

Характеристика митохондриального окисления в семенниках у крыс при инкорпорации ^{137}Cs

М.А. Аль Меселмани

Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет»

В работе показано, что в условиях инкорпорации ^{137}Cs изменяется активность митохондриальной дыхательной цепи в ткани семенников и обнаруживается разобщение дыхания и фосфорилирования. Выявленные изменения энергетического обмена, вызванного инкорпорацией ^{137}Cs , могут приводить к окислительному стрессу как основной причине нарушения гормональной функции семенников.

Ключевые слова: семенники, митохондрия, окисление, инкорпорация ^{137}Cs , белые крысы.

Characteristic of mitochondrial oxidations in the testis of rats at incorporation ^{137}Cs

M.A. Almeselmani

Educational establishment «Gomel State Medical University»

The paper states that in the conditions of incorporation ^{137}Cs the activity of mitochondrial respiratory chain in tissues of the testis changes. At the same time uncoupling of breathing and phosphorylation takes place. The changes of energy metabolism which result from incorporation ^{137}Cs can lead to oxidative stress as the main reason for the abnormality of hormonal function of the testis.

Key words: testis, mitochondria, oxidation, incorporation ^{137}Cs , albino rats.

Несмотря на то, что Чернобыльская авария была в 1986 г., до сих пор ^{137}Cs является главным элементом, который распределяется в окружающей среде [7]. Из-за загрязнения пищевой цепи люди хронически подвергаются воздействию этого радионуклида.

По оценкам Всемирной организации здравоохранения, приблизительно пять миллионов человек проживает на загрязненных территориях Беларуси, Российской Федерации и Украины. По информации Комчернобыля Беларуси, цезием-137 загрязнено более 20 процентов территории Беларуси. Из загрязненных районов было отселено более 135 тысяч человек. В настоящее время на загрязненных территориях проживает свыше 1,5 миллиона человек. Чернобыльская авария оказала существенное влияние на здоровье человека, о чем свидетельствуют статистические данные в разных странах. Однако долгосрочные последствия Чернобыльской аварии для здоровья людей оценены недостаточно.

Среди различных органов тела семенники – наиболее чувствительные к накоплению ^{137}Cs . Многочисленные исследования представляют доказательства влияния радиоэкологических факторов на морфофункциональные особенности семенников при малых и сверхмалых дозах

^{137}Cs [2–3, 6]. Согласно данным литературы, у лиц, проживающих на загрязненных в результате аварии на ЧАЭС территориях, имеются нарушения в репродуктивной сфере, что свидетельствует о высокой радиочувствительности репродуктивной системы. Это в значительной степени может быть связано с влиянием на репродуктивные ткани основного дозообразующего элемента «постчернобыльского» пространства – ^{137}Cs [2–3, 6]. По данным современных исследований, цезий уменьшает уровень циркулирующего 17-эстрадиола. Малые дозы ^{137}Cs модифицируют стероидогенез в семенниках и надпочечниках [6].

Принимая во внимание, с одной стороны, тропность ^{137}Cs к митохондриальному компартменту [1], а с другой – высокий уровень митохондриального окисления в семенниках, а также исключительно высокую энергозависимость сперматогенеза и гормонообразования в семенниках, есть основания полагать, что при инкорпорации ^{137}Cs возможно повреждение мужских гонад путем нарушения их основного энергопродуцирующего процесса – митохондриального окисления. Анализ отечественной и зарубежной литературы свидетельствует, что состояние митохондриального окисления может иметь важное значение для функционирования

мужской репродуктивной системы. Практически отсутствует информация о состоянии митохондриального окисления в ткани семенников при инкорпорации ^{137}Cs . В связи с этим целью настоящего исследования явилось изучение состояния митохондриального окисления в ткани семенников в условиях инкорпорации ^{137}Cs .

Материал и методы. Опыты проводились на белых крысах-самцах массой 200–220 г. При этом соблюдались все требования нормативных актов, принятых в международной практике лабораторного животноводства [Хельсинкская декларация по гуманному обращению с животными (1975, пересмотр. 1993), Директивы Совета Европейского Сообщества по защите животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (1986)].

При вскармливании в течение 7 дней радиоактивного корма (сушеных белых грибов с ^{137}Cs) была сформирована подопытная группа с накоплением радионуклида в количестве 1300 Бк/Кг. Животные контрольной группы находились на стандартном рационе вивария.

Дозиметрический контроль проводился на сцинтилляционном гамма-спектрометре LP4900 В (Финляндия). После забоя животных путем декапитации извлеченные семенники охлаждали, промывали физиологическим раствором, освобождали от соединительной ткани и продавливали через плунжер с диаметром отверстий 0,5 мм. Затем в полученных кусочках ткани семенников исследовали параметры митохондриального окисления полярографическим методом с использованием электрода Кларка в термостатируемой ячейке объемом 2 мл при температуре 25°C. Количество белка в гомогенатах ткани семенников определяли биуретовым методом.

Для оценки состояния тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования (далее ТД и ОФ соответственно) определяли скорость поглощения кислорода кусочками ткани семенников в присутствии эндогенных ($V_{\text{энд}}$) и экзогенных субстратов – 5 мМ сукцината ($V_{\text{як}}$) и 5 мМ глутамата ($V_{\text{глу}}$), а также разобщителя ОФ – 100 мкМ 2,4 динитрофенола ($V_{\text{днф}}$). Кроме того, применяли ингибиторный анализ, используя ингибитор I комплекса дыхательного центра (ДЦ) – 1 мМ амитала натрия ($V_{\text{ам}}$) и ингибитор сукцинатдегидрогеназы – 1 мМ малоната натрия ($V_{\text{мал}}$). Скорость потребления кислорода

кусочками ткани семенников измеряли в нмоль $\text{O}_2/\text{мин} \times \text{мг}$ белка препаратах [4]. Рассчитывали величину стимулирующего действия (СД) янтарной кислоты $\text{СД}_{\text{як}} = V_{\text{як}}/V_{\text{энд}}$, глутамата $\text{СД}_{\text{глу}} = V_{\text{глу}}/V_{\text{энд}}$ и 2,4-динитрофенола $\text{СД}_{\text{днф}} = V_{\text{днф}}/V_{\text{глу}}$, а также показатели амиталрезистентного дыхания ($\text{АРД} = V_{\text{ам}}/V_{\text{энд}}$) и малонатрезистентного дыхания ($\text{МРД} = V_{\text{мал}}/V_{\text{ам}}$), характеризующие соответственно интенсивность окисления флавопротеидзависимых субстратов и вклад жирных кислот в энергетику исследуемой ткани. Перечисленные выше параметры ТД и ОФ позволяют достаточно полно охарактеризовать состояние энергетического обмена ткани [1, 4–5]. Результаты обрабатывали с помощью программы Statistica 6.

Результаты и их обсуждение. Данные, представленные в табл. 1, свидетельствуют о высокой чувствительности митохондриального окисления ткани семенников белых крыс к действию инкорпорации ^{137}Cs и о высокой дыхательной активности ткани семенников при этом уровне накопления радионуклида. Достоверно возрастала скорость дыхания при использовании обоих эндогенных и экзогенных субстратов для подопытной группы животных с уровнем накопления 1300 Бк/кг: наблюдалось достоверное возрастание эндогенного дыхания на 80,3% до $5,59 \pm 0,57$ нмоль $\text{O}_2/\text{мин} \times \text{мг}$ белка против $3,10 \pm 0,18$ нмоль $\text{O}_2/\text{мин} \times \text{мг}$ белка в контроле. Сходная направленность изменений выявлена и при использовании экзогенных субстратов – сукцината и глутамата: наблюдалось повышение скорости дыхания на 43,7% при использовании сукцината ($8,45 \pm 0,78$ нмоль $\text{O}_2/\text{мин} \times \text{мг}$ белка для животных при уровне накопления 1300 Бк/кг против $5,88 \pm 0,35$ нмоль $\text{O}_2/\text{мин} \times \text{мг}$ белка в контроле) (табл. 1).

Следовательно, можно отметить увеличение роли янтарной кислоты в энергетике ткани семенников и повышение активности сукцинатдегидрогеназы за счет относительного роста внутримитохондриального пула сукцината. В пользу этого предположения свидетельствует достоверное снижение коэффициента стимулирующего действия сукцината на 20,4% с $1,91 \pm 0,08$ в контроле до $1,52 \pm 0,03$ в группе экспериментальных животных (табл. 1). Последнее связано, по-видимому, с особенностями окисления сукцината в митохондриях тканей семенников [8].

Таблица 1

Показатели тканевого дыхания ткани семенников при уровне инкорпорации 1300 Бк/кг

Параметры	Тканевое дыхание нМ О ₂ /мин × мг	
	Контроль	Уровень инкорпорации 1300 Бк/кг
V _{энд}	3,10±0,18	5,59±0,57*
V _{як}	5,88±0,35	8,45±0,78*
V _{глу}	4,95 ±0,26	8,07±0,26*
V _{днф}	5,98 ±0,32	8,36±0,25**
СД _{як}	1,91± 0,08	1,52±0,03*
СД _{глу}	1,56±0,07	1,67±0,02
СД _{днф}	1,21±0,01	1,04±0,01

Примечание: здесь и далее: достоверность различий по отношению к контрольной группе * – p<0,05, ** – p<0,01.

Таблица 2

Показатели влияния ингибиторов на ТД в семенниках крыс при инкорпорации ¹³⁷Cs в дозе 1300 Бк/кг

Параметры	Тканевое дыхание нМ О ₂ /мин×мг	
	Контроль	Уровень инкорпорации 1300 Бк/кг
V _{энд}	3,25±0,22	5,71±0,11*
V _{ам}	2,71±0,28	4,33±0,26*
V _{мал}	1,99±0,12	2,73±0,29
АРД	0,81±0,01	0,76±0,04
МРД	0,76±0,03	0,64±0,07

Дыхательная активность в семенниках в присутствии глутамата также активировалась – достоверно увеличивался показатель V_{глу} с 4,95±0,26 нмоль О₂/мин×мг белка в контроле до 8,07±0,26 нмоль О₂/мин×мг белка в группе подопытных животных, а также наблюдалась тенденция к росту скорости дыхания в присутствии разобщителя окислительного фосфорилирования – 2,4 ДНФ с 5,98 ±0,32 в контроле до 8,36±0,25 нмоль О₂/мин×мг белка для подопытной группы при данном воздействии. Применение разобщителя окислительного фосфорилирования 2,4 ДНФ показало достоверное снижение коэффициента стимулирующего действия (СД_{днф}) с 1,21±0,01 в контроле до 1,04±0,01 (-14,1%) в группе экспериментальных животных. Это указывает на наличие разобщения в системе окислительного фосфорилирования митохондрий клеток семенников и, следовательно, на снижение эффективности энергообразования при данном уровне инкорпорации (1300 Бк/Кг).

В табл. 2 представлены данные ингибиторного анализа при введении амитала и малоната. По данным результатам отмечается некоторое снижение (АРД) с 0,81±0,01 в контроле до 0,76±0,04 (-6,2%) и МРД с 0,76±0,03 до 0,64±0,07 (-15,8%) соответственно для группы животных при поступлении и накоплении в организме ¹³⁷Cs (табл. 2).

Полученные данные позволяют предположить наличие повреждений в дыхательной цепи и мембранах митохондрий и отражают понижение резервов субстратов окисления [10]. Понижение СД_{днф} свидетельствует об уменьшении резервных возможностей дыхательной цепи митохондрий, а выраженное нарушение процессов сопряжения позволяет предположить наличие повреждений в дыхательной цепи и мембранах митохондрий. Данные о стимуляции дыхательной активности в тканях семенников соответствуют результатам, свидетельствующим об увеличении дыхательной активности миокарда, при малых дозах инкорпорации ¹³⁷Cs [11]. Как правило, биохимические изменения, обусловленные дефектами митохондрий, проявляются нарушением транспорта митохондриальных субстратов, патологией утилизации субстратов, дефектами дыхательной цепи и недостаточным накоплением и передачей энергии [8–11].

Полученные данные находятся в соответствии с результатами исследований, указывающими на очень высокую чувствительность семенников к окислительному стрессу, вызванному действием вредных экологических факторов [2–3, 6]. Можно полагать, что нарушения митохондриального окислительного фосфорилирования, вызванного внутренним облучением,

могут являться ведущим фактором в патогенезе пострадиационного бесплодия [2–3].

Заключение. Полученные данные подтверждают высокую чувствительность митохондрий ткани семенников к действию внутреннего облучения, вызванного инкорпорацией основного дозообразующего радионуклида «постчернобыльского» пространства – ^{137}Cs , что вполне согласуется с представлениями о высокой радиочувствительности семенников к действию малых доз радиации. Изменение параметров тканевого дыхания окислительного фосфорилирования, изменение энергетического обмена, обусловленные данным воздействием, могут создавать предпосылки для формирования патологии и дисфункции репродуктивного здоровья человека и животных вследствие внутреннего облучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Грицук, А.И. Митохондриальное окисление и ультраструктура миокарда при инкорпорации радионуклидов цезия / Т.Г. Матюхина [и др.] // *Авиакосмическая и экологическая медицина*. – 2002. – № 2. – С. 40–44.
2. Попов, Е.Г. Рецепция андрогенов в семенниках крыс: анализ эффектов инкорпорированных ^{137}Cs , Li и внешнего облучения / Е.Г. Попов, Ф.И. Куц, О.Л. Белоусов // *Весті НАН Беларусі / Сер. біял. навук*. – 2001. – № 2. – С. 95–99.
3. Карпенко, Н.А. Сексуальная функция самцов крыс, подвергнутых действию комплекса факторов зоны отчуждения ЧАЭС / Н.А. Карпенко // *Радиац. биология. Радиоэкология*. – 2000. – Т. 40, № 1. – С. 86–91.
4. Кондрашова, М.Н. Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом / М.Н. Кондрашова, А.А. Ананенко. – М., 1973. – С. 106–119.
5. Grace, J. Mitochondrial dysfunction, persistently elevated levels of reactive oxygen species and radiation-induced genomic instability / J. Grace // *Mutagenesis*. – 2006. – № 6. – P. 361–367.
6. Grignard, E. In vivo effects of chronic contamination with $^{137}\text{-cesium}$ on testicular and adrenal steroidogenesis / Elise Grignard [et. al.] // *Arch. Toxicol.* – 2008. – Vol. 82, № 9. – P. 583–589.
7. Morita, N. Measurement of the whole-body ^{137}Cs in residents around the Chernobyl nuclear power plant / N. Morita [et. al.] // *Radiat. Prot. Dosimetry*. – 2005. – Vol. 113. – P. 326–329.
8. Kaiser, G.R. Metabolism of amino acids by cultured rat Sertoli cells / G.R. Kaiser [et. al.] // *Metabolism clinical and experimental*. – 2005. – Vol. 54, № 4. – P. 515–521.
9. Hüttemann, M.I. Regulation of oxidative phosphorylation, the mitochondrial membrane potential, and their role in human disease / M.I. Hüttemann [et. al.] // *J. Bioenerg Biomembr.* – 2008. – Vol. 40, № 5. – P. 445–456.
10. Vazquez-Memije, M. Respiratory chain complexes and membrane fatty acids composition in rat testis mitochondria throughout development and ageing / M. Vazquez-Memije [et. al.] // *Exp. Gerontol.* – 2005. – Vol. 40, № 6. – P. 482–490.
11. Perl, A. Transaldolase is essential for maintenance of the mitochondrial transmembrane potential and fertility of spermatozoa / A. Perl [et. al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2007. – Vol. 103. – P. 14813–14818.

Поступила в редакцию 06.10.2010

Адрес для корреспонденции: г. Гомель, ул. Ланге, д. 5, УО «ГТМУ», e-mail: drmmouhand78@inbox.ru – Аль Меселмани М.А.