

УДК577.1:611.013.11/57.042

КІЛЬКІСНІ ОСОБЛИВОСТІ ВМІСТУ ПРОСТАГЛАНДИНІВ ТА ЇХ МЕТАБОЛІТІВ У СПЕРМІ ЧОЛОВІКІВ З РІЗНИХ РЕГІОНІВ УКРАЇНИ

Ю. А. Кондратова, А. В. Клепо, С. В. Андрейченко

ДУ “Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України”, м. Київ

Ключові слова: простагландини, сперматозоїди людини, сім'яна рідина, рухливість, опромінення, радіоактивна забрудненість.

Дослідженнями останніх років було показано, що в спермі людей, а також деяких приматів міститься багато простагландинів, де їх концентрація може досягати рівня декількох мілімолей і значно перевищувати аналогічні показники в інших тканинах та рідинах організму. Свою назву простагландини отримали від передміхурової залози — простати, яку вважали основним джерелом постачання простагландинів до сім'яної рідини. Однак, пізніше було з'ясовано, що простагландини головним чином виробляються сім'яними пухирцями[1].

Перші відомості про простагландини з'явилися ще в тридцяті роки минулого століття, коли Гольдблатту і фон Ейлеру вдалося визначити їх наявність в сім'яній рідині та показати, що вони можуть впливати на скорочення судин та гладенької мускулатури [2, 3]. Подальші дослідження також з'ясували, що простагландини відіграють важливу роль у процесі запліднення тому, що певним чином регулюють рівень ендогенного кальцію в сперматозоїдах і тим самим зумовлюють настання гіперактивації та акросомної реакції [4]. Крім того, було встановлено, що простагландини в значній мірі відповідають за імуносупресорні властивості сперми, оскільки здатні впливати на метаболізм цитокінів, суттєво підвищуючи рівень інтерлейкіну 8 та 10 та інгібуючи синтез інтерлейкіну 12 [5].

Дослідженнями багатьох авторів показано, що простагландини синтезуються із арахідонової кислоти за допомогою спеціального ферменту циклооксигенази, або простагландинсинтази. В сперматозоїді цей фермент, як правило, локалізується у голівці та середньому відділі хвоста [6].

Існують відомості, що в спермі людей превалують простагландини класів E і F, причому найбільша фізіологічна активність зосереджена

в метаболітах Е-простагландинів із гідроксильованою групою в положенні 19: 19-ОН ПГЕ₁ та 19-ОН ПГЕ₂ [7].

Мета дослідження — проведення кількісного визначення Е та Ф простагландинів у сім'яній рідині чоловіків-донорів з різних регіонів України, а також аналіз існування кореляційних зв'язків між концентрацією простагландинів в спермальній рідині, фізіологічним станом сперми та регіональною приналежністю донорів.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження проводились у групах добровольців з 4-ох регіонів України з різним рівнем радіоактивного забруднення, а саме: Житомирської області (група 1), Києва та Київської області (група 2), Івано-Франківської області (група 3) та Полтавської області (група 4). Згідно з радіодозиметричними даними середня накопичена радіаційна доза на населення Житомирської області становить 10 сЗв, Києва та Київської області — 5 сЗв, Івано-Франківської області 1 сЗв. В той же час Полтавська область вважається радіоактивно незабрудненим регіоном, тому з її мешканців було сформовано контрольну групу. До першої групи входило 20 чоловіків, до другої — 26, до третьої — 15 і до четвертої — 21.

Збір сперми здійснювали шляхом мастурбації у спеціальні пластикові контейнери. До того моменту всі донори мали утримуватись від будь-яких статевих контактів протягом 3–5 днів. Після збору сперми проводили її розрідження 30–60 хв при 37°C та визначали загальний об'єм еякуляту. Аліквоту кожного зразка використовували для мікроскопічного аналізу еякуляту, який здійснювали за протоколом, що був запропонований ВООЗ [8], під мікроскопом “МБИ-6” (Росія) на збільшенні $\times 500$. Визначали концентрацію сперматозоїдів, а також загальну, прямолінійну і поступальну рухливість сперматозоїдів.

При проведенні кількісного аналізу простагландинів спочатку сперму розділяли на сперматозоїди та сім'яну рідину за допомогою центрифугування при 1000g 5 хв. Потім сім'яну рідину відокремлювали від осаду та зберігали при -80°C . Згодом в ній визначали ПГЕ та 19-ОН ПГЕ за допомогою газової хроматографії на приладі “Agilent 6890 N” (США) з попереднім окисленням вказаних речовин у водному середовищі перед екстракцією за методом, що був запропонований в роботі [9].

Аналіз ПГФ та 19-ОН ПГФ проводили за допомогою газової хромато-мас-спектрометрії на приладі “Agilent 7890 A — 5975 C” (США). Відповідно до запропонованого протоколу [10], перед проведенням аналізу від сім'яної рідини відокремлюється білок, супернатант ви-

сушується, а простагландини поступово перетворюються на ефірні похідні t-бутилдиметилсілілу.

Статистичну обробку даних досліджень здійснювали за допомогою дисперсійного аналізу "ANOVA" та непарного тесту Ст'юдента з поправкою Бонфероні. Довірчі інтервали середніх значень визначали при $p=0,95$ шляхом підрахунку стандартної помилки. Відмінності вважали статистично значущими при $p<0,05$ [11].

Результати дослідження та їх обговорення. В результаті проведених досліджень було встановлено існування певних відмінностей в фізіологічних характеристиках сперми для різних регіональних груп чоловіків-донорів (табл. 1). Так, було помічено поступове зменшення об'єму еякуляту при переході від контрольної групи з Полтавської області до групи мешканців з Житомирської області, причому саме між цими двома групами розбіжності досягали статистично достовірного рівня. В той же час в Івано-Франківській, Києві та Київській областях вказаний показник відрізнявся від контрольної величини лише за середнім значенням. Слід також відзначити, що середній показник об'єму еякуляту для всіх регіональних груп був в межах норми, яке за даними ВООЗ становить 2–6 мл [8]. При аналізі концентрації сперматозоїдів в спермі показано, що цей параметр може суттєво змінюватись в залежності від регіону і сильно коливатись по величині, що вказує на його пряму залежність від радіоактивної забрудненості місцевості та індивідуальних дозових навантажень на спермодонорів. Як видно з

Таблиця 1. Регіональні особливості кількісного вмісту простагландинів в сім'яній рідині чоловіків-донорів з різних регіонів України

№	Простагландини (клас/тип)	Назва регіону			
		Житомирська область	Київ та Київська область	Івано-Франківська область	Полтавська область
		Спг, мкг/мл	Спг, мкг/мл	Спг, мкг/мл	Спг, мкг/мл
1	ПГЕ	44,9±36,2	59,6±44,6	77,5±47,2	94,5±55,2
2	19-ОН ПГЕ	47,4±32,1*	117,1±54,8*	294,9±162,3	378,2±135,4
3	ПГФ	6,7±3,8	4,2±2,3	2,7±1,5	1,5±1,1
4	19-ОН ПГФ	63,1±28,5*	34,4±17,5	16,4±8,7	10,4±7,8

Примітка. * — статистична відмінність від контролю; СПГ — концентрація простагландинів.

даних таблиці 1, концентрація сперматозоїдів в еякуляті була найбільшою в групі спермодонорів з Івано-Франківської області, причому за своїм середнім значенням вона майже не відрізнялась від контрольної величини (група 4). Однак в групах 2 і 3 цей показник був значно менший, хоча лише для мешканців Житомирської області відмінності були статистично значущими порівняно з контролем.

Аналіз рухливості сперматозоїдів в еякуляті для різних груп донорів показав, що в Житомирській області можуть траплятися часті випадки астенозооспермії, оскільки у більшості спермодонорів значення прямолінійної рухливості сперматозоїдів було менше 25%, а значення загальної поступальної рухливості не більше 50% від загальної кількості сперматозоїдів. В групі 2 астенозооспермія зустрічалась лише інколи. В контрольній групі та групі з Івано-Франківської області середнє значення загальної рухливості сперматозоїдів перевищувало 70%, а показники, що характеризували поступальну та прямолінійну рухливість сперматозоїдів були значно вище порогових значень для астенозооспермії. При аналізі концентрації ПГЕ та 19-ОН ПГЕ в сім'яній рідині було встановлено, що найбільші значення цих показників характерні для спермодонорів з Полтавської області, а найменші — для Житомирської, тоді як в групах 2 і 3 цей показник знаходився на середньому рівні. В той же час в групі донорів з Івано-Франківської

Таблиця 2. Фізіологічна оцінка якості еякуляту чоловіків-донорів з різних регіональних груп

№	Ознака	Назва регіону			
		Житомирська область	Київ та Київська область	Івано-Франківська область	Полтавська область
1	Концентрація сперматозоїдів в еякуляті ($\times 10^6$ /мл)	35 $\pm$ 20*	63 $\pm$ 27	89 $\pm$ 42	92 $\pm$ 30
2	Об'єм еякуляту, мл	2,2 $\pm$ 0,7*	3,1 $\pm$ 1,2	3,9 $\pm$ 1,8	4,5 $\pm$ 1,5
3	Загальна рухливість сперматозоїдів (%)	47 $\pm$ 11*	69 $\pm$ 18	70 $\pm$ 17	75 $\pm$ 12
4	Прямолінійна поступальна рухливість (%)	17 $\pm$ 10	27 $\pm$ 14	41 $\pm$ 15	39 $\pm$ 13

Примітка. * — статистична відмінність від контролю.

області концентрація ПГЕ в сім'яній плазмі на 30%, а концентрація 19-ОН ПГЕ майже на 150% перевищувала аналогічні дані для Києва та Київської області.

На відміну від ПГЕ та 19-ОН ПГЕ концентрація ПГФ та 19-ОН ПГФ в групах з радіоактивно забруднених регіонів була на достатньо високому рівні (групи 1, 2) тоді як із слабо забруднених і відносно чистих регіонів (групи 3, 4) ці показники були значно меншими. Слід відзначити, що загальний рівень 19-ОН ПГЕ для всіх груп, крім Житомирської, набагато перевищував аналогічні показники для Е-простагландинів. Подібні закономірності були помічені і для 19-ОН ПГФ, причому в цьому випадку і для Житомирського регіону було зареєстровано значне зростання 19-ОН ПГФ порівняно з ПГФ. Як бачимо, високий рівень ПГЕ та 19-ОН ПГЕ в спермі у великій мірі корелює з кінетичними характеристиками сперматозоїдів, що прямим чином вказує на залежність рухливості сперматозоїдів від наявності та концентрації простагландинів та їх гідроксильованих метаболітів в сім'яній рідині. Як бачимо, зі зниженням їх концентрації рухливість сперматозоїдів згасала.

Отримані дані вказують на пригнічення синтезу Е-простагландинів та 19-ОН ПГЕ у мешканців регіонів з високим рівнем радіоактивного забруднення місцевості. В таких умовах спостерігалось посилення утворення ПГФ та 19-ОН ПГФ, що могло бути пов'язано як з активацією простагландинкеторедуктази, так і радіаційно опосередкованою трансформацією ПГЕ в ПГФ за рахунок відновлювальних процесів. В цьому зв'язку слід зазначити, що подібна ПГЕ-ПГФ трансформація відбувалась і при прямому радіаційному опроміненні сперми щурів [12].

Висновки. При проведенні когортних досліджень в групах добровольців з окремих регіонів України з різним рівнем радіоактивного забруднення встановлено зменшення концентрації Е-простагландинів та 19-ОН ПГЕ в сім'яній рідині, яке відбувалось у прямій залежності від рівня радіоактивного забруднення місця проживання чоловіків-донорів. Високі дозові навантаження також позначались і на фізіологічних характеристиках сперми, що зумовлювало зменшення об'єму еякуляту, а також рухливості і концентрації в ньому сперматозоїдів. Це пояснює, чому в групах спермодонорів із Житомирської і Київської областей зустрічались окремі випадки олігозооспермії та астенозооспермії, хоча ці явища зовсім не мали прояву в групах мешканців з Івано-Франківської та Полтавської областей. Крім того, було встановлено, що зменшення концентрації ПГЕ та 19-ОН ПГЕ в сім'яній рідині донорів з сильно та

помірно забруднених регіонів супроводжувалось одночасним зростанням концентрації ПГФ та 19-ОН ПГФ.

ЛІТЕРАТУРА

1. Kelly, R. W. Prostaglandins in primate semen: biasing the immune system to benefit spermatozoa and virus? [Text] / R. W. Kelly // Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids. — 1997. — Vol. 57(2). — P. 115–118.
2. Evidence for a role of cyclooxygenase (prostaglandin synthetase) and prostaglandins in the sperm acrosome reaction and fertilization [Text] / C. L. Joyce [et al.] // J. Androl. — 1987. — Vol. 8. — P. 74–82.
3. Hall, A. K. Prostaglandins: biosynthesis, metabolism and mechanism of cellular action [Text] / A. K. Hall, H. R. Behrman // Prostaglandins / Ed. J. B. Lee — Amsterdam: Elsevier North Holland, 1982. — P. 1–38.
4. Aitken, R. J. Significance of intracellular calcium and cyclic adenosine 3',5'-monophosphate in mechanism by which prostaglandins influence human sperm function [Text] / R. J. Aitken, S. Irvine, W. Kelly // J. Reprod. Fert. — 1986. — Vol. 77. — P. 451–462.
5. Seminal plasma components stimulate interleukin-8 and interleukin-10 release [Text] / F. C. Denison [et al.] // Mol. Human Reprod. — 1999. — Vol. 5, N 3. — P. 220–226.
6. Localization of cyclooxygenase and production of prostaglandins in bovine spermatozoa [Text] / Y. Shalev [et al.] // J. Reprod. Fert. — 1994. — Vol. 101. — P. 405–413.
7. Origin of prostaglandins in human semen [Text] / K. Gerozissis [et al.] // J. Reprod. Fert. — 1982. — Vol. 65. — P. 401–404.
8. World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. [Text] — 5th edition. — Geneva: WHO Press, 2010. — 286 p.
9. Cooper, I. The measurement of E and 19-hydroxy E prostaglandins in human seminal plasma [Text] / I. Cooper, R. W. Kelly // Prostaglandins. — 1975. — Vol. 10. — P. 507–514.
10. Templeton, A. A. Prostaglandin concentrations in the semen of fertile men [Text] / A. A. Templeton, I. Copper, R. W. Kelly // J. Reprod. Fert. — 1978. — Vol. 52. — P. 147–150.
11. Bland, M. An introduction to medical statistics. [Text] / M. Bland. — 3rd edition. — Oxford: Univ. Press, 2007. — 405 p.
12. Вплив тотального гамма-опромінення тварин на функціональні характеристики сперматозоїдів [Текст] / В. М. Пушкаренко [та ін.] // Фізика живого. — 2007. — Т. 15, № 2. — С. 73–76.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ ПРОСТАГЛАНДИНОВ И ИХ МЕТАБОЛИТОВ В СПЕРМЕ МУЖЧИН С РАЗНЫХ РЕГИОНОВ УКРАИНЫ

Ю. А. Кондратова, А. В. Кленко, С. В. Андрейченко

ГУ “Национальный научный центр радиационной медицины
НАМН Украины”, г. Киев

С помощью газовой хроматографии в комплексе с масс-спектрометрией изучали количественное содержание Е и Ф-простагландин, а также их физиологически активных метаболитов 19-ОН ПГЕ и 19-ОН ПГФ в сперме мужчин-добровольцев с 4-х регионов Украины, отличающихся по уровню радиоактивной загрязненности местности. На основе анализа данных спермограмм было показано, что доноры Житомирской области имели существенную склонность к проявлению олигозо-

оспермии и астенозооспермии, а также уменьшению объема эякулята за пределы нормы. У жителей Киева и Киевской области эта тенденция значительно снижалась, а у доноров Ивано-Франковской и Полтавской — вообще не наблюдалась. В то же время установлено, что концентрация Е-простагландинов в сперме по средним значениям постепенно увеличивалась при переходе от Житомирской к Полтавской области, а Ф-простагландинов, наоборот, уменьшалась. Одновременно определено статистически достоверное возрастание уровня 19-ОН ПГЕ и уменьшение концентрации 19-ОН ПГФ в семенной жидкости мужчин, которые проживают в относительно чистых регионах (Полтавская и Ивано-Франковская области) по сравнению с радиоактивно загрязненными (Киев, Киевская и Житомирская области).

Ключевые слова: *простагландины, сперма человека, семенная жидкость, подвижность, облучение, радиоактивное загрязнение.*

QUANTITATIVE PECULIARITIES OF THE CONTENTS OF PROSTAGLANDINS AND THEIR METABOLITES IN THE SPERM OF MEN INHABITING IN DIFFERENT REGIONS OF UKRAINE

Yu. A. Kondratova, A. V. Klepko, S. V. Andreychenko

*SI "National Research Centre for Radiation Medicine,
Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv*

The sperm concentration of E and F-prostaglandins along with their physiologically active metabolites 19-OH PGE and 19-OH PGF were determined by the aid of gas-chromatography in association with mass-spectrometry in the ejaculates samples from men-volunteers inhabiting 4 regions of Ukraine with different levels of terrestrial radiation pollution. According to the spermogram data analysis the spermodonors from Zhytomyr region have shown an obvious tendency for oligozoospermy and astenozoospermy as well as diminishing of ejaculate volume. In inhabitants of Kyiv and Kyiv's region such a tendency significantly decreased while in donors from Ivano-Frankivsk and Poltava regions it was not observed at all. The average concentration of E-prostaglandins in the sperm was defined to increase gradually in the group rank from Zhytomyr to Poltava region, whereas the mean value of concentration for F-prostaglandins. Simultaneously the statistically valid raise of 19-OH PGE contents and the corresponding abatement of 19-OH PGF concentration in sperm fluid was found of men originating from Poltava and Ivano-Frankivsk regions when compared to the Kyiv, Kyiv's and Zhytomyr regions.

Key words: *prostaglandins, human sperm, semen plasma, motility, irradiation, radioactive pollution.*