

Влияние препарата Простатилен® АЦ на фрагментацию ДНК сперматозоидов при лечении пациентов с хроническим абактериальным простатитом и сопутствующими нарушениями репродуктивной функции

С.Ю. Боровец, М.А. Рыбалов, А.Г. Горбачев, С.Х. Аль-Шукри

Кафедра урологии с курсом урологии с клиникой ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Минздрава России; Россия, 197022 Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, 17, корп. 54

Контакты: Сергей Юрьевич Боровец sborovets@mail.ru

Цель исследования: оценить влияние Простатилена® АЦ на степень фрагментации ДНК сперматозоидов при лечении больных хроническим абактериальным простатитом с сопутствующими нарушениями репродуктивной функции.

Материалы и методы. В основу исследования положены результаты лечения 25 мужчин в возрасте от 24 до 45 лет (в среднем $35,3 \pm 4,4$ года) с верифицированным диагнозом «хронический абактериальный простатит», обратившихся с жалобами на задержку на ранних сроках беременность у супруги (половой партнерши). Все пациенты получали Простатилен® АЦ ежедневно в виде ректальных свечей. Курс лечения составил 10 дней с проведением повторного курса через 20 дней. Всем больным до лечения и через 20 дней после него определяли значения показателей спермограммы (ВОЗ, 2010, 5-е изд.), MAR (mixed antiglobulin reaction)-теста с нормативным значением 10 % и менее, а также степень фрагментации ДНК в сперматозоидах методом SCSA (sperm chromatin structure assay) на аппарате FACSCantoll с использованием моноклональных антител (фирма Roche, Германия). Нормативным значением степени фрагментации ДНК в сперматозоидах считали 15 % и менее (низкий риск нарушений фертильности). Анализ полученных данных проводили с использованием программы IBM Statistics SPSS.

Результаты. До лечения патологическую степень фрагментации ДНК в сперматозоидах диагностировали у 6 (43 %) из 14 пациентов при нормозооспермии и у 7 (63 %) из 11 при патозооспермии ($\chi^2 = 1,06$; $p < 0,3$). Таким образом, частота встречаемости повышенной степени фрагментации ДНК в сперматозоидах достоверно не отличалась у пациентов с нормо- и патозооспермией. Также выявили корреляцию между степенью фрагментации ДНК в сперматозоидах и значением MAR-теста до лечения ($r = 0,8$; $p < 0,05$), значения которого составили 0–99 % (в среднем $16,48 \pm 31,64$ %). При этом повышенное значение степени фрагментации ДНК в сперматозоидах отмечали у 7 (53 %) из 13 больных при патологическом MAR-тесте и у 2 (40 %) из 5 при нормальном ($\chi^2 = 0,67$; $p < 0,01$). Значение степени фрагментации ДНК в сперматозоидах до лечения составило 1–55 % (в среднем $18,99 \pm 6,87$ %), а после лечения – 1–26 % (в среднем $9,76 \pm 4,32$ %). Повышение степени фрагментации ДНК в сперматозоидах имело место у 13 (52 %) из 25 больных до лечения Простатиленом® АЦ и только у 3 (12 %) из них после лечения ($\chi^2 = 0,86$; $p < 0,001$).

Заключение. Простатилен® АЦ при лечении больных хроническим абактериальным простатитом способствует снижению степени фрагментации ДНК в сперматозоидах.

Ключевые слова: Простатилен® АЦ, простатит, бесплодие, фрагментация ДНК

DOI: 10.17650/2070-9781-2017-18-3-54-58

Effect of Prostatilen® AC on sperm DNA fragmentation during treatment of patients with chronic nonbacterial prostatitis and concomitant disorders of the reproductive function

S. Yu. Borovets, M.A. Rybalov, A.G. Gorbachev, S. Kh. Al-Shukri

Department of Urology with Course of Urology with Clinic, I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Ministry of Health of Russia; 17 (build. 54) L. Tolstoy St., Saint Petersburg 197022, Russia

The study objective is to analyze the effect of Prostatilen® AC on sperm DNA fragmentation during treatment of patients with chronic nonbacterial prostatitis and concomitant disorders of the reproductive function.

Materials and methods. The study is based on the results of treatment of 25 men aged 24 to 45 years (mean age 35.3 ± 4.4 years) with a verified diagnosis of chronic nonbacterial prostatitis and complaints of early-stage missed miscarriage in a spouse/sexual partner. All patients received Prostatilen® AC daily in rectal suppositories formulation. The duration of treatment was 10 days with retreatment after 20 days. In all patients before treatment and 20 days after it, spermogram parameters (5th ed., WHO, 2010) and sperm DNA fragmentation level using SCSA (sperm chromatin structure assay) by FACSCantoll with monoclonal antibodies (Roche, Germany) were determined, and all patients underwent the MAR (mixed antiglobulin reaction) test with normal value considered to be 10 % or less. The normal value of

sperm DNA fragmentation was considered to be 15 % or less (low risk of fertility impairment). The analysis of the obtained data was carried out using the IBM SPSS Statistics program 22.

Results. Before the treatment, pathologic level of sperm DNA fragmentation was observed in 6 (43 %) of 14 patients with normozoospermia and in 7 (63 %) of 11 patients with pathozoospermia ($\chi^2 = 1.06$; $p < 0.3$). Thus, there weren't any significant difference between the rates of occurrence of increased sperm DNA fragmentation in patients with normo- and pathozoospermia. A correlation was found between the level of sperm DNA fragmentation and the results of MAR test before treatment ($r = 0.8$, $p < 0.05$), which varied between 0 and 99 % (mean 16.48 ± 31.64 %). Meanwhile, increased sperm DNA fragmentation was observed in 7 (53 %) of 13 patients with pathological MAR test results, and in 2 (40 %) of 5 patients with normal MAR test results ($\chi^2 = 0.67$; $p < 0.01$). The level of sperm DNA fragmentation prior to treatment varied between 1 and 55 % (mean 18.99 ± 6.87 %), and after treatment it varied between 1 and 26 % (mean 9.76 ± 4.32 %). Increased level of sperm DNA fragmentation was observed in 13 (52 %) of 25 patients before treatment with Prostatilen® AC and only in 3 (12 %) patients after the treatment ($\chi^2 = 0.86$; $p < 0.001$).

Conclusion. Prostatilen® AC as treatment of chronic nonbacterial prostatitis promotes a decrease in the level of sperm DNA fragmentation.

Key words: Prostatilen® AC, prostatitis, infertility, DNA fragmentation

Введение

Препарат Простатилен® известен как самостоятельное средство патогенетической монотерапии больных хроническим абактериальным простатитом. Его эффективность обусловлена способностью улучшать микроциркуляцию в предстательной железе за счет антиагрегантного, антикоагулянтного, фибринолитического, тромборезистентного и иммуномодулирующего действия (вследствие стимуляции синтеза антител к гистамину и серотонину, снижения циркулирующих иммунных комплексов в плазме крови и активации фагоцитарной активности), а также благодаря противоотечному действию из-за снижения чувствительности тканей предстательной железы к медиаторам воспаления [1–3]. Препарат Простатилен® АЦ (суппозитории ректальные) разработан на основе ранее зарегистрированного препарата Простатилен® (суппозитории ректальные, 30 мг, РУ ЛС-000925 от 31.05.2010) и отличается введением в композицию субстанции L-аргинина (100 мг) и цинка (23 мг) в виде хелатного соединения цинка аргинил глицината (180 мг).

Нарушение целостности ДНК сперматозоидов снижает их оплодотворяющую способность и является одной из основных причин, приводящих к остановке развития и элиминации эмбриона на ранних этапах эмбриогенеза [4, 5]. Причиной отсутствия беременности в 20 % случаев мужского идиопатического бесплодия является нарушение целостности ДНК сперматозоидов [6].

По последним данным, в 1/4 случаев замершая беременность на ранних сроках у супруги/половой партнерши возникает по причине повышения фрагментации ДНК сперматозоидов, т. е. она обусловлена мужским фактором [7]. В целом более высокая степень фрагментации ДНК сперматозоидов приводит к снижению уровня рождаемости у семейных пар, получающих помощь по программам вспомогательных репродуктивных технологий [8]. Однако определение степени фрагментации ДНК в сперматозоидах не входит в перечень рутинных методов обследования мужчин на фертильность, в связи с чем это исследование

выполняют редко, особенно при нормальных показателях спермограммы и MAR (mixed antiglobulin reaction)-теста [9].

Цель исследования: оценить влияние Простатилена® АЦ на степень фрагментации ДНК сперматозоидов при лечении больных хроническим абактериальным простатитом с сопутствующими нарушениями репродуктивной функции.

Материалы и методы

В основу исследования, проведенного на кафедре урологии с курсом урологии с клиникой ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Минздрава России (Санкт-Петербург), положены результаты лечения в 2016–2017 гг. 25 мужчин в возрасте от 24 до 45 лет (в среднем $35,3 \pm 4,4$ года) с верифицированным диагнозом «хронический абактериальный простатит», обратившихся с жалобами на замершую на ранних сроках беременность у супруги / половой партнерши. Все пациенты получали Простатилен® АЦ ежедневно в виде ректальных свечей. Курс лечения составил 10 дней с проведением повторного курса через 20 дней. Всем больным до лечения и через 20 дней после него определяли значения показателей спермограммы, MAR-теста и степень фрагментации ДНК в сперматозоидах методом SCSA (sperm chromatin structure assay) на аппарате FACSCantoll (фирма Roche, Германия) с использованием моноклональных антител. Нормативным значением степени фрагментации ДНК в сперматозоидах считали 15 % и менее (низкий риск нарушений фертильности). Данные спермограммы оценивали согласно классификации ВОЗ (2010, 5-е изд.) [10], нормативным значением MAR-теста считали 10 % и менее [11]. Проводили статистический сравнительный анализ полученных данных с использованием программы IBM SPSS Statistics 22.

Для математического анализа данных использовали программу Microsoft Excel 2013. С целью проверки достоверности различий между выборками применяли

вычисление критерия Стьюдента (t-тест для парных и независимых выборок с нормальным распределением), а также критериев Уилкоксона и Манна–Уитни (W для парных и U для независимых выборок с распределением, отличающимся от нормального), при сравнении частотных величин – χ^2 -критерий Пирсона.

Коэффициент ранговой корреляции Спирмена применялся для исследования корреляционной взаимосвязи между двумя ранговыми переменными. Нормальность распределения в выборках оценивали по z-критерию Колмогорова–Смирнова. Применяемый порог значимости принимался равным 95 %. Уровень достижения нулевой статистической гипотезы $p \geq 0,05$.

Результаты

До лечения патологическую степень фрагментации ДНК в сперматозоидах диагностировали у 6 (43 %)

из 14 пациентов при нормозооспермии и у 7 (63 %) из 11 при патозооспермии ($\chi^2 = 1,06$; $p < 0,3$) (табл. 1). Таким образом, частоту встречаемости повышенной степени фрагментации ДНК в сперматозоидах выявляли как при нормо-, так и при патозооспермии.

Была определена корреляция между степенью фрагментации ДНК в сперматозоидах и показателем MAR-теста до лечения ($r = 0,8$; $p < 0,05$), значение которого составило 0–99 % (в среднем $16,48 \pm 31,64$ %). При этом повышенное значение степени фрагментации ДНК в сперматозоидах отмечали у 7 (53 %) из 13 больных при патологическом MAR-тесте и у 2 (40 %) из 5 при нормальном MAR-тесте ($\chi^2 = 0,67$; $p < 0,01$) (табл. 2).

Значение степени фрагментации ДНК в сперматозоидах до лечения варьировало от 1 до 55 % (в среднем $18,99 \pm 6,87$ %), а после лечения – от 1 до 26 % (в среднем $9,76 \pm 4,32$ %). Повышение степени фрагментации

Таблица 1. Степень фрагментации ДНК в сперматозоидах при нормо- и патозооспермии
Table 1. Level of sperm DNA fragmentation in normo- and pathozoospermia

Фрагментация ДНК сперматозоидов Sperm DNA fragmentation	Число больных, абс. (%) Number of patients, abs. (%)		χ^2	p
	Нормозооспермия, n = 14 Normozoospermia, n = 14	Патозооспермия, n = 11 Pathozoospermia, n = 11		
Выше порогового значения (> 15 %) Above the threshold level (> 15 %)	6 (43)	7 (63)	1,06	<0,037

Примечание. В табл. 1–3: χ^2 – хи-критерий Пирсона, p – коэффициент ранговой корреляции Спирмена.
Note. In Tables 1–3: χ^2 stands for Pearson's chi-squared test, p – Spearman's rank correlation criterion.

Таблица 2. Степень фрагментации ДНК в сперматозоидах и показатели MAR-теста до лечения
Table 2. Level of sperm DNA fragmentation and MAR test values before treatment

Фрагментация ДНК сперматозоидов Sperm DNA fragmentation	Число больных, абс. (%) Number of patients, abs. (%)		χ^2	p
	MAR-тест(+), n = 13 MAR test (+), n = 13	MAR-тест (норм), n = 5 MAR test (norm), n = 5		
Выше порогового значения (> 15 %) Above the threshold level (> 15 %)	7 (53)	2 (40)	0,67	<0,01

Таблица 3. Динамика показателей степени фрагментации ДНК в сперматозоидах до и после лечения Простатиленом® АЦ
Table 3. Dynamics of sperm DNA fragmentation before and after treatment with Prostatilen® AC

Фрагментация ДНК сперматозоидов Sperm DNA fragmentation	Число больных, n = 25 Number of patients, n = 25		χ^2	p
	до лечения before treatment	после лечения after treatment		
Min–max, % (M ± m)	1–55 (18,99 ± 6,87)	1–26 (9,76 ± 4,32)	–	<0,005
Выше порогового значения (> 15 %) Above the threshold level (> 15 %)	13 (52)	3 (12)	0,86	<0,001

ДНК в сперматозоидах имелось у 13 (52 %) из 25 больных до лечения Простатиленом® АЦ и только у 3 (12 %) из 25 после лечения ($\chi^2 = 0,86; p < 0,001$) (табл. 3).

Обсуждение

В результате проведенного исследования было установлено, что препарат Простатилен® АЦ (суппозитории ректальные, 30 мг + 180 мг) способствует снижению степени фрагментации ДНК в сперматозоидах у больных хроническим абактериальным простатитом и сопутствующими нарушениями репродуктивной функции. При этом препарат Простатилен® (суппозитории ректальные, 30 мг) подобной активностью не обладает. К доступным методам коррекции повышенной степени фрагментации ДНК в сперматозоидах относят антиоксидантную терапию, лечение варикоцеле и воспалительных заболеваний мужских половых органов, минимизацию токсических воздействий, в том числе отказ от курения и приема алкоголя.

По результатам нашего исследования выявлена зависимость показателя степени фрагментации ДНК в сперматозоидах от величины MAR-теста до лечения: повышенную фрагментацию чаще выявляют при повышенных значениях MAR-теста. Полученные нами данные совпадают с опубликованными: результатами мультицентровых исследований было доказано, что уровень

антиспермальных антител в эякуляте выше в группе мужчин с патологической степенью фрагментации ДНК в сперматозоидах [12].

Результаты нашего исследования также продемонстрировали, что повышение степени фрагментации ДНК в сперматозоидах возможно как при пато-, так и при нормозооспермии, что говорит о необходимости проведения данного исследования всем мужчинам, проходящим обследование на фертильность.

Использование Простатилена® АЦ позволяет снизить степень фрагментации ДНК в сперматозоидах и улучшить показатели спермограммы у большинства мужчин, страдающих хроническим абактериальным простатитом, что способствует естественному зачатию. Простатилен® АЦ также может быть рекомендован при подготовке к процедуре экстракорпорального оплодотворения/интрацитоплазматической инъекции сперматозоида.

Заключение

Простатилен® АЦ при лечении больных хроническим абактериальным простатитом способствует улучшению фертильных свойств эякулята, нормализации фрагментации ДНК в сперматозоидах и может быть рекомендован для подготовки к процедурам вспомогательных репродуктивных технологий.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Аль-Шукри С.Х., Бобков Ю.А., Горбачев А.Г. и др. Наш опыт применения простатилена в урологии. Урология 2003;6:32–6. [Al-Shukri S.Kh., Bobkov Yu.A., Gorbachev A.G. et al. Use of prostatilen in urology. Urologiya = Urology 2003;6:32–6. (In Russ.)].
2. Горбачев А.Г., Кузьмин И.В., Аль-Шукри А.С., Боровец С.Ю. Биорегулирующая терапия Простатиленом при воспалительных болезнях органов мочевой системы. СПб.: Изд-е СПбГМУ, 2015. [Gorbachev A.G., Kuzmin I.V., Al-Shukri A.S., Borovets S.Yu. Bioregulating therapy with Prostatilen of inflammatory diseases of the urinary system. Saint Petersburg: Izdaniye SPbGMU, 2015. (In Russ.)].
3. Боровец С.Ю., Горбачев А.Г., Аль-Шукри С.Х., Рыбалов М.А. К патогенетическому обоснованию курсового лечения пептидными биорегуляторами больных с доброкачественной гиперплазией предстательной железы. Нефрология 2015;19(4):108–11. [Borovets S.Yu., Gorbachev A.G., Al-Shukri S.Kh., Rybalov M.A. To pathogenetic substantiation of peptide bioregulators treatment courses in patients with benign prostatic hyperplasia. Nefrologiya = Nephrology 2015;19(4):108–11. (In Russ.)].
4. Muratori M., Marchiani S., Maggi M. et al. Origin and biological significance of DNA fragmentation in human spermatozoa. Front Biosci 2006;11:1491–9. PMID: 16368531.
5. Lewis S.E., Agbaje I., Alvarez J. Sperm DNA tests as useful adjuncts to semen analysis. Syst Biol Reprod Med 2008;54(3):111–25. DOI: 10.1080/19396360801957739. PMID: 18570047.
6. Sperm DNA Fragmentation. The role of the Urologist/Male Infertility. SCSA Diagnostic Business Briefing, 2005.
7. Боровец С.Ю., Аль-Шукри С.Х., Осетник В.К. Зависит ли степень фрагментации ДНК сперматозоидов от показателей спермограммы и MAR-теста? Урологические ведомости 2017;7(Спецвыпуск): 18–9. [Borovets S.Yu., Al-Shukri S.Kh., Osetnik V.K. Does the level of sperm DNA fragmentation depend on spermogram values and MAR test? Urologicheskiye vedomosti = Urological Bulletin 2017;7(Special issue):18–9. (In Russ.)].
8. Osman A., Alsomait H., Seshadri S. et al. The effect of sperm DNA fragmentation on live birth rate after IVF or ICSI: a systematic review and meta-analysis. Reprod Biomed Online 2015;30(2):120–7. DOI: 10.1016/j.rbmo.2014.10.018. PMID: 25530036.
9. Lewis S.E. Should sperm DNA fragmentation testing be included in the male in-



- fertility work-up? *Reprod Biomed Online* 2015;31(2):134–7. DOI: 10.1016/j.rbmo.2015.05.006. PMID: 26096033.
10. Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека. ВОЗ. 5-е изд. Пер. с англ. Н.П. Макарова. М.: Капитал принт, 2012. [WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. Translation from English by N.P. Makarov. 5th edition. Moscow: Kapital Print, 2012. (In Russ.)].
 11. Руководство ВОЗ по стандартному обследованию и диагностике супружеских пар. М.: МедПресс, 1997. [WHO guidelines on standard examination and diagnosis of married couples. Moscow: MedPress, 1997. (In Russ.)].
 12. Bozhedomov V.A., Nikolaeva M.A., Ushakova I.V. et al. Functional deficit of sperm and fertility impairment in men with antisperm antibodies. *J Reprod Immunol* 2015;112:95–101. DOI: 10.1016/j.jri.2015.08.002.