

Л.И. Колесникова, Н.А. Курашова, Л.А. Гребенкина, М.И. Долгих, Н.А. Неронова,
Е.А. Кириленко

ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ЭЯКУЛЯТЕ МУЖЧИН, ИМЕЮЩИХ ХРОНИЧЕСКИЕ ИНФЕКЦИОННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА И ПАТОСПЕРМИЮ

Учреждение Российской академии медицинских наук Научный центр проблем здоровья семьи
и репродукции человека Сибирского отделения РАМН (Иркутск)

В статье представлены результаты анализа показателей процессов перекисного окисления липидов – антиоксидантной защиты в эякуляте 47 мужчин (средний возраст – $32,21 \pm 4,45$ лет), из них 32 с хроническим трихомонозом и 15 мужчин с нормальными показателями спермограмм и без хронических инфекций. У мужчин с инфекционными заболеваниями урогенитального тракта и патоспермией отмечено статистически значимое повышение продуктов перекисного окисления липидов и компонентов антиоксидантной защиты по сравнению с контрольной группой.

Ключевые слова: мужчины, патоспермия, перекисное окисление липидов, антиоксиданты

LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT DEFENSE IN THE EJACULATE OF MEN WITH CHRONIC INFECTIOUS DISEASES OF UROGENITAL SYSTEM AND PATHOSPERMIA

L.I. Kolesnikova, N.A. Kurashova, L.A. Grebenkina, M.I. Dolgikh, N.A. Neronova,
E.A. Kirilenko

Scientific Center of Family Health Problems and Human Reproduction SB RAMS, Irkutsk

This article presents the results of the analysis of lipid peroxidation and antioxidant protection indicators in the semen of 47 men (middle age – $32,21 \pm 4,45$ years): 32 men with chronic trichomoniasis and pathospermia, and 15 men with normal semen and without chronic infection. The statistically significant increase in diene conjugate (1,6 times higher than in controls) and in malonic dialdehyde levels (1,9 times) and decrease of α -tocopherol (1,7 times), of reduce glutathione (1,4 times) and of superoxiddismutaze activity (1,3 times) were shown in men with urogenital infections and pathospermia compared with the control group.

Key words: men, pathospermia, lipid peroxidation, antioxidants

Одной из важных и широко обсуждаемых проблем современного общества на сегодняшний день остается охрана репродуктивного здоровья населения. Сведений об этиопатогенезе нарушений мужской фертильности недостаточно: от 30 до 75 % случаев они считаются идиопатическими [1]. Даже такие общеизвестные состояния, как варикоцеле и инфекционно-воспалительные процессы в половых органах, могут рассматриваться только как факторы риска мужского бесплодия, патогенез которых до конца не ясен. Наиболее частой причиной мужской инфертильности, наряду с анатомическими, функциональными нарушениями и дисрегуляцией в иммунно-нейроэндокринной системе, является и патоспермия. Сперматогенез является сложным, крайне чувствительным процессом клеточной дифференциации, в регуляции которого участвуют различные системы организма. Нарушения в каждом из звеньев, воздействующих на процесс семяобразования, в конечном итоге отражаются на параметрах эякулята – его объеме, количестве и качестве сперматозоидов, их подвижности, морфологической полноценности [2]. В настоящее время роль окислительного стресса при нарушении фертильности не подвергается сомнению. Одним из факторов, способных сни-

жать мужскую фертильность, стали считать гиперпродукцию активных форм кислорода (АФК). В небольших количествах АФК необходимы для нормальной регуляции функции сперматозоидов, их гиперактивации и акросомальной реакции, однако избыточная продукция АФК приводит к повреждению мембраны сперматозоидов, снижению их подвижности и нарушению оплодотворяющей способности. Кроме того, АФК непосредственно повреждают ДНК хромосом и инициируют апоптоз сперматозоидов, что в конечном итоге приводит к бесплодию [10]. Как известно, процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ) контролируется многочисленными системами ферментативных и неферментативных антиоксидантов. Между процессами ПОЛ и ограничивающими их реакциями антиоксидантной защиты (АОЗ) существует динамическая взаимосвязь. Если организм способен удерживать антиокислительный гомеостаз, некоторые отклонения от нормы обратимы. Если же восстановление антиокислительного гомеостаза запаздывает, то нарастают клинические проявления патологического состояния [14].

Несмотря на распространенную ассоциацию между нарушением качества спермы и окислительным повреждением, мужчины практически не про-

ходят обследование для выявления оксидативного стресса и коррекцию этого состояния, хотя его непосредственное лечение могло бы обеспечить возможность решить некоторые проблемы, связанные с расстройствами репродуктивной функции мужчин.

Целью данного исследования явилось изучение процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в эякуляте мужчин, имеющих инфекционные заболевания органов уrogenитального тракта и патологические изменения показателей спермограммы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для достижения поставленной цели методом сплошной выборки были обследованы 32 мужчины, проживающие на территории Иркутской области, у которых были выявлены инфекционные заболевания органов уrogenитального тракта и патоспермия. Контрольную группу составили 15 практически здоровых фертильных мужчин с нормальными показателями спермограмм и без выявленных инфекций. Средний возраст обследуемых составил $32,13 \pm 0,88$ лет. Материалом исследования служил эякулят, в котором по аналитической технологии, отработанной в НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН, определяли интенсивность процессов перекисного окисления липидов, оценивая по содержанию его продуктов — диеновых конъюгатов (ДК) [4]. Содержание ТБК-активных продуктов ПОЛ определяли флуориметрическим методом [3]. Об активности системы антиоксидантной защиты (АОЗ) судили по общей антиокислительной активности (АОА) [6], а также по содержанию ее компонентов: α -токоферола [10], супероксиддисмутазы (СОД) [13], окисленного (GSH) и восстановленного (GSSG) глутатиона [12]. Измерения проводили на спектрофлуориметре SHIMADZU RF-5000 (Япония). Получение информированного согласия пациентов на участие в проводимом исследовании являлось обязательной процедурой при включении мужчин в одну из групп.

В исследовании использовались вычислительные процедуры методов математической статистики, реализованные в лицензионном интегрированном статистическом пакете комплексной обработки данных STATISTICA 6.1 (Stat-Soft Inc., США) (правообладатель лицензии — НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН) и критерия для оценки статистически значимых различий, применяемых в медико-биологических исследованиях ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе показателей свободнорадикального окисления липидов и антиоксидантной защиты у обследованных мужчин с инфекционными заболеваниями уrogenитального тракта и патоспермией отмечено статистически значимое повышение ДК в 1,6 раза ($p = 0,003$), МДА в 1,9 раза ($p = 0,002$) по сравнению с контрольной группой (рис. 1).

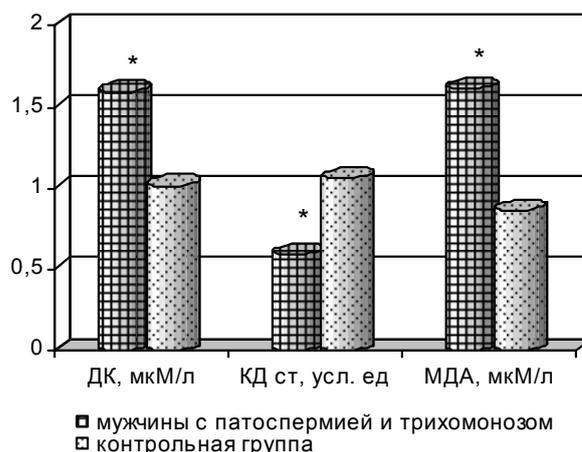


Рис. 1. Уровень продуктов перекисного окисления липидов в эякуляте мужчин с хроническими инфекционными заболеваниями и практически здоровых мужчин.

Выявленный повышенный уровень продуктов ПОЛ в эякуляте обследованных мужчин свидетельствует о неблагоприятном для сперматозоидов состоянии активации перекисных процессов. Процессы перекисного окисления липидов при инфекциях усиливаются практически во всех тканях мужской мочеполовой системы, что приводит к разрушению клеточных мембран, снижению рецепции местных тканевых гормонов, нарушению экспрессии рецепторов андрогенов в тестикулах, снижению обеспеченности тканей кислородом и активности антиоксидантных систем. Также инфекционные факторы и воспалительные заболевания оказывают повреждающее действие на качество спермы, снижают подвижность сперматозоидов, сокращают концентрацию и количество морфологически нормальных сперматозоидов. Повышенное содержание продуктов перекисной окисления также может привести к появлению в мембранах своеобразных пор за счет увеличения содержания гидрофильных углеводородных хвостов, а также к увеличению ее жесткости за счет снижения содержания ненасыщенных жирных кислот и, таким образом, влиять на проницаемость мембран. В результате чрезмерной интенсификации процессов свободнорадикального окисления липидов текучесть мембраны спермиев уменьшается, и происходит перестройка фосфолипидов, что может индуцировать снижение мембранной проницаемости. Это в свою очередь, является губительным для выполнения спермием своих функций. Перекисные продукты могут оказать негативное влияние на акросомальную реакцию и взаимодействие сперматозоида с ооцитом, а также приводить к потере оплодотворяющей способности сперматозоидов человека.

Высокий уровень продуктов ПОЛ требует мобилизации ресурсов защитных антиоксидантных систем организма. По результатам оценки антиоксидантного статуса обследованных мужчин установлено статистически значимое повышение α -токоферола в 1,7 раза ($p = 0,003$) и восстановленного глутатиона — в 1,4 раза ($p = 0,002$) и сни-

жение уровня супероксиддисмутазы – в 1,3 раза ($p = 0,001$) в группе с патоспермией и инфекционными заболеваниями уrogenитального тракта по сравнению с практически здоровыми мужчинами (рис. 2).



Рис. 2. Содержание компонентов антиоксидантной защиты в эякуляте мужчин с хроническими инфекционными заболеваниями и практически здоровых мужчин.

Активация реакций перекисного окисления липидов сопровождается нарастанием функциональной нагрузки на антиоксидантные системы, что проявляется в снижении уровня активности супероксиддисмутазы. Снижение содержания СОД указывает на значимость быстрой истощаемости естественных антиоксидантных систем в реализации повреждающего потенциала оксидативного стресса.

В связи с тем, что супероксиддисмутазная активность в сперме связана с подвижностью сперматозоидов, ее снижение приводит к нарушению подвижности данных клеток, так как данный фермент не справляется с гиперпродукцией АФК и, как результат, с процессами модификации липидов.

Защиту тканей от действия АФК осуществляют внутриклеточные ферментные системы и в первую очередь система глутатиона в виде восстановленного глутатиона и ферментов его метаболизма. Глутатион является главным антиоксидантом в растворимой части клеток – гиалоплазме, матриксе митохондрий, кариоплазме [7]. Поскольку основной антиоксидантный эффект глутатион оказывает именно в восстановленной форме (за счет реактивной сульфгидрильной группы), то установленное повышение его содержания в эякуляте мужчин с инфекционными заболеваниями уrogenитального тракта и патоспермией может свидетельствовать о том, что глутатион хотя бы частично компенсирует активацию процессов липопероксидации, так же, как и α-токоферол, основной функцией которого в организме является защита всех клеточных мембран от окислительных реакций. α-токоферол активно борется со свободными радикалами, принимает участие в

построении клеток тела и их защите, способствует выработке новых сперматозоидов, активизации их движения, снижает количество патологических спермиев.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В целом проведенные исследования свидетельствуют о том, что в эякуляте мужчин с инфекционными заболеваниями уrogenитального тракта и патоспермией происходят изменения процессов ПОЛ, которые характеризуются нарушением баланса между уровнем продуктов процессов липопероксидации и активностью компонентов системы АОЗ. Эти изменения соответствуют состоянию окислительного стресса и возникают в тех случаях, когда скорость образования свободных радикалов превышает нейтрализующую способность компонентов системы АОЗ организма.

Немалое количество исследований в настоящее время свидетельствует о важной роли оксидативного стресса как значимой причины различных репродуктивных расстройств у мужчин [5, 8, 9], однако многие вопросы остаются нерешенными. Целесообразны дальнейшие исследования, направленные на анализ активности реакций перекисного окисления липидов (гидроперекиси липидов, диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид), антиоксидантных компонентов (α-токоферола, супероксиддисмутазы), а также состояния глутатионовой редокс-системы для максимальной защиты сперматозоидов от окислительного стресса.

Исследование различных звеньев антиоксидантной защиты может иметь важное прогностическое значение при изучении причин мужского бесплодия, будет способствовать познанию патогенетических процессов заболевания и развитию использования антиоксидантов и мембраностабилизирующих препаратов с целью защиты клеток организма и в частности сперматозоидов от токсического воздействия активных форм кислорода.

ЛИТЕРАТУРА

1. Божедомов В.А., Теодорович О.В. Эпидемиология и причины аутоиммунного мужского бесплодия // Урология. – 2005. – № 1. – С. 35–44.
2. Быкова М.В. Нарушение редокс-баланса сперматозоидов и семенной плазмы мужчин при патоспермии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Красноярск, 2008. – 24 с.
3. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Мажуль Л.М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой // Вопр. мед. химии. – 1987. – № 1. – С. 118–122.
4. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лабораторное дело. – 1983. – № 3. – С. 33–36.
5. Изменения процессов перекисного окисления липидов и системы антиокислительной защиты у пациентов с синдромом обструктивного апноэ

сна / И.М. Мадаева [и др.] // Патол. физиология и эксперим. терапия. — 2009. — № 3. — С. 24–27.

6. Клебанов Г.И., Бабенкова И.В. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов // Лабораторное дело. — 1988. — № 5. — С. 59–62.

7. Кулинский В.И., Колесниченко А.С. Биологическая роль глутатиона // Успехи современной биологии. — 1990. — Т. 110, № 1. — С. 20–33.

8. Особенности окислительного стресса у мужчин разных этнических групп с ожирением и бесплодием / Л.И. Колесникова [и др.] // Здоровье. Медицинская экология. Наука. — 2011. — № 1. — С. 38–41.

9. Состояние репродуктивной функции, процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у мужчин с хронической моно-трихомонадной инфекцией / Л.И. Колесникова [и др.] // Фундаментальные исследования. — 2011. — № 1. — С. 76–81.

10. Черняускене Р.Ч., Варшкявичене З.З., Грибаускас П.С. Одновременное определение концентраций витаминов Е и А в сыворотке крови // Лабораторное дело. — 1984. — № 6. — С. 362–365.

11. The nuclear form of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase is a protein thiol peroxidase contributing to sperm chromatin stability / M. Conrad [et al.] // Mol. Cell Biol. — 2005. — N 25. — P. 7637–7644.

12. Hissin P.J., Hilf R. Fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues // Anal. Biochem. — 1976. — Vol. 74, N 1. — P. 214–226.

13. Misra H.P. Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase // J. Biol. Chem. — 1972. — Vol. 247. — P. 3170–3175.

14. Tremellen K. Oxidative stress and of male infertility // Human Reproduction Update. — 2008. — Vol. 14, N 3. — P. 243–258.

Сведения об авторах

Колесникова Любовь Ильинична – член.-корр. РАМН, профессор, директор УРАМН НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 20-76-36, 20-73-67; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

Курашова Надежда Александровна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории патофизиологии репродукции НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН

Гребенкина Людмила Анатольевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии репродукции НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН

Долгих Мария Игоревна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории патофизиологии репродукции УРАМН НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

Неронова Наталья Анатольевна – кандидат медицинских наук, врач-дерматовенеролог НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН

Кириленко Елена Анатольевна – младший научный сотрудник лаборатории гинекологии и эндокринологии НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН