаболической терапии, которая, наконец-то, находит официальное признание во многих странах. В этом направлении и было выполнено представленное исследование.

Половая функция является важнейшим компонентом репродуктивной системы организма. В последние десятилетия в развитых странах мира частота половых расстройств у мужчин неуклонно повышается. Как стало ясно, репродуктивная способность организма подвержена повреждающему влиянию различных факторов: от наследственности до стресса. Ее составная часть - половая функция является сложным интегративным процессом, контролируемым и осуществляемым центральными мотивационными и периферическими копуляторными механизмами, которые координируются на разных уровнях с вовлечением нейрональных структур, нейромедиаторных и нейроэндокринных систем. В ЦНС процесс реализации полового поведения (ПП) находится под значительным влиянием центральных нейротрансмиттеров, которые в свою очередь играют ведущую роль в центральном контроле функций гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы [Bitran, Hull, 1987; Mas, Rodriguez, Guerra et al., 1987; Retana-Marquez, Salazar, Velazquez-Moctezuma, 1993; Hull, Meise, Sachs, 2002]. Центральные регуляторные механизмы ПП в значительной степени обеспечиваются нейрональными процессами преоптической зоны гипоталамуса, которые активируются различными нейромедиаторными системами – дофамин (ДА), ацетилхолин (АХ), серотонин (5-НТ), норадреналин (НА) (Bitran, Hull, 1987; Dorner, 1989; Гладкова, 1999; Gladkova, 2000). Эндогенное или под воздействием внешних факторов изменение активности нейромедиаторов (в частности, при синтезе их фармакологических производных) модифицирует половую функцию самцов.

У здоровых индивидов нормальная половая функция весьма стабильна в отношении действия активирующих факторов даже таких, как искусственное воздействие дофамином и тестостероном (Тс). Наряду с этим наличие необходимого и достаточного уровня Тс является абсолютным условием для проявления половой активности. У здоровых мужчин этот уровень составляет более 4,0 нмоль/л. Однако в пределах нормальных физиологических колебаний не наблюдается жесткой корреляция между частотой половых контактов, эротическими интересами и содержанием Тс (Cox, Oakes, 1984). Напротив, при сниженном уровне Тс, как правило, одновременно регистрируются уменьшение потенции и продолжительность копулятивной дисфункции, и это коррелирует с пониженным уровнем Тс (Davidson, 1969; Salmimies, Kockott, Pirke et al. 1982; Коган Л.А., 1985).

Несмотря на наличие большого спектра лекарств, применяемых в медицинской практике для усиления половой функции, непреходящую актуальность имеет создание препаратов, приближающихся по своему составу и действию к естественным влияниям со стороны регуляторных систем организма. При этом важным фактором является обеспечение достаточно широких показаний (по возрасту и по нозологиям) для применения новых препаратов, что возможно лишь в том случае, если они оказывают комплексное

действие на все основные компоненты половой функции: центральные и периферические, медиаторные и нейроэндокринные, и не обладают выраженными побочными эффектами.

Указанные предпосылки были заложены в основу разработки препарата X₁ на основе природных метаболитов (совместная разработка ИТЭБ РАН, ООО «ЭкоМедСервис», Ltd. Lunada). Целью настоящего исследования явилось изучение возможной эффективности препарата X₁ в активации половой функции интактных самцов крыс в остром и хроническом опытах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на интактных самцах крыс линии Вистар 4-х месячного возраста, весом 180-200 г, с «приобретенным половым опытом», индексом эякуляции от 2,0 до 2,4 единиц, измеренным в течение 15 минутного теста по итогам 3-х тестирований. Животных разделили на 3 группы: контрольную и две опытные (для острого опыта с однократным введением препарата X₁ в средней дозе порядка 80 мг на кг массы тела и для хронического опыта при 10-кратном введении средней дозы препарата X₁ в течение десяти дней). Отдаленные эффекты исследовали на 5-й 10-й, 20-й день после последней инъекции препарата X₁.

Эффективность действия препарата X₁ оценивали по поведенческим реакциям и лабораторно-биохимическими методами. «Половое поведение» (ПП) оценивали по Agmo, Picker (1990), в том числе: половую активность, мотивацию и эякуляторное поведение. В крови определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) содержание тестостерона - Тс, дигидротестостерона - ДГТ, прогестерона, эстрадиола, трийодтиронина - Т3 и тироксина - Т4. В структурах мозга методом высоко эффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) анализировали уровень нейромедиаторов: дофамина - ДА, норадреналина - НА, серотонина - 5-ГТ и их метаболитов: соответственно – 3,4-дигидроксифенилуксусной кислоты (ДОФУК), 3-метокси-4-гидроксифенилгликоля (МГФГ), 5-гидроксииндолуксусной кислоты (ГИУК), имеющих следующую последовательность метаболических превращений (рис.1)



Рис. 1 Схема метаболизма тирозина до норадреналина в головном мозгу. Пунктирными стрелками показано образование метаболитов нейромедиаторов. Определяемые субстанции выделены подчеркиванием.

Примечание: 1- в дофаминергических нейронах лимбической системы из substantia nigra отсутствуют дофамин-бета-гидроксилаза, фермент дальнейшего превращения дофамина, и именно он является конечным продуктом превращения тирозина в пресинаптической части дофаминергического синапса; 2. другие норадренергические нейроны из locus coeruleus содержат дофамин-бета-гидроксилазу (кофакторы - медь, аскорбиновая кислота и кислород), которая превращает дофамин в норадреналин.

1. Поведенческий тест «Половое поведение». Параметры половой активности у самцов крыс определяли с использованием модели «индуцированной рецептивности» самок. Самок крыс предварительно подвергали двухсторонней овариоэктомии. Затем искусственным у них вызывали эструс путем введения масляного раствора эстрадиола (50 мкг/животное) за 48 ч до тестирования и прогестерона (500 мкг/животное) п/к за 4 ч до тестирования (De Jonge, Eerland, van de Poll, 1986; Albonetti ME, Farabollini F. 1993). Через 4 часа после инъекции прогестерона у самок наступала фаза эструса-проэструса. Для корректного проведения эксперимента одна и та же группа овариоэктомизированных самок использовалась в опыте не чаще, чем один раз в 4 дня, поскольку естественный цикл эструс-диэструс у самок крыс завершается за 4 дня.

Двусторонняя овариоэктомия. Наркотизированных эфиром животных фиксировали на животе. Шерсть на спинке от тазовой области до реберной дуги выстригали, кожу обработали спиртом. Затем делали продольный разрез длиной 1,5-2 см по средней линии спины. Смещая разрез поочередно налево и направо, делали прокол в задней части брюшной полости. Находили рог матки, выводили его через прокол наружу, яичник отсекали электрокаутером от рога матки. Аналогичным образом удаляли второй яичник. Проколы брюшины и надрез спины обрабатывали стрептоцидом. Спинной разрез ушивали, обрабатывали 5% йодной настойкой. После операции животных помещали в чистую клетку. В течение первых 4-5 дней ежедневно рану обрабатывали дезинфицирующими средствами. Заживление раны происходило за 8-10 дней. В эксперимент брали самок через 3-4 недели после операции.

Тест «Половое поведение». Молодых половозрелых самцов крыс линии Вистар закупают в питомнике Рапполово. Поскольку крысы ведут активную жизнь во второй половине дня и в темное время суток, опыты проводили между 14.00 и 17.00 часами в темном помещении при тусклом красном освещении. Молодые неопытные самцы

приобретали половой опыт в 4-х последовательных тестах «Полового поведения» с рецептивными самками. Выборка среди самцов с «приобретенным половым опытом» осуществлялась по критерию «индекса эякуляции» в пределах более 2,0 и менее 2,4 единиц в процессе 15 минутного тестирования. Животным контрольной группы вводился изотонический раствор хлорида натрия. Параметры ПП регистрировали в испытательной камере из прозрачного плексигласа размером 40х40х30 см при предъявлении сексуально восприимчивой самки за 5 мин до основного опыта для определения исходных параметров половой активности. Затем ПП оценивали в период проведения курсов плацебо или препарата Х₁. Проявление рецептивности у самок определяли непосредственно перед тестом по наличию лордозной реакции.

Методика оценки параметров половой функции основана на визуальной регистрации половой активности самцов. Копуляторные компоненты и их временные параметры регистрировали за первую сессию до 1-ой эякуляции и за весь период тестирования. Фиксировали латентные периоды и число садок (ЛПС и САД соответственно), латентные периоды и количество интромиссий (ЛПИ и ИМС) и эякуляций (ЛПЭ и ЭЯК). Рассчитывали «период восстановления» (ПВ) – временной промежуток между первой эякуляцией до следующей интромиссии и межэякуляторный интервал (МЭИ) – время между первой и второй эякуляторной сессиями.

2. Биохимический анализ крови. ИФА выполняли с использованием тест-наборов «АлкорБИО» (Россия) согласно прилагаемой инструкции, с предварительной раститровкой всех наборов и подбором оптимального разведения сывороток крови крыс, с тестом на удвоение и тестом внутреннего стандарта для каждого набора. Вид и количество соответствующего гормона из исследуемой сыворотки или калибровочной пробы определяли путем связывания с первичными моноклональными антителами к данному гормону. Первичные моноклональные антитела наносили на поверхность лунки. С первичными моноклональными антителами реагируют вторые моноклональные антитела к гормону, конъюгированные с пероксидазой хрена. В результате образуется комплекс по типу «сэндвич». Количество связанного гормона определяли с помощью цветной реакции с хромогенным субстратом. Интенсивность окраски, пропорциональную концентрации определяемого гормона в образце, регистрировали с помощью многоканального планшетного спектрофотометра «Униплан» (Россия) при длине волны 450 нм.

3. Анализ нейромедиаторов в структурах мозга выполняли методом ВЭЖХ с помощью хроматографа “Beckman System Gold” с электрохимическим детектором LC-4C. Сразу после декапитации мозг замораживали в жидком азоте, затем препарировали в криостате при –20°C и выделяли необходимые структур. Полученные тканевые препараты

хранили в жидком азоте до хроматографического анализа. Концентрацию ДА, НА, 5-ГТ и их метаболитов: соответственно ДОФУК), МГФГ, ГИУК определяли в структурах, участвующих в реализации поведенческой половой реакции: в гиппокампе, миндалевидном ядре и в гипоталамусе. Выделенные структуры гомогенизировали в охлажденной 0,1 N хлорной кислоте. Гомогенат центрифугировали при 14000 g в течение 7 минут при 4°C. Слой супернатанта фильтровали через 0,20-мм Millipore фильтр. Затем 20 мкл супернатанта вводили в систему HPLC-ED.

Аналитическая процедура. Система ЖХВД включала насос System Gold с контроллером CL-6A, инжектор Rheodyne 9125 с петлей 20 мкл и проводящие капилляры, выполненные из материала PEEK. Пики, характерные для определяемых веществ, разделяли с помощью хроматографической колонки SphereClone 5μ ODS 2 (250x4,60 mm) с предколонкой SecurityGuard (ODS 4mm L x 3,0mm ID) производства "Phenomenex", упакованной 5 мкм обращенно-фазовым сорбентом ODS 2 (C-18). Электрохимический детектор работал при 0,5-мкА с карбоновым электродом, имеющим рабочие стеклоуглеродные пластины диаметром 3 мм, в последовательном включении по отношению к потоку элюента. Потенциалы верхнего и нижнего по течению элюента электродов устанавливали соответственно +0,5 V и +0,02 V относительно референтного электрода Ag/AgCl. В качестве потенциостатов и усилителей тока использовали контроллеры LC-4C (BAS). Подвижная фаза состояла из 0,1 моль одноосновного фосфата натрия, 0,1 моль лимонной кислоты (производства Fisher Scientific, США), 80 мг EDTA (Aldrich, США), ацетонитрила высокой очистки (88 мл/л) и 50 мг октилсульфоната натрия (Sigma, США) на 1 литр; pH подвижной фазы доводили до 4,0 при помощи 6M NaOH. Подвижную фазу фильтровали через нейлоновые фильтры 0,2 мкм и дегазировали вакуумом. Скорость прокачивания элюента составляла 0,75-1,0 мл/мин. Высокая чувствительность электрохимического детектора достигалась за счет использования тонких электродных прокладок (16 мкм, BAS), что позволяло уменьшить фоновый ток второго по течению (измерительного) электрода, до значений 0,2-0,4 наноампер. Сквозная чувствительность системы была определена на уровне 0,2 пикограмм медиатора в 20 мкл образца (отношение сигнал/шум не хуже, чем 2:1).

Аналитическое время «пробега» пробы в хроматографической колонке вместе с элюентом составляло 18 минут в изократическом режиме при скорости 1.0 мл/мин. Хроматографические пики идентифицировали, чистоту и количество субстанции оценивали, сравнивая с пиками, полученными от внешних стандартов. Для оценки оборота ДА, НА, и 5-ГТ в структурах мозга рассчитывали отношения ДОФУК к ДА, МГФГ к НА и 5-ГИУК к 5-ГТ.

Статистика. Полученные данные обрабатывали методами параметрической статистики.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Влияние препарата X_1 на параметры полового функции интактных самцов крыс.

Особенности половой функции изучали у интактных самцов крыс, выращенных в однополых и одновозрастных сообществах, содержавшихся в полной внутривидовой изоляции с 3-месячного возраста. Компоненты полового поведения (ПП) животных определяли в 2-х последовательных опытах после воздействия препаратом X_1 .

1.1. Острый опыт. Однократное введение препарата X_1 вызывало изменение некоторых компонентов половой функции (ПФ) (табл. 1): отмечалось уменьшение копуляторных параметров (числа садок и интромиссий) и сокращение латентного периода эякуляции.

Таблица 1

Влияние однократной инъекции препарата X_1 (**80 мг/кг**) на параметры полового поведения ($M \pm m$) у интактных самцов крыс (**n=8**). **Острый опыт.**

Параметры половой функции	Садки (n)	Латентный период садок (сек)	Интромиссии (n)	Латентный период интромиссий (сек)	Эякуляции (n)	Латентный период эякуляции (сек)	Межэякуляторный интервал (сек)	Период восстановления (сек)
Контроль	2 6,8 $\pm 1,29$	2 3,4 $\pm 7,28$	1 0,4 $\pm 7,34$	3 ,13 $\pm 0,13$	2 23,3 $\pm 48,7$	3 09,6 $\pm 53,2$	6 86,5 $\pm 39,6$	3

Препарат X ₁	2	1	1	2	2	2	5	4
Острые опыты	0,9	4,9	4,1	9,8	,00	02,4	77,3	16,0
	±0,79	±6,56	±0,95	±10,4	±0,00	±28,0	±36,4	±54,4
p ≤	0	0	0	0	0	0	0	0
	,05*	,401	,05*	,961	,334	,06	,623	,668

Уровень значимости различий при сравнении с контролем – p; *значимые отличия с учетом поправки Бонферони, повышающей величину p.

В латентном времени садки наблюдается заметная тенденция к сокращению (более 63%). Этот сдвиг может отражать некоторую активацию центральных мотивационных механизмов половой функции у интактных самцов (Agmo, 1997; Pfau, 1999; Hull, Meisel, Sachs, 2002; Hull, Dominguez, 2007).

1.2. Хронический 10-дневный опыт введения препарата X₁ интактным самцам.

В хроническом опыте, начиная с 7-ого дня, отмечалось значимое усиление мотивации ПП, о чем свидетельствует сокращение латентного периода садки и интродукции (табл.2). Эякуляторный компонент и его временные характеристики менялись незначительно, но вектор сдвигов свидетельствует об активации ПФ. Наиболее выраженное усиление ПП наблюдалось на 7-й день опыта: временные характеристики садки и интродукции сокращались в 3-4 раза по отношению к контролю. На фоне незначительного повышения числа эякуляций заметна тенденция к снижению латентного времени эякуляции (на 31,5%). Дальнейшее введение препарата не закрепляло достигнутый уровень, наоборот, отмечено некоторое падение темпа активации упомянутых компонентов половой функции.

Следовательно, в хроническом опыте у интактных крыс самцов динамика временных показателей ПП характеризуется неустойчивым повышением половой функции, в большей степени, по-видимому, за счет его центральных мотивационных компонентов и активации спинального нервного центра, регулирующего время наступления эякуляции.

Таблица 2

Влияние 10-кратной инъекции препарата X₁ (80 мг/кг) на параметры полового поведения у интактных самцов крыс (n=8). Хронический опыт. (M±m). Измерение выполнено на 11 сутки (через сутки после окончания курса введения препарата).

Параметры половой функции	Садки (n)	Латентный период садок (сек)	Интромиссии (n)	Латентный период интро-миссий (сек)	Эякуляции (n)	Латентный эякуляционный период (сек)	Межэякуляторный интервал (сек)	Период восстановления (сек)
Контроль	2 6,8 ±1,29	2 3,4 ±7,28	1 7,8 ±1,08	3 0,4 ±7,34	2 ,13 ±0,13	3 23,3 ±48,7	6 09,6 ±53,2	3 86,5 ±39,6
7-й день опыта	2 5,8 ±2,03	5 ,63 ±0,73	1 7,1 ±1,43	1 0,6 ±1,55	2 ,38 ±0,18	2 26,1 ±52,1	5 09,6 ±34,4	3 56,4 ±21,6
p ≤	0 ,684	0 ,050*	0 ,733	0 ,038*	0 ,278	0 ,195	0 ,137	0 ,5153
10-й день опыта	2 6,9 ±4,35	7 ,63 ±2,04	1 6,6 ±2,20	1 6,8 ±4,23	2 ,25 ±0,16	3 00,4 ±65,6	5 25,1 ±37,1	3 70,6 ±15,4
p ≤	0 ,978	0 ,1	0 ,654	0 ,130	0 ,554	0 ,784	0 ,214	0 ,715
11-й день опыта	2 3,9 ±1,33	1 0,4 ±3,17	1 5,3 ±1,19	1 5,1 ±4,67	2 ,25 ±0,16	2 21,5 ±24,7	5 28,3 ±20,4	3 82,8 ±20,6
p ≤	0 ,143	0 ,124	0 ,143	0 ,102	0 ,662	0 ,087	0 ,274	0 ,627

Значимость различий по сравнению с контролем –p.* значимые отличия с учетом поправки Бонферони, повышающей величину p.

1.3. Отдаленное последствие хронического введения препарата X1.

На 5-ые сутки после окончания хронического опыта отмечено значительное сокращение латентного времени САД и ИНТ по сравнению с последним днем хронического опыта. Это охарактеризует наличие отсроченного отдаленного эффекта после хронического воздействия препарата (табл.3). Подобным образом, но в меньшей степени изменялись эякуляторные параметры: повышался индекс ЭЯК на 11,1%, сокращался

латентный период ЭЯК на 30,3% и межэякуляторного интервала на 13,7%. При этом было отмечено на 5-е сутки после окончания курса препарата временное уменьшение числа интромиссий на фоне повышенного уровня «притязаний» - сокращения латентного периода интромиссий. Повышенная активность ПП проявлялась в виде сокращения латентного времени интромиссий на 10-й день после окончания хронического опыта. Количественные и временные критерии копуляторного и эякуляторного компонентов ПП были явно лучше, чем в последний день хронического опыта (сравните с данными табл.2).

Таблица 3

Отдаленное действие препарата X¹ (80 мг/кг) на параметры полового поведения у интактных самцов крыс (n=8) после 10-дневного введения препарата X¹. (M±m)

Параметры половой функции	группы	Период восстановления (сек)							
		Садки (n)	Латентный период садок (сек)	Интромиссии (n)	Латентный период интро-миссий (сек)	Эякуляции (n)	Латентный период эякуляций (сек)	Межэякуляторный интервал (сек)	
Контроль	2	2	1	3	2	3	6	3	
	6,8 ±1,29	3,4 ±7,28	7,8 ±1,08	0,4 ±7,34	,13 ±0,13	23,3 ±48,7	09,6 ±53,2	86,5 ±39,6	
5-й день - последствие	2	4	1	8	2	2	4	3	
	2,8 ±1,78	,38 ±0,56	4,8 ±0,73	,63 ±0,98	,50 ±0,19	09,8 ±42,5	53,1 ±36,0	32,5 ±22,5	
p ≤	0,091	0,042*	0,074	0,022*	,120	,101	,058	,256	
10-й день - последствие	2	6	1	9	2	2	4	3	
	5,3 ±2,72	,00 ±0,76	7,8 ±2,02	,75 ±1,52	,50 ±0,19	33,1 ±26,1	71,1 ±30,1	38,8 ±22,4	
p ≤	0,627	0,074	0,00	0,032*	,120	,125	,080	,312	

Значимость различий при сравнении с контролем- р; * значимые отличия с учетом поправки Бонферони, повышающей величину р.

По-видимому, имеет место отсроченное воздействие после 10-ти дневного курса введения препарата X_1 . Не исключено, что этот эффект связан с запуском геномных механизмов синтеза, стимулирующих факторов в организме, поддерживающих половую функцию, а также активацией нейрональных механизмов в структурах мозга, особенно в лимбической системе и гипоталамусе.

Таким образом, однократная инъекция препарата X_1 в остром опыте у интактных самцов крыс способствовала появлению тенденции к изменению половой функции, проявляющейся в сдвиге параметров центрального мотивационного компонента половой функции. Активация ПП в течение 10-дневного введения препарата X_1 интактным самцам имела преходящий характер (на 7-е сутки) и отражала, скорее всего, сдвиги в центральных мотивационных компонентах и в функционировании спинального нервного центра, регулирующего время наступления эякуляции. В периоде «последствия» через 5 и 10 дней после окончания курса препарата обнаружено отсроченное активирующее действие препарата X_1 вместо обычного в подобных ситуациях развития синдрома отмены.

2. Влияние препарата X^1 на уровень нейромедиаторов в структурах мозга самцов крыс.

Нейрохимические изменения, контролируемые ПП, были исследованы путем оценки активности основных медиаторных систем мозга. Введение препарата X_1 в хроническом опыте вызывало значимые изменения в содержании нейромедиаторов и их метаболитов в исследуемых структурах мозга (табл. 4-8). Наиболее существенные сдвиги были отмечены в лимбических ядрах, которые, как известно, вовлечены в инициирование и экспрессию поведенческих реакций и играют важную роль в естественном активном исследовательском, пищевом и половом поведении [Phillips, Pfaus, Blaha, 1991; Robbins T.W., Everitt, 1996].

2.1. Обмен нейромедиаторов в гипоталамусе.

У самцов нейрональные механизмы регуляции ПП, находящиеся в преоптической зоне переднего гипоталамуса, функционируют под контролем ядер лимбической системы [Kalivas, Churchill, Klitenick, 1993; Pennartz, Groenewegen, Lopes da Silva., 1994; Robbins, Everitt, 1996].

Нейрохимический статус гипоталамуса самцов опытных групп характеризовался увеличением дофаминергической активности после курса препарата X1 по сравнению с контролем (табл.4). Динамика изменения средней концентрации ДОФУК по отношению к контролю соответствовала изменению уровня ДА, но с большим разбросом. Возможно, наблюдаемые нами сдвиги в ПП самцов крыс обусловлены приростом ДА, способствующим приросту половой мотивации, двигательной активности и половым рефлексам [Bazzet, Eaton, Thompson et al., 1991; Hull, Eaton, Markowski et al., 1992; Markowski, Eaton, Lumley et al., 1994; Hull, 1995].

Таблица 4

Изменение уровня нейромедиаторов в **гипоталамусе** мозга интактных самцов крыс после 10-кратного введения препарата X¹ (80 мг/кг). n=8. (M±m)

Группы животных	ДА	Д ОФУК	Н А	М ГФГ	5 -ГТ	5- ГИУК
Интакт- ные	0,2 85 ±0,033	0, 216 ±0,016	1 ,579 ±0,096	0 ,012 ±0,002	0 ,962 ±0,051	0,5 56 ±0,028
Получав- шие препарат X1	0,3 73 ±0,065	0, 341 ±0,098	1 ,744 ±0,112	0 ,009 ±0,002	0 ,969 ±0,068	0,5 72 ±0,025
p=	0,0 49		0 ,273		0 ,920	

Значимость различий существенна при p<0/05

Уровень 5-ГТ (антагониста ДА по данным А.И. Гладковой, 1999) в **гипоталамусе** остался неизменным. Известно, что увеличение серотонинергической активности угнетает половую функцию [Waldinger, Berendsen, Blok. et al., 1998; Hull, Meisel, Sachs, 2002] вследствие торможения секреции гонадолиберина и соответственно - половых гормонов [Lenahan, Siebel, Jonson, 1986]. В нашем эксперименте уровень 5ГТ не менялся и не предотвращал адренэргическое действие, инициированное введением препарата X1.

Уровень НА и его метаболита - МГФГ в гипоталамусе не изменился по сравнению с таковым в контрольной группой, что освобождает нас от учета его влияния на ПФ. Тем более, что НА способен оказывать как активирующее, так и подавляющее влияние на гипоталамо-гипофизарно-гонадный комплекс и на проявления половой активности [Naumenko, Amstislavskaya, Osadchuk, 1989]. Очевидно, это обусловлено противоположно направленным ответом организма на активацию α_2 - и β_2 -адренорецепторов [Науменко,

Осадчук, Серова, Шишкина, 1983].

Оборот медиаторов в гипоталамусе оценивали по отношениям ДОФУК к ДА и 5-ГИУК к 5-ГТ, которые практически не изменялись (табл. 5).

Таблица 5

Оборот нейромедиаторов ДА и 5-ГТ в **гипоталамусе** мозга интактных самцов крыс после 10-кратного введения препарата X^1 (80 мг/кг). (n=8). ($M \pm m$)

Гипоталамус	ДОФУК / ДА	5-ГИУК /5- ГТ
Интактные	0,758	0,578
Получавшие препарат X^1	0,914	0,590

2.2. Влияние препарата X^1 на уровень нейромедиаторов в гиппокампе.

Гиппокамп играет важную роль в реализации ПП - организации его мотивационного компонента. Дофаминергическим системам лимбической системы принадлежит основная роль в формировании мотивационных механизмов ПП. Тогда как гипоталамические дофаминергические системы контролируют периферические эндокринные функции [Padma-Nathan, 2000; Wersinger, Ginns, O'Carroll et al., 2002; Hull, Meisel, Sachs, 2002].

Изменение уровня нейромедиаторов в гиппокампе крыс, подвергнутых воздействию препарата X^1 , может отражать некоторое увеличение оборота медиаторов при значительном увеличении концентрации исследуемых нейромедиаторов (табл 6).

Таблица 6

Влияние 10-дневного курса препарата X^1 (80 мг/кг) на метаболизм нейромедиаторов в гиппокампе мозга интактных самцов крыс. (n=8, $M \pm m$)

Группы опыта	Д А	Д ОФУК	Н А	М ГФГ	5- ГТ	5- ГИУК
Интактные	3 ,154 $\pm 0,164$	0, 613 $\pm 0,047$	0 ,022 $\pm 0,006$	0, 008 $\pm 0,003$	0, 482 $\pm 0,025$	0, 441 $\pm 0,019$
Получавшие препарат X^1	3 ,836 $\pm 0,0,24$	0, 891 $\pm 0,059$	0 ,042 $\pm 0,005$	0, 009 $\pm 0,002$	0, 561 $\pm 0,020$	0, 505 $\pm 0,017$
p ≤	0 ,04	0, 01	0 ,02		0, 03	0, 05

Значимость различий между группами характеризуется величиной $p \leq 0.05$.

Содержание ДА возросло на 21,6%. При этом уровень ДОФУК - метаболита ДА повысился в большей степени – на 45,4% (табл. 6).

Содержание НА увеличилось в гиппокампе на 90,1%, тогда как концентрация его метаболита **МГФГ** не изменялась (табл. 6). Вместе с приростом ДА это свидетельствует об увеличении активности катехоламин-дофаминергической системы гиппокампа, несмотря на отсутствии дефицита Тс.

Содержание 5-ГТ в гиппокампе повышалось в меньшей степени, чем НА (на 16,4%, $p < 0,05$). В других структурах его уровень оставался неизменным. Динамика оборота метаболита ГИУК была сходной со сдвигом в содержании самого медиатора (табл. 6).

Концентрации метаболитов ДА и 5-ГТ в гиппокампе изменялись в меньшей степени, что способствовало увеличению дофаминергической активности в гиппокампе. При этом соотношение метаболит /нейромедиатор было практически неизменным. (табл. 7).

Итак, 10-дневное введения препарата X_1 способствовало развитию заметного сдвига в содержании нейромедиаторов **ДА**, **НА** и **5-ГТ** в гиппокампе. В большей степени увеличивалась концентрация ДА - основного фактора регуляции половой функции. При этом оборот нейромедиаторов, судя по содержанию метаболитов и их соотношениям с уровнем соответствующих медиаторов, менялся незначительно.

Таблица 7

Влияние на «оборот» нейромедиаторов ДА и 5-ГТ в гиппокампе мозга интактных самцов крыс 10-дневного курса препарат X_1 (80 мг/кг). ($M \pm m$)

Гиппокамп	ДОФУК / ДА	5-ГИУК /5- ГТ
Интактные	0,194	0,915
Получавшие препарат X1	0,232	0,900

2.3. Уровень нейромедиаторов в амигдале.

Амигдала или миндалевидный комплекс ответственен за интеграцию эмоциональных выражений, характерных для сексуальной мотивации [Kawakami, Seto, Terasawa, Yoshida, 1967; Dominguez, Hull, 2001].

У самцов крыс опытной группы, получавших препарат X_1 , содержание нейромедиаторов ДА и НА в амигдале было значительно изменено по сравнению с контролем (табл.8).

Таблица 8

Влияние 10-дневного введения препарат X_1 на уровень нейромедиаторов в амигдале мозга интактных самцов крыс. Ежедневная доза препарата X_1 (80 мг/кг), $n=8$. ($M \pm m$)

Группы опыта	Д А	ДО- ФУК	Н А	М ГФГ	5- ГТ	5- ГИУК
Интактные	0 ,159 $\pm 0,012$	0,08 1 $\pm 0,010$	0 ,185 $\pm 0,011$	0 ,025 $\pm 0,004$	0, 941 $\pm 0,121$	0, 344 $\pm 0,034$
Получавшие препарат X_1	0 ,269 $\pm 0,029$	0,10 7 $\pm 0,011$	0 ,250 $\pm 0,007$	0 ,021 $\pm 0,002$	0, 861 $\pm 0,024$	0, 348 $\pm 0,024$
$p \leq$	0 ,005		0 ,0004		0, 529	

Различия между группами значимы при $p \leq 0.05$.

Содержание ДА. в амигдале интактных самцов крыс после курса препарата X_1 возрастало на 69,2%. Содержание ДОФУК возрастало в меньшей степени в пределах + 32%. Таким образом, нейрохимический статус ДА в амигдале самцов крыс характеризовался повышением его концентрации и уровня его метаболита ДОФУК.

Содержание НА повышалось на 35,1%, а уровень его метаболита МГФГ в амигдале имел тенденцию к снижению

Содержание 5-ГТ в амигдале в отличие от других нейромедиаторов снижалось не существенно, уровень его метаболита ГИУК был стабильным.

Отношение содержания метаболитов к их нейромедиаторам ДА и 5-ГТ свидетельствовало о некотором превышении синтеза ДА над его превращением в метаболит. (табл.9).

Таблица 9

Влияние 10-дневного курса препарата X_1 (80 мг/кг) на «оборот» нейромедиаторов ДА и 5-ГТ в амигдале мозга у интактных самцов крыс. Ежедневная доза препарата X_1 (80 мг/кг). $n=8$. ($M \pm m$)

Группы	Дорас /DA	Н1АА /5-НТ
ИНТ	0,594	0,366
ИНТ + X1	0,398*	0,404

* - различия значимы на уровне $p=0,05$ по отношению контролю.

Итак, 10-дневное введение препарата X_1 сопровождалось значительным возрастанием концентрация ДА и НА у интактных самцов крыс. Динамика уровня нейромедиаторов в **миндалине** была аналогична сдвигу медиаторного статуса в **гиппокампе**, что и следовало ожидать, исходя из наличия их морфофункциональной общности в пределах лимбической системы.

Таким образом, 10-кратное ежедневное введение препарата X_1 самцам интактных крыс вызывает значимые изменения активности нейромедиаторных систем в гипоталамусе. Увеличение уровня ДА и его «оборота» свидетельствуют о повышении метаболизма ДА и об усилении дофаминергической синаптической активности в гипоталамусе. Очевидно, эти сдвиги обуславливают некоторую интенсификацию половой функции интактных самцов крыс. Курс препарата X_1 приводит к значительному изменению содержания нейромедиаторов и в гиппокампе: при более значимом увеличении концентрации ДА, который является основным фактором регуляции половой функции структурами лимбической системы мозга. В миндалевидном ядре в большей степени увеличивается концентрация ДА у самцов крыс. Следовательно, динамика уровня нейромедиаторов в амигдале аналогична изменениям медиаторного статуса в гиппокампе в целом в соответствии с известной морфофункциональной общностью этих структур мозга.

5.5. Влияние препарата X_1 на эндокринный статус самцов крыс.

В данном фрагменте работы представлены исследования содержания некоторых гормонов в сыворотке крови, отражающих функционирование периферических эндокринных желез – гонад, надпочечников и щитовидной железы. Обнаружено, что 10-дневный курс препарата X_1 вызывал небольшие изменения содержания исследуемых гормонов у самцов (табл. 10).

Таблица 10

Влияние 10-дневного курса препарата X_1 на содержание в крови гормонов некоторых периферических эндокринных органов у интактных самцов крыс. Каждое введение препарата X_1 - 80 мг/кг. ($M \pm m$)

Группы опыта	Тестостерон, нмоль/л	Прогестерон, нмоль/л	Эстрадиол, нмоль/л	ДГЭА сульфат, мкг/мл	Тироксин (Т ₄), нмоль/л	Трийодтиронин (Т ₃), нмоль/л
ИН	5,8 1 ±0,83	4,2 6 ±0,26	0, 67 ±0,05	0, 222 ±0,01	111, 5 ±4,15	2,38 ±0,10
ИН Т + Х ₁	7,1 3 ±1,27	5,4 8 ±0,56	0, 57 ±0,03	0, 228 ±0,01	106, 5 ±5,29	2,73 ±0,35
р ≤	0,3 98	0,0 71	0, 093	0, 484	0,46 4	0,348

Различия между группами значимы лишь при $p \leq 0.05$.

Гормоны гонад. Уровни тестостерона (Тс) и прогестероны в крови имели явную тенденцию к повышению, хотя исходное содержание этих гормонов у интактных животных не было снижено. Следует отметить, что определяемый в крови прогестерон вырабатывается не только в гонадах, но и в надпочечниках.

Гормоны надпочечниковых желез. Уровень других надпочечниками продуцируемых гормонов, имеющих отношение к контролю ПП у самцов - ДГЭА-сульфата и эстрадиола, оставался не измененным. Более того, содержание эстрадиола, часть которого у особей мужского пола синтезируется яичками и периферическими тканями под действием фермента ароматазы, даже несколько снижалась.

Гормоны щитовидной железы. Уровень тироксина (Т₄) и трийодтиронина (Т₃) у интактных самцов практически не изменялся после курса препарата Х₁.

Таким образом, 10 –кратное введение интактным самцам крыс препарата Х₁ приводит к изменению уровня адренергических-дофаминэргических нейромедиаторов в структурах головного мозга, что в первую очередь сказывалось на более остром восприятии самцами рецептивных самок в виде повышения мотивации и более активного полового поведения, но уровень периферических гормонов, контролирующих собственно половую функцию оставался при этом неизменным.

ВЫВОДЫ

1. Выявлена неспецифическая (обусловленная негормональной стимуляцией) активация половой поведения самцов под влиянием препарата X₁, полученного на основе естественных метаболитов.

2. Воздействие метаболического препарата X₁ на половой поведение интактных самцов крыс проявляется в «хроническом» опыте в виде улучшения центральных мотивационных характеристик и некоторого сдвига в периферических эякуляторных компонентах полового поведения.

3. Действие препарата X₁ связано с его влиянием на содержание основных нейрональный и эндокринный факторов, регулирующих половую функцию самцов крыс на центральном мотивационном уровне путем влияния на концентрацию дофамина и норадреналина в гипоталамусе, гиппокампе и амигдале, ответственных за формирование и реализацию половой функции у самцов.

4. Периферическое звено эндокринной системы реагирует у интактных самцов на кратковременный курс препарат X₁ слабее, чем центральное звено - приращение содержания тестостерона в крови, не сниженного у интактных самцов, происходит на не достигающем статистической значимости уровне.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Гладкова А.И. Регуляция мужского сексуального поведения // Успехи физиологических наук. 1999. - Т. 30, № 1. - С. 97105. .
2. Коган Л.А. Медико-психологические аспекты брака и семьи. – Харьков, 1985. – 84 с.
3. Наumenко Е.В., Осадчук А.В., Серова Л.И., Шишкина Г.Т. Генетико-физиологические механизмы регуляции функций семенников. Новосибирск 1983; 202.
4. Agmo A. Male rat sexual behavior. Brain Research Protocols. 1 : 203-209. 1997
5. Agmo A., Picker Z. Catecholamines and the initiation of sexual behavior in male rats without sexual experience // Pharmacol. Biochem. Behav. – 1990. – Vol.35. – P.327-334.
6. Albonetti ME, Farabollini F. Effects of single and repeated restraint on the social behavior of male rats // Physiol Behav. 1993; 53(5):937-42.
7. Bazzett T.J., Eaton R.C., Thompson J.T., Markowski V.P., Lumley L.A., Hull E.M. Dose dependent D2 effects on genital reflexes after MPOA injections of quinolorane and apomorphine // Life Sci. 1991. Vol.48. P.2309– 2315.

8. Bitran D., Hull E. Pharmacological analysis of male rat sexual behavior // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1987. Vol.11. P.365–89.
9. Cox DR, Oakes D. *Analysis of Survival Data*. London: Chapman & Hall; 1984
10. Davidson J.M. Effects of estrogen on the sexual behavior. of male rats // *Endocrinology*. 1969. Vol. 84. P. 1365-1372.
11. De Jonge FH, Eerland EM, van de Poll NE. The influence of estrogen, testosterone and progesterone on partner preference, receptivity and proceptivity // *Physiol Behav.* 1986; 37(6):885-91.
12. Dilman V.M., Ostroumova M.N. Hypothalamic, metabolic, and immune mechanisms of the influence of stress on the tumor process // *Impact of the Psychoendocrine System in Cancer and Immunity* / Ed. by B. Fox, B. Newberry. New York: Lewinston Publ. House, 1984. P. 58-87.
13. Dominguez JM, Hull EM. Stimulation of the medial amygdala enhances medial preoptic dopamine release: implications for male rat sexual behavior // *Brain Res.* 2001; 917(2):225-9.
14. Dorner G. Hormone-dependent brain development and neuroendocrine prophylaxis // *Exp. Clin. Endocrinol.* 1989. Vol. 94, № 1/2. P. 4-22.
15. Gladkova A.I. **Role of neurotransmitters in coordination of male sexual behavior** // *Neirofiziologiya/Neurophysiology*. 2000. Vol.32. №1. P.69-74.
16. Hull E.M. Dopaminergic influences on male rat sexual behavior. In: Micevych PE, Hammer RPJ, editors. *Neurobiological effects of sex steroid hormones*. Cambridge (UK)7 Cambridge University Press; 1995. P.234–53.
17. Hull E.M., Dominguez J.M. Sexual behavior in male rodents // *Horm. Behav.* 2007. Vol. 52 №1. p.45–55.
18. Hull E.M., Eaton R.C., Markowski V.P. et al. Opposite influence of medial preoptic D1 and D2 receptors on genital reflexes: implications for copulation // *Life Sci.* 1992.Vol.51. P.1705– 1713.
19. Hull E.M., Meisel R.L., Sachs B.D. Male sexual behavior. In: Pfaff DW, Arnold AP, Etgen AM, Fahrbach SE, Rubin RT, editors. *Hormones, brain, and behavior*. New York. Academic Press: 2002. P. 133–137.
20. Kalivas P.W., Churchill L., Klitenick M.A. The circuitry mediating the translation of motivational stimuli into adaptive motor responses. In: Kalivas PW, Barnes CD (eds) *Limbic motor circuits and neuropsychiatry*. CRC Press, Boca Raton. 1993. P.237–287

21. Kawakami M, Seto K, Terasawa E, Yoshida K. Mechanisms in the limbic system controlling reproductive functions of the ovary with special reference to the positive feedback of progesterin to the hippocampus // *Prog. Brain Res.* 1967; 27:69-102.
22. Lenahan S.E., Siebel H.R., Jonson J.H. Evidence for multiple serotonergic influence on LH release in ovariectomized rats and for modulation of their relative effectiveness by estrogen. *Neuroendocrinology.* 44(1) : 89-94.1986.
23. Markowski V.P., Eaton R.C., Lumley L.A. et al. A D1 agonist in the MPOA facilitates copulation in male rats // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1994. Vol.47. P.483– 486.
24. Mas M., Rodriguez D.C., Guerra M. et al. Neurochemical correlates of male sexual behavior // *Physiol. Behav.* 1987. Vol.41. P.341– 3.45.
25. Naumenko E.V., Amstislavskaya T.G., Osadchuk A.V. Role of adrenoreceptors in activation of the hypothalamo-hypophyseal testicular complex of mice evoked by presentation of a female // *Probl. endokrinol.* 1989. Vol.35. N3. P.64-67 .
26. Newman K. IPPF Charter on Sexual and Reproductive Rights // *Med Law.* 1999; 18(2-3):289-93.
27. Padma-Nathan H. Male sexual circuitry, *Scientific American* 283: 70-75, 2000.
28. Pennartz CM, Groenewegen HJ, Lopes da Silva FH. The nucleus accumbens as a complex of functionally distinct neuronal ensembles: an integration of behavioural, electrophysiological and anatomical data // *Prog. Neurobiol.* 1994; 42(6):719-61.
29. Pfaus J.G. Revisiting the concept of sexual motivation // *Annu. Rev. Sex Res.*, 1999. V.10. P.120-156.
30. Phillips A.G., Pfaus J.G., Blaha C.D. Dopamine and motivated behavior: insights provided by in vivo analysis. In: Willner P, Scheel-Kruger J (eds) *The mesocorticolimbic dopamine system: from motivation to action.* Wiley, London, 1991. P.199–224
31. Retana-Marquez S., Salazar E.D., Velazquez-Moctezuma J. Muscarinic and nicotinic influences on masculine sexual behavior in rats: effects of oxotremorine, scopolamine, and nicotine // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1993. Vol.44. №4. P.913-917.
32. Robbins T.W., Everitt B.J. Neurobehavioural mechanisms of reward and motivation // *Curr. Opin. Neurobiol.* 1996. Vol.6. P.228–236.
33. Rosen R.C., Lane R.M., Menza M. Effects of SSRIs on sexual function: a critical review // *J. Clin. Psychopharmacol.* 1999. Vol.19. P.67– 85.
34. Salmimies P., Kockott G., Pirke K.M. et al. Effects of testosterone replacement on sexual behavior in hypogonadal men // *Arch. Sex. Behav.* 1982. Vol.11. №4. P.345-53

35. Waldinger M.D., Berendsen H.H., Blok B.F. et al. Premature ejaculation and serotonergic antidepressants-induced delayed ejaculation: the involvement of the serotonergic system // Behav. Brain Res. 1998. Vol.92. P.111 –118.
36. Wersinger SR, Ginns EI, O'Carroll AM, Lolait SJ and Young WS, 3rd Vasopressin VI b receptor knockout reduces aggressive behavior in male mice // Mol Psychiatry. - 2002. - N 9. –975-84