

## ОГЛЯДИ ЛІТЕРАТУРИ

УДК 616.66/68:615.916'175

Денисенко С.В., Костенко В.О.

### ЕКЗОГЕННІ НІТРАТИ: КОРЕКЦІЯ ФІЗИЧНОЇ ПРАЦЕЗДАТНОСТІ ТА МОЖЛИВІ РИЗИКИ ДЛЯ ЧОЛОВІЧОЇ РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМИ

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

*Останнім часом поширюється інформація про можливість застосування біологічно-активних добавок, що постачають оксид азоту (NO), для поліпшення фізичної активності і спортивних результатів. До їх числа належать добавки на основі аргініну та цитруліну, а також сік буряка, який виступає донором NO, незалежним від NO-синтази. З урахуванням віку й статі потенційних споживачів таких метаболічних коректорів постає питання про їх вплив на чоловічу репродуктивну систему. Шляхом аналізу літературних даних показано, що екзогенні нітрати мають дозозалежний вплив на організм, який у дозах, співставних з допустимим рівнем нітратів у питній воді, поліпшує стан гемодинаміки та фізичну активність і не викликає тяжких ушкоджень чоловічої репродуктивної системи. Водночас тривалий вплив високих доз нітратів негативно позначається на сперматогенній функції гонад, викликає гормональні порушення та оксидативний стрес. Це дає підстави вважати, що з точки зору чоловічого репродуктивного здоров'я використання біологічно активних добавок – донаторів NO має бути контрольованим як за режимом дозування, так і за тривалістю застосування.*

Ключові слова: нітрати, оксид азоту, фізична активність, чоловіча репродуктивна система.

Людина одержує нітрати з їжею та водою, в якій вони з'являються внаслідок сільськогосподарської та промислової діяльності [1]. Більше цих речовин надходить з продуктами рослинного походження, тоді як метаболічні особливості сільськогосподарських тварин забезпечують порівняно низький рівень нітратів у свіжих продуктах тваринного походження й вони не можуть розглядатись як проблема для здоров'я людини [2]. Особливістю нітратів є їх перетворення в організмі на оксид азоту (NO), радикал, який постійно утворюється в невеликій кількості з амінокислоти аргініну й відіграє роль однієї з сигнальних молекул у фізіологічних та патологічних процесах [3].

Останнім часом поширюється інформація про можливість застосування біологічно-активних добавок, що постачають NO, для поліпшення фізичної активності й спортивних результатів [4]. До їх числа належать добавки на основі аргініну та цитруліну, що є непрямими донорами оксиду азоту, концентрація якого при їх вживанні залежить від активності NO-синтази, а також добавки, які постачають оксид азоту незалежним від NO-синтази шляхом, наприклад сік буряка. З урахуванням віку й статі потенційних споживачів таких метаболічних коректорів постає питання про їх вплив на чоловічу репродуктивну систему, оскільки відомо, що ендогенний NO відіграє значну роль у регуляції чоловічої репродуктивної функції [5].

Неорганічний нітрат є попередником NO в організмі, й велика кількість короткострокових досліджень з дієтичними добавками нітратів у тва-

рин і людини показує їх позитивний вплив на серцево-судинну систему [6]. Доречно згадати, що органічні нітрати, які теж є донорами NO, широко відомі в медицині як препарати для лікування різних клінічних проявів ішемічної хвороби серця. Їх антиангінальний ефект реалізується за рахунок зниження потреби міокарда в кисні й оптимізації коронарного кровообігу. NO, що вивільняється *in situ* в процесі метаболізму цих засобів, є аналогом ендотелій-залежного фактора релаксації, з яким пов'язують регуляцію судинного тону, апоптоз клітинних елементів судинної стінки, вплив на адгезію лейкоцитів і проліферацію гладеньком'язових клітин, пригнічення адгезії та агрегації тромбоцитів [7].

Сучасні дослідження ролі NO значною мірою присвячені його участі регуляції фізичної активності, функціонування та метаболізму скелетних м'язів. В експериментах на тваринах продемонстровано, що вміст оксиду азоту в скелетній мускулатурі та тканинах серця, печінки, спинного мозку щурів при режимах плавального тренування, спрямованого на розвиток швидкості рухів та швидкісної витривалості, вищий, ніж при тренуванні на загальну витривалість [8]. Подібні експериментальні роботи [9,10,11] та дані спостережень на людях [12] пояснюють інтерес науковців і споживачів до можливостей використання екзогенних джерел NO в спортивній медицині.

Особливу увагу дослідників привертає використання бурякового соку як донатора NO. Відмічають, що не тільки одноразове вживання бурякового соку може знизити систолічний артері-

альний тиск, після навантаження та потребу міокарда в кисні під час субмаксимальних фізичних вправ, а й хронічне застосування добавки з буряковим соком знижує артеріальний тиск і судинний опір в спокої та під час фізичних вправ, що може бути обумовлене посиленням ендотелій-індукованої вазодилатації при скороченні скелетних м'язів [13]. Отримані результати дозволяють припустити, що таке джерело нітратіону, як сік буряка, може виступати в якості нутрицевтика, здатного посилювати доставку кисню в міокард і зменшувати роботу серця таким чином, що фізичні вправи при заданому робочому навантаженні виконуються триваліше [13].

Описано, що харчова добавка з нітратами збільшує фізичну працездатність та витривалість спортсменів [14,15]. Вона зменшує потребу в кисні при фізичному навантаженні низької або помірної інтенсивності й підвищує толерантність до інтенсивних навантажень [16,17,18]. Вивчається як вплив харчових нітратів на фізіологічний відгук серцево-судинної системи на фізичне навантаження, так і дія цих добавок на метаболізм скелетних м'язів за різних режимів тренування [19,20], причому автори підкреслюють, що скелетна мускулатура може слугувати резервом ендогенного нітрату для організму [21].

Водночас існує відома тривога з приводу можливих несприятливих наслідків хронічного впливу нітратів, які пов'язують із онкологічними захворюваннями та гормональними порушеннями [22]. Для вирішення цих проблем було проведено експеримент на мишах з метою аналізу фізіологічних і біохімічних наслідків тривалого (протягом 20 тижнів) надходження в організм харчових нітратів (1 ммоль натрію нітрату/л питної води). Він показав, що судинна реактивність і мітохондріальна ефективність м'язів наприкінці експерименту не відрізнялися від контролю. При цьому нітратні добавки поліпшили толерантність до глюкози, знизили вміст інтерлейкіну-10 і зумовили тенденцію до поліпшення виживаності тварин. Це дозволило авторам зробити висновок, що тривале вживання мишами харчових нітратів на рівні, аналогічному верхній межі, дозволений у західному суспільстві, не завдає шкоди [23].

Водночас численні дослідження вказують на шкідливість високих доз нітратів, особливо при їх застосуванні на фоні забруднення довкілля нітратами, що є проблемою планетарного масштабу як для здоров'я людини, так і для усєї природи [24]. За даними експериментів, у свавців надлишок нітратів затримує ріст, порушує функції печінки, нирок тонкого кишечника, викликає зміни у крові та гормональному балансі, редукує імунний відгук [25]. Дослідження підтверджують роль нітратів як попередників N-нітрозосполук – речовин з канцерогенною та ембріотоксичною

дією. Тривале надходження великої кількості нітратів може бути чинником підвищення рівня ендогенного нітразування, утворення надлишкової кількості NO [26].

Результати експериментів показують, що введення з питною водою нітратів у концентраціях, близьких до гранично допустимих для питної води, впливає на продукцію тестостерону та розміри статевих залоз у самців лабораторних тварин. Pant and Srivastava (2002) вивчали в мишей вплив нітрату на сім'яники і сперматогенез при дозах, які відповідають верхній межі нітратів у питній воді для людини. Калію нітрат 90-900 ppm (1 ppm = 0,0001 об'ємного %) при 35-денному введенні не викликав істотних змін маси тіла, маси сім'яників та їх придатків, однак мало місце зменшення числа сперматозоїдів та їх рухливості на фоні збільшення кількості патологічних форм сперміїв при 900 ppm. Була порушена активність маркерних тестикулярних ферментів, головним чином 17-бета-гідроксистероїд дегідрогенази та гамма-глутамілтранспептидази. Гістопатологічні зміни, включаючи атрофію та порушення сперматогенезу, спостерігались лише при дозі 900-ppm, яка практично недосяжна в питній воді [27].

Вважають, що нітрати чинять негативний вплив на чоловічу репродуктивну систему, порушуючи узгодженість функції гонад та синтезу стероїдних гормонів [28]. Введення натрію нітрату з питною водою в дозі 550 мг/л протягом 4 місяців викликало істотне підвищення рівня загальних ліпідів, тригліцеридів, загального холестеролу та фосфоліпідів у тестикулах та сироватці крові на фоні зниження загального білка та нуклеїнових кислот. Також відмічалось зменшення числа епідидимальних сперматозоїдів, зниження маси сім'яників та їх придатків, зниження концентрації тестостерону та дегідроепіандростерону, а також тестикулярного 3-бета-гідроксистероїду, 3-бета-дегідрогенази [29]. Описано, що хронічна нітратна інтоксикація супроводжувалась послабленням антиоксидантного захисту гонад: знижувався вміст відновленого глутатіону, активність супероксиддисмутази та гамма-глутамілтранспептидази поряд з підвищенням рівня оксиду азоту, накопиченням продуктів ліпопероксидації та карбонілів білків, що вказує на розвиток оксидативного стресу в сім'яниках щурів під впливом тривалого введення токсичних доз нітратів.

Слід відмітити, що в такому випадку оксидативного стресу терапія антиоксидантами не завжди виправдовує своє призначення. Відоме дослідження, коли білі щури-самці одержували протягом 60 діб питну воду з натрію нітратом (3 мг/100 г маси тіла) або воду з нітратом та аскорбіновою кислотою чи альфа-токоферолом. При нітратній інтоксикації відносна маса сім'яників та

сім'яних пухирців були менші, ніж у контролі. Аскорбінова кислота та токоферол викликали подальше погіршення цих показників, а в групі з токоферолом відмічалась тестикулярна дегенерація з відсутністю сперматид і сперматогенних клітин у сім'яних канальцях та відсутність епідидимального резерву сперми [30].

Вивчено не тільки вплив надлишку нітратів на репродуктивну систему дорослих тварин, а й те, як в утробі матері нітрат впливає на зародки щурів-самців. Вагітні самки одержували нітрати з питною водою від 7 до 21 дня гестації в наступних дозах 17,5-900 мг/л. На 21-й день ембріони були досліджені на аногенітальну відстань, рівні плазматичного і тестикулярного тестостерону й прогестерону. У цьому дослідженні не було виявлено ознак того, що нітрати індукують антиандрогенні ефекти в плодів чоловічої статі [31], що, вочевидь, свідчить про більшу вразливість чоловічої репродуктивної системи до токсичної дії нітратів у постнатальному періоді.

Отже, аналіз літературних джерел показує, що екзогенні нітрати, виступаючи постачальниками оксиду азоту, мають дозозалежний вплив на організм, який у дозах, співставних з допустимим рівнем нітратів у питній воді, поліпшує стан гемодинаміки та фізичну активність і не викликає тяжких ушкоджень чоловічої репродуктивної системи. Водночас тривалий вплив високих доз нітратів негативно позначається на сперматогенній функції гонад, викликаючи гормональні порушення та оксидативний стрес. Це дає підстави вважати, що з точки зору чоловічого репродуктивного здоров'я використання біологічно активних добавок – донаторів NO має бути контрольованим як за режимом дозування, так і за тривалістю застосування.

### Література

1. Бабієнко В.В. Токсикологічна безпека продуктів харчування: проблема неорганічних прекурсорів оксиду азоту / В.В. Бабієнко // Експериментальна і клінічна медицина. – 2013. – Т. 2 (59). – С. 170-174.
2. Cockburn A. Nitrite in feed: from animal health to human health / A. Cockburn, G. Brambilla, M.L. Fernández [et al.] // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2013. – Vol. 270, №3. – P. 209-217.
3. Кузнецова В.Л. Оксид азота: свойства, биологическая роль, механизмы действия [Электронный ресурс] / В.Л. Кузнецова, А.Г. Соловьева // *Современные проблемы науки и образования*. – 2015. – №4. – Режим доступа: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=21037>.
4. Bescós R. The effect of nitric-oxide-related supplements on human performance / R. Bescós, A. Sureda, J.A. Tur [et al.] // *Sports Med.* – 2012. – Vol. 42, №2. – P. 99-117.
5. Бондаренко В.А. Значение определения содержания аргинина и стабильных метаболитов цикла оксида азота в спермальной плазме у бесплодных мужчин / В.А. Бондаренко, Н.А. Карпенко, Н.Ф. Величко [и др.] // *Здоровье мужчины*. – 2014. – №1 (48). – С. 142-144.
6. Lundberg J.O. Nitrate and nitrite in biology, nutrition and therapeutics / J.O. Lundberg, M.T. Gladwin, A. Ahluwalia [et al.] // *Nat. Chem. Biol.* – 2009. – Vol. 5. – P. 865-869.
7. Нітрати в лікуванні серцево-судинних захворювань: Методичні рекомендації, підготовлені робочою групою Асоціації кардіологів України з атеросклерозу і хронічних форм ішемічної хвороби серця / [М.І. Лутай, В.І. Волков, І.П. Голікова та ін.]. – К., 2015. – 31 с.
8. Абзалов Р.Р. Роль оксида азота в регуляції фізіологічних функцій організму / Р.Р. Абзалов, В.И. Максимов, С.Ю. Зайцев // *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. – 2016. – №10. – С. 20-25.

9. Ломоносова Ю.Н. Защитное и сигнальное действие оксида азота на волокна скелетных мышц при различных уровнях сократительной активности : автореф. дис. на соискание учен. степени канд. биол. наук : спец. 03.03.01 и 03.01.04 «Физиология» и «Биохимия» / Ю.Н. Ломоносова. – М., 2012. – 27 с.
10. Heinonen I. Effect of nitric oxide synthase inhibition on the exchange of glucose and fatty acids in human skeletal muscle / I. Heinonen, B. Saltin, J. Kempainen [et al.] // *Nutr. Metab. (Lond.)*. – 2013. – Vol. 18. – P. 1-10.
11. Radak Z. Oxygen consumption and usage during physical exercise: the balance between oxidative stress and NOS-dependent adaptive signalling / Z. Radak, Z. Zhao, E. Koltai [et al.] // *Antioxid. Redox Signal.* – 2013. – Vol. 18, №10. – P. 1208-1246.
12. Богдановская Н.В. Роль системы синтеза оксида азота в обеспечении адаптации организма к систематическим физическим нагрузкам / Н.В. Богдановская, Н.В. Маликов // *Новые подходы к изучению классических проблем : материалы VII Всерос. школы-конф. по физиологии мышц и мышечной деятельности*. – М., 2013. – С. 65.
13. Lee J.S. Effects of chronic dietary nitrate supplementation on the hemodynamic response to dynamic exercise / J.S. Lee, C.L. Stebbins, E. Jung [et al.] // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2015. – Vol. 309, №5. – R. 459-466.
14. Jones A.M. Dietary nitrate supplementation and exercise performance / A.M. Jones // *Sport. Med.* – 2014. – Vol. 44. – P. 35-45.
15. Lansley K.E. Acute dietary nitrate supplementation improves cycling time trial performance / K.E. Lansley, P.G. Winyard, S.J. Bailey [et al.] // *Med. Sci. Sport Exerc.* – 2011. – Vol. 43. – P. 1125-1131.
16. Bailey S.J. Dietary nitrate supplementation reduces the O<sub>2</sub> cost of low-intensity exercise and enhances tolerance to high-intensity exercise in humans / S.J. Bailey, P. Winyard, A. Vanhatalo [et al.] // *J. Appl. Physiol.* – 2009. – Vol. 107. – P. 1144-1155.
17. Kelly J. Effects of nitrate on the power-duration relationship for severe-intensity exercise / J. Kelly, A. Vanhatalo, D.P. Wilkerson [et al.] // *Med. Sci. Sport Exerc.* – 2013. – Vol. 45. – P. 1798-1806.
18. Wylie L.J. Dose-dependent effects of dietary nitrate on the oxygen cost of moderate-intensity exercise: Acute vs. chronic supplementation / L.J. Wylie, J. Ortiz de Zavallos, T. Isidore [et al.] // *Nitric Oxide*. – 2016. – Vol. 57. – P. 30-39.
19. Fulford J. Influence of dietary nitrate supplementation on human skeletal muscle metabolism and force production during maximum voluntary contractions / J. Fulford, P.G. Winyard, A. Vanhatalo [et al.] // *Pflügers Arch.* – 2013. – Vol. 465. – P. 517-528.
20. Vanhatalo A. Acute and chronic effects of dietary nitrate supplementation on blood pressure and the physiological responses to moderate-intensity and incremental exercise / A. Vanhatalo, S.J. Bailey, J.R. Blackwell [et al.] // *Am. J. Physiol. Reg. Integr. Comp. Physiol.* – 2010. – Vol. 299. – P. 1121-1131.
21. Piknova B. Skeletal muscle as an endogenous nitrate reservoir / B. Piknova, J.W. Park, K.M. Swanson [et al.] // *Nitric Oxide*. – 2015. – Vol. 47. – P. 10-16.
22. Nitrate and Nitrite: Health Information Summary. [Electronic resource] / Environmental Fact Sheet ARD-EPH 16. – 2006. – Mode of access: [www.des.nh.gov](http://www.des.nh.gov).
23. Hezel M.P. Effects of long-term dietary nitrate supplementation in mice / M.P. Hezel, M. Liu, T.A. Schiffer [et al.] // *Redox Biol.* – 2015. – Vol. 5. – P. 234-242.
24. Guillette, L.J. Is nitrate an ecologically relevant endocrine disruptor in vertebrates? / L.J. Guillette, T.M. Edwards // *Integr. Comp. Biol.* – 2005. – Vol. 45. – P. 19-27.
25. El-Wakf A.M. El-Wakf Hypothyroidism in male rats of different ages exposed to nitrate polluted drinking water / A.M. El-Wakf, H.A. Hassan, F.G. El-said [et al.] // *Res. J. Medicine and Med. Sci.* – 2009. – Vol. 4. – P. 160-164.
26. Синдром надлишкового утворення оксиду азоту / [О.В. Костенко, І.В. Бітухіна, С.В. Денисенко та ін.] / *Бюлетень IV читань ім. В.В. Підвисоцького : тези доповідей*. – Одеса, 2005. – С. 54-55.
27. Pant N. Testicular and spermatotoxic effect of nitrate in mice / N. Pant, S.P. Srivastava // *Hum. Exp. Toxicol.* – 2002. – Vol. 21, №1. – P. 37-41.
28. Aly H.A.A. Potential testicular toxicity of sodium nitrate in adult rats / H.A.A. Aly, A.M. Mansour, O.M. Abo-Salem [et al.] // *Food Chem. Toxicol.* – 2009. – Vol. 4. – P. 572-578.
29. El-Wakf A. M. Use of Tumeric and Curcumin to Alleviate Adverse Reproductive Outcomes of Water Nitrate Pollution in Male Rats / A. M. El-Wakf, M.E. EL-Said, W.M. EL-kholly [et al.] // *Nature and Science*. – 2011. – Vol. 7, №7. – P. 229-239.
30. Yarube I.U. Harmful effects of ascorbic acid and α-tocopherol on male reproductive organs of rats chronically exposed to sodium nitrate / I.U. Yarube, J.O. Ayo, M.Y. Fatihu // *J. Med. Trop.* – 2014. Vol. 16. – P. 5-8.
31. Hansen P.R. Evaluation of Endocrine Disrupting Effects of Nitrate after In Utero Exposure in Rats and of Nitrate and Nitrite in the H295R and T-Screen Assay / P.R. Hansen, C. Taxvig, S. Christian [et al.] // *Toxicol. Sci.* – 2009. – Vol. 108, №2. – P. 437-444.

### **Реферат**

**ЭКЗОГЕННЫЕ НИТРАТЫ: КОРРЕКЦИЯ ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ И ВОЗМОЖНЫЕ РИСКИ ДЛЯ МУЖСКОЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ**

Денисенко С.В., Костенко В.А.

Ключевые слова: нитраты, оксид азота, физическая активность, мужская репродуктивная система

В последнее время распространяется информация о возможности применения биологически активных добавок, поставляющих оксид азота (NO) для улучшения физической активности и спортивных результатов. К их числу относятся добавки на основе аргинина и цитруллина, а также сок свеклы, который выступает донором NO, независимым от NO-синтазы. С учетом возраста и пола потенциальных потребителей таких метаболических корректоров возникает вопрос об их влиянии на мужскую репродуктивную систему. Путем анализа литературных данных показано, что экзогенные нитраты имеют дозозависимое влияние на организм. В дозах, сопоставимых с допустимым уровнем нитратов в питьевой воде, они улучшают состояние гемодинамики и физическую активность и не вызывают тяжелых повреждений мужской репродуктивной системы. В то же время длительное воздействие высоких доз нитратов негативно сказывается на сперматогенной функции гонад, вызывает гормональные нарушения и оксидативный стресс. Это дает основания полагать, что с точки зрения мужского репродуктивного здоровья использование биологически активных добавок – донаторов NO должно быть контролируемым как по режиму дозирования, так и по продолжительности применения.

### **Summary**

**EXOGENOUS NITRATES: CORRECTION OF PHYSICAL PERFORMANCE AND POSSIBLE RISKS FOR MALE REPRODUCTIVE SYSTEM**

Denisenko S.V., Kostenko V.O.

Key words: nitrates, nitrogen oxide, physical activity, male reproductive system.

Recently there has been much information on possibility to apply biologically active supplements supplying nitric oxide (NO) in order to improve physical activity and sports results. These supplements include arginine, citrulline and, for example, sugar beet juice, an indirect NO donor, independent on NO-synthase. Taking into account the age and gender of potential consumers of such metabolic correctors, there are a lot of questions about their impact on the male reproductive system. It is known that endogenous NO plays a significant role in the regulation of male reproductive function. Relevant literature has shown that exogenous nitrates produce dose-dependent influence on the body. Permissible concentration of nitrates in drinking water improves the hemodynamic parameters (blood pressure, vascular resistance, balance between oxygen demand and supply of the myocardium) and physical activity (endurance and tolerance to the intensive loads) and does not cause the heavy damages of the male reproductive system. At the same time the prolonged influence of high doses of nitrates negatively affects the spermatogenic function of gonads: we can see the reduction in the number of sperm cells and their impacted mobility against the background of increased number of abnormal sperm, disturbed testicular activity, as well as we can see the decrease in the concentration of testosterone and dehydroepiandrosterone. Under these conditions a lipid spectrum in testicular tissues is in impaired, we can observe the development of oxidative stress accompanied by weakening of antioxidant defence, the decline of the content of renewed glutathione, lowered activity of superoxide dismutase and gamma-glutamyl, the accumulation of lipid peroxidation by-products and protein carbonyl. The male reproductive system is more vulnerable to the toxic effects of nitrates in the postnatal period, while in the prenatal period nitrates do not induce anti-androgenic effects in male fetuses. Thus, there are grounds to consider that the use of biologically active supplement, NO donors, particularly in sports medicine, should be based on the balance between their benefits and possible harmful effects and must be controlled by choosing the mode of dosage and duration of the course.