

УДК 612.616.2.015.3:616.699

## **ВЛИЯНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ЛИПИДОВ СПЕРМАТОЗОИДОВ НА ФЕРТИЛЬНОСТЬ ЭЯКУЛЯТА**

В.В. Жигулина

ГБОУ ВПО Тверская ГМА Минздрава России

*Исследован методом микротонкослойной хроматографии на силикагеле эякулят фертильных мужчин и мужчин с нарушением фертильности. Обнаружены изменения липидов в половых клетках и в их окружении, как у мужчин с патологией, так и при нормозооспермии.*

**Ключевые слова:** *липиды сперматозоидов и спермоплазмы, хроматография, бесплодие мужчин.*

## **EFFECT OF BIOCHEMICAL CHANGES OF SPERMATOZOON AND SPERMOPLASMA LIPIDS ON EJACULATE FERTILITY**

M.P. Antonov, V.V. Zhigulina  
Tver State Medical Academy

*Ejaculate of fertile men and of man with fertility disorder was investigated by means of micro-thin-layer chromatography on silicogel. Lipid alterations were detected in sex cells and their surroundings both in the men with pathology and also in normozoospermia.*

**Key words:** *lipids of spermatozoon and spermoplasma, chromatography, male sterility.*

В настоящее время актуальна проблема снижения фертильности мужчин репродуктивного возраста. При этом даже у мужчин с нормозооспермией выявлены определенные нарушения: снижение подвижности сперматозоидов (менее 20%) и их количества, наличие агрегации и аглютинации сперматозоидов, отмечены клетки сперматогенеза в большом количестве. Значимую роль в поддержании подвижности сперматозоидов отводят фосфолипидам (ФЛ), имеющими возможность влиять на половые клетки как непосредственно, так и опосредованно – повышать репродуктивную функцию мужчин. Так, дефицит ФЛ, особенно фосфатидилхолина, может привести к бесплодию.

**Целью работы** явилось раскрыть закономерности изменений липидов эякулята у мужчин с нарушением фертильности в зависимости от характеристики эякулята.

Материал и методы

Обследовано 68 мужчин в возрасте 21–49 лет, состоящих в бесплодных браках. Контрольную группу составили 10 здоровых мужчин с доказанной фертильностью (в течение года у половых партнеров данных лиц наступала беременность). Материалом для исследования служила сперма мужчин, обратившихся в клиническую лабораторию по поводу бесплодного брака за период 2011–2012 гг. Среди обследованных пациентов согласно оценке спермограмм, были выделены 3 группы: подвижность сперматозоидов менее 20%, количество сперматозоидов 21–100 млн/мл, количество сперматозоидов более 101 млн/мл. У всех обследуемых лиц сперма была без воспалительных процессов. Проведение стандартного анализа спермограмм и классификацию показателей эякулята осуществляли согласно требованиям ВОЗ. Для исследования липидного состава, эякулят разделяли на сперматозоиды и спермоплазму центрифугированием при 400 об/мин в течение 20 мин. Сперматозоиды отмывали дважды физиологическим раствором при двукратном центрифугировании при 400 об/мин в течение 20 мин. В сперматозоидах и спермоплазме

общие липиды разделяли методом микротонкослойной хроматографии на силикагеле. Были идентифицированы фракции липидов: ФЛ, холестерин (Х), свободные жирные кислоты (СЖК), триглицериды (ТГ), эфиры холестерина (ЭХ). Проявление хроматограмм проводили по методу, описанному в работе В.Б. Максименко. Экстракты липидов выделяли методом Фолча. Положение на хроматограмме ФЛ, Х, СЖК, ТГ, ЭХ определили с помощью свидетелей.

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием программы Statistica версия 6,0.

#### Результаты и обсуждение

В табл. 1 представлен липидный компонент сперматозоидов и спермоплазмы мужчин контрольной группы. Как видно из данных табл. 1, в половых клетках преобладали ФЛ  $51,6 \pm 12,9\%$  (против  $33,4 \pm 6,0\%$  в спермоплазме), а в их окружении – Х  $49,1 \pm 10,2\%$  (против  $30,0 \pm 4,9\%$  в сперматозоидах). Суммарное содержание ФЛ+Х составляло в сперматозоидах  $79,5 \pm 9,6\%$ , в плазме –  $81,6 \pm 7,2\%$ , остальное – минорные фракции.

Таблица 1

Липиды сперматозоидов и спермоплазмы у фертильных мужчин (в %,  $X \pm S$ )

№	Сперматозоиды	Клетки сперматогенеза	% подвижных	Агглютинация/Агрегация	Лейкоциты	Фракции липидов				
						ФЛ	Х	ФЛ+Х	ФЛ/ФЛ <sub>0</sub>	Х/Х <sub>0</sub>
1	42	4	60	Нет	2	25,0 68,6	63,8 27,0	88,8 95,6	0,36	2,36
2	110	1	48	Нет	1	28,4 68,4	63,4 29,0	91,8 97,4	0,41	2,19
3	162	1	70	Нет	1	43,5 39,7	43,7 35,3	87,2 75,0	1,09	1,24
4	120	2–4	50	Нет	1	31,9 35,4	51,4 37,4	83,8 72,8	0,9	1,37
5	200	2–4	60	Нет	1	33,1 36,8	45,1 35,8	78,2 72,6	0,9	1,26
6	108	1	70	Нет	1	39,7 53,2	41,7 28,6	81,4 81,8	0,75	1,46
7	119	1	65	Нет	1	37,5 53,0	41,2 27,1	78,7 80,1	0,71	1,52
8	112	1	65	Нет	1	28,0 45,4	56,5 26,6	84,5 72,0	0,62	2,12
9	94	1	70	Нет	1	60,6 67,4	12,0 8,5	72,6 75,9	0,9	1,41
10	184	1	70	Нет	1	33,7 48,8	35,4 23,4	69,1 71,4	0,7	1,51
	$125 \pm 46$		$62,8 \pm 8,3$			$33,4 \pm 6,0$ $51,6 \pm 12,9$	$49,1 \pm 10,2$ $30,0 \pm 4,9$	$81,6 \pm 7,2$ $79,5 \pm 9,6$	0,73 S = 0,23	1,64 S = 0,41

Следует отметить, что соотношение ФЛ плазмы к ФЛ сперматозоидам (ФЛ/ФЛ<sub>0</sub>) меньше 1, что, по-видимому, связано с увеличением количества ФЛ в сперматозоидах.

Вместе с тем, в пробе № 3, соотношение ФЛ/ФЛ<sub>0</sub> больше 1, что находит объяснение в снижении ФЛ в сперматозоидах (39,7 против 43,5 в спермоплазме).

В табл. 2 отображен липидный состав сперматозоидов и спермоплазмы с подвижностью сперматозоидов менее 20%. Анализ данных табл. 2 показал, что в большинстве случаев наблюдалась агрегация и/или агглютинация сперматозоидов, были выявлены клетки сперматогенеза в большом количестве.

Таблица 2

Липиды сперматозоидов и спермоплазмы у мужчин с подвижностью сперматозоидов менее 20% (в %, X ± S)

№	Сперматозоиды	Клетки сперматогенеза	% подвижных	Агглютинация/Агрегация	Лейкоциты	Фракции липидов				
						ФЛ	X	ФЛ+X	ФЛ/ФЛ <sub>0</sub>	X/X <sub>0</sub>
1	68	2-4	20	+ / + +	0-2	34,8 25,5	31,0 38,6	65,8 64,1	1,36	0,80
2	20	10-50	10	Нет / +	0-1	40,0 57,7	41,8 22,2	81,8 79,9	0,69	1,88
3	74	5-10	10	Нет / +	0-3	35,3 68,4	49,9 25,4	85,2 93,8	0,52	1,96
4	15	5-10	20	Нет	0-1	30,0 47,7	48,8 39,9	78,8 87,6	0,63	1,22
5	82	2-4	15	+ / + +	1-2	22,1 39,2	53,8 38,8	75,9 78,0	0,56	1,38
6	68	2-4	20	+ / + +	1-2	20,0 46,6	67,7 26,8	87,7 73,4	0,43	2,53
7	48	10-50	20	+ / +	0-1	29,1 56,0	47,8 23,1	76,9 79,1	0,52	2,07
8	48	5-10	20	+ / + + +	0-1	27,2 23,3	35,8 47,0	63,0 70,3	1,17	0,76
	49,7 S = 25,1		15,5 S = 5,8			29,8 S = 6,3 45,5 S = 15,7	46,7 S = 11,3 32,7 S = 9,4	76,9 S = 8,7 78,3 S = 9,4	0,73 S = 0,34	1,57 S = 0,63

В пробах № 1 и 8 были обнаружены аномальные соотношения ФЛ и X в плазме и сперматозоидах: отношение ФЛ/ФЛ<sub>0</sub> больше 1, X/X<sub>0</sub> меньше 1. Это, вероятно, связано со снижением уровня ФЛ и возрастанием X в сперматозоидах. В этих же пробах (№ 1 и 8) количество минорных фракций было больше, чем в сперме с нормальными показателями.

В табл. 3 показаны липиды сперматозоидов и спермоплазмы мужчин с количеством сперматозоидов 21-100 млн/мл. В процессе обсуждения данных табл. 3 были получены следующие результаты: в пробах № 4 и 9 ФЛ плазмы преобладали над X, в пробах № 1,4,5,9,12,14,16,18,19 ФЛ сперматозоидов были ниже X, в пробах № 1,4,5,9,12,16,19 ФЛ

плазмы были выше, чем ФЛ сперматозоидов, в пробах № 4,9,12,19 X плазмы был ниже, чем X сперматозоидов.

Таблица 3

Липиды сперматозоидов и спермоплазмы у мужчин с количеством сперматозоидов

21–100 млн/мл (в %, X ± S)

№	Сперматозоиды	Клетки сперматогенеза	% подвижных	Агглютинация/Агрегация	Лейкоциты	Фракции липидов				
						ФЛ	X	ФЛ+X	ФЛ/ФЛ <sub>о</sub>	X/X <sub>о</sub>
1	52	2–3	22	Нет/++	0–1	29,6 26,5	61,9 37,5	91,5 64,0	0,48	1,65
2	38	5–10	25	+ /++	0–1	36,2 39,5	55,3 32,4	91,5 71,9	0,92	1,71
3	42	2–4	60	Нет	2	25,0 68,6	63,8 27,0	88,8 95,6	0,40	2,36
4	60	5–10	25	Нет/++	5	43,2 26,1	23,7 50,4	66,9 76,5	1,65	0,47
5	46	2–4	23	Нет/+	0–1	31,0 25,0	64,8 47,7	95,8 72,7	1,24	1,36
6	62	2–4	25	Нет	0–1	44,4 77,5	50,1 15,4	94,5 92,2	0,57	3,25
7	84	5–10	24	+ /+	0–1	31,5 41,0	43,6 30,6	75,1 71,6	0,72	1,42
8	30	0–1	50	Нет/+	0–1	26,1 28,1	63,5 23,4	89,6 51,5	0,93	2,71
9	68	2–4	20	+ /++	0–2	34,8 25,5	31,0 38,6	65,8 64,1	1,36	0,80
10	55	2–4	34	+ /++	0–1	45,1 53,9	48,6 19,4	93,7 73,3	0,84	2,50
11	74	5–10	10	Нет/++	0–3	35,3 68,4	49,9 25,4	85,2 93,8	0,52	1,96
12	48	5–10	35	Нет/+	0–1	40,4 38,2	48,2 48,4	88,6 86,6	1,06	0,99
13	82	2–4	15	+ /++	1–2	22,1 39,2	53,8 38,8	75,9 78,0	0,56	1,32
14	93	2–4	50	Нет/++	0–1	27,7 32,4	51,8 37,9	79,5 70,3	0,85	1,37
15	68	2–4	20	+ /++	1–2	20,0 46,6	67,7 26,8	87,7 73,4	0,43	2,53
16	108	5–10	26	+ /++	0–1	34,3 29,3	62,2 38,9	96,5 68,2	1,17	1,60
17	48	10–50	20	+ /+	0–1	29,1 56,0	47,8 23,1	76,9 79,1	1,52	2,07
18	34	2–4	30	+ /+	1–3	31,2 42,2	45,2 44,2	76,4 86,4	0,74	1,02
19	48	5–10	20	+ /++++	0–1	27,2 23,3	35,8 47,0	63,0 70,3	1,17	0,76

	55,6 S = 15,6		25,0 S = 6,0			32,4 S = 7,1 35,8 S = 10,4	54,9 S = 7,9 34,4 S = 10,6	83,3 S = 10,6 77,1 S = 9,8	0,95 S = 0,41	1,59 S = 0,66
--	---------------------	--	-----------------	--	--	---	---	---	---------------------	---------------------

В табл. 4 представлены результаты липидов эякулята у мужчин с количеством сперматозоидов более 101 млн/мл. Из данных табл. 4 видно, что в пробах № 6 и 8 ФЛ сперматозоидов были ниже X. В пробах № 4 и 8 ФЛ плазмы были выше, чем ФЛ сперматозоидов. Анализируя данные табл. 3 и 4 можно предположить нарушение фертильности спермы у мужчин в сравнении со спермой мужчин с нормальными показателями спермограммы.

Таблица 4

Липиды сперматозоидов и спермоплазмы у мужчин с количеством сперматозоидов более 101 млн/мл (в %,  $X \pm S$ )

№	Сперматозоиды	Клетки сперматогенеза	% подвижных	Агглютинация/Агрегация	Лейкоциты	Фракции липидов				
						ФЛ	X	ФЛ+X	ФЛ/ФЛ <sub>о</sub>	X/X <sub>о</sub>
1	110	0–1	48	Нет	0–1	28,4 68,4	63,4 29,0	91,8 97,4	0,41	2,19
2	140	2–4	32	+/++	0–1	32,1 51,8	67,0 43,0	99,1 94,8	0,62	1,59
3	125	0–1	50	Нет/+	0–1	41,0 81,0	56,0 14,4	97,0 95,4	0,51	3,89
4	162	0–1	70	Нет	0–1	43,5 39,7	43,7 35,3	87,2 75,0	1,09	1,24
5	140	2–4	40	+++	0–1	38,8 49,5	61,0 24,6	99,8 74,1	0,78	2,48
6	126	0–1	42	+++	0–1	26,8 39,5	54,6 42,9	81,4 82,4	0,91	1,27
7	120	2–4	42	+/+	0–1	32,7 44,2	42,4 27,5	75,1 71,7	0,74	1,54
8	108	5–10	26	+/++	0–1	34,3 29,3	62,2 38,9	96,3 68,2	0,55	1,60
	129,8 S = 17,9		43,7 S = 13,2			33,5 S = 4,8 50,4 S = 16,8	56,3 S = 9,1 31,9 S = 9,9	31,0 S = 9,0 82,4 S = 11,9	0,70 S = 0,22	1,70 S = 0,46

Анализируя вышеприведенные данные, следует предположить вероятные механизмы выявленных сдвигов. При нарушении фертильности может происходить снижение количества ФЛ в сперматозоидах и возрастание в них Х. Наблюдаемые изменения липидов эякулята были обнаружены как у мужчин с патологией, так при нормозооспермии, что, по-видимому, указывает на причину бесплодия у мужчин с нормозооспермией. Данные изменения нарушают капацитацию, и соответственно, акросомальную реакцию и оплодотворение. Установлено, что для капацитации мембрана сперматозоидов должна синтезировать достаточное количество ФЛ, удалять Х, а также другие стероиды и белки. Следует отметить роль спермоплазмы в поддержании фертильности эякулята.

Таким образом, нарушение фертильности мужчин сопровождается определенными изменениями фракций ФЛ и Х, как в сперматозоидах, так и в спермоплазме. Можно предположить, что данные нарушения изменяют мембрану сперматозоидов и их функциональную активность, что, по-видимому, является одной из причин мужского бесплодия. Изучение липидов спермы может быть использовано как дополнительный метод диагностики инфертильности мужчин.

## Литература

1. Жмакин И.А. История становления и развития научно-исследовательской работы в Тверской государственной медицинской академии // Верхневолжский медицинский журнал. - 2011. Т. 9. № 4. - С. 10-15.
2. Брянцева В.М., Федотова Т.А., Жмакин И.А. Научно-исследовательский центр тверской медицинской академии - важное звено в реализации научно-исследовательских работ // Верхневолжский медицинский журнал. - 2011. Т. 9. № 4. - С. 38-42.
3. Кириленко Н.П., Жмакин И.А. Участие Тверской медакадемии в формировании здорового образа жизни среди населения тверской области: опыт прошлого и настоящего, к будущему // Верхневолжский медицинский журнал. - 2009. Т. 7. № 4. - С. 31-33.
4. Мирзоева В.М., Михайлова Н.Д. Принципы формирования коммуникативной структуры научного (медицинского) текста в аспекте анализа закономерностей его организации // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Филология. 2013. - № 1. - С. 271-277.

5. Килейников Д.В. Современные образовательные технологии в Тверской государственной медицинской академии // Верхневолжский медицинский журнал. 2011. - Т. 9. № 4. - С. 15-18.
6. Мирзоева В.М., Кузнецова А.А. К вопросу важности формирования ключевых компетенций для подготовки специалиста в сфере медицины // Тверской медицинский журнал. 2014. - № 2. - С. 89-95.
7. Макушева М.В., Килейников Д.В. Результаты суточного мониторирования экг с оценкой вариабельности ритма сердца у больных первичным гипотиреозом с сопутствующей артериальной гипертонией // Верхневолжский медицинский журнал. 2008. - Т. 6. № 1. - С. 23-25.
8. Коричкина Л.Н., Жмакин И.А., Алексеева Ю.А., Макарова И.И., Тофило Е.Л., Виноградова Т.С., Вилкова Ю.В. Эндогенное ауторозеткообразование в периферической крови как показатель эндоекологического состояния школьников // Верхневолжский медицинский журнал. 2012. - Т. 10. № 1. - С. 40-42.
9. Иванов А.Г., Мирзоева В.М., Кузнецова А.А., Михайлова Н.Д., Аксенова Е.Д. Юбилейная дата: 50 лет обучения иностранных учащихся в Тверской государственной медицинской академии // Верхневолжский медицинский журнал. 2013. - Т. 11. № 3. - С. 47-48.
10. Жмакин И.А. История, состояние и перспективы научно-исследовательской и инновационной деятельности // Высшее образование в России. 2011. - № 11. - С. 63-69.
11. Федотова Т.А., Жмакин И.А., Васильев П.В., Горшкова М.А. Особенности биохимических и иммунологических параметров секрета ротовой полости часто болеющих детей и подростков, проживающих в разных городах Тверской области // Вопросы практической педиатрии. 2011. - Т. 6. № 3. - С. 114-116.
12. Егорова Е.Н., Кузьмина М.И., Мазур В.В., Сергеева С.И., Калинин М.Н., Мазур Е.С. Маркеры системного воспаления и микробиоценоз толстого кишечника при хронической сердечной недостаточности // Верхневолжский медицинский журнал. 2011. - Т. 9. № 1. - С. 3-7.
13. Калинин М.Н., Гнусаев С.Ф., Еремеев А.Г., Торопыгин С.Г., Заварин В.В. Международное сотрудничество тверской государственной медицинской академии и медицинского факультета университета земли СААР (германия) в научно-практической и образовательной сферах: итоги и перспективы // Верхневолжский медицинский журнал. 2008. - Т. 6. № 3. - С. 3-4.

14. Егорова Е.Н., Калинин М.Н., Мазур Е.С. Системное воспаление в патогенезе хронической сердечной недостаточности // Верхневолжский медицинский журнал. 2012. - Т. 10. № 1. - С. 16-19.
15. Радьков О.В., Калинин М.Н., Раскوراتов Ю.В., Заварин В.В. Вариабельность сердечного ритма при гестозе в зависимости от полиморфизма -381Т/С гена мозгового натрийуретического пептида // Верхневолжский медицинский журнал. 2011. - Т. 9. № 1. - С. 13-16.
16. Калинин М.Н., Волков В.С. О патоаутокинезе гиперлиппротеидемии и его клиническом значении // Верхневолжский медицинский журнал. 2012. - Т. 10. № 2. - С. 21-24.
17. Иванов А.Г. Особенности формирования семьи и репродуктивных установок молодежи // Здравоохранение Российской Федерации. - 2004. № 4. - С. 36-37.
18. Иванов А.Г. Медико-социальные аспекты инфекций, передаваемых половым путем, у подростков // Российский журнал кожных и венерических болезней. - 2004. № 1. - С. 55-57.
19. Иванов А.Г. Медико-социальные подходы к совершенствованию репродуктивного потенциала современной молодежи // Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова. - 2004. № 3-4. - С. 105-107.

Жигулина Вероника Валентиновна (контактное лицо) – jerlan-1991-2006@list.ru.