

ВИВЧЕННЯ ЕФЕКТУ ТА МЕХАНІЗМУ ВПЛИВУ НІТРИТУ НАТРІЮ НА РЕПРОДУКТИВНУ СИСТЕМУ ІНФАНТИЛЬНИХ ЩУРІВ-САМЦІВ

Одеський державний медичний університет

ВИЗНАЧЕННЯ ЕФЕКТІВ ТА МЕХАНІЗМІВ ДІЇ НІТРИТУ НАТРІЮ НА РЕПРОДУКТИВНУ СИСТЕМУ ІНФАНТИЛЬНИХ ЩУРІВ-САМЦІВ – Вивчали вплив 0,3 % водного розчину NaNO_2 , L-аргініну на передміхурову залозу, сім'яники та сім'яні пухирці щурят у віці 10 днів. Визначили вміст тестостерону, ГСІК та ФСГ у плазмі крові і тестостерону, цГМФ, ПГЕ2 у піддослідних тканинах. 0,3 % розчин NaNO_2 значно, а L-аргінін меншою мірою підвищували рівень визначених біологічних сполук.

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТОВ И МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ NO – Изучали влияние 0,3 % водного раствора NaNO_2 , L-аргинина на предстательную железу, семенники и семенные пузырьки крысят в возрасте 10 дней. Определяли содержание тестостерона, ГСИК и ФСГ в плазме крови и тестостерона, цГМФ, ПГЕ2 в изучаемых тканях. 0,3 % раствор NaNO_2 значительно, а L-аргинин в меньшей степени, повышали уровень исследуемых биологических соединений.

DEFINITION BY EFFECTS AND MECHANISMS OF ACTION OF THE NO.- Report of contemporary about influence 0,3% solution of NaNO_2 and L-arginine in prostate, spermary and spermatic bladders rat males 10 days age. Research facts about dynamics concentration of gonadotropines in blood, testosterone cIMP, PIE2 in tissues were described.

Ключові слова: оксид азоту, репродуктивна система, L-аргінін, NO-синтаза.

Ключевые слова: оксид азота, репродуктивная система, L-аргинин, NO-синтаза.

Key words: oxide nitrogen, reproductive system, L-arginine, NO-syntase.

Широке вживання нітритів і нітратів у народному господарстві України містить у собі певну небезпеку для здоров'я людей будь-якого віку. Однак, останніми роками виявилось, що солі азотної та азотистої кислоти перетворюються в організмі людей і тварин на оксид азоту (NO), речовину, яка постійно утворюється у нашому організмі з амінокислоти аргініну та у малих дозах відіграє важливу роль у фізіологічних та патофізіологічних процесах живого тіла [6,7,19,20,21].

Відомо, що NO ендогенного походження відіграє значну роль у регуляції репродуктивної функції у самців. У зв'язку з цим, цілком доречним, на наш погляд, є припущення, що нітрити, які попадають в організм та перетворюються потім у NO можуть викликати не тільки відомі токсичні ефекти, але й впливати на репродуктивну систему самців аналогічно ендогенному оксиду азоту, тобто імітувати регуляторні ефекти. Ми висловили припущення, що такі регуляторні ефекти особливо можливі при дії субтоксичних доз нітриту натрію, які можуть створювати у біологічних рідинах концентрації, близькі до фізіологічних.

З метою висвітлення впливу NO зовнішнього та внутрішнього походження на регульовальні механізми репродуктивної системи ссавців-“підлітків” ми провели порівняльні дослідження ефектів азотистокислого натрію (NaNO_2), та L-аргініну на секрецію гонадотропінів (ФСГ, ГСІК, ПРЛ) і концентрацію тестостерону у плазмі крові та

вміст тестостерону, білка, ПГЕ2 і цГМФ у перемішуровій залозі, сім'яних пухирцях білих інфантильних 10-денних щурів-самців. Такий вік тваринки вибраний не випадково: саме на цьому критичному віковому зламі можливо отримати найбільш вірогідні зміни у механізмах біоритмічної регуляції відновної системи [18]. Варто нагадати, що у цьому віці у сім'яних каналцях починаються міотичні поділення сперматогоній і формування суспендоцитів, а потім активуються початкові етапи сперматогенезу та відбувається утворення сперматид із сперматоцитів 1 порядку.

Нітрит натрію надходив до організму тваринки вільним вживанням його 0,3 % водного розчину замість води; корангін вводили щуряткам внутрішньошлунково дозою 1мг/кг протягом 5 днів; L-аргінін – внутрішньоочеревинно дозою 30 мг/кг протягом 5 днів. Всього було проведено 4 серії дослідів, включаючи контрольну (інтактні щурята) і тваринки, яким ін'єктували амінокислоту на тлі вживання ними розчину нітриту натрію.

За результатами наших дослідів гормональний фон плазми крові інтактних білих щурят-самців виглядав наступним чином: концентрація ФСГ становила 5,3 МО/мл, ГСІК – 0,59 МО/мл, пролактину – 5,8 нг/мл і тестостерону – 0,39 нмоль/л. Вміст цього ж гормону у сім'янику дорівнював у середньому 15,8 нмоль/г, білка – 101 нг/г, ПГЕ2 – 507 нг/г і цГМФ – 113 нмоль/г.

Звернімо увагу на те, що кількість тестостерону у сім'янику інтактних щурят була більшою ніж у крові понад у 100 разів. Таке явище є природним, бо цей гормон забезпечує формування статевих органів у період ембріогенезу, відіграє головну роль у статевому диференціюванні головного мозку, бере участь у всіх видах обміну, переважно білковому (стимулює біосинтез структурних та ензиматичних білків), справляючи анаболітичний ефект. Він також активує розвиток первинних, вторинних і третинних (сексуальність) статевих ознак [3,5,15].

Звертає на себе увагу досить високий вміст у сім'янику ПГЕ2. Простагландини можна розглядати, з одного боку, як своєрідні позаклітинні, місцево діючі регулятори, що утворюються у сусідніх клітинах під впливом гормонів і нейромедіаторів, полегшуючи ефекти останніх на регульовані ендокринні залози. З іншого боку, простагландини можуть бути внутрішньоклітинними медіаторами ефектів ряду гормонів. Поза прямою дією на біосинтез гормонів деякі простагландини здатні впливати на морфологічний стан ендокринного органа [10,16].

Під впливом 0,3 % водного розчину NaNO_2 концентрація тестостерону у крові збільшилася майже у 30 разів, ГСІК – на 70 % і ФСГ – до 30 %. Отже, стимуляція нітритом натрію статевої системи щурят відбувалася через ланцюг гіпоталамус-гіпофіз-клітина-мішень (телекринний спосіб). Можна вважати, що у щурят-“підлітків” ефектується підготовка до продукції сперматозоїдів, який відбувається переважно під дією ГСІК і контролюється тестостероном і гіпофізарним ФСГ [5].

Стимульоване ГСІК, велике підвищення (279 %, відносно контролю) вмісту інтрастестикулярного тестостерону, вкрай необхідного для нормального перебігу сперматогенезу (стимуляція клітин Сертолі), є відображенням втілення паракринного впливу останнього гормону [3,16]. ФСГ, як відомо, потрібен для підсилення фізіологічного і морфологічного розвитку і функції сім'яних каналців [3,5].

Концентрація пролактину у крові щурят у цих умовах знизилася на 30 %. Причиною такого явища може бути підсилення секреції катехоламінів під впливом утвореного NO, зокрема дофаміну. Останній, як відомо, пригнічує синтез пролактину [9,16]. Ми

припускаємо, що через цю гальмівну дію дофаміну послаблюється ефект ПРЛ на стероїдогенез і зменшується кількість рецепторів андрогенів на клітинах статевих залоз [3,5,15,16].

Вживання щурятами нітриту натрію збільшило вміст ПГЕ2 в їхньому сім'янику – 120 % відносно контрольних величин. Утворюючись з ненасичених жирних кислот у сім'яних пухирцях, головному мозку та інших органах, простагландини діють потужно, але швидкоплинно, надають прямий виразний вплив на біосинтез і секрецію гормонів, зокрема гонадотропінів. Підвищення вмісту ПГЕ2 – одна з імовірніших причин збільшення у крові концентрацій ФСГ і ГСІК. З іншого боку, як зазначалося вище, гонадотропіни, у свою чергу, сприяють виробленню цих “місцевих” гормонів, і таким чином, у наших умовах досліду, згадані регулятори працюють у напрямку стимуляції розвитку репродуктивної системи білих інфантильних щурів. Принагідно зауважимо, що наші результати можуть свідчити про активацію перетворення жирних кислот, зокрема й усього жирового обміну взагалі [11].

Збільшення (до 227 % відносно контролю) вмісту цГМФ у сім'янику підтвердило уявлення про те, що NO є стимулятором утворення цього вторинного посередника нейромедіаторів і гормонів через активацію гуанілатциклази [6,12]. Через його посилене утворення ймовірні ефекти нітриту натрію на мітохондріальному та ядерному рівні [14]. Підвищення у testis кількості білка, за результатами наших дослідів, відповідає уявленням про те, що андрогени впливають на його обмін у напрямку підсилення анаболічних процесів [11,13].

Наведені вище дані свідчать про те, що нітрит натрію, який вводиться в організм інфантильних щурів самців, не виказує токсичної дії на функціональний стан репродуктивної системи, а, навпаки, значно стимулює її гормональну функцію.

Ін'єкції L-аргініну, що є джерелом утворення NO в організмі через NO-синтазну реакцію [12,21], викликали збільшення концентрацій ФСГ (115 %, відносно контрольних величин), ГСІК (119 %) і тестостерону (224 %). Нагадаємо, що при дії одного NaNO_2 ці ж показники виглядали більш стимульованими. Отже, нітритредуктазна компонента циклу оксиду азоту є більш потужною порівняно з NO-синтазною. Однак, треба мати на увазі, що аргінін в організмі має численні метаболічні зв'язки, зокрема з ЦТК та утворенням нуклеотидів і сечовини.

Введення цієї ж амінокислоти не позначилося на концентрації пролактину у крові щурят, що, очевидно, є наслідком її неефективності щодо біосинтезу катехоламінів (дофаміну).

У сім'яниках у цих умовах на 65 % зросла кількість тестостерону, білка (на 41 %) і цГМФ (на 95 %). Вміст ПГЕ2 залишився практично без змін. Останнє явище можна пояснити мобілізацією жирних кислот (ліпаза жирової тканини не гальмується адреналіном) через ЦТК на потреби біоенергетики [11]. Це тим більш імовірно, що під впливом аргініну інтенсивніше, ніж при дії нітрату натрію, відбуваються синтетичні процеси, зокрема білка.

Отже, впливи NaNO_2 і L-аргініну на деякі ланки регуляції онтогенезу інфантильних білих щурів мають риси подібності (стимуляція секреції ФСГ, ГСІК і тестостерону) хоча й різної інтенсивності, та деякі відмінності. Останні виявляються в тому, що L-аргінін сприяє більш посиленому біосинтезу білків і мобілізації енергетичних ресурсів організму, але не впливає на синтез катехоламінів; у той же час NaNO_2 , здається, мав ширший та більш значущий діапазон дії на обмін речовин і продукцію залоз внутрішньої секреції.

У наступній серії дослідів ми вивчали дію L-аргініну на функцію репродуктивної системи інфантильних білих щурят на тлі вживання ними 0,3 % водного розчину NaNO₂. Концентрація ФСГ у плазмі крові тваринок становила 111 %, відносно контрольного рівня, ГСІК – 191 %, тестостерону – 4139 % і пролактину – 82 %. Порівнюючи ці результати з попередніми, бачимо, що за “об’єднаної” дії обох донаторів NO концентрація у крові ФСГ найменша; найбільшою вона була при вживанні тваринками одного нітриту натрію. Що стосується ГСІК, то його концентрація була найвищою (191 %, відносно контролю), коли самцям вводили обидві речовини; а найменшою (119 %) вона виявилася при ін’єкціях аргініну. Не виключено, що така різниця в ефекті донаторів NO залежить від їх впливу на вироблення гіпоталамусом фоліберину та люліберину. Підсилення секреції цих гормонів має важливе значення на функцію сім’яних канальців і процес перетворення сперматогоній у сперматоцити 1 порядку (ФСГ), а також вироблення суспензіями яєчок тестостерону (ГСІК). Підтвердженням цього може бути зростання концентрації тестостерону у крові щурят цієї серії більше як у 40 разів. Взагалі, за результатами усіх трьох серій видно, що чим більше секретується ГСІК, тим більше утворюється тестостерону. Очевидне також і те, що провідну роль у стимуляції секреції цього гонадотропіну відіграє NaNO₂. Наше припущення цілком узгоджується з даними про те, що найбільша активність (і кількість) NO-синтаз зосереджена у ЦНС [7,13,14], і ніскільки не суперечить думці, що більш потужнішою компонентою циклу оксиду азоту є нітритредуктазна [9].

Збільшення вмісту інтратестикулярного тестостерону у цій серії (316 %, відносно контролю) відбувалося, очевидно, в основному під впливом нітриту натрію. Дійсно, останній “підняв” рівень цього гормону у сім’янику до 227 %, а один аргінін – тільки до 165 %. Отже, й у цій серії амінокислота в організмі щурят утилізується, в основному, в анаболічних напрямках. Це припущення можна підтвердити зростанням вмісту білка (141 %, відносно контролю) у яечку при дії одного L-аргініну.

Щодо вмісту цГМФ у testis, то нітрит натрію і аргінін діяли як синергісти – 307 %, відносно контрольних величин. Цей рівень вищий, ніж при вживанні тваринками одного NaNO₂ (227 %) та ін’єкціях L-аргініну (195 %).

Кількість ПГЕ₂, виробленого органами інфантильних щурят при ін’єкціях аргініну на тлі пиття ними 0,3 % водного розчину NaNO₂, залишалася практично без змін (98 %), так само, як і при дії одної амінокислоти. Отже, тільки пропонований нами розчин нітриту натрію сприяв посиленому утворенню простагландину.

З проведеного нами експерименту випливає, що надходження в організм інфантильних білих щурів-самців нітритів і нітратів, які метаболічно перетворюються в оксид азоту, надає стимулюючий ефект на важливі ланки онтогенезу. Ця стимуляція по-різному відбивається на активації секреції гормонів, фізіологічному стані статевих залоз, окремих напрямків обміну речовин залежно від виду донатора азоту. Треба відмітити, що використана нами доза нітриту натрію була раніше використана у дослідях нашої лабораторії, у яких показано, що кількість неорганічних окислів азоту при цьому зростає у плазмі крові, що викликає стимулюючий вплив на всмоктувальну функцію кишечника. Наші результати дозволяють розширити знання про стимулюючу дію екзогенного нітриту натрію на репродуктивну систему. Цей стимулюючий вплив, на наш погляд, є наслідком того, що NO₂ перетворюється у NO в нітритредуктазній реакції та, по суті, “працює” через NO-залежні ендогенні системи. Це підтверджується і нашими даними щодо ефектів L-аргініну, подібність впливу яких дозволяє підтвердити висловлене раніше припущення. Створюючи високий фон NO у крові та у різних тканинах, нітритредуктазна реакція забезпечує як стимуляцію через гіпоталамо-гіпофізарний ланцюг, так і безпосередньо

діючи на testis. Треба підкреслити, що менше виражені ефекти L-аргініну є наслідком того, що він, виступаючи субстратом, забезпечує дію NO-синтаз, але сам не стимулює її.

Взагалі, нам здається можливим висловити думку, що у патогенезі хронічної інтоксикації нітритами є елементи регуляторно-стимулюючої дії на репродуктивну систему самців, особливо при низьких дозах та у інфантильному віці. Одержані результати також можуть бути використані при розробці профілактичних і лікувальних заходів чоловічої афертильності.

1. Ванин А.Ф. Оксид азота в біології: история, состояние и перспективы исследования // Биохимия. – 1998. – Т.63, вып.7. – 867-869.
2. Гоженко А.І., Запорожан В.М., Савицький І.В., Галич С.Р. Порівняльні ефекти впливу ендогенних та екзогенних нітритів на стан репродуктивної системи в інфантильних самців щурів // Фізіол. журн. – 1998. – Т.44, №4. – С.68.
3. Думитру І., Мэйкэнеску-Джордеску М., Ротару М. и др. – Физиология и патофизиология воспроизводства человека.-Бухарест: Медицинское издательство, 1981.- 846с.
4. Запорожан В.Н., Савицкий И.В., Насибулин Б.А., Гоженко А.И. Возможные механизмы влияния окиси азота (NO) на развитие репродуктивной системы // Вісник морфології. – 1999. – Т.5, вип.1. – С.23-24.
5. Клінічна сексологія і андрологія / Під ред. О.Ф. Возіанова і І.І. Горпинченко – К.:Здоров'я, 1996. – 537с.
6. Малышев И.Ю. Введение в биохимию оксида азота. Роль оксида азота в регуляции основных систем организма. // Рос. журнал гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 1997. – Т.7, №1. – С.49-55.
7. Марков Х.М. Окись азота и окись углерода – новый класс сигнальных молекул // Успехи физиол.наук. – 1996. – Т.27, №4. – С.30-42.
8. Резников А.Г. Половые гормоны и дифференциация мозга. – К.:Наукова думка, 1982. – 252с.
9. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Охотин В.Е., Косицын Н.С. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих. – М.:Наука, 1998. – 159с.
10. Розен В.Б. Основы эндокринологии. – М.: Высшая школа, 1980. – 344с.
11. Савицький І.В. Біологічна хімія. – К.: Вища школа, 1973. – 488с.
12. Северина И.С. Растворимая гуанилатциклаза в молекулярном механизме физиологических эффектов оксида азота // Биохимия. – 1998. – Т.63, вып.7. – С.939-947.
13. Снайгер С.Х., Бредт Д.С. Биологическая роль окиси азота // В мире науки и техники. – 1992. – №7. – С.16-24.

14. Соловйов А.І., Стефанов О.В. Терапевтичні донори оксиду азоту: клітинні механізми дії та перспективи клінічного застосування//Ліки. – 1996. – №5-6. – С.50-53.
15. Тетер Е. Гормональные нарушения у мужчин и женщин. – Варшава: 1968. – 700с.
16. Теппермен Дж., Теппермен Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы. – М.:Мир, 1986. – 656с.
17. Ткаченко М.М. Оксид азоту та судинна регуляція // Журн.АМН України. – 1997. – Т.3,№2. – С.241-254.
18. Чазов Е.М., Исаченков В.А. Эпифиз: место и роль в системе нейроэндокринной регуляции. – М.:Наука, 1974. – 238с.
19. Furchgott R. Role endothelium in responses of vascular smooth muscle //Circ.Res. – 1983. – V.53, № 5. – 557-573.
20. Ignarro L. Nitric oxide. A novel signal transduction mechanism for transcellular communication // Hypertension. – 1990. – V.16, №5. – P.477-483.
21. Moncada S., Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. //New Engl. J.Med. – 1993. – V.329, № 27. – P.2002-2012.