

MOKSLINIS TYRIMAS: IŠTIRTA TAM TIKRŲ MIKROELEMENTŲ DERINIO ĮTAKA VYRŲ SPERMOS KOKYBEI (TIRTAS PO TAM TIKRŲ MIKROELEMENTŲ PAVARTOJIMO PADIDĖJUSIOS HIALURONO RŪGŠTIES JUNGIAMOSIOS GEBOS POVEIKIS GERESNEI SPERMIJŲ BRANDAI, MORFOLOGIJAI IR DIDESNIAM DNR VIENTISUMUI).

Markus Lipovac^{1,2}, Florian Bodner¹,
Alexander Schütz³, Harald Kurz³,
Claus Riedl⁴, Julia Mair^{1,2}, *Martin
Imhof^{1,2}

1. IMI vaisingumo klinika, Viena, Austrija

2. Akušerijos ir ginekologijos skyrius, Bendroji viešoji universitetinė
Korneuburgo ligoninė, Viena, Austrija

3. Adebaro vaisingumo klinika, Vyner Noištat, Austrija

4. Urologijos skyrius, Bendroji viešoji Badeno ligoninė, Austrija
*Susirašinėjimui: martin.imhof@meduniwien.ac.at

Paskelbimas: galimų interesų konfliktų nėra.

Gauta: 2014-01-19 **Priimta:** 2014-04-01

Citavimas: EMJ Urol, 2014;7:60–65,

ĮVADAS

Gimstamumas Vakarų šalyse mažėja; 10–17 proc. visų porų patiria pirminį arba antrinį vaisingumo nepakankamumą arba nevaisingumą¹, apibrėžtą kaip negebėjimą pastoti po vienerių metų reguliarių santykių su tuo pačiu partneriu nenaudojant apsisaugojimo priemonių. Vaisingumo nepakankamumo arba nevaisingumo sukelta nuolatinė bevaikystė poroms gali būti labai sudėtinga situacija². Šios poros bando pastoti visomis įmanomomis priemonėmis, įskaitant pagalbinį apvaisinimą (angl. *assisted reproduction*, AR), kuriuo, akivaizdu, nebūtinai gydoma vaisingumo nepakankamumo arba nevaisingumo priežastis.

Nuo veiksmų, susijusių su partneriu vyru, priklauso beveik 25–30 proc. visų vaisingumo nepakankamumo arba nevaisingumo priežasčių^{1,3}. **Apie 50 proc. visų nevaisingų vyrų, kuriems yra sėklinių anomalijų, nevaisingumas yra be konkrečios nustatytos priežasties (idiopatinis).**

Daugėja įrodymų, atskleidžiančių spermos branduolio DNR vientisumo vaidmenį vaisingumo nepakankamumui arba nevaisingumui. Ataskaitose nurodoma, kad didesnis DNR pažeidimų skaičius susijęs su neigiamu poveikiu vaisingumo potencialui⁵⁻⁷. Kai vaisingumo nepakankamumu arba nevaisingumu besiskundžiančių vyrų sėklos parametrai prasti, ji pasižymi ir didelio spermos DNR pažeidimų lygio tendencija. Tačiau padidėjusią DNR fragmentaciją galima pastebėti ir 8 proc. vyrų, kurių sėklos analizė normali⁷. Spermos DNR vientisumą galima įvertinti įvairiais metodais, vienas iš jų yra spermos ir hialurono rūgšties sujungimo analizė (SHBA). Tik visus vystymosi etapus perėjusi sperma geba hialurono rūgštį atpažinti kaip žmogaus skaidriosios srities komponentą. Dėl šios priežasties DNR vientisumas didesnis hialurono rūgštį

atpažįstančioje brandžioje spermoje. Manoma, kad tai pagrindinė priežastis, dėl kurios svariai koreliuoja didelės SHBA reikšmės, gera embrioninė kokybė ir mažesnis persileidimų skaičius. Žinoma, kad spermos DNR fragmentaciją sukelia aplinkos ir pramoninių toksinų poveikis, oksidacinis stresas, genetiniai veiksniai^{8,9}.

Tiriant vaisingumo sutrikimais besiskundžiančius vyrus nustatyta, kad jų organizme trūksta kai kurių svarbių elementų, turinčių įtakos spermatozoidų vystymuisi: L-karnitino, L-arginino, cinko, vitamino E, gliutatio, seleno, CoQ10 ir folio rūgšties.

Medicinoje trūko tyrimų, kuriuos atliekant analizuojamas keletas jau minėtų elementų derinių poveikis ir jų poveikis SHBA. **Todėl pateikto bandomojo tyrimo tikslas buvo įvertinti aštuonis mikroelementus turinčio nereceptinio maisto papildas (PROfertil®) poveikį vyrų, kuriems yra idiopatinis vaisingumo nepakankamumas arba kurie yra nevaisingi, SHBA stebimoms reikšmėms (brandai, griežtai morfologijai, dideliame DNR vientisumui ir sumažėjusiam chromosomų aneuploidijų skaičiui).** 3 mėnesių gydymo trukmė buvo pasirinkta atsižvelgiant į 74 dienų spermatogenezės laikotarpį ir įprastą intervalą tarp pirmosios ir įprastinės paskesnės sėklos analizės.

MEDŽIAGOS IR METODAI

Tyrimo planas ir dalyviai

Čia pateiktas atviras lyginamasis bandomasis tyrimas buvo vykdomas nuo 2007 m. sausio iki 2010 m. spalio IMI ambulatoriniame vaisingumo centre Vienoje, Austrijoje. Vyrų, kuriems diagnozuotas bent vienerių metų vaisingumo nepakankamumas arba nevaisingumas ir bent viena ankstesnė ir viena dabartinė anomali sėklos analizė, buvo kviečiami dalyvauti ir 3 mėnesius kasdien gavo po dvi pasiūlytas gydymo maisto produkto kapsules (PROfertil®), po to buvo atliekama sėklos analizė (**aktyvioji gydymo grupė**). Atšaukimo kriterijai buvo azoospermija, aspermatizmas, varikocelė ir nesenos urogenitalinės infekcijos. Austrijos Vienos medicinos universiteto Urologijos skyriuje apsilankantys vyrai, besiskundžiantys vaisingumo nepakankamumu arba nevaisingumu, tyrimo metu negavę aktyviojo junginio, **buvo kontrolinė grupė**. Tyrimas buvo patvirtintas vietinio etikos komiteto (Vienoje) ir rašytinius sutikimus pateikusių pacientų.

Paruošimas (gydomasis maisto papildas)

Dviejose aktyviojo junginio (PROfertil®) kapsulėse buvo: L-karnitino (440 mg), L-arginino (250 mg), cinko (40 mg), vitamino E (120 mg), gliutatio (80 mg), seleno (60 µg), CoQ10 (15 mg) ir folio rūgšties (800 µg), preparatą pateikė „Lenus Pharma GmbH“, Viena, Austrija.

Statistinė analizė

Statistinė analizė buvo atliekama naudojant SPSS 19 versiją (IBM, Armonk, NY, JAV). Duomenys pateikiami kaip medianos [tarpkvartiliniai intervalai], mažiausios ir didžiausios reikšmės ir procentinės reikšmės. Duomenų pasiskirstymo normalumui

nustatyti buvo naudojamas Kolmogorovo-Smirnovo testas. Pagal tai skirtumai tarp grupių analizuoti taikant Manno Whitneyjaus testą (tolydūs neparametriniai duomenys) ir chi kvadrato testą (procentinės reikšmės). Pokyčiai kiekvienoje tiriamoje grupėje buvo vertinami taikant Wilcoxon rangų testą. $p < 0,05$ reikšmė buvo vertinama kaip statistiškai reikšminga.

REZULTATAI

Tyrimų laikotarpiu iš viso buvo užregistruoti ir aktyvųjį junginį gavo 76 tinkami vyrai, varginami vaisingumo nepakankamumu arba nevaisingumu, lankęsi IMI vaisingumo klinikoje Vienoje (Austrija). Iš tyrimo pasitraukė 9 vyrai, palikdami 67 tiriamus asmenis, kuriems atliktas 3 mėnesių gydymo kursas ir pateikti duomenys išsamiai analizei. Kontrolinę grupę

1 lentelė. Spermų ir hialurono rūgšties sujungimo analizės rezultatų pokyčiai gydymo grupėje po 3 mėnesių gydymo ir kontrolinėje grupėje. Pacientų, kuriems pastebėtas SHBA reikšmių padidėjimas, santykis gydytoje grupėje pastebimai didesnis

Parametras	Gydomoji grupė n=67	Kontrolinė grupė n=40	p reikšmė*
Spermų ir hialurono rūgšties sąryšio procentas ties bazine riba	56,0 [41,0]	69,5 [23,3]	0,02
Spermų ir hialurono rūgšties sąryšio procentas po 3 mėnesių	74,0 [21,0] **p=0,0001	64,5 [20,8] **p=0,03	0,01
Vidutinis procentinės reikšmės pokytis, palyginti su bazine riba	19,7 [64,8]	-2,1 [7,6]	0,0001
Padidėjimas po 3 mėnesių n (proc.)	50 (74,6)	12 (30,0)	0,0001
Neutralu po 3 mėnesių n (proc.)	2 (3,0)	2 (5)	0,99
Sumažėjimas po 3 mėnesių n (proc.)	15 (22,4)	26 (65,0)	0,0001

Duomenys pateikti kaip medianos [tarpkvartiliniai intervalai] ir dažnumai n (proc.).

* p reikšmė palyginant grupes pagal Manno Whitneyjaus testą arba chi kvadrato testą.

** p reikšmė, palyginti su bazine riba (palyginimas grupės viduje), taikant Wilcoxon rangų testą.

APTARIMAS

Tirtas veikliųjų medžiagų derinys buvo sukurtas idiopatiniam vyrų vaisingumo nepakankamumui arba nevaisingumui gydyti, papildomai gaunant keletą vitaminų, fermentų ir mikroelementų, kurių reikia optimaliam spermų ląstelių metabolizmui, DNR sintezei vykstant spermatogenezei, proliferacijai ir antioksidacinei apsaugai: L-karnitino (440 mg), L-arginino (250 mg), cinko (40 mg), vitamino E (120 mg), gliutaciono (80 mg), seleno (60 µg), CoQ10 (15 mg) ir folio rūgšties (800 µg).

Atsižvelgiant į jų biocheminę funkciją, šios sudedamosios dalys labai svarbios vyrų reprodukcijai. Šių veikliųjų medžiagų trūkumas gali sukelti vyrų vaisingumo sutrikimus.

L-karnitinas yra spermijų energijos substratas. Laisvasis L-karnitinas teigiamai susijęs su spermijų skaičiumi, judrumu ir judriųjų spermijų tankiu¹⁴. Nors pagal du kontroliuojamus tyrimus buvo pranešta apie teigiamą L-karnitino poveikį kiekvienam iš minėtų parametrų^{15,16}, iš pastarojo tyrimo, atlikto su vyrais, kuriems diagnozuota idiopatinė astenozoospermija, reikšmingesnio poveikio nenustatyta¹⁷.

Azoto oksidas (NO) naudingas spermų gyvybingumui ir judrumui tiek vaisingiems, tiek nevaisingiems asmenims¹⁸; L-argininas yra tiesioginis NO pirmtakas. L-argininas pagerina spermų judrumą nevaisingiems vyrams, kuriems nustatyti normalūs ląstelių skaičiai¹⁹, ir pasižymėjo naudingumu *in vitro* poveikiu spermų judrumui vyrams, kuriems yra

sudarė 40 vaisingumo nepakankamumu arba nevaisingumu besiskundžiančių vyrų. Vidutinis gavusių aktyvųjį junginį vyrų amžius buvo 34 metai (mažiausias / didžiausias: 18–43 metai), o kontrolinės grupės jis buvo 38 metai (mažiausias / didžiausias: 22–52 metai).

SHBA reikšmė po 3 mėnesių gydymo aktyvuoju junginiu pastebimai padidėjo, vidutinė bazinės ribos reikšmė – 56,0–74,0 proc. ($p < 0,05$) (1 lentelė). Tai atitinka 19,7 proc. padidėjimą, palyginti su bazine riba, tai gerokai daugiau negu kontrolinėje grupėje pastebėtas 2,1 proc. sumažėjimas (1 lentelė). Tiriamųjų asmenų, kuriems nustatytas SHBA reikšmių padidėjimas po 3 mėnesių, santykis buvo gerokai didesnis aktyviojoje grupėje (74,6 proc., palyginti su 30,0 proc., $p = 0,0001$) (1 lentelė).

astenozoospermija²⁰.

Vitaminas E pagerina spermų judrumą ir padidina vaisingumą vyrams, kuriems buvo astenozoospermija²¹, taip pat pagal atskirus tyrimus svariai pagerina žmogaus spermijų *in vitro* funkciją²². Derinamas su seleno, vitaminas E padidina spermų judrumą ir normalius morfologinius santykius²³. Selenas yra pagrindinis gliutaciono peroksidazės fermento komponentas ir būtinas šio fermento gamybai, kai papildomai gaunamas gliutacionas. Sėklidėse būna didelė seleno koncentracija, tad žmonių, kuriems trūksta seleno, spermų kiekis mažėja ir kokybė prastėja²⁴. Nepaisant to, vykstant su seleno papildais susijusius tyrimus gauti prieštaringi rezultatai^{25,26}. Cinkas dalyvauja vykstant DNR transkripcijai, baltymų sintezei, sėklidžių vystymuisi ir spermų brendimui, ir manoma, kad pratęsia funkcinį ejakuliuotų spermijų gyvavimo laiką²⁷. Mažas sėklinio cinko lygis siejamas su sumažėjusiu vaisingumo potencialu²⁷; cinko papildai pasižymėjo teigiamu poveikiu spermijų skaičiui ir kitiems parametrams²⁸. Folio rūgštis būtina DNR sintezei ir todėl yra svarbi spermatogenezei¹¹. Tačiau pirminiai mechanizmai tebelieka nežinomi. Papildžius vien tik folio rūgštimi, naudingo poveikio normalių vyrų ir tų, kuriems yra oligozoospermija, spermų koncentracijai nepastebėta²⁹.

Gliutacionas vaidina esminį vaidmenį vykstant baltymų ir DNR sintezei. Skelbiama, kad vaisingumo nepakankamumo arba nevaisingumo varginamiems vyrams nustatytas mažesnis gliutaciono lygis, ir jis susijęs su spermų judrumu ir morfologija³⁰.

Pranešama apie teigiamą gliutaciono papildų poveikį spermos judrumui ir morfologijai, be to, apie oralinį biologinį pasisavinimą^{31,32}.

CoQ10 dalyvauja kūno energijos metabolizme; 95 procentai viso ATF yra konvertuojama CoQ10 pagalba. CoQ10 didina spermatozoidų judrumą. Tai įrodyta atliekant tyrimus vyrams su astenozoospermija. Spermatozoidai yra labai jautrūs oksidaciniams stresui. Žinoma, kad oksidacinis stresas turi įtakos tiek vyrų, tiek moterų reprodukinei funkcijai. CoQ10 peroralinis bioprieinamumas yra ištirtas ir dokumentuotas. Nežiūrint to antioksidantų vaidmuo spermos kokybei yra vis dar vertinamas kontraversiškai. Tai priklauso nuo žemos studijų kokybės ir vartojamų antioksidantų įvairovės (įvairios kombinacijos, dozės ir vartojimo trukmė). Nėštumas - tiesioginis efektyvumo įrodymas yra praneštas tik keliose studijose.

Skelbiama, kad kiekvienas mikroelementas atskirai ar jo derinys su kitais turi teigiamą poveikį vaisingumo nepakankamumu arba nevaisingumu besiskundžiančių vyrų sėklos parametrams. Tačiau iki šiol nebuvo pranešimų apie tyrimus, kurių metu vartotas aštuonių iš šių mitybinių medžiagų derinys (kaip atlikta vykdant šį bandomąjį tyrimą), ir jo poveikį SHBA reikšmėms. Šiais tyrimais iš tiesų nustatyta, kad SHBA gali būti naudojama netiesiogiai matuojant spermos DNR vientisumą. Padidėjusi hialurono rūgšties jungiamoji geba reiškia, kad bus sujungta daugiau judrių ir morfologiškai normalių spermijų, turinčių didelį DNR vientisumą, tai reiškia didesnę galimybę pasiekti efektyvų apvaisinimą ir tolesnį normalų nėštumą. Tai, atrodo, svarbus metodas gydant poras, kurioms diagnozuotas vaisingumo nepakankamumas arba nevaisingumas, kadangi mažos DNR vientisumo reikšmės susijusios su mažesne natūralaus pastojimo tikimybe, mažesniu spermos, naudojamos AR metodams, apvaisinimo potencialu, didesniu sutrikusio embriono vystymosi ir persileidimų santykiu bei didesne naujagimių sirgimo tikimybe⁴⁰.

Tiriamas preparatas (*PROfertil®*) buvo visų dalyvių gerai toleruojamas, kokių nors nepageidaujamų reakcijų nenustatyta. Visos sudedamosios dalys buvo kruopščiai tiriamos dešimtmečiais, ir iš toksikologinių duomenų matyti, kad jos nesukelia neigiamo poveikio sveikatai arba potencialių pavojų net ir didesnėmis dozėmis negu vartotos atliekant šį tyrimą.

IŠVADOS

Tirtasis veikliųjų medžiagų junginys (*PROfertil®*) atrodo kaip daug žadantis terapinis metodas, gerinantis hialurono rūgšties spermijų jungiamąją gebą siekiant natūraliai pastoti poroms, kenčiančioms nuo idiopatinio vyrų vaisingumo nepakankamumo arba nevaisingumo.

Išvada: po vaisingumo nepakankamumu arba nevaisingumu besiskundžiančių vyrų gydymo aktyviuoju mikroelementų junginiu jų hialurono rūgšties spermijų jungiamoji geba pagerėja be kokio nors neigiamo poveikio.