

О диагностической значимости содержания полиаминов в эякуляте инфертильных мужчин при асимптомных воспалительных процессах

Ю.А. Богданов¹, Т.И. Карпунина¹, Л.Ю. Нестерова², А.В. Ахова²

¹ГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России;

²ФГБУН «Институт экологии и генетики микроорганизмов» УрО РАН, Пермь

Контакты: Юрий Аркадьевич Богданов realdok@yandex.ru

Исследовано содержание спермина (Sp) и спермидина (Spd) в спермоплазме мужчин с пиоспермией и без признаков воспаления. Установлено, что лейкоцитоспермия, как правило, сочеталась с отклонениями от нормы показателей спермограммы, преобладали тератозооспермия и комбинированные формы патозооспермии. При этом наблюдалось значимое, по сравнению с нормозооспермией, снижение уровня полиаминов, в большей степени Spd. Учитывая их способность активно связываться со свободными радикалами, динамическое наблюдение за концентрацией Sp и Spd в эякуляте может способствовать выявлению воспалительных процессов в мужской репродуктивной системе, особенно с латентным течением, и быть критерием их излеченности.

Ключевые слова: полиамины, спермин, спермидин, лейкоцитоспермия, патозооспермия, бесплодие

On the diagnostic significance of polyamines in semen of infertile men with asymptomatic inflammation

Yu.A. Bogdanov¹, T.I. Karpunina¹, L.Yu. Nesterova², A.V. Akhova²

¹Academician E.A. Wagner Perm State Medical Academy, Ministry of Health of Russia;

²Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm

The research has covered the level of spermine and spermidine in spermoplasma of the men with pyospermia and with no inflammation signs. It has been revealed that leucocytospermia normally went together with abnormality of the patients' spermogram indices. Teratozoospermia and complex forms of sperm pathology prevailed. At that, a significant, as compared to normozoospermia, polyamines regression was seen, spermidine regression to a greater degree. Given their capacity to actively bind with free radicals, case monitoring of spermine and spermidine concentration in ejaculate may help to detect inflammation processes in male reproductive system, especially with latent disease course, and therefore be their curability criterion.

Key words: polyamines, spermine, spermidine, leucocytospermia, pathozoospermia, infertility

Введение

В настоящее время нарушение репродуктивной функции у мужчин приобрело особую медицинскую и социальную значимость. Общеизвестно, что в России каждая 6–7-я семейная пара является бесплодной, при этом в 30–50 % случаев причиной этого является мужчина [1, 2]. Мужское бесплодие полиэтиологично, но одной из наиболее частых его причин является инфекционно-токсический фактор. В последние годы среди населения детородного возраста наблюдается значительный рост числа инфекционных заболеваний, что приводит к нарушению репродуктивной функции, инфертильному состоянию и снижению рождаемости здорового потомства. Воспалительный процесс и его осложнения могут воздействовать изолированно или последовательно на различные органы мочеполовой системы. Инфекция часто приводит к возникновению хронического воспаления в половых железах, оказы-

вающего негативное влияние на сперматогенный эпителий, к нарушению гематотестикулярного барьера, реологических свойств и компонентов семенной жидкости, появлению антиспермальных антител [3]. В то же время отмечается высокая частота бессимптомных и субклинических форм воспалительного процесса. Такие формы наиболее опасны с точки зрения возникновения бесплодия, так как с момента инфицирования до обращения к врачу для целенаправленного обследования и адекватного лечения проходят годы.

С другой стороны, поиск новых более информативных диагностических подходов к проблеме инфертильности мужчин сохраняет свою актуальность. Перспективными маркерами в подобных случаях исследователи считают полиамины [4, 5]. В настоящее время известно более 200 биохимических компонентов спермоплазмы человека, существенной частью которых являются полиамины — низкомолекулярные органические эндо-

генные поликатионы, которые играют важную роль в регуляции жизнедеятельности клеток. В организме человека они представлены в основном спермином (Сп) и спермидином (Спд). Их обнаруживают в клетках разных тканей и органов, тканевых жидкостях (кровь, слюна, желчь и т. д.), но самая высокая концентрация полиаминов обнаружена в спермоплазме. Известно, что они являются факторами активации и ингибирования апоптоза, играют важную роль в биосинтезе белка и нуклеиновых кислот, являются антиоксидантами, что необходимо для формирования оплодотворяющих и защитных свойств спермы и созревания сперматозоидов. Получены данные, указывающие на то, что концентрация полиаминов при различных патозооспермиях (астенозооспермия, некрозооспермия, тератозооспермия) может изменяться [6]. Поскольку функции этих соединений в полной мере не расшифрованы, в настоящее время идет активное изучение их свойств.

Целью данной работы явилось изучение возможной связи воспалительного процесса с содержанием спермальных полиаминов в эякуляте.

Материалы и методы

Обследовано 30 пациентов – жителей г. Перми в возрасте от 25 до 49 лет, которые обратились по поводу бесплодного брака в отделение планирования семьи Диагностического городского Центра при МСЧ № 9 им. М.А. Тверье. Проведена диагностика по общепринятым методикам, в том числе сбор анамнеза, жалоб о наличии соматической и репродуктивной патологии, оценка объективного статуса, стандартных клинических анализов, используемых в андрологии, включая спермограмму. Все пациенты прошли углубленное обследование с посевом 1-й и 2-й порции мочи, секрета простаты и эякулята. Идентификацию и оценку чувствительности к антибиотикам изолированных при этом микробных культур выполняли с помощью автоматического бактериологического анализатора VITEK (Biomerieux, Франция) на базе бактериологической лаборатории ООО «ПРОМЕД» (Пермь). Пациенты, у которых были положительные результаты тестов на Human immunodeficiency virus (HIV), *Treponema pallidum*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium*, выявлены *Ureaplasma urealyticum* в титре > 10⁴ КОЕ/мл, исключались из проводимого исследования.

В специальном исследовании определяли уровень спермальных полиаминов: к супернатанту, полученному после центрифугирования эякулята (15 мин при 16 000 g), добавляли 4 N HClO₄ в соотношении 1:10 и интенсивно встряхивали в течение 30 мин, после чего пробы вновь центрифугировали и 50 мкл надосадочной жидкости отбирали для дансирования. Смесь, содержащую исследуемый образец, насыщенный рас-

твор карбоната натрия и раствор дансил-хлорида в ацетоне (10 мг/мл) в соотношении 1:1:2 инкубировали 3 ч в темноте при 37 °С. Анализ дансированных производных полиаминов проводили методом тонкослойной хроматографии [7]. Полученные данные обрабатывали с использованием методов вариационной статистики. При статистической обработке результатов вычисляли среднее значение и его ошибку (M ± m).

Основные результаты

Поводом для обращения обследованных мужчин к андрологу послужило отсутствие детей в браке более года, при том, что явных субъективных и выраженных объективных признаков патологии репродуктивной системы не зарегистрировано. Согласно полученным результатам, пациенты были разделены на 2 группы: 1-я группа (n = 14) с олиоспермией (лейкоциты > 1 млн/мл), 2-я (n = 16) – без признаков воспаления в эякуляте. Анализ состояния эякулята позволил установить, что у мужчин 2-й группы преобладали спермограммы с показателями, не выходящими за пределы референсных значений: 56 % против 29 % в 1-й группе. У пациентов с воспалением чаще выявлялась патозооспермия, особенно ее сочетанные формы: 71 % против 44 % во 2-й группе. Наиболее существенной в 1-й группе оказалась доля тератозооспермии (21 %), не встречавшейся во 2-й группе (табл. 1), что можно объяснить значительным увеличением свободных радикалов в виде реакции на воспалительный процесс, которые способны оказывать повреждающее действие на сперматозоиды [8, 9]. Важно подчеркнуть, что у 100 % пациентов в 1-й группе при микроскопии в секрете простаты отмечали признаки воспаления: 40–60 лейкоцитов в поле зрения. При этом жалобы на дизурию, боли ноющего характера в области промежности и мошонки предъявляли только 4 (29 %) пациента.

Таблица 1. Параметры эякулята у пациентов в группах сравнения

| Параметры эякулята | Число случаев, абс. (%) | |
|-----------------------------|-------------------------|------------|
| | 1-я группа | 2-я группа |
| Нормозооспермия | 4 (29) | 9 (56) |
| Олигозооспермия | 0 | 1 (6) |
| Астенозооспермия | 4 (29) | 3 (19) |
| Тератозооспермия | 3 (21) | 0 |
| Астенотератозооспермия | 1 (7) | 2 (14) |
| Олигоастенозооспермия | 0 | 1 (6) |
| Олигоастенотератозооспермия | 2 (14) | 0 |

При нормозооспермии средний уровень Сп и Спд составил 2,79 ± 0,67 и 0,33 ± 0,1 мкмоль/мл, с незначительными колебаниями отношения Сп/Спд в интервале 8,28–8,78. По данным нашего исследования,

Таблица 2. Содержание и соотношение полиаминов в зависимости от параметров эякулята

| Параметры эякулята | Содержание полиаминов | | |
|-----------------------------|-----------------------|----------------|-------------|
| | Сп, мкмоль/мл | Спд, мкмоль/мл | Сп/Спд |
| Нормозооспермия | 2,79 ± 0,67 | 0,33 ± 0,1 | 8,53 ± 0,25 |
| Астенозооспермия | 1,46 ± 0,65 | 0,19 ± 0,14 | 11,2 ± 4,82 |
| Тератозооспермия | 1,65 ± 0,16 | 0,13 ± 0,045 | 13,4 ± 4,13 |
| Олигоастенозооспермия | 1,66 ± 0,72 | 0,18 ± 0,12 | 11,8 ± 3,87 |
| Олигоастенотератозооспермия | 1,56 ± 0,71 | 0,16 ± 0,09 | 10,6 ± 1,54 |

происходило достоверное снижение уровня полиаминов при тератозооспермии в 1,7 и 2,5 раза соответственно ($p < 0,05$). При прочих формах патозоспермии уровень Сп менялся недостоверно. В случаях с сочетанными формами патозоспермии – астенотератозооспермии и олигоастенотератозооспермии – достоверно в 1,8–2 раза снижался уровень Спд ($p < 0,05$). Во всех случаях патозоспермии отмечено увеличение отношения Сп/Спд по сравнению с нормозооспермией в 1,1–1,5 раза, максимальное изменение зарегистрировано при тератозооспермии (табл. 2).

Установлено, что уровень спермальных полиаминов в группах сравнения существенно различался. Содержание Спд при пиоспермии составило в среднем $0,14 \pm 0,005$ мкмоль/мл эякулята, у пациентов без воспаления – $0,42 \pm 0,122$ мкмоль/мл, соответственно средний уровень Сп равнялся $2,01 \pm 0,434$ мкмоль/мл и $3,36 \pm 0,421$ мкмоль/мл, т. е. установленная концентрация этих полиаминов у мужчин 2-й группы в 1,7 и 3 раза выше, чем у мужчин 1-й ($p < 0,05$). Необходимо отметить, что отношение Сп/Спд у мужчин 1-й группы ($13,8 \pm 2,052$) превышало в 1,7 раза аналогичный показатель во 2-й группе ($8,04 \pm 1,812$). При этом не обнаружено какой-либо достоверной связи между соотношением спермальных полиаминов и содержанием сперматозоидов в 1 мл спермы при воспалении и без него, а также их уровнем и наличием бактериальной флоры в эякуляте (табл. 3).

Результативность бактериологического исследования эякулята не превышала 50 %, а секрета простаты – 79 %. Примечательно, что во 2-й группе при отсутствии признаков воспаления в эякуляте повышенное содержание лейкоцитов в секрете простаты было

у 25 % пациентов, не предъявлявших жалоб. Инфицированность спермы составила 33 %, а присутствие микроорганизмов в секрете простаты регистрировали у 44 % обследованных. В анализируемых образцах доминировали грамположительные виды. Чаще всего и в первом, и во втором случаях высевали *Staphylococcus haemolyticus* (37–44 %). Однако при воспалении

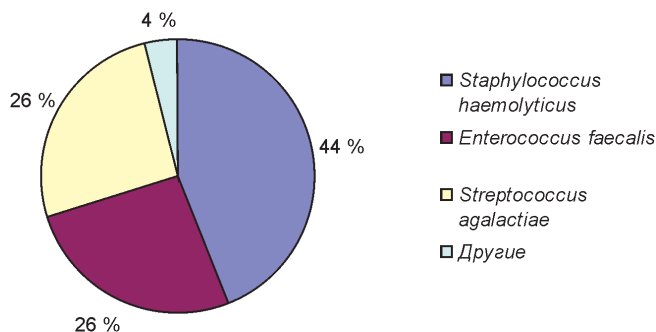
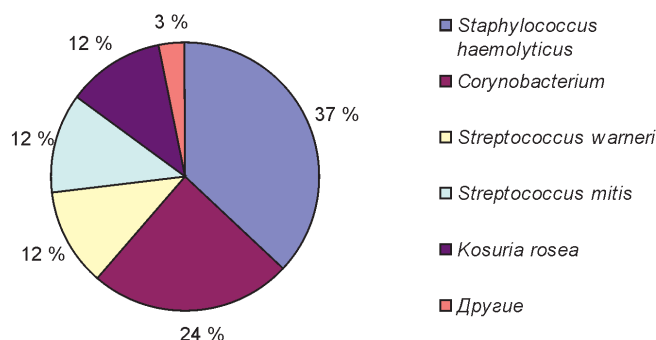

Рис. 1. Состав микрофлоры спермальной жидкости, выявляемый при пиоспермии

Рис. 2. Состав микрофлоры спермальной жидкости, выявляемый без пиоспермии

Таблица 3. Характеристика изучаемых параметров в спермоплазме обследованных пациентов

| Группы сравнения | Средняя концентрация Спд, мкмоль/мл | Средняя концентрация Сп, мкмоль/мл | Отношение Сп/Спд | Отношение Спд к количеству сперматозоидов в 1 мл спермы | Отношение Сп к количеству сперматозоидов в 1 мл спермы |
|------------------|-------------------------------------|------------------------------------|------------------|---|--|
| 1-я группа | $0,14 \pm 0,005$ | $2,01 \pm 0,431$ | $13,8 \pm 2,052$ | $0,008 \pm 0,003$ | $0,07 \pm 0,042$ |
| 2-я группа | $0,42 \pm 0,122$ | $3,36 \pm 0,413$ | $8,04 \pm 1,813$ | $0,004 \pm 0,003$ | $0,05 \pm 0,034$ |

у каждого 4-го пациента изолировали *Enterococcus faecalis* и *Streptococcus agalactiae*, которые не встречались у пациентов 2-й группы (рис. 1, 2).

Обсуждение

Таким образом, у значительной части обследованных (46,7 %) зарегистрирована пиоспермия, т. е. практически в половине случаев причиной инфертильности мог послужить воспалительный процесс, ассоциированный с условно патогенными микроорганизмами. В группе с лейкоцитоспермией в 1,7 раза чаще выявляли патологические спермограммы: в основном преобладали тератозооспермия и сочетанные формы патозооспермии, что сопровождалось минимальными клиническими проявлениями, а зачастую состояние пациентов расценивалось как вполне удовлетворительное. При всех патологических состояниях отмечали снижение концентрации спермальных полиаминов в эякуляте, что представляется закономерным с учетом их способности активно связываться со свободными радикалами [10]. Очевидно, что на фоне падения уров-

ня полиаминов повышается риск повреждения сперматозоидов. Достоверно чаще и значительно уменьшалось содержание Спд, что при тератозооспермии сопровождалось максимальным значением отношения концентрации Сп/Спд. В подавляющем большинстве случаев из спермальной жидкости и секрета простаты высевались грамположительные бактерии. Важно подчеркнуть, что уровень Сп и Спд в эякуляте не зависел от наличия микроорганизмов и видового состава микробиоты. Вместе с тем, колонизация репродуктивных органов условно патогенными микроорганизмами, их персистенция и вялотекущее воспаление приводило к значительным изменениям содержания и соотношения уровня спермальных полиаминов. Учитывая их способность активно связываться со свободными радикалами, образующимися, в частности, при пиоспермии, динамическое наблюдение за концентрацией этих соединений в эякуляте может способствовать выявлению воспалительных процессов в мужской репродуктивной системе, в том числе латентных, и быть критерием их излечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Капто А.А., Виноградов И.В. Руководство по клинической андрологии. М.: Медпрактика, 2008. 272 с.
2. Практическая урология. Руководство для врачей. Под ред. П.В. Глыбочко, Ю.Г. Аляева. М.: Медфорум, 2012. 352 с.
3. Тер-Аванесов Г.В. Проблемы репродуктивного здоровья у мужчин. М., 2004. 176 с.
4. Семенов А.В., Пацановская Г.М. К вопросу о влиянии бактериоспермии на качество спермы. Паллиативная мед и реабилит 2008;4:29–33.
5. Бойко О.В., Терентьев Н.А., Николаев А.А. Методологические аспекты использования солянокислого спермина и спермидина для идентификации уропатогенной микрофлоры. Пробл репрод 2010;3:77–9.
6. Николаев А.А., Плосконос М.В. Содержание свободных полиаминов в спермоплазме фертильных и субфертильных мужчин. Пробл репрод 2010;3:80–2.
7. Ткаченко А.Г., Шумков М.С., Ахова А.В. Путресцин как модулятор содержания σ S-субъединицы РНК-полимеразы в клетках *Escherichia coli* при кислотном стрессе. Биохимия 2006;71(5):237–46.
8. Henkel R., Maass G. Urogenital inflammation: changes of leucocytes and ROS. Andrologia 2003;5:309–13.
9. Yilmaz S., Koyuturk M. Effects of leucocytospermia on semen parameters and outcomes of intracytoplasmic sperm injection. Int J Androl 2005;6:337–42.
10. Ha H.C., Sirisoma N.S., Kuppusamy P. et al. The natural polyamine spermine functions directly as a free radical scavenger. Proc Natl Acad Sci USA 1998;19:11140–5.