

УДК: 616.697:616.69-008.8

А.В. Сафроненко, Л.В. Сутурина

## ОСОБЕННОСТИ ЭЛЕМЕНТНОГО СТАТУСА МУЖЧИН С ПАТОСПЕРМИЕЙ

ГУ Научный центр медицинской экологии ВСНЦ СО РАМН, г.Иркутск (директор - член-корреспондент РАМН, доктор медицинских наук, профессор Л.И. Колесникова)

Проблема бесплодных браков остается одной из самых актуальных в медицине. По данным ГУ Научного Центра акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН (Москва) частота бесплодных браков в российской популяции достигла критической отметки - 15 %, частота женского бесплодия выросла на 43 %, при этом одной из причин бесплодия в 36-60 % случаев является нарушение репродуктивной функции мужчин (Алипов В.И. и соавт., 2004., Кулаков В.И., 2005., Kunzle R. 2004., Van der Westerlaken L. et al., 2005). Демографическая ситуация в Сибири также характеризуется негативными тенденциями, что, наряду с прочими факторами, определяется растущей частотой бесплодия, в том числе и мужского, в браке (Филиппов О.С., 1999).

Известно много этиологических факторов, приводящих к инфертильности у мужчин (Тиктинский О.Л. и соавт., 1999, Gianotten J. et al, 2003). Интерес к изучению биоэлементного статуса при различных нарушениях репродуктивного здоровья в Восточной Сибири определяется, с одной стороны, природными геохимическими особенностями, например, существованием йод-дефицита, что существенно влияет на состояние эндокринной системы. В то же время в регионе известны и некоторые природные аномалии с избыточным содержанием ряда элементов, которые могут оказывать воздействие на состояние репродуктивной системы и организма в целом. Таким образом, требуют оценки не только гормонально-метаболические расстройства, но и роль нарушений элементного статуса при расстройствах репродуктивной функции мужчин.

**Цель работы:** установить характер нарушений элементного статуса у мужчин с патоспермией из бесплодных супружеских пар.

**Материал и методы исследования.** Работа выполнена на базе "ГУ Восточно-Сибирский научный центр медицинской экологии Сибирского отделения Российской академии медицинских наук" (директор - член-корреспондент РАМН, доктор медицинских наук, профессор Колесникова Л.И.). На первом этапе был проведен анализ результатов обследования 320 мужчин репродуктивного возраста из бесплодных семейных пар, обратившихся в ГУ НЦ МЭ ВСНЦ СО

РАМН. Далее была сформирована основная группа пациентов, которая составила 30 человек. В нее вошли мужчины фертильного возраста из бесплодных супружеских пар с установленной патоспермией. Обязательным условием включения в основную группу явилось наличие достоверных отклонений показателей эякулята от стандартов ВОЗ (1999). Критериями исключения были - наличие беременности у партнерши в анамнезе и тяжелая соматическая патология. Параллельно была сформирована группа контроля численностью 30 человек, в нее вошли мужчины с реализованной репродуктивной функцией и, нормальными показателями подвижности сперматозоидов, подобранные по принципу "копия-пара". Критериями исключения из группы контроля были: ожирение, тяжелая соматическая патология, достоверные отклонения показателей эякулята от стандартов ВОЗ. Незначительное снижение количества сперматозоидов в 1 мл спермы, наблюдаемое у 3,3 % фертильных мужчин не было критерием для исключения. В исследуемых группах проводилось общеклиническое обследование, инструментальные и лабораторные методы исследования (согласно руководству ВОЗ по стандартизированному обследованию и диагностике бесплодных супружеских пар, 1993 г.) и обязательная консультация врача-androлога и смежных специалистов по показаниям.

Эпидемиологические методы исследования включали: анкетирование, анализ медицинской документации. Методы стандартного клинического обследования пациентов из бесплодных супружеских пар и мужчин из группы контроля включали: сбор анамнеза, общеклиническое обследование: осмотр и пальпация наружных половых органов, макро- и микроскопическое исследование эякулята, ультразвуковое исследование яичек и их придатков, анализ сока предстательной железы (по показаниям), бактериологическое исследование эякулята (по показаниям), прямую иммунофлюоресценцию (ПИФ) и полимерная цепная реакция (ПЦР) с целью обнаружения хламидий, уреаплазм, микоплазм, трихомонад, генитального герпеса).

**Методика определения элементного состава спермы.** В соответствии с методикой определения элементного состава в сперме (Зейлер Г., 1993; Х.И. Зильберштейна, 1971; Subramanian KS, Iyengar GV, Okamoto K., 2003) отбор образцов проводился строго в объеме 1 мл с последующим хранением при температуре -5° С. Непосредственно перед пробоподготовкой каждый образец замороженной спермы опускался в горячую воду при температуре +80° С на 1 минуту, затем

Таблица 1.

Содержание эссенциальных элементов в лобковых волосах и сперме у мужчин с патоспермией и в группе контроля ( $M \pm m$ )

Эссенциальные элементы	Субстрат: лобковые волосы, мг/кг сперма, мкг/л	Группа контроля, (n=24)	Группа мужчин с патоспермией, (n=23)
Fe	лобковые волосы	18,78 ± 0,79	17,49 ± 0,95
	Сперма	8,63 ± 0,4	7,1 ± 0,49*
I	лобковые волосы	13,09 ± 6,77	2,08 ± 0,19*, **, ***
	Сперма	9,27 ± 5,79	1,4 ± 0,12*, **, ***
Cu	лобковые волосы	17,3 ± 0,92	18,93 ± 0,75
	Сперма	6,86 ± 0,52	5,25 ± 0,64
Zn	лобковые волосы	161,7 ± 8,6	150,19 ± 9,38
	Сперма	17,48 ± 1,14	16,97 ± 1,0
Co	лобковые волосы	0,01 ± 0,0033	0,014 ± 0,0018
	Сперма	0,01 ± 0,0009	0,009 ± 0,0008*, **, ***
Cr	лобковые волосы	0,55 ± 0,057	0,53 ± 0,0409
	Сперма	0,31 ± 0,04	0,54 ± 0,04**, ***
Mo	лобковые волосы	0,03 ± 0,0142	0,016 ± 0,001
	Сперма	0,01 ± 0,0028	0,002 ± 0,0005*, **, ***
Se	лобковые волосы	0,67 ± 0,047	0,489 ± 0,031*, **, ***
	Сперма	0,44 ± 0,043	0,056 ± 0,011
Mn	лобковые волосы	0,67 ± 0,047	0,489 ± 0,031
	Сперма	0,39 ± 0,045	0,46 ± 0,05

Примечание -\* - статистически значимые различия по ранговому критерию Wald-Wolfowitz;

-\*\*- статистически значимые различия по ранговому критерию Колмогорова-Смирнова;

-\*\*\*- статистически значимые различия по ранговому критерию Манна-Уитни.

переносился в тefлоновый автоклав, где к нему добавляли 3 мл очищенной ОСЧ  $\text{HNO}_3$  и 1 мл 6%  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Затем автоклав помещался в микроволновую систему пробоподготовки MD-2000 фирмы СЕМ (США) обеспечивающую высокое давление и температуру кипения  $\text{HNO}_3$ . После охлаждения образца в течение 10 мин. в автоклав добавляли 1 мл  $\text{H}_2\text{O}_2$  (24%) (ОСЧ) и продолжали процесс разложения. После охлаждения полученных растворов в течение 60 минут, от них были отбирали по 1 мл в пластиковые сосуды и разбавляли в 5 раз бидистиллированной и деионизированной водой. Для контроля чистоты анализа отдельно был приготовлен раствор "холостой пробы" с содержанием  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  в пропорциях, идентичных содержанию этих реагентов в исследуемых образцах.

Описанная выше методика пробоподготовки с использованием СВ4 нагрева в тefлоновых "бомбах" позволяет проводить быстрое "вскрытие" биопробы, избежать потерь летучих элементов (As, Se и т.д.), с высокой эффективностью разложить биологическую матрицу, влияющую на результаты анализа.

В качестве внутреннего стандарта в растворы вводили индий в концентрации 25 мкг/л. Калибровочные растворы были приготовлены из

стандартных растворов фирмы VTRC с известным содержанием в диапазоне от 5-1000 мг/л (10-7 %). Полученные растворы анализировались на масс-спектрометре с ионизацией в индуктивно-связанной плазме "VG Plasma Quad PQ2 Turbo" (Англия), рабочая мощность СВЧ генератора 1,3 кВтб, расход плазмообразующего газа (аргон) 14 л/мин, расход транспортирующего газа 0,89 мл/мин, для определения щелочных металлов расход 1,05 мл/мин. Проводилось 3 экспозиции каждого образца, время интегрирования сигнала - 60 сек. Результаты анализа "холостой пробы" автоматически вычитались в анализе. Единицы измерения: мкг/л.

**Методика определения элементного состава лобковых волос.** Для анализа микроэлементного состава лобковых волос использовался масс-спектрометрический метод с ионизацией в индукционно-связанной плазме (ИСП-МС). Диапазон измерения концентраций микроэлементов при использовании данного метода составляет 10-6/10<sup>2</sup> мг/л. Данный метод предполагает проведение озоления на стадии пробоподготовки и перевод пробы в жидкое состояние. Для этого применяются муфельные печи или специализированные автоклавы, в которых совмещаются все этапы пробоподготовки. Наиболее современным

Таблица 2.

Содержание условно-эссенциальных элементов в лобковых волосах и сперме у мужчин с патоспермией и в группе контроля ( $M \pm m$ )

Условно-эссенциальные элементы	Субстрат: Лобковые волосы, мг/кг, сперма, мкг/л	Группа контроля, (n=24)	Группа мужчин с патоспермией, (n=23)
As	лобковые волосы	0,01 ± 0,0011	0,003 ± 0,0007*, **, ***
	сперма	0,01 ± 0,0024	0,001 ± 0,0002*, **, ***
B	лобковые волосы	8,85 ± 0,52	4,97 ± 0,6008*, **, ***
	сперма	4,23 ± 0,42	3,15 ± 0,34
Br	лобковые волосы	2,63 ± 0,25	3,88 ± 0,56
	сперма	0,37 ± 0,07	0,23 ± 0,03
Li	лобковые волосы	0,02 ± 0,001	0,015 ± 0,0007**, ***
	сперма	0,15 ± 0,03	0,12 ± 0,008
Ni	лобковые волосы	0,01 ± 0,001	0,013 ± 0,0012
	сперма	4,21 ± 4,21	0,01 ± 0,001**, ***
V	лобковые волосы	0,01 ± 0,0009	0,012 ± 0,001
	сперма	0,01 ± 0,001	0,02 ± 0,007*, **, ***
Si	лобковые волосы	18,77 ± 1,07	18,11 ± 0,79
	сперма	8,96 ± 0,64	7,3 ± 0,25**, ***

Примечание -\* - статистически значимые различия по ранговому критерию Wald-Wolfowitz;

-\*\*- статистически значимые различия по ранговому критерию Колмогорова-Смирнова;

-\*\*\*- статистически значимые различия по ранговому критерию Манна-Уитни.

методом пробоподготовки является пробоподготовка в пластиковых автоклавах с нагревом в СВЧ-печах. Для анализа методом ИСП-МС использовалось следующее оборудование: Perkin-Elmer, США (серии Elan).

В исследовании использовались вычислительные процедуры методов математической статистики, реализованные в интегрированном статистическом пакете комплексной обработки данных STATISTICA 6.1 StatSoft Inc. (США) (серийный номер AXXR802D920125FA, правообладатель лицензии - ГУ НЦ МЭ ВСНЦ СО РАМН).

**Результаты исследования.** При исследовании эякулята 320 мужчин из бесплодных супружеских пар: у 42,2% мужчин выявлена нормоспермия, у 19% - астенозооспермия, у 14% - олигозооспермия, у 11% - тератозооспермия и у 5% - аспермия. Таким образом, патоспермия обнаружена у 57,8 % мужчин из бесплодных супружеских пар.

Далее проводилось углубленное обследование 30 мужчин с патоспермией, которые составили основную группу. Средний возраст мужчин, вошедших в основную группу, составил  $30 \pm 4,6$  лет. Средняя продолжительность бесплодия в браке при регулярной половой жизни без контрацепции в этой группе составила 4,3 года (от 1 года до 10 лет). Параллельно была сформирована группа контроля численностью 30 человек, в нее вошли мужчины, средний возраст которых составил  $28,0 \pm 4,3$  лет, подобранных по принципу "ко-

пия-пара" с реализованной репродуктивной функцией (возраст детей в этой группе составил от 1 года до 3 лет) и нормальными показателями спермограммы. По средним значениям массы тела и роста группы были сопоставимы:  $78,4 \pm 2,6$  кг,  $175,0 \pm 4,1$  см и  $81,3 \pm 2,5$  кг,  $176,0 \pm 3,4$  см соответственно. Таким образом, основным группообразующим признаком явились данные спермограммы.

Для анализа отличий элементного состава у мужчин с патоспермией и группы контроля была проведена оценка нормальности распределения и определены методы для анализа показателей. Характер распределения всех изученных показателей в группе мужчин с патоспермией и в контроле расценен как ненормальный и поэтому применялись непараметрические ранговые критерии: U-критерий Манна-Уитни, Wald-Wolfowitz, Колмогорова-Смирнова.

Содержание эссенциальных элементов в лобковых волосах и сперме у мужчин с патоспермией и в группе контроля представлены в таблице 1.

Как следует из полученных результатов, определены значимо более низкие уровни йода и селена в лобковых волосах у мужчин с патоспермией по сравнению с обследуемыми фертильными мужчинами. Также выявлены более низкие уровни железа, йода и более высокие - кобальта и молибдена в сперме у мужчин с патоспермией, по сравнению с группой фертильных мужчин, а

Таблица 3.

Содержание токсичных элементов в лобковых волосах и сперме у мужчин с патоспермией и в группе контроля ( $M \pm m$ )

Токсичные элементы	Субстрат: лобковые волосы, мг/кг сперма, мкг/л	Группа контроля, (n=24) (p<0,05)	Группа мужчин с патоспермией, (n=23) (p<0,05)
Al	лобковые волосы	19,9 ± 1,4	19,9 ± 0,84
	сперма	17,43 ± 4,03	4,4 ± 0,19 <sup>*, **, ***</sup>
Cd	лобковые волосы	0,004 ± 0,0009	0,001 ± 0,0005 <sup>*, **, ***</sup>
	сперма	0,01 ± 0,0006	0,0004 ± 0,0001 <sup>*, **, ***</sup>
Pb	лобковые волосы	1,63 ± 0,05	1,23 ± 0,054 <sup>*, **, ***</sup>
	сперма	1,59 ± 0,05	1,082 ± 0,0514 <sup>*, **, ***</sup>
Hg	лобковые волосы	0,003 ± 0,0007	0,003 ± 0,0019
	сперма	0,003 ± 0,0007	0,006 ± 0,0001 <sup>*, **, ***</sup>
Be	лобковые волосы	0,0008 ± 0,00004	0,00002 ± 0,000002
	сперма	0,0026 ± 0,0005	0,005 ± 0,0005 <sup>*, **, ***</sup>
Ba	лобковые волосы	2,48 ± 0,3	3,44 ± 0,47 <sup>**</sup>
	сперма	0,4 ± 0,05	0,59 ± 0,058 <sup>*, **, ***</sup>
Tl	лобковые волосы	0,002 ± 0,0006	0,001 ± 0,0006 <sup>*, **, ***</sup>
	сперма	0,01 ± 0,0024	0,00008 ± 0,00002 <sup>*, **, ***</sup>

Примечание -\* - статистически значимые различия по ранговому критерию Wald-Wolfowitz;

-\*\*- статистически значимые различия по ранговому критерию Колмогорова-Смирнова;

-\*\*\* - статистически значимые различия по ранговому критерию Манна-Уитни.

уровень хрома в сперме оказался значимо выше у мужчин с патоспермией, чем у фертильных мужчин.

Содержание условно-эссенциальных элементов в лобковых волосах и сперме у мужчин с патоспермией и в группе контроля представлены в таблице 2.

При исследовании условно-эссенциальных элементов определены достоверно более низкие уровни мышьяка, бора и лития в лобковых волосах у мужчин с патоспермией по сравнению с обследуемыми фертильными мужчинами. Так же установлены значимо более низкие уровни мышьяка, никеля и кремния в сперме у мужчин с патоспермией, по сравнению с группой фертильных мужчин, при этом уровень ванадия в сперме оказалась значимо выше у мужчин с патоспермией, чем у фертильных мужчин.

Содержание токсичных элементов в лобковых волосах и сперме у мужчин с патоспермией и в группе контроля представлены в таблице 3.

Как видно из таблицы, у мужчин с патоспермией по сравнению с обследуемыми фертильными мужчинами выявлена более высокая концентрация бария в лобковых волосах. Так же в группе с патоспермией установлены значимо более высокие уровни в сперме ртути, бериллия и бария.

Таким образом, элементный состав исследованных биосубстратов пациентов с патоспермией характеризуется значимым снижением содержания I, Se, As, и В в волосах, а также - умень-

шением содержания Fe, I, As, Ni, в сперме в сравнении со значениями в группе контроля и повышением содержания ряда токсических элементов: Ва в волосах, а также - Ва и Hg в сперме. Полученные результаты позволяют обосновать в диагностическом алгоритме у мужчин с патоспермией исследование в данных биосубстратах содержания наиболее значимых эссенциальных, условно-эссенциальных и токсических элементов.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Алипов В.И., Корхов В.В. Алкоголизм и материнство. - Л.: Знание, 2004.
- Кулаков В.И. Бесплодный брак. Руководство для врачей. - М.: ГОЭТАР-Медиа, 2005. - 616 с.
- Тиктинский О.Л., Михайличенко В.В. Андрология. - СПб.: Медиа Пресс, 1999. - 444 с.
- Филиппов О. С. Бесплодный брак в Западной Сибири / Автореф. дисс. докт. мед. наук. М., 1999. с. 34.
- Gianotten J. et al, 2003, Gianotten J, Westerveld GH, Leschot NJ, Tanck MWT, Lilford RJ, Lombardi MP, Van der Veen F. Familial clustering of impaired spermatogenesis: no evidence for a common genetic inheritance pattern. Human Reproduction. 2004;19: 71-76.
- Kunzle R. Semen quality of male smokers and nonsmokers in men Fertil Steril 2004;81:384-392. 19
- Van der Westerlaken L, Witsenburg C, Dieben S. Cumulative live birth rates in cohorts of patients treated with in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection. Fertil Steril 2005;84:99-107.