



Список литературы

1. Старцев А.И. Фитомасса чистых и смешанных древостоев сосны обыкновенной в Нижегородской и Костромской областях // Лесоведение. 2007. №2. С.51–56.
2. Сукачев В.Н. Основные понятия лесной биогеоценологии // Основы лесной биогеоценологии. М., 1964. С.5–49.
3. Лесотаксационный справочник. М., 1973. 208 с.
4. Уткин А.И. Биологическая продуктивность лесов (методы изучения и результаты) // Лесоведение и лесоводство (итоги науки и техники, ВИНИТИ АН СССР). М., 1975. Т.1. С.9–189.
5. Корчагин А.А. Строение растительных сообществ // Полевая геоботаника. Л., 1976. Т.5. С.7–320.
6. Тарасов А.О. Руководство к изучению лесов юго-востока европейской части СССР. Саратов, 1981. 102 с.
7. Болдырев В.А. К изучению запасов фитомассы древостоя в нагорных лесах Саратовского Правобережья // Вопросы лесной экологии, биоценологии и охраны природы в степной зоне. Куйбышев, 1988. С.11–14.
8. Базилевич Н.И., Титлянова А.А., Смирнов В.В., Родин Л.Е. и др. Методы изучения биологического круговорота в различных природных зонах. М., 1978. 184 с.
9. Маевский П.Ф. Флора средней полосы Европейской части СССР. Л., 1964. 880 с.
10. Черепанов С.К. Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). СПб., 1995. 992 с.
11. Болдырев В.А. Структура и продуктивность лесов южной части Приволжской возвышенности // Лесоведение. 2006. №6. С.27–33.

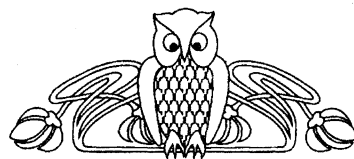
УДК 612.12/18: 599.323.4

РОЛЬ ПОЛОВЫХ ГОРМОНОВ В РЕГУЛЯЦИИ БАЗАЛЬНОЙ И СТРЕССОРНОЙ СЕКРЕЦИИ ОКСИДА АЗОТА У НОРМОТЕНЗИВНЫХ И ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС

О.В. Семьякина-Глушковская, Т.Г. Анищенко, Т.А. Синдякова,
И.А. Семьякин-Глушковский, С.В. Капралов*, И.А. Фролов*

Саратовский государственный университет
E-mail: glushkovskaya@mail.ru

* Саратовский государственный медицинский университет



Изучены эффекты гонадэктомии на содержание оксида азота в крови у самок и самцов нормотензивных и гипертензивных крыс в условиях покоя и стресса. Выявлено существенное влияние женских, но не мужских половых гормонов на секрецию оксида азота при различных функциональных состояниях организма (норма, стресс, артериальная гипертония), что может быть одним из возможных механизмов повышенной кардиоваскулярной устойчивости к стресс-индуцированным повреждениям в женском организме по сравнению с мужским организмом.

Ключевые слова: оксид азота, гонадэктомия, стресс, артериальная гипертония.

Role of Sex Hormones in Regulation of Basal and Stressed Secretion of Nitric Oxide in Normotensive and Hypertensive Rats

O.V. Semyachkina-Glushkovskaya, T.G. Anishchenko,
T.A. Sindyakova, I.A. Semyachkin-Glushkovskij,
S.V. Kapralov, I.A. Frolov

We studied effects of gonadectomy on nitric oxide content in blood in normotensive and hypertensive females and males at rest and stress situation. We revealed the stronger estrogens but not androgens in regulation of basal and stressed secretion of nitric oxide under different physiological conditions (rest, stress, arterial hypertension) that may be one of possible mechanism responsible for higher cardiovascular resistance to stress-induced damages in female compared with male.

Key words: nitric oxide, gonadectomy, stress, arterial hypertension.

Клинические и экспериментальные данные свидетельствуют о том, что принадлежность к женскому полу является самостоятельным фактором защиты в устойчивости к стрессу и развитию сердечно-сосудистых заболеваний, включая артериальную гипертонию. В основе данного феномена могут лежать половые различия в активности системы генерации оксида азота (NO). Действительно, продукция NO и NO-зависимая вазодилатация у женщин выше, чем у мужчин [1, 2]. В исследованиях *in vitro* было выявлено более высокое содержание NO в различных типах сосудов у самок по сравнению с самцами [3–6]. В наших предыдущих исследованиях было показано, что базальная и стрессорная продукция NO выше у самок, чем у самцов, как в норме, так и при развитии ренальной гипертонии [7]. Вполне очевидно, что повышенная активность системы генерации NO в женском организме по срав-



нению с мужским обеспечивается половыми различиями в активности регуляторных факторов, среди которых ведущую роль могут играть половые гормоны. В опытах *in vitro* на нормотензивных животных были выявлены стимулирующие эффекты эстрогенов в отношении продукции и секреции NO [8]. При этом роль андрогенов в процессах контроля NO-ергических влияний оценивается неоднозначно. Малоизучены регулирующие эффекты половых гормонов в отношении активности NO-ергической системы в условиях стресса и при патологических состояниях.

Целью данного исследования явилось изучение эффектов гонадэктомии на содержание NO в крови у самок и самцов нормотензивных и гипертензивных крыс в условиях покоя и стресса.

Опыты поставлены на интактных и гонадэктомированных самках и самцах 120 нормотензивных и 80 гипертензивных крыс. Для индуцирования гипертонии была использована модифицированная нами модель почечной гипертонии Голдблетта [9]. Удаление гонад и наложение клипсы проводили под нембуталовым наркозом (35–40 мг/1000 г). Спустя 7 недель после операции, когда развивалась стойкая гипертония, животных подвергали стрессу в виде иммобилизации на спине в течение 60 минут. На 5-й и 60-й минутах стресса, а также через 5 и 60 минут после его отмены определяли содержание NO по наличию нитратов и нитритов в крови с применением реактива Грисса [10]. Такому же стрессу подвергались и нормотензивные самки и самцы. Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программы Statistica 5.0. Для сравнения внутри группы относительно исходного состояния применялся тест Wilcoxon, для межгрупповых сравнений – тест Mann–Whitney и ANOVA-2 с постхоковым анализом ранговым тестом Duncan. Различия считались достоверными при $p < 0.05$.

У самок овариэктомия сопровождалась снижением базальной продукции NO, причем более существенно у гипертензивных особей, чем у нормотензивных особей (таблица). Так, в условиях дефицита половых гормонов у нормотензивных самок содержание NO в

крови уменьшалось в 1.3 раза ($p < 0.05$), а у гипертензивных самок – в 2.7 раза ($p < 0.05$). У нормотензивных и гипертензивных самцов кастрация не влияла на базальную секрецию NO. В силу этих причин обнаруженные нами половые различия в базальном содержании NO в крови у интактных животных нивелировались у гонадэктомированных крыс как в норме, так и при развитии гипертонии (см. таблицу).

Содержание оксида азота в крови (мкг/мл) у нормотензивных и гипертензивных самок и самцов крыс до и после удаления гонад

Группы животных	Самки		Самцы	
	Нормотензивные	Гипертензивные	Нормотензивные	Гипертензивные
Интактные	0.54±0.04†	0.44±0.05†	0.42±0.02	0.22±0.03
Гонадэктомированные	0.40±0.05*	0.16±0.03*	0.47±0.13	0.19±0.02

Примечание. * – $p < 0.05$ относительно интактных животных; † – $p < 0.05$ относительно самцов.

В условиях дефицита половых гормонов отмечались существенные изменения в динамике стрессорной секреции NO, наблюдаемые также лишь у самок, но не у самцов. Действительно, на фоне снижения базальной секреции NO у самок отмечалось подавление его стрессорной продукции, причем более выражено у гипертензивных особей по сравнению с нормотензивными особями. Так, содержание NO в крови у гипертензивных самок после удаления гонад снижалось в 1.4 раза ($p < 0.05$) на 5 мин стресса и в 1.2 раза ($p < 0.05$) на 60 мин стресса (рис. 1, б); у нормотензивных самок отмечалась лишь тенденция к снижению стрессорной секреции NO (рис. 1, а). В отличие от самок, у самцов стрессорные уровни NO не отличались между интактными и кастрированными особями как в норме, так и при развитии гипертонии (рис. 2, а, б).

Важно отметить, что у животных с дефицитом половых гормонов, несмотря на отсутствие половых различий в базальных уровнях NO и подавление его стрессорной продукции у женских особей, тем не менее, содержание NO в крови при стрессе у самок было значительно выше, чем у самцов как в нормотензивной, так и в гипертензивной группах (рис. 3, а, б).

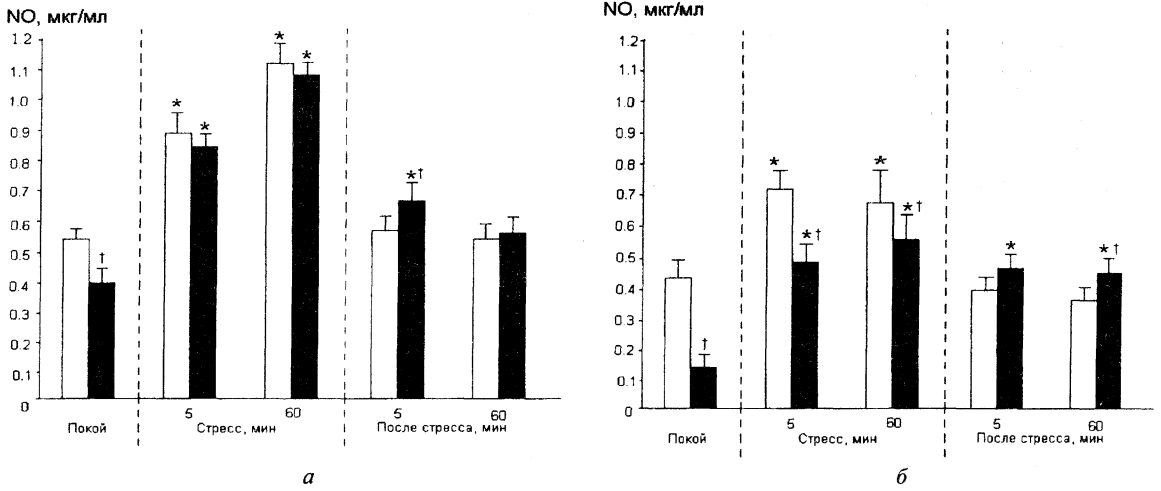


Рис. 1. Влияние овариозктомии на содержание NO (мкг/мл) в крови у нормотензивных (а) и гипертензивных (б) самок крыс в покое, при стрессе и после его отмены. Светлые столбики – интактные самки, темные – овариозктомированные самки, * – $p < 0.05$ по сравнению с исходным уровнем; † – с интактными самками

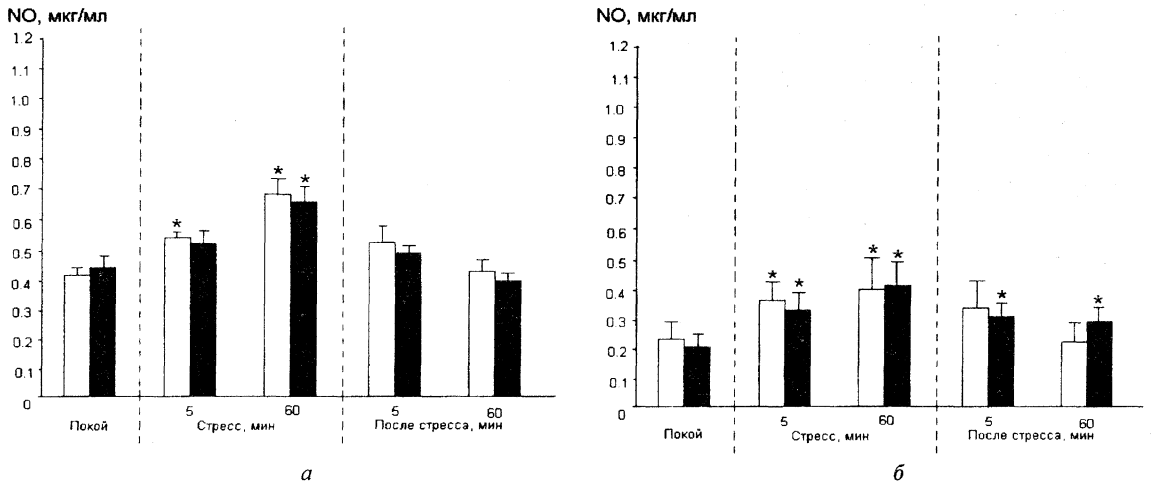


Рис. 2. Влияние кастрации на содержание NO (мкг/мл) в крови у нормотензивных (а) и гипертензивных (б) самцов крыс в покое, при стрессе и после его отмены. Светлые столбики – интактные самцы, темные – кастрированные самцы, * – $p < 0.05$ по сравнению с исходным уровнем; † – с интактными самцами

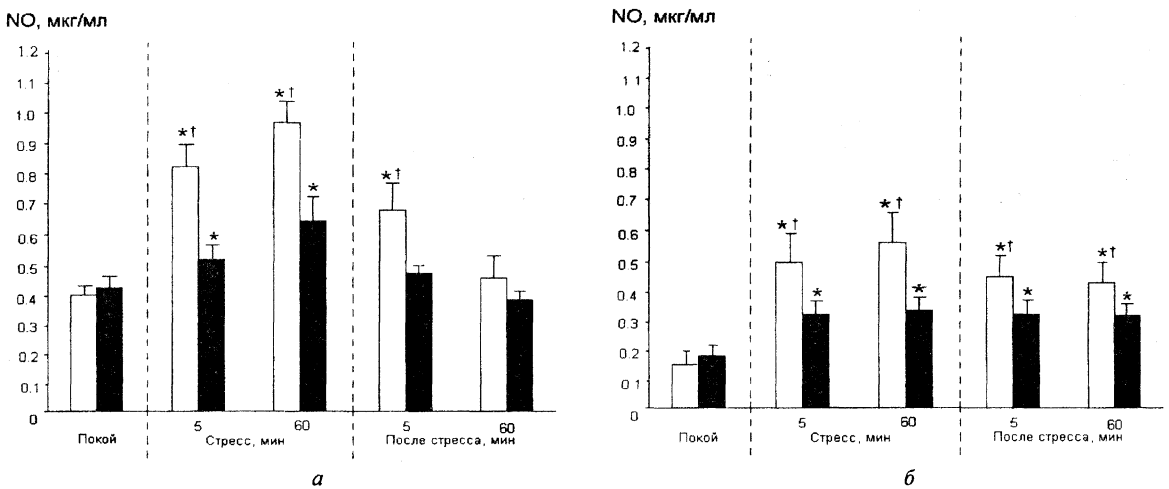


Рис. 3. Базальные и стрессорные уровни NO в крови у нормотензивных (а) и гипертензивных (б) самок и самцов крыс с дефицитом половых гормонов в покое, при стрессе и после его отмены. Светлые столбики – самки, темные – самцы, * – $p < 0.05$ по сравнению с исходным уровнем, † – $p < 0.05$ по сравнению с самцами



Гонадэктомия сопровождалась существенным нарушением восстановительных процессов, проявляющихся в длительной постстрессорной секреции NO, наблюдаемой у нормотензивных самок и у гипертензивных самок и самцов. Так, на 5 мин постстрессорного периода содержание NO в крови в указанных группах животных оставалось достоверно высоким, нормализуясь к 60 мин у нормотензивных самок и оставаясь повышенным у гипертензивных крыс обоего пола (см. рис. 1, а, б и рис. 2, б).

Таким образом, результаты исследования показали, что гонадэктомия сопровождалась подавлением продукции NO как у нормотензивных, так и у гипертензивных самок, но не у самцов как в покое, так и при стрессе. Этот факт свидетельствует о ведущей роли эстрогенов, но не андрогенов в регуляции секреции NO при различных функциональных состояниях организма. Наши данные органично согласуются с результатами экспериментов, проведенных *in vitro*, отражающих стимулирующие эффекты эстрогенов в отношении эндотелийзависимой релаксации сосудов, активности эндотелиальной NO-синтазы и непосредственно секреции NO [4, 8, 11].

Несмотря на снижение базальной продукции NO у овариоэктомированных женских особей, при стрессе как у нормотензивных, так и у гипертензивных самок содержание NO в крови было значительно выше, чем у самцов. Эти данные дают основание предположить наличие в женском организме полифакторности стимулирующих механизмов в отношении продукции NO, которые, очевидно, находятся в реципрокных взаимоотношениях с эстрогенами и дополнительно активируются в условиях мобилизации. Такими механизмами могут быть холинергические влияния, активность которых выше у женских особей, чем у мужских [12, 13]. Известно, что эстрогены потенцируют эндотелийзависимые эффекты ацетилхолина [14], который, в свою очередь, находится во взаимостимулирующих отношениях с NO [15].

Актуально, что гонадэктомия в наших исследованиях сопровождалась наиболее значительными изменениями в базальной и

стрессорной активности NOергической системы у гипертензивных крыс по сравнению с нормотензивными животными. Действительно, наиболее чувствительными к дефициту половых гормонов оказались самки, причем в более выраженной степени гипертензивные женские особи. У них по сравнению с нормотензивными самками более существенно снижалась базальная и стрессорная продукция NO, а также отмечались более длительные постстрессорные процессы восстановления исходной секреции NO. У самцов: в норме кастрация не влияла на базальную и стрессорную секрецию NO, однако при развитии гипертонии стрессорная динамика секреции NO, не изменяясь по интенсивности, существенно увеличивалась по продолжительности. Эти факты дают основание полагать, что в условиях развития гипертонии усиливаются контролирующие влияния половых гормонов в отношении секреции NO не только у самок, но и у самцов.

В целом результаты данного исследования обнаружили существенное влияние женских, но не мужских половых гормонов на секрецию NO при различных функциональных состояниях организма, что выявляет один из возможных механизмов повышенной активности NOергической системы в женском организме по сравнению с мужским. Ранее нами было показано, что повышенная секреция NO у самок может являться одним из ключевых факторов высокой их кардиоваскулярной устойчивости к стрессу и развитию ренальной гипертонии [16]. Таким образом, эстрогены в значительной мере благодаря стимулирующим эффектам в отношении продукции NO являются самостоятельным фактором защиты, что подтверждает сделанный нами вывод о усилении контролирующей роли эстрогенов в отношении активности NOергической системы при развитии артериальной гипертонии.

Работа выполнена в рамках ФЦП «Инновационные кадры России» на 2009–2012 гг., Государственный контракт от 31 июля 2009 г. № П441 на выполнение поисковых научно-исследовательских работ для государственных нужд.



Список литературы

1. Forte P., Kneale B., Milne E. et al. Evidence for a difference in nitric oxide biosynthesis between healthy women and men // *Hyperten.* 1998. Vol.32. P.730–734.
2. Sader M., Celermajer D. Endothelial function, vascular reactivity and gender differences in the cardiovascular system // *Cardiovas Res.* 2002. Vol.53. P.597–604.
3. Kauser K., Rubanyi G. Gender difference in bioassayable endothelium-derived nitric oxide from isolated rat aortae // *Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 1994. Vol.267. P.H2311–2317.
4. Skarsgard P., van Breemen C., Laher I. Estrogen regulates myogenic tone in pressurized cerebral arteries by enhanced basal release of nitric oxide // *Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 1997. Vol.273. P.H2248–2256.
5. Knot H., Lounsbury K., Brayden J. et al. Gender differences in coronary artery diameter reflect changes in both endothelial Ca²⁺ and eNOS activity // *Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 1999. Vol.276. P.H961–969.
6. Laughlin M., Welshons W., Sturek M. et al. Gender, exercise training, and eNOS expression in porcine skeletal muscle arteries // *J. Appl. Physiol.* 2003. Vol.95. P.250–264.
7. Глушковская-Семякина О.В., Анищенко Т.Г., Синдякова Т.А. и др. Половые различия в содержании оксида азота у здоровых и гипертензивных крыс в условиях покоя и стресса // *Бюл. эксперимент. биол. мед.* 2006. Т.142, № 8. С.13–17.
8. Orshal J., Khalil R. Gender, sex hormones, and vascular tone // *Amer. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2004. Vol.286. P.R233–249.
9. Пат. 68280 Российская Федерация, МПК7 Ф61В17/122. Приспособление для моделирования экспериментальной почечной гипертензии / Семякина-Глушковская О.В., Анищенко Т.Г. № 200712805 // *Изобретения. Полезные модели: Официальный бюллетень.* 2007. №33. С.127–130.
10. Карнюк В.Б., Черняк В.С. // *Клиническая лабораторная диагностика.* 2000. №5. С.16–19.
11. Kleinert H., Wallerath T., Euchenhofer C. et al. Estrogens increase transcription of the human endothelial NO synthase gene // *Hyperten.* 1998. Vol.31. P.582–588.
12. Du X-J., Dart A., Riemersma R. Sex differences in the parasympathetic nerve control of rat heart // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 1994. Vol.21. P.485–493.
13. Семякина-Глушковская О.В., Анищенко Т.Г., Бердникова В.А. и др. Половые особенности холинергической регуляции сердечно-сосудистой системы у здоровых и гипертензивных крыс // *Бюл. эксперимент. биол. мед.* 2008. Т.146, №7. С.33–37.
14. Williams J.K., Adams M.R., Klopfenstein H.S. Estrogen modulates responses of atherosclerotic coronary arteries // *Circulation.* 1990. Vol.81. P.1680–1687.
15. Furchgott R., Zawadzki D. The obligatory role of endothelium cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine // *Nature.* 1980. Vol.288. P.373–376.
16. Анищенко Т.Г., Глушковская-Семякина О.В., Бердникова В.А. Половые особенности кардиоваскулярной стресс-реактивности у здоровых и гипертензивных крыс // *Бюл. эксперимент. биол. мед.* 2007. Т.143, №2. С.136–140.