

УДК 616.092.4

СОСТОЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА СЕМЕННИКОВ НА ФОНЕ ДЕЙСТВИЯ НИТРАТНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ

Шаталин Б.О., Костенко В.А.

*Украинская медицинская стоматологическая академия (Полтава);
tsebrzhinsky@mail.ru*

Совместное действие повреждающих факторов по параметрам увеличения концентрации малонового диальдегида и его прироста, снижения активностей каталазы, цитохромоксидазы подобно эффектам нитратной интоксикации. Совместное действие повреждающих факторов по параметрам количества генерации супероксида (увеличение при стимуляции НАДН и уменьшении при стимуляции НАДФН), снижения активностей супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы подобно эффектам действия рентгеновского облучения.

Ключевые слова: нитраты, рентгеновское облучение, прооксидантно-антиоксидантная система семенников.

Введение

Ежегодно население проходит рентгеновское обследование, часто использует воду и продукты с нитратами и нитритами, это касается и моряков. К факторам, которые повреждают сперматогенез, относят радиацию и интоксикации, механизмы действия которых связаны в том числе с прооксидантным эффектом. Поэтому интересно совместное действие рентгеновского облучения и нитратной интоксикации на окислительные процессы в семенниках, что и составило цель работы.

Анализ последних исследований и публикаций

Ухудшение мужского репродуктивного здоровья связано с антропогенным загрязнением окружающей среды, особенно с действием ионизирующей радиации [6; 13]; следует отметить, что существенную долю в этом имеет рентгеновское облучение. Влияние радиации на половые железы особенно вредно из-за риска генетических повреждений. Радиооблучение вызывает разрывы молекул биополимеров и образование активных форм кислорода, которые инициируют свободно-радикальное перекисное окисление [9]. Нитрат-анион способствует

окислению иона Fe^{+2} в Fe^{+3} , что превращает гемоглобин в метгемоглобин [1]. Типичным механизмом токсического действия нитратов является их восстановление до нитрит-ионов и оксида азота (NO). Доказано отрицательное влияние нитратов на семенники [2; 8]. NO образуется в цикле преобразования экзогенного нитрат-аниона [7], суточная нагрузка которого составляет 150-350 мг на человека. Эндогенно NO образуется главным образом при участии трех форм NO-синтазы из аргинина с участием НАДФН и O_2 . NO легко образует комплексы с катионами железа в составе гуанилатциклазы для ее активации, а в условиях патологии – с другими железосодержащими белками (возникновение железо-нитрозильных комплексов). Главными биохимическими мишенями для NO, которые им активируются, считают растворимую гуанилатциклазу (в рамках кальциевой мессенджерной системы) и ADP-рибозилтрансферазу, транскрипционные факторы NF-κB и AP-1, а также систему MAP-протеинкиназы, контролируемую G-белком H-Ras [12]. NO образует комплексы с Fe^{+2} , Fe^{+3} и связывается с SH-группами, которые входят в состав цитохромоксидазы и цитохрома P-

450, подавляя активность этих ферментов [5]. Супероксиданионрадикал окисляет NO в токсический пероксинитрит, который в отличие от вазодилатора NO является вазоконстриктором. Есть сведения, что NO модулирует интенсивность сперматогенеза и подвижность сперматозоидов [3].

Объекты и методы исследования

Самцов крыс линии Wistar массой 180-200 г разделили на 4 группы, по 7 животных в каждой. Животные содержались в стандартных условиях вивария при постоянной температуре и влажности воздуха, свободном доступе к воде и пище. 1 группа была составлена из интактных крыс. Крысы 2 группы получали ежедневно интрагастрально нитрат натрия в суточной дозе 200 мг/кг массы 30 суток в виде водного раствора. Крысы 3 группы подлежали фракционному трёхсуточному рентгеновскому облучению (на 4-й неделе интоксикации нитратом натрия) в дозе ежедневно 0,08 Гр,

то есть суммарно 0,25 Гр. Крысы 4 группы получали нитрат натрия и рентгеновское облучение в указанных дозах и сроках. В конце эксперимента крыс декапитировали под эфирным наркозом, выделяли семенники. В гомогенатах семенников определяли биохимические параметры: концентрации супероксиданионрадикала [10], ТБК-активных продуктов (в том числе малонового диальдегида – МДА) до (МДА-0) и после инкубации (МДА-1,5) в прооксидантном железо-аскорбинатном буферном растворе и прирост за время инкубации (ДМДА), активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы [4], глутатионпероксидазы (ГSH-пероксидаза) [11], цитохромоксидазы (ЦХО) [14]. Цифровые данные статистически обрабатывались с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Полученные цифровые данные представлены в таблице.

Биохимические параметры семенников при совместном действии на крыс нитрата натрия и рентгеновского облучения

Группы / Показатели	Инт. акт.	NaNO ₃	Рентгеновское облучение	NaNO ₃ ± рентгеновское облучение
Супероксид (стимуляция НАДН), нмоль • O ₂ ⁻ / сек.г	18,6 ± 1,2	22,7 ± 1,1 p1 < 0,02	24,3 ± 1,6 p1 < 0,02	26,3 ± 1,2 p1 < 0,002 p2 < 0,1
Супероксид (стимуляция НАДФН), нмоль • O ₂ ⁻ / сек.г	16,7 ± 1,3	9,3 ± 0,8 p1 < 0,001	11,2 ± 1,4 p1 < 0,02	10,2 ± 0,9 p1 < 0,002
ТБК-реактанты до инкубации, мкмоль/кг	19,3 ± 2,2	35,8 ± 3,1 p1 < 0,001	28,2 ± 3,2 p1 < 0,05	49,7 ± 2,5 p1 < 0,001 p2 < 0,01 p3 < 0,001
ТБК-реактанты после инкубации (МДА-1,5), мкмоль/кг	23,2 ± 3,2	45,1 ± 5,1 p1 < 0,01	37,4 ± 4,0 p1 < 0,02	61,7 ± 7,1 p1 < 0,001 p2 < 0,1 p3 < 0,02
ΔМДА, мкмоль/кг, %	3,9 ± 2,7 20 %	9,8 ± 4,2 28 %	9,2 ± 3,5 33 %	12,4 ± 4,1 25 %
СОД, ед. акт.	3,8 ± 0,3	4,7 ± 0,2 p1 < 0,05	3,1 ± 0,2 p1 < 0,1	2,5 ± 0,1 p1 < 0,002 p2 < 0,001 p3 < 0,02
ГSH-пероксидаза, ед. акт	82,9 ± 7,4	72,7 ± 5,9	71,7 ± 6,3	65,1 ± 5,6 p1 < 0,05
Каталаза, ед. акт.	0,95 ± 0,08	0,42 ± 0,03 p1 < 0,001	0,75 ± 0,04 p1 < 0,05	0,52 ± 0,07 p1 < 0,002 p3 < 0,02
ЦХО, ед. акт.	1,45 ± 0,21	0,67 ± 0,11 p1 < 0,02	0,94 ± 0,07 p1 < 0,05	0,57 ± 0,06 p1 < 0,05 p3 < 0,001

Примечание: сравнение величин p1 – с нормой, p2 – с контролем на нитрат, p3 – с контролем на рентгеновское облучение. P < 0,5 не указаны.

Выяснилось, что относительно значений нормы в семенниках при нитратной интоксикации генерация супероксида от стимулированной НАДН электронно-транспортной цепи увеличилась на 22 % (p1<0,02), при действии рентгеновского облучения – на 31 % (p1<0,02), при совместном действии обоих факторов – на 41 %, все указанные изменения достоверны. Увеличение продукции супероксида могут быть связаны с угнетением активности цитохромоксидазы и

утечкой электронов от электронно-транспортной цепи.

Против величин нормы в семенниках снизились при нитратной интоксикации генерация супероксида от стимулированной НАДФН электронно-транспортной цепи (в том числе от клеток Лейдига) – на 44 %, при действии рентгеновского облучения – на 33 %, при совместном действии обоих факторов – на 39 %, все изменения достоверны. Считаем, что нитраты окисляют Fe^{+2} и стабилизируют цитохром P-450, что снижает его активность, оксид азота блокирует фермент, образуя комплекс с Fe^{+3} по лигандному месту субстрата, рентгеновское облучение может подавлять синтез фермента на генном уровне.

Концентрация ТБК-реагирующих продуктов (в том числе малонового диальдегида – одного из вторичных продуктов свободно-радикального перекисного окисления) в семенниках по сравнению с величинами нормы увеличились при нитратной интоксикации на 86 %, при действии рентгеновского облучения – на 46 %, при их совместном действии – на 158 %, все изменения достоверные.

Прирост МДА после 1,5-часовой инкубации гомогената семенников в железо-аскорбинатном буферном растворе (индуцируемая пероксидация) отражает в обратном пропорциональной зависимости антиоксидантный потенциал. Прирост МДА не изменился в гомогенате семенников животных всех трех групп (хотя вырос в процентной доли), видимо за счет низкомолекулярных антиоксидантов.

Активность цитохромоксидазы в семенниках животных во всех трех группах оказалась меньше нормы, что способствовало утечки электронов из митохондриальной электронно-транспортной цепи на кислород вне терминальной оксидазы, что повысило уровень генерации активных форм кислорода. Возможный механизм подавления цитохромоксида-

зы нитратами связан с окислением нитратами Fe^{+2} в Fe^{+3} , а также влиянием NO на ионы железа и тиогруппы. Рентгеновское облучение может повреждать и фермент, и его синтез, и митохондриальные мембраны.

Активность супероксиддисмутазы семенников по сравнению с нормой в условиях нитратной интоксикации достоверно повысилась на 24 %, в условиях рентгеновского облучения с тенденцией к достоверности снизилась на 11 %, а при совместном действии факторов достоверно снизилась на 34 %. Следует отметить, что на генном уровне экспрессию фермента активируют супероксид и мелатонин, объясняет результаты активности СОД во 2 группе. Действие рентгеновского облучения может блокировать синтез фермента и вызвать разрывы его.

Активность каталазы достоверно снижалась в семенниках всех опытных групп соответственно на 56 %, 21 %, 24 % от значений нормы. Поскольку ферменты СОД и каталаза связаны тем, что СОД является главным продуцентом перекиси водорода в клетке, которая разрушается каталазой, то снижение активности каталазы (более СОД) может способствовать накоплению H_2O_2 и ее окислительного действия.

Дублировать функцию каталазы может глутатионпероксидаза. Активность селеносодержащей глутатионпероксидазы по сравнению с величинами нормы существенно не изменилась в условиях воздействия нитратов или облучения, активность фермента семенников снизилась на 21 % при совместном действии нитрата натрия и рентгеновского облучения. Роль в стабильности активности глутатионпероксидазы могут играть низкомолекулярные антиоксиданты.

Можно предположить, что продукция активных форм кислорода, которая инициирует свободно-радикальное перекисное окисление биополимеров,

связана с митохондриальной электроно-транспортной цепью, образованием пероксинитрита и пероксида водорода, действием рентгеновского облучения на молекулы воды и других веществ, гемической гипоксией за счет метгемоглобинообразования. Антиоксидантное звено ослаблено частично на уровне супероксиддисмутазы и каталазы, возможно компенсировано активностью глутатионпероксидазы и низкомолекулярными антиоксидантами.

Активация продукции NO, возможно, снижает активность цитохромоксидазы, а генерация супероксида может способствовать образованию пероксинитрита и его повреждающего действия на ДНК и белки. Совместное действие повреждающих факторов по параметрам МДА, прироста МДА, активностей каталазы и цитохромоксидазы подобно эффектам нитратной интоксикации. Совместное действие повреждающих факторов по параметрам источников генерации супероксида, концентрации, активностей СОД и глутатионпероксидазы подобно эффектам действия рентгеновского облучения.

Совместное действие нитратной интоксикации и рентгеновского облучения крыс в семенниках приводит к: 1) увеличению продукции супероксиданионрадикала от митохондриальной и уменьшению от микросомальной электроно-транспортных цепей, 2) увеличению концентрации малонового диальдегида, 3) снижению антиоксидантного потенциала и активностей супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, 4) снижению активности цитохромоксидазы. Совместное действие повреждающих факторов по параметрам МДА, прироста МДА, активностей каталазы и цитохромоксидазы в семенниках подобно эффектам нитратной интоксикации. Совместное действие повреждающих факторов по параметрам источников генерации супероксида, активностей СОД и глутатионпероксидазы в семенниках подобно эффектам дей-

ствия рентгеновского облучения.

Выводы

Таким образом, совместное действие рентгеновского облучения и нитратной интоксикации способствует усилению прооксидантного звена и ослаблению антиоксидантного в семенниках.

Литература

1. Вредные химические вещества. Неорганические соединения элементов V-VIII групп. Справочник / Под ред. В.А.Филова. -Л.:Химия, 1989. -592 с.
2. Денисенко С.В. Динаміка змін перекисного окислення ліпідів і антиоксидантного захисту в сім'яниках при хронічній нітратній інтоксикації // Пробл. екол та мед. – 2002. – Т.6, №5. – С.8-10.
3. Запорожан В.М. NO-залежні механізми стимуляції репродуктивної системи самців / В.М.Запорожан, А.І.Гоженко, І.В.Савицький. // Безплідність у чоловіків. –О.: Одес. держ. мед. ун-т, 2001. –С. 52-60.
4. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / Під ред. проф. Кайдашева І.П. -Полтава: Полімет, 2003.-319 с.
5. Осипов А.Н. Биологическая роль нитрозильных комплексов гемопротенинов / А.Н.Осипов, Г.Г.Борисенко, Ю.А.Владимиров // Успехи биологической химии. -2007. –Т.47. –С.259-292.
6. Почерняева В.Ф. Експериментальне обґрунтування застосування антиоксидантів як гонадопротекторів //Автореф. дис.... д.м.н. -К., 1997. -40 с.
7. Реутов В.Л. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих / В.Л.Реутов, Е.Г.Сорокина, В.Е.Охотин, Н.С.Косицын –М.: Наука, 1998. - 159 с.
8. Соловйова Н.В. Зміни вільнорадикальних окиснювальних процесів у тканинах сім'яників білих щурів при дії на організм відпрацьованого моторного масла / Н.В.Соловйова, В.О.Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. -2010. –Т.10, №1. –С. 77-81.
9. Тимофеев-Ресовский Н.В. Введение в молекулярную радиобиологию / Н.В.Тимофеев-Ресовский, А.В.Савич, М.И.-Шальнов. -М.:Медицина, 1981. -320 с.
10. Цебржинский О.И. Количественное оп-

ределение супероксида НСТ-тестом в тканях // Тези доповідей науково-практичної конференції "Організація токсикологічної допомоги в Україні". –Київ, 2002. –С. 65-66.

11. Mills G. C. the purification of glutathione peroxidase of erythrocytes / G. C. Mills // J. Biol. Chem. –1954. –V. 234, №3. – P. 502–506.
12. Moncada S. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology / S.Moncada., R.M.Palmer, E.A.Higgs // Pharmacol Rev. -1991. -Jun;43(2). -P.109-142.
13. Ogivy-Syuact A.L. Effect of radiation on the human reproductive system / A.L.Ogivy-Syuact, S.M.Shalet // Environ. Health. Perspect. –1993. –Vol.101, Suppl.2. – P. 109-116.
14. Straus W. Colorimetric microdetermination of cytochrom oxydase / W. Straus // The Journal of Biological Chemistry. –1954. – V. 207, №2. –P. 733-743.

References

1. Harmful chemicals. Inorganic compounds of elements of groups V-VIII. / Ed. V.A.Filov. -L.: Chemistry, 1989. -592 p. (in Russian).
2. Denisenko S. Dynamics of lipid peroxidation and antioxidant defense in the testes in chronic nitrate intoxication / Problems. Ekol and Med. — 2002. — Vol.6, № 5. — P.8-10. (in Ukrainian).
3. Zaporozhan VM NO-dependent mechanisms to stimulate the reproductive system of males / V.M.Zaporozhan, A.I.Hozhenko, I.V.Savytsky // Infertility in men. -O.: Odes. state. honey. University Press, 2001. -P. 52-60. (in Ukrainian).
4. Methods Clinical and experimental studies in medicine / ed. prof. Kaydasheva I.P. - Poltava: Polimet, 2003.-319 p. (in Ukrainian).
5. Osipov A.N. The biological role of hemoprotein nitrosyl complexes / A.N.Osipov, G.G.Borisenko, Yu.A.Vladimirov // Success of Biological Chemistry. -2007. -V.47. -P.259-292. (in Russian).
6. Pochernyayeva V.F. Experimental study the use of antioxidants as honadoprotektor / Abstract. Thesis. Doc. diss.... -K., 1997. -40 p. (in Ukrainian).
7. Reutov V.L. Cyclic conversion of nitric oxide in the body of mammals /

V.L.Reutov, E.G.Sorokina, V.E.Ohotin, N.S.Kositsyn. -M.: Nauka, 1998. -159 p. (in Russian).

8. Solovieva N.V. Changes of free radical oxidative processes in the tissues of the testes of white rats when exposed to the body of waste engine oil / N.V.Solovyova, V.O.Kostenko // Actual problems of modern medicine: Visn. Ukrainian Med. Dental. Academy. -2010. -V.10, № 1. -P. 77-81. (in Ukrainian).
9. N.V. Timofeev-Resovsky. Introduction to molecular radiobiology / N.V.Timofeev-Resovskii, A.V.Savich, M.I.Shalnov. -M.: Medical, 1981. -320 p. (in Russian).
10. Tsebrzhinsky O.I. Quantitative determination of superoxide NBT-test in tissues // Proceedings of the scientific-practical conference "Organization of toxicological aid in Ukraine.", Kiev, 2002. -P. 65-66. (in Russian).
11. Mills G. C. the purification of glutathione peroxidase of erythrocytes / G. C. Mills // J. Biol. Chem. –1954. –V. 234, №3. – P. 502–506.
12. Moncada S. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology / S.Moncada., R.M.Palmer, E.A.Higgs // Pharmacol Rev. -1991. -Jun;43(2). -P.109-142.
13. Ogivy-Syuact A.L. Effect of radiation on the human reproductive system / A.L.Ogivy-Syuact, S.M.Shalet // Environ. Health. Perspect. –1993. –Vol.101, Suppl.2. – P. 109-116.
14. Straus W. Colorimetric microdetermination of cytochrom oxydase / W. Straus // The Journal of Biological Chemistry. –1954. – V. 207, №2. –P. 733-743.

Резюме

СТАН ОКИСНОГО МЕТАБОЛІЗМУ СІМ'ЯНИКІВ ЗА ДІЇ НІТРАТНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ

Шаталін Б.А., Костенко В.А.

Спільна дія факторів за параметрами збільшення концентрації малонового діальдегіду і його приросту, зниження активностей каталази, цитохромоксидази подібна ефектам нітратної інтоксикації. Спільна дія факторів за параметрами кількості генерації супероксиду (збільшення при стимуляції НАДН і змен-

шенні при стимуляції НАДФН), зниження активностей супероксиддисмутази і глутатіонпероксидази подібна ефектам дії рентгенівського опромінення.

Ключові слова: нітрати, рентгенівське опромінення, прооксидантно-антиоксидантна система сім'яників

Summary

OXIDATIVE METABOLISM TESTIS STATE UNDER THE INFLUENCE OF NITRATE INTOXICATION AND X-RAYS

Shatalin B.O., Kostenko V.A.

The combined effect of damaging factors on parameters of malondialdehyde and increase the activity of catalase,

cytochrome oxidase is similar to the effects of nitrate toxicity. The combined effect of damaging factors on parameters of superoxide generation sources, the activities of superoxide dismutase and glutathione peroxidase activity is similar to the effects of X-ray irradiation.

Keywords: nitrates, X-rays, the prooxidant – antioxidant system of the testes.

Впервые поступила в редакцию 11.03.2014 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования

УДК 611.24.

ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ НИРОК У ХВОРИХ З ХРОНІЧНИМ ОБСТРУКТИВНИМ ЗАХВОРЮВАННЯМ ЛЕГЕНЬ

Гоженко А.І.¹, Ковалевська Л.А.², Горбенко Т.М.³

¹Український НДІ медицини транспорту, м. Одеса,

²Одеський Національний медичний університет, МОЗ України

³Військово-медичний клінічний центр Південного Регіону, м. Одеса;
docvlad07@rambler.ru

У статті досліджено особливості функціонування нирок при ХОЗЛ, вивчені швидкість клубочкової фільтрації та нирковий функціональний резерв у хворих з ХОЗЛ в залежності від стадії захворювання. Відзначено зниження швидкість клубочкової фільтрації, НФР у хворих з ХОЗЛ, порушення азотовидільної функції та появу сечового синдрому при загостренні ХОЗЛ.

Ключові слова: хронічне обструктивне захворювання легень, швидкість клубочкової фільтрації, нирковий функціональний резерв.

Актуальність ХОЗЛ обумовлена високою розповсюдженістю, інвалідизацією та смертністю, а також високою вартістю лікування.

В Україні захворюваність на ХОЗЛ складає 79,2 випадків на 100 тисяч дорослого населення [1, 2].

Смертність, яка пов'язана з ХОЗЛ, стрімко зростає з кожним роком. Згідно з прогнозом експертів ВООЗ, до 2020 року це захворювання переміститься з четвертого на третє місце в структурі загальної смертності [3, 4]. За результатами проведеного 5-річного аналізу, вижи-

вання осіб з ХОЗЛ, основними предикторами виникнення смерті названі: вік, ознаки гіпертрофії правого шлуночку на ЕКГ, хронічна ниркова недостатність, перенесений інфаркт міокарду, зниження фракції викиду[5]. Проведені в 2006–2007 рр. Mannino D.M., McGarvey L.P., Jensen H.H. епідеміологічні дослідження показали, що найбільш часто пацієнти з документованої ХОЗЛ гинули від кардіоваскулярних причин (25 % випадків), пухлин різної локалізації (з них 20–33 % випадків – рак легенів) та інших причин, включаючи патологію нирок (30 % випадків) [6].