

Влияние полиморфизма генов глутатионтрансфераз T1 и M1 на андрогенный статус и качество эякулята после оперативного лечения варикоцеле

П.В. Глыбочко, Ю.Г. Аляев, М.Е. Чалый, О.А. Усачёва

НИИ уронефрологии и репродуктивного здоровья человека, кафедра урологии
ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России

Контакты: Михаил Евгеньевич Чалый chalyu@bk.ru

Цель настоящего исследования — оценить андрогенный статус мужчин после оперативного лечения варикоцеле, а также исследовать генотип *GSTT1* и *GSTM1* у пациентов с патозооспермией. В исследование было включено 30 мужчин после оперативного лечения варикоцеле. У всех участников исследования изучался анамнез, проводилось физикальное обследование, анализ эякулята, уровня репродуктивных гормонов крови. Полиморфизм генов *GSTT1* и *GSTM1* определялся посредством полимеразной цепной реакции. Уровни общего тестостерона крови и ингибина В были значительно ниже у пациентов с патозооспермией. Пациенты с генотипом *GSTM1*(-) имели более низкие показатели спермограммы, чем пациенты с генотипом *GSTM1*(+). Результаты нашего исследования предполагают, что *GSTM1*(-) генотип является фактором риска развития дефицита тестостерона и патозооспермии.

Ключевые слова: варикоцеле, андрогенный статус, полиморфизм генов *GSTT1* и *GSTM1*, патозооспермия

Influence of the glutathione S-transferases T1 and M1 gene polymorphisms on androgenic status and semen quality after surgical treatment of varicocele

P.V. Glybochko, Yu.G. Alyaev, M.E. Chalyu, O.A. Usacheva

Research Center of Urology and Reproductive Health, Department of Urology of First I.M. Sechenov Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia

Aim: to examine androgenic status in men after surgical treatment of varicocele; to investigate genotype *GSTT1* and *GSTM1* in patients with pathozoospermia. Thirty men after surgical treatment of varicocele were recruited to this study. All subjects were evaluated by history, physical examination, semen analysis, serum FSH, LH, E2, PL, inhibin B and total testosterone determination. *GSTT1*, *GSTM1* gene polymorphisms were determined by polymerase chain reaction. Total testosterone and inhibin B levels were significantly lower in patients with pathozoospermia. Patients with the *GSTM1*(-) genotype had lower sperm concentrations than those with the *GSTM1*(+) genotype. Our results suggest that the *GSTM1*(-) genotype is risk factor for androgen deficiency and pathozoospermia.

Key words: varicocele, androgenic status, *GSTT1*, *GSTM1* gene polymorphisms, pathozoospermia

Повышенный интерес урологов к варикоцеле, или варикозному расширению вен семенного канатика, обусловлен различными причинами. Во-первых, это довольно частое заболевание у мужчин — 10–16 % в общей популяции. При этом 30–40 % наблюдений варикоцеле диагностируют у пациентов с нарушенной фертильностью. Во-вторых, как известно, существует тесная связь между мужским бесплодием и варикоцеле, что представляет важную проблему в медицинском и социальном аспекте [1–8]. По данным литературы, сперматогенез при варикоцеле нарушается в 20–80 % наблюдений и характеризуется снижением основных показателей спермы и гораздо реже — азооспермией [9, 10]. В настоящее время остается открытым вопрос о других причинах патозооспермии у пациентов с варико-

целе. Нарушение репродуктивной функции обусловлено влиянием вредных факторов окружающей среды, которые приводят к нарушению гомеостаза в органах половой системы мужчин с генетически детерминированным дефицитом механизма обезвреживания ксенобиотиков. В последние годы в мире проводятся исследования по установлению роли полиморфизма генов *GSTT1*, *GSTM1* в развитии патозооспермии, в том числе у мужчин с варикоцеле. Это связано с тем, что *GSTT1* и *GSTM1* кодируют антиоксидантную ферментную систему — глутатионтрансферазы T1 и M1 [11–14]. Известно, что избыточное образование свободных радикалов приводит к активации перекисного окисления липидов плазматической мембраны сперматозоидов. Свободные радикалы представляют собой атомы кис-

лорода, которые имеют неспаренный электрон на внешней электронной орбите и обладают высокой реакционной способностью. Глутатионтрансферазы T1 и M1 катализируют конъюгацию генотоксических метаболитов (канцерогенов, липидов, продуктов свободно-радикальных реакций) с глутатионом, вызывая их инактивацию. Накопленный зарубежный опыт, нацеленный на детализацию причин нарушений внешнесекреторной функции гонад, авансирует развитие нового вектора репродуктивной андрологии — альянса молекулярной генетики, урологии и эндокринологии. Недостаточная секреция тестостерона у мужчин с варикоцеле, вероятно, обусловлена хроническим венозным конгестивным патологическим процессом в органах мошонки, последствия которого не всегда ликвидируются оперативным вмешательством. Это связано с отличием в генетическом статусе пациентов, который кодирует интенсивность метаболических процессов, формирующих основу андрогенного статуса мужчин. Андрогенный статус включает 2 модуля — это гормон-продуцирующий потенциал и фертильность эякулята. Низкий гормон-продуцирующий потенциал является предиктором развития раннего возрастного гипогонадизма. В настоящее время отсутствует персонализированный подход к оценке андрогенного статуса мужчин и не разработаны мероприятия, направленные на профилактику раннего возрастного гипогонадизма.

Цель настоящего исследования — оценить андрогенный статус мужчин после оперативного лечения варикоцеле и определить генотип *GSTT1* и *GSTM1* у пациентов с патозооспермией.

Материалы и методы

I. Клиническая характеристика участников исследования

На базе НИИ уронефрологии и репродуктивного здоровья человека Первого МГМУ им. И.М. Сеченова проводилось обследование и наблюдение 30 пациентов в возрасте от 18 до 34 лет после оперативного лечения варикоцеле.

В исследование не включались пациенты со следующими характеристиками:

- возраст старше 40 лет или менее 18 лет;
- послеоперационный период до 6 мес;
- объем гонад менее 16 см³;
- рецидив варикоцеле;
- острые или хронические воспалительные заболевания органов мочевыделительной системы;
- травмы органов мошонки и промежности в анамнезе;
- избыточная масса тела;
- сопутствующие соматические заболевания средней или тяжелой степени с потенциальным отрицательным влиянием на сперматогенез;
- хронический алкоголизм, наркомания;

— отсутствие согласия на участие в настоящем исследовании.

II. Методы исследования

Гормональные исследования. Для комплексной оценки гормонов репродуктивной системы проводилось исследование ингибина В, лютеинизирующего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), пролактина (ПРЛ), эстрадиола и общего тестостерона в сыворотке венозной крови. Пробы для анализа брали натощак в утреннее время с 08.00 до 10.00 ч. ЛГ, ФСГ, ПРЛ, эстрадиол, тестостерон определялись в день сдачи анализа. Концентрацию ингибина В определяли во всех пробах одновременно после завершения сбора материала и замораживания сыворотки при -20°C , избегая повторного оттаивания — замораживания.

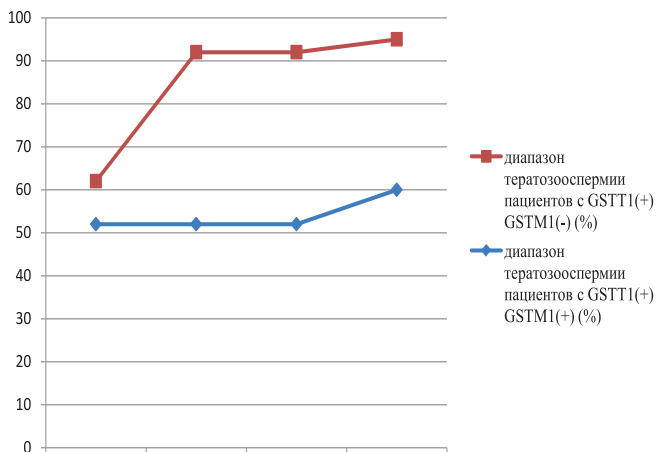
Молекулярно-генетические исследования. Проводилось исследование полиморфизма генов *GSTT1*, *GSTM1* в сыворотке венозной крови натощак отдельно от определения репродуктивных гормонов крови.

Спермограмма. Показатели спермограммы исследовались согласно протоколу ВОЗ. После получения материала спермы нативный препарат исследовался в 2 этапа. На первом этапе оценивалась концентрация, подвижность, агрегация и агглютинация сперматозоидов с использованием микроскопии. На втором этапе оценивалась жизнеспособность и проводилась морфологическая классификация сперматозоидов.

Ультразвуковое исследование органов мошонки. При ультразвуковом исследовании органов мошонки с использованием доплерографии не было диагностировано расширения вен семенного канатика. Объем яичек вычисляли, исходя из формулы:

Объем = ширина × толщина × длина × коэффициент К,

где коэффициент $K = 0,479$ (стандартная величина для вычисления объема, исходя из 3 размеров образования).



Диапазон тератозооспермии у пациентов 2-й группы в зависимости от генотипа *GSTT1/GSTM1*

Результаты исследования и обсуждение

При комплексном клинико-лабораторном обследовании пациентов после оперативного лечения варикоцеле были получены данные, представленные в таблице. Обследованные пациенты разделены на 2 группы.

В 1-й группе у 20 (66 %) человек в исследовании эякулята не наблюдалось отклонений от нормы в сравнении с результатами спермограммы до оперативного лечения, в которых было отмечено снижение подвижности сперматозоидов умеренной степени. У 4 мужчин, вступивших в брак, родились дети.

Во 2-й группе у 10 (34 %) пациентов наблюдалась разной степени выраженности тератозооспермия в сочетании с олиго- и/или астенозооспермией. Пациентам 2-й группы проводилось исследование генотипа GSTT1, GSTM1. Обнаружено, что степень выраженности тератозооспермии варьировала в зависимости от

генотипа GSTT1/GSTM1. Количество патологических форм сперматозоидов у пациентов с GSTM1(-) находилось в диапазоне от 60 до 97 % (рисунок).

Выводы

В настоящем исследовании проведена оценка андрогенного статуса мужчин после оперативного лечения варикоцеле и определен генотип GSTT1/GSTM1 у пациентов с патозооспермией. Установлено, что сочетание низкого уровня ингибина В, повышенного ФСГ и низкого уровня тестостерона сопровождалось нарушением сперматогенеза. Обнаружено, что у пациентов с нулевым генотипом GSTM1 тератозооспермия достигала 97 % в отличие от пациентов GSTM1(+). Пациенты 2-й группы с GSTM(-) подлежат дальнейшему наблюдению и лечению для профилактики раннего возрастного гипогонадизма и коррекции патозооспермии.

Результаты лабораторного обследования пациентов после оперативного лечения варикоцеле

Показатель	Норма (показатели спермограммы ВОЗ 2010)	1-я группа M ± SE (n = 20)	2-я группа M ± SE (n = 10)	Разброс 1-я группа	Разброс 2-я группа	p
Ингибин В (нг/л)	0–480	165,05 ± 4,06	113,2 ± 4,75	143,9–186,2	52,73–143	0,7
Тестостерон (нмоль/л)	12–33	22,5 ± 1,5	14,45 ± 1,7	17–28	13,5–16	0,64
ФСГ (МЕ/л)	2–13	4,6 ± 0,67	6,65 ± 1,15	2,33–6,9	2,5–14	0,46
ЛГ (МЕ/л)	1,5–9	4,73 ± 0,68	5,0 ± 1,0	3,6–5,86	4,00–9,17	0,45
Эстрадиол (пмоль/л)	70–200	129 ± 3,59	123,2 ± 4,9	117–142	52,2–220	0,7
Пролактин (мМЕ/л)	60–560	187,5 ± 4,33	110,4 ± 4,6	109–266	49–175	0,7
Концентрация сперматозоидов	Не менее 15 млн/мл	56 ± 2,34	8,5 ± 2,8	33–79	4–13	0,7
Подвижность сперматозоидов	Не менее 32 % подвижных (категория а + в) с поступательным движением в течение 60 мин после эякуляции	54,5 ± 7,3	15,5 ± 3,8	50–59	4–17	0,7
Патологические формы сперматозоидов	Не более 86 %	56 ± 7,3	92,3 ± 9,4	52–60	60–97	0,7

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Аляев Ю.Г., Чалый М.Е., Григорян В.А. Нарушения репродуктивной функции у мужчин. Практическое руководство. М., 2006.
2. Артифексов С.Б., Одинцов А.А., Артифексова А.А. Особенности морфофункциональных характеристик половых клеток у больных варикоцеле. Пробл репрод 1998;4:19–22.
3. Божедомов В.А., Лоран О.Б., Сухих Г.Т. Этиология и патогенез мужского аутоиммунного бесплодия. Андрол и генит хир 2001;1:72–88.
4. Глыбочко П.В., Аляев Ю.Г., Чалый М.Е., Ахвледиани Н.Д. Половые расстройства у мужчин. М., 2012.
5. Кондаков В.Т., Пытков М.И. Варикоцеле. М., 2000. С. 91.
6. Лопаткин Н.А. Руководство по урологии. Т. 2. М.: Медицина, 1998. С. 207–219.
7. Мазо Е.Б., Корякин М.В. Новое в лечении мужского бесплодия при варикоцеле. М., 1992.
8. Першуков А.И. Динамика изменений эякулята после оперативного и консервативного лечения больных варикоцеле и везикулитом. Укр химиотер журн 2000;4:41–45.
9. Тер-Аванесов Г.В. Андрологические аспекты бесплодного брака. Практическое руководство. М., 2000.
10. Тиктинский О.Л., Михайличенко В.В. Андрология. СПб.: Медиа Пресс, 1999. С. 260–267.
11. Aydemir B., Onaron I., Kiziler A.R. et al. Increased oxidative damage of sperm and seminal plazma in men with idiopathic infertility is higher in patient with glutathione S-transferase Mu-1 null genotype. Asian J Androl 2007;9(1):108–15.
12. Tirumala Vani G., Mukesh N., Siva Prasad B. et al. Role of Glutathione S-transferase (GSTM 1) polymorphism in oligospermic infertile males. Andrologia 2010;42(4):213–7.
13. Song X., Zhao Y., Cai Q. et al. Association of the Glutathione S-transferases M1 and T1 polymorphism with male infertility: a meta-analysis. J Assist Reprod Genet 2013 Jan;30(1):131–41.
14. Fisch H., Hyun G. Varicocele repair for low testosterone. Curr Opin Urol 2012 Nov;22(6):495–8.