УДК 577.121.7:611.631-018:615.9:547.562.33:616.697-092.9

НАРУШЕНИЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА ТЕСТИКУЛЯРНОЙ ТКАНИ КРЫС, ПОДВЕРГШИХСЯ ОТРАВЛЕНИЮ ПОЛИХЛОРИРОВАННЫМИ БИФЕНИЛАМИ

Э.Ф. Аглетдинов

Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа
eagletdinov@yandex.ru

Изучены некоторые токсические эффекты полихлорированных бифенилов на репродуктивную систему крыс-самцов. Полученные данные свидетельствуют о развитии тяжелого энергетического дефицита в тканях семенников. Обнаружено существенное снижение концентрации АТФ в гомогенате семенников экспериментальных животных, а также нарушение окисления энергетических субстратов (сукцината, α-кетоглутарата и пирувата) в митохондриях, выделенных из семенников. Выявленные сдвиги могут вносить существенный вклад в патогенез нарушений мужской фертильности в условиях интоксикации ПХБ.

Ключевые слова: полихлорированные бифенилы, крысы, мужской, яички, мужское бесплодие.

THE ENERGY-PRODUCTION IN TESTES OF RATS, TREATED WITH POLYCHLORINATED BIPHENYLS

E.F. Agletdinov

Department of biochemistry BSMU, Ufa, eagletdinov@yandex.ru

The toxic effects of the polychlorinated biphenyls to the reproductive system of male rats are studied. Obtained data testify the heavy energy insufficiency in testes tissues the considerable reduction of ATP concentration in homogenate of the testes of experimental animals is discovered. The intensity of the oxidation of succinate, α-ketoglutarate, pyruvate in the mitochondria, isolated from the testes, were also decreased. These results indicating that the energy-depended mechanisms may play an important role in the reproductive toxicity of polychlorinated biphenyls.

Keywords: polychlorinated biphenyls, rats, male, testis, male infertility.

Одной из глобальных проблем современности является химическое загрязнение окружающей среды [1]. В настоящее время в биосфере циркулирует колоссальное количество новых высокотоксичных веществ, с которыми организм человека не сталкивался в процессе эволюции, и, очевидно, не обладает совершенными механизмами обезвреживания и поддержания гомеостаза.

Среди прочих экотоксикантов наибольшую опасность представляют так называемые стойкие органические загрязни-

тели (СОЗ), подлежащие по инициативе ООН уничтожению и запрещению к производству и применению (Стокгольмская конференция о СОЗ, 2001). Это группа из 12 высокотоксичных и весьма устойчивых соединений, способных к трансграничному переносу на большие расстояния и кумуляции в объектах геосферы и живых организмах [2].

В состав этой группы токсикантов входят полихлорированные бифенилы (ПХБ) — отдельный класс галогенированных углеводородов. ПХБ обладают широким спектром биологического действия и даже в очень малых концентрациях могут приводить к серьезным нарушениям нервной, иммунной и гормональной систем, вызывать канцерогенные и мутагенные эффекты [3, 4, 5, 6, 7].

Особую актуальность приобретает проблема влияния агрессивных факторов внешней среды на мужскую репродуктивную систему. В то же время имеющиеся данные о влиянии ПХБ на генеративную функцию человека и животных противоречивы и не дают исчерпывающего представления о молекулярных механизмах репротоксического действия этих соединений.

В условиях воздействия токсикантов причинами повреждения и гибели клеток являются недостаточность энергообеспечения, связанная с повышенным расходом энергии (работа систем детоксикации, активация транспортных АТФаз для компенсации шунтовых потоков ионов в поврежденных участках биомембран), и нарушенный синтез макроэргов в клетке (повреждение митохондриальных мембран, ферментов биологического окисления, окислительного фосфорилирования) [8].

Вместе с тем исследования состояния процессов энергопродукции в тканях семенников при интоксикации полихлорбифенилами весьма малочисленны, что диктует необходимость детального изучения указанных процессов для разработки принципов коррекции и профилактики патологических изменений.

В связи с этим целью настоящей работы стала оценка некоторых функциональных свойств митохондрий семенников крыс в условиях интоксикации полихлорбифенилами.

Экспериментальные исследования выполнены на белых беспородных крысах-самцах половозрелого возраста массой 180–220 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария.

Экспериментальную интоксикацию вызывали внутрижелудочным введением раствора «Совол», включающего 26% тетра-, 64,6% пента-, 9% гексахлорбифенилов и следовые количества гептахлорбифенилов. Подострое отравление осуществляли ежедневным введением токсиканта в течение 28 дней в суммарных дозах 300 мг/кг (0,05 LD50) и 600 мг/кг (0,1 LD50). Контрольным группам животных вводили оливковое масло.

По истечении срока модельной интоксикации подопытных животных декапитировали, извлекали семенники и выделяли митохондрии. Инкубация изолированных митохондрий осуществлялась в средах, содержащих меченые энергетические субстраты (1,4-C^{14}-сукцинат, 1,2-C^{14}-α-кетоглутарат и 2-C^{14}-пируват); образующийся C^{14}-меченый углекислый газ улавливался фильтровальной бумагой, смоченной раствором

КОН. Радиометрия проводилась на установке для радиобиохимических исследований БЕТА-2, результаты пересчитывались на количество митохондриального белка и выражались в имп/мин·мг белка. В гомогенатах семенников исследовали концентрацию АТФ по W.Lamprecht, I.Trautschold (1965). Математическая обработка проводилась по методу Стьюдента.

Исследования по определению содержания АТФ в гомогенате семенников крыс, подвергшихся экспериментальной интоксикации соволом, продемонстрировали существенное снижение тканевой концентрации макроэрга. (табл. 1).

Учитывая важнейшую роль АТФ в обмене веществ, не будет преувеличением утверждение о том, что значительная часть метаболических сдвигов при отравлении ПХБ прямо или опосредованно связана с недостаточностью макроэрга. Развивающийся дефицит АТФ может являться результатом как повышенного ее потребления в эндэргонических реакциях, так и нарушения механизмов энергопродукции.

Таблица 1

Содержание АТФ в семенниках крыс, подвергнутых интоксикации соволом в различных дозах

Группа животных	Концентрация АТФ, мкМ/г ткани
Контроль	3,62±0,27
0,05 LD_{50}	2,60±0,26*
0,1 LD_{50}	1,85±0,23*

*Примечание: * — $p<0,05$ по отношению к контрольной группе*

Необходимым звеном энергетического метаболизма митохондрий является ферментный комплекс биологического окисления и тканевого дыхания, осуществляющий окисление различных энергетических субстратов. В его состав входят ферменты окислительного декарбоксилирования пирувата, цикла трикарбоновых кислот и дыхательной цепи, локализованные в матриксе и в плоскости внутренней мембраны митохондрий. Интегральным показателем слаженной работы всего энзиматического ансамбля может быть скорость утилизации энергетических субстратов. Исходя из этого, мы сочли необходимым охарактеризовать окислительную активность митохондрий семенников, являющихся главными поставщиками энергии в клетке.

Данные экспериментов, представленные в табл. 2, свидетельствуют о разнонаправленных сдвигах поглощения митохондриями энергетических субстратов под влиянием различных доз ПХБ. Так, малые дозы токсиканта (0,05 LD_{50}) активировали тканевое дыхание митохондрий, что выражалось в некоторой тенденции к увеличению выделения меченого углекислого газа из инкубационной среды, содержащей сукцинат.

Эти результаты говорят о своеобразном «раздражающем» эффекте малых доз ПХБ в отношении окисления сукцината митохон-

Таблица 2

Влияние интоксикации полихлорбифенилами в различных дозах на интенсивность окисления С14-меченых субстратов в митохондриях семенников крыс (по выделению С14-СО2, ×104 имп/мин·мг белка; M±m)

Субстрат	Контроль	0,05 LD50	0,1 LD50
Сукцинат, % от контроля	11,96±1,18 -	12,68±1,25 106,0	8,97±0,88 75,0*
α-кетоглутарат, % от контроля	14,11±1,82 -	12,03±1,56 85,3	9,61±1,24 68,1*
Пируват, % от контроля	24,67±3,77 -	17,27±2,64 70,0	10,86±1,66 44,0*

*Примечание: * — статистически достоверное отличие от контроля (p<0,05)*

дриями, что может иметь целью, например, энергообеспечение активирующихся детоксикационных (микросомальное окисление и конъюгация) и пластических процессов в клетках. В то же время окисление пирувата и α-кетоглутарата под действием той же дозы совола снижалось, указывая на уязвимость пируватдегидрогеназного комплекса к действию токсиканта и, возможно, наличие метаболического блока на этом уровне либо на начальных этапах цикла Кребса.

Воздействие большей дозы ПХБ (0,1 LD_{50}) приводило к однозначному угнетению поглощения всех использовавшихся энергетических субстратов, наиболее выраженному в отношении пирувата. Такой эффект, по-видимому, был обусловлен значительным повреждением мембран митохондрий и их ферментных ансамблей как самим поллютантом и его метаболитами, так и в результате действия продуктов липопероксидации, значительно активирующемся при интоксикации полихлорированными бифенилами. Могла сыграть свою роль и активация глюконеогенеза (с утилизацией в первую очередь пирувата). Кроме того, нельзя отрицать наличия метаболических блоков пируватдегидрогеназного комплекса и любых этапов трикарбонового цикла вследствие избыточного накопления отдельных метаболитов из-за невозможности их окисления и/или дальнейшего использования.

Несколько иная ситуация наблюдалась на ФАД-зависимом участке цикла трикарбоновых кислот. При интоксикации ПХБ в меньшей дозе относительная активация сопряженного окисления янтарной кислоты может также отражать достаточную сохранность звена II дыхательной цепи и мембраностабилизирующую активность сукцината. Резюмируя изложенные сведения, можно предположить, что происходит «переключение» митохондриальных энергопродуцирующих систем с окисления НАД-зависимых субстратов на преимущественное потребление сукцината, использование которого характеризуется более высокими скоростями поставки макроэргов. Подобные изменения представляют собой универсальный механизм, обеспечивающий энергетические потребности тканей в условиях воздействия любого раздражителя [9]. Тем не менее установленный уровень энергопродукции при интоксикации ПХБ нельзя признать

адекватным для обеспечения потребности клетки в макроэргах.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о выраженном повреждающем воздействии полихлорбифенилов на энергетическую систему тестикулярной ткани экспериментальных животных, что в сочетании с другими патохимическими сдвигами может вносить серьезный вклад в патогенез нарушения мужской фертильности в условиях экологического неблагополучия.

Список литературы

1. Майстренко В.Н., Клюев Н.А. Эколого-аналитический мониторинг стойких органических загрязнителей. — М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2004. — 323 с.

2. Supriyo D.E, Saroj K. Pramanik, Arthur L. Williams et al. Toxicity of polychlorobiphenyls and its bioremediation. // Int. J. of Human Genetics. — 2004. — 4. — P. 281–290.

3. Schantz S.L, Widholm J.J, Rice D.C. Effects of PCB exposure on neuropsychological function in children // Environ. Health Perspect. — 2003. — 111. — P. 357–576.

4. Portigal C.L., Cowell S.P., Fedoruk M.N. et al. Polychlorinated biphenyls interfere with androgen-induced transcriptional activation and hormone binding // Toxicol. Appl. Pharmacol. — 2002. — 179. — P. 185–194.

5. Faroon O.M., Keith S., Jones D. et al. Effects of polychlorinated biphenyls on development and reproduction // Toxicol. Ind. Health. — 2001. — 17. — P. 63–93.

6. Laden F., Ishibe N., Hankinson S.E. et al. Polychlorinated biphenyls, cytochrome P. 450 1A1, and breast cancer risk in the Nurses' Health Study // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. — 2002. — 1. — P. 1560–1565.

7. Tryphonas H. The use of non-human primates in the study of PCB immunomodulation // Hum. Exp. Toxicol. — 1995. — 14. — P. 107–110.

8. Ротенберг Ю.С., Курляндский Б.А. О роли митохондрий в реализации действия токсических и фармакологических веществ. // Регуляция энергетического обмена и физиологическое состояние организма. — 1978. — С. 211–214.

9. Кондрашова М.Н., Маевский Е.И., Бабаян Г.В. Адаптация к гипоксии посредством переключения метаболизма на превращения янтарной кислоты // Митохондрии. Биохимия и ультраструктура. — 1973. — С. 112–129.