

Антиоксиданты в терапии мужского бесплодия

И.И. Горпинченко¹, М.Г. Романюк¹, П.В. Аксенов¹, Ю.Ф. Балацкая², Н.Н. Лысенко¹

¹Украинский институт сексологии и андрологии, г. Киев

²ЮБЛ клиника, г. Киев

×

Цель исследования: определение эффективности препаратов, содержащих L-карнитин (Новофертил и Новокарнитин) в определенных случаях мужского бесплодия. Исследование является проспективным контролируемым.

Материалы и методы. Были обследованы 100 пациентов (в возрасте 20–40 лет) с анамнезом бесплодия с такими показателями спермограммы: концентрация $10\text{--}20 \times 10^6/\text{мл}$, общая подвижность 10–30%, прогрессивная подвижность <15%, атипичные формы <70%, скорость 10–30 мкм/с, линейность <4. Завершили исследование 86 пациентов.

Больные получали терапию препаратом Новофертил по 1 капсуле 2 раза в день и Новокарнитин 3,00 г по 1 флакону в день или базовую гормоноредуцированную терапию (витамины Е и С, цинк, селен); перед терапией был 2-месячный период отбора, затем 2 мес Новофертила совместно с Новокарнитином/базовой терапией, 2 мес контроля, следующие 2 мес перекрестной терапии (базовая терапия/Новофертил и Новокарнитин). Основными исследуемыми показателями были параметры спермограммы, в частности, подвижность.

Результаты. На фоне использования препаратов Новофертил и Новокарнитин отмечалось достоверное улучшение показателей общей и прогрессивной подвижности сперматозоидов, концентрации сперматозоидов (по сравнению с базовой терапией). Улучшение подвижности было более выражено у пациентов с худшими показателями подвижности, в частности <5 млн прогрессивно подвижных сперматозоидов в эякуляте и <2 млн в 1 мл.

Заключение. На основании контролируемого исследования эффективности препаратов Новофертил и Новокарнитин повышается качество спермы, особенно в группах с более низкими начальными показателями.

Ключевые слова: фертильность, мужское бесплодие, олигозооспермия, L-карнитин, подвижность сперматозоидов, митохондрии.

Уровни рождаемости в западных странах достаточно быстро падают. Причины этого снижения очень сложные и включают, прежде всего, социологические изменения (к примеру, урбанизацию, загрязнение воздуха, более позднюю рождаемость). Повышение случаев бесплодия считается возможным последствием ухудшения качества спермы [1–4]. В частности, более 20% пар ожидают наступление беременности дольше чем 12 мес. При этом срок в 12 мес установлен Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) как максимальный лимит у здоровых пар до наступления беременности. Мужской фактор бесплодия представляет около половины проблем бесплодия и на сегодня является серьезной как медицинской, так и социальной проблемой, которая достаточно сложно корректируется [5].

У мужчины может быть проблема с фертильностью на протяжении длительного времени, но узнает он о ней только когда оказывается невозможным зачать ребенка в течение долгого периода. Когда такие мужчины начинают обследоваться, анализ спермограммы оказывается плохим, и начинаются поиски диагноза и возможной причины этого. За исключением некоторых случаев со специфической и диагностируемой этиологией (генетическая, гормональная, инфекционная и др.), одной из наиболее сложных проблем,

с которой мы сталкиваемся, – это перевести наши знания о физиологии сперматогенеза и созревания спермы в обоснование терапии мужского бесплодия [6–10].

Во многих случаях даже расширенная клиническая и лабораторная диагностика может не способствовать установлению диагноза [5].

Большое количество препаратов было предложено для коррекции мужского фактора бесплодия, при олигоастенотератозооспермии (ОАТ) неизвестной этиологии. В то же время было проведено мало контролируемых исследований в связи со сложностями в выборе пациентов и формирования достаточно большой группы для получения статистически достоверных результатов [11–22].

Как следствие, и врачи общей практики, и специалисты (андрологи, эндокринологи, урологи и гинекологи) по всему миру часто назначают для улучшения качества спермы препараты сомнительной эффективности, основанные на спорадических указаниях их эффективности без одобрения GMP.

A. Lenzi и соавторами [16] при помощи контролируемого исследования был изучен эффект антиоксидантной терапии на созревание сперматозоидов и на яичково-придатковое микроокружение. Были получены положительные результаты влияния на сперматозоиды из придатка яичка [23–25]. Таким образом, придаток яичка кажется возможной мишенью влияния на сперматозоиды в случае идиопатической ОАТ.

Физиологической ролью придатка яичка является активная поддержка метаболизма сперматозоида через большое количество составляющих секретируемых или продуцируемых эпителием; среди них – карнитины, которые аккумулируются как в свободном, так и в ацетилированном виде L-карнитина и используются сперматозоидами для митохондриального бета-окисления жирных кислот с длинной цепью, что является основной транспортной системой ацильной группы в митохондриальный коэнзим А [26, 27]. Карнитин также влияет на клеточную ДНК и мембраны, защищая их от повреждения, вызываемого свободными радикалами кислорода [28].

Более того, в начале 90-х годов XX века было проведено пилотное мультицентровое исследование, которое изучало эффективность L-карнитина в определенных случаях ОАТ, и в котором было показано некоторое влияние на подвижность сперматозоидов [29]. Недавнее контролируемое исследование по использованию L-карнитина и L-ацетил карнитина у пациентов с воспалительными заболеваниями половых путей показало, что карнитины являются эффективным методом терапии у пациентов с абактериальным простатовезикулэпидидимитом и повышенным уровнем продуцирования свободных радикалов кислорода, даже при нормальной концентрации лейкоцитов в сперме [30].

В 2005 году в Италии на базе четырех университетов было проведено двойное слепое плацебо-контролируемое рандомизированное исследование использования L-карнитина у мужчин с идиопатической астенозооспермией [44]. 60 мужчин в возрасте 20–40 лет принимали L-карнитин в жидком виде в количестве 3,00 г в сутки (флаконы 10 мл) в течение 6 мес. В результате терапии L-карнитином было отмечено статистически достоверное улучшение поступательной подвижности и жизнеспособности сперматозоидов.

Исследования, проведенные в 2012 году, показали, что комбинированная терапия L-карнитином и поливитаминами была более эффективной и обеспечивала значительное улучшение характеристики спермы, чем монотерапия [45]. Дополнительный прием мультивитаминных комплексов совместно с терапией L-карнитином позволяет повысить общую способность семенной жидкости избавляться от окислительных радикалов и улучшить параметры спермы.

Поэтому в качестве исследуемых препаратов были выбраны Новокарнитин (L-карнитин база 3 г) и Новофертил (мультивитаминный комплекс). В связи с тем, что суточная доза L-карнитина может достигать 9 г в сутки (в частности, в кардиологии при лечении кардиологических заболеваний), дополнительное содержание L-карнитина в составе Новофертила способствует лечению мужского бесплодия.

Цель исследования: определение эффективности препаратов Новофертил и Новокарнитин у пациентов с мужским фактором бесплодия в связи с олигоастенотератозооспермией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование было проведено в Украинском институте сексологии и андрологии. Пациенты, включенные в исследование, были разделены на две группы. В основную группу вошли больные, которые получали препараты, разработанные компанией Новеко Инвест энд Трейд Корп., США: Новофертил (производство Salix, Италия) по 1 капсуле 2 раза в день и Новокарнитин (производство Vigenis, Испания) по 1 флакону в день. В состав препарата Новофертил входят: L-карнитин (250 мг в 1 капсуле) L-аргинин (100 мг в 1 капсуле), L-глутатион (50 мг в 1 капсуле), коэнзим Q10, цинк (135 мг), медь, витамин B6, витамин B12, витамин C (60 мг), витамин D, витамин E (60 мг), фолиевая кислота, селен (20 мкг). В состав Новокарнитина входят: L-карнитин база 3,00 г, фруктоза 2,00 г. Пациенты контрольной группы получали препараты, входящие в стандартную гормоноредуцированную терапию при гипогонадизме или бесплодии – витамин E (по 200 мг 2 раза в сутки), цинк (124 мг 2 раза в сутки), селен (100 мкг 1 раз в сутки) и витамин C (75 мг 2 раза в сутки).

Дизайн исследования: 2 мес отбора пациентов, 2 мес терапии, еще 2 мес отбора, 2 мес другой терапии (больные, принимавшие Новофертил и Новокарнитин, переводились на базовую гормоноредуцированную терапию, и наоборот) и 2 мес наблюдения за пациентами (контроли на T-2, T-1, T0, T+2, T+4, T+6 и T+8). Ежемесячное исследование спермограммы перед началом лечения (T-1, T-2 и T0) проводилось для понимания стабильности состояния спермы пациентов, как рекомендовано ВОЗ [31]. Сегодня не представляется возможным провести множественные анализы спермы после терапии в связи с плохим комплаенсом пациентов и рекомендациями Этического комитета, поэтому известны результаты анализов лишь на контрольных визитах (T+2, T+4, T+6, T+8).

На каждом контрольном визите пациентам проводили такие анализы:

1. Расширенная спермограмма для оценки изменений всех показателей спермы [31].
2. Концентрация карнитина в сперме для оценки возможных изменений его концентраций в течение терапии [32].
3. Концентрация α -гликозидазы в сперме для оценки возможных изменений индекса функции придатка [31].
4. Потенциал перекисного окисления липидов (ПОЛ) в сперме (ПОЛ оценивается при помощи реакции с тиобарбитуровой кислотой) для оценки возможных изменений мембран сперматозоидов [33].

Также отмечался комплаенс пациентов и возможные побочные эффекты.

Улучшение показателей спермы было первичным параметром эффективности в этом исследовании. Основным параметром

был показатель подвижности сперматозоидов (общий и прогрессивный). Хотя наступление беременности не было основной целью исследования, так как в этом показателе сложно избежать многих сопутствующих факторов, мы отмечали беременности, наступившие в течение периода наблюдения, и оценивали предполагаемое время наступившей спонтанной фертилизации (на основании времени последней овуляции перед первым повышением уровня хорионического гонадотропина человека). Это выполнялось для получения вторичного параметра эффективности, а также для того, чтобы можно было в дальнейшем использовать эти данные при мета-анализе с учетом именно показателя наступления беременностей.

Спермограмма

Микроскопию эякулята всех пациентов (семь анализов у каждого) проводил один и тот же лаборант на основании нормативов ВОЗ [31]. Образцы были получены путем мастурбации после 3–5 дней воздержания от секса. Показатели, которые принимали во внимание при микроскопии спермограммы:

- объем (мл) и pH эякулята;
- концентрация спермограммы (млн/мл);
- общее количество сперматозоидов (концентрация \times объем эякулята);
- общая и прогрессивная подвижность сперматозоидов (процент через 1 ч после семяизвержения);
- морфология сперматозоидов (процент атипичных форм);
- скорость сперматозоидов (мкм/с) и линейность (индекс).

Группа исследования и критерии включения

Пациенты, принимавшие участие в исследовании, обратились в Украинский институт сексологии и андрологии за консультацией по поводу бесплодия (с октября 2016 года по декабрь 2017 год). Была отобрана группа из 100 пациентов.

Критерии включения в исследование:

- письменное информированное согласие;
- возраст от 20 до 40 лет;
- бесплодие, которое длится больше двух лет;
- регулярная половая жизнь с партнершей, которая здорова с гинекологической точки зрения, без явного женского фактора бесплодия (что также определялось в клинике – измерение базальной температуры тела, ультразвуковая диагностика яичников и матки, процесс формирования фолликула и овуляции, а также гистеросальпингография).

Специфическими критериями включения было отсутствие:

- общих и эндокринологических заболеваний (по данным физического осмотра, стандартных и гормональных лабораторных исследований);
 - крипторхизма в анамнезе и на момент включения в исследование;
 - инфекций мочеполовых путей или обструкции семявыносящих путей (определялось по бакпосеву спермы, анализа на инфекции, передающиеся половым путем, в мазке из мочеиспускательного канала, а также по биохимическому составу плазмы спермы);
 - варикоцеле и гипоплазии яичка (по данным УЗИ и доплерографии органов мошонки);
 - антиспермальных антител (по данным MAR-теста) [36].
- Ни у одного из пациентов не отмечалось нарушения метаболизма L-карнитина.

Критерии включения по данным спермограммы:

- нормальные реологические свойства спермы (вид, консистенция и разжижение);
- объем и pH в пределах нормы;
- концентрация сперматозоидов – 10–20 млн/мл;
- общая подвижность – 10–30%;
- прогрессивная подвижность <15%;
- количество атипичических форм <70%;

Дисперсионный анализ с повторными измерениями трех результатов спермограмм отборочного периода всех выбранных пациентов (средние ± СО, р значения)

Показатель	T-2	T-1	T0	p
Объем спермы, мл	3,28±1,56	3,21±1,50	3,25±1,58	0,945
Концентрация спермы, млн/мл	15,88±3,17	16,04±4,19	16,17±4,66	0,890
Общая подвижность, %	25,35±5,51	24,14±5,0	25,51±5,18	0,128
Прогрессивная подвижность, %	12,53±3,30	11,67±3,50	12,58±3,74	0,126
Атипичные формы, %	68,57±2,97	68,06±3,07	68,17±2,68	0,441

Таблица 2

Изменения концентрации спермы, общего количества сперматозоидов и сперматозоидов с прогрессивной подвижностью и линейностью во время терапии (базовая терапия/Новофертил+Новокарнитин и наоборот) за исключением данных пяти пациентов (Δ и p значение с применением теста Вилкоксона на 162 циклов терапии)

Лечение	Период 1 (от T0 до T+2)				Период 2 (от T+4 до T+6)			
	Δ[(T+2)-T0]	Δ[(T+2)-T0]	Δ[(T+2)-T0]	Δ[(T+2)-T0]	Δ[(T+6)-(T+4)]	Δ[(T+6)-(T+4)]	Δ[(T+6)-(T+4)]	Δ[(T+6)-(T+4)]
	Общая подвижность сперматозоидов	Прогрессивная подвижность сперматозоидов	Концентрация спермы	Линейность сперматозоидов	Общая подвижность сперматозоидов	Прогрессивная подвижность сперматозоидов	Концентрация спермы	Линейность сперматозоидов
Новофертил	11,0 ^a	16,4 ^b	9,0 ^c	0,6 ^d	3,4 ^a	4,5 ^b	3,7 ^c	0,2 ^d
Базовая терапия	8,8 ^a	13,9 ^b	5,3 ^c	0,4 ^d	-0,1 ^a	0,7 ^b	-0,7 ^c	-0,2 ^d

Примечания: ^a – p=0,04, тест Вилкоксона. ^b – p=0,05, тест Вилкоксона. ^c – p=0,01, тест Вилкоксона. ^d – p=0,03, тест Вилкоксона.

– лейкоциты в сперме <1 млн/мл;

– скорость сперматозоидов и линейность, оцененные при помощи компьютера, 10–30 мкм/с и <4 соответственно.

Эти верхние и нижние границы позволяют включать случаи умеренной олигоастенозооспермии, и были выбраны на основании того, что L-карнитин действует на энергетический метаболизм сперматозоидов и на защиту против окислительного повреждения. Нижние границы позволили исключить тяжелые случаи ОАТ, связанные с необратимым первичным или вторичным поражением ткани яичек, что значительно снизит объективность изучения возможного влияния антиоксидантов на сперматозоиды.

Для включения в исследование пациенты должны были соответствовать описанным выше критериям по показателям спермы при первом контроле эякулята (T-2), поддерживать такие же показатели в течение двух других отборочных тестов (T-1 и T0) и не давать достоверной разницы между тремя спермограммами до начала терапии (T-2, T-1, T0).

Статистический анализ

Были подсчитаны средние и стандартные отклонения (СО) по всем показателям спермы на каждом контрольном визите. К первичным трем анализам спермы был применен дисперсионный анализ с повторными измерениями (ANOVA) для определения разницы между этими контрольными. Для определения гомогенности между основной и контрольной группой в начале исследования использовали t-тест Стьюдента. Эффект от терапии оценивали при помощи критерия знаковых рангов Вилкоксона ($\alpha=0,05$).

Для настоящего сравнения действия гормоноредуцированной терапии и препарата Новофертил на показатели спермограммы и уменьшения влияния первичных показателей на эти изменения, первичный и вторичный анализы проводили по разнице (Δ) между конкретным результатом и первичным показателем. Это было сделано при помощи критерия знаковых рангов Вилкоксона ($\alpha=0,05$). Разница Δ была получена для разницы в показателях спермограммы для каждого кон-

трольного визита (к примеру показатель на T+2 – показатель на T0 и показатель на T+6 – показатель на T+4 соответственно). Эти разницы сравнивались как для показателей в процентах (подвижность), так и для абсолютных показателей (концентрация).

Для определения связи между улучшением показателей спермограммы и концентрацией свободного L-карнитина использовали точный тест Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из 100 пациентов, которые вошли в исследование, 86 его завершили. В течение периода наблюдения было зарегистрировано 18 беременностей. Все беременности наступили в период использования препаратов, содержащих L-карнитин (12 – в течение первого периода терапии и 6 – во время второго периода у пациентов, которые в первом периоде получали базовую терапию). Из 14 пациентов, не завершивших исследование, четверо решили прибегнуть к вспомогательным репродуктивным технологиям (2 – во время активной терапии и 2 – в период базовой терапии), 6 больных не вернулись на второй этап терапии (3 – после комплексной терапии препаратом и 3 – после базовой терапии), 4 из 8 пациентов, у которых наступила беременность во время исследования, решили прекратить дальнейшую терапию (все после активной терапии).

Данные табл. 1 демонстрируют параметры спермограммы, такие, как объем спермы, концентрация сперматозоидов, подвижность и морфология их в течение периода до лечения. Три спермограммы, выполненные до начала лечения, не показали достоверных различий между собой по данным дисперсионного анализа ANOVA в отношении всей популяции пациентов (3х100 анализов). Таким образом, все показатели на визите T0 были приняты для дальнейшего сравнения.

Между группами пациентов достоверной разницы по показателям спермограммы на визите T0 найдено не было. Последовательность прохождения лечения выявилась досто-

Таблица 3

Изменения количества сперматозоидов с прогрессивной подвижностью во время терапии (базовая терапия/Новофертил+Новокарнитин и наоборот) для 55 пациентов с первичным показателем <5 млн прогрессивно подвижных сперматозоидов в эякуляте (средние ± СО абсолютного количества прогрессивно подвижных сперматозоидов в млн, Δ и р значение с применением теста Вилкоксона)

Терапия	Период 1 (от T0 до T+2)			Период 2 (от T+4 до T+6)		
	T0	T+2	Δ	T+4	T+6	Δ
Новофертил	2,9±1,2	14,1±11,0	11,2	2,0±1,7	17,4±28,0	15,4
Базовая терапия	3,3±1,1	10,2±7,3	6,9	2,3±1,4	6,2±7,8	3,9

Примечание: – р=0,03, тест Вилкоксона.

Таблица 4

Изменения количества сперматозоидов с прогрессивной подвижностью во время терапии (базовая терапия/Новофертил +Новокарнитин и наоборот) для 71 пациента с первичным показателем <2 млн прогрессивно подвижных сперматозоидов в мл (средние ± СО абсолютного количества прогрессивно подвижных сперматозоидов в млн, Δ и р значение с применением теста Вилкоксона)

Терапия	Период 1 (от T0 до T+2)			Период 2 (от T+4 до T+6)		
	T0	T+2	Δ	T+4	T+6	Δ
Новофертил	1,5±0,4	6,2±3,9	4,7	1,0±0,6	5,5±8,2	4,5
Базовая терапия	1,4±0,4	5,0±4,0	3,6	1,0±0,7	2,4±2,8	1,4

Примечание: – р=0,02, тест Вилкоксона.

верно значимой для параметров спермограммы. В частности, анализ для общей и прогрессивной подвижности дал результаты р=0,461 и р=0,526 соответственно. Поэтому в окончательный анализ были включены обе последовательности лечения. Так как каждый пациент получал и курс Новофертила и Новокарнитина, и базовый курс терапии, для сравнения мы имеем 172 контрольных показателя.

Пять пациентов в начале терапии (T0) показали нижнюю границу показателя общей подвижности (10%) с некоторым снижением в период отбора (с 30% на T-2 до 10% на T0) и дали достоверную разницу (>30%) между контролем T0 и результатом после первой терапии T+2. Эти изменения подвижности сперматозоидов не связаны с лечением: 3 пациента получали базовую терапию, 2 больных – препарат L-карнитина в первый период лечения. И первый, и второй периоды терапии этих пациентов были исключены из дальнейшего анализа. Таким образом, из общего анализа было исключено 10 контрольных показателей, осталось 162.

Некоторое улучшение показателей спермы отмечалось на фоне базовой терапии. Но статистический анализ изменений показателей спермы до и после применения базовой терапии

и Новофертила показал достоверную разницу между этими видами лечения.

Первая достоверная разница коснулась изменения процентов общей и прогрессивной подвижности сперматозоидов при помощи критерия Вилкоксона. При учете 172 контрольных точек достоверно лучшие изменения были в группе пациентов, принимавших комплекс препаратов. Такая же достоверная разница в улучшении общего процента подвижных и прогрессивно подвижных сперматозоидов (р=0,04 и р=0,05 соответственно) при исключении пяти описанных выше пограничных пациентов (табл. 2). Достоверно значимые положительные результаты отмечались при терапии L-карнитином, по сравнению с базовой терапией, в отношении концентрации сперматозоидов (р=0,01) и показателя линейности сперматозоидов (по данным компьютер-ассистированной спермограммы (КАС) (р=0,03) с учетом исключения пяти описанных выше пациентов (см. табл.2).

Ни при анализе 172, ни при анализе 162 контрольных показателей не было выявлено достоверной разницы в отношении объема спермы, скорости сперматозоидов (КАС), концентрации α-гликозидазы, ПОЛ в сперме, показателя морфологии



Рис. 1. Диаграмма изменения (Δ) абсолютного показателя общей подвижности сперматозоидов в мл с начала исследования до конца терапии Новофертилом (квадратики) или базовой терапией (кружочки). Показатели являются средними ± СО (р=0,008)

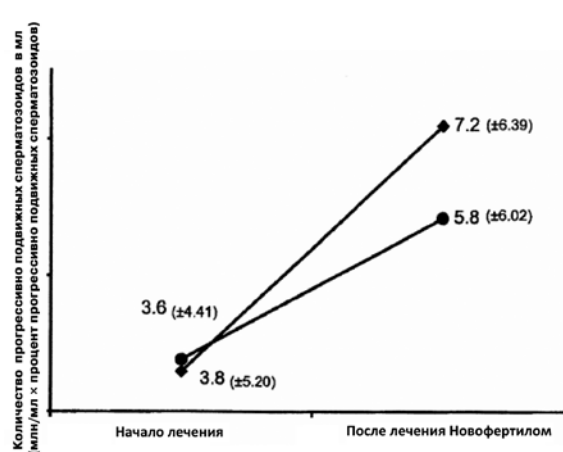


Рис. 2. Диаграмма изменения (Δ) абсолютного показателя прогрессивной подвижности сперматозоидов в мл с начала исследования и до конца терапии Новофертилом (квадратики) или базовой терапией (кружочки). Показатели являются средними ± СО (р=0,006)

сперматозоидов. Хотя в отношении скорости сперматозоидов незначительно более выраженное улучшение наблюдалось в группе пациентов, принимавших Новофертил + Новокарнитин.

Рис. 1 и 2 показывают увеличение общего количества подвижных сперматозоидов (мл) и прогрессивно подвижных сперматозоидов (мл). По критерию Вилкоксона разница между видом терапии была очень достоверной ($p=0,008$ и $p=0,006$ соответственно). Повышение, оцениваемое в Δ прогрессивно подвижных сперматозоидов во время терапии комплексом антиоксидантов, было более выражено для пациентов с худшими показателями. Например, с первичным показателем $<5 \times 10^6$ прогрессивно подвижных сперматозоидов в эякуляте (55 пациентов) и $<2 \times 10^6$ прогрессивно подвижных сперматозоидов в 1 мл (71 пациент). По данным табл. 3 и 4 достоверная разница отмечается между лечением Новофертилом и базовой терапией в отношении абсолютного количества прогрессивно подвижных сперматозоидов ($p=0,03$ и $p=0,02$, соответственно) в этих группах.

В том случае, если концентрация L-карнитина достоверно не улучшалась во время применения комплекса антиоксидантов, при анализе с помощью точного теста Фишера достоверная связь с этим была найдена и в отношении концентрации сперматозоидов, показателя общей и прогрессивной подвижности ($p<0,0001$, $p=0,014$ и $p=0,045$ соответственно).

В последние годы было предложено большое количество вспомогательных репродуктивных методик как решение «мужского фактора бесплодия». Эти методики являются смертельным ударом по андрологии, так как наука значительно замедлила свое развитие в сторону исследования качества спермы. Более того, эти методики послужили тормозом для развития новых методик для улучшения показателей спермограммы.

Контролируемые исследования в этой сфере встречаются с общими проблемами, как и все клинические исследования, но имеют и дополнительные трудности:

- критерий отбора пациентов;
- приемлемость пациентами базовой (малоактивной) терапии;
- показатели, которые нужно анализировать;
- параметры спермограммы (которые очень вариабельны);
- функциональные тесты по сперме (до сих пор не стандартизированы);
- показатель спонтанных беременностей (связь с женским фактором);
- высокая частота оплодотворения *in vitro*.

К сожалению, по этим причинам многие препараты, используемые для лечения мужского фактора бесплодия, не имеют четкого обоснования. Такие терапии часто назначаются без точных дозировок и курсов, не имеют положительного эффекта, а те улучшения, которые регистрируются, могут быть связаны с физиологическими колебаниями показателей спермы у мужчин. Некоторые из этих терапий уже были предложены в литературе в прошлом и каждый раз встречали значительную критику [38]. Основной их задачей являлось улучшение сперматогенеза, стимуляция выработки лучших популяций сперматозоидов и влияние на созревание спермы на энергетический метаболизм и на яичково-придатковое микроокружение.

Дозревание сперматозоидов может быть достаточно интересной целью для терапии, особенно на уровне придатков яичек, где сперматозоиды уже сформированы и менее поддаются гормональным изменениям в организме. В придатках яичек эпителий выделяет несколько яичковых факторов, а также выбирает важные вещества из крови, формирует необходимое окружение для созревания сперматозоидов и улучшения их подвижности. Среди этих веществ, L-карнитин выделяется из плазмы, переводится в жидкость канальцев придатков и аккумулируется в ней как в виде свободного, так и в виде ацетилированного L-карнитина. В придатке яичка концентрация этого вещества в сотни раз выше, чем в плазме крови.

Свободный L-карнитин впервые был выделен из мышечной ткани быка в 1905 году, его структура установлена в 1927 году [26]. В первую очередь он известен по своей биологической значимости в митохондриальном бета-окислении жирных кислот с длинными цепями, что было показано Fritz в 1963 году. Перед тем как войти в митохондрию, жирные кислоты должны быть активированы, к примеру должны связаться с коэнзимом А для формирования ацил-CoA. Длинные цепи молекул ацил-CoA не могут переходить через внутреннюю митохондриальную мембрану и требуют специальную транспортную систему энзимов. После транспортировки ацилированного соединения в митохондрию ацил-карнитин передает эту группу митохондриальному CoA и становится свободным карнитином для начала нового транспортного цикла [26].

Карнитин также действует в клеточной мембране как вещество «против старения», защищающее ее от влияния свободных радикалов. Он предотвращает окисление протеинов, а также пируватное и лактатное окислительное повреждение. У людей 75% карнитина поступает из пищи, как и другие водорастворимые вещества, а 25% синтезируется из лизина и метионина [27].

Из всех упомянутых выше факторов влияния карнитина на клеточный метаболизм и из результатов ранее полученных неконтролируемых исследований [29], мы выбрали L-карнитин как возможный фактор, который влияет на мужское бесплодие, и провели описанное выше исследование. Были использованы двухмесячные периоды лечения карнитином (препарат Новофертил) и базовая гормоноредуцированная терапия для определения четкого эффекта карнитина на сперматозоиды и поздние этапы сперматогенеза.

В исследовании были включены пациенты с жесткими критериями отбора для уменьшения количества факторов, которые могут повлиять на результаты. Период отбора состоял из трех анализов спермограммы перед началом терапии с целью минимизации спонтанных изменений спермы, которые могут значительно изменить результат. Дальше были проведены два последовательных перекрестных периода лечения: пациенты, получавшие карнитин в первом цикле, во втором переходили на базовую терапию и наоборот.

Активная терапия давала лучшие результаты в первый период лечения, чем во второй. На основании этого можно предположить наличие некоторого психологического компонента даже при бесплодии. Применение любой терапии, первичная забота о пациенте и более частые консультации могут влиять на улучшение показателей спермы.

Было отмечено, что концентрация карнитина в сперме достоверно не увеличилась во время применения комплекса антиоксидантов. Хотя известным фактом является то, что активность карнитина не связана с концентрацией в биологических жидкостях [26, 28]. Это объясняется тем, что карнитин действует на межклеточном уровне, поэтому, возможно, необходимо оценивать какие-либо молекулярные или метаболические изменения, вызванные терапией. В частности, это играет роль и для спермы, в которой высокая концентрация карнитина. Поэтому не нужно удивляться незначительным изменениям в показателях карнитина в эякуляте. Всплеск в сыворотке и в сперме может отмечаться некоторое время после перорального приема препарата, но в течение времени изменения в сперме недостоверны.

Однако, несмотря на то, что концентрации L-карнитина в сперме достоверно не увеличились, были отмечены достоверные изменения эякулята у пациентов, принимавших карнитин, по сравнению с теми, кто принимал базовую терапию. Уже это улучшение статистически достоверно связано с повышением концентрации карнитина в сперме. Это значит, что хоть изменения концентрации карнитина в сперме недостоверны на фоне использования Новофертила и Новокарнитина, однако изменения качества спермы связаны с минимальными всплесками этого антиоксиданта в эякуляте.

Более того, отсутствие достоверного увеличения α -гликозидазы свидетельствует об отсутствии повышения функционирования придатков яичек. Незначительные изменения показателя ПОЛ в сперме говорят об отсутствии прямого влияния препарата на состав жирных кислот мембран сперматозоидов. Именно антиоксидантная активность на фоне короткого периода лечения (2 мес) оказывает основное влияние на микроокружение сперматозоидов.

Наиболее ожидаемый эффект с прогностической точки зрения на фертильность пациентов – это нарушенная подвижность сперматозоидов. Причиной этого эффекта является метаболическое энергетическое влияние L-карнитина и его действие как антиоксидантного вещества [39]. На основании показателей «подвижные сперматозоиды/мл» и «подвижные сперматозоиды/эякулят» 86 пациентов разница между улучшением этих показателей в группах Новофертил + Новокарнитин и базовой терапии была достоверной. Достоверное улучшение линейности движений сперматозоидов и незначительное увеличение средней скорости сперматозоидов на фоне карнитина говорят о его влиянии на качественные механизмы кинетики сперматозоидов.

Интересным фактом является то, что больший эффект карнитина отмечался у пациентов с худшими показателями подвижности. Можно предположить, что даже при угнетении сперматогенеза биохимический дефицит в энергетическом метаболизме митохондрий у таких пациентов может быть скорректирован высокой дозой карнитина. Кроме того, эти результаты говорят о возможном действии L-карнитина даже в случаях тяжелой ОАТ (к примеру, при подвижности <10%), что можно учесть в разработке терапии для пациентов с мужским фактором бесплодия.

Если влияние на подвижность сперматозоидов предположительно было связано с метаболическим действием карнитина, влияние на концентрацию сперматозоидов оказалось неожиданным. Свойства карнитина не позволяют нам ожидать прямого его эффекта на первую фазу сперматогенеза, а лишь на созревание сперматозоидов. Кроме того, длительность применения препарата не дало захватить весь цикл сперматогенеза (около 75 дней), поэтому оценить эффект на весь цикл сперматогенеза мы не можем.

Однако выявленный эффект на концентрацию спермы может быть связан с неизвестным влиянием на взаимодей-

ствие клеток Сертоли и сперматогенного ряда клеток или на постмейотические фазы сперматогенеза (например, стабильность хроматина или митохондриальная функция сперматозоидов или сперматид), или на улучшение гомеостаза и качества микроокружения в придатках, что может уменьшить фагоцитоз гамет на этом уровне, что увеличит количество эякулируемых сперматозоидов.

Отсутствие влияния на морфологию спермы подтверждает нашу теорию о пост-тестикулярном эффекте L-карнитина.

Наконец, хоть беременность и не являлась параметром оценки эффективности в данном исследовании, но восемь беременностей, которые произошли *in vivo*, наступили на фоне применения Новофертила+Новокарнитина. Учитывая длительный анамнез бесплодия у всех пациентов в исследовании, это дает нам возможность также предположить о положительном влиянии карнитина на качество спермы и ее способность к оплодотворению.

Для подтверждения всего сказанного выше, необходимо провести исследования *in vitro* карнитина на метаболизм мужских гамет на молекулярном и клеточном уровне.

ВЫВОДЫ

Общей рекомендацией является то, что как репродуктологи, так и врачи общей практики должны обучаться андрологическим знаниям, чтобы выявлять и лечить патологии, связанные со снижением мужской фертильности, к примеру, крипторхизм, варикоцеле, инфекции, передающиеся половым путем, факторы риска со стороны внешней среды или рабочих условий и образа жизни [40–43].

Если видимых андрологических причин не найдено, при мужском бесплодии необходимо использовать только те препараты, которые подтвердили свою эффективность в контролируемых исследованиях. Препараты Новофертил (производство Salix, Италия) и Новокарнитин (производство Virens, Испания), содержащий 3 г L-карнитин базы, прошли такое исследование, в котором был выявлен интересный положительный эффект на параметры эякулята, в частности на подвижность и концентрацию сперматозоидов.

Антиоксиданти у терапії чоловічої безплідності

I.I. Gorpynchenko, M.G. Romanyuk, P.V. Aksonov, Y.F. Balatska, M.M. Lysenko

Мета дослідження: визначення ефективності препаратів, що містять L-карнітин (Новофертил та Новокарнітин) у певних випадках чоловічої безплідності. Дослідження є проспективним контрольованим.

Матеріали та методи. Були обстежені сто пацієнтів (у віці 20–40 років) з анамнезом безплідності з такими показниками спермограми: концентрація $10\text{--}20 \times 10^6/\text{мл}$, загальна рухливість 10–30%, прогресивна рухливість <15%, атипів форми <70%, швидкість 10–30 мкм/с, лінійність <4. Завершили дослідження 86 пацієнтів. Хворі отримували терапію препаратом Новофертил по 1 капсулі 2 рази на день та Новокарнітин 3,00г по 1 флакону раз на день або базову гормонредуковану терапію (вітаміни E та C, цинк, селен); перед терапією був 2-місячний період відбору, потім 2 міс Новофертилу+Новокарнітину/базової терапії, 2 міс контролю, наступні 2 міс перехресної терапії (базова терапія/Новофертил+Новокарнітин). Основними досліджуваними показниками були параметри спермограми, зокрема, рухливість.

Результати. На тлі використання препаратів Новофертил та Новокарнітин відзначали достовірне поліпшення показників загальної і прогресивної рухливості сперматозоїдів, концентрації сперматозоїдів (порівняно з базовою терапією). Поліпшення рухливості було більш виражено у пацієнтів з гіршими показниками рухливості, зокрема <5 млн прогресивно рухливих сперматозоїдів в еякуляті і <2 млн в 1 мл.

Заключення. На підставі контрольованого дослідження ефективності препаратів Новофертил та Новокарнітин, що містять L-карнітин, вони є ефективним щодо підвищення якості сперми, особливо у групах з більш низькими початковими показниками.

Ключові слова: фертильність, чоловіча безплідність, олигозооспермія, L-карнітин, рухливість сперматозоїдів, митохондрії.

Antioxidants in the treatment of male infertility.

I.I. Gorpynchenko, M.G. Romanyuk, P.V. Aksonov, Y.F. Balatska, N.N. Lysenko

The objective: the study was to determine the efficacy of the drugs containing L-carnitine (Novofertil and Novocarnitine) in certain cases of male infertility. The study is prospective and controlled.

Materials and methods. One hundred patients (aged 20–40 years) with anamnesis of infertility with such parameters of spermogram – concentration $10\text{--}20 \times 10^6/\text{ml}$, total motility 10–30%, progressive motility <15%, atypical forms <70%, speed 10–30 $\mu\text{m/s}$, linearity <4. 86 patients completed the study.

Patients received Novofertil therapy 1 capsule 2 times a day and Novocarnitine 1 vial 3.00 g ones per day or basic therapy (vitamins E and C, zinc, selenium); before the therapy was a 2-month washout period, then 2 months of Novofertil /base therapy, 2 months of follow-up, the next 2 months of cross therapy (basic therapy / Novofertil). The main parameters studied were spermogram parameters, in particular, motility.

Results. Against the background of the use of Novofertil and Novocarnitine, there was a significant improvement in the parameters of total and progressive sperm motility, sperm concentration (compared with baseline). Improvement of motility was more pronounced in patients with worse motility rates, in particular <5 mln of progressively motile spermatozoa in the ejaculate and <2 million in ml.

Conclusion. Based on a controlled study, the efficacy of Novofertil and Novocarnitine is effective in improving sperm quality, especially in groups with lower initial parameters.

Key words: fertility, male infertility, oligozoospermia, L-carnitine, motility of spermatozoa, mitochondria.

СУЧАСНИЙ КОМПЛЕКС ДЛЯ ПОКРАЩЕННЯ РЕПРОДУКТИВНОЇ ТА СЕКСУАЛЬНОЇ ФУНКЦІЙ У ЧОЛОВІКІВ



НОВОФЕРТИЛ® 60 капсул
ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ ХАРЧОВИЙ ПРОДУКТ



СБАЛАНСОВАНА ФОРМУЛА НОВОФЕРТИЛУ
МІСТИТЬ КОМПЛЕКС БІОЛОГІЧНО АКТИВ-
НИХ РЕЧОВИН, ВІТАМІНІВ, АМІНОКИСЛОТ ТА
МІКРОЕЛЕМЕНТІВ, ПОТРІБНИХ ДЛЯ ПОЛІП-
ШЕННЯ СПЕРМАТОГЕНЕЗУ

НОВОКАРНІТИН® флакон 10 мл.

МІСТИТЬ 3 г L-КАРНІТИНУ БАЗИ, ФРУКТОЗУ ТА
ЛИМОННУ КИСЛОТУ.

ПОКРАЩУЄ РУХЛИВІСТЬ ТА ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ
СПЕРМАТОЗОЇДІВ.

ДОДАТКОВИЙ ПРИЙОМ КАРНІТИНУ СПРИЯЄ
РУЙНУВАННЮ ЖИРІВ І ПІДВИЩУЄ АДАПТАЦІЙНІ
МОЖЛИВОСТІ ОРГАНІЗМУ ЛЮДИНИ.



- Горпинченко Игорь Иванович** – Украинский институт сексологии и андрологии, 04053, г. Киев, ул. В. Винниченко, 9а.
E-mail: sexology@sexology.kiev.ua
- Романюк Максим Григорьевич** – Украинский институт сексологии и андрологии, 04053, г. Киев, ул. В. Винниченко, 9а.
- Аксёнов Павел Валериевич** – Украинский институт сексологии и андрологии, 04053, г. Киев, ул. В. Винниченко, 9а; тел.: (067) 992-67-03. E-mail: aksyonov-pv@bigmir.net
- Балацкая Юлия Фахрадиновна** – ЮБЛ клиника, 04074, г. Киев, ул. Вышгородская, 4
- Лысенко Николай Николаевич** – Украинский институт сексологии и андрологии, 04053, г. Киев, ул. В. Винниченко, 9а

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE. Evidence for decreasing quality of semen during the past 50 years. *Br Med J* 1992;305:609–13.
- Auger J, Kunstmann JM, Czyglik F, Jouannet P. Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *N Engl J Med* 1995;332:281–5.
- Gandini L, Lombardo F, Culasso F, Dondero F, Lenzi A. Myth and reality of the decline in semen quality: an example of the relativity of data interpretation. *J Endocrinol Invest* 2000;23:402–11.
- Swan SH, Elkin EP, Fenster L. The question of declining sperm density revisited, an analysis of 101 studies published 1934–1996. *Environ Health Perspect* 2000;108:961–6.
- WHO manual for the standardized investigation, diagnosis and management of the infertile male. Rowe P, Comhaire F, Hargreave B, Mahmoud A, eds. Cambridge: Cambridge University Press: 2000:37–60.
- Nieschlag E. Care for the infertile male. *Clin Endocrinol* 1993;38:123–33.
- O'Donovan PA, Vandekerckhove P, Lilford RJ, Hughes E. Treatment of male infertility: Is it effective? Review and Meta-analyses of published randomized controlled trials. *Hum Reprod* 1993;8:1209–22.
- Kamischke A, Nieschlag E. Analysis of medical treatment of male infertility. *Hum Reprod* 1999;14(Suppl 1):1–23.
- Adamopoulos DA. Present and future therapeutic strategies for idiopathic oligozoospermia. *Int J Androl* 2000;23:320–31.
- Oehninger S. Clinical and laboratory management of male infertility: an opinion on its current status. *J Androl* 2000;21:814–21.
- Scottish Infertility Group. The effect of clomiphene citrate and vitamin C for male infertility: a randomized trial. *Brit J Urol* 1982;54:780–4.
- Scottish Infertility Group. The effect of mesterolone versus vitamin C for male infertility: a randomized trial. *Brit J Urol* 1984;56:740–4.
- Knuth UA, Honingl W, Bals-Pratsch M, Schleicher G, Nieschlag E. Treatment of severe oligozoospermia with hCG/hMG, a placebo-controlled, double blind trial. *J Clin Endoc Metab* 1987;65:1081–7.
- World Health Organization. Mesterolone and idiopathic male infertility, a double blind study. *Int J Androl* 1989;12:254–9.
- World Health Organization. A double-blind trial of clomiphene citrate for the treatment of idiopathic male infertility. *Int J Androl* 1992;15: 299–307.
- Lenzi A, Culasso F, Gandini L, Lombardo, Dondero F. Placebo-controlled, double-blind, cross-over trial of glutathione therapy in male infertility. *Hum Reprod* 1993;8:1657–62.
- Keck C, Behre HM, Jockenho'vel F, Nieschlag E. Ineffectiveness of kallikrein in treatment of idiopathic male infertility: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Hum Reprod* 1994;9:325–9.
- Kessopoulou E, Powers HJ, Sharma KK, Pearson MJ, Russell JM, Cooke ID, et al. A double blind randomized placebo controlled trial using the antioxidant vitamin E to treat oxygen species associated male infertility. *Fertil Steril* 1995;64:825–31.
- Vandekerckhove P, Lilford R, Hughes E. The medical treatment of idiopathic oligo/asthenospermia, androgens (mesterolone or testosterone) versus placebo or no treatment. In: Lilford R, Hughes E, Vandekerckhove P, eds. Subfertility module of the Cochrane database of systematic reviews. Oxford: The Cochrane Library, Update Software, 1996.
- Vandekerckhove P, Lilford R, Hughes E. The medical treatment of oligo/asthenospermia, anti-oestrogens (clomiphene or tamoxifen) versus placebo or no treatment. In: Lilford R, Hughes E, Vandekerckhove P, eds. Subfertility module of the Cochrane database of systematic reviews. Oxford: The Cochrane Library, Update Software, 1998.
- Kamischke A, Behre HM, Bergmann M, Simoni M, Schafer T, Nieschlag E. Recombinant human follicle stimulating hormone for treatment of male idiopathic infertility: a randomized, double-blind, placebo- controlled, clinical trial. *Hum Reprod* 1998;13:596–603.
- Rolf C, Cooper TG, Yeung CH, Nieschlag E. Antioxidant treatment of patients with asthenozoospermia a moderate oligoasthenozoospermia with high-dose vitamin C and vitamin E: a randomized, placebocontrolled, double blind study. *Hum Reprod* 1999;14:1028–33.
- Lenzi A, Picardo M, Gandini L, Lombardo F, Terminali O, Passi S, et al. Glutathione treatment of dyspermia: effect on the lipoperoxidation process. *Hum Reprod* 1994;9:2044–50.
- Lenzi A, Picardo M, Gandini L, Dondero F. Lipids of sperm plasma membrane: from polyunsaturated fatty acid considered as markers of sperm function to possible scavenger therapy. *Hum Reprod Update* 1996;2:246–56.
- Lenzi A, Gandini L, Picardo M. A rationale for glutathione therapy. In debate on: is antioxidant therapy a promising strategy to improve human reproduction? *Hum Reprod* 1998;13:1419–22.
- Frenkel RA, Mc Garry JD, eds. Carnitine biosynthesis, metabolism and function. [Italian edition] New York: Academic Press, 1984.
- Peluso G, Nicolai R, Reda E, Benatti P, Barbarisi A, Calvani M. Cancer and anticancer therapy-induced modifications on metabolism mediated by carnitine system. *J Cell Physiol* 2000;182:339–50.
- Arduini A. Carnitine and its acyl esters as secondary antioxidants? *Am Heart J* 1992;123:1726–7.
- Costa M, Canale D, Filicori M, D'Iddio S, Lenzi A. L-carnitine in idiopathic asthenozoospermia, a multicenter study. *Andrologia* 1994; 26:155–9.
- Vicari E, Calogero AE. Effects of treatment with carnitines in infertile patients with prostatic-vesiculo-epididymitis. *Hum Reprod* 2001;16: 2338–42.
- World Health Organization. Laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction, 4th ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1999.
- Soufir JC, Marson J, Jouannet P. Free L-carnitine in human seminal plasma. *Int J Androl* 1981;4:388–97.
- Aitken RJ, Clarkson JS, Fishel S. Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation and human sperm function. *Biol Reprod* 1989; 41:183–97.
- Gandini L, Menditto A, Chiodo F, Lenzi A. Italian pilot study for an external quality control scheme in semen analysis and antisperm antibiotics detection. *Int J Androl* 2000;23:1–3.
- Lenzi A. Computer-aided semen analysis (CASA) 10 years later, a test-bed for the European scientific andrological community. *Int J Androl* 1997;20:1–2.
- Dondero F, Gandini L, Lombardo F, Salacone P, Caponecchia L, Lenzi A. Antisperm antibody detection: 1. Methods and standard protocol. *Am J Reprod Immunol* 1997;38:218–23.
- Bolton S. Pharmaceutical statistics practical and clinical application. New York: Marcell Dekker, 1997:410–5.
- Nieschlag E, Leifke E. Empirical therapies for male idiopathic infertility. In: Nieschlag E, Behre G, eds. *Andrology: male reproductive health and dysfunction*. Berlin: Springer Verlag, 1997:313–24.
- Ruiz-Pesini E, Alvarez E, Enriquez JA, Lopez-Perez MJ. Association between seminal plasma carnitine and mitochondrial enzymatic activities. *Int J Androl* 2001;24:335–40.
- Comhaire F. Clinical andrology: from evidence-base to ethics. The "E" quintet in clinical andrology. *Hum Reprod* 2000;15:2067–71.
- Radford JA. Is prevention of sterility possible in men? *Ann Oncol* 2000;11(Suppl 3):173–4.
- Sandlow JI. Shattering the myths about male infertility. Treatment of male factors may be more successful and cost-effective than you think. *Postgrad Med* 2000;107:235–9.
- Falcone T. What the internist needs to know about infertility. *Cleve Clin J Med* 2001;68:65–72.
- Giancarlo Balercia, Francesco Regoli, Tatiana Arnebi, Aleardo Koverech, Franco Mantero, Marco Boscaro. Placebo-controlled double-blind randomized trial on the use of L-carnitine, L-acetylcarnitine, or combined L-carnitine and L-acetylcarnitine in men with idiopathic asthenozoospermia. *Fertility and Sterility* 2005;84:3.
- Jehan J. Aram, Kassim J. Al-Shamma, Ansam N. Al-Hassani, Effect of L-carnitine, Multivitamins and their Combination in the Treatment of Idiopathic Male Infertility. *Iraqi J Pharm Sci*, Vol.21(1) 2012

Статья поступила в редакцию 29.03.2018