

## Влияние длительности полового воздержания на некоторые показатели спермограммы

Л.Ф. Курило, Л.В. Шилейко, Н.П. Макарова, Т.М. Сорокина,  
Е.М. Гришина, Т.В. Остроумова

Г.У. Медико-Генетический Научный Центр РАМН, Москва

## INFLUENCE OF THE PROLONGATION OF SEXUAL ABSTINENCE ON SOME SPERM PARAMETERS

L.F. Kurilo, L.V. Shileiko, N.P. Makarova, T.M. Sorokina, E.M. Grishina,  
T.V. Ostroumova

It is shown that the prolongation of sexual abstinence from 3–4 to 5–7 days the concentration of spermatozoa in ejaculate increases, at the same time the portion of normal morphologically spermatozoa decreases. Simultaneously the spermatozoa motility (category «a») decreases.

### Введение

Половое воздержание (абстиненция) тесно связано с посттестикулярным транспортом и, особенно, хранением сперматозоидов в эпидидимисе. Одно из первых упоминаний о процессах созревания и хранения сперматозоидов у млекопитающих (эпидидимис кролика) во время транспорта мужских гамет из тестиса в эпидидимис содержится в сообщении Орgebин-Краста [1].

В нашей стране подробный обзор литературы, посвящённый проблемам транспорта, созревания и хранения сперматозоидов в половых путях самцов млекопитающих животных, представлен Даниловой и Габер [2]. Авторы выделяют у млекопитающих три популяции сперматозоидов: тестикулярные, эпидидимальные и эякулированные. Морфологически сперматозоиды этих трёх групп довольно сходны, но сильно различаются физиологическими свойствами.

В семенниках большинства млекопитающих, в частности, человека, сперматозоиды неподвижны или малоподвижны и не способны к оплодотворению. Процесс транспортировки гамет из гонады через половые протоки длителен и сложен. Транспорт сперматозоидов к *rete testis* происходит за счет пери-

стальгических сокращений миофибробластов *lamina propria* извитых семенных канальцев. Сначала через прямые канальцы, затем через сеть яичка (*rete testis*) сперматозоиды попадают в выносящие канальцы (*efferent ducts*, их около 18); последние образуют проксимальный отдел эпидидимиса (*caput epididymis*; иногда выделяют также переднюю часть *caput epididymis* как «*initial segment*»). Далее идёт средний отдел, или тело эпидидимиса (*corpus epididymis*), и дистальный отдел, или хвост (*cauda epididymis*), в котором сперматозоиды могут некоторое время храниться. Хвост эпидидимиса плавно переходит в *vas deferens*.

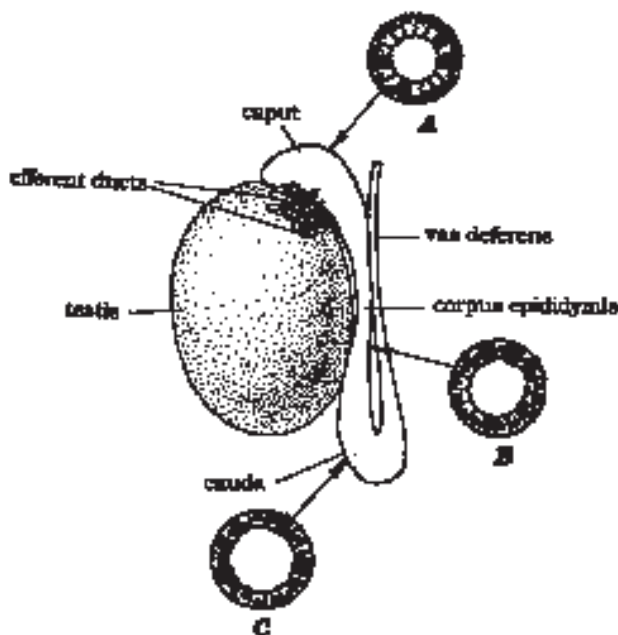
У человека общая длина эпидидимиса – 5–6 м. Время транспортировки сперматозоидов по всем отделам эпидидимиса составляет около 12 дней [3]. За это время сперматозоиды приобретают способность не только двигаться, но двигаться поступательно вперёд. Процесс транспорта гамет сопровождается модификацией акросомного аппарата; созреванием хроматина в ядре сперматозоида за счёт возникновения новых бисульфидных мостиков в ДНП-комплексе; потерей большей части цитоплаз-

матических (резидуальных) капель; модификацией и стабилизацией клеточной мембраны сперматозоидов. Все перечисленные преобразования подготавливают сперматозоиды к капацитации, акросомной реакции и сингамии, происходящих в женских половых путях [2].

Купер [4], а также Юнг и Купер [5] показали последовательное увеличение диаметра канала эпидидимиса от проксимального отдела к дистальному, при этом высота клеток, выстилающих канал, в том же направлении уменьшается (рисунок).

Клеточный состав стенок эпидидимиса разнообразен: это главные (*principal*), базальные, апикальные и прочие клетки. В головке эпидидимиса происходит активная абсорбция воды, клетки в этом отделе имеют обширную апикальную поверхность. Отмечают наличие длинных стереоресничек и большое количество митохондрий в базальной части клеток.

Дистальный отдел (хвост) – это район накопления и сохранения сперматозоидов. Светлые клетки в хвосте специализируются на удалении клеточного дебриса. Из числа ультраструктурных особенностей клеток стенки эпидидимиса отмечается широкая распространённость мембран эндоплазматического ретикулума и аппарата Гольджи, что указывает на протекание интенсивного синтеза белков [5]. Основной тип межклеточных контактов клеток, выстилающих канал эпидидимиса, составляют плотные контакты. Плотные клеточные контакты совместно со специализированной жидкой средой канала формируют гемэпидидимильный барьер.



**Строение эпидидимиса (схема).** А, В, С – поперечные срезы: А – через *caput epididymis*, В – через *corpus epididymis*, С – через *cauda epididymis*. По: Cooper, 1990 и Yeung & Cooper, 1991

Этот барьер служит анатомической, физиологической и иммунной защитой сперматозоидов. Иммунологическая защита необходима мужским гаметам, поскольку они несут на клеточной мембране большое количество аутоантигенов и являются мишенью для иммунокомпетентных клеток собственного организма. Жидкость микроокружения гамет внутри эпидидимиса высокоосмотична и отличается по составу от плазмы крови. Предполагается, что именно она служит активатором (*promotor*) созревания сперматозоидов. Состав жидкости сложный: она представляет собой раствор органических и неорганических соединений, таких, как альбумин, иммублин, дигидротестостерон,  $\alpha$ -глюкозидаза; в ней обнаружены ионы карбонатов, фосфатов, хлоридов; рН жидкой среды колеблется от 6,5 в голове придатка до 6,8 в хвосте.

Функция всех перечисленных соединений не совсем ясна; предполагается их участие в процессах приобретения подвижности, осморегуляции сперматозоидов, а также в метаболизме половых и соматических клеток эпидидимиса [4,5].

За последнее десятилетие из эпидидимальной жидкости разных видов животных было выделено около 200 регион-специфических белков. Например, Bin1b – эпидидимис-специфический ген крыс [6], сходный по молекулярной структуре и антимикробной активности на  $\beta$ -дефензины ( *$\beta$ -defensins*). Экспрессия Bin1b – регион-специфична, она идет исключительно в середине головы эпидидимиса и не проявляется ни в теле, ни в хвосте придатка. Выдвигается гипотеза о том, что Bin1b может участвовать в становлении поступательного движения сперматозоидов [7]. Гомологом Bin1b считается антимикробный пептид из эпидидимиса человека [8].

Изучение процесса транзита и сохранения сперматозоидов в эпидидимисе человека весьма затруднено по понятным причинам. Серия работ Юнга с соавторами [9,10] по изучению сохранности и созревания эпидидимальных сперматозоидов пациентов, подвергшихся кастрации (диагноз – карцинома простаты) показала: а) созревание акросомы сперматозоидов человека в эпидидимисе протекает так же, как и у других видов млекопитающих по возрастной – от проксимальной части к дистальной; б) приобретение подвижности сперматозоидами последовательно прослежено. Подвижность повышается от границы тестис-эфферентный проток (усредненная скорость – 21 мкм/сек), в теле эпидидимиса (усредненная скорость сперматозоидов – 54 мкм/сек), в хвосте эпидидимиса скорость гамет уменьшается; для сравнения усредненная скорость эякулированных сперматозоидов донора равна 64 мкм/сек.

При сравнении морфометрических параметров (периметр, длина, ширина) головок сперматозоидов, взятых из проксимального отдела (из головы

эпидидимиса) с этими же параметрами головок сперматозоидов из хвоста эпидидимиса было выявлено статистически достоверное уменьшение всех трёх параметров головок сперматозоидов, взятых из хвоста эпидидимиса. Эти изменения объясняются продолжающимся в эпидидимисе уплотнением и конденсацией хроматина в ядрах сперматозоидов за счет возникновения новых бисульфидных мостиков в ДНП-комплексах [11].

В конце прошлого и в начале текущего века были получены результаты, доказывающие, что увеличение продолжительности абстиненции приводит, с одной стороны, к возрастанию концентрации сперматозоидов в эякуляте [12,13], а с другой стороны – к снижению подвижности гамет [14,15]. Изменение сроков половой абстиненции не влияет на pH эякулята [13].

Укорочение ( $\leq 24$  часа) или увеличение ( $\geq 10$  дней) срока полового воздержания приводит к нарушению упаковки хроматина и фрагментации ДНК в ядрах сперматозоидов [13].

Отметим, что мнение ВОЗ и Европейского общества по репродуктивной медицине и эмбриологии по поводу оптимальных сроков полового воздержания не вполне совпадают: ВОЗ рекомендует от 2 до 7 дней, а Европейское общество – 3–4 дня [16].

#### Материал и методы

В лаборатории генетики нарушений репродукции Г.У. МГНЦ РАМН был обследован 41 пациент с целью оценки влияния длительности полового воздержания на показатели спермограммы. Средний возраст обследуемых составил 31 год. Пациентам был выполнен стандартный семиологический анализ эякулята [17]. От каждого пациента было получено два образца спермы – один образец после воздержания в течение 3–4 дней, второй – после 5–7 дней. Период между сборами образцов эякулята составлял 3 месяца. В зависимости от длительности половой абстиненции были сформированы две группы: 1) группа пациентов со сроком половой абстиненции 3–4 дня – Г 3–4 и 2) группа тех же пациентов, но со сроком полового воздержания 5–7 дней – Г 5–7. Сравнения проведены по следующим критериям: концентрация сперматозоидов в 1 мл эякулята; содержание (%) морфологически нормальных сперматозоидов; подвижность (категории a, b, c); объём эякулята; доля живых половых клеток. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью Т-критерия Манна-Уитни [18]. Значения с уровнем значимости  $p < 0,05$  считали достоверными.

#### Результаты и обсуждение (см. таблицу)

Из таблицы следуют несколько выводов:

1. С увеличением длительности половой абстиненции с 3–4 до 5–7 дней концентрация сперматозоидов в эякуляте достоверно увеличивается.

#### Сравнение показателей спермограмм 41 пациента при разных сроках половой абстиненции (\* $p < 0,05$ )

нормативные показатели семиологического анализа	Г <sub>3-4</sub>	Г <sub>5-7</sub>
объём, мл	3,8 (5,7-0,5)	4 (8,1-1,7)
жизнеспособность, %	93 (98-84)	93 (98-87)
морфологически нормальные сперматозоиды, %	17 (43-0)*	14 (32-0)*
концентрация сперматозоидов (10 <sup>6</sup> /мл)	63 (282-0,8)*	80,5 (486-0,5)*
Подвижность		
a	2 (27-0)*	0 (26-0)*
b	12,5 (26-0)	10 (44,1-0)
c	12 (33-0)	14 (36-0)
D	72 (100-43,8)	67 (100-36,4)

2. С увеличением длительности половой абстиненции с 3–4 до 5–7 дней подвижность сперматозоидов (категория «a») достоверно снижается.

3. Срок абстиненции 5–7 дней практически не изменяют соотношение в эякуляте живых и мёртвых сперматозоидов в сравнении со сроком 3–4 дня.

4. Доля морфологически нормальных сперматозоидов достоверно уменьшается при увеличении длительности половой абстиненции с 3–4 до 5–7 дней.

5. При повышении сроков половой абстиненции с 3–4 до 5–7 дней объём эякулята достоверно не увеличивается.

Первые четыре вывода согласуются с опубликованными данными [15,13], причём Эльзанати и др. [15] уточняют, что при увеличении длительности половой абстиненции с 3–4 до 5–7 дней снижается не только подвижность сперматозоидов (категория «a»), но и негативно изменяются качественные характеристики (метод CASA) движения сперматозоидов. Это касается скорости движения сперматозоидов по кривизне индивидуальных треков (VCL), скорости прямолинейного движения (VSL), латерального отклонения головки сперматозоида при движении (ALH), а также степени волнистости треков движения (LIN).

На наш взгляд, причиной изменений показателей спермограммы при 5–7 днях полового воздержания может служить начало процесса старения: при длительном нахождении сперматозоидов в хвосте эпидидимиса наступает сверхзрелость, сверхконденсация хроматина и фрагментация ДНК ядра, а также нарушается сложный аксонемный комплекс жгутика. В то же время при длительном хранении в эпидидимисе концентрация сперматозоидов увеличивается за счёт сперматозоидов новых генераций. Неизменность соотношения живых и мёртвых сперматозоидов (вне зависимости от сроков абсти-

ненции) может быть объяснено наличием в хвосте эпидидимиса светлых клеток (макрофагоподобных), специализирующихся на удалении клеточного дебриса.

Что касается пятого вывода, то наши материалы не совпадают с данными Де Йонга с соавторами [13], в соответствии с которыми увеличение сроков абстиненции до 6–7 дней приводит к достоверному, но незначительному увеличению объема эякулята. Мы предполагаем, что отсутствие вышеназванной корреляции в нашем исследовании объясняется активной абсорбцией воды клетками головного отдела эпидидимиса; к тому же жидкая среда канала эпидидимиса является высокоосмотической. Кроме того, в работе, связанной с длительной изоляцией человека в гермообъекте (сроки изоляции – 110 и 240 суток), объем эякулята у обследуемых уменьшался по истечении обоих сроков [19]. Нельзя забывать также тот факт, что самый большой вклад в величину объема семенной жидкости вносят семенные пузырьки.

Длительность транспорта через эпидидимис сперматозоидов и сохранение их в хвосте может зависеть от внешних условий, таких, как сексуальная стимуляция и частота эякуляций. Эти факторы могут индуцировать повышение давления (или сжатия) во внутрилюминарном пространстве извитых семенных канальцев, вызывая повышение скорости транспорта сперматозоидов по половым путям [15]. В нашей работе эти вопросы не исследованы.

В обзоре, посвященном сохранению и деградации сперматозоидов в эпидидимисе млекопитающих [20], выдвигается гипотеза, предполагающая положительное влияние андрогенов семенника на выживание и сохранение гамет в хвосте эпидидимиса при наложении лигатуры на *vas deferens* и тело эпидидимиса кролика. При уменьшении концентрации андрогенов в эпидидимисе клетки эпителия, выстилающие канал придатка, теряют реснички и выделяют фактор/сигнал «смерти», после чего начинается массовая гибель и деградация сперматозоидов в хвосте эпидидимиса [20].

## Заключение

Оплодотворяющая способность сперматозоидов после достижения оптимума фертильности при дальнейшем увеличении срока полового воздержания снижается. Увеличение срока половой абстиненции до 5–7 дней в первую очередь отрицательно сказывается на подвижности сперматозоидов, приводит к уменьшению доли морфологически нормальных сперматозоидов, оставляя неизменной жизнеспособность сперматозоидов. Увеличение срока полового воздержания приводит к увеличению количества сперматозоидов в 1 мл эякулята и степени гетерогенности сперматозоидов в эпидидимисе. При консультировании пациентов необходимо учитывать факт физиологического старения

сперматозоидов, принимая во внимание индивидуальные особенности пациента.

## Литература

1. *Orgebin-Crust M.S.* Sperm maturation in rabbit epididymis. // *Nature*, 1967, 216: 816–818.
2. *Данилова Л.В., Габер Е.С.* Транспорт и созревание сперматозоидов в половых путях самца и самки. // В кн.: Данилова (ред.). Сперматогенез и его регуляция. 1983. «Наука», 65–97.
3. *Cooper T.G.* In defense of a function for the human epididymis. // *Fertil. & Steril.*, 1990, 90: 965–975.
4. [4] *Holstein A.F., Schulze W., Davidoff M.* Understanding spermatogenesis is a prerequisite for treatment // *Reprod. Biol. & Endocrinol.*, 2003, 1: 1–16.
5. *Yeung C.H., Cooper T.G., Bergmann M., Schulze H.* Organization of tubules in the human caput epididymis and ultrastructure of their epithelia. // *Am. J. Anat.*, 1991, 191: 261–279.
6. *Li P., Chan Y.C., He B., So S.C., Chung Y.W., Shiang Q., Zhang Y.D., Zang Y.L.* An antimicrobial peptid gene found in the male reproductive system of rats. // *Science*, 2001, 291: 1783–1785.
7. *Chan H.C., Zhang Y.L.* Epididymal defensins and sperm maturation // *Proc. 4th Intern. Workshop «Molecular Andrology»*, 2005, Blackwell Publishing Ltd *Andrologia*, 37: 200–201.
8. *Von Horsten H.H., Derr P., Kirchhoff C.* Novel antimicrobial peptide of human epididymal duct origin. // *Biol. Reprod.*, 2002, 67: 804–813.
9. *Yeung C.H., Cooper T.G., Oberpenning F., Schulze H., Nieschlag E.* Changes in movement characteristics of human spermatozoa long the length of epididymis // *Biol. Reprod.* 1993, 49: 274–280.
10. *Yeung C.H., Perez-Sanchez F., Soler C., Pozer D., Kliesch S., Cooper T.G.* Maturation of spermatozoa with respect to their morphology and ability to undergo the acrosome reaction. // *Human Reprod. update*, 1997, 3 (3): 205–213.
11. *Soler C., Perez-Sanchez F., Schulze H., Bergmann M., Oberpenning F., Yeung C.H., Cooper T.G.* Objective evaluation of the morphology of human epididymal sperm heads // *Intern. J. Androl.*, 2000, 23: 77–84.
12. *Magnus O., Tollefsrud A., Abyholm T.* Effect of varying the abstinence period in the same individuals on sperm quality // *Arch. Androl.*, 1991, 26 (2): 199–203.
13. *De Jonge Ch., Lafromboise M., Bosmans Eu., Pharm D., Ombelet W., Cox A., Nijs M.* Influence of the abstinence period on human sperm quality. // *Fertil. & Steril.*, 2004, 82 (1): 57–65.
14. *Mortimer D., Templeton A., Lenton E.* Influence of abstinence and ejaculation-to-analysis delay on semen analysis parameters of suspected infertile men. // *Arch. Androl.*, No.8, 1982: 251–256.
15. *Elzanaty S., Malm J., Givercman A.* Duration of sexual abstinence: epididymal and accessory sex gland secretions and their relationship to sperm motility. // *Human Reprod.*, 20 (1), 2005: 221–225.
16. *Kvist U., Bjorndahl L.* (eds). ESHRE Monographs: Manual on basic semen analysis // Oxford Univ. Press, 2002: 1–24.
17. *Руководство ВОЗ по лабораторному исследованию эякулята человека и взаимодействия сперматозоидов с цервикальной жидкостью.* Четвёртое издание, научн. ред. Курило Л.Ф. // Москва, МедПресс, 2001, 143 с.
18. *Гланц С.* Медико-биологическая статистика. Практика, Москва, 1999, 84 с.
19. *Тончарова А.Г., Смирнов О.А., Евдокимов В.В., Ерасова В.И., Курило Л.Ф., Шилейко Л.В.* Влияние длительной изоляции в гермообъекте на состояние репродуктивной системы у мужчин. // В кн.: «Модельный эксперимент с длительной изоляцией: проблемы и достижения» под ред. В.М. Баранова, 2001, Москва, «Слово»: 388–392.
20. *Jones R.* Sperm survival versus degradation in the Mammalian epididymis: a hypothesis. // *Biol. of Reprod.*, 2004, 71: 1405–1411.