

УДК 591.147.8:591.46:599.323.4:577.175.624

О.А. Дмитриева, Б.В. Шерстюк

ВЛИЯНИЕ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННОГО СНИЖЕНИЯ УРОВНЯ ТЕСТОСТЕРОНА НА ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОЛОВЫХ ОРГАНОВ КРЫС

Владивостокский государственный медицинский университет

Ключевые слова: стресс, NADPH-диафораза, гистохимия, половые органы.

Ведущее значение в регуляции половых функций принадлежит гормональной системе. В частности, андрогены обеспечивают развитие, рост и функционирование органов репродуктивной системы самцов животных и мужчин. Уровень тестостерона с возрастом уменьшается, продукцию тестостерона также ингибируют стресс, курение и неблагоприятные факторы внешней среды [1, 3]. Кроме андрогенов, важную роль в осуществлении копулятивной составляющей полового поведения выполняет филогенетически более древняя система регуляции – нитроксидазная, реализация функций которой обусловлена присутствием в половых органах диффундирующего молекулярного мессенджера – оксида азота. Являясь ключевым элементом регуляции тонуса сосудов, он оказывает влияние как на физиологические механизмы местной регуляции кровотока, так и на патологические процессы, связанные с нарушением кровообращения [2, 4, 5].

Известно, что регуляция обмена оксида азота напрямую связана с уровнем активности различных форм нитроксидсинтазы, ксантинооксидазы и NADPH диафоразы. Последняя, являясь солюбилизованным с нитроксидсинтазой ферментом, считается ее топохимическим маркером. Биохимическим и гистохимическим исследованиям ферментных систем, участвующих в метаболизме оксида азота как в норме, так и при различных патологических процессах, посвящено большое количество работ [7–10]. Вместе с тем сведения о гистохимических изменениях NADPH диафоразы половых органов самцов под влиянием неблагоприятных факторов в литературе малочисленны [6, 15].

Настоящее исследование предпринято с целью изучения динамики изменений уровня гормонов, регулирующих половые функции (тестостерон) и фермента, участвующего в обмене оксида азота (NADPH диафораза) при остром и хроническом воздействии стрессорных факторов.

Исследование выполнено на 18 самцах белых крыс линии Wistar в возрасте 3–5 месяцев и массой тела 200–250 г, которые были разделены на 4 группы и подвергнуты воздействию острого и хронического холодового стресса по методике Martynova et al. [12]:

1 я группа (6 животных) – острый холодовой стресс (-20°C , 20 мин однократно),
2 я группа (3 животных) – хронический холодовой стресс (-20°C , 20 мин) на протяжении 4 суток,
3 я группа (3 животных) – хронический холодовой стресс (-20°C , 20 мин) на протяжении 7 суток,
4 я группа (3 животных) – хронический холодовой стресс (-20°C , 20 мин) на протяжении 14 суток.

Предварительно анестезированных животных, (тиопентал натрия, 4–5 мг/кг внутривенно), забивали декапитацией в утренний период времени. Развитие стресс реакции подтверждалось наличием точечных кровоизлияний в слизистой оболочке желудка. В качестве контроля использовали трех животных того же возраста и массы. Эксперименты проводены в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Для получения плазмы свежую кровь центрифугировали на рефрижераторной лабораторной центрифуге с горизонтальным ротором РС 6 при ускорении 1500 g при 1500 об./мин в течение 15 мин. Содержание тестостерона в плазме крови определяли радиоиммунологическим методом с использованием набора реактивов для радиоиммунологического определения тестостерона в сыворотке крови человека «РИА ТЕСТОСТЕРОН ПР» («Белорис», Минск). Концентрацию гормона определяли по калибровочному графику, построенному на основании калибровочных проб (нмоль/мл).

Гистохимически исследовали семенники и кавернозные тела полового члена крыс самцов. Участки тканей фиксировали в 4% параформальдегиде на 0,1M фосфатном буфере при pH 7,2 и температуре $+4^{\circ}\text{C}$ в течение 6 часов, отмывали в фосфатном буфере и забуференном растворе сахарозы. На криостатных срезах стандартной толщины 15 мкм проводили гистохимическую реакцию по выявлению NADPH диафоразы по методу Норе и Vincent [11]. Метрические параметры NADPH реактивных нейронов оценивали с применением ранговой и медианной фильтрации на видеокomпьютерной системе: микроскоп Carl Zeiss, компьютер Duroc 750 Mb, графический редактор Jasc Paint Shop Pro 6, программа Image Processing Toolbox пакета Matlab R12 6.0.88 (Mathworks, Inc). Оптическую плотность продукта гистохимической реакции выражали в условных единицах оптической плотности. Математическая обработка полученных результатов проводилась методами вариационной статистики с использованием профильного компьютерного программного пакета GB Stat Graphic.

В контрольных и экспериментальных исследованиях активность NADPH диафоразы выявлена в цитоплазме гладкомышечных клеток, фиброцитах на ружных отделах кавернозных тел и внутренней части белочной оболочки. Границы клеток различимы слабо, ядра светлые, имели треугольную и полигональную форму и относительно крупные размеры. Гранулы формазана, помимо цитоплазмы клеток, выявлялись

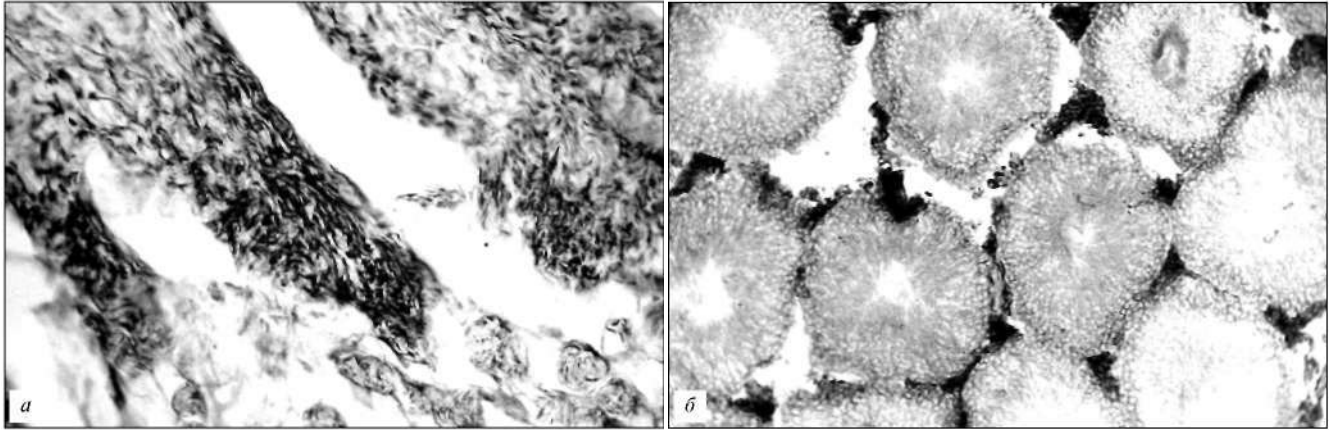


Рис. 1. NADPH диафараза половых органов крыс самцов.

a – кавернозное тело, активность фермента на границе спонгиозной ткани и фиброзной оболочки; *б* – семенник, активность фермента в стенке капилляров и цитоплазме клеток стромы. Метод Норе, Vincent, *a* – $\times 250$, *б* – $\times 400$.

внеклеточно и были интенсивно окрашены в темный синий цвет. В то же время активность фермента в структурах внутренних отделов кавернозных тел, стенках синусоидных сосудов оказалась низкой (рис. 1, а). В семенниках крыс активностью NADPH диафаразы обладала стенка сосудов стромы, а также цитоплазма миоидных и соединительно-тканых клеток стромы и в значительно меньшей степени – базальные отделы эпителия извитых канальцев (рис. 1, б).

В экспериментальных исследованиях под влиянием однократного воздействия низкой температуры наблюдалось недостоверное снижение уровня тестостерона и увеличение активности NADPH диафаразы кавернозных тел полового члена и семенников. Статистически значимое снижение уровня тестостерона плазмы крови отмечено во 2-й группе животных, параллельно наблюдалось достоверное увеличение активности NADPH диафаразы в структурах, обладающих активностью фермента в семенниках и кавернозных телах. Закономерность изменений сохранялась в 3-й и 4-й группах. На 14-е сутки эксперимента отклонения от контрольных значений исследуемых величин достигали 25–30% (рис. 2). Изменений локализации NADPH диафаразы в различные сроки холодового стресса не отмечено.

В результате проведенного исследования установлено широкое представительство NADPH диафаразопозитивных структур в кавернозных телах полового члена и семенниках крыс и подтвержден факт ингибирования продукции тестостерона под воздействием стресса [1, 3]. Выявленная обратная корреляция между снижением уровня тестостерона и увеличением активности NADPH диафаразы в результате холодового стресса может иметь важное значение в патогенезе сексуальных нарушений, развивающихся в результате воздействия неблагоприятных факторов внешней среды. Обсуждая биологическое значение увеличения активности NADPH диафаразы под действием стрессорных факторов, можно предположить как цитопротективный, так и проапоптотический эффект данного феномена.

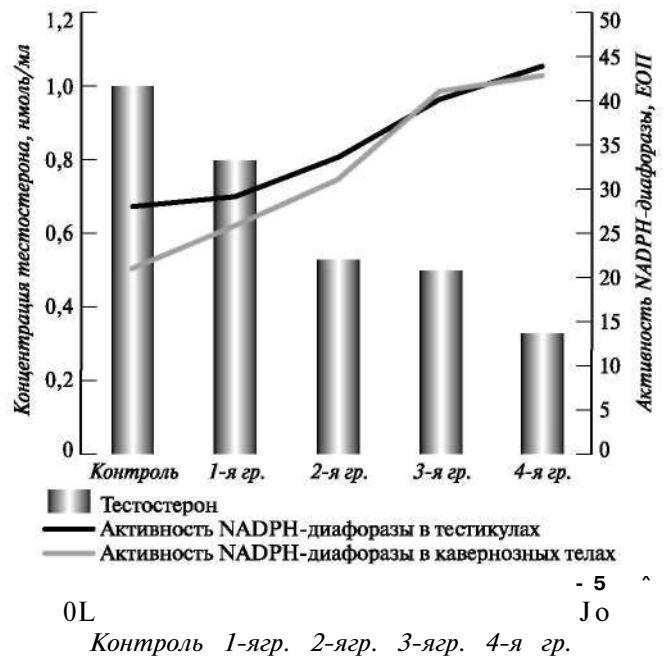


Рис. 2. Изменения уровня тестостерона и активности NADPH диафаразы под влиянием холодового стресса.

Известно, что избыток NADPH диафаразы ведет к повышению синтеза супероксид-аниона, стимулирующего окислительный стресс. Взаимодействие оксида азота и супероксид-аниона в свою очередь зависит от количества восстановленного глутатиона в клетке. При недостатке последнего возникает окислительный стресс с последующим развитием патологических процессов [4, 5]. Подтверждением данной схемы патогенеза могут являться сведения о значении повышения индуцибельной формы нитроксидсинтазы в развитии интракавернозного фиброза [8, 13, 14].

Несомненно, что увеличение активности NADPH диафаразы в половых органах под действием стрессорных факторов может иметь значение в патогенезе сексуальных нарушений. Также возможно предполагать, что ингибирование индуцибельной формы нитроксидсинтазы, ксантинооксидазы и NADPH диафаразы может иметь положительный эффект в профилактике сексуальных расстройств, развивающихся под действием неблагоприятных факторов.

Литература

1. Гончаров Н.П. // Проблемы эндокринологии. — 1996. — № 4. — С. 28–31.
2. Горрен А.К.Ф., Майер Б. // Биохимия. — 1998. — №7. — С. 870–880.
3. Клиническая эндокринология / под ред. Н.Т. Старковой. — М.: Медицина, 1991.
4. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Охотина В.Е., Косицын Н.С. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих. — М.: Наука, 1997.
5. Тэйлор Б.С., Аларсон Л.Х., Биллиар Т.Р. // Биохимия. — 1998. — Т. 63. — С. 905–923.
6. Banan A., Fields J.Z., Decker H. et al. // *J. Pharmacol. and Exp. Ther.* — 2000. — Vol. 294, No. 3. — P. 997–1008.
7. Bush P.A., Aronson W.J., Buga G.M. et al. // *J. Urol.* — 1992. — Vol. 147, No. 6. — P. 1650–1655
8. Carrier S., Nagaraju P., Morgan D.M. et al. // *J. Urol.* — 1997. — Vol. 157. — P. 1088–1092.
9. Ferrini M., Magee T.R., Vernet D. et al. // *Biol. Reprod.* — 2001. — Vol. 64. — P. 974–982.
10. Ferrini M., Wang C., Swerdloff R.S. et al. // *Neuroendocrinology.* — 2001. — Vol. 74, No. 1. — P. 1–11.
11. Hope V.T., Vinsent S.R. // *Histochem. Cytochem.* — 1989. — Vol. 37. — P. 653–661.

12. Martynova N, Kalinin A., Rybakina E. et al. // *Int. J. Tissue React.* — 1997. — Vol. 19, No. 1–2. — P. 71.
13. Jun-Li C, Yin-Ming Z., Li-Cai Z., Shi-Ming D. // *Acta Physiol.* — 2000. — Vol. 52, No. 3. — P. 235–238.
14. Garban H, Vernet D., Freedman A. et al. // *Am. J. Physiol.* — 1995. — Vol. 268. — P. 467.

Поступила в редакцию 17.11.2006.

THE INFLUENCE OF THE STRESS INDUCED REDUCTION OF THE TESTOSTERONE LEVEL ON THE HISTOCHEMICAL CHANGES OF GENITALS OF RATS
O.A. Dmitrieva, B.V. Sherstyuk
Vladivostok state medical university

Summary — In experiment on 18 male rats authors modeled sharp and chronic cold stress (–20°C on 20 min) in 4 groups of animals. Studied the changes of a testosterone level in plasma by radioimmune analysis and changes of activity of NADPHdiaphorase of the testicles and cavernous bodies by the histochemical method by Hope, Vincent (1989). The activity of enzyme was estimated cytophotometrically. The wide representation of the structures with active NADPHdiaphorase in the testicles and cavernous bodies is established. As a result of sharp cold stress the reduction in a testosterone level and increase of NADPHdiaphorase activity of the testicles and cavernous bodies on 4th, 7th and 14th day of the stress reaction was observed. The revealed changes can be the part of the pathogenesis of the sexual dysfunctions at stress reaction.

Pacific Medical Journal, 2007, No. 3, p. 55–57.

УДК 616 002.5 053.5/6 036.22 084(571.63)

Л.Н. Мотанова, Е.А. Кузнецов

ТУБЕРКУЛЕЗ У ПОДРОСТКОВ В ПРИМОРСКОМ КРАЕ НА РУБЕЖЕ ВЕКОВ: ЭПИДЕМИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ, КОНТРОЛЬ, ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ

Владивостокский государственный медицинский университет

Ключевые слова: туберкулез, подростки, эпидемическая ситуация.

Туберкулез является одной из самых актуальных и наиболее недооцениваемых проблем здравоохранения в мире [9, 10]. Смертность от этого заболевания занимает первое место в структуре смертности от всех инфекционных болезней [1]. Конец XX — начало XXI века характеризуется ухудшением эпидемической ситуации по туберкулезу во всем мире, что обусловлено большим объемом резервуара инфекции, несвоевременным выявлением больных и эндогенной реактивацией патологического процесса, особенно в группах риска. Важную роль играет и появление запущенных, остро прогрессирующих форм туберкулеза и формирование лекарственной устойчивости микобактерий [7]. Современная ситуация с туберкулезом в России остается крайне напряженной — он стабильно занимает первое место среди всех инфекций. Эпидемия туберкулеза, начавшаяся в России с конца XX века, отразилась и на показателях заболеваемости детей и

подростков, увеличившейся за последние 10 лет более чем в 2 раза [8]. Рост заболеваемости туберкулезом детского и подросткового населения стал характерной и весьма тревожной тенденцией для нашей страны.

Во все, даже эпидемиологически благополучные времена, заболеваемость туберкулезом подростков значительно превышала заболеваемость детей. Это связано с анатомо физиологическими особенностями подросткового периода и с интенсивностью психоэмоциональных перегрузок в данной возрастной группе. В настоящее время туберкулез у подростков продолжает оставаться одной из наиболее важных проблем здравоохранения [4, 5]. Удельный вес выявленного недуга у подростков в общей заболеваемости туберкулезом постоянно увеличивается. Рост заболеваемости сопровождается утяжелением ее структуры, увеличением доли внелегочного туберкулеза и удельного веса деструктивных форм с бактериовыделением, а также остро прогрессирующих и лекарственно устойчивых форм [6]. Туберкулез у подростков относится к мультифакторным заболеваниям, что определяет особенности и тяжесть его течения. Вариации проявления этой инфекции, многообразие групп повышенного риска, своеобразие подросткового возраста определяют актуальность научных исследований по данной проблеме.

Изучены эпидемиологические показатели туберкулеза в Приморском крае с 1994 по 2005 г. Выявлен рост заболеваемости среди подростков, которая к 2005 г. составила 76,5 на 100 тыс. населения, превысив средние показатели по стране в 2,3 раза. Общая заболеваемость в этот период также увеличилась. Это