

ФАРМАКОЛОГИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ

DOI: 10.30906/0869-2092-2022-85-2-11-15

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ПРОСТАТИЛЕН® АЦ НА УРОВЕНЬ ФРАГМЕНТАЦИИ ДНК СПЕРМАТОЗОИДОВ И АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ СПЕРМОПЛАЗМЫ У ПАЦИЕНТОВ С БЕСПЛОДИЕМ

И. Б. Яковлев¹, С. В. Теплых², М. А. Рыбалов³, С. Ю. Боровец³,
В. Б. Василюк⁴, М. В. Фарапонова⁴, А. А. Краснов⁵, С. В. Петленко⁶, В. А. Апрятина⁷

В двойном слепом рандомизированном плацебо-контролируемом в параллельных группах многоцентровом клиническом исследовании IV фазы препарат экстракта простаты в комплексе с цинка аргинил-глицинатом (суппозитории ректальные Простатилен® АЦ, 30 мг + 180 мг, курс 10 дней) вызывал уменьшение относительного количества сперматозоидов с фрагментированной ДНК после 1-го 10-дневного курса терапии на 19,75 % ($p < 0,001$), после 2-го 10-дневного курса — на 23,07 % ($p < 0,001$) по сравнению с группой плацебо и повышение антиоксидантной активности спермоплазмы после 1-го курса на 6,72 % ($p = 0,02$), после 2-го курса на 23,7 % ($p = 0,0049$) по сравнению с группой плацебо. Первый и второй курсы препарата Простатилен® АЦ не влияли на уровень простатспецифического антигена. Препарат продемонстрировал благоприятный профиль безопасности у пациентов с нарушением сперматогенеза.

Ключевые слова: сперматогенез; фрагментация ДНК; простаты экстракт; цинка аргинил-глицинат; Простатилен® АЦ; бесплодие.

ВВЕДЕНИЕ

Традиционно специалисты по репродуктивной медицине значительное внимание уделяют женскому здоровью и лишь в недавнее время проблема мужского бесплодия стала обсуждаться в рамках комплекса мероприятий прегравидарной подготовки [3, 7]. Исследователи сосредоточились на оценке эффективности пептидов, выделенных из предстательной железы, фитопростатопротекторов, цинка, селена, витаминов А, С, Е, В12, А, D, карнитина, глутатиона, коэнзима Q10

и широкого спектра антиоксидантов [4]. Большая часть подобных средств относится к биологически активным добавкам, клинические данные по эффективности которых носят невысокий уровень доказательности, так как в основном опираются на наблюдательные исследования. Зарегистрированные лекарственные препараты, представляющие собой биологические пептиды показаны для лечения хронического простатита, а экстракт простаты в комплексе с цинка аргинил-глицинатом для лечения простатита, в том числе с нарушением сперматогенеза. Исследования ряда авторов, посвященные изучению влияния таргетной терапии на количество сперматозоидов с фрагментацией ДНК, свидетельствуют, что снижение числа таких сперматозоидов (увеличение относительного количества нормальных форм клеток) клинически значительно улучшает показатели мужской фертильности. Так, в исследовании M. Smit, et al. [15] показано, что снижение степени фрагментации ДНК сперматозоидов на 5 % (с 35,2 до 30,2 %) на фоне проводимой терапии привело к наступлению спонтанной беременности у 37 % половых партнерш пациентов с мужским бесплодием. Учитывая вышеизложенное, оценка влияния исследуемого препарата на уровень фрагментации ДНК сперматозоидов выбрана в качестве косвенного маркера повышения фертильности пациентов с бесплодием.

Цель исследования — оценка влияния ректальных суппозиторий Простатилен® АЦ на уровень фрагмен-

¹ ФГБОУ ВО “Марийский государственный университет”, Россия, 424000, Республика Марий Эл, Йошкар-Ола, пл. Ленина, д. 1.

² ООО “Профессорская клиника”, Россия, 614070, Пермь, ул. Дружбы, 15а.

³ ФГБОУ ВО “Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И. П. Павлова” Минздрава РФ, Россия, 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6–8.

⁴ ООО “Научно-исследовательский центр Эко-безопасность”, Россия, 196105, Санкт-Петербург, пр. Ю. Гагарина, д. 65, лит. А, часть пом. 8-Н.

⁵ Российский Государственный Педагогический Университет имени А. И. Герцена, Россия, 191186, Санкт-Петербург, наб. реки Мойки, д. 48.

⁶ ФГБУН Институт токсикологии ФМБА России, Россия, 192019, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, д. 1.

⁷ Автономная некоммерческая организация научно-исследовательский центр “Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии”, Россия, 197110, Санкт-Петербург, пр. Динамо, д. 3.

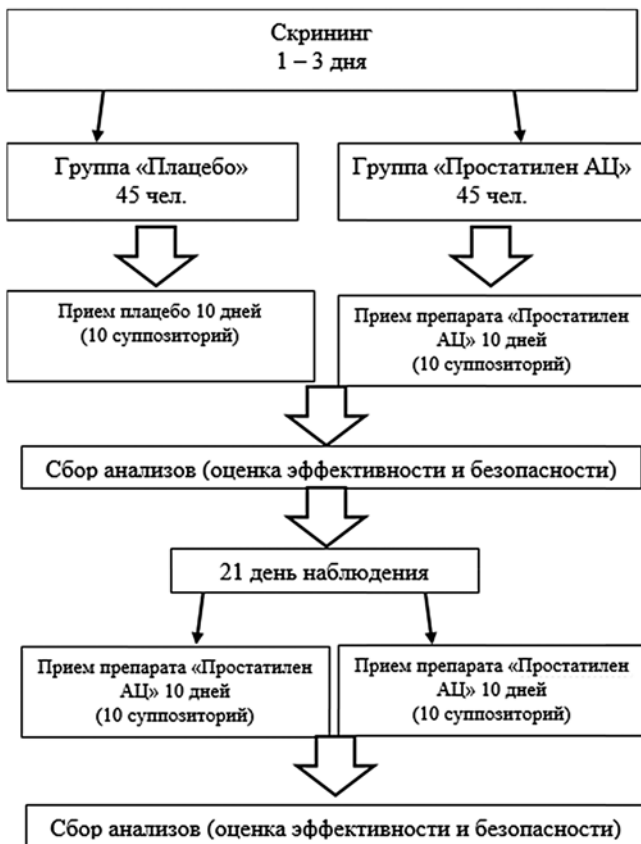


Рис. 1. Дизайн исследования.

тации ДНК сперматозоидов и антиокислительной активности спермоплазмы у пациентов с бесплодием.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дизайн исследования: двойное слепое рандомизированное плацебо-контролируемое в параллельных группах многоцентровое IV фазы клиническое исследование эффективности и безопасности препарата Простатилен® АЦ.

Исследование было проведено в соответствии с этическими принципами Хельсинкской декларации (1964 г. с последующими дополнениями, включая версию 2013 г., Форталеза). На этапе скрининга в соответствии с критериями включения-невключения из 183 пациентов в исследование было отобрано 90 человек по результатам комплексного клинико-лабораторного обследования, включавшего: физикальный осмотр, термометрию, измерение АД, ЧД, ЧСС, выполнение ЭКГ, клинический анализ крови, биохимический анализ крови, общий анализ мочи (ОАМ), определение уровня простатспецифического антигена (ПСА), маркеров гепатитов В и С, ВИЧ и сифилиса в крови, мазок из уретры для теста “Андрофлор”, тест на количественное определение антиспермальных антител IgG (прямой MAR-тест) и теста на фрагментацию ДНК сперматозоидов (ФДНКС), определение антиоксидантной активности спермоплазмы: общая антирадикаль-

ная активность (ОАРА) и активность супероксиддисмутазы (СОД), УЗИ предстательной железы и органов мошонки. В исследовании участвовали мужчины, подписавшие информированное согласие, в возрасте от 25 до 45 лет с относительным содержанием в эякуляте сперматозоидов с фрагментацией ДНК более 15 %, но не более 50 % (по данным проточной цитофлуориметрии — метод TUNEL, где норма — менее 15 %), а также с установленным фактом бесплодия в браке: отсутствие беременности в течение минимум 1 года при наличии постоянной половой партнерши без применения методов контрацепции.

Пациенты были рандомизированы в 2 группы по 45 человек. Пациенты основной группы получали курс терапии препаратом Простатилен® АЦ, содержащий простаты экстракт 0,03 г + цинка аргинил-глицинат 0,18 г ректально, один раз в сутки, в течение 10 дней. Пациентам группы сравнения назначался препарат-плацебо суппозитории (парафин жидкий 0,06 г, жир твердый Витепсол) ректально, один раз в сутки, в течение 10 дней. По окончании первого курса проводили контрольный осмотр, термометрию, измерение АД, ЧД, ЧСС, ЭКГ, регистрацию нежелательных и серьезных нежелательных явлений (НЯ/СНЯ), клиническое, биохимическое исследования крови, ОАМ, определение уровня ПСА; сбор эякулята для оценки параметров MAR- теста и теста на ФДНКС, определение антиоксидантной активности спермоплазмы.

Через 21 день наблюдения после 1-го курса всем пациентам обеих групп в течение 10 дней назначали исследуемый препарат Простатилен® АЦ. По окончании повторного курса терапии проводили контрольное обследование по указанным выше показателям. Дизайн исследования представлен на рис. 1.

Дизайн (применение препарата в группе плацебо на втором курсе) позволил оценить эффективность 1 курса препарата против плацебо и эффективность 2-х курсов против 1-го.

В качестве первичного критерия эффективности принимали уменьшение относительного количества сперматозоидов с ФДНКС более чем на 5 % пункта после 1-го курса лечения в сравнении с плацебо, вторичными параметрами эффективности считали уменьшение относительного количества сперматозоидов с ФДНКС после 2-го курса лечения и усиление ОАРА и СОД спермоплазмы после приема исследуемого препарата.

Для проведения статистического анализа был использован пакет статистических программ “Statistica 12.0 for Windows”. За уровень статистической значимости принято значение $p < 0,05$. Оценку динамики показателей проводили с использованием критерия Уилкоксона, при межгрупповых сравнениях применялся критерий Манна — Уитни. Оценку значимости различий показателей проводили с использованием плацебо-контроля и различий в изменениях показателей относительно исходных значений в сравниваемых

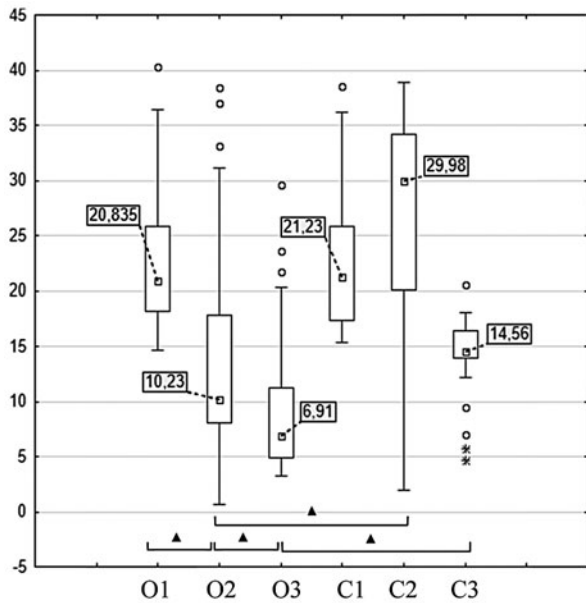


Рис. 2. Доля сперматозоидов с фрагментированной ДНК у пациентов с бесплодием после терапии препаратом Простатилен® АЦ.

Примечание:

▲ — статистически значимые различия, $p < 0,001$. По оси ординат: фрагментация ДНК сперматозоидов, %.

По оси абсцисс: О — основная группа, получавшие Простатилен® АЦ в двух курсах и С — группа сравнения, получавшие плацебо и Простатилен® АЦ. 1 — скрининг, 2 — после 1-го курса терапии, 3 — после 2-го курса терапии.

Представлены медианы, 25 и 75 % квартили, края статистически значимой выборки, выбросы значений показателя и экстремальные выбросы.

группах. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного интервала (25-й и 75-й квартили), обозначаемые как Ме [25; 75].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Препарат Простатилен® АЦ вызвал уменьшение относительного количества сперматозоидов с ФДНКС после 1-го курса в 2,93 раз ($p < 0,001$) в сравнении с плацебо (рис. 2).

Из полученных данных (рис. 2) можно сделать вывод о том, что после 1-го курса терапии у пациентов, получавших Простатилен® АЦ, доля сперматозоидов с фрагментацией ДНК статистически значимо меньше в сравнении с результатами в группе получавших плацебо ($U = 366,0$; $Z = -4,24$; $p = 0,000022$). При анализе динамики показателя в основной группе наблюдали статистически значимое снижение ФДНКС в 2,04 раза ($T = 75,00$; $Z = 4,901$; $p = 0,000001$) до показателей нормы (до 10,23 % [8,12; 17,9]).

Анализ результатов второго курса терапии исследуемым препаратом также показал статистически значимые более низкие значения доли сперматозоидов с фрагментацией ДНК в исследуемой группе в сравнении с контрольной группой ($U = 312,0$; $Z = -4,42$; $p = 0,00004$). У пациентов, изначально получавших плацебо, на 2-м курсе на фоне приема препарата Про-

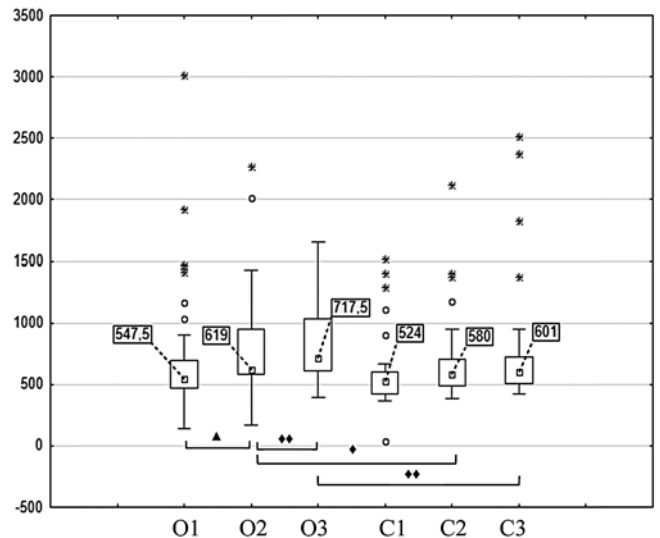


Рис. 3. Влияние препарата Простатилен® АЦ на уровень антиоксидантной активности спермоплазмы у пациентов с бесплодием.

Примечание:

◆ — статистически значимые различия, $p < 0,05$; ◆◆ — статистически значимые различия, $p < 0,01$; ▲ — статистически значимые различия, $p < 0,001$. По оси ординат: общая антирадикальная активность спермоплазмы, ммоль/л.

По оси абсцисс: О — основная группа, получавшие Простатилен® АЦ в двух курсах и С — группа сравнения, получавшие плацебо и Простатилен® АЦ. 1 — скрининг, 2 — после 1-го курса терапии, 3 — после 2-го курса терапии, соответственно. Представлены медианы, 25 и 75 % квартили, края статистически значимой выборки, выбросы значений показателя и экстремальные выбросы.

статилен® АЦ также отмечалось статистически значимое снижение данного показателя ($T = 107,50$; $Z = 4,413$; $p = 0,00001$) до 14,56 % [13,96; 16,5].

После 2-го курса терапии в основной группе наблюдалось дальнейшее снижение доли сперматозоидов с фрагментацией ДНК в 1,48 раз ($p < 0,001$) по сравнению с результатами 1-го курса лечения (рис. 2) до 6,91 % [4, 91; 11, 3]. Таким образом, повторный курс приема препарата через 21 день после первого улучшал лабораторные показатели по сравнению с однократным курсом применения.

Сегодня большинство исследователей признаком мужского бесплодия, наряду с олиго- и астеноспермией, считают увеличение уровня фрагментации ДНК в сперматозоидах [3, 6]. Важно отметить, что фрагментация ДНК в сперматозоидах часто не оказывает влияния на оплодотворение, но имеет большое значение для формирования бластоцисты и имплантации эмбриона. В связи с чем, основными проявлениями нарушений беременности при избыточной фрагментации ДНК сперматозоидов являются выкидыши на ранних сроках или замершие беременности. Установлено, что рост мужского бесплодия в последнее время обусловлен, во многом, увеличением доли его секреторно-токсической формы, которая развивается в результате контакта с экзогенными токсичными и другими неблагоприятными экологическими факторами. Эта форма

бесплодия проявляется, прежде всего, в развитии патоспермии и фрагментации ДНК сперматозоидов. При этом показатели спермограммы могут находиться даже в пределах нормальных значений [6, 10].

Полученные результаты согласуются с опубликованными ранее данными исследований этого препарата [1, 2, 4] и являются ожидаемыми, поскольку все клинические исследования и систематические обзоры демонстрируют эффективность входящих в препарат компонентов в терапии мужского бесплодия, связанного с фрагментацией ДНК сперматозоидов. Так, ранее С. Ю. Боровец с коллегами показал улучшение показателей ФДНКС до 9,76 % за 2 курса терапии Простатилен® АЦ у 25 мужчин с нарушением репродуктивной функции. О. Б. Жуков с соавт. сообщали о нормализации фрагментации ДНК сперматозоидов как после двух-, так и после одного 10-дневного курса терапии препаратом Простатилен® АЦ у пациентов с мужским фактором бесплодия в браке.

Статистический анализ данных прямого MAR-теста, уровня ПСА в крови (нг/мл) не продемонстрировали достоверных различий этих показателей в сравниваемых группах. Однако в динамике наблюдали статистически значимое снижение антиспермальных антител в обеих группах.

В основной группе после 1-го курса приема препарата Простатилен® АЦ показатель изменился с 7,0 % [5,0; 11,0] до 6,5 % [2,5; 10,0] ($T = 94,5$, $p < 0,001$) с дальнейшим снижением после 2-го курса — до 5,0 % [1,0; 9,0], ($T = 160,0$, $p = 0,051813$). В группе плацебо, где пациенты принимали только один курс Простатилен® АЦ, наблюдали схожую динамику этого показателя: с 6,5 % [3,0; 10,0] до 5,0 % [2,0; 8,0] ($T = 58,5$, $p < 0,001$).

Наши данные согласуются с описанными данными клинического исследования [1], где было показано влияние Простатилен® АЦ на снижение уровня антиспермальных антител в эякуляте пациентов с хроническим абактериальным простатитом и сопутствующими нарушениями репродуктивной функции.

Для исследования антиоксидантной активности спермоплазмы изучали 2 параметра — показатель СОД и ОАРА спермоплазмы. Уровень СОД спермоплазмы в группах сравнения не различался, однако ОАРА показала достоверные различия как при плацебо-контроле, так и при сравнении с исходным состоянием у пациентов, принимавших Простатилен® АЦ (рис. 3). Статистически значимое повышение общей антирадикальной активности спермоплазмы выявлено как после 1-го, так и после 2-го курса Простатилен® АЦ. Наилучшие результаты получены после проведения двух курсов терапии препаратом — отмечено повышение на 31,05 % ($p = 0,005$) у пациентов в основной группе.

При плацебо-контроле отмечали статистически значимое повышение антиоксидантной активности спермоплазмы в основной группе на 6,72 % ($p = 0,02$) по-

сле 1-го курса и на 23,7 % ($p = 0,0049$) — после 2-го курса терапии.

Всего в клиническом исследовании у 10 пациентов было зарегистрировано 12 случаев НЯ по классификации MedDRA (тенезмы и жжение в области заднего прохода), не потребовавшие отмены применения лекарственного препарата или изменения схемы его назначения.

Большинство авторов, обращают внимание на роль антропогенных загрязнений в нарушении баланса окислительно-восстановительных процессов в организме [10, 13, 14]. Сейчас роль окислительного стресса в патогенезе мужского бесплодия, обусловленного патоспермией и ДНК-повреждениями, считается ключевой [5, 9]. S. C. Esteves с соавт. отмечают, что в 30 – 40 % случаев не удается выявить причинный фактор мужского бесплодия — идиопатического мужского бесплодия (ИМБ). Основными патогенетическими механизмами, ведущими к возникновению ИМБ, считают накопление свободных радикалов кислорода и связанная с ним повышенная степень фрагментации ДНК сперматозоидов [12]. Такие состояния как, варикоцеле, хронические заболевания, инфекции придаточных желез, пожилой возраст отца, образ жизни, ожирение, профессиональные факторы, лекарства, ионизирующее и неионизирующее излучение и тепловое воздействие, связывают с повышенными уровнями ФДНКС. Эти состояния могут способствовать ФДНКС, главным образом, вызывая дефектный спермогенез, вызывая апоптоз или увеличивая выработку активных форм кислорода, последние из которых представляют собой значительный причинный фактор фрагментации ДНК в живых сперматозоидах [8].

Таким образом, выявленное снижение ФДНКС и одновременно повышение показателей антиоксидантной активности спермоплазмы при применении Простатилен® АЦ может служить основанием для включения данного препарата в систему прегравидарной подготовки мужчин с бесплодием и нарушениями спермогенеза, характеризующимися повышенной степенью фрагментации ДНК половых клеток.

ВЫВОДЫ

1. Простатилен® АЦ (экстракт простаты в комплексе с цинка аргинил-глицинатом, суппозитории ректальные, 30 мг + 180 мг, курс — 10 дней) после первого курса снижает долю сперматозоидов с фрагментированной ДНК на 19,75 % ($p < 0,001$), после второго курса — на 23,07 % ($p < 0,001$) в сравнении с группой плацебо у пациентов с нарушениями спермогенеза.

2. Простатилен® АЦ вызывает повышение антиоксидантной активности спермоплазмы после 1-го курса на 6,72 % ($p = 0,02$) и после 2-го курса — на 23,7 % ($p = 0,0049$) в сравнении с группой плацебо, при этом не влияет на уровень супероксиддисмутазы спермоплазмы.

3. Простатилен® АЦ при однократном и повторном курсе (оба продолжительностью 10 дней) на влияет на уровень простатспецифического антигена.

4. Простатилен® АЦ обладает благоприятным профилем безопасности у пациентов с нарушением сперматогенеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. С. Х. Аль-Шукри, С. В. Петленко, С. Ю. Боровец и др., *Андрология и генитальная хирургия*, № 1, 40 – 43 (2016); doi: 10.17650 / 2070-9781-2016-17-1-40-43.
2. С. Ю. Боровец, М. А. Рыбалов, А. Г. Горбачев и др., *Андрология и генитальная хирургия*, № 3, 54 – 58 (2017); doi: 10.17650 / 2070-9781-2017-18-3-54-58.
3. С. Ш. Галимова (ред.), К. С. Мочалов, К. Ш. Галимов, *Инновации в здоровье нации: сб. статей*, Санкт-Петербург (2016), сс. 96 – 99.
4. О. Б. Жуков, В. В. Евдокимов, Е. Е. Брагина, *Андрология и генитальная хирургия*. № 1, 102 – 108 (2017); doi: 10.17650 / 2070-9781-2017-18-1-102-108.
5. Е. А. Кириленко (ред.), В. Ф. Онопоко, *Бюл. ВСНЦ СО РАМН*, 2(114), 102 – 108 (2017).
6. Л. В. Осадчук (ред.), Д. А. Татару, Н. Н. Кузнецова и др., *Урология*, № 6, 118 – 123 (2016).
7. *Прегравидарная подготовка. Клинический протокол Междисциплинарной ассоциации специалистов репродуктивной медицины (МАРС). Версия 2.0* / [Коллектив авторов]. Status-Praesens, Москва (2020).
8. A. Agarwal, N. Parekh, Panner Selvam, et al., *The World Journal of Men's Health*, 37, 296 – 312 (2019); doi: 10.5534 / wjmh.190055.
9. I. Alkan, M. Yüksel, H. L. Canat, et al., *World J. Mens Health*, 36(3), 255 – 262 (2018); doi: 10.5534 / wjmh.180028.
10. G. M. Barch (ed.), E. Jacoby, P. Binkley, et al., *Fertil. Steril.*, 105, 329 – 336 (2016); doi: 10.1016 / j.fertnstert.2015.10.033.
11. F. Barekat, M. Tavalae, M. R. Deemeh, et al., *Int. J. Fertil. Steril.*, 10(1), 120 – 126 (2016); doi: 10.22074 / ijfs.2016.4777.
12. S. C. Esteves, A. Zini, R. M. Coward, et al., *Andrologia*, 53(2), e13874(2021); doi: 10.1111 / and.13874.
13. H. Garg (ed.), K. Radjeev, *Asian J. Androl.*, 18(2), 222 – 228 (2016); doi: 10.4103 / 1008-682X.171657.
14. M. Showell (ed.), R. Mackenzie-Proctor, J. Brown, et al., *Cochrane Database Syst. Rev.*, 12, CD007411 (2014); doi: 10.1002 / 14651858. CD007411pub3.
15. M. Smit, J. C. Romijn, M. F. Wildhagen, et al., *J. Urol.*, 189(1 Suppl), 146 – 150(2013); doi: 10.1016 / j.juro.2012.11.024.

Поступила 14.01.22

CLINICAL STUDY OF THE EFFICACY AND SAFETY OF PROSTATE EXTRACT PREPARATION IN COMBINATION WITH ZINC ARGINYL GLYCINATE FOR THE CORRECTION OF DNA FRAGMENTATION AND OXIDATIVE ACTIVITY OF SPERM PLASMA AS FACTORS OF MALE INFERTILITY

I. B. Yakovlev¹, S. V. Teplykh², V. V. Vilesova², M. A. Rybalov³, S. Yu. Borovets³, V. B. Vasilyuk⁴, M. V. Faraponova⁴, A. A. Krasnov⁵, S. V. Petlenko⁶, and V. A. Apryatina⁷

¹ Mari State University, pl. Lenina 1, Yoshkar-Ola, Republic of Mari El, 424000 Russia

² “Professorial Clinic” LLC, ul. Druzhby 15a, Perm, 614070 Russia

³ I. P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University, Ministry of Health of Russia, 6 – 8, ul. L'va Tolstogo 6 – 8, St. Petersburg, 197022 Russia

⁴ Eco-Safety Research Center, Yuri Gagarin prosp. 65, St. Petersburg, 196105, Russia

⁵ A. I. Herzen State Pedagogical University, nab. Reki Moiki 48, St. Petersburg, 191186, Russia

⁶ S. N. Golikov Scientific Advisory Center of Toxicology, Federal Biomedical Agency of Russia, ul. Bekhtereva 1, St. Petersburg, 192019 Russia

⁷ St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, 3, Dinamo prosp. 3, St. Petersburg, 197110 Russia

In a double-blind, randomized, placebo-controlled, parallel-group, multicenter, phase IV clinical trial, a prostate extract preparation in combination with zinc arginyl glycinate (rectal suppositories Prostatilen AC, 30 mg + 180 mg, course for 10 days) caused a decrease by 19.75% ($\delta < 0.001$) in the relative number of spermatozoa with fragmented DNA after the first 10-day course of therapy and by 23.07% ($\delta < 0.001$) after the second 10-day course as compared to the placebo group. There was an increase in the antioxidant activity of spermatoplasm by 6.72% ($p = 0.02$) after the first 10-day course and by 23.7%. ($p = 0.0049$) after the second 10-day course as compared to the placebo-control. The first and second courses of Prostatilen AC administration did not affect the level of prostate-specific antigen. The drug demonstrated a favorable safety profile in patients with impaired spermatogenesis.

Keywords: spermatogenesis; pregravid preparation; DNA fragmentation; prostate extract; zinc arginyl glycinate; Prostatilen AC; infertility.