

Биохимические маркеры оплодотворяющей способности эякулята при острой алкогольной интоксикации

ГАЛИМОВ Ш.Н.

д.м.н., профессор, кафедра биологической и биоорганической химии
Башкирского государственного медицинского университета, Уфа

МУКМИНОВ А.А.

врач-нарколог, Санкт-Петербург

ЮЛДАШЕВ В.Л.

д.м.н., профессор, зав. каф. психиатрии Башкирского государственного медицинского университета, Уфа

КРУГОВЫХ Н.Ф.

д.м.н., вед. научн. сотр. ГНЦ РФ – Института медико-биологических проблем РАН, Москва

Исследование посвящено анализу диагностической ценности определения молекулярных маркеров мужской фертильности при воздействии этанола. Обследовано 86 больных алкоголизмом в возрасте 22—36 лет с длительностью заболевания не более 6 лет. У пациентов оценивали параметры рутинной спермограммы, а также количественно определяли уровень гликоделина, ингибина В и активность акрозина в биологических жидкостях. Установлена интактность стандартных показателей эякулята в условиях острой алкогольной интоксикации. Наряду с этим, обнаружены статистически значимые изменения уровней в сыворотке крови и/или эякуляте всех изученных биохимических индикаторов сперматогенеза и оплодотворяющей способности гамет. Эти факты свидетельствуют, во-первых, о высокой чувствительности мужской детородной системы к этанолу даже при относительно непродолжительном воздействии, во-вторых, о возможности использования названных тест-систем для раннего выявления нарушений фертильности при алкогольной интоксикации.

Введение

Низкая эффективность лечения алкоголизма обусловлена как характерной для этого заболевания психической и физической зависимостью, так и широким спектром нарушения функционирования различных органов и систем. Видное место в ряду этих нарушений принадлежит расстройствам репродуктивной и сексуальной функции у мужчин. Здесь уместно привести слова британского андролога М. Каррузерса: «Яички не обладают способностью печени к регенерации и поэтому никогда полностью не восстанавливаются, что и проявляется в бесплодии, импотенции и потере либидо у алкоголиков, даже при прекращении потребления спиртного. Печень прощает и забывает обиды, яички же вынашивают планы мести, и поэтому сегодняшние здоровяки, прожигающие жизнь за барной стойкой, завтра превращаются в постели в немощных больных» [3]. О повышенной чувствительности репродуктивных органов к алкоголю свидетельствует также тот факт, что большинство пациентов с гистологически подтвержденным отсутствием нарушения структуры печени страдают тестикулярной атрофией и бесплодием [7].

Молекулярные механизмы повреждающих эффектов алкоголя на мужскую детородную систему охарактеризованы достаточно полно. Алкогольный гипогонадизм индуцируется как прямым угнетающим действием этанола на эндо- и экзокринный аппарат яичек, так и посредством токсического влияния продуктов его метаболизма — ацетальдегида и др. [11]. Речь идет прежде всего о блокаде отдельных ферментов андрогенопоэза, ингибировании 5- α -редуктазы и дефиците метаболически активной формы тестостерона — дигидротестостерона.

Перспективным и активно разрабатываемым направлением современной репродуктивной медицины является определение в различных биологических средах молекулярных маркеров патологии фертильности, обладающих целым рядом преимуществ по сравнению с традиционными диагностическими тестами. К ним относятся гликоде-

лин (2-микроглобулин фертильности), ингибин В и акросомальный белок акрозин, определение которых стало доступно лишь в последнее время благодаря появлению коммерческих тест-систем ведущих зарубежных производителей. Перечисленные биологически активные вещества вовлечены в реализацию функции воспроизводства на различных уровнях организации репродуктивной системы и обладают высокой диагностической и прогностической ценностью [9].

Одним из патологических состояний, сопровождающихся нарушением оплодотворяющих свойств эякулята, является алкогольная интоксикация. Однако в доступной литературе отсутствуют сведения о содержании таких важнейших параметров мужской фертильности, как гликоделин, ингибин В и акрозин в сыворотке крови и/или сперме при остром воздействии этанола. Поэтому целью работы стало определение этих показателей в биологических жидкостях у пациентов, злоупотребляющих алкоголем, для уточнения механизмов его повреждающего действия на мужскую репродуктивную систему.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования была отобрана группа из 86 пациентов мужского пола в возрасте от 22 до 36 лет, страдающих алкоголизмом. Длительность заболевания в представленной выборке варьировала от 2 до 6 лет, в среднем она составляла $3,2 \pm 0,1$ года. Контрольная группа была сформирована случайным образом из 58 практически здоровых мужчин, сопоставимых по возрасту, этнической принадлежности и социально-демографическим показателям, не состоящих на учете у нарколога и отрицающих злоупотребление алкоголем.

Исследования спермы проводили в соответствии с требованиями ВОЗ [4]: определяли концентрацию, подвижность и долю нормальных форм. Концентрацию ингибина В в сыворотке крови находили с помощью коммерческого иммуноферментного набора ACTIVE™ Inhibin B ELISA фирмы «DSL» (США). Содержание гликоде-

Таблица 1

Показатели спермограммы у мужчин контрольной группы и больных алкоголизмом

Показатель	Контроль	Больные алкоголизмом	Нормативы ВОЗ
Концентрация сперматозоидов, млн/мл	66,7 9,2	60,8 7,3	20 и более
Подвижные сперматозоиды, %	55,2 4,9	53,1 4,5	Более 50%
Морфологически измененные формы, %	36,5 4,9	47,0 5,5	Менее 40%

Таблица 2

Некоторые молекулярные маркеры фертильности при острой алкогольной интоксикации

Показатель	Контроль	Острая интоксикация
Ингибин В, пг/мл	182 15,0	57,2 1,74*
Гликоделин (сыворотка крови), мкг/мл	10,9 0,23	5,11 0,18*
Гликоделин (эякулят), мг/мл	21,0 2,3	3,2 0,41*
Акрозин, мкМЕ/10 ⁶ сперматозоидов	126 9,8	92,3 7,6*

Примечание: * — $P < 0,05$ в сравнении с контрольной группой

лина в сыворотке крови и эякуляте определяли с использованием диагностических наборов Glycodelin-ELISA фирмы «Bioserv» (Германия). В образцах эякулята исследовалось также количество акрозина с помощью тест-систем AcroScreen фирмы Fertility Technology Resources Inc (США).

Результаты и их обсуждение

Анализ стандартных показателей спермограммы (табл. 1) показал, что статистически значимого изменения концентрации, подвижности и доли патологических форм сперматозоидов у больных алкоголизмом на фоне острой интоксикации в сравнении с практически здоровыми мужчинами не наблюдалось, несмотря на наличие тенденции к увеличению процентного содержания морфологически измененных клеток относительно нормативов ВОЗ.

Вместе с тем, концентрация в сыворотке крови ингибина В существенно — в 3,2 раза — снижалась, что может указывать на возможность использования его определения в качестве предиктора ранних нарушений фертильности [5].

Ингибин В является главной формой циркулирующего в крови ингибина у мужчин, синтезируется в семенных канальцах яичек (клетках Сертоли) и вместе с активином и ингибирующей субстанцией Мюллера относится к семейству TGF β -пептидов. Ингибин и активин обычно рассцениваются соответственно как ингибиторы и стимуляторы секреции фолликулостимулирующего гормона (ФСГ). В настоящее время получает подтверждение тот факт, что концентрация ингибина В в сыворотке крови может быть маркером состояния сперматогенеза [10].

Уровни гликоделина в сыворотке крови и эякуляте при острой этанольной интоксикации статистически значимо уменьшались и составляли соответственно 47 и 15% от контрольных значений. Обращает на себя внимание то

обстоятельство, что, как и в случае с ингибином, было установлено отсутствие связи между содержанием гликоделина и характеристиками спермограммы, т.е. количеством, морфологией или двигательной активностью сперматозоидов ($P > 0,05$). Эти наблюдения подтверждают ранее опубликованные данные о том, что при близких показателях спермограммы у разных мужчин имеются существенные различия качественных характеристик сперматозоидов, особенно хорошо проявляющиеся при оплодотворении *in vitro* [2].

Гликоделин, впервые выделенный и идентифицированный из плаценты, является гликопротеидом с уникальной особенностью зависимость от пола гликозилирования [6]. Из-за различий в гликозилировании изоформа гликоделина из амниотической жидкости была названа *гликоделин-А*, а изоформа гликоделина из семенной плазмы получила название *гликоделин-В*. Обе формы обладают выраженной иммуносупрессорной активностью, обеспечивая, соответственно, локальное подавление иммунного ответа матери на развивающийся эмбрион и низкую иммуногенность спермы.

Результаты исследования гликоделина и ингибина В согласуются с данными определения одного из ключевых параметров фертильности эякулята — акрозина, уровень которого понижался практически у всех обследованных больных. Акрозин является одной из основных протеаз акросомы сперматозоидов, которая освобождается во время акросомальной реакции. Показано, что акрозин участвует в связывании сперматозоидов с *Zona pellucida* яйцеклетки и в проникновении сперматозоидов через нее. Низкие уровни акрозина ассоциированы с состоянием субфертильности и бесплодия. Акрозиновая активность человеческого эякулята изменяется независимо от других стандартно определяемых параметров спермы, таких, как концентрация, процент подвижных сперматозоидов, характеристика двигательной активности сперматозоидов и их морфология [8]. Обнаруженное нами истощение спер-

матозоидов по акрозину может быть следствием гормонально-метаболических сдвигов — непременных спутников алкоголизации, инициирующих преждевременную утрату акросомы.

Таким образом, снижение оплодотворяющей способности при острой алкогольной интоксикации может быть обусловлено изменением содержания в сыворотке крови и эякуляте ряда биологически активных соединений — регуляторов гаметогенеза и фертилизации, которое обнаруживается еще до изменения рутинных параметров спермограммы.

Список литературы

1. Государственный доклад «О состоянии здоровья населения в Российской Федерации в 2003 г.». — М., 2004. — 60 с.
2. Здановский В.М., Шевченко В.В., Макаров О.В. и др. Прогностическое значение количественного определения АМГФ в сперме и сыворотке крови пациентов, включенных в программу ЭКО // Пробл. репрод. — 1996. — №3. — С. 18—22.
3. Каррузерс М. Революция тестостерона/ Пер. с англ. — М.: ГУ ИДН, 2004. — 244 с.
4. Руководство ВОЗ по лабораторному исследованию эякулята человека и взаимодействия сперматозоидов с цервикальной слизью. 4-е издание. — М.: Медпресс, 2001. — 144 с.
5. Deffieux X., Antoine J. Inhibins, activins and anti-Mullerian hormone: structure, signalling pathways, roles and predictive value in reproductive medicine // Gynecol. Obstet. Fertil. — 2003. — Vol. 31. — P. 900-911.
6. Dell A., Morris H., Easton R. Structural analysis of the oligosaccharides derived from glycoprotein with potent immunosuppressive and contraceptive activities // J. Biol. Chem. — 1995. — Vol. 270. — P. 24116—24125.
7. Emanuele M., Emanuele N. Alcohol and the male reproductive system // Alcohol Res. Health. — 2001. — Vol. 25. — P. 282—287.
8. Honda A., Siruntawineti J., Baba T. Role of acrosomal matrix proteases in sperm-zona pellucida interactions// Hum. Reprod. Update. — 2002. — Vol. 8. — P. 405—412.
9. Neischlag E., Behre H. Andrology: male reproductive health and dysfunction. — Berlin: Springer, 1997. — 512 p.
10. Robertson D., Stephenson T., McLachlan R. Characterization of plasma inhibin forms in fertile and infertile men// Hum. Reprod. — 2003. — Vol. 18. — P. 1047—1054.
11. Shirai T., Ikemoto I. Mechanism of alcoholic testicular damage // Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi. — 1992 — Vol. 83. — P. 305—314.

BIOCHEMICAL MARKERS OF EJACULATE FERTILITY CAPACITY AFTER ACUTE ALCOHOL POISONING

- GALIMOV SH.N.** MD, Professor of Biological and Bioorganic Chemistry Department of Bashkir State Medical University, Ufa
- MUKMINOV A.A.** narcologist, St.-Petersburg
- ULDASHEV V.L.** MD, Professor, Chief of Psychiatry Department of Bashkir State Medical University, Ufa
- KRUGOVICH N.F.** MD, the leader scientist of Institute of Medical and Biological Problems, State Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Moscow

This study is devoted to the analysis of the diagnostic value of the male infertility molecular markers investigation after ethanol poisoning. 86 alcoholic patients aged 22—36 with disease duration less than 6 years were examined. Routine spermatogramm parameters as well as glycodefine amount, inhibine B level and acrosin activity in biological fluids were estimated. Standard ejaculate characteristics were intact after acute alcohol poisoning. However, serum and /or ejaculate levels of all the studied biochemical indicators of spermatogenesis and fertility capacity of gametes were statistically significant changed. These facts confirm that from the one hand the male reproductive system is very sensitive to an ethanol influence even after the short exposure and from the other hand, that these test-systems can be used for an early diagnostics of fertility impairments after alcohol poisoning.