

the Life Roles Inventory – Values Scale // Canadian Journal of Counselling. – 1987. – Vol. 21. – P.86-98.

9. Nurick S. The pathogenesis of spinal cord disorder associated with cervical spondylosis // Brain. – 1972. – Vol.95. – P.87-100.

10. Perneczky A., Fries G. Endoscope-assisted brain surgery. Part : Evolution, basicconcept, and current techniques // Neurosurgery. – 1997. – Vol. 42. – P.219-225.

11. Righesso O., Falavigna A., Avanzi O. Comparison of open

dissectomy with microendoscopic dissectomy in lumbar disc herniations results of a randomized controlled trial // Neurosurg. – 2007. – Vol. 61. – P.545-549.

12. Schizas C., Tsiridis E., Saksena J. Microendoscopic dissectomy compared with standard microsurgical dissectomy for treatment of uncontained or large contained disc herniations // Neurosurg. – 2005. – Vol. 57 (Suppl 4). – P.357-360.

Информация об авторах: 664082, Иркутск, а/я 62, тел. 7-902-5-10-40-20, e-mail: byval75vadim@yandex.ru;
Бывальцев Вадим Анатольевич – к.м.н., в.н.с. отдела нейрохирургии НЦРВХ СО РАМН; заведующий отделением нейрохирургии НУЗ Дорожная клиническая больница; Сороковиков Владимир Алексеевич – заместитель директора НЦРВХ СО РАМН по науке, директор НИИТО, д.м.н.; Егоров Андрей Владимирович – врач-нейрохирург; Панасенков Сергей Юрьевич – врач-нейрохирург; Калинин Андрей Андреевич – врач-нейрохирург; Белых Евгений Григорьевич – студент лечебного факультета ИГМУ; Мурзин Артем Анатольевич – врач-нейрохирург, онколог; Барадиева Полина Жамцарановна – студентка педиатрического факультета ИГМУ.

© ХЫШИКТУЕВ Б.С., КОШМЕЛЕВ А.А. – 2010

ФОСФОЛИПИДНЫЙ СТАТУС СПЕРМАТОЗОИДОВ ПРИ НАРУШЕНИИ ФЕРТИЛЬНОСТИ

Б.С. Хышиктуев, А.А. Кошмелев

(Читинская государственная медицинская академия, ректор – д.м.н., профессор А.В. Говорин, кафедра биохимии с курсами биоорганической химии и клинической биохимии, зав. – д.м.н., проф. Б.С. Хышиктуев; курс урологии, зав. – к.м.н., доц. А.А. Кошмелев)

Резюме. Исследован фосфолипидный состав сперматозоидов у мужчин с нарушением фертильности методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Выявлено, что изменения спектра фосфолипидов в половых клетках зависят от характера изменений спермограммы. Наиболее выраженные сдвиги присущи лицам с астенозоо-, олигозоо- и тератозооспермией, что, возможно, является одной из причин инфертильности.

Ключевые слова: фосфолипиды, инфертильность, сперматозоиды.

THE PHOSPHOLIPID STATUS OF SPERMATOZOA IN DISORDER OF FERTILITY

B.S. Khyshiktuev, A.A. Koshmelev
(Chita State Medical Academy, Chita)

Summary. The phospholipid composition of spermatozoa in men with disorders of fertility has been investigated by means of highly effective method of liquid chromatography. It has been found out that changes in spectrum of phospholipids in the germ cells depend on the nature of spermogramme changes. The most expressed changes have been revealed in persons with astenozoospermia, oligozoospermia, teratozoospermia, that may be one of the reasons of infertility.

Key words: phospholipids, infertility, spermatozoa.

Нарушение репродуктивного здоровья мужчин является насущной медицинской и социально-демографической проблемой, так как обуславливает бесплодие в браке более чем в 50% случаев [4,5]. В настоящее время в мире отмечается выраженная тенденция снижения количественных и качественных характеристик семенной жидкости у мужчин. Исследования при нарушении фертильности особенно актуальны в последние 10 лет, в связи с ростом этой патологии в экономически развитых странах [6,8,10]. При этом, начиная с 1992 года, уменьшается как количество сперматозоидов, так и их функциональные свойства (подвижность) в среднем на 2% в год [9].

В последние годы особое внимание уделяется влиянию свободнорадикального окисления (СРО) на мужскую фертильность [3,7]. С одной стороны избыток свободных радикалов и вызванный ими окислительный стресс может отрицательно влиять на сперматогенез, а с другой – нормальное функционирование сперматозоидов требует присутствия физиологических количеств активных форм кислорода. Однако, последние в избыточном количестве могут инициировать нарушения в сперматозоидах путем индукции окислительного повреждения клеточных липидов, протеинов и ДНК, что является одним из механизмов патогенеза мужского бесплодия.

Как известно, основным субстратом для свободных радикалов являются фосфолипиды, качественный состав и структурная организация которых будут во многом определять интенсивность процессов липопе-

роксидации.

Расшифровка соответствующих патогенетических механизмов мужского бесплодия и, в конечном итоге, выработка рациональной терапии является одной из наиболее актуальных задач современной андрологии.

Цель работы – раскрыть закономерности изменений спектра фосфолипидов в сперматозоидах мужчин с нарушением фертильности в зависимости от характеристики эякулята.

Материалы и методы

Обследовано 90 мужчин без соматической патологии в возрасте от 24 до 36 лет, которые были разделены на шесть групп согласно оценке спермограммы (астенозооспермия с признаками и без признаков воспалительного процесса (признаки воспалительного процесса, после исключения сопутствующей патологии, были выставлены на основании незначительных изменений в спермограмме – до 2 млн. лейкоцитов в 1 мл; слизь слабо выражена), тератозооспермия, полизооспермия, олигоспермия и олигозооспермия).

Со всех обследуемых и участников контрольной группы было получено письменное информированное согласие на участие в исследовании.

В контрольную группу вошли 18 здоровых мужчин, сопоставимых по возрасту и нормальными показателями спермограммы с доказанной фертильностью (в течение года у половых партнеров данных лиц наступала беременность).

У всех обследуемых были исключены заболевания, передающиеся половым путем, методом полимеразной цепной реакции. Кроме того, из исследования исключались лица с наличием антиспермальных антител и воспалительными заболеваниями предстательной железы.

Материалом для исследования служила сперма мужчин, обратившихся в стационар по поводу бесплодия в браке. Спермоплазму отделяли от сперматозоидов цен-

трифугированием эякулята при 400 об/мин в течение 30 мин.

Часть эякулята использовали для оценки показателей стандартной спермограммы по общепринятым методикам [2,11]. Были изучены физико-химические, морфологические и функциональные показатели оплодотворяющей способности эякулята: его объём, время разжижения, вязкость, рН, концентрация сперматозоидов,

клетки спермогенеза, скорость сперматозоидов, процентное содержание активно подвижных и неподвижных сперматозоидов, процентное содержание патологических форм сперматозоидов, наличие агглютинатов и агрегатов, лейкоцитов, мёртвых сперматозоидов.

Из другой части эякулята получали сперматозоиды, в которых изучался фосфолипидный состав с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. Были идентифицированы следующие фракции фосфолипидов: фосфатидилхолин, лизофосфатидилхолин (ЛФХ), фосфатидилэтаноламин (ФЭА), лизофосфатидилэтаноламин (ЛФЭА), сфингомиелин (СМ), фосфатидилсерин (ФС), фосфатидилинозитол (ФИ). Для определения количества каждой фракции применялся метод А. Poutos, I.C. White [12].

Результаты обработаны методом вариационной статистики с использованием пакета «Биостат». Числовые данные приведены в виде медианы (Ме) и интерквартильного размаха (25-го; 75-го процентилей). Для сравнения двух независимых выборочных совокупностей применялся критерий Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение

Оценивая фосфолипидный профиль лиц контрольной группы, необходимо отметить особенности состава сперматозоидов. В половых клетках преобладающими фракциями были фосфатидилхолин (42%) и сфингомиелин (20%). Следует подчеркнуть, регистрирующийся высокий уровень лизофосфолипидов более 20%, что косвенно свидетельствует о достаточно высокой активности фосфолипазы А₂ (табл. 1, 2).

В сперматозоидах во всех исследуемых группах пациентов снижалось в среднем на треть содержание ФХ на фоне роста его лизоформ, особенно выраженном при олиго-, полизоо-, олигозоо-, и астенозооспермии с признаками воспалительного процесса (табл. 1). Незначительное падение доли ФЭА было характерным для пациентов 1 и 2 группы, а в 3 и 6 группах наблюдалась противо-

Таблица 1

Относительное содержание фосфолипидов (%) в сперматозоидах у обследуемых лиц (Ме (25-й; 75-й))

Фракция фосфолипидов	Исследуемые группы						Тератозооспермия 6 группа (n=15)
	Нормозооспермия - контроль (n=18)	Астенозооспермия с признаками воспаления 1 группа (n=17)	Астенозооспермия без признаков воспаления 2 группа (n=14)	Полизооспермия 3 группа (n=16)	Олигооспермия 4 группа (n=13)	Олигозооспермия 5 группа (n=16)	
ФХ	42,25 (41,55; 42,95)	29,40* (26,56; 30,79)	32,54* (29,62; 34,70) p ≤ 0,05	29,29* (25,79; 32,70)	23,72* (23,72; 26,61) p ₁ ≤ 0,001 p ₂ ≤ 0,05	25,36* (25,05; 25,64) p ₁ ≤ 0,001 p ₂ ≤ 0,05	34,36* (30,50; 35,31) p ₁ , p ₂ , p ₃ ≤ 0,001 p ₄ ≤ 0,05
ЛФХ	10,49 (10,25; 10,74)	27,46* (24,80; 29,27)	17,54* (14,81; 22,43) p ≤ 0,001	26,78* (25,85; 28,48) p ₁ ≤ 0,001	30,01* (30,01; 32,19) p ₁ ≤ 0,001	27,17* (21,22; 33,11) p ₁ ≤ 0,05	14,81* (14,12; 17,71) p ₁ , p ₂ , p ₃ , p ₄ ≤ 0,001 p ₅ ≤ 0,05
ФЭА	10,41 (10,16; 10,65)	9,29* (7,57; 10,37)	9,05* (6,45; 11,03)	16,70* (15,27; 17,20) p ₁ , p ₂ ≤ 0,001	6,59 (4,33; 9,34) p ₂ ≤ 0,001	9,96 (9,16; 10,76) p ₂ ≤ 0,001	12,64* (12,05; 16,21) p ₁ , p ₂ , p ₃ , p ₄ ≤ 0,001 p ₅ ≤ 0,05
ЛФЭА	9,72 (9,27; 10,16)	16,53* (9,94; 19,17)	15,85* (14,45; 19,51)	8,41 (7,76; 9,53) p ≤ 0,05	21,10* (17,17; 21,09) p ₂ ≤ 0,001	17,82* (10,83; 24,80) p ₂ ≤ 0,05	12,88* (10,31; 15,63) p ₁ , p ₂ ≤ 0,001 p ₃ ≤ 0,05
СМ	20,07 (19,55; 20,58)	14,08* (11,45; 14,63)	16,26* (15,12; 17,98) p ≤ 0,001	11,40* (9,28; 13,40) p ≤ 0,001	11,40* (11,40; 12,00) p ₁ ≤ 0,001	11,88* (11,64; 12,11) p ≤ 0,05	17,62* (15,97; 20,49) p ₁ , p ₂ , p ₃ , p ₄ ≤ 0,001
ФС	4,54 (4,14; 4,93)	4,88* (4,28; 5,59)	4,61 (3,95; 5,97)	4,88* (4,30; 5,98)	5,45* (4,68; 8,34)	6,08* (5,52; 6,64) p ₁ , p ₂ ≤ 0,05	4,19 (3,51; 4,76) p ₁ , p ₂ ≤ 0,001 p ₃ , p ₄ , p ₅ ≤ 0,05
ФИ	2,53 (2,41; 2,65)	1,45* (1,18; 1,66)	2,05* (1,58; 2,33) p ≤ 0,05	1,76* (1,72; 1,91) p ≤ 0,001	1,79* (1,08; 1,95) p ≤ 0,05	1,72* (1,49; 1,94) p ≤ 0,05	2,25 (2,05; 3,56) p ₁ , p ₂ ≤ 0,001 p ₃ , p ₄ , p ₅ ≤ 0,05

Примечание: п - число обследованных лиц; * - достоверные различия по сравнению с контролем; р - уровень значимости достоверных различий между 1 и другими группами; р₁ - уровень значимости достоверных различий между 2 и другими группами; р₂ - уровень значимости достоверных различий между 3 и другими группами; р₃ - уровень значимости достоверных различий между 4 и другими группами; р₄ - уровень значимости достоверных различий между 5 и 6 группами.

Таблица 2

Суммарное содержание пула фосфатидилхолиновых (ФХ+ЛФХ) и фосфатидилэтаноламиновых (ФЭА+ЛФЭА) фосфолипидов в половых клетках у обследуемых лиц (Ме (25-й; 75-й))

Исследуемые группы	Сумма ФХ и ЛФХ	Сумма ФЭА и ЛФЭА
Нормозооспермия – контроль (n=18)	52,74 (52,28; 53,20)	34,94 (33,95; 35,91)
Астенозооспермия с признаками воспаления (n=16) – 1 группа	56,01* (54,09; 60,41)	36,17* (31,59; 37,47)
Астенозооспермия без признаков воспаления (n=14) – 2 группа	49,74* (49,29; 53,15) $p \leq 0,001$	34,76* (34,10; 36,07)
Полизооспермия (n=16) – 3 группа	57,63* (53,94; 60,44) $p_1 \leq 0,001$	32,64* (28,71; 36,90)
Олигоспермия (n=13) – 4 группа	53,74 (53,73; 55,19) $p_1 \leq 0,05$	26,20* (25,26; 28,76)
Олигозооспермия (n=16) – 5 группа	52,53 (46,89; 58,16)	38,72* (36,45; 40,98)
Тератозооспермия (n=15) – 6 группа	49,17* (48,22; 49,44) $p, p_2 \leq 0,001$ $p_1, p_3 \leq 0,05$	39,17* (38,94; 39,28) $p \leq 0,05$

Примечание: n - число обследованных лиц; * - достоверные различия по сравнению с контролем; p - уровень значимости достоверных различий между 1 и другими группами, p_1 - уровень значимости достоверных различий между 2 и другими группами, p_2 - уровень значимости достоверных различий между 3 и другими группами, p_3 - уровень значимости достоверных различий между 4 и другими группами, p_4 - уровень значимости достоверных различий между 5 и 6 группами.

положительная тенденция. Однако цифры лизоФЭА повышались практически у всех обследуемых лиц, за исключением больных с полизооспермией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Громенко Д.С., Галимов Ш.Н., Шемагонов Д.В., Фархутдинов Р.Р. Роль активных форм кислорода в формировании мужской инфертильности // Казанский мед. журн. – 2007. – Т.88. №4, Прил. – С.23-24.
2. Евдокимов В.В., Раков С.С., Липатова Н.А. и др. Комплексное лабораторное исследование эякулятов при заболеваниях мужской репродуктивной системы // Клини. лаб. диаг. – 1995. – №6. – С.114-116.
3. Евдокимов В.В., Голованов С.А., Хан В. Влияние биохимических компонентов спермоплазмы на фертильность эякулята // Андрология и генитальная хирургия: Материалы Международного конгресса по андрологии. – 2009. – №2. – С.91.
4. Карякин М.В., Аюпьян А.С. Молекулярные исследования мужской субфертильности / Под ред. проф. А. А. Николаева. – Астрахань: АГМА, 2000. – 170 с.
5. Колесникова Л.И., Неронова Н.А. и др. Состояние фертильности мужчин города Иркутска на фоне хронической трихомонадной инфекции // Сибирский мед. журнал. – 2009. – №7. – С.157-160.
6. Carlsen E., Giverson A., Skakkaback N.E., Keiding N.

Необходимо отметить, что у всех мужчин с нарушением фертильности, в половых клетках, уменьшалось содержание трудноокисляемого СМ, максимальный дефицит (почти в 2 раза) его регистрируется при полизоо-, олиго- и олигозооспермии (табл.1).

Незначительные сдвиги претерпевала фракция ФС, а доля ФИ снижалась во всех группах, за исключением пациентов с тератозооспермией.

Также необходимо подчеркнуть, что в половых клетках пул лизофосфолипидов был максимальным в 1, 4 и 5 группах.

Резюмируя вышеприведенные данные, можно предположить вероятные механизмы развития наблюдаемых сдвигов. Во-первых, при нарушении фертильности происходит активация фосфолипазы А2, которая приводит к увеличению лизоформ ФЛ в половых клетках. Эти изменения обусловлены, по всей видимости, активацией свободнорадикальных процессов в органах сперматогенеза и эякуляте, на что указывают наши исследования и результаты других авторов [1]. Во-вторых, организм пытается поддерживать пул фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина (табл. 2), однако чрезмерная генерация лизоформ приводит к тому, что их доля падает. Одной из причин дефицита сфингомиелина, вероятно, является преимущественное использование ЦДФ-холина в синтезе ФХ, а не данного сфинголипида.

Таким образом, при нарушении фертильности у мужчин существенно изменяется спектр фосфолипидов половых клеток, наиболее глубокие сдвиги присущи лицам с астенозоо-, олигозоо- и тератозооспермией; выявленные изменения приводят к нарушениям не только структуры биомембран сперматозоидов, но и их функциональной активности, что возможно является одной из причин мужского бесплодия; изучение фосфолипидного профиля эякулята может быть использовано в качестве дополнительного критерия диагностики нарушения фертильности и оценки эффективности проводимой терапии.

Decreasing quality of semen // Brit. Med. J. – 1993. – №306. – P.461.

7. Conrad M., Moreno S.G., Sinowatz F, et al. The nuclear form of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase is a protein thiol peroxidase contributing to sperm chromatin stability // Mol. Cell Biol. – 2005. – №25. – P.7637-7644.

8. Farrow S. Falling sperm quality: fact or fiction? // Brit. Med. J. – 1994. – №309. – P.1-2.

9. Irvine S., Cavood E., Richardson D., et al. Evidence of deteriorating semen quality in the UK: Brith cohort studi in Scotland over 11 years // Brit. Med. J. – 1996. – №312. – P.467-470.

10. Kretser D.M. Are sperm counts really falling? // Reprod. Fertil. Dev. – 1998. – №10. – P.93-95.

11. Ombelet W., et al. Sperm morphology assessment: diagnostic potential and comparative analysis of strict or WHO criteria in a fertile and a subfertile population // Int. J. Androl. – 1997. – №20. – P.367-372.

12. Poutos A., White I.C. The phospholipid composition of human spermatozoa and seminal plasma // J. Reprod. Fertil. – 1973. – №35. – P.265-272.

Информация об авторах: 672090, г. Чита, ул. Горького, 39-а, Хышиктуев Баир Сергеевич – заведующий кафедрой, д.м.н., профессор; Кошмелев Александр Александрович – заведующий курсом, к.м.н., доцент