

Краткий обзор статьи:

PRO-INFLAMMATORY AND OXIDATIVE STRESS PATHWAYS WHICH COMPROMISE SPERM MOTILITY AND SURVIVAL MAY BE ALTERED BY L-CARNITINE.

Adel R A Abd-Allah , Gouda K Helal,
Abdulaziz A Al-Yahya, Abdulaziz M Aleisa,
Salim S Al-Rejaie, Saleh A Al-Bakheet

Введение

Мужское бесплодие остаётся одной из актуальнейших проблем репродуктивной медицины, причем значительная доля случаев связана с воспалительными и окислительными повреждениями репродуктивной системы. В этой связи особую научную и клиническую значимость приобретает статья Abd-Allah и соавт. (2009), в которой представлен экспериментальный анализ роли липополисахарида (LPS) в индукции воспаления и окислительного стресса в testикулярной ткани, а также потенциального защитного действия L-карнитина (LCR).

Исследование, выполненное группой Abd-Allah и коллег, посвящено ключевому вопросу репродуктивной медицины — влиянию воспаления и окислительного стресса на мужскую fertильность. Особое внимание уделено изучению воздействия липополисахарида (LPS), известного эндотоксина бактериального происхождения, вызывающего системное воспаление, и его способности вызывать testикулярную дисфункцию, а также возможности L-карнитина (LCR) служить защитным агентом против подобных повреждений. Данное исследование ценно тем, что сочетает патофизиологический анализ с тестированием потенциального терапевтического средства, что придаёт ему как научную, так и клиническую значимость.

Методология

Авторы применили экспериментальную модель на 60 самцах крыс линии Swiss albino, разделённых на четыре группы: контрольная (физиологический раствор), группа LCR (500 мг/кг внутривенно, однократно), группа LPS (5 мг/кг внутрибрюшинно, однократно), и группа LCR+LPS (L-карнитин за 3 часа до введения LPS). Использованные биохимические маркеры включали:

- сперматологические параметры (количество и подвижность),
- активность LDH-x (лактатдегидрогеназы-изофермента X),
- уровни GSH, MDA и 8-HDG в яичках,
- уровень NO и IL-2 в сыворотке,
- гистологические характеристики тканей.

Оценка данных производилась с использованием ANOVA и последующего теста Тьюки-Крамера

Основные результаты и анализ графиков

1. Количество и подвижность сперматозоидов как показатели нормальной функции яичек.

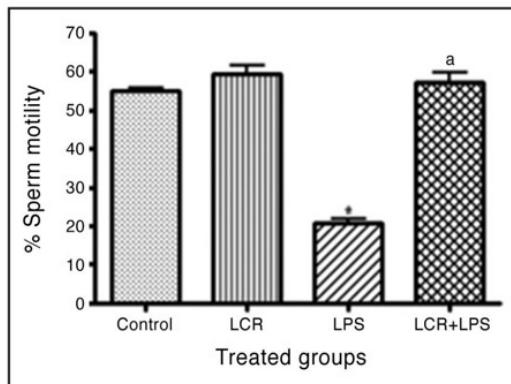


Figure 1. L-carnitine (LCR) reserved lipopolysaccharide (LPS)-induced inhibition of sperm motility in rats. Data are expressed as means \pm SEM ($N = 10$). LPS was given i.p in a dose of 5 mg/kg once and parameters were assessed 24 h later. LCR was given i.p in a dose of 500 mg/kg once alone or 3 h before LPS. Control group received saline. Statistical comparison between different groups were done using one way analysis of variance (ANOVA) and followed by Tukey-Kramer for a multiple comparisons test at $p < 0.05$. (*, a) indicate differences from control and LPS-treated groups, respectively.

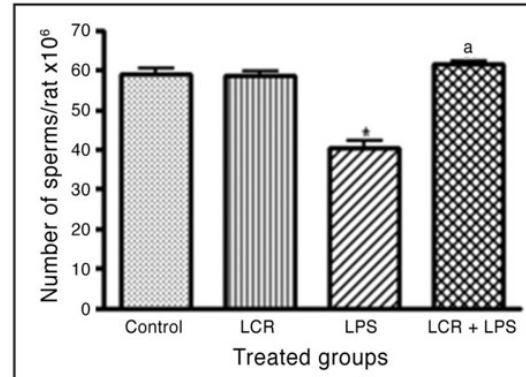


Figure 2. L-carnitine (LCR) reserved lipopolysaccharide (LPS)-induced inhibition of sperm count in rats. Data are expressed as means \pm SEM ($N = 10$). LPS was given i.p in a dose of 5 mg/kg once and parameters were assessed 24 h later. LCR was given i.p in a dose of 500 mg/kg once alone or 3 h before LPS. Control group received saline. Statistical comparison between different groups were done using one way analysis of variance (ANOVA) and followed by Tukey-Kramer for a multiple comparisons test at $p < 0.05$. (*, a) indicate differences from control and LPS-treated groups, respectively.

LPS существенно снижал подвижность сперматозоидов (на 79,5%) и их количество (на 37,9%) по сравнению с контролем. Предварительное введение L-карнитина полностью предотвращало это снижение, возвращая показатели к норме. Это указывает на выраженное защитное действие на сперматогенез при воспалении.

2. Активность изофермента LDHx в яичках как маркер нормального метаболизма сперматозоидов.

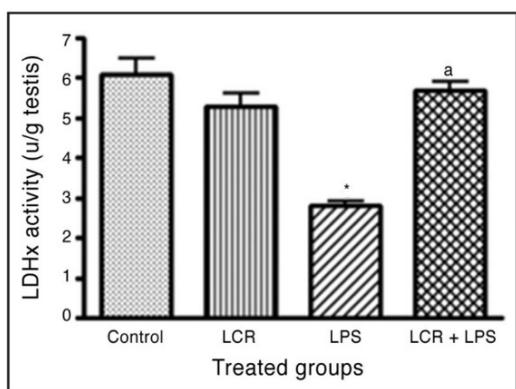


Figure 3. L-carnitine (LCR) reserved lipopolysaccharide (LPS)-induced inhibition of LDHx activity in rats. Data are expressed as means \pm SEM ($N = 10$). LPS was given i.p. in a dose of 5 mg/kg once and parameters were assessed 24 h later. LCR was given i.p. in a dose of 500 mg/kg once alone or 3 h before LPS. Control group received saline. Statistical comparison between different groups were done using one way analysis of variance (ANOVA) and followed by Tukey-Kramer for a multiple comparisons test at $p < 0.05$. (*, †) indicate differences from control and LPS-treated groups, respectively.

3. Содержание GSH в яичках как маркер окислительно-восстановительного потенциала.

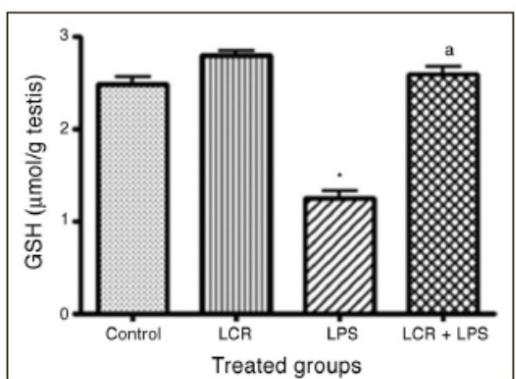


Figure 4. L-carnitine (LCR) reserved lipopolysaccharide (LPS)-induced depletion of testicular glutathione (GSH) content in rats. Data are expressed as means \pm SEM ($N = 10$). LPS was given i.p. in a dose of 5 mg/kg once and parameters were assessed 24 h later. LCR was given i.p. in a dose of 500 mg/kg once alone or 3 h before LPS. Control group received saline. Statistical comparison between different groups were done by using one way analysis of variance (ANOVA) and followed by Tukey-Kramer for multiple comparisons test at $p < 0.05$. (*, †) indicate differences from control and LPS-treated groups, respectively.

4. Малоновый диальдегид (MDA) как маркер перекисного окисления липидов

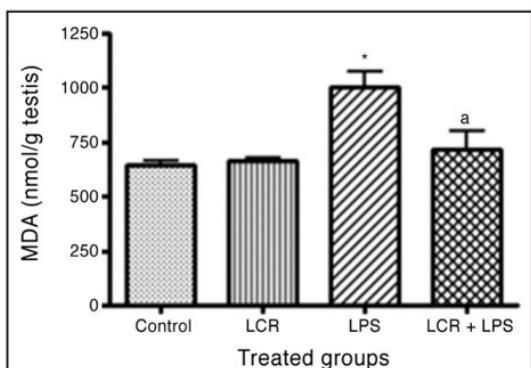


Figure 5. L-carnitine (LCR) prevented lipopolysaccharide (LPS)-induced increase in testicular malondialdehyde (MDA) content in rats. Data are expressed as means \pm SEM ($N = 10$). LPS was given i.p. in a dose of 5 mg/kg once and parameters were assessed 24 h later. LCR was given i.p. in a dose of 500 mg/kg once alone or 3 h before LPS. Control group received saline. Statistical comparison between different groups were done using one way analysis of variance (ANOVA) and followed by Tukey-Kramer for a multiple comparisons test at $p < 0.05$. (*, †) indicate differences from control and LPS-treated groups, respectively.

LDH-x — В гомогенате яичек оценивали активность изофермента LDH-x, как индикатора нормального метаболизма сперматозоидов. Активность фермента LDH-x в семенниках крыс, получавших LPS, была значительно снижена на 55,10%, тогда как LCR предотвращал это снижение. График демонстрирует достоверную разницу между контрольной и LPS-группами, а также нормализацию параметра при введении LCR.

У крыс, получавших LPS, наблюдалось значительное **снижение уровня GSH** в семенниках **до 50,4%** от соответствующих контрольных значений. У крыс, получавших **LCR** (за три часа до введения LPS), наблюдался нормальный уровень GSH в семенниках, поскольку не наблюдалось существенной разницы с соответствующими контрольными значениями.

Уровень MDA увеличивался до 155% от нормы под действием LPS. Введение LCR значительно снижало этот показатель до контрольных значений. Это демонстрирует антиоксидантную активность L-карнитина на мембранном уровне.

5. Нитрат/нитрит (NO) как маркер воспаления

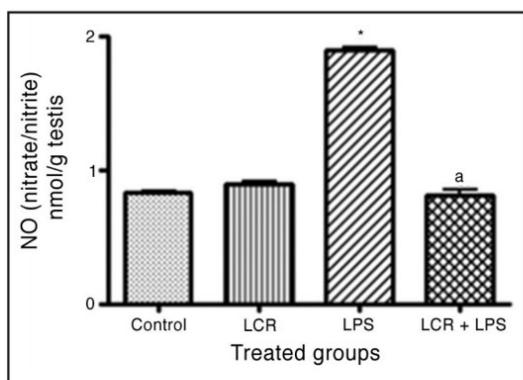


Figure 6. L-carnitine (LCR) prevented lipopolysaccharide (LPS)-induced increase in testicular nitric oxide (NO) content in rats. Data are expressed as means \pm SEM ($N = 10$). LPS was given i.p in a dose of 5 mg/kg once and parameters were assessed 24 h later. LCR was given i.p in a dose of 500 mg/kg once alone or 3 h before LPS. Control group received saline. Statistical comparison between different groups were done using one way analysis of variance (ANOVA) and followed by Tukey-Kramer for a multiple comparisons test at $p < 0.05$. (*, ^a) indicate differences from control and LPS-treated groups, respectively.

6. (8-HDG) — маркер окислительного повреждения ДНК

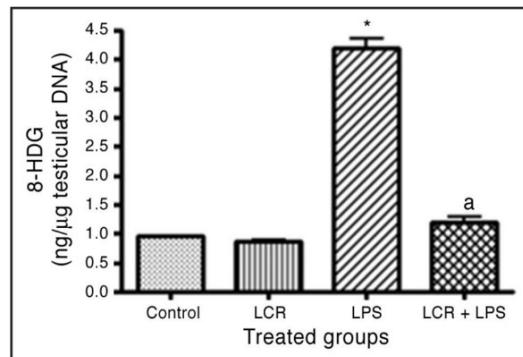


Figure 7. L-carnitine (LCR) prevented lipopolysaccharide (LPS)-induced increase in 8-hydroxydeoxyguanosine (8-HDG) content in rat testicular DNA. Data are expressed as means \pm SEM ($N = 10$). LPS was given i.p in a dose of 5 mg/kg once and parameters were assessed 24 h later. LCR was given i.p in a dose of 500 mg/kg once alone or 3 h before LPS. Control group received saline. Statistical comparison between different groups were done using one way analysis of variance (ANOVA) and followed by Tukey-Kramer for a multiple comparisons test at $p < 0.05$. (*, ^a) indicate differences from control and LPS-treated groups, respectively.

7. (IL-2) — маркер активности Т-хелперов

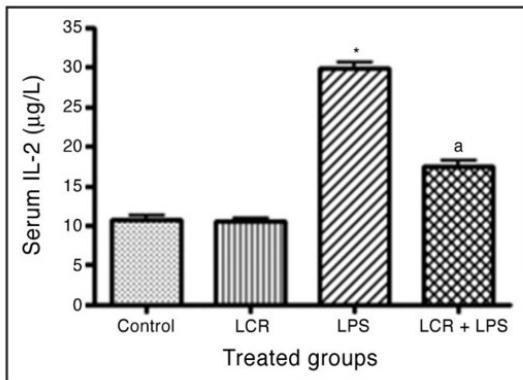


Figure 8. L-carnitine (LCR) prevented lipopolysaccharide (LPS)-induced increase in serum interleukin-2 (IL-2) in rats. Data are expressed as means \pm SEM ($N = 10$). LPS was given i.p in a dose of 5 mg/kg once and parameters were assessed 24 h later. LCR was given i.p in a dose of 500 mg/kg once alone or 3 h before LPS. Control group received saline. Statistical comparison between different groups were done using one way analysis of variance (ANOVA) and followed by Tukey-Kramer for a multiple comparisons test at $p < 0.05$. (*, ^a) indicate differences from control and LPS-treated groups, respectively.

После введения LPS наблюдалось повышение уровня NO на 128,9%. Введение LCR снижало содержание NO до нормы, что демонстрирует противовоспалительный эффект вещества.

LPS вызывал более чем четырёхкратное увеличение уровня 8-HDG, тогда как L-карнитин снижал этот показатель до 136% от нормы. Это крайне важный результат, указывающий на защиту генетического материала сперматозоидов.

Введение LPS значительно повысило уровень IL-2 в сыворотке крови крыс на 176,8 % по сравнению с соответствующим контролем. Предварительное введение LCR (за три часа до введения LPS) привело к значительному снижению уровня ИЛ-2 в сыворотке крови по сравнению с животными, которым вводили только LPS, на 118,3 %, хотя уровень всё равно был выше, чем в контрольной группе, на 62 %.

Гистологическое исследование

Контроль

Сохраняется нормальная структура семенных канальцев с полноценным сперматогенезом.

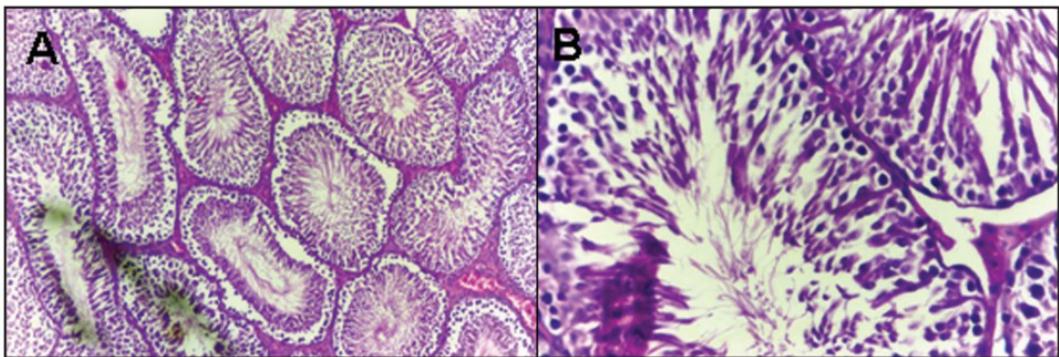


Figure 9. A photomicroscopic picture for testicular section stained with H and E from a control rat received saline shows normal histological structure of patent seminiferous tubules with complete spermatogenesis. (A) = 20x; (B) = 40x.

Липополисахарид (LPS)

Наблюдаются признаки воспаления: деструкция эпителия, снижение количества сперматогенных клеток, отёк, гиперемия сосудов и наличие гиалиновых масс в просвете канальцев. Это отражает тяжёлое нарушение функции.

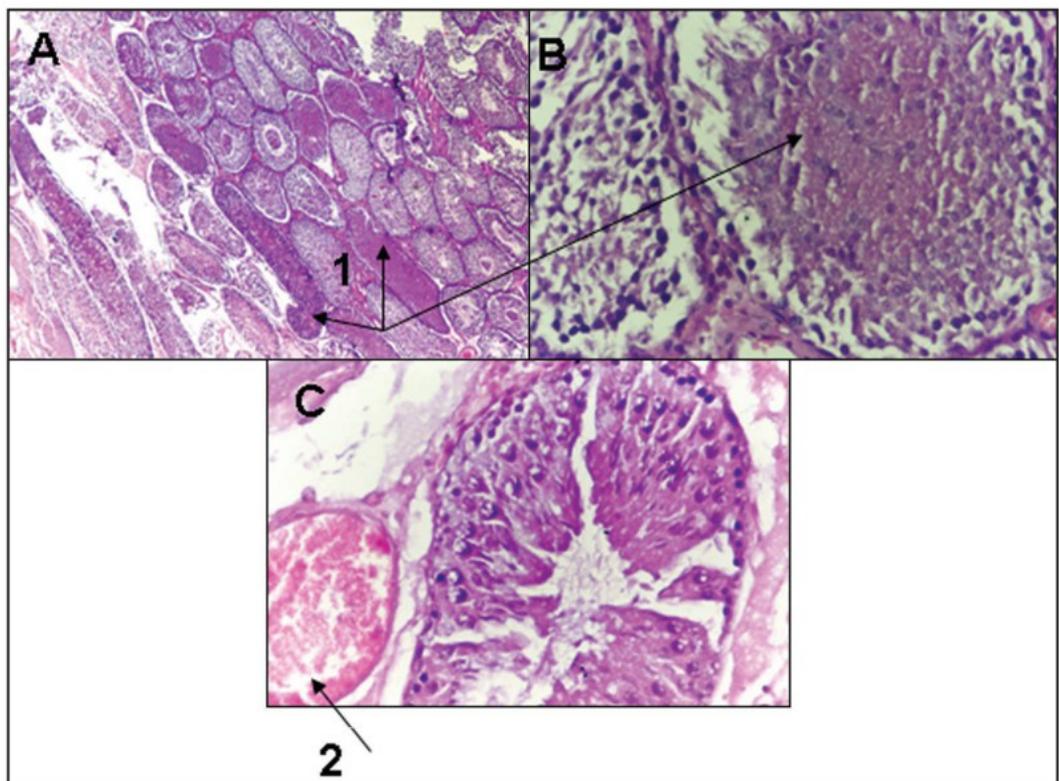


Figure 10. A photomicroscopic picture for testicular sections from LPS-treated rats stained with H and E showing hypospermatogenesis at different levels of maturation. Some tubules are occupied by hyaline materials floating, scattered, sloughed spermatogenic cells (A), 20X and (B), 40X: arrow 1. Congested dilated interstitial blood vessel as one marker for inflammation is shown in picture (C), 40X (arrow 2). LPS was given i.p. in a dose of 5 mg/kg once.

LCR + LPS

У крыс, получавших LCR + LPS, улучшилась гистологическая структура семенных канальцев, при этом заметно уменьшилась лейкоцитарная инфильтрация и воспаление.

L-carnitine rebalances immune-testicular barrier in septic rats

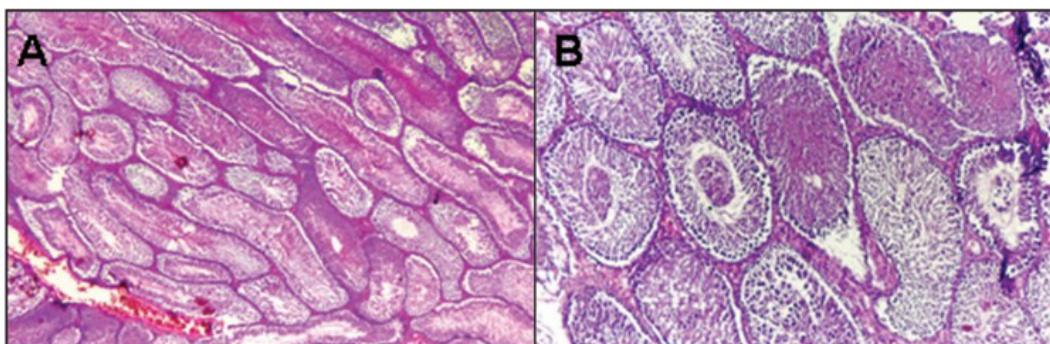


Figure 11. A photomicroscopic picture for testicular section stained with H and E from LCR + LPS-treated rat showing improved histological structure of the seminiferous tubules and spermatogenesis with marked reduction in blood vessel congestion. (A) 20X; (B) 40X. LCR was given i.p in a dose of 500 mg/kg once 3 h before LPS (5 mg/kg once).

Обсуждение

Исследование показывает, что LPS-индуцированное воспаление нарушает гемато-тестикулярный барьер, вызывает инфильтрацию лимфоцитов и продуцирование цитокинов (в частности IL-2), усиливает продукцию ROS и провоцирует апоптоз сперматогенных клеток. Это сопровождается снижением активности LDH-x, уменьшением GSH, повышением MDA, NO и 8-HDG, что демонстрирует тяжёлый окислительный стресс и воспалительный ответ.

L-карнитин продемонстрировал значительную эффективность в восстановлении всех параметров, подтверждая своё антиоксидантное, противовоспалительное и иммуномодулирующее действие. Механизмы, задействованные в его активности, включают:

- ингибирование продукции NO и IL-2;
- защита митохондриальной активности сперматозоидов (через LDH-x);
- уменьшение окислительного повреждения ДНК;
- поддержка антиоксидантной системы яичек.

Заключение

Abd-Allah et al. (2009) провели убедительное экспериментальное исследование, демонстрирующее роль L-карнитина как мощного защитного агента при тестикулярной воспалительной патологии. Учитывая его безопасность, доступность и эффективность, L-карнитин может рассматриваться как перспективное средство в терапии воспалительно-обусловленного мужского бесплодия.

С полным содержанием статьи можно ознакомиться:

Abd-Allah AR, Helal GK, Al-Yahya AA, Aleisa AM, Al-Rejaie SS, Al-Bakheet SA. Pro-inflammatory and oxidative stress pathways which compromise sperm motility and survival may be altered by L-carnitine. *Oxid Med Cell Longev*. 2009;2(2):73-81. doi:10.4161/oxim.2.2.8177