

Связь биохимических параметров эякулята с характеристиками сперматозоидов

В.В. Евдокимов¹, С.А. Голованов¹, Ш.А. Сатыбалдыев², В.Б. Туровецкий³, Е.В. Шмальгаузен⁴, В.И. Муронец⁴

¹НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ НМИРЦ Минздрава России; Россия, 105425, Москва, ул. 3-я Парковая, 51, стр. 4;

²«Кыргызский НИИ курортологии и восстановительного лечения» Министерства здравоохранения Кыргызской Республики; Республика Кыргызстан, 722165, Чуйская обл., Аламудунский район, с. Таш-Дебе, ул. Больничная, 23;

³кафедра биофизики биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»; Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, 1, корп. 12;

⁴НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»; Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 40

Контакты: Валерий Васильевич Евдокимов vvedvok@mail.ru

Одной из важнейших характеристик сперматозоидов, определяющих способность к оплодотворению, является их подвижность. Энергия для движения клеток производится в ходе гликолиза. Окисление фермента гликолиза специфической глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (ГАФДс) в присутствии перекиси водорода (1 мкмоль) приводит к снижению подвижности сперматозоидов. В данной работе было исследовано влияние низких концентраций перекиси водорода (10 и 100 мкмоль) на активность фермента ГАФДс и подвижность сперматозоидов. Показано, что в указанных концентрациях перекись водорода приводит к увеличению общей и активной подвижности сперматозоидов на 11 и 19 % соответственно и повышению активности фермента ГАФДс на 24 %. Возможно, низкие концентрации перекиси водорода стимулируют систему антиоксидантной защиты клетки. Наряду с изменением подвижности сперматозоидов в другой серии работы определяли содержание биохимических компонентов эякулята при заболеваниях мужских половых органов: варикоцеле и хроническом простатите. При сравнении с контрольной группой доноров спермы в группе пациентов с варикоцеле отмечено достоверное снижение концентрации ферментов аспаратаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы и холинэстеразы. Остальные биохимические показатели существенно не отличались от показателей контрольной группы. Такой же уровень биохимических параметров отмечен и в группе больных хроническим простатитом. При наблюдении в эксперименте через 24 ч инкубации при комнатной температуре обнаружено снижение концентрации общего белка и глюкозы на 24 и 33 % соответственно. Концентрация ионов в спермоплазме существенно не изменялась. При этом подвижность сперматозоидов через 24 ч падала и составляла для общей подвижности 41 %, для активной подвижности 30 % от исходного уровня.

Вероятно, что физиологическая роль биохимических компонентов эякулята связана с поддержанием подвижности сперматозоидов при нахождении их в женских половых путях.

Ключевые слова: сперматозоид, подвижность, биохимия эякулята, специфическая глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа

DOI: 10.17650/2070-9781-2016-17-2-53-60

Association of the biochemical parameters of ejaculate with the characteristics of spermatozoa

V.V. Evdokimov¹, S.A. Golovanov¹, Sh.A. Satybaldyev², V.B. Turovetskiy³, E.V. Shmal'gauzen⁴, V.I. Muronets⁴

¹N.A. Lopatkin Research Institute of Urology and Interventional Radiology, Branch of National Medical Radiology Research Center, Ministry of Health of Russia; Build. 4, 51 3rd Parkovaya St., Moscow, 105425, Russia;

²Kyrgyz Research Institute of Balneology and Medical Rehabilitation, Ministry of Health of the Kyrgyz Republic; 23 Bol'ichnaya St., Seetlement Tash-Debe, Region Alamudunskiy, Region Chuyskaya, 722165, Kyrgyz Republic;

³Department of Biophysics, Faculty of Biology, M.V. Lomonosov Moscow State University; Build. 12, 1 Leninskie Gory, Moscow, 119234, Russia;

⁴A.N. Belozerskiy Research Institute of Physicochemical Biology, M.V. Lomonosov Moscow State University; Build. 40, 1 Leninskie Gory, Moscow, 119992, Russia

Motility is one of the most important characteristics of spermatozoa that determine their fertilization ability. Energy for cell movement is produced through glycolysis. Oxidation of the glycolytic enzyme glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) in the presence of hydrogen peroxide (10^{-3} mole) results in decreased sperm motility. This study investigated the impact of low hydrogen peroxide concentrations (10^{-4} and 10^{-5} mole) on GAPDH activity and sperm motility. Hydrogen peroxide in the above concentrations was shown to lead to an increase in total and active sperm motility by 11 and 19 %, respectively; and to simultaneously enhance GAPDH activity by 24 %. It may be that low hydrogen peroxidase concentrations stimulated the cellular antioxidant system. Along with altered sperm motility in another series of the investigation, the investigators determined the level of the biochemical components of ejaculate in different male genital diseases, such as varicocele and chronic prostatitis. Comparison of the sperm obtained from control donors and patients with varicocele showed a significant drop in the concentration of the enzymes aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, and cholinesterase. The other bio-

chemical parameters of sperm did not substantially differ from those in the control group. The same level of biochemical parameters was also noted in the patients with chronic prostatitis. At 24 hours after incubation at room temperature, there were 24 and 33 % reductions in the concentrations of total protein and glucose, respectively. The concentration of ions in the sperm was considerably unchanged. At the same time following 24 hours, the motility of spermatozoa fell and their total and active motility was 41 and 30 % of the 100 % baseline level, respectively. The physiological role of the biochemical components of ejaculate is likely to be related to the maintained motility of spermatozoa when the latter are present in the female genital tract.

Key words: spermatozoon; motility; biochemistry of ejaculate; specific glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

Введение

В последнее десятилетие отмечено нарушение подвижности сперматозоидов человека. Это один из основных параметров, определяющих фертильность эякулята, обуславливает негативное влияние мужского фактора в бесплодных браках [1–4]. Установлено, что биохимические элементы эякулята в определенной степени отражают уровень фертильности [5–8], а изменения содержания биохимических веществ в эякуляте – состояние сперматогенеза при различных заболеваниях репродуктивных органов [9, 10]. Однако существование биологической и физиологической взаимозависимости этих параметров не всегда удается выявить ввиду временного и локального их разделения (синтез веществ и сперматозоидов осуществляется в разных органах: в тестикулах, предстательной железе, везикулах).

Известно, что основными продуцентами белков, ферментов и ионов являются клетки Сертоли, клетки Лейдига, секреторный эпителий предстательной железы и семенных пузырьков, клетки придатков яичек, лимфоциты и другие клетки. Происхождение отдельных биохимических элементов вполне определено, однако функция и взаимодействие этих веществ недостаточно изучены.

Цель работы – установить наличие связи подвижности сперматозоидов с биохимическими параметрами эякулята при исследовании этих показателей при заболеваниях половых органов *in vitro* и *in vivo*.

Материалы и методы

Эякулят пациентов с варикоцеле и хроническим простатитом (ХП) был получен и исследован по рекомендациям Всемирной организации здравоохранения 4-го издания [11]. Стандартный анализ эякулята проводили на световом микроскопе ($\times 400$). Изучение изменений подвижности сперматозоидов по разным скоростям осуществляли с помощью автоматического анализатора СА-500 (Биола, Россия). Содержание биохимических компонентов спермоплазмы определяли на биохимическом анализаторе ADVIA 1200 (Bayer, Германия) с набором растворов той же фирмы. Эякулят центрифугировали 20 мин при 1500 об/мин, отбирали 1 мл супернатанта, в котором через 1, 3 и 24 ч инкубации образцов при комнатной температуре 20–22 °С определяли содержание биохимических компонентов и подвижность сперматозоидов. В образцах эякулята

измеряли активность фермента специфической глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (ГАФДс), как описано в работе [12].

Статистическую обработку результатов проводили по программе Statistica 6.0. Для оценки достоверности различий использовали W-критерий Вилкоксона, применяемый для непараметрических измерений.

Результаты и обсуждение

Были обследованы пациенты с патологией органов репродуктивной системы: ХП вне обострения ($n = 13$) и варикоцеле ($n = 13$). Возраст пациентов 20–45 лет. В контрольную группу вошли мужчины с нормозооспермией без патологии ($n = 15$) в том же возрастном интервале.

В табл. 1 представлены результаты измерений биохимических показателей эякулята в динамике при нормозооспермии. Через 1 ч отмечено незначительное изменение в сторону снижения 11 параметров, остальные сохранялись на исходном уровне. Через 3 ч наблюдения снижались значения тех же параметров, но без критерия достоверности. Через 24 ч наблюдения достоверное снижение выявлено по 2 параметрам: содержание общего белка и глюкозы (на 24 и 33 % соответственно). Также были снижены концентрации фосфора (на 57 %), магния (на 15 %), лактатдегидрогеназы (на 17 %), холинэстеразы (на 10 %). Незначительно повышены уровни натрия, хлора и С-реактивного белка (на 4,4 и 9 % соответственно). При этом обнаружено, что концентрация ионов натрия значительно превосходит суммарное содержание других 5 ионов: исходно – 126,7 и 91,4 ммоль, через 3 ч – 128,3 и 82,1 ммоль, через 24 ч – 131,0 и 85,4 ммоль соответственно. Отмечено некоторое повышение концентрации натрия и снижение остальных ионов через 24 ч (104 и 93 % соответственно по отношению к исходному уровню). Первоначальное соотношение калия и натрия было 4,2, через 24 ч – 4,4. Исходное соотношение натрия к другим ионам составляло 138 %, через 3 ч – 156 %, через 24 ч – 154 %.

Снижение концентрации общего белка, вероятно, связано с процессом протеолиза, действием протеолитических ферментов. Было установлено, что в процессе разжижения эякулята происходит деградация белков с высокой молекулярной массой до олигопептидов с низкой молекулярной массой [13, 14]. Также было

Таблица 1. Суточная динамика биохимических параметров сперматозоидов при нормозооспермии

Параметр	Исходно	Через 1 ч	Через 3 ч	Через 24 ч	p
Калий, ммоль	30,0 ± 5,5	31,9 ± 5,0	27,7 ± 6,6	29,8 ± 4,8	0,9
Натрий, ммоль	126,7 ± 6,2	126,6 ± 4,6	128,3 ± 7,6	131,0 ± 7,5	0,2
Хлор, ммоль	39,0 ± 4,5	41,0 ± 5,4	41,1 ± 7,0	40,8 ± 6,9	0,5
Кальций, ммоль	6,7 ± 1,0	6,6 ± 0,5	6,0 ± 1,4	6,5 ± 0,9	0,7
Фосфор, ммоль	15,3 ± 12,0	5,1 ± 2,2	4,4 ± 2,1	5,4 ± 3,0	0,2
Магний, ммоль	3,4 ± 1,3	3,0 ± 0,2	2,9 ± 0,3	2,9 ± 0,2	0,2
Общий белок, г/л	42,0 ± 0,9	35,5 ± 6,5	38,7 ± 8,2	32,0 ± 9,6	0,05
Альбумин, г/л	6,5 ± 1,4	6,3 ± 0,9	6,2 ± 1,4	6,1 ± 1,0	0,5
Глюкоза, ммоль	5,2 ± 1,3	4,4 ± 1,1	4,2 ± 1,3	3,5 ± 0,9	0,01
АСТ, Ед/л	436,0 ± 108,0	397,0 ± 73,0	369,0 ± 122,0	429,0 ± 95,0	0,8
АЛТ, Ед/л	79,5 ± 25,4	90,0 ± 13,8	72,3 ± 18,7	78,0 ± 25,0	0,9
Щелочная фосфатаза, Ед/л	533,0 ± 300,0	355,0 ± 50,0	540,0 ± 302,0	514,0 ± 271,0	0,8
Холинэстераза, Ед/л	171,0 ± 22,0	151,0 ± 52,0	148,0 ± 34,0	154,0 ± 53,0	0,4
СРБ, мг/л	15,8 ± 2,0	16,4 ± 0,7	17,2 ± 0,3	17,2 ± 0,3	0,2

Примечание. АСТ – аспаратаминотрансфераза; АЛТ – аланинаминотрансфераза; СРБ – С-реактивный белок; p – достоверность различия параметра от исходного уровня через 24 ч.

подчеркнуто, что при обострении ХП повышается активность 2 систем: протеолиза и антипротеолиза. При этом активность протеолиза в 3 раза превосходила активность антипротеолиза. Вероятно, в условиях опыта активность протеаз сохранялась в большей степени, чем активность антипротеаз. Истощение содержания энергетического субстрата – глюкозы – происходит за счет использования ее сперматозоидами для поддержания подвижности клеток: через 24 ч подвижность падала в 2–3 раза и концентрация глюкозы снижалась на 33 %.

При изучении морфологических показателей эякулята выявлены следующие изменения: через 3 ч наблюдения недостоверно были снижены подвижность и количество живых клеток, через 24 ч уменьшены все категории подвижности (наибольшее снижение отмечено в категории активной подвижности сперматозоидов) и количество живых клеток, содержание нормальных форм сперматозоидов не изменилось (табл. 2).

В табл. 3 представлены изменения морфологических параметров эякулята в группах больных с варикоцеле и ХП. В обеих группах по сравнению с контрольной было обнаружено уменьшение следующих параметров: объем эякулята, концентрация сперматозоидов, число живых клеток, подвижность и морфология сперматозоидов. При этом в группе пациентов с варикоцеле уровень снижения параметров был ниже, чем в группе больных ХП.

В табл. 4 представлены изменения биохимических параметров эякулята в этих же группах. В группе пациентов с варикоцеле выявлено существенное снижение концентрации ферментов, остальные параметры находились на уровне контрольной группы. Также не изменялись все параметры в группе больных ХП по отношению к контрольной.

С учетом возможного участия фермента сперматозоидов ГАФДс в обеспечении их подвижности мы исследовали его активность в условиях воздействия низких концентраций перекиси водорода (H₂O₂). На рис. 1–3 представлены изменения активности фермента ГАФДс и подвижности сперматозоидов при действии H₂O₂ в концентрациях 10 и 100 мкмоль. При исходной нормоспермии (см. рис. 1) активность фермента повысилась на 22–24 % (средние результаты в группе из 13 пациентов). Видно, что более низкая концентрация вызывает более высокий ответ. Параллельно определяли изменения подвижности сперматозоидов (см. рис. 2). Обнаружено повышение общей и активной подвижности сперматозоидов. В индивидуальных образцах эякулята обращает на себя внимание различие ответа на воздействие H₂O₂ в разной концентрации (см. рис. 3). При нормоспермии активность фермента значительно превышает исходный уровень и уровень при варикоцеле. Общая подвижность при нормоспермии составляла 51 и 93 %, при варикоцеле – 34 и 38 %. Следует отметить, что при варикоцеле ответ на обе концентра-

Таблица 2. Динамика подвижности и жизнеспособности сперматозоидов

Параметр	Исходно	Через 1 ч	Через 3 ч	Через 24 ч	<i>p</i>
Активная подвижность, %	14,8 ± 6,0	15,3 ± 10,3	14,0 ± 8,6	7,7 ± 4,5	0,05
Общая подвижность, %	44,3 ± 6,5	45,4 ± 3,8	34,6 ± 12,6	18,2 ± 8,2	0,04
Нормальные формы сперматозоидов, %	46,5 ± 5,2	45,0 ± 16,9	45,2 ± 16,6	42,5 ± 10,4	0,1
Живые сперматозоиды, %	68,3 ± 4,7	75,0 ± 7,0	52,0 ± 27,7	51,5 ± 14,4	0,01

Таблица 3. Параметры сперматогенеза в группах пациентов с варикоцеле и ХП и в контрольной группе

Параметр	Группа пациентов с варикоцеле	<i>p</i>	Группа пациентов с ХП	<i>p</i>	Контрольная группа
Объем эякулята, мл	4,1 ± 0,3	0,32	3,8 ± 0,2	0,05	4,7 ± 0,4
Концентрация сперматозоидов, млн/мл	57,0 ± 6,1	0,01	65,8 ± 6,2	0,05	97,9 ± 6,3
Живые сперматозоиды, %	60,7 ± 2,5	0,01	65,0 ± 1,8	0,01	70,8 ± 1,9
Активная подвижность сперматозоидов, %	10,5 ± 1,3	0,01	12,5 ± 1,3	0,01	21,5 ± 1,5
Общая подвижность сперматозоидов, %	32,3 ± 1,5	0,05	38,1 ± 2,1	0,05	50,1 ± 2,8
Нормальные формы сперматозоидов, %	35,9 ± 1,3	0,01	40,5 ± 1,6	0,06	43,9 ± 1,2

Таблица 4. Биохимические параметры сперматозоидов в группах пациентов с варикоцеле и ХП и в контрольной группе

Параметр	Группа пациентов с варикоцеле	<i>p</i>	Группа пациентов с ХП	<i>p</i>	Контрольная группа
Общий белок, г/л	31,0 ± 1,9	0,8	32,9 ± 1,9	0,4	30,4 ± 2,3
Альбумин, г/л	6,2 ± 0,3	0,9	7,0 ± 0,4	0,2	6,3 ± 0,4
Глюкоза, ммоль/л	4,3 ± 0,4	0,3	4,6 ± 0,5	0,6	5,0 ± 0,5
АСТ, Ед/л	341,2 ± 39,4	0,02	428,2 ± 59,1	0,4	497,3 ± 46,5
АЛТ, Ед/л	62,4 ± 4,1	0,05	74,1 ± 5,8	0,6	78,8 ± 6,9
Щелочная фосфатаза, Ед/л	501,8 ± 140,8	0,4	498,1 ± 84,7	0,3	704,7 ± 170,9
Холинэстераза, Ед/л	134,6 ± 5,3	0,05	150,0 ± 7,6	0,2	166,3 ± 9,7
Калий, ммоль/л	30,4 ± 0,9	0,9	33,8 ± 2,8	0,4	30,7 ± 2,0
Натрий, ммоль/л	125,0 ± 1,4	0,2	124,0 ± 1,7	0,5	122,0 ± 2,3
Хлор, ммоль/л	40,4 ± 1,9	0,7	41,1 ± 1,9	0,6	39,5 ± 2,4
Кальций, ммоль/л	5,6 ± 0,2	0,7	5,5 ± 0,3	0,5	5,8 ± 0,4
Фосфор, ммоль/л	4,6 ± 0,5	0,8	3,8 ± 0,4	0,3	4,4 ± 0,5
Магний, ммоль/л	2,6 ± 0,1	0,4	2,7 ± 0,1	0,9	2,5 ± 0,2
Железо, ммоль/л	5,6 ± 0,7	0,8	5,4 ± 0,8	0,7	5,9 ± 0,9

Примечание. АСТ – аспаратаминотрансфераза; АЛТ – аланинаминотрансфераза.

ции H_2O_2 незначительно ($\leq 25\%$) превышал исходный уровень активности фермента.

Таким образом, действие низких концентраций H_2O_2 приводит к повышению подвижности сперматозоидов

в разной степени в зависимости от концентрации вещества при одновременном статистически достоверном повышении активности фермента на 24%. Определение изменения скорости под воздействием низких

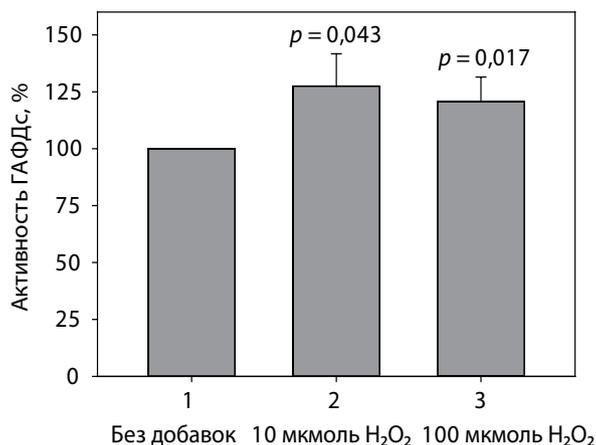


Рис. 1. Влияние H₂O₂ на активность ГАФДс в сперматозоидах. Исследуемый образец эякулята делили на 3 части: 1-ю пробу инкубировали без добавок, во 2-ю и 3-ю добавляли H₂O₂ до конечных концентраций 10 и 100 мкмоль. Все пробы инкубировали при температуре 22 °С в течение 1 ч, затем клетки отделяли центрифугированием и определяли активность ГАФДс. За 100 % принимали активность в пробе без добавок. Приведены средние значения 10 независимых экспериментов ± стандартная ошибка. Для оценки статистической значимости использовали U-критерий Манна–Уитни

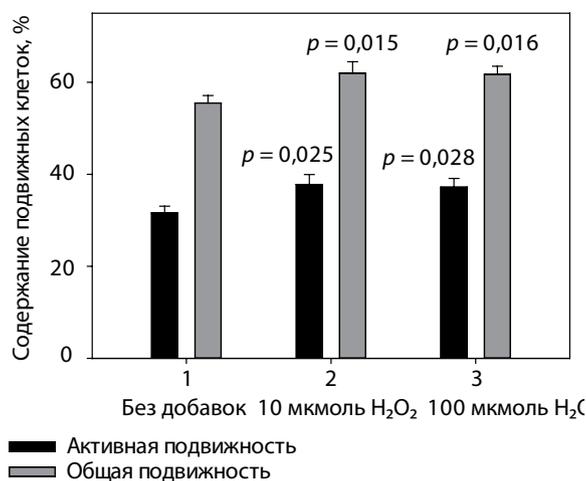


Рис. 2. Влияние H₂O₂ на подвижность сперматозоидов. Исследуемый образец эякулята делили на 3 части: 1-ю пробу инкубировали без добавок, во 2-ю и 3-ю добавляли H₂O₂ до конечных концентраций 10 и 100 мкмоль. Все пробы инкубировали при температуре 22 °С в течение 1 ч. Данные представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка (n = 13). Для оценки статистической значимости использовали t-критерий Стьюдента

концентраций H₂O₂ было выполнено на отечественном спермоанализаторе «Биола». В табл. 5 приведены 4 примера изменения подвижности сперматозоидов по 3 категориям скорости. В 1-м образце эякулята было отмечено повышение скорости во всех 3 категориях через 30 мин и до 3 ч наблюдения, во 2-м – повышение скорости только в категории 25–50 мкм/с, в 3-м образце при исходной астенозооспермии – незначительное повышение скорости подвижности сперматозоидов,

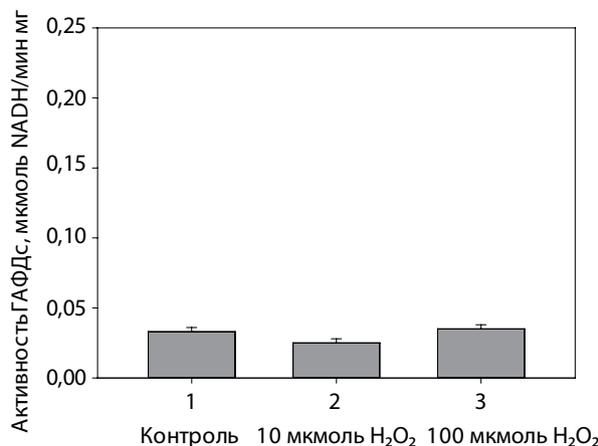
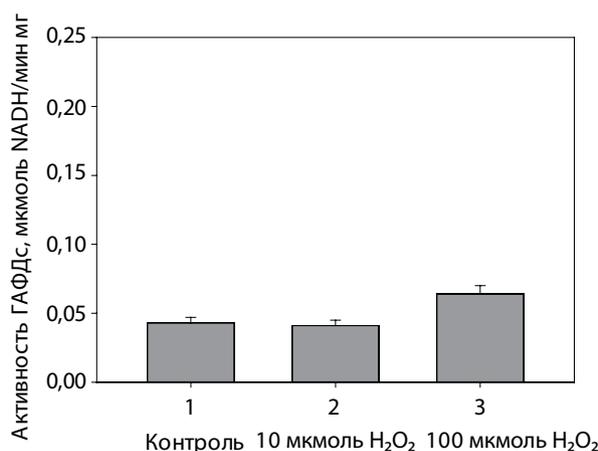
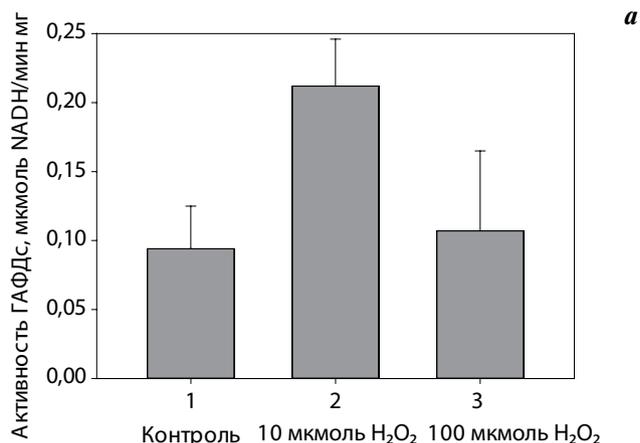


Рис. 3. Влияние H₂O₂ в концентрациях 10 и 100 мкмоль при нормозооспермии (а) и варикоцеле (б)

в 4-м – снижение подвижности во всех категориях скорости. Увеличение подвижности сперматозоидов и активности ГАФДс в присутствии низких концентраций H₂O₂, возможно, связано с активацией пентозофосфатного пути, что приводит к увеличению содержания восстановленного глутатиона. Глутатион является природным антиоксидантом и препятствует окислению ГАФДс, необходим для поддержания подвижности сперматозоидов, вызывает активацию антиоксидант-

Таблица 5. Подвижность сперматозоидов (мкм/с) с разными скоростями движения при воздействии H_2O_2 в концентрациях 10 и 100 мкмоль

Скорость движения сперматозоидов	Исходно	15 мин		30 мин		1 ч		3 ч		Контроль, 3 ч
		10 мкмоль	100 мкмоль	10 мкмоль	100 мкмоль	10 мкмоль	100 мкмоль	10 мкмоль	100 мкмоль	
14.11.2014										
25–50	12	–	–	19	14	18	16	15	19	–
50–100	8	–	–	12	10	9	11	10	9	–
Выше 100	4	–	–	8	7	7	7	6	6	–
28.11.2014										
25–50	19	23	22	23	22	27	22	22	18	–
50–100	18	18	18	15	14	14	14	12	12	–
Выше 100	12	14	14	13	12	12	13	10	11	–
29.11.2014										
25–50	10	9	10	10	10	12	13	10	11	8
50–100	7	8	7	8	7	8	7	7	6	5
Выше 100	2	3	3	3	4	4	3	3	3	3
04.12.2014										
25–50	8	7	1	6	1	7	0	5	0	6
50–100	10	7	2	7	1	5	0	4	0	5
Выше 100	6	4	1	5	0	4	0	3	0	2
Всего										
25–50	12,2 (100 %)	13,0 (106 %)	11,0 (90 %)	14,5 (118 %)	11,7 (96 %)	16,0 (131 %)	12,7 (104 %)	13,0 (106 %)	12,0 (98 %)	7,0 (57 %)
50–100	10,7 (100 %)	11,0 (103 %)	9,0 (84 %)	10,5 (98 %)	8,0 (74 %)	9,0 (84 %)	8,0 (74 %)	8,2 (76 %)	6,7 (62 %)	5,0 (46 %)
Выше 100	6,0 (100 %)	7,0 (116 %)	6,0 (100 %)	7,2 (120 %)	5,7 (95 %)	6,7 (111 %)	5,7 (97 %)	5,5 (91 %)	5,0 (83 %)	2,5 (41 %)

ной системы сперматозоидов, что служит индикатором нормальной работы клеточной системы защиты [15–17].

Гипоксия и ишемия, сопровождающие варикоцеле, как основы патогенетического процесса, уменьшают скорость окисления глюкозы, жиров, аминокислот и приводят к снижению синтеза аденозинтрифосфата, что при данной патологии отражается на изменении подвижности сперматозоидов. Гипоксия блокирует образование энергии в метаболических путях, вызывает образование свободных радикалов и других метаболитов патохимических реакций [18–20]. Установлена взаимосвязь между варикоцеле и повышенным содержанием активных форм кислорода. Хроническое повышение концентрации активных форм кислорода может приводить к снижению активности фермента ГАФДс (см. рис. 3б). Поскольку активность ГАФДс необходима для движения сперматозоидов [15], этот

фактор также может вносить вклад в снижение подвижности сперматозоидов при варикоцеле.

Различные ионы проникают через мембрану клетки по специфическим каналам. Строение мембраны головки сперматозоида отличается от структуры других клеток. Головка сперматозоида окружена двойной мембраной: наружной (акросомальная) и внутренней. В головке почти отсутствует цитоплазма, что определяет низкое содержание в ней антиоксидантов. При стрессовых нагрузках, таких как гипоксия и ишемия, в цитоплазме значительно увеличивается концентрация свободных радикалов, которые повреждают внутриклеточные структуры и приводят к нарушению подвижности гамет. Поэтому целостность клетки определяют по ионному составу внутри и вне клетки. Показательным признаком повреждения мембраны клетки служит содержание ионов калия и натрия. В нашем исследовании уровень этих ионов на протяжении 24 ч

существенно не изменялся, что может свидетельствовать о стабильности мембраны клеток и отражается в сохранении количества нормальных форм сперматозоидов, но при этом уменьшалось число живых гамет. Можно предположить, что для эозина в мембране существуют другие каналы.

По полученным результатам можно предположить, что роль отмеченных ионов и ферментов в процессе созревания сперматогенного эпителия не столь существенна из-за локальной разобщенности. Их значение в большей мере относится к поддержанию качественных характеристик эякулята и защите сперматозоидов при нахождении их в женских половых путях.

Положительный эффект, связанный с активацией фермента ГАФДс в сперматозоидах в присутствии низ-

ких концентраций H_2O_2 , может отражать способность антиоксидантной защиты сперматозоида.

Практическим значением полученных результатов является возможность повышения подвижности сперматозоидов при исходной астенозооспермии для использования их в программах вспомогательных репродуктивных технологий или после криоконсервации эякулята.

Заключение

Отмеченные изменения биохимических параметров можно рассматривать в качестве диагностических критериев, отражающих восстановление функции репродуктивной системы в процессе проводимого лечения.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Выборнов С.В. Биохимические показатели репродуктивного здоровья мужчин, работающих на Астраханском газоперерабатывающем заводе. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Астрахань, 2006. 25 с. [Vybornov S.V. Biochemical exponents of reproductive health in men working at Astrakhan gas processing plant. Autor's abstract of thesis ... of candidate of medical sciences. Astrakhan', 2006. 25 p. (In Russ.).]
2. Галимов Ш.Н., Павлов В.Н., Галимова Э.Ф. Влияние биофлавоноидов прополиса на антиоксидантный потенциал эякулята и окислительное повреждение ДНК сперматозоидов. Андрология и генитальная хирургия 2013;(4):65–8. [Galimov Sh.N., Pavlov V.N., Galimova E.F. Influence of propolis bioflavonoids to antioxidant potential of ejaculate and oxidative damage of sperm cells' DNA. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2013;(4):65–8. (In Russ.).]
3. Добровольская Л.И., Король Л.В. Биохимический профиль эякулята у бесплодных мужчин. В кн.: Материалы конференции «Социальные и клинические проблемы сексологии и сексопатологии». М., 2003. С. 59. [Dobvol'skaya L.I., Korol' L.V. Biochemical profile of ejaculate in sterile men. In book: Materials of Conference "Social and clinical problems of sexology and sexopathology". Moscow, 2003. P. 59. (In Russ.).]
4. Липатова Н.А. Лабораторные критерии фертильности эякулята. Клиническая лабораторная диагностика 1998;(5):11–5. [Lipatova N.A. Laboratory criteria of ejaculate fertility. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Clinical laboratory diagnostics* 1998;(5):11–5. (In Russ.).]
5. Евдокимов В.В., Голованов С.А., Дрожжева В.В. Биохимические параметры эякулята. Андрология и генитальная хирургия 2007;(3):5–9. [Evdokimov V.V., Golovanov S.A., Drozhzheva V.V. Biochemical parameters of ejaculate. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2007;(3):5–9. (In Russ.).]
6. Луцкий Л.Д. Иммунохимическая и биохимическая характеристика спермоплазмы субфертильных мужчин. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2000. 28 с. [Lutskiy L.D. Immunochemical and biochemical profile of sperm plasma in hypofertile men. Autor's abstract of thesis ... of candidate of medical sciences. Moscow, 2000. 28 p. (In Russ.).]
7. Николаев А.А., Строев В.А., Астраханцев А.Ф. Биохимические исследования спермоплазмы при мужском бесплодии. Урология и нефрология 1993;(3):33–6. [Nikolaev A.A., Stroev V.A., Astrakhan'tsev A.F. Biochemical studies of sperm plasma at man infertility. *Urologiya i nefrologiya = Urology and Nephrology* 1993;(3):33–6. (In Russ.).]
8. Неймарк А.И., Фидиркин А.В., Алиев Р.Т. Изменение уровня энзимов спермы при бесплодии. Урология и нефрология 1998;(2):44–5. [Neymark A.I., Fidirkin A.V., Aliev R.T. Change in level of sperm enzymes at infertility. *Urologiya i nefrologiya = Urology and Nephrology* 1998;(2):44–5. (In Russ.).]
9. Сивков А.В., Ощепков В.Н., Евдокимов В.В. и др. Эффективность и безопасность препарата Селцинк плюс у пациентов с хроническим неинфекционным простатитом и нарушениями фертильности. Экспериментальная и клиническая урология 2010;(1):49–54. [Sivkov A.V., Oshchepkov V.N., Evdokimov V.V. et al. Efficacy and safety of Selzinc plus drug in patients with chronic non-infectious prostatitis and fertility disturbances. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya urologiya = Experimental and Clinical Urology* 2010;(1):49–54. (In Russ.).]
10. Chard T., Parlow J., Rehmann T., Dawnay A. The concentration of transferrin, albumin in seminal plasma in relation to sperm count. *Fertil Steril* 1991;55(1):211–3.
11. Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека. 4-е издание. М., 2010. 291 с. [WHO Guideline for testing and treatment of ejaculate. 4th edn. Moscow, 2010. 291 p. (In Russ.).]
12. Шуцкая Ю.Ю., Элькина Ю.Л., Куравски М.Л. и др. Исследование глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы из сперматозоидов человека. Биохимия 2008;73(2):228–37. [Shutskaya Yu.Yu., El'kina Yu.L., Kuravski M.L. et al. Test of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase of human sperm. *Biokhimiya = Biochemistry* 2008;73(2):228–37. (In Russ.).]
13. Евдокимов В.В. Системное исследование эякулята при заболеваниях мужской репродуктивной системы. Дис. ... д-ра мед. наук. М., 1999. 280 с. [Evdokimov V.V. System study of ejaculate at diseases of man reproductive system. Thesis ... of doctor of medical sciences. Moscow, 1999. 280 p. (In Russ.).]
14. Раков С.С., Ракова Н.Г., Липатова Н.А., Евдокимов В.В. Комплексное исследование эякулята в диагностике заболеваний мужской репродуктивной системы. Андрология и генитальная хирургия 2006;(1):43–8. [Rakov S.S., Rakova N.G., Lipatova N.A., Evdokimov V.V.



Comprehensive study of ejaculate in diagnostics of diseases of male reproductive system. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2006;(1):43–8. (In Russ.).

15. Элькина Ю.Л., Атрошенко М.М., Брагина Е.Е. и др. Окисление глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы приводит к снижению подвижности сперматозоидов. *Биохимия* 2011;(76):338–44. [El'kina Yu.L., Atroshchenko M.M., Bragina E.E. et al. Oxidation of glyceraldehyde-3-phosphate

dehydrogenase results in decreasing of sperm motility. *Biokhimiya = Biochemistry* 2011;(76):338–44. (In Russ.).

16. Miki K., Ou W., Goulding E.H. et al. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase-S, a sperm specific glycolytic enzyme, is required for sperm motility and male fertility. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101(47):16501–6.

17. Stanton R.S. Glucose-6-phosphate dehydrogenase, NADPH, and cell survival. *IUBMB Life* 2012;64(5):362–9.

18. Agarwal A., Saleh R.A., Bedaiwy M.A. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril* 2003;79(4):829–43.

19. Yeşilli C., Mungan G., Seçkiner I. et al. Effect of varicocelectomy on sperm creatin kinase, LDG, LDG -X in infertile men with varicocele. *Urology* 2005;66(3):610–5.

20. Rivlin J., Mendel J., Rubinstein S. et al. Role hydrogen peroxide in sperm capacitation and acrosome reaction. *Biol Reprod* 2004;70(2):518–22.