

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

УДК 612.616.2:616-008.66
© Коллектив авторов, 2023

Э.Ф. Галимова¹, Ю.Ю. Громенко², К.Ш. Галимов³,
И.Д. Громенко¹, П.Ф. Литвицкий³, Ш.Н. Галимов¹

РОЛЬ И МЕСТО НИКОТИНАМИДНЫХ КОФЕРМЕНТОВ В ДИАГНОСТИКЕ БЕСПЛОДИЯ

¹ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»,
Минздрава России г. Уфа

²Медицинский центр «Семья», г. Уфа

³ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский
университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России, г. Москва

Цель – изучить роль никотинамидных коферментов (НАД⁺) в возникновении нарушений фертильности у лиц из бесплодных семейных пар.

Материал и методы. Для изучения концентрации НАД⁺ пациенты с идиопатическим бесплодием были разделены по возрастным категориям на три равные группы по 15 человек. В первую группу вошли мужчины от 20 до 30 лет, во вторую – от 31 года до 40 лет и в третью – мужчины старше 40 лет. Группу сравнения составили 26 фертильных доноров. Уровень НАД⁺ в эякуляте определяли колориметрическим методом (NAD/NADH Cell-Based Assay Kit, Cayman Chemical, США) в соответствии с инструкцией производителя.

Результаты исследования. У пациентов с бесплодием неясного генеза установлены статистически значимые изменения в виде нарастания уровня НАД⁺ в зависимости от их возраста. Была обнаружена отрицательная корреляция между концентрацией НАД⁺ в эякуляте и параметрами качества спермы, включая концентрацию, количество подвижность сперматозоидов.

Заключение. Эякулят оценивается как фертильный при значении концентрации НАД⁺ в диапазоне, равном 91-120 нмоль/л, вне зависимости от возраста пациента. Измерение уровня НАД⁺ позволяет выявить ранние нарушения окислительно-восстановительных процессов в мужских гаметах, патологию гаметогенеза и репарации ДНК.

Ключевые слова: бесплодие, эякулят, никотинамидные коферменты.

E.F. Galimova, Yu.Yu. Gromenko, K.Sh. Galimov,
I.D. Gromenko, P.F. Litvitskiy, Sh.N. Galimov

THE ROLE AND PLACE OF NICOTINAMIDE COENZYMES IN THE DIAGNOSIS OF INFERTILITY

The aim was to study the role of nicotinamide coenzymes (NAD⁺) in the occurrence of fertility disorders in patients from infertile couples.

Material and methods. To study the concentration of NAD⁺, patients with idiopathic infertility were divided by age into three equal groups of 15 men. The first group included men aged 20-30 years, the second group included men 31 to 40 years of age, and the third group included men over 40 years of age. The comparison group consisted of 26 fertile donors. The level of NAD⁺ in ejaculate was determined by colorimetric method (NAD/NADH Cell-Based Assay Kit, Cayman Chemical, USA) according to the manufacturer's instructions.

Results. In patients with infertility of unclear genesis, statistically significant changes in the form of an increase in NAD⁺ level depending on the age of the patients were established. Negative correlation between the concentration of NAD⁺ in the ejaculate and sperm quality parameters, including the concentration, sperm motility number, was found.

Conclusion. The ejaculate is assessed as fertile when the NAD⁺ concentration is in the range of 91-120 nmol/L, regardless of a patient's age. Measurement of NAD⁺ level enables to reveal early disorders of redox processes in male gametes, pathology of gametogenesis and DNA repair.

Key words: infertility, ejaculate, nicotinamide coenzymes.

В настоящее время бесплодием страдают почти 190 миллионов человек во всем мире и примерно в половине случаев причиной является партнер-мужчина [1,2]. Данные мета-регрессии за последние 40 лет указывают на необъяснимое снижение концентрации сперматозоидов при растущей распространенности мужского бесплодия. В исследовании «Global Burden of Disease», которое охватывает более 195 стран в период с 1990 по 2017 гг., выявлено, что темпы роста мужского бесплодия составляют 0,291% в год с тенденцией к росту в большинстве стран (136 из 195) [3]. Это свидетельствует о настоятельной

необходимости проведения дальнейших фундаментальных и клинических исследований в области андрологии.

Одним из таких нерешенных вопросов, который находится во внимании специалистов различного профиля, является роль и место низкомолекулярных регуляторов ключевых метаболических процессов в генезе репродуктивных нарушений [4]. Особый интерес вызывают представители семейства пиридиновых нуклеотидов (НАД⁺, НАДФ⁺), которым принадлежат две важнейшие клеточные функции: они являются как основным промежуточным звеном переноса электронов в ре-

акциях энергетического метаболизма, катализируемых оксидоредуктазами, так и коферментами и субстратами критически важных ферментов экспрессии генов и репарации ДНК – сиртуинов и поли(АДФ-рибоза)-полимераз. НАД⁺ и НАД-зависимые белки принимают участие в регуляции редокс-состояния клеточных структур, обеспечивая метаболические потоки и оптимальный энергетический баланс в сперматозоидах [5]. Никотинамидные коферменты выполняют уникальную роль в сперматогенезе и репродуктивном старении мужчин благодаря участию в контроле равновесия между делением и апоптозом зародышевых клеток, количества и качества митохондрий в гаметах, окислительной модификации ДНК, скорости ацетилирования гистонов, эпигенетического гомеостаза и состояния других жизненно важных процессов [6].

Цель нашей работы – изучить роль никотинамидных коферментов (НАД⁺) в возникновении нарушений фертильности у лиц бесплодных семейных пар.

Материал и методы

В исследование были включены 45 мужчин из бесплодных пар с идиопатическим бесплодием в возрасте от 26 до 43 лет (средний возраст – 33±4,8 года), 26 фертильных мужчин репродуктивного возраста, принимавшие участие в исследовании, были здоровыми донорами спермы. Все пациенты были охарактеризованы урологами-андрологами клиники «Семья» (г. Уфа). Исследование проводилось в соответствии с принципами Хельсинкской декларации, все участники подписали форму информированного согласия.

Исследование спермограммы осуществлялось в соответствии с требованиями Руководства ВОЗ (2010). Содержание НАД⁺ в эякуляте определяли колориметрическим методом (NAD/NADH Cell-Based Assay Kit, Cayman Chemical, США) в соответствии с инструкцией производителя, описанной в работе [7].

Для статистической обработки использован пакет программ MS Excel 2003 SPSS

12.0 для Windows. Использовались линейная регрессия и критерии Фишера для изучения корреляции между уровнями НАД⁺ и параметрами спермы. Статистическую значимость изменений оценивали с использованием парного t-теста Стьюдента. P<0,05 считалось статистически значимым.

Результаты и обсуждение

Пациенты с бесплодием были разделены на три возрастные группы. В первую группу вошли мужчины в возрасте 20-30 лет; во вторую группу – от 31 года до 40 лет, мужчины старше 40 лет вошли в третью группу. Все фертильные мужчины (N=26) имели нормальные показатели спермограммы (концентрация сперматозоидов не менее 15×10⁶/мл, общая подвижность ≥ 40%, прогрессивная подвижность ≥ 32%, нормальная морфология ≥ 4%). В группе субфертильных мужчин критерии патологии спермы были следующими: концентрация сперматозоидов менее 15×10⁶/мл или менее 39×10⁶ во всем объеме, прогрессивная подвижность (сумма категории A+B) <32%, <4% нормальных форм по Крюгеру.

Обследованные группы достоверно отличались по концентрации и содержанию сперматозоидов и не имели статистически значимых различий по объему эякулята. Нами констатируется более чем двукратное уменьшение концентрации сперматозоидов и содержания их прогрессивно-подвижной фракции у бесплодных мужчин в группе старше 40 лет, что свидетельствует об истощении и/или изменении ключевых метаболических процессов в семенной плазме. Кроме того, в этой категории пациентов отмечается уменьшение морфологически нормальных сперматозоидов практически в 3 раза.

При биохимическом исследовании эякулята выявлен значительный градиент концентраций изученных метаболитов в семенной плазме у фертильных доноров и бесплодных пациентов. В таблице представлены результаты сравнительного анализа уровня НАД⁺ и редокс-состояния семенной плазмы между тремя возрастными группами.

Таблица

Параметры пиридиннуклеотидов в эякуляте обследованных мужчин (M±m)

Показатель	Группа			
	Фертильные (n=20)	Бесплодные(n=45)		
		<30 лет	30-40 лет	>40 лет
Концентрация НАД ⁺ , нмоль/10 ⁶	91,25±13,23	91,61±15,53	115,25±16,55*	125,60±16,29*
[НАД ⁺]/[НАДН]	4119±35	3844±29*	2884±25*	1861±15*,**

* p<0,05 по сравнению с контрольной группой.

Уровень НАД⁺ при бесплодии с патоспермией статистически значимо повышался относительно группы сравнения. В частности, наблюдалось увеличение [НАД⁺] в сперме

мужчин категории 40 лет и старше в 1,4 раза. В образцах спермы испытуемых старше 40 лет зафиксировано также снижение количества прогрессивно-подвижных сперматозои-

дов по сравнению с образцами других возрастных групп бесплодных мужчин, хотя разница не достигла статистической значимости. При анализе взаимосвязи между возрастом и концентрацией НАД⁺ установлено, что в группе пациентов младше 30 лет отмечается самое низкое содержание этого кофермента в сравнении двумя другими возрастными группами – практически на уровне контроля.

Поскольку оптимальная концентрация НАД⁺ выступает триггером двигательной активности гамет [8], представляло интерес определение корреляций между этим параметром и морфофункциональными характеристиками эякулята. Проведенный анализ не выявил взаимосвязи между концентрацией НАД⁺ и возрастом обследованных пациентов ($r=0,016$; $p=0,24$). Была обнаружена отрицательная корреляция между уровнем НАД⁺ и параметрами качества спермы, включая концентрацию сперматозоидов ($r=0,68$; $p<0,001$), количество сперматозоидов ($r=0,44$; $p<0,002$), количество подвижных сперматозоидов ($r=0,51$; $p<0,002$).

Концентрация НАД⁺ и редокс-состояние никотинамидных коферментов являются одними из важнейших инструментов гомеостаза, индикаторами интенсивности метаболизма, регуляторами сигналинга в ответ на стрессорные стимулы, активно влияя на рост и продолжительность существования всех видов клеток [9]. Связанное с возрастом повышение концентрации НАД⁺ и резкое смещение соотношения [НАД⁺]/[НАДН] влекут за собой

нарушение ацетилирования гистонов и их замещение протаминами в ходе спермиогенеза с увеличением доли аномальных сперматозоидов. Кроме того, высокие уровни НАД⁺ стимулируют биогенез и функционирование митохондрий, следствием чего является генерация активных форм кислорода (АФК) как побочного продукта НАДН-зависимой оксидоредуктазной реакции [10]. Таким образом, НАД⁺ является эпицентром основных биохимических проблем, связанных с АФК-индуцированной патологией. Генерация АФК приводит к ускорению процессов свободнорадикального окисления, угнетению ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной защиты, усилению перекисления липидов, дезинтеграции ДНК сперматозоидов, активации карбонилирования спермальных белков и как итог, дисфункции сперматозоидов [11,12].

Заключение

В нашем исследовании установлен более высокий уровень концентрации НАД⁺ в эякуляте субфертильных мужчин старшей возрастной группы (40 лет) по сравнению с фертильными донорами и пациентами младшего возраста. Эти изменения были сопряжены со снижением подвижности и концентрации сперматозоидов. Полученные результаты могут служить основанием для использования НАД⁺ в качестве дополнительного теста в комплексной диагностике идиопатического бесплодия как предиктора нарушения оплодотворяющей способности эякулята [7].

Сведения об авторах статьи:

Галимова Эльмира Фанисовна – д.м.н., профессор кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: efgalimova@mail.ru.

Громенко Юлия Юрьевна – к.м.н., главный врач ООО «Медицинский центр Семья». Адрес: 450075, г. Уфа, пр-т Октября, 73/1. E-mail: info@medufa.ru.

Галимов Камил Шамилович – ординатор ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет). Адрес: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8. E-mail: kamil9819@mail.ru.

Громенко Иван Дмитриевич – ассистент кафедры биологической химии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3, e-mail: gromenko@mail.ru.

Литвицкий Петр Францевич – д.м.н., член-корр. РАН, профессор, заведующий кафедрой патофизиологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет). Адрес: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8. E-mail: litvicki@mma.ru.

Галимов Шамиль Нариманович – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой биологической химии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: sngalim@mail.ru.

ЛИТЕРАТУРА

1. The Renaissance of Male Infertility Management in the Golden Age of Andrology / A. Calogero, R. Cannarella, A. Agarwal [et al.] // World J. Mens Health. - 2023. doi: 10.5534/wjmh.220213.
2. Мужское бесплодие: молекулярные иммунологические аспекты. / Ш.Н. Галимов, В.А. Божедомов, Э.Ф. Галимова [и др.]. – М., Изд-во. – 2020. – С.
3. Global, regional, and national prevalence and disability-adjusted life-years for infertility in 195 countries and territories, 1990-2017: results from a global burden of disease study, 2017 / H. Sun, T. Gong, Y. Jiang, S. Zhang, Y. Zhao, Q. Wu // Aging (Albany NY). – 2019. – №11. – P.10952-91.
4. Галимова, Э.Ф. Мужская фертильность: модифицируемые и немодифицируемые факторы риска / Э.Ф. Галимова, Ш.Н. Галимов // Проблемы репродукции. – 2015. – Т.21, №5. – С.89-95.
5. The level of secondary messengers and the redox state of NAD⁺/NADH are associated with sperm quality in infertility / S.N. Galimov, E.F. Galimova, J.Y. Gromenko, K.V. Buligin, K.S. Galimov, M.Y. Sinelnikov // Journal of Reproductive Immunology. – 2021. – № 148. – P.103383.
6. Relationship between sperm NAD⁺ concentration and reproductive aging in normozoospermia men: A Cohort study / X. Bai, P. Wang [et al.] // BMC Urol. – 2022. – Vol 22, № 1. – P.159.

7. Способ диагностики фертильности эякулята при идиопатическом бесплодии / Э.Ф. Галимова, С.Ш. Галимов, К.С. Мочалов [и др.] // Патент РФ на изобретение № 2789239 от 31.01.2023.
8. Галимова, Э.Ф. Молекулярные и клеточные механизмы функционирования мужской репродуктивной системы в условиях экстремальных и фоновых воздействий различной природы и интенсивности: дис. ... д-ра мед. наук. – М., 2016.
9. Srivastava, S. Emerging therapeutic roles for NAD (+) metabolism in mitochondrial and age-related disorders / S. Srivastava // Clin. Transl. Med. – 2016. – Vol. 5, № 1. – P.25.
10. Роль митохондрий сперматозоидов в возникновении и развитии мужского бесплодия / Литвицкий П.Ф. [и др.] // Патологическая физиология и экспериментальная терапия – 2022. – Т. 66, № 2. – С. 72-79.
11. Aitken, R. The Importance of Oxidative Stress in Determining the Functionality of Mammalian Spermatozoa: A Two-Edged Sword. / R. Aitken, J. Drevet //Antioxidants. – 2020. – Vol. 9. – P. 111.
12. Молекулярные аспекты влияния комплекса Сперотон на мужскую фертильность при идиопатическом бесплодии / Ш.Н. Галимов, Р.М. Ахметов, Э.Ф. Галимова [и др.] // Урология. – 2017. – № 2. – С. 88-92.

REFERENCES

1. The Renaissance of Male Infertility Management in the Golden Age of Andrology / A. Calogero, R. Cannarella, A. Agarwal [et al.] // World J. Mens Health. - 2023. doi: 10.5534/wjmh.220213.
2. Male infertility: molecular immunological aspects. / Sh.N. Galimov, V.A. Bozhedomov, E.F. Galimova [et al.] - M., 2020.
3. Global, regional, and national prevalence and disability-adjusted life-years for infertility in 195 countries and territories, 1990-2017: results from a global burden of disease study, 2017 / H. Sun, T. Gong, Y. Jiang, S. Zhang, Y. Zhao, Q. Wu // Aging (Albany NY). - 2019. - №11. - P.10952-91.
4. Galimova E.F. Male fertility: modifiable and unmodifiable risk factors / E.F. Galimova, Sh.N. Galimov // Problems of Reproduction. - 2015. - T.21, №5. - P. 89-95.
5. The level of secondary messengers and the redox state of NAD⁺/NADH are associated with sperm quality infertility / S.N. Galimov, E.F. Galimova, J.Y. Gromenko, K.V. Bulygin, K.S. Galimov, M.Y. Sinelnikov // Journal of Reproductive Immunology. - 2021. - № 148. – P.103383.
6. Relationship between sperm NAD⁺ concentration and reproductive aging in normozoospermia men: A Cohort Study / X. Bai, P. Wang [et al.] // BMC Urol. - 2022. - Vol 22, no. 1. - P.159.
7. A method for diagnosis of ejaculate fertility in idiopathic infertility / Galimova EF, Galimov SS, Mochalov KS [et al.] // Patent of Russian Federation for invention № 2789239 from 31.01.2023.
8. Galimova E.F. Molecular and cellular mechanisms of functioning of the male reproductive system under extreme and background influences of different nature and intensity: Ph. D. in medical sciences. M., 2016.
9. Srivastava, S. Emerging therapeutic roles for NAD (+) metabolism in mitochondrial and age-related disorders / S. S.rivastava // Clin. Transl. Med. - 2016. - Vol. 5, № 1. - P.25.
10. The role of sperm mitochondria in the occurrence and development of male infertility / Litvitsky P.F. [et al.] // Pathological Physiology and Experimental Therapy - 2022. - T. 66, № 2. - P. 72-79.
11. Aitken, R. The Importance of Oxidative Stress in Determining the Functionality of Mammalian Spermatozoa: A Two-Edged Sword. / R. Aitken, J. Drevet //Antioxidants. - 2020. - Vol. 9. - P. 111.
12. Molecular aspects of the effect of complex Speroton on male fertility in idiopathic infertility / Sh.N. Galimov, R.M. Akhmetov, E.F. Galimova [et al.] // Urology. - 2017. - № 2. - P. 88-92.

УДК 616-073.756.8
© Коллектив авторов, 2023

А.Н. Россоловский, М.Л. Чехонацкая, Д.А. Бобылев, В.М. Попков, О.В. Основин, А.И. Хотько **ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ МУЛЬТИСРЕЗОВОЙ КОМПЬЮТЕРНОЙ ТОМОГРАФИИ ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ МОЧЕКАМЕННОЙ БОЛЕЗНИ МЕТОДОМ ДИСТАНЦИОННОЙ УДАРНО-ВОЛНОВОЙ ЛИТОТРИПСИИ**

*ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет
им. В.И. Разумовского» Минздрава России, г. Саратов*

Мочекаменная болезнь (МКБ) по-прежнему является растущей проблемой. В РФ за последние годы прирост лиц, страдающих МКБ, составил 25,1%. Дискутабельным остается выбор оптимальной методики устранения конкрементов почечной локализации размером от 10 до 20 мм. Дистанционная ударно-волновая литотрипсия (ДУВЛТ), несмотря на ряд безусловных преимуществ, оказывает значительное травматическое воздействие на почечную паренхиму. В том случае, когда прогнозируемая эффективность ДУВЛТ невысока, целесообразно рассмотреть альтернативные эндоурологические методики. «Золотым стандартом» лучевой визуализации у больных мочекаменной болезнью и основным инструментом предоперационного прогнозирования успеха оперативного лечения является мультисрезовая компьютерная томография (МСКТ).

Цель исследования – улучшить результаты лечения пациентов с МКБ путем поиска дополнительных диагностических возможностей МСКТ в прогнозировании результатов ДУВЛТ у больных нефролитиазом.

В исследовании приводятся данные анализа результатов оперативного лечения 127 пациентов с МКБ, которым было проведено клиничко-лабораторное и лучевое обследование и выполнена ДУВЛТ в условиях клиники урологии УКБ № 1 им. С.Р. Миротворцева СГМУ в период 2021-2022гг.

Основными прогностическими критериями успешности ДУВЛТ, наряду с анамнезом и клиническими данными, по-прежнему остаются локализация, максимальный размер результатов оперативного лечения и его средняя плотность (НУ). Наиболее перспективным направлением является оценка структуры конкремента in vivo, используя дополнительные МСКТ-параметры, такие как «однородность» и количество «ядер» плотности. Подобный дифференцированный подход оптимизирует клинический алгоритм выбора хирургической тактики у пациентов с нефролитиазом и увеличивает число успешных литотрипсий, избегая избыточной травматизации почечной паренхимы.

Ключевые слова: литотрипсия, ДУВЛТ, МСКТ, ядро плотности.