

М.А. Аль Меселмани

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН В СЕМЕННИКАХ

УО «Гомельский государственный медицинский университет»

В обзоре представлены современные сведения об обмене энергии и митохондриальном окислении в клетках и тканях семенников. Дано представление об антиоксидантной системе семенников и роли митохондрий в образовании гормона семенников (тестостерона).

Ключевые слова: семенники, митохондриальное окисление, энергетический обмен.

М.А. Al Meselmany

ENERGY METABOLISM IN TESTICLE TISSUE

The review observes modern data about energy metabolism and mitochondrial oxidation in a cell and in testicle tissue. Conception about antioxidative system of testicle and mitochondrial role in the biosynthesis of testicle hormone (testosterone).

Key words: testicle, mitochondrial oxidation, energy metabolism.

Современные представления об энергетическом обмене в клетке

Дыхательная, или электрон-транспортная цепь (ЭТЦ), представляет собой сложную мультикомпонентную структуру, состоящую из 4 белковых комплексов, встроенных во внутреннюю митохондриальную мембрану (табл.1).

Комплекс I является начальным из мембранных зве-

ньев полной ЭТЦ и выполняет роль посредника между никотинамидными дегидрогеназами матрикса и мобильным CoQ мембраны. Он обозначается как НАД₂-дегидрогеназа и представляет собой крупное (до 900 кДа) объединение десятков разных субъединиц, 7 из которых кодируются митохондриальной ДНК (рис.).

Многие субъединицы гидрофобны и организованы в

Таблица 1 – Структурно-функциональная характеристика комплексов электрон-транспортной цепи

НАЗВАНИЕ	ЛОКАЛИЗАЦИЯ, СОСТАВ, ФУНКЦИИ	Редокс-центры	Транслокация
А. НАЧАЛЬНЫЕ (альтернативные) звенья митохондриального окисления			
Комплекс I (НАД ₂ -убихиноноксидоредуктаза)	Трансмембранный комплекс из десятков субъединиц. Предназначен для окисления молекул НАД ₂ , продуцируемых растворимыми (внемембранными) никотинамидными дегидрогеназами	1 ФМН 4 FeS-белка 2CoQ	4H ⁺
Комплекс II (сукцинатдегидрогеназа)	Состоит из серии субъединиц, внедренных во внутреннюю мембрану со стороны матрикса; переносит 2 e ⁻ и 2 H ⁺ от янтарной кислоты (сукцинат) на мобильный убихинон липидного бислоя	1 ФАД 3FeS-белка 1 гем b	0
ЭТФ-дегидрогеназа	ФАД-содержащий железо-серный белок, обладающий трансмембранным участком. Генерирует убихинол за счет окисления ЭТФ (электронтранспортирующий флавопротеин), восстанавливаемого различными ФАД-зависимыми дегидрогеназами митохондрий	1 ФАД 4 FeS-центра	0
Б. ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЕ (общие) звенья системы митохондриального окисления			
Комплекс III (цитохром b-c1; убихинол-цитохром-с-редуктаза)	Трансмембранный белок из 11 субъединиц, включая цитохром b (с двумя молекулами гема b), цитохром c1 (с ковалентно связанным гемом b) и FeS-белок. Они образуют цепочку поочередного транспорта каждого электрона от CoQ. H ₂ на цитохром с межмембранного пространства, примыкающий к мембране	3 гема b 1 FeS-белок	2H ⁺
Комплекс IV(цитохромоксидаза)	Ансамбль из 6 субъединиц. Из них каталитическая богата трансмембранными доменами (12) и содержит не только 2 гема, но и атом меди (медь «В»). С привлечением «иной» меди (медь «А») другой субъединицы, она обеспечивает поток электронов от цитохрома с снаружи мембраны на молекулу O ₂ в матриксе	1 гем a 1 гем a3 1 медь «А» 1 медь «Б»	4H ⁺

трансмембранные α – спирали. На весь комплекс приходится одна молекула ФМН, которая нековалентно, но прочно связана с гидрофильным фрагментом фермента, выступающим в матрикс, и является первичным акцептором электронов от НАД₂. Следующее затем поочередное восстановление FeS-центров соответствующих субъединиц сопряжено с протонированием определенных группировок апопротеина. Обладая редокс-потенциалом от -0,37 до -0,15. В эти центры образуют цепочку одно электронного транспорта, в конечном счете, на две молекулы убихинона, связанных с белками комплекса прочно, но по-разному (а потому различаются и их свойства). Возникший убихинол передает потом атомы водорода тем молекулам CoQ которые свободно мигрируют в мембране.

Комплекс III, тоже трансмембранный, является следующим звеном системы митохондриального окисления. Он состоит из серии субъединиц общей массой около 250 кДа. Главную роль играют 3 из них: железосерный белок 2Fe-2S, цитохром b(содержащий два близких по свойствам гема b) и цитохром c1(отсюда другое

прогресс был сделан в ходе опытов с кристаллизацией комплексов ОФ бактерий и эукариотов в присутствии или отсутствии субстратов, их аналогов и ингибиторов [32].

В ЭТЦ присутствуют 3 участка, где выделяемая свободная энергия используется для синтеза АТФ. Эти участки являются пунктами энергетического сопряжения между переносом электронов и синтезом АТФ. 1-й участок от НАДН до убихинона, 2-й – от убихинона до цитохрома c_1 , 3-й – от цитохрома c до кислорода. Важным инструментом при изучении последовательности и механизмов реакций фосфорилирования в ЭТЦ являются специфические ингибиторы. Согласно Э. Рэкер (1979) [6] существует 3 класса соединений, препятствующих окислительному фосфорилированию:

Ингибиторы окислительной цепи, блокирующие перенос электронов на определенном участке ЭТЦ (цианид, антимицин, азид и др.).

Разобщители (разобщающие агенты), которые подавляют фосфорилирование АДФ, не влияя при этом на перенос электронов, и стимулируют рассеивание энергии в виде тепла (2,4-динитрофенол, карбонил трифторфенилгидразон).

Ингибиторы переноса энергии, препятствующие превращению энергии окисления в АТФ, ингибируя перенос энергии (олигомицин, рутамицин).

В митохондриях животных поток электронов может ингибироваться в разных точках электрон-транспортной цепи. Активность комплекса I, например, ингибируется ротеноном, пирицидином, амиталом [5,6].

Ротенон образует прочный комплекс с НАДН-дегидрогеназой, и предполагают, что он блокирует перенос электронов от Fe-S-белков на убихинон. Для 65% ингибирования достаточно 33 нМ ротенона на 1 грамм митохондриального белка.

Амитал является барбитуратом и в высоких концентрациях блокирует НАДН-дегидрогеназу. Пирицидин А – антибиотик, синтезируемый бактерией рода *Streptomyces*. Это структурный аналог убихинона и, следовательно, конкурирует с ним за перенос электронов. Ингибирование на 50% достигается при концентрации 20 нМ на 1 грамм митохондриального белка [2]. Перенос электронов в комплексе II ингибируется теноилтрифторацетоном, который является избирательным ингибитором сукцинатдегидрогеназы, а также малонатом и оксалоацетатом.

Комплекс III ингибируется антимицином, который является антибиотиком. Он блокирует перенос электронов между цитохромом b и убихиноном в протон-проводящем Q-цикле. Блокирование происходит при низких концентрациях – при связывании 1 моля ингибитора с 1 моль фермента [5]. Комплекс IV блокируется цианидом, азидом и оксидом углерода (СО), причем во всех случаях ингибиторы взаимодействуют с цитохромом a_3 . Азид и цианид образуют координационный комплекс с Fe^{3+} феррицитохрома a_3 , а СО с Fe^{2+} . Блокирование на 50% достигается при действии азиды, цианида и СО в концентрациях 0,7; 0,5; 40 мМ, соответственно [2].

Кроме дыхательной функции, митохондрия играет важную роль в феномене апоптоза, являющем собой форму запрограммированной смерти клетки и поддерживающим развитие гомеостаза в тканях многоклеточных организмов. Дисфункция на любом уровне клеточного апоптического сигнального пути в конце приводит к выделению апоптических факторов от митохондриального межмембранного пространства, что приводит к организованной смерти клетки. Роль митохондрии в апоптическом пути сложна и не полностью раскрыта. Известно, что ЭТЦ производит активные формы кислорода (АФК) и разру-

шение этой цепи увеличивает это производство. Уровень производства АФК может влиять на степень апоптоза. Активация окислительного фосфорилирования через кальций привела бы к увеличению дыхания и росту митохондриального мембранного потенциала, сопровождаемого увеличением АФК, которые образуются на митохондриальных мембранных потенциальных уровнях. Митохондриальные факторы, участвующие в регуляции апоптоза, могут быть значимы для определения восприимчивости к некоторым болезням, поскольку апоптоз выступает в качестве звена патогенеза.

Митохондрии обладают способностью накапливать и сохранить кальций, и эта способность крайне важна для передачи сигналов Ca^{2+} , регулирования метаболизма, производства АТФ и других процессов, включая нейросекрецию. Перегрузка способности Ca^{2+} к буферизации, ишемия/реперфузия, окислительный стресс могут привести к увеличению митохондриальной проницаемости пор транзиции, что может привести к некрозу и апоптозу [22].

Также важно подчеркнуть, что митохондрия концентрирует в себе большую часть окислительных метаболических путей и содержит многочисленные редокс-переносчики и сайты, потенциально способные к одноэлектронному восстановлению кислорода до супероксидного аниона (O_2^-) – предшественника других АФК [1,24]. При отсутствии дефектов ЭТЦ митондрией роль основных генераторов O_2^- отводят комплексам I [24] и III.

Дыхательная функция митондрией обеспечивает большую часть потребностей клетки в энергии. Дыхательные механизмы расположены во внутренней митохондриальной мембране. Важно отметить, что митохондрию кодируют 13 из этих белков, насчитывающих более 83, а остаток этих комплексов кодируют ядерные гены. Синтез АТФ начинается, когда электроны, их эквиваленты и сукцинат, произведенные посредническим метаболизмом (цикл Кребса), получают комплексами I и II и последовательно транспортируются через окислительно-восстановительные группы к конечному получателю, комплексу IV, передающего электроны кислороду для образования воды. В процессе тканевого дыхания протоны транспортируются от матрицы до межмембранного пространства комплексами I, II, III, и IV. В последующем АТФ-синтетаза использует энергию электрохимического градиента, предназначенного для того, чтобы транспортировать протоны обратно в митохондриальную матрицу. Этот процесс происходит вместе с синтезом АТФ.

Кроме дыхания, митохондрии выполняют множество других клеточных функций, таких как участие в синтезе гема, биосинтез липидов, участие в метаболизме аминокислот, железа, нуклеотидов, гомеостазе кальция, в регуляции цитозольных сигнальных путей. Установлено, что митохондрии также активно участвуют в метаболизме ксенобиотиков, а также в регуляции уровня чувствительности глюкозы к инсулину. Следует отметить, что осуществление большинства функций митондрией в значительной степени зависит от импорта ядерных белков [25].

Ранее было отмечено, что в ходе осуществления процессов тканевого дыхания митондрией образуют большое количество АФК, таких как супер оксидный анион (O_2^-), перекись водорода (H_2O_2), гидроксильный радикал (ОН). Известно, что роль цикла Кребса заключается в производстве электронов для нормального функционирования ЭТЦ. При определенных обстоятельствах, электроны могут передаваться кислороду напрямую, что может способствовать увеличению производства АФК. Пря-

мое присоединение кислородом электронов приводит к возникновению $O_2\cdot$, который в дальнейшем может быть преобразован в H_2O_2 . Избыток H_2O_2 обычно детоксицируется антиоксидантами – пероксидазой глутатона и каталазой. Тем не менее, в присутствии низких концентраций переходных металлов (например, Fe^{2+}) перекись водорода может преобразовываться в $OH\cdot$. Можно предположить, что производство АФК должно возрасти в условиях присутствия лишнего электронов, что возможно при производстве энергии избыточном количестве и/или при нарушении деятельности ЭТЦ [3].

В последнее время большое значение придается участию АФК митохондрий в формировании окислительного стресса, особенно в патологии [1], однако дефицит фактических данных препятствует всестороннему пониманию роли митохондрий в развитии окислительного стресса. Не вызывает сомнений факт возможности в ходе реализации окислительного стресса избыточного образования АФК в митохондриях клетки. В дальнейшем в ходе реализации свободно-радикальных реакций, инициируемых АФК, неизбежно формирование новой волны окислительного повреждения молекулярных структур. В свою очередь известно, что нарушение механизма детоксикации активных форм кислорода и свободных радикалов может также способствовать возникновению окислительного стресса. Упрощённое понимание степени участия митохондрий в этом явлении обычно сводят к наличию баланса между функциональной активностью АФК-производящих элементов ЭТЦ и многочисленными компонентами антиоксидантной системы митохондрии [1].

Тем не менее, в ходе изучения функции митохондрии был установлен ряд наиболее важных фактов:

1) митохондриальные АФК являются не только агентами повреждения митохондриальных мембран, и, как следствие этого, агентами дестабилизации процессов тканевого дыхания, но представляют собой важные элементы, выполняющие сигнальную функцию, позволяющие судить о состоянии и функциональной активности клетки [11];

2) митохондрия играет важную роль в апоптозе. Выделение апоптотических факторов от митохондриального межмембранного пространства приводит к организованной смерти клетки [11];

3) оксид азота (NO) является одним из важнейших регуляторов митохондриальной функции [11];

4) митохондрии представляют собой органеллы клетки, способные делиться, соединяться друг с другом, перемещаются внутри клетки. Сведения об особенностях строения митохондрий сделали в последующем возможным построение и тестирование моделей, обеспечивающих передачу электронов в пределах единого комплекса и его сопряжение с механизмами передачи протонов.

5) митохондрия активно управляет внутриклеточным Ca^{2+} как и при физиологических условиях, так и патологических состояниях.

Все перечисленные факты свидетельствуют о многогранной регуляторной роли митохондрий в работе здоровой и патологически изменённой клетки [11].

Представленные сведения, позволяют обнаружить точки соприкосновения между общепринятым, биоэнергетическим представлением на роль митохондрии в жизнедеятельности клетки, и новейшими теориями. Совершенно по-новому теперь выглядит роль Ca^{2+} , которая ранее рассматривалась только с позиций его участия в тканевом дыхании на правах одного из активаторов процессов окислительного фосфорилирования. В настоящее

время трудно отрицать значение Ca^{2+} как центрального эффектора различных физиологических и патологических внутриклеточных процессов [11].

Исходя из вышеизложенного, следует ещё раз подчеркнуть важность тонкого взаимодействия между процессами окисления и фосфорилирования, протекающих в митохондриях клеток с участием сложного комплекса стимуляторов, регуляторов, системы сигнализации структурно-функционального состояния клетки, направленного, в конечном счёте, на организацию важнейшего для жизнедеятельности организма биологического процесса – производства внутриклеточной энергии [3].

Обмен энергии и митохондриальное окисление в семенниках

Семенники являются одним из наиболее активных в метаболическом отношении органом, что обеспечивает высокие показатели репликации их клеток [16]. Энергия репликации в семенниках млекопитающих обеспечивается, главным образом, за счёт глюкозы, причём её большая часть тратится на синтез белка сперматозоида [9]. Высокий уровень метаболизма и катаболизма, включая и энергетический обмен, в мужских половых железах поддерживается за счёт наличия единой сети биохимических реакций, вовлекающей в работу ряд специфических ферментов семенников, которые, в свою очередь, осуществляют контроль над процессами гормонального регулирования и межклеточного взаимодействия [4]. Надлежащее функционирование этой сети чрезвычайно важно для тестикулярной физиологии.

В качестве дополнительного регулятора тестикулярной функции выступает собственно смерть половой клетки. Нарушение этого механизма регуляции также связано с некоторыми видами расстройств мужской репродуктивной системы [30]. Установлено, что клетки семенного эпителия отличаются друг от друга чувствительностью к сигналам, которые формирует смерть сперматозоидов, а также к субстратам, необходимым для нормального протекания в них энергетических превращений. Сперматогонии, зрелые сперматозоиды и соматические клетки Сертоли характеризуются высоким уровнем гликолитических реакций. В свою очередь, сперматоциты и сперматиды производят АТФ, преимущественно посредством процессов митохондриального окислительного фосфорилирования. Интересен факт, что типы клетки, использующие ОФ для производства энергии (сперматоциты и сперматиды) являются чувствительными к сигналам, стимулирующим смерть сперматозоидов, таким как гормональная депривация и гипертермия [30].

Митохондриальная продукция АТФ играет важную роль в процессах регулирования апоптоза мужской половой клетки, метаболизма энергии, катаболизма, а также имеет большое значение для физиологии и патологии семенников [30]. Есть мнение, что производство АТФ в значительной степени направлено именно для реализации апоптотических явлений в сперматозоидах.

Общеизвестно, что старение всегда сопровождается изменениями в метаболизме энергии. Эти изменения во многом обусловлены молекулярными и функциональными изменениями свойств биологических мембран. В ходе сперматогенеза, также как и в процессе старения наблюдаются изменения соотношения жирных кислот в составе мембран, что способствует изменению белково-липидных взаимодействий, в конечном счёте, приводящих к снижению активности митохондриальных ферментов.

Исходя из данных литературы, можно констатировать, что энергический обмен в семенниках зависит:

► от особенностей строения сперматозоидов и клеток семенников, выделяемых ими биологически активных веществ, уровня активности соматических органов, таких как миокард, печень, почки, мышцы, содержащих в составе своих клеток большое количество митохондрий [8],

► от морфологических изменений и собственно энергического метаболизма тестикулярной митохондрии в процессе сперматогенеза [33]. Морфологически выделяют 3 типа митохондрии: а) обычный ортодоксальный тип (cristae orthodox-type) в клетках Сертоли, сперматогониях, прелептотене, лептотене и сперматоцитах; б) промежуточная форма митохондрии в лептотене и зиготене сперматоцитов; в) конденсированная форма митохондрии в пахитене сперматоцитов, сперматиды и сперматозоиде [18];

► от степени зрелости семенников. Зрелые семенники, по сравнению с незрелым, характеризуются довольно низким уровнем потреблением кислорода и различной степенью выраженности аэробного и анаэробного гликолиза [18];

► от степени активности Ca_2^+ , Mg_2^+ -АТФазы в семенниках;

► от наличия субстратов биологического окисления. Известно, что лактат и пируват являются основными субстратами для энергического метаболизма клеток Сертоли, нарушение функции которых немедленно отражается на снижении темпов формирования мужских половых клеток. Эти субстраты также незаменимы для сперматоцитов и сперматид [9];

► от состояния глюкозо-транспортных систем. Интересно, что согласно современным данным в семенниках определяют значительно более высокое содержание GLUT8 (третий вид переносчика глюкозы в организме млекопитающих), чем в сердце, почках и печени. Установлено, что GLUT8, играющий значительную роль в энергических превращениях сперматозоидов главным образом, локализуется в семенных канальцах [13].

► от наличия лактатдегидрогеназы С4 (ЛДГ-С4) – изоэнзима ЛДГ. ЛДГ-С4 в семенниках, играет существенную роль в поддержании процессов гликолиза и производстве АТФ в жгутике, что необходимо для сохранения мужской фертильности и обеспечения функции спермы. Установлена корреляция между содержанием в семенниках ЛДГ-С4, количеством подвижных сперматозоидов и уровнем митохондриальной активности сперматоцитов. ЛДГ-С4 присутствует в мужских половых клетках и специфических семенников [38]. Гетеротетрамеры, содержащие ЛДГ-С и ЛДГ-А или ЛДГ-В, не были обнаружены ни в мышечных клетках, ни в клетках семенников человека. Принято считать, что ЛДГ-С4 является единственным активным представителем ЛДГ в сперматозоиде;

► от содержания в митохондриях семенников пируватдегидрогеназы (ПДГ). Установлено, что для сперматозоидов, получающих почти всю их энергию из углеводов посредством окисления пирувата, особенно важно наличие ПДГ-2, ПДГ-К3 [23];

► от концентрации высоко специфичных глутаматных рецепторов – mGlu в семенниках млекопитающих. Существует гипотеза, что рецепторы mGlu1 регулируют активность клеток Лейдига [36]. В опытах на крысах показано, что рецепторы mGlu5 отвечают за подвижность спермы. В частности, в человеческих семенниках рецепторы mGlu5 присутствуют в большом количестве в семенных канальцах, в то время как mGlu1 были обнаружены в клетках Лейдига в межтрубном пространстве [36];

► от степени насыщенности жирных кислот, содержащихся в мембранах сперматоцитов. Имеются сведения, что фосфолипиды семенников особенно восприимчивы к окислению. Последнее объясняется не только высоким содержанием в них полиненасыщенных жирных кислот, но также наличием в мембранах клеток наряду с неферментативными ферментативных систем способных способствовать процессам переокисления липидов с формированием свободных радикалов [16].

Согласно данным литературы, производство АТФ посредством гликолиза или окислительного фосфорилирования является главным источником энергии для поддержания различных функций и подвижности спермы [26,31]. Это также способствует увеличению количества подходящих для производства энергии субстратов, но требует значительных затрат кислорода.

Образование в ходе сперматогенеза высокодефинированных клеток, предопределяет высокий уровень потребления кислорода митохондриями клеток зародышевого эпителия. В свою очередь, митохондриальное потребление кислорода зависит от активности митохондриальной электронной транспортной цепи и АТФ-синтетазы, которые образуют систему ОФ. Установлено, что чем выше активность четырех дыхательных комплексов ЭТЦ, тем значительней подвижность спермы. Следует отметить, что помимо эффективного окислительного фосфорилирования для сохранения подвижности спермы также необходимо отсутствие каких-либо повреждений в структуре гена mt ДНК являются [31].

Анализ литературы позволил установить, что активность ЭТЦ митохондрий в семенниках напрямую зависит от следующих факторов:

1) от уровня активности кофермента CoQ , и, особенно, CoQ_{10} , которые являются важными компонентами в составе ЭТЦ митохондрий в ткани семенников. Их присутствие коррелирует с уровнем подвижности спермы, и оказывает положительное влияние на мужскую фертильность, что делает обоснованным применение диеты терапии бесплодия у мужчин [12];

2) от наличия в ЭТЦ митохондрий сперматоцитов двух типов цитохрома, таких как соматический цитохром с (Cyt cS) и специфический цитохром с семенников (Cyt cSct или Cyt cS), участвующих в реакциях апоптоза мужских половых клеток и защищающих сперму от повреждений H_2O_2 ;

3) в исследованиях *in vitro* установлено, что добавление витаминов А, Е и С в еду и питьевую воду способствует увеличению их содержания в плазме крови, семенниках и сперме, а также повышению уровня тестостерона в плазме с увеличением подвижности спермы и снижением скорости протекания реакций перекисного окисления липидов [34];

4) от содержания в семенниках и лимфатических органах ионов Ca^{2+} , способного оказывать активирующее влияние на НАДФН-оксидазу 5 (NOX5). Предполагают, что изменение концентрации Ca^{2+} в сперматоцитах и лимфатических клетках, может существенно отражаться на уровне активности лимфоцитов и спермы [8];

5) от наличия в семенниках специфического митохондриального белка-разобщителя UCP5, принимающего активное участие в гормональном контроле метаболических процессов. Высокие концентрации этого белка помимо семенников обнаружены также в головном мозге, почках, матке, сердце, лёгких, печени, и скелетной мускулатуре.

Антиоксидантная система семенников

В соответствии с литературными данными, в ткани семенников присутствует множество антиокислительных

систем с ферментативными и неферментативными механизмами действия. Роль этих систем весьма важна в силу современных воззрений на участие окислительного стресса в патогенезе дисфункции семенников [34]. В частности, считается общепризнанной диетотерапия, включающая в себя потребление таких антиоксидантов как витамины А, С, Е, b-каротин, микро питательных веществ типа фолата и цинка. Подобная диета способствует нормализации состава спермы, обеспечению достаточной подвижности сперматозоидов и в целом репродуктивной функции и фертильности [15]. В ходе клинических испытаний также была установлена роль витамина Е в процессе стероидогенеза в клетках Лейдига. Активное использование факторов антиоксидантной защиты позволяет семенникам обеспечивать удвоение функции стероидогенеза в сочетании с увеличением производства спермы [16].

Тестостерон

Тестостерон является главным гормоном семенников. Он представляет собой стероид С19 группы гидроксила С17, синтезируемый холестеролом в клетках Лейдига [35].

Секреция тестостерона клеток Лейдига управляется лютеинизирующим гормоном (ЛГ). ЛГ действует через змеевидные рецепторы, повышая уровень циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) в этих клетках с повышением активности протеинкиназы. Это, в свою очередь, ведёт к активизации 20,22-десмолазы, катализирующей деградацию боковой цепи холестерина с его переходом в прегненолон. Превращение холестерина в прегненолон является первым и необходимым этапом для синтеза тестостерона. По завершении синтеза тестостерон поступает в систему кровообращения и транспортируется в различных формах к органам и тканям.

Установлено, что 98% тестостерона транспортируется кровью в связанном с белками плазмы виде. Таким образом, только 2% тестостерона перемещается в свободной форме. Свободный тестостерон проникает в клетки через плазматические мембраны пассивно или посредством механизма облегчённой диффузии. Тестостерон способен взаимодействовать исключительно с клетками-мишенями, поскольку он соединяется только со специфическим внутриклеточным рецептором. Затем комплекс рецептор-стероид связывается с ДНК в ядре, облегчая процесс транскрипции различных генов. Цитоплазма некоторых клеток-мишеней содержит фермент 5 α -редуктазу, которая преобразовывает тестостерон в дигидротестостерон (ДГТ). Именно ДГТ стимулирует клетки Сертоли, простаты, семенных пузырьков и наружных половых органов [35].

Установлено, что тестостерон в цитоплазме некоторых клеток может превращаться в эстроген с помощью фермента ароматазы. Этот фермент имеется в составе нейронов головного мозга, клеток Сертоли неполовозрелых самцов и клеток Лейдига взрослых самцов. Последующий метаболизм тестостерона в большинстве тканей проявляется в его трансформации в 17-кетостероиды, главным образом, в андростерон. В печени эти кетостероиды подвергаются глюкуронизации присоединяют сульфаты, что делает их водорастворимыми. В последующем все эти конечные продукты выделяются через почки [26].

Последние сведения о роли митохондрий в синтезе тестостерона показали, что тестостерон и 5 α -дигидротестостерон (ДГТ) являются для млекопитающих основными мужскими половыми гормонами (андрогены). Тестостерон представляет собой андроген, в специфических тканях трансформирующийся ферментом 5 α -редуктазой в ДГТ. Именно ДГТ вызывает различные

ответные реакции этих тканей. Функцию основного производителя тестостерона в семенниках млекопитающих осуществляют Клетки Лейдига. Причём все необходимые для его синтеза белки и ферменты, присутствуют в митохондриях этих клеток.

Для успешного стероидогенеза митохондрия должна активно дышать. В связи с этим, любые изменения в состоянии данной функции митохондрии могут оказать влияние на процесс регуляции биосинтеза стероидов. Во время электронно-транспортных реакций в ЭТЦ могут постоянно образоваться и накапливаться АФК [40]. Чрезмерный синтез АФК может вызвать кумулятивный окислительный стресс, который, как полагают, является одной из главных причин клеточного старения и снижения способности производить тестостерон в клетках Лейдига [40].

Вступив в контакт с мембранными рецепторами клеток Лейдига, ЛГ стимулирует в них синтез тестостерона [19]. В конечном счёте, ЛГ повышает доставку холестерина к внутренней мембране митохондрии, где он метаболизируется цитохромом P450 в прегненолон [19]. Хронические и острые эффекты ЛГ во многом зависят от активности цАМФ-киназы белка сигнального пути. Ключевую роль на этом этапе играет митохондрия, которая способна ограничивать биосинтез стероидных гормонов, препятствуя перемещению холестерина к собственной внутренней мембране, путём вовлечения в процесс особого стероидогенного белка (StAR) и изменения состояния периферических бензодиазепиновых рецепторов. Как установлено, белок StAR содействует передаче холестерина цитохромом P450 из внешней на боковую цепь внутренней митохондриальной мембраны, которая располагается на матричном месте митохондриальной внутренней мембраны, преобразовывая холестерин в прегненолон. В последующем прегненолон выдвигает из митохондрии гладкий эндоплазматический ретикулум, в котором он далее посредством ферментативных реакций преобразуется в тестостерон, катализируемый серией 3-х ферментов: 3 β -гидроксистероида дегидрогеназы (3 β -ГСД), 17 α -гидроксилазы P450 (P450c17), и 17 β -гидроксистероида дегидрогеназы (17 β -ГСД) [28].

В свою очередь, периферические бензодиазепиновые рецепторы позволяют холестерину проникнуть в митохондрии, а также участвует в регулировании мембранного потенциала митохондрий. Как было показано, изменение редокс-потенциала в клетках Лейдига приводит к конформации бензодиазепиновых рецепторов и снижению их способности принимать участие в транспорте холестерина через клеточные мембраны [14]. С другой стороны, есть сведения, что митохондрия способна регулировать содержание кальция внутри клетки. Блокирование ЭТЦ, о чём упоминалось выше, приводит к повышению содержания Ca²⁺ во многих типах клеток [38], что также отражается на процессах стероидогенеза в клетках Лейдига. Известно, что концентрация внутриклеточного Ca²⁺ увеличивается параллельно со стимулированием производства тестостерона, а снижения содержания Ca²⁺, например, посредством хелирования, подавляет стероидогенез. Причём, доказано, что синтез тестостерона зависит именно от содержания Ca²⁺ в клетках Лейдига, а не от активности в них цАМФ [37].

На основании выше изложенного и в соответствии с литературными данными [7] можно заключить, что для осуществления нормального стероидогенеза в клетках Лейдига митохондрия должна быть поляризованной и

сохранять хорошие показатели дыхательной активности. При этом изменения функционального состояния митохондрий могут существенно отражаться на процессе регуляции биосинтеза стероидов.

Влияние на функциональную активность митохондрий семенников малых и средних доз γ -излучения

Исследования влияния ионизирующего излучения на мужскую репродуктивную систему ведутся с 1906 г. Однако, опыты по изучению эффектов ионизирующего излучения в дозе 8 Гр на окислительное фосфорилирование в митохондриях семенников были поставлены впервые только в 1964 г. на 2-х крысах. Таким образом, всего было изучено 4 семенника [39]. Авторы также изучили изменения в печени и селезёнке.

Полученные результаты, с одной стороны, продемонстрировали способность митохондрий семенников, печени и селезёнки к фосфорилированию на различных этапах после общего облучения животных. С другой стороны, было установлено, что максимальные повреждения возникают на 3-и сутки после облучения. Причём наблюдавшиеся изменения были более выраженными, чем таковые в печени и селезёнке, что свидетельствовало о высокой чувствительности митохондрий семенников в целом, и протекающих в них процессов ОФ к внешнему низкодозовому облучению. Также в литературе имеются сведения об острых эффектах относительно слабого облучения (0,5 и 3,0 Гр) на семенники крыс. Было обнаружено повышение концентрации продуктов перекисного окисления липидов в семенниках крыс в сочетании и со снижением активности компонентов АОС [29].

Таким образом, анализ данных литературы детально характеризует роль процессов митохондриального окисления в физиологических реакциях, в том числе и контролирующих состояние мужской репродуктивной системы. К настоящему моменту нежелательные эффекты внешнего радиационного воздействия на организм в целом и семенники в частности изучены в достаточной мере. Тем не менее, каких-либо убедительных данных о негативных последствиях влияния малых доз радиоактивного излучения на семенники и особенностях течения процессов митохондриального окисления в сперматоцитах после такого воздействия в литературе не обнаруживается. Митохондриальный компартмент клетки, как следует из представленных сведений, обладает чрезвычайно высокой чувствительностью к проникающей радиации. С учётом того, что в семенниках процессы митохондриального окисления идут особенно интенсивно, имеются все основания предполагать возможность повреждения гонад даже в случае воздействия на организм малых доз радиоактивного излучения.

Литература

1. Андреев, А.Ю. Метаболизм активных форм кислорода в митохондриях / А.Ю. Андреев, Ю.Е. Кушнарева, А.А. Старков // Биохимия. – 2005. – Т. 70, № 2. – С. 200–214.
2. Дынник, В.В. Иерархия регуляторных механизмов во внутриклеточном обмене // Тез. докл. Всесоюз. симп. «Метаболическая регуляция физиологического состояния», Пушино, 23-25 апр. 1984 г., АН СССР, Науч. центр. биол. исслед., Ин-т биол. физики. – Пушино, 1984. – С. 15-18.
3. Евсеев, А.В. Изменение энергетического обмена у животных на фоне введения комплексов соединений цинка (II) и N-ацетилцистеина // Вестн. Смолен. мед. акад. – 2005. – №1. – С. 24–27.
4. Лягинская, А.М. Кинетика обмена и закономерности формирования поглощённых доз в семенниках мыши от

инкорпорированного ^{137}Cs / А.М. Лягинская, В.А. Осипов, С.И. Дементьев // Радиация, биология. Радиоэкология. – 1998. – Т. 38, вып. 1. – С. 27–29.

5. Николс, Д.Д. Биоэнергетика: введ. в хемиосмотич. теорию / Д.Д. Николс; пер. с англ. Б.В. Черняка. – М.: Мир, 1985. – 190 с.

6. Рэкер, Э. Биоэнергетические механизмы: новые взгляды / Э. Рэкер; пер. с англ. М.И. Гольдштейн; под ред. В.П. Скулачева. – М.: Мир, 1979. – 216 с.

7. Andrew, S, Midzak AS, Liu J, Zirkin BR, Chen H. Effect of myxothiazol on Leydig cell steroidogenesis: inhibition of luteinizing hormone-mediated testosterone synthesis but stimulation of basal steroidogenesis // Endocrinology. – 2007. – Vol. 148, № 6. – P. 2583–2590.

8. Armstrong, J.S. A comparison of the NADPH oxidase in human sperm and white blood cells // Intern. J. Andrology. – 2002. – V.25, N4. – P. 223-229.

9. Boussouar, F., Benahmed M. Lactate and energy metabolism in male germ cells // Trends in Endocrinology and Metabolism. – 2004. – V.15, N7. – P. 345-350.

10. Brand, M.D., Chien L.F., Ainscow E.K. et al. The causes and functions of mitochondrial proton leak // Biochem. Biophys. Acta. – 1994. – V.1187, N2. – P. 132-139.

11. Brookes, P.S. Mitochondria: regulators of signal transduction by reactive oxygen and nitrogen species // Free Radical Biol. Med. – 2002. – V.33, N6. – P. 755-764.

12. Carlos, M. Enhanced mitochondrial testicular antioxidant capacity in Goto-Kakizaki diabetic rats: role of coenzyme Q // Amer. J. Physiol. Cell Physiol. – 2001. – V.281, N3. – P. 1023-1028.

13. Chen, H., Liu J, Luo L, Mirza U. Baig, Jong-Min Kim, Barry R. Zirkin. Vitamin E, aging and Leydig cell steroidogenesis // Experimental Gerontology. – 2005. – Vol. 40, № 8/9. – P. 728–736.

14. Delavoie, F. In vivo and in vitro peripheral-type benzodiazepine receptor polymerization: functional significance in drug ligand and cholesterol binding // Biochem. – 2003. – V.42, N15. – P. 4506-4519.

15. Eskenazi, B. Antioxidant intake is associated with semen quality in healthy men // Human Reprod. – 2005. – V.20, N4. – P. 1006-1012.

16. Gavazza, M.B., Catalá A. The effect of alpha-tocopherol on lipid peroxidation of microsomes and mitochondria from rat testis // Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids. – 2006. – V.74, N4. – P. 247-254.

17. Goldberg, E. Lactate dehydrogenase-x from mouse testes and spermatozoa // Methods in Enzymology. – 1975. – Vol. 41, № 6. – P. 318–323.

18. Grootegoed, J.A., Boer P.J. Energy metabolism of spermatids // Cellular and Molecular Events in Spermiogenesis: proc. of a symp. held at Oaxtepec, Mexico, 11-13 March 1987 / ed.: D.W. Hamilton, G.M. Waites; Cambridge Univ. Press. – New York, 1990. – P. 193–216.

19. Haider, S.G. Cell biology of Leydig cells in the testis // Intern. Rev. Cytology. – 2004. – Vol. 233, № 4. – P. 181–241.

20. Hoffmann, S., Spitzkovsky D, Radicella JP, Epe B, Wiesner RJ. Reactive oxygen species derived from the mitochondrial respiratory chain are not responsible for the basal levels of oxidative base modifications observed in nuclear DNA of mammalian cells // Free Radical Biol. and Med. – 2004. – Vol. 36, № 6. – P. 765–773.

21. Holliger, C., Wohlfarth G., Diekert G. Reductive dechlorination in the energy metabolism of anaerobic bacteria // FEMS. Microbiology Reviews. – 1998. – V.22, N5. – P. 383.

22. Kim, J.S., HeL., Lemasters J.J. Mitochondrial permeability transition: a common pathway to necrosis and apoptosis // Biochem. and Biophys. Res. Communications. – 2003. – Vol. 304, № 3. – P. 463–470.

23. Korotchkina, L.G., Sidhu S., Patel M.S. Characterization of testis-specific isoenzyme of human pyruvate dehydrogenase // J. Biol. Chem. – 2006. – V.281, N14. – P. 9688-9696.

24. Lenaz, G. The mitochondrial production of reactive oxygen species: mechanisms and implications in human pathology // IUBMB Life. – 2001. – Vol. 52, № 3/5. – P. 159–164.

25. Loeffler, M., Kroemer G. The mitochondrion in cell

death control: certainties and incognita // *Experimental Cell Res.* – 2000. – V.256, N1. – P. 19-26.

26. *Mukai, C., Okuno M.* Glycolysis plays a major role for adenosine triphosphate supplementation in mouse sperm flagellar movement // *Biol. of Reprod.* – 2004. – V.71, N12. – P. 540-547.

27. *Nelson, D.N., Lehninger M.V.C.* Principles of Biochemistry. Forth Ed. – W.H. Freeman, 2004. – 1100 p.

28. *Payne, A.H., Hales.D.B.* Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active steroid hormones // *Endocrine Rev.* – 2004. – Vol. 25, № 6. – P. 947–970.

29. *Peltola, V, Parvinen M, Huhtaniemi I, Kulmala J, Ahotupa M.* Comparison of effects of 0.5 and 3.0 Gy x-irradiation on lipid peroxidation and antioxidant enzyme function in rat testis and liver // *J. of Andrology.* – 1993. – Vol. 14, № 4. – P. 267–274.

30. *Pentikainen, V., Dunkel L., Erkkila K.* Male germ cell apoptosis // *Endocrine Development.* – 2003. – № 5. – P. 56–80.

31. *Ruiz-Pesini, E.* Human mtDNA haplogroups associated with high or reduced spermatozoa motility // *Amer. J. of Human Genetics.* – 2000. – V.67, N3. – P. 682-696.

32. *Sazanov, L.A., Hinchliffe, P.* Structure of the hydrophilic domain of respiratory complex I from thermophilic // *Science.* – 2006. – Vol. 311, № 5766. – P. 1430–1436.

33. *Seitz, J, Möbius J, Bergmann M, Meinhardt A* Mitochondrial differentiation during meiosis of male germ cells // *Intern. J. of Andrology.* – 1995. – Vol 18, № 2. – P. 7–11.

34. *Shrilatha, B., Muralidhara* Occurrence of oxidative impairments, response of antioxidant defences and associated biochemical perturbations in male reproductive milieu in the streptozotocin-diabetic rat // *Intern. J. of Andrology.* – 2007. – Vol. 30, № 6. – P. 508–518.

35. *Steinberger, E., Allen R, Miguel F , Keith D. Smith.* The role of androgens in the initiation of spermatogenesis in man // *The J. of Clinical Endocrinology and Metabolism.* – 1973. – Vol. 37, № 5. – P. 746–751.

36. *Storto, M.* Expression of metabotropic glutamate receptors in the rat and human testis // *The J. of Endocrinology.* – 2001. – V.170, N1. – P. 71-78.

37. *Tomic, M, Dufau ML, Catt KJ, Stojilkovic SS.* Calcium signaling in single rat Leydig cells // *Endocrinology.* – 1995. – Vol.136, № 8. – P. 3422–3429.

38. *Wang, Y.X, Zheng YM, Abdullaev I, Kotlikoff M.* Metabolic inhibition with cyanide induces calcium release in pulmonary artery myocytes and xenopus oocytes // *Amer. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2003. – Vol. 284, № 2. – P. 378–388.

39. *Yost, Jr, Henry T., Stewart S, Richmond, Laurence H.* Studies on the effects of irradiation of cellular particulates. Acceleration of recovery of phosphorylation by polyanions, recovery of phosphorylation // *Biol. Bull.* – 1964. – Vol. 127, № 3. – P. 526–537.

40. *Zirkin, B.R., Chen H.* Regulation of Leydig cell steroidogenic function during aging // *Biol. of Reprod.* – 2000. – Vol. 63, № 4. – P. 977–981.