

РОЛЬ ІЗОФОРМ ЦИТОХРОМУ P-450 У МЕХАНІЗМАХ ТОКСИЧНОЇ ДІЇ КСЕНОБІОТИКІВ НА ЧОЛОВІЧУ РЕПРОДУКТИВНУ ФУНКЦІЮ

Г.М. Шаяхметова, к.біол.н.

ДУ "Інститут фармакології і токсикології НАМН України", м. Київ

РЕЗЮМЕ. В огляді проаналізовано сучасні дані щодо ролі ізоформ цитохрому P-450 в патогенезі порушень чоловічої репродуктивної функції, пов'язаних з токсичною біоактивацією ксенобіотиків в сім'яниках, епідидимісах та простаті.

Ключові слова: чоловіча репродуктивна функція, цитохром P-450, ксенобіотики.

РЕЗЮМЕ. В обзоре проанализированы современные данные касательно роли изоформ цитохрома P-450 в патогенезе нарушенной мужской репродуктивной функции, связанных с токсической биоактивацией ксенобиотиков в семенниках, эпидидимисах и простате.

Ключевые слова: мужская репродуктивная функция, цитохром P-450, ксенобиотики.

SUMMARY. Modern data relative to the role of cytochrome P-450 in male reproductive function disturbances pathogenesis concerned with toxic bioactivation of xenobiotics in testes, epididymises and prostate have been analysed in the review.

Key words: male reproductive function, cytochrome P-450, xenobiotics.

Дослідження останніх десятиріч свідчать про значне зниження якості сперми чоловіків та їхньої фертильності [1-4]. Близько 50% випадків безпліддя, які фіксуються клінічно, відносять на рахунок саме партнерів чоловічої статі [5,6].

Нормальна чоловіча репродуктивна здатність є результатом складних взаємодій багатьох механізмів, залучених до продукції сперматозоїдів та їхнього транспорту з гонад до еякуляту. Гіпоталамо-гіпофізарна система, продукуючи гонадотропін, фолікуло-стимулюючий гормон та лютеїнізуючий гормон, регулює функціонування клітин Сертолі сперматогенного епітелію та продукцію андрогенів клітинами Лейдіга. Функціонування клітин, розташованих поза сім'яними каналцями (клітини Лейдіга та міоепітеліальні клітини), забезпечує відповідний рівень продукції сперматозоїдів. Для збереження унікального мікросередовища, де відбувається мейоз та розвиток постмейотичних гермінативних клітин, важливим аспектом також є цілісність гемато-тестикулярного бар'єру, який ізолює ці події від системного кровотоку. На запліднювальний потенціал сперматозоїдів можуть впливати і фактори, що зачіпають функціонування допоміжних статевих залоз — епідидимісів, простати та сім'яних пухирців [7].

Патогенез чоловічої неплідності досліджений недостатньо, його прямий зв'язок з патологічними станами, такими як, наприклад, варикоцеле або уrogenітальні інфекції знайдено лише в 23% випадків [8]. На сьогоднішній день прийнято вважати, що різноманітні, в т.ч. невідомі (при ідіопатичній формі), етіологічні фактори запускають у цілому схожі процеси,

кінцевим результатом яких є зниження кількості та/або якості сперматозоїдів [9].

Чоловіча репродуктивна функція може зазнавати шкідливих впливів через надходження до організму ксенобіотиків — репродуктивних токсикантів з навколишнього середовища, професійного оточення, внаслідок шкідливих звичок (тютюнокуріння) або хіміотерапії [10-12]. До розвитку негативних ефектів стосовно чоловічої репродуктивної функції залучено багато механізмів: 1) втручання гормоно- або антигормоноподібних речовин до нормальної ендокринної або параендокринної регуляції; 2) пряма або опосередкована метаболічними перетвореннями деструктивна дія на специфічні типи клітин, такі як гермінативні клітини, клітини Сертолі та клітини Лейдіга; 3) ушкодження гематотестикулярного бар'єру; 4) індукція або інгібування ферментативних систем гонад і печінки, що може призвести до зростання або супресії секреції чи кліренсу стероїдних гормонів; 5) мутагенний вплив на гермінативні клітини, який спричиняє продукцію сперматозоїдів з низким запліднювальним потенціалом або нездатних до запліднення, вади розвитку або генетичні захворювання у потомства; 6) нейротоксична дія, яка супроводжується порушенням ерекції/емісії/еякуляції [7, 13, 14]. Причому шкідлива дія репродуктивних токсикантів може реалізуватись більше ніж за одним механізмом. Наприклад, відомо, що галогеновані поліциклічні гідрокарбони можуть діяти опосередковано через індукцію мікросомальних монооксигеназ та трансфераз або напряму, взаємодіючи з рецепторами стероїдних гормонів. До розвитку репродуктивної токсичності поліциклічних аро-

матичних гідрокарбонів залучені два механізми — метаболізм до хімічно активних діол-епоксидів та індукція Р-450-залежних монооксигеназ у печінці та інших органах [13].

Для вияву токсичної дії велика кількість хімічних речовин потребує метаболічної активації, яка веде до продукції інтермедіатів, здатних зв'язуватись з життєво важливими макромолекулами клітин, такими як ДНК або протеїни. Крім того, в процесі токсичної біоактивації ряд ксенобіотиків може набувати властивостей ендокринних дизрупторів [15].

Значна кількість хімічних сполук в організмі ссавців піддається метаболічній активації із залученням цитохрому Р-450. У системі даних ензимів часто виділяють два найбільших класи — цитохроми Р-450 (індукуються фенобарбіталом) та цитохроми Р-448 (індукуються 3-метилхонантеном) [16]. Lake зі співавторами визначили активність ізозимів цих двох класів у супернатанті сім'яників, отриманому при 10.000g з використанням біфенілу, як субстрату. За утворенням 4-гідрокси біфенілу була виявлена активація цитохрому Р-450, в той же час цитохром Р-448 лишився неактивним [17]. Більше того, G.I. Murray зі співавторами з імуноцитохімічним методом з використанням моноклональних антитіл довели наявність цитохрому Р-450 в клітинах Лейдига сім'яників людини [18]. Пізніше було визначено ізоформний склад та рівень експресії 31 ізоформи цитохрому Р-450 у гонадах чоловіків. Показано, що в сім'яниках людини експресуються наступні ізозими: CYP 1A1, CYP1A2, CYP1B1, CYP2A6/7, CYP2A7, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP2F1, CYP2J2, CYP3A3/4, CYP3A4, CYP4A11, CYP4B1, CYP4F2, CYP4F3, CYP4F8, CYP5A1, CYP7B1, CYP8A1, CYP8B1, CYP11A, CYP17, CYP19, CYP27B1, CYP39A1, CYP46, CYP51 [19]. Варто відзначити, що ізоформи цитохрому Р-450 у сім'яниках ссавців можна розділити на дві основні групи: перша — стероїдогенні (наприклад, такі як CYP11A1 і CYP17A1), що каталізують ключові ланки в біосинтезі андрогенів [20], та друга група ензимів, функцією яких є конверсія ендогенних та екзогенних ліпофільних сполук у більш водорозчинні метаболіти [21].

Ізоформний склад цитохромів Р-450 у гонадах може мати значну міжвидову різницю. В експериментах на мавпах (*Macaca fascicularis*) показано експресію мРНК сімох ізоформ даного ферменту у сім'яниках: CYP1A1, CYP1A2, CYP2D17, CYP2E1, CYP2J2, CYP3A5, CYP3A8 [22]. Також досліджено експресію ізозимів Р-450 у експериментальних тварин, що найчастіше використовуються в токсикологічних дослідженнях (щури та миші). Тільки

три ізоформи сімейства цитохромів: 1 (1A1, 1A2, 1B1) та одна ізоформа сімейства 2 (2E1) — присутні як у людини, так і у зазначених видів тварин. Незважаючи на це, для них також характерна певна видова специфічність, що, очевидно, пояснюється відмінностями амінокислотного складу. Так, Р-450 1B1 людини ефективно каталізує О-деетилування етоксирезорфіну, в той час як аналогічна ізоформа миші абсолютно неактивна в цих реакціях [23]. Варто зазначити, що експресія даної ізоформи в сім'яниках знаходиться під ендокринним контролем та є відповідальною за активацію ряду прокарциногенів та інших хімічних речовин [24].

Найзначніший внесок у метаболізм ксенобіотиків, включаючи лікарські засоби, належить ізоформам CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C28, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4 [25]. У людини підродина цитохромів Р450 3A включає чотири ізоформи: CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7, CYP3A43. Оскільки субстратна специфічність цих ізоформ перекривається, це ускладнює оцінку їх індивідуального вкладу в метаболізм ксенобіотиків [26]. На даний час для невеликої кількості перелічених ізоформ показана участь у механізмах розвитку патологій чоловічих репродуктивних органів. Зокрема цікавими є результати нещодавнього дослідження диференційної експресії CYP3A4 у тканинах простати, які показали, що зростання експресії цієї ізоформи може сприяти розвитку раку даного органа [27]. Для певних комбінацій гаплотипів CYP3A4/CYP3A5 також продемонстровано диференційну чутливість стосовно виникнення даного захворювання [28]. Нещодавно відкрита ізоформа CYP3A43 виявляє незначний рівень експресії у печінці, але експресується у простаті та сім'яниках. Її субстратна специфічність до кінця не з'ясована [28].

У досліджах на мишах для речовин різної хімічної структури — мірексу (індуктор CYP1A2, 2B10, 2E1 та 3A), 2,2-біс (*n*-хлорфеніл)-1-1-дихлоретилену (індуктор CYP1A2 та 2B10), вінклозоліну та флутаміду (індуктори CYP3A та 1A2) знайдено зв'язок між CYP-індукуючим потенціалом та здатністю втручатись у метаболізм тестостерону, що може пояснювати їхні антиандрогенні ефекти [29].

Серед ізоформ цитохрому, які експресуються у чоловічих гонадах, однією з найважливіших з точки зору токсикології є CYP2E1, враховуючи його високу індукцибельність та здатність до значної генерації реактивних форм кисню, таких як, наприклад, супероксидний радикал [30]. На даний час встановлено, що цитохром Р-450 2E1 бере участь у метаболізмі досить широкого спектру ксе-

нобіотиків, які входять до таких класів як: спирти, альдегіди, кетони, ароматичні сполуки, ефіри, жирні кислоти, галогенізовані та негалогенізовані алкани та алкени, нітрозаміни, азосполуки, відновлюючі речовини, а також досить поширені в промисловості та побуті розчинники, лікарські засоби, сполуки ендогенного походження тощо [30]. Здебільшого увага дослідників приділяється впливу індукторів цитохрому Р-450 2Е1 на печінку, хоча окислювальний метаболізм ксенобіотиків із залученням цієї ізоформи може відбуватись не тільки у цьому органі. На даний час показано присутність цитохрому Р-450 2Е1 у нирках, наднирниках, легенях, мозку, слизовій носовій порожнині, сім'яниках, простаті, матці, плаценті людини [19].

У 1998 році Y. Jiang та співробітники із Університету Мічигану зробили спробу ідентифікувати мРНК цитохрому Р450 2Е1 у сім'яниках та простаті щурів з використанням методів зворотньо-транскриптазної ланцюгової реакції, Саузерн-блотингу та секвенування ДНК [31]. Імуноблотинг дозволив виявити білок СYP2Е1 у сім'яниках, але не в простаті. Подібні ж результати автори отримали і стосовно активності маркерного ферменту СYP2Е1 — *n*-нітрофенолгідроксилази [31]. Введення щурам типового індуктора цитохрому Р450 2Е1 — піридину призводило до підвищення *n*-нітрофенолгідроксилювання тестикулярними мікросомами у 2,2 раза. При цьому селективний інгібітор СYP2Е1 — діетилдитіокарбамат або моноклональні антитіла на СYP2Е1 помітно інгібували *n*-нітрофенолгідроксилазну активність мікросом сім'яників. Таким чином, проведені дослідження чітко продемонстрували наявність і здатність до індукції ізоформи СYP2Е1 у сім'яниках та дозволили авторам обґрунтувати її значимість у біоактивації хімічних речовин безпосередньо в чоловічих гонадах [31].

Пізніше S.V. DuTeaux із співавторами та P.G. Forkert із співавторами показали присутність цитохрому Р450 2Е1 у сім'явиносних каналцях сім'яників, клітинах Лейдіга та в епідидимісі у щурів. Автори зробили висновок, що ці тканини також, окрім печінки та ін., можуть бути відповідальними за окислювальний метаболізм ксенобіотиків [32, 33, 34]. Цей факт є дуже важливим з огляду на визначну роль епідидимісу та сім'явиносних каналців у відтворенні репродуктивної функції самців. Сім'явиносні каналці з'єднують яєчка з епідидимісом та поглинають понад 75 % рідинної фракції під час проходження сперми до епідидимісів [35, 36]. Під час проходження через протоки епідидимісів мембрана спермато-

зоїдів модифікується, що необхідно для набуття гаметами рухливості та здатності запліднювати яйцеклітину. Статеві клітини, вилучені безпосередньо із сім'яних каналців, нерухливі та не можуть проникнути через оболонку ооциту. Таким чином, у каналцях епідидимісів відбувається завершальне дозрівання сперматозоїдів та не підлягає сумніву важливість даної стадії для рівня фертильності самців [37, 38]. Отже, токсична біоактивація ксенобіотиків у сім'явиносних каналцях та епідидимісах однозначно матиме негативний вплив на чоловічу репродуктивну здатність.

Було доведено роль цитохрому Р-450 2Е1 в активації таких тестикулярних токсикантів як ацетон, бензол, стирол. Введення бензолу мишам призводило до тестикулярної атрофії, зниження кількості сперматозоїдів і підвищення рівня їх аномальних форм [39]. Для ацетону та стиролу, які широко використовуються у промисловості, показана здатність певною мірою впливати на якість сперми, знижуючи відсоток сперматозоїдів з нормальною формою голівки та підвищуючи відсоток нерухливих статевих клітин [40]. Ці факти свідчать, що експозиція речовин, здатних індукувати ізоформу СYP2Е1, може викликати ураження репродуктивних органів та підвищувати токсичність потенційних тестикулярних токсикантів завдяки модуляції їх метаболізму безпосередньо в чоловічих гонадах.

Ряд епідеміологічних даних щодо впливу на організм чоловіків хлорованих розчинників, включаючи трихлоретилен, виявив зменшення концентрації сперматозоїдів у спермі та їхньої рухливості, підвищення відсотку аномальних статевих клітин, зниження фертильності та опосередковане батьком підвищення ризику спонтанних абортів та відтермінованого зачаття [32]. Враховуючи, що метаболізм трихлоретилену відбувається переважно за участі цитохрому Р-450 2Е1, було зроблене припущення щодо можливості його токсичної біоактивації безпосередньо у чоловічих статевих органах.

За умов уведення самцям-щурам трихлоретилену з водою було показано, що цитохром Р-450 2Е1-залежне утворення реактивних інтермедіатів із наступним їх ковалентним зв'язуванням з білками клітин, може бути залученим до репродуктивної токсичності зазначеного ксенобіотика [32]. Тварини, що отримували з питною водою трихлоретилен, проявляли дозозалежне зниження запліднювальної здатності. Цікаво, що це відбувалось на тлі відсутності будь-яких змін маси яєчок і епідидимісів, концентрації сперми та рухливості сперматозоїдів. Не було виявлено і порушень мітохондріального мембранного потенціалу спер-

матозоїдів та акросомальної стабільності. Проте в епітелії сім'явиносних каналців сім'яників трихлоретилен викликав певні гістологічні зміни, локалізація яких співпадала з локалізацією цитохрому P-450 2E1. Також було виявлено дозозалежне збільшення ліпопероксидації у спермі щурів, що, можливо, пов'язано саме із експресією вищезгаданої ізоформи. Окислювальна модифікація сперми могла у свою чергу бути причиною зниження запліднювальної здатності самців [32]. Адже відомо, що зниження антиоксидантних властивостей клітин епідидимісу внаслідок підвищення рівня активних форм кисню (АФК) веде до апоптотичних змін у гаметах і може бути одним з основних факторів, обмежуючих їхню запліднювальну здатність [41]. Методом імуноблотингу підтверджено, що вміст протеїну P-450 2E1 в епітелії епідидимісів переважав його кількість у клітинах Лейдига ячок, і, відповідно, у першому випадку була вищою і його каталітична активність, визначена за *n*-нітрофенолгідроксилюванням. Саме в епідидимісах і визначали найбільшу концентрацію хлоралу — основного метаболіту трихлоретилену [34]. Інгібування CYP2E1 антитілами більш виражено знижувало рівень формування хлоралу у епідидимісах, ніж у сім'яниках [34]. За умов введення трихлоретилену також підтверджено присутність CYP2E1 в сім'явиносних каналцях сім'яників та епідидимісах методом вестерн блотингу. Наявність у сім'явиносних каналцях сім'яників щурів цитохрому P-450 2E1 було доведено і дослідями *in vitro* з використанням мікросом інтактних щурів. Метаболізм трихлоретилену інгібувався на 77% у разі преінкубації мікросом сім'явиносних каналців з антитілами до CYP2E1 [33].

Експериментальні дані стосовно метаболізму трихлоретилену в чоловічих гонадах були підтверджені результатами клінічних досліджень. Провели дослідження зразків сперми восьми механіків, що протягом двох років використовували трихлоретилен, як чистильну рідину та мастило і звернулися до медичного центру зі скаргами на безпліддя. У всіх суб'єктів у спермі був виявлений трихлоретилен та його метаболіти. Варто відзначити, що в людських епідидимісах був імуногістохімічно визначений CYP2E1. У сім'яниках мічений CYP2E1 виявлявся в клітинах Лейдига та інтерстиціальній тканині [42].

С.Е. Garner зі співавт. виявили залежні від дози та часу експозиції 1-бромпропану негативні ефекти у репродуктивних органах самців гризунів та зниження рухливості їхніх сперматозоїдів [43]. Зв'язок між метаболізмом 1-бромпропану в системі цитохрому P-450 2E1 та

індукцією репродуктивної токсичності у самців був досліджений з використанням мишей дикого типу та мишей Cyp2e1 -/-. За умов інгаляційного введення період напіввиведення [1,2,3-(13)C-1-бромпропану] був довшим у тварин Cyp2e1 -/- порівняно з мишами дикого типу. В той же час у сечі мишей дикого типу основним метаболітом 1-бромпропану була меркаптурова кислота 1-бром-2-гідроксипропану, а у нокаутних мишей — продукти кон'югації 1-бромпропану з глутатионом. Незважаючи на те, що мишей Cyp2e1 -/- піддавали майже вдвічі довшій експозиції 1-бромпропану, ніж тварин дикого типу, у них не було виявлено жодних негативних ефектів стосовно репродуктивних органів та якості сперматозоїдів. Отримані результати дозволили авторам зробити висновок, що саме CYP2E1-залежне окислення 1-бромпропану є відповідальним за його сперматотоксичність [43]. Тим більше, що як сам 1-бромпропан, так і його метаболіт — меркаптурова кислота 1-бром-2-гідроксипропану *in vitro* значною мірою інгібували рухливість сперматозоїдів, отриманих від мишей дикого типу. Хоча на сперматозоїди, отримані від мишей з виключеним геном Cyp2e1, негативний ефект справляла лише друга речовина. Це свідчить про те, що для розвитку репродуктивної токсичності 1-бромпропану є необхідною його біоактивація в системі цитохрому P-450 2E1 [43].

Добре відома здатність етанолу негативно впливати на продукцію тестостерону та призводити до тестикулярної дистрофії [44]. Одна з гіпотез пов'язує даний феномен з перетворенням алкоголю на ацетальдегід безпосередньо у сім'яниках. Вивчення окислення етанолу до ацетальдегіду у фракції мікросом сім'яників виявило його ензиматичну природу та залежність від присутності НАДФН та кисню. Показано здатність препаратів тестикулярних мікросом в присутності НАДФН також продукувати гідроксильний та 1-гідроксиетильний вільні радикали. Причому їхня генерація модулювалась речовинами, що знижують продукцію ацетальдегіду — дифеніленіодоніумом, госсіполом та дефроксаміном. До метаболізму етилового спирту у чоловічих гонадах залучені, в тому числі, цитохром P450 2E1, цитохром P-450 редуктаза, та ферменти з ліпооксигеназною та пероксидазною активністю [45]. Отримано чіткі докази того, що мікросомні ферментативні системи метаболізму етанолу в сім'яниках локалізовані в клітинах Лейдига. Інгібітори активності алкогольдегідрогенази та каталази (4-метилпіразол та ціанід калія) не справляли ефекту на інтенсивність окислення алкоголю в мікросомах клітин Лейдига, та активність мікросомної етанол-окиснюючої сис-

теми в них була вдвічі вищою, ніж в інтерстиціальних клітинах [46]. Беручи до уваги здатність СYP 2E1 генерувати АФК, такі як супероксидні радикали та їхню швидку взаємодію із органічними молекулами з утворенням вторинних вільних радикалів та АФК [30], подібний каскад може вести до оксидативного ураження клітин Лейдіга. З іншого боку, відомо, що ушкодження клітин Лейдіга призводить до зниження секреції тестостерону, а це, в свою чергу, спричиняє порушення функції клітин Сертолі та негативно позначається на сперматогенезі [14].

Відомо, що цитохром P-450 2E1 бере участь у перетворенні інгаляційних анестетиків — галотану (фторотану), севофлурану і енфлурану на високотоксичні метаболіти (трифтороцтову кислоту, трифторацетилхлорид та ін.), які ацилюють білки і спричинюють утворення неоантигенів [47]. Присутність аддуктів галотану у мікросомах сім'яників шурів була показана J.G. Kenna зі співавт., що навело їх на думку про потенційну можливість біотрансформації даної речовини безпосередньо у чоловічих гонадах [48]. Пізніше виявлено, диференційну індукцію цитохрому P-450 2E1 галотаном у печінці та сім'яниках шурів. Так, після субхронічної експозиції галотану в сім'яниках шурів відзначали підвищення п-нітрофенолгідроксилазної активності у 3,2 раза та збільшення вмісту апо-протеїну P450 2E1 у 7 разів, хоча у печінці цих тварин дані показники збільшувались відповідно у 2,3 та 1,4 раза. Метаболіти галотану визначались не тільки у печінці, сім'яниках і плазмі, а й у сперматозоїдах піддослідних тварин (акросомі та/або області перинуклеарної теки, дистальному відділі хвоста), що може бути результатом токсичної біоактивації галотану у репродуктивному тракті самців [49].

Присутність цитохрому P450 2E1 у чоловічих гонадах та його індукцибельність, на наш погляд, можуть мати велике значення у продукції генотоксичних метаболітів при біотрансформації хімічних сполук. Згідно з сучасними поглядами в основі механізмів репродуктивної токсичності ксенобіотиків, їх мутагенних впливів на організм та виникнення онкологічних захворювань, лежать спільні процеси із залученням високореактивних метаболітів [50, 51]. З огляду на вищезазначене, можна зробити припущення щодо залучення ізоформи СYP2E1 до розвитку віддалених ефектів на потомство чоловіків, які піддавались хронічній експозиції інгаляційних анестетиків. Так, було зафіксовано, що у жінок-анестезіологів, які не мали доступу до середовища операційної кімнати, рівень спонтанних абортів та передчасних пологів був відповідно в 3 та 4 рази ви-

щий ніж у контролі. Крім того, у цієї ж групи жінок спостерігали значне підвищення випадків появи дітей з уродженими вадами [52]. Цитогенетичний аналіз показав зростання частоти хромосомних аберацій в лімфоцитах периферичної крові людей за умов хронічної експозиції інгаляційних анестетиків, що підтверджує кластогенний ефект цих речовин [52].

Є припущення, що цитохром P-450 2E1 відіграє важливу роль у біоактивації 1,3-бутадієну до ДНК реактивного епоксидного метаболіту, який може індукувати генотоксичність *in situ* у соматичних та гермінативних клітинах мишей. В даному випадку наявність цитохрому P-450 2E1 у інтерстиціальних клітинах сім'яників було продемонстровано за допомогою обернено-транскриптазної-полімеразної ланцюгової реакції, імунопереципітаційного вестерн-блотингу та імуногістохімічних методів [53].

Канцерогенна речовина — акриламід — за умов повторних введень мишам-самцям у низьких дозах виявляла мутагенну дію в гермінативних клітинах, індукуючи мутації домінуючих леталей та спадкові хромосомні транслокації у постмейотичних сперматидях [54]. При цьому відомо, що ключовий метаболіт акриламід — епоксид гліцидамід утворюється із залученням цитохрому P-450 2E1. Було зроблено спробу з'ясувати роль даної ізоформи у мутагенних ефектах даного ксенобіотику в гермінативних клітинах мишей, у яких СYP2E1 був відсутній та у мишей дикого типу. В результаті проведених досліджень чітко показано, що акриламід-індуковані мутації в статевих клітинах самців пов'язані із цитохром P-450 2E1-залежною епоксидацією акриламідом. У інтактних самиць мишей, парованих з самцями Сyp2e1+/+, що отримували акриламід підвищувалася кількість ембріонів з хромосомними аберациями з наступним пропорційним зниженням кількості живих плодів, місць імплантації та плодовитості. Однак, у самиць, парованих з самцями Сyp2e1-/- не було виявлено будь-яких негативних ефектів, що свідчить про залежність мутагенних ефектів акриламідом від СYP2E1-залежного метаболізму. Можливо, що у людській популяції чутливість до токсичних ефектів акриламідом є результатом поліморфізму СYP2E1 [54]. Подальші дослідження виявили, що токсичні ефекти акриламідом на статеві клітини мишей зростають за умов ожиріння — стану, що характеризується підвищенням експресії генів СYP2E1. Зроблено припущення, що чоловіки з ожирінням є більш чутливими до репродуктивних токсикантів та, можливо, забруднювачів навколишнього середовища, що метаболізують за допомогою СYP2E1 [54].

З огляду на все вищезазначене можна стверджувати, що закономірності найбільш раннього метаболічного прояву віддалених наслідків впливу хімічних сполук, що метаболізують із залученням цитохрому P-450 2E1 щодо чоловічої репродуктивної системи можуть бути універсальними. На особливу увагу заслуговує той факт, що лабілізація клітинних структур життєво важливих органів та систем, які беруть участь у забезпеченні детоксикації (печінка, нирки), неспецифічного захисту (макрофаги), регуляції (центральна нервова система) та відтворення (гонади, плацента), спостерігаються вже тоді, коли ще не відбувається відчутних структурно-функціональних змін в організмі. В той же час дестабілізація клітинних мембран зберігається, а в деяких випадках і прогресує з наростанням суттєвих порушень інтегральних показників життєдіяльності організму: репродуктивної функції, ембріогенезу, неспецифічної резистентності, поведінкових реакцій, мутагенезу та канцерогенезу.

Представлений огляд літератури свідчить про можливість модуляції ксенобіотиками активності ізоформ цитохрому P-450 у чоловічих репродуктивних шляхах, що може бути одним з механізмів розвитку інфертильності та справляти негативний, опосередкований через батька, вплив на потомство. Подібні ефекти виявлені наразі для невеликої кількості речовин, але цей перелік може бути значно розширений. Так, нашими останніми дослідженнями виявлено, що за умов введення щуром-самцем протягом періоду сперматогенезу одного з широко застосовуваних протитуберкульозних засобів — ізоніазиду в сім'яниках значним чином зростає рівень експресії мРНК цитохрому P-450 2E1. В той же час спостерігалось порушення процесів сперматогенезу, зниження життєздатності сперматозоїдів та фертильності піддослідних самців [55].

Аналіз вищенаведених результатів досліджень наводить на думку, що в основі тестикулярної токсичності ряду ксенобіотиків, які метаболізують в системі цитохрому P-450 можуть лежати спільні процеси. Це є важливим з огляду на те, що чоловіча репродуктивна

система є однією з основних мішеней дії великої кількості хімічних речовин [7]. Уже сьогодні відомо, що глобальне забруднення навколишнього середовища значно більшою мірою стосується чоловічої гаметети, ніж жіночої [56]. Незважаючи на те, що дія тестикулярних токсикантів може бути спрямованою на різні структури репродуктивних органів, завершальна відповідь, як правило, є неспецифічною, оскільки ушкодження одного з типів клітин тягне за собою каскад подій, які призводять до структурних змін та дисфункції інших частин системи [14]. Дані літератури свідчать про значний інтерес до вивчення множинних форм цитохрому P-450 в екстрапечінкових тканинах, зокрема особлива увага приділяється CYP450 2E1, оскільки залежний від CYP450 2E1 метаболізм ксенобіотиків безпосередньо в чоловічих репродуктивних шляхах може вести до утворення токсичних інтермедіатів, здатних взаємодіяти з життєво важливими структурами клітин та до гіперпродукції АФК з наступним розвитком оксидативного стресу. Треба зазначити, що ряд досліджень підкреслює важливість визначення комбінованої дії ксенобіотиків на чоловічу репродуктивну функцію, оскільки в реальних умовах на організм одночасно впливає значна кількість хімічних чинників, серед яких можна назвати забруднювачі навколишнього середовища, фактори професійного оточення, ліки тощо [10, 57]. Незважаючи на достатню складність проведення подібних досліджень вони є ключовими для повного розуміння усіх механізмів негативного впливу ксенобіотиків на чоловічу репродуктивну систему. На нашу думку, для точного визначення молекулярних подій та механізмів, що обумовлюють тестикулярну токсичність хімічних сполук, перспективною є оцінка сумісної дії індукторів та інгібіторів ізоформ цитохрому P-450 *in vitro* та *in vivo*. Такі дослідження сприятимуть пошуку ефективних методів попередження розвитку чоловічого неплоддя в умовах зростаючого навантаження несприятливих факторів довкілля, серед яких не остання роль належить різноманітним хімічним чинникам.

ЛІТЕРАТУРА

1. Is human fecundity declining? / N.E. Skakkebaek, N. Jorgensen, K. Main [et al.] // International Journal of Andrology. — 2006. — V.1, №1. — P. 2–11.
2. Is human fecundity declining in Western countries? / E. Velde, A. Burdof, E. Nieslag [et al.] // Human reproduction. — 2010. — V.25, №6. — P. 1348–1353.
3. Hauser R. The environment and male fertility: recent research on emerging chemicals and semen quality / R. Hauser // Semin. Reprod. Med. — 2006. — V.24. — P. 156–157.
4. Swan S.H. Does our environment affect our fertility & Some examples to help reframe the question / S.H. Swan // Semin. Reprod. Med. — 2006. — V.24. — P.142–146.
5. Best practice policies for male infertility / I.D. Sharlip, J.P. Jarow, A.M. Belker [et al.] // Fertil. Steril. — 2002. — V.77, №5. — P. 873–882.
6. Clinical diagnostic testing for the cytogenetic and molecular causes of male infertility: the Mayo Clinic experience / S.E. Hofherr, A.E. Wictor, B.R. Kipp [et al.] // J. Assist. Reprod. Genet. — 2011. — V.28, №11. — P. 1091–1098.
7. Wong E.W.P. Impacts of environment toxicants on male repro-

- ductive dysfunction / E.W.P. Wong, C.Y. Cheng // Trends in Pharmacological Sciences. — 2011. — V.35, №5. — P. 290–299.
8. Kashir J. Oocyte activation, phospholipase C zeta and human infertility / J. Kashir, B. Heindryx, C. Jones // Hum. Reprod. Update. — 2010. — V.16, №6. — P. 690–703.
 9. Gavallini G. Male idiopathic oligoasthenoteratozoospermia / G. Gavallini // Asian. J. Androl. — 2006. — V.8, №2. — P. 143–157.
 10. Ten J. Occupational and Lifestyle Exposures on Male infertility: A Mini Review / J. Ten, J. Mendiola, A.M. Torres-Cantero, J.M. Moreno-Crau // The Open reproductive Science Journal. — 2008. — №1. — P. 16–21.
 11. Younglai E.V. Reproductive Toxicology of Environmental Toxicants: Emerging Issues and Concerns / E.V. Younglai, Y.J. Wu, W.G. Foster // Current Pharmaceutical Desigh. — 2007. — V. 13, № 29. — P. 3005–3019.
 12. Homan G.F. The impact of life style factors on reproductive performance in the general population and those undergoing infertility treatment / G.F. Homan, M. Davies, R. Norman // Hum. Reprod. Update — 2007. — V.13. — P.209–223.
 13. Mattison D.R. The Mechanisms of Action of Reproductive Toxicants / D.R. Mattison, P.J. Thomford // Toxicologic Pathology. — 1989. — V.17, №2— P. 364–376.
 14. Bonde J.P. Occupational risk to male reproduction / J.P. Bonde // G. Ital. Med. Lav. Erg. — 2002. — V.24, №2. — P. 112–117.
 15. Xenobiotic metabolism, genetic polymorfism and male infertility / H.C. Schuppe H.C., P. Wieneke, S. Donat [et al.] // Andrologia. — 2000. — V.32, №4–5. — P. 255–262.
 16. Xenobiotic metabolizing enzyme activities in rat, mouse, monkey, and human tests / R.W. Dibasio, M.H. Silva, L.R. Shull [et al.] // Drug. Metab. Dispos. — 1991. — V.19, №1. — P. 227–232.
 17. The influence of some hepatic inducers and inhibitors on extrahepatic drug metabolism / B.G. Lake, R. Hopkins, J. Chakraborty [et al.] // Drug. Metab. Dispos. — 1973. — V.1. — P. 342–349.
 18. Murray G.I. The ummunocytochemical localisation and distribution of cytochrome P–450 in normal human hepatic and extrahepatic tissues with a monoclonal antibody to human cytochrome P–450 / G.I. Murray, T.S. Barnes, H.F. Sewell // Br. J. Clin. Pharmacol. — 1988. — V.25. — P. 456–475.
 19. Nishimura M. Tissue distribution of mRNA expression of human cytochrome P–450 isoforms assessed by high-sensivity real-time reverse transcription PCR / M. Nishimura, H. Yaguti, H. Yoshitsugu // Yakugaku Zasshi. — 2003. — V.123, №5. — P. 369–375.
 20. Shan L.X. Differential regulation of steroidogenic enzymes during differentiation optimizes testosterone production by adult rat Leydig cells / L.X. Shan, D.M. Phillips, C.W. Bardin, M.P. Hardy // Endocrinology. — 1993. — V.133. — P.2277–2283.
 21. Otto S. Polycyclic aromatic hydrocarbon metabolism in rat adrenal, ovary, and testis microsomes is catalyzed by the same novel cytochrome P450 (P450RAP) / S. Otto, K.K. Bhattacharyya, C.R. Jefcoate // Endocrinology 1992. — V.131. — P. 3067–3076.
 22. Nishimura M. Tissue-Specific mRNA Expression Profiles of Drug-Metabolizing Enzymes and Transporters in the Cynomolgus Monkey / M. Nishimura, A. Koeda, H. Morikawa // Drug Metab. Pharmacokinet. — 2009. — V.24, №2. — P. 139–144.
 23. Juchau M. Cytochrome P–450-dependent biotransformation of xenobiotics in human and rodent embryonic tissues / M. Juchau, H. Boutelet-Bochan, G. Huang // Drug Metab. Rev. — 1998. — V.30, №3. — P. 541–568.
 24. Developmental expression and endocrine regulation of CYP1B1 in rat testis / G.S. Leung, M. Kawai, J.K. Tai [et al.] // Drug. Metab. Dispos. — 2009. — V. 37, №3. — P. 523–528.
 25. Taavistsainen P. Cytochrome P450 isoform specific in vitro methods to predict drug metabolism and interactions / Taavistsainen P. — Oulu: Oulu University Press, 2001 — Режим доступу: <http://herkules.oulu.fi/issn03553221/>.
 26. Comparative metabolic capabilities of CYP3A4, CYP3A5 and CYP3A7 / J.A. Williams, B.J. Ring, V.E. Cantrell [et al.] // Drug Metab. Dispos. — 2002. — V.30, №8. — P. 883–891.
 27. Expression of cytochrome P450 3A4 and its clinical significance in human prostate cancer / T. Fujimura, S. Takahashi, T. Urano [et al.] // Urology. — 2009. — V.74, №2. — P. 391–739.
 28. Daly A.K. Significance of the minor cytochrome P450 isoforms / A.K. Daly // Clin. Pharmacokinet. — 2006. — V.45, №1. — P. 13–31.
 29. Modulation of mouse P450 isoforms CYP1A2, CYP2B10, CYP2E1, and CYP3A by the environmental chemicals Mirex, 2,2-Bis(p-clorophenyl)-1,1-dichloroethylene, Vinclozolin, and Flutamide / D. Dai, Y. Cao, R. Falls [et al.] // Pesticide Biochemistry and Physiology — 2001. — V.70, №3. — P. 127–141.
 30. Lieber C.S. Cytochrome P-450E1: Its Physiological and Pathological Role / C.S. Lieber // Physiol. Rev. — 1997. — V.77. — P. 517–544.
 31. Jiang Y. The detection of cytochrome P450 2E1 and its catalytic activity in rat testis / Y. Jiang, C.L. Kuo, S.J. Pernecky, W.N. Piper // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1998. — V.246, №3. — P. 578–583.
 32. Male reproductive toxicity of trichloroethylene: sperm protein oxidation and decreased fertilizing ability / S.B. DuTeaux, T. Berqer, R.A. Hess [et al.] // Biol. Reprod. — 2004. — V.70, № 5. — P. 1518–1526.
 33. Evidence for Trichloroethylene Bioactivation and Adduct Formation in the Rat Epididymis and Efferent Ducts / S.B. DuTeaux, M.J. Hengel, D.E. DeGroot [et al.] // Biol. Reprod. — 2003. — V.69, №3. — P. 771–779.
 34. Metabolism and toxicity of trichloroethylene in epididymis and testis / P–G. Forkert, L.H. Lash, V. Nadeau [et al.] // Toxicol. Appl. Pharmacol. — 2002. — V.182, № 3. — P. 244–254.
 35. Amann R.P. The epididymis and sperm maturation: a perspective / R.P. Amann, R.H. Hammerstedt, D.N. Veeramachaneni // Reprod. Fertil. Dev. — 1993. — V.5, №4. — P. 361–381.
 36. Klinefelter G.R. Toxicology of the male excurrent ducts and accessory sex glands / G.R. Klinefelter, R.A. Hess // Reproductive and Developmental Toxicology. — New York: Marcel Dekker, 1998. — P. 553–591.
 37. Cornvall G.A. New insights into epididymal biology and function / G.A. Cornvall // Hum. Reprod. Update. — 2009. — V.15, №2. — P. 213–227.
 38. Foley G.L. Overview of Male reproductive Pathology / G.L. Foley // Toxicologic Pathology. — 2001. — V.29, №1. — P.49–63.
 39. Subchronic inhalation toxicity of benzene in rats and mice / C.O. Ward, R.A. Kuna, N.K. Sydner [et al.] // Am. J. Ind. Med. — 1985. — V.7. — P. 457–473.
 40. Jelnes J.E. Stainless steel welding and semen quality / J.E. Jelnes // Reprod. J. Toxicol. — 1988. — V.2, P.209–212.
 41. Chabory E. Mammalian glutathione peroxidases control acquisition and maintenance of spermatozoa integrity / E. Chabory, C. Damon, A. Lenoir // J. Anim. Sci. — 2010. — V.88, № 4. — P. 1321–1331.
 42. Forkert P-G. Identification of Trichloroethylene and Its Metabolites in Human Seminal Fluid of Workers Exposed to Trichloroethylene / P-G. Forkert, L. Lash, R. Tardif // Drug. Metab. Dispos. — 2003. — V.31, №3. — P. 306–311.
 43. CYP2E1-catalyzed oxidation contributes to the sperm toxicity of 1-bromopropane in mice / C.E. Garner, C. Solan, S.C. Sumner [et al.] // Biol. Reprod. — 2007. — V.76, № 3. — P. 496–505.
 44. Levels of plasma testosterone, antioxidants and oxidative stress

- in alcoholic patients attending de-addiction centre / S.R. Kulkarni, K.P. Ravindra, C.Y. Dume [et al.] // *Biology and Medicine*. — 2009. — V. 1, №4. — P. 11–20.
45. Quintans L.N. Oxidation of ethanol to acetaldehyde and free radicals by rat testicular microsomes / L.N. Quintans, G.D. Castro, J.A. Castro // *Arch. Toxicol.* — 2005. — V.79. — P. 25–30.
 46. Muroso E.P. Microsomal ethanol oxidizing system in purified rat Leydig cells / E.P. Muroso, V. Fisher-Simpson // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1987. — V.987, №2. — P. 136–140.
 47. Restrepo J.G. Polymorphic drug metabolism in anaesthesia / J.G. Restrepo, E. Garcia-Martin, C. Martinez, J.A. Agünder // *Curr. Drug. Metab.* — 2009. — V.10, №3. — P. 236–246.
 48. Kenna J.C. Factors affecting the expression of trifluoroacetylated liver microsomal protein neoantigens in rats treated with halothane / J.C. Kenna, J.L. Martin, H. Satoh, L.R. Pohl // *Drug. Metab. Dispos.* — 1990. — V.18. — P. 788–793.
 49. Trifluoroacetylated adducts in spermatozoa, testes, liver and plasma and CYP2E1 induction in rats after subchronic inhalatory exposure to halothane / L.F. Oropeza-Hernandez, B. Quintanilla-Vega, R.A. Reyes-Mejia [et al.] // *Toxicol. Lett.* — 2003. — V.15, №1. — P. 105–116.
 50. Baillie H.S. Chemicals and Pregnancy Study (CHAPS-UK) / H.S. Baillie, J.A. Clyma // *J. Reprod. Fert. Abstr. Ser.* — 2000. — № 25. — P. 61–64.
 51. Metabolic activation capacity of neonatal mice in relation to the neonatal mouse tumorigenicity bioassay / P.P. Fu, L.S. Von Tungeln, G.J. Hammons et al.] // *Clin. Pharmacol. Bull.* — 2001. — V.17, №1. — P. 36–40.
 52. Chinelato A.R. Genotoxic effects on professionals exposed to inhalational anesthetics / A.R. Chinelato, N. D. Conforti Froes // *Rev. Bras. Anesthesiol.* — 2002. — V.52 №1. — P. 79–85.
 53. Healy L.N. Expression and distribution of cytochrome P450 2E1 in B6C3F1 mouse liver and testes / L.N. Healy, L.J. Pluta, L. Recio // *Chemico-Biological Interaction.* — 1999. — V.121, № 2. — P. 199–207.
 54. Diet-Induced Obesity in Male Mice Is Associated with Reduced Fertility and Potentiation of Acrylamide-Induced Reproductive Toxicity / I.B. Ghanayem, R. Bai, G.E. Kissling [et al.] // *Biol. Reprod.* — 2010. — 82, №1. — P. 96–104.
 55. Шаяхметова Г.М. Експресія цитохрому Р-450 2Е1 у сім'яниках та репродуктивна здатність щурів-самців за умов введення ізоніазиду / Г.М. Шаяхметова // *ВІСНИК Київського національного університету імені Т. Шевченка* — 2011. — Вип.58. — С. 51–53.
 56. Імунозалежні причини чоловічого непліддя / А.М. Гаврилюк, В.В. Чоп'як, А.Й. Наконечний [та ін.] // *Медицинские аспекты здоровья женщины.* — 2010. — №4/2. — С. 6–14.
 57. Hauser R. Science linking environmental contaminant exposures with fertility and reproductive health in the adult male / R. Hauser, R. Sokol // *Fertil. Steril.* — 2008. — V.89. — P. e59–65.

Надійшла до редакції 06.01.2012 р.