



Мелатонин и мужское бесплодие, вызванное окислительным стрессом

Л.Е. Белый¹

¹ ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Льва Толстого, 42

Контакты: Лев Евгеньевич Белый, lbely@yandex.ru

Среди пар, неспособных зачать ребенка, бесплодие частично или полностью объясняется мужским фактором примерно в 50% случаев. При рутинном обследовании этиология мужского бесплодия остается неопределенной у 30–50% пациентов. Одним из частых этиологических факторов мужского бесплодия является окислительный стресс, который фактически представляет собой дисбаланс между выработкой активных форм кислорода и механизмами антиоксидантной защиты организма. Сегодня предложен термин «мужское бесплодие, обусловленное окислительным стрессом» (male oxidative stress infertility) как новый дескриптор для бесплодных мужчин с сочетанием аномальных характеристик спермы и окислительного стресса. В этой связи наряду с использованием традиционных антиоксидантов необходим поиск новых молекул для борьбы с окислительным стрессом у бесплодных мужчин. Перспективной стратегией выглядит использование в качестве антиоксиданта мелатонина – гормона, секретируемого шишковидной железой.

В обзоре рассмотрены антиоксидантные эффекты метаболического каскада мелатонина. Приведены результаты исследований, доказывающих связь между уровнем мелатонина в семенной плазме и мужской фертильностью. Представлены новые научные данные, касающиеся защитного потенциала мелатонина против окислительного стресса, вызванного различными метаболическими нарушениями, противораковой химио- и лучевой терапией и другими патогенетическими состояниями и негативными воздействиями. Проанализированы исследования, результаты которых демонстрируют перспективы использования мелатонина для защиты сперматозоидов от окислительного повреждения при реализации вспомогательных репродуктивных технологий. Подведены промежуточные итоги исследований, посвященных возможности применения мелатонина в качестве пищевой добавки у инфертильных мужчин.

Ключевые слова: мужское бесплодие, окислительный стресс, мелатонин, сперматогенез, активные формы кислорода.

Melatonin and male oxidative stress infertility

L.E. Belyi¹

¹ 432017, Russia, Ulyanovsk, Leo Tolstoy Str., Ulyanovsk State University, build 42

Contacts: L.E. Belyi, lbely@yandex.ru

Among couples unable to conceive a child, infertility is explained by the male factor in about 50% of cases. The etiology of male infertility remains uncertain in 30–50% of patients. One of the frequent etiological factors of male infertility is oxidative stress, a status in which an unbalance between the production of reactive oxygen species and the mechanisms of antioxidant protection. Today, the term «male oxidative stress infertility» has been proposed as a new descriptor for infertile men with a combination of abnormal sperm characteristics and oxidative stress. Along with the use of traditional antioxidants, it is necessary to search for new molecules to combat oxidative stress in infertile men. A promising strategy is to use melatonin, a hormone secreted by the pineal gland, as an antioxidant.

The review examines the antioxidant effects of the melatonin metabolic cascade. The results of studies on the relationship between the level of melatonin in seminal plasma and male fertility are presented. New scientific data on the protective potential of melatonin against oxidative stress caused by various metabolic disorders, anticancer chemo- and radiation therapy and other pathogenetic conditions and negative effects are presented. The research on the prospects of using melatonin to protect spermatozoa from oxidative damage in the implementation of assisted reproductive technologies is analyzed. The interim results of studies on the possibility of using melatonin as a dietary supplement in infertile men are summarized.

Keywords: male infertility, oxidative stress, melatonin, spermatogenesis, reactive oxygen species.



Введение

По оценкам Всемирной организации здравоохранения, почти 190 миллионов человек во всем мире страдают от бесплодия, и число пар, обращающихся за медицинской помощью, неуклонно растет [1,2]. По мнению экспертов, в зависимости от региона мира проблема бесплодия затрагивает 8–12% пар [3].

Среди пар, неспособных зачать ребенка, бесплодие частично или полностью объясняется мужским фактором примерно в 50% случаев [4, 5]. Мужской фактор бесплодия, как правило, характеризуется снижением количества сперматозоидов, их подвижности и критическим уровнем морфологических дефектов мужских гамет как минимум в одном образце спермы из двух, собранных с интервалом от 1 до 4 недель [6]. Мужская фертильность может быть нарушена вследствие: врожденных аномалий или приобретенных дефектов мочеполовой системы; злокачественных новообразований; инфекции мочеполовых путей; повышенной температуры мошонки (например, как следствие варикоцеле); эндокринных нарушений; генетических отклонений; иммунологических факторов [7]. При отсутствии женского фактора и наличии необъяснимых нарушений качества спермы говорят о идиопатическом мужском бесплодии [8]. Последнее сегодня не редкость, при рутинном обследовании этиология мужского бесплодия остается неопределенной у 30–50% пациентов [4]. В настоящее время к важным этиологическим факторам мужского бесплодия относят окислительный стресс, который фактически представляет собой дисбаланс между выработкой активных форм кислорода (АФК) и механизмами антиоксидантной защиты организма. АФК, такие как супероксид-анионы, перекись водорода и гидроксильные радикалы, образуются как побочные продукты нормального клеточного метаболизма, особенно во время процесса митохондриального транспорта электронов. При избыточной продукции АФК могут повреждать плазматическую мембрану сперматозоидов, нарушая их подвижность и жизнеспособность [9]. Наряду с этим АФК способны повреждать ДНК сперматозоидов, нарушать процессы капацитации [10]. В современной литературе сообщается, что АФК могут быть способствующим фактором у 30–80% бесплодных мужчин [11]. Именно поэтому Agarwal A. и соавт. [4] предлагают термин «мужское бесплодие, обусловленное окислительным стрессом» (male oxidative stress infertility) как новый дескриптор для бесплодных мужчин с сочетанием аномальных характеристик спермы и окислительного стресса. По мнению авторов, в новую классификационную группу мужского бесплодия может войти большое количество пациентов, которые ранее были классифицированы как имеющие идиопатическое мужское бесплодие.

Нивелирование окислительного стресса может быть достигнуто с помощью поведенческой терапии (диета, отказ от курения, физические нагрузки и снижение массы тела), хирургического лечения клинически значимого варикоцеле, купирования воспаления и эрадикации инфекции мужских добавочных половых желез. Наряду с этим, сегодня целым рядом исследований продемонстрировано, что экзогенные антиоксиданты, такие как витамин С, витамин Е, коэнзим Q10, карнитин, цинк, медь, селен и хром, играют решающую роль в поддержании физиологии спермы и способны противодействовать окислительному стрессу у бесплодных мужчин [8, 12, 13]. Механизм действия этих антиоксидантов включает в себя удаление и нейтрализацию свободных радикалов, а также сохранение целостности ДНК сперматозоидов и митохондриального транспорта электронов [13, 14].

Будущие исследования должны быть сосредоточены не только на определении дозировок, обнаружении потенциальных побочных эффектов и поиске наиболее эффективных комбинаций известных антиоксидантов для лечения мужского бесплодия [10], но и изучении возможностей использования новых молекул, предлагаемых для борьбы с окислительным стрессом у бесплодных мужчин.

Перспективной стратегией выглядит использование в качестве антиоксиданта мелатонина – гормона, секретируемого шишковидной железой. Будучи амфифильной молекулой по своей природе, мелатонин обладает возможностью проникать через все морфологические барьеры клетки.

Антиоксидантные эффекты мелатонина. Мелатонин является хорошо известным эффективным антиоксидантом, поскольку он является одновременно как непосредственным поглотителем свободных радикалов [15, 16], так и активатором ряда иных механизмов антиоксидантной защиты. Мелатонин способен стимулировать транскрипцию и активность антиоксидантных ферментов [17, 18], обладает способностью связываться с переходными металлами (элементами побочных подгрупп Периодической системы химических элементов Д.И. Менделеева, в атомах которых появляются электроны на d- и f- орбиталях), что ингибирует образование гидроксильного радикала [19]. Кроме того, мелатонин защищает липиды, белки и ДНК от окислительного повреждения [20, 21], поскольку он высоко сконцентрирован в митохондриях [22].

По своей способности поглощать свободные радикалы мелатонин отличается от других классических антиоксидантов. Дело в том, что способностью поглощать свободные радикалы обладает не только сам мелатонин, но и его вторичные и третичные метаболиты. Учитывая, что метаболиты мелатонина



после взаимодействия с АФК сохраняют способность нейтрализовывать свободные радикалы, одна молекула мелатонина способна удалять до десяти АФК, в отличие от иных традиционно используемых антиоксидантов, одна молекула которых способна инактивировать не более одного свободного радикала [23].

Так, мелатонин, взаимодействуя со свободными радикалами, подвергается гидроксилированию, что вызывает немедленную внутримолекулярную перегруппировку, приводя к образованию метаболита, называемого циклическим 3-гидроксимелатонином. Последний также является мощным поглотителем свободных радикалов и, взаимодействуя с двумя гидроксильными радикалами, преобразуется в другой ключевой метаболит — N1-ацетил-N2-формил-5-метоксикинурамин (АФМК). Далее происходит деформилирование АФМК до N1-ацетил-5-метоксикинурамина (АМК). Предполагается, что, помимо ариламинфосфатазы и гемопероксидазы, ферментов, способных катализировать эту реакцию, необходимо присутствие гидроксильных радикалов. По-видимому, АМК является поглотителем радикалов со значительно более высокой реакционной способностью и легко подвергается реакции одноэлектронного переноса [23, 24].

Помимо способности мелатонина и метаболитов поглощать АФК обсуждается альтернативный путь влияния мелатонина и его производных на уровень свободных радикалов и митохондриальную защиту путем активации протеинкиназ (стресс-активируемые / митоген-активируемые протеинкиназы), являющихся медиаторами передачи сигналов от поверхности клетки к ядру [25]. Стимуляция транскрипционных белков индуцирует экспрессию антиоксидантных генов ключевых антиоксидантных ферментов: глутатионпероксидазы, супероксиддисмутазы и каталазы [26].

Несмотря на положительные эффекты мелатонина, благодаря его антиоксидантным свойствам и рецептор-опосредованной передаче сигналов все механизмы его влияния на сперматогенез и мужскую фертильность до конца не изучены.

Уровень мелатонина и параметры спермы. В 2004 г. *Shang X.* и соавт. [27] опубликовали результаты исследования, посвященного изучению уровня мелатонина в сыворотке крови и семенной плазме фертильных и бесплодных мужчин. В исследование было включено 18 фертильных мужчин в возрасте 26–36 лет и 99 бесплодных мужчин в возрасте 23–36 лет с олигоастено-тератозооспермией или их сочетаниями. Не было обнаружено различий в концентрации мелатонина в сыворотке крови у фертильных и бесплодных мужчин, в то время как концентрация мелатонина в семенной плазме оказалась ниже, чем в сыворотке

крови. Было установлено, что концентрации мелатонина в семенной плазме у мужчин с олигоастенозооспермией и олигоастенотератозооспермией были относительно ниже, чем у фертильных мужчин, но разница не была статистически значимой. Был сделан вывод о возможном влиянии мелатонина на сперматогенез и фертильность. Последующие исследования подтвердили эту гипотезу.

Так, *Ortiz A.* и соавт. [28] сообщили, что уровни 6-сульфатоксимелатонина в моче у 52 бесплодных мужчин положительно коррелировали с концентрацией, подвижностью и морфологией сперматозоидов. *Awad H.* и соавт. [29] были изучены уровни мелатонина в сыворотке крови и семенной плазме в различных группах бесплодных мужчин. 120 мужчин были разделены на 6 равных групп: фертильные мужчины с нормозооспермией, мужчины с олигоастенозооспермией (ОА), мужчины с ОА и лейкоцитоспермией, мужчины с ОА и варикоцеле, мужчины с необструктивной азооспермией и высоким уровнем сывороточного фолликулостимулирующего гормона, мужчины с необструктивной азооспермией и нормальным уровнем фолликулостимулирующего гормона. Средний уровень мелатонина в сыворотке крови был выше, чем в семенной плазме во всех исследуемых группах. Уровни мелатонина в сыворотке крови и семенной плазме во всех группах бесплодных мужчин были значительно ниже по сравнению с их уровнями в группе фертильных мужчин. Самые низкие концентрации мелатонина были обнаружены у мужчин с ОА и лейкоцитоспермией. Примечательно, что концентрации мелатонина как в сыворотке, так и в семенной плазме коррелировали с подвижностью сперматозоидов.

В другом исследовании *Kratz E.M.* и соавт. [30] изучали патогенетические закономерности между выраженностью окислительного стресса и уровнем мелатонина в семенной плазме у мужчин с патозоспермией. Продукты окисления белков (advanced oxidation protein products, AOPPs) и уровень мелатонина в семенной плазме был изучен у мужчин с азооспермией ($n = 37$), тератозооспермией ($n = 29$) и нормозооспермией (контроль, $n = 37$). Концентрации мелатонина и AOPPs достоверно различались у пациентов с азооспермией ($p < 0,0001$) и тератозооспермией ($p < 0,0001$) по сравнению с фертильными мужчинами. При азооспермии концентрация AOPPs была достоверно выше, чем при тератозооспермии. По мнению исследователей, снижение концентрации мелатонина вместе с повышением уровня AOPPs изменяло окислительно-антиоксидантный баланс в эякуляте, тем самым снижая фертильность.

H Hassan M. и соавт. [31] оценили уровень мелатонина в семенной плазме и сыворотке крови у 50



пациентов с идиопатической астенотератозооспермией и 50 мужчин с нормальной фертильностью. Как и в описанных выше исследованиях, уровни мелатонина в сыворотке и семенной плазме оказались достоверно ниже у пациентов с идиопатической олигоастенотератозооспермией по сравнению с группой здоровых мужчин ($p = 0,0004$ и $0,01$ соответственно).

Таким образом, уровень мелатонина в семенной плазме, очевидно, может стать дополнительным диагностическим маркером качества спермы и репродуктивного потенциала мужчины, а эффективность терапии мелатонином в борьбе с оксидативным повреждением сперматогенных клеток требует изучения.

Защитные эффекты мелатонина: экспериментальные исследования. Очевидно, что экспериментальные исследования *in vivo* позволят оценить потенциал мелатонина в борьбе с окислительным повреждением паренхимы мужских гонад различного генеза.

На сегодняшний день опубликованы результаты десятков исследований, посвященных исследованию в эксперименте защитной роли мелатонина против окислительного стресса, вызванного различными метаболическими нарушениями, противораковой химио- и лучевой терапией и другими патогенетическими состояниями и негативными воздействиями.

Так, *Guneli E.* и соавт. [32] провели исследование влияния мелатонина на повреждение семенников у самцов крыс с сахарным диабетом (СД), вызванным стрептозотоцином. Самцов крыс линии Wistar разделили на 4 группы: контрольная группа, группа без диабета, получавшая мелатонин, группа с СД и группа с СД, получавшая мелатонин. Диабет вызывали инъекцией стрептозотоцина, а мелатонин вводили внутривентрально в дозе 10 мг/кг в течение 5 дней. У крыс с СД наблюдалось уменьшение диаметра семенных канальцев, утолщение базальной мембраны семенных канальцев и дегенерация половых клеток. TUNEL-анализ (ник — концевое мечение деоксиридин трифосфат нуклеотидов -dUTP при помощи терминальной дезоксирибонуклеотидил трансферазы) обнаруживал значительно большее число апоптотических клеток у животных с СД, нежели чем у животных контрольной группы. Мелатонин значительно ослаблял вызванные СД морфологические изменения и апоптоз зародышевых клеток в семенниках крыс с индуцированным диабетом.

Сегодня доказано, что ожирение ассоциировано с усилением окислительного стресса и снижением антиоксидантной защиты [33], а значит, может являться критическим фактором снижения мужской фертильности. *Saudi A.O.* и соавт. [34] изучалось влияние мелатонина на дисфункцию мужских гонад самцов крыс на фоне индуцированного диетой ожирения. Диета с высоким содержанием жиров вызывала

увеличение массы тела животных и уровня триглицеридов в паренхиме гонад, повышение общего холестерина, малонового диальдегида, γ -глутамил-трансферазы, лактата, а также снижение уровня глутатионпероксидазы, оксида азота и тестостерона в сыворотке крови. Описанные метаболические нарушения были менее значительны у животных, которые наряду с обозначенной диетой получали мелатонин (4 мг/кг).

О повышении уровня малонового диальдегида и снижении глутатиона в семенниках крыс на фоне диеты с высоким содержанием жиров также сообщают *Nasiraei-Moghadam S.* и соавт. [35]. Кроме того, было показано, что на фоне данной диеты в семенниках лабораторных животных увеличивается количество апоптотических клеток. Ежедневные инъекции мелатонина (5 мг/кг массы тела) нивелировали усиленный апоптоз, что, по мнению авторов, свидетельствует о способности мелатонина защищать мужские гонады от окислительного повреждения, вызванного диетой с высоким содержанием жиров.

Безруков Е.А. и соавт. [36] указывают, что повышение концентрации малонового диальдегида коррелирует с такими характеристиками, как степень зрелости сперматозоидов, снижение концентрации сперматозоидов в семенной жидкости, увеличение числа клеток с морфологическими отклонениями и наиболее часто с нарушениями подвижности из-за снижения текучести мембраны сперматозоидов.

Dehdari Ebrahimi N. и соавт. [37], выполнив мета-анализ 24 исследований, в которых оценивалось влияние терапии мелатонином на бесплодие, вызываемое метаболическими нарушениями, у самцов грызунов, пришли к выводу, что мелатонин может смягчить повреждение ткани мужских гонад при метаболических заболеваниях (ожирении, диабете, гипо- и гипертиреозе, гиперлипидемии и недостаточном питании) и не только увеличить количество сперматозоидов, но и улучшить их подвижность и увеличить долю морфологически нормальных мужских гамет.

В нескольких исследованиях изучались защитные свойства мелатонина против повреждений мужской репродуктивной системы, вызванных лучевой терапией и химиотерапией [38, 29, 40, 41]. Побочным эффектом подобного рода воздействий также является развитие окислительного стресса в паренхиме мужских гонад с последующей индукцией перекисного окисления липидов, повреждения ДНК, митохондриальной дисфункции и апоптоза [42].

Take G. и соавт. [38] изучено влияние ионизирующего излучения на семенники крыс и защитные эффекты мелатонина. Взрослые самцы крыс линии Wistar подвергались сублетальной дозе облучения 8 Гр либо всего тела, либо брюшно-тазовой области.



Части лабораторных животных внутрибрюшинно вводили мелатонин (за 24 ч до облучения 10 мг/кг, непосредственно перед облучением 20 мг/кг и через 24 ч после облучения 10 мг/кг).

Электронно-микроскопическое исследование продемонстрировало выраженную дегенерацию всех сперматогенных клеток, особенно сперматоцитов первого порядка, у животных, подвергшихся как облучению всего тела, так и брюшно-тазовой области. Однако введение мелатонина в значительной степени ингибировало эти дегенеративные изменения, особенно у крыс, получивших брюшно-тазовое облучение.

Hussein M.R. и соавт. [39] указывают, что мелатонин может минимизировать повреждение сперматогенных клеток мужских гонад, вызванное рентгеновским облучением. После облучения количество сперматогенных клеток в семенниках крыс, которым предварительно внутрибрюшинно вводили мелатонин, было сопоставимо с таковым в группе животных, не подвергшихся облучению, но значительно выше ($p < 0,05$), чем в семенниках облученных крыс, которым мелатонин предварительно не вводили. При электронной микроскопии у животных, подвергшихся облучению, наблюдались признаки апоптоза сперматогенных клеток (конденсация ядер, вакуолизация цитоплазмы, увеличение плотности цитоплазмы и апоптотических телец). Однако описанные признаки у животных, которым до облучения вводили мелатонин, отсутствовали. Примечательно, что после введения мелатонина у облученных животных наблюдались признаки повышенной метаболической активности сперматогенных клеток (большие акросомальные пузырьки, выраженный аппарат Гольджи, повышенная митотическая активность, увеличение состава цитоплазматических оргanelл и появление ядрышкоподобных телец).

Сегодня активно исследуется защитный потенциал мелатонина от различных химиотерапевтических агентов. Так, *Peng Z.* и соавт. [40] изучено неблагоприятное, частично опосредованное окислительным стрессом воздействие на мужскую репродукцию цисплатина, используемого для лечения различных типов опухолей. Введение цисплатина (5 мг/кг массы тела) значительно снижало не только уровень тестостерона у самцов мышей, но и жизнеспособность сперматозоидов и их прогрессивную подвижность. Наряду с этим наблюдалось снижение общей антиоксидантной способности, уровней супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы и одновременное увеличение концентрации малонового диальдегида в семенниках животных, что вызывало усиление апоптоза половых клеток. Введение мелатонина сглаживало вызванные цисплатином повреждение мужских гонад и снижение мужской фертильности. О способности

мелатонина смягчать репродуктивный ущерб, нанесенный другими химиотерапевтическими препаратами, сообщают *Wang Z.* и соавт. [41]. У мышей, подвергшихся воздействию паклитаксела, нарушался сперматогенез (уменьшалось количество сперматозоидов, снижалась их подвижность и увеличивалось количество аномальных форм мужских гамет). Было показано, что паклитаксел может отрицательно влиять на пролиферацию зародышевых клеток (снижение экспрессии белка PCNA) и мейоз (снижение экспрессии белка SYCP3), что в конечном итоге влияет на качество спермы и мужскую фертильность. Исследователи указывают на способность мелатонина уменьшать выраженность побочных эффектов паклитаксела на сперматогенез, подчеркивая необходимость дальнейшего изучения молекулярных механизмов этой защиты.

Метаанализ, в который были включены 38 экспериментальных исследований на грызунах, изучающих защитный потенциал мелатонина на фоне лучевой терапии (гамма- и рентгеновское излучение, радиоактивный йод), химиотерапии (метотрексат, паклитаксел, бусульфан, цисплатин, доксорубин, винбластин, блеомицин, циклофосфамид, этопозид, таксол, прокарбазин, доцетаксел и хлорамбуцил), продемонстрировал положительное действие мелатонина на мужскую репродуктивную систему. На фоне терапии мелатонином имели место улучшение гистопатологической картины семенников, повышение уровня репродуктивных гормонов, увеличение массы семенников и тела животных, а также снижение уровня окислительных маркеров в тканях гонад [42].

Кроме этого, в экспериментальных исследованиях была продемонстрирована полезность мелатонина для защиты мужских гонад от токсического действия тяжелых металлов: кадмия [43,44], мышьяка [45], свинца [46], широкого спектра токсических соединений: бисфенола А, формальдегида, никотина, четыреххлористого углерода [47]. *Kanter M.* [48] приводит экспериментальные доказательства целесообразности применения мелатонина при синдроме ишемии-реперфузии, вызванном перекрытием семенного канатика с последующей деторсией. *Semercioz A.* и соавт. [49], опираясь на результаты исследования уровня оксида азота в ткани гонад и активность антиоксидантных ферментов при экспериментально индуцированном варикоцеле слева, демонстрируют полезность мелатонина для предотвращения или, по крайней мере, замедления тяжелых последствий варикоцеле.

Таким образом, доклинические исследования на животных демонстрируют протективный потенциал мелатонина в контексте мужского бесплодия, обусловленного окислительным стрессом различной этиологии.



Влияние мелатонина на сперматозоиды человека *in vitro*. Поскольку многочисленные экспериментальные исследования продемонстрировали, что мелатонин защищает сперматозоиды от окислительного повреждения, поддерживает их жизнеспособность, уменьшает долю сперматогенных клеток с аномальным строением и предотвращает фрагментацию ДНК сперматозоидов, появилась заинтересованность оценить возможности использования мелатонина *in vitro*. Интерес научного сообщества в первую очередь связан с возможным защитным действием мелатонина на сперматозоиды во время криоконсервации. Сегодня известно, что значимым недостатком криоконсервации является то, что качество спермы может ухудшиться из-за циклов замораживания-оттаивания вследствие активации окислительного стресса, перекисного окисления липидов, что не может не сказаться на оплодотворяющей способности сперматозоидов [50].

Так, *Zhao F.* и соавт. [51] продемонстрировали, что окислительный стресс, индуцированный нагреванием спермы человека до 42 °C с последующей инкубацией в течение 3 часов в атмосфере увлажненного воздуха с 5%-й содержанием углекислого газа, повреждает сперматозоиды, снижая их подвижность и жизнеспособность. В то же время предварительная обработка сперматозоидов человека мелатонином смогла уменьшить тяжесть повреждения за счет подавления генерации АФК в митохондриях сперматозоидов, увеличения потенциала митохондриальных мембран, снижения синтеза продуктов перекисного окисления липидов, поддержания целостности ДНК сперматозоидов и уменьшения апоптоза.

О возможностях мелатонина противодействовать апоптозу сперматозоидов у мужчин сообщают и *Malmir M.* и соавт. [52]. Образцы спермы 50 мужчин с астенотератозооспермией были разделены на две группы: в образцы первой группы вносили мелатонин (6мМ), образцы второй группы выступали в качестве контроля. Оценка состояния сперматозоидов и выраженность окислительного стресса проводилась спустя 2, 4, 6 и 24 часа. В контрольной группе наряду со снижением мембранного митохондриального потенциала и жизнеспособности сперматозоидов наблюдалось повышение уровня малонового диальдегида. Результаты TUNEL-анализа и исследования дисперсии хроматина сперматозоидов продемонстрировали усиление фрагментации ДНК мужских гамет. На фоне присутствия мелатонина в образцах спермы отмечены иные тренды: уровень фрагментации ДНК был достоверно ниже, чем в контрольной группе, в то время как показатели жизнеспособности и мембранный митохондриальный потенциал сперматозоидов оказались

достоверно выше, чем в контрольных образцах. В аналогичном исследовании *Ortiz A.* и соавт. [28] образцы спермы 52 мужчин инкубировали в течение 30 минут в присутствии или в отсутствие мелатонина. Добавление мелатонина повышало долю подвижных и прогрессивно подвижных клеток.

Накопленные на сегодняшний день научные данные свидетельствуют о том, что митохондрии играют решающую роль в регуляции функции сперматозоидов. *Zhang X. Y.* и соавт. [53] использовали 3-нитрофталевую кислоту (3-НФК) для индукции окислительного стресса в митохондриях сперматозоидов человека. После обработки 3-НФК снижалась пенетрационная способность сперматозоидов. Добавление в образцы спермы, обработанные 3-НФК, мелатонина приводило не только к уменьшению АФК, но и способствовало восстановлению пенетрационной способности мужских гамет.

Результаты описанных выше исследований указывают на возможность использования мелатонина для повышения успешности вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) [23]. По мнению *Monllor F.* и соавт. [54], антиоксидантные свойства и низкая токсичность мелатонина делают его идеальным средством для защиты сперматозоидов от окислительного повреждения во время подготовки спермы к процедурам ВРТ. Тем не менее авторы подчеркивают необходимость дальнейших исследований с большим количеством участников для подтверждения защитного потенциала и целесообразности использования мелатонина в ВРТ.

Применение мелатонина в качестве пищевой добавки у инфертильных мужчин.

Учитывая высокую антиоксидантную способность мелатонина, результаты экспериментальных исследований, можно предположить, что у человека мелатонин может реализовывать свою антиоксидантную активность не только *in vitro*, но и *in vivo*. В отличие от других антиоксидантов мелатонин способен снижать уровень АФК, но не устранять их полностью [54]. Это является важным преимуществом, поскольку низкие уровни АФК необходимы для капацитации, а избыточное и эмпирическое использование антиоксидантов может оказывать вредное воздействие, предопределяя развитие индукции «редуктивного стресса» [55] и так называемого «антиоксидантного парадокса» [56].

Количество клинических исследований, посвященных роли биологически активных добавок с мелатонином при мужском бесплодии, ничтожно мало. Так, *Lu X. L.* и соавт. [57] изучено влияние пищевой добавки мелатонина на параметры спермы, гормональный профиль и общую антиоксидантную



способность после варикоцелэктомии. После выполнения субингвинальной варикоцелэктомии мужчины с бесплодием были рандомизированы на две группы: 27 мужчин в течение трех месяцев получали мелатонин, в то время как другие 27 мужчин в течение этого же срока получали плацебо. В послеоперационном периоде, через 3 и 6 месяцев после хирургического вмешательства, произошло статистически значимое улучшение ключевых параметров спермограммы (концентрации сперматозоидов, подвижности и доли сперматозоидов с нормальной морфологией), уровня ингибина В в периферической крови и общей антиоксидантной способности у мужчин, принимавших мелатонин, по сравнению с группой плацебо.

Bejarano I. и соавт. [58] оценили влияние длительного приема мелатонина инфертильными мужчинами на качество спермы и качество эмбрионов, полученных от их пар. Ежедневный прием 6 мг мелатонина уже через 45 дней лечения вызывал увеличение эндогенных уровней мелатонина, оцениваемых по концентрациям 6-сульфатоксимелатонина в моче и в семенной жидкости, снижение окислительного повреждения ДНК сперматозоидов. Кроме того, в парах, в которых мужчины получали мелатонин, наблюдалось статистически значимое улучшение качества эмбрионов. По мнению авторов, экзогенное поступление мелатонина улучшает качество спермы мужчины, что важно для достижения естественной беременности и успешных результатов ВРТ.

Заключение

1. В настоящее время к одному из значимых этиологических факторов мужского бесплодия следует отнести окислительный стресс, представляющий собой дисбаланс между выработкой АФК и механизмами антиоксидантной защиты организма. Избыточная продукция АФК ведет к повреждению плазматической мембраны сперматозоидов, нарушению их подвижности и жизнеспособности, фрагментации ДНК мужских гамет. Окислительный стресс может присутствовать у 30–80% бесплодных мужчин, что и предопределило появление нового понятия «мужское бесплодие, обусловленное окислительным стрессом», включающее в

себя сочетание патоспермии и признаков окислительного стресса. В связи с этим необходимы исследования, расширяющие возможности современной антиоксидантной терапии мужского бесплодия, в первую очередь нацеленные на поиск новых молекул, противодействующих окислительному стрессу.

2. Перспективным направлением является изучение возможностей использования мелатонина — многофункциональной молекулы, секретируемой шишковидной железой. Во-первых, это связано с тем, что антиоксидантный потенциал мелатонина значительно превосходит таковой иных традиционно используемых антиоксидантов, поскольку способностью поглощать свободные радикалы обладает не только сам мелатонин, но и его вторичные и третичные метаболиты. Во-вторых, в ряде исследований продемонстрировано, что концентрации мелатонина в семенной плазме у бесплодных мужчин ниже, чем у фертильных, а уровень мелатонина в семенной плазме, очевидно, может стать дополнительным диагностическим маркером качества спермы.

3. Результаты экспериментальных исследований демонстрируют способности мелатонина нивелировать повреждение сперматогенного эпителия и уменьшить негативное влияние на мужскую фертильность при метаболических заболеваниях, воздействии ионизирующего излучения, химических агентов (цитостатиков, тяжелых металлов, различных органических токсических соединений), ишемии, тепловом стрессе. Экспериментальные исследования показывают, что добавление мелатонина в образцы спермы при инкубации приводит к улучшению подвижности и жизнеспособности сперматозоидов. В будущем, при достаточном уровне изученности высокий антиоксидантный потенциал и низкая токсичность могут сделать мелатонин одним из широко используемых средств для защиты сперматозоидов от окислительного повреждения в процедурах ВРТ.

4. Перспективы применения пищевых добавок мелатонина с целью нивелирования оксидативного стресса при мужском бесплодии сегодня не определены из-за ограниченного количества клинических исследований.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Inhorn M.C., Patrizio P. Infertility around the globe: new thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century. *Hum Reprod Update*. 2015;21(4):411–426. DOI: 10.1093/humupd/dmv016
2. Rutstein S.O., Shah I.H. ORC Macro; World Health Organization. Infecundity, infertility, and childlessness in developing countries. Calverton: World Health Organization; 2004.
3. Kumar N., Singh A.K. Trends of male factor infertility, an important cause of infertility: A review of literature. *J Hum Reprod Sci*. 2015;8(4):191–196. DOI: 10.4103/0974-1208.170370
4. Agarwal A., Parekh N., Panner Selvam M.K., et al. Male Oxidative Stress Infertility (MOSI): Proposed terminology and clinical practice guidelines for management of idiopathic male infertility. *World J Mens Health*. 2019;37(3):296–312. DOI: 10.5534/wjmh.190055
5. Наумов Н.П., Щеплев П.А., Полозов В.В. Роль антиоксидантов в профилактике мужского бесплодия. *Андрология и генитальная хирургия* 2019;20(1):22–29. DOI: 10.17650/2070-9781-2019-20-1-22-29. Naumov N.P., Scheplev P.A., Polozov V.V.



- The role of antioxidants in prevention of male infertility. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya* = *Andrology and Genital Surgery* 2019;20(1):22–29. (In Russ.). DOI: 10.17650/2070-9781-2019-20-1-22-29
6. Patel A.S., Leong J.Y., Ramasamy R. Prediction of male infertility by the World Health Organization laboratory manual for assessment of semen analysis: A systematic review. *Arab J Urol.* 2017;16(1):96–102. DOI: 10.1016/j.aju.2017.10.005
 7. World Health Organization. WHO Manual for the Standardized Investigation and Diagnosis of the Infertile Couple. 2000, Cambridge University Press: Cambridge.
 8. Takalani N.B., Monageng E.M., Mohlala K. et al. Role of oxidative stress in male infertility. *Reprod Fertil.* 2023;4(3):e230024. DOI: 10.1530/RAF-23-0024
 9. Гвасалия Б.Р., Исаева А.В., Бабаев М.У. Место антиоксидантов в терапии мужского бесплодия. *Андрология и генитальная хирургия* 2023;24(4):59–66. DOI: 10.17650/2070-9781-2023-24-4-59-66. Gvasalia B.R., Isaeva A.V., Babaev M.U. The place of antioxidants in male infertility therapy. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya* = *Andrology and Genital Surgery* 2023;24(4):59–66. (In Russ.). DOI: 10.17650/2070-9781-2023-24-4-59-66
 10. Kaltsas A. Oxidative stress and male infertility: the protective role of antioxidants. *Medicina (Kaunas).* 2023;59(10):1769. DOI: 10.3390/medicina59101769
 11. Bisht S., Faiq M., Tolahunase M., Dada R. Oxidative stress and male infertility. *Nat Rev Urol.* 2017;14(8):470–485. DOI: 10.1038/nrurol.2017.69
 12. Ahmad K.A., Yuan Yuan D., Nawaz W., Ze H. et al. Antioxidant therapy for management of oxidative stress induced hypertension. *Free Radic Res.* 2017;51(4):428–438. DOI: 0.1080/10715762.2017.1322205
 13. Agarwal A., Cannarella R., Saleh R. et al. Impact of antioxidant therapy on natural pregnancy outcomes and semen parameters in infertile men: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *World J Mens Health.* 2023;41(1):14–48. DOI: 10.5534/wjmh.220067
 14. Ali M., Martinez M., Parekh N. Are antioxidants a viable treatment option for male infertility? *Andrologia.* 2021;53(1):e13644. DOI: 10.1111/and.13644
 15. Galano A., Tan D.X., Reiter R.J. On the free radical scavenging activities of melatonin's metabolites, AFMK and AMK. *J Pineal Res.* 2013;54(3):245–257. DOI: 10.1111/jpi.12010
 16. Абсатарова Ю.С., Андреева Е.Н., Шереметьева Е.В., Григорян О.Р. Мелатонин в репродукции человека. Проблемы репродукции. 2016;22(1):8–11. DOI: 10.17116/repro20162218-11. Absatarova YuS, Andreeva EN, Sheremet'eva EV, Grigorian OR. Melatonin in human reproduction. *Russian Journal of Human Reproduction.* 2016;22(1):8–11. (In Russ.). DOI: 10.17116/repro20162218-11
 17. Barlow-Walden L.R., Reiter R.J. et al. Melatonin stimulates brain glutathione peroxidase activity. *Neurochem Int.* 1995;26(5):497–502. DOI: 10.1016/0197-0186(94)00154-m
 18. Rodriguez C., Mayo J.C., Sainz R.M. et al. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J Pineal Res.* 2004;36(1):1–9. DOI: 10.1046/j.1600-079x.2003.00092.x
 19. Galano A., Medina M.E., Tan D.X., Reiter R.J. Melatonin and its metabolites as copper chelating agents and their role in inhibiting oxidative stress: a physicochemical analysis. *J Pineal Res.* 2015;58(1):107–116. DOI: 10.1111/jpi.12196
 20. García J.J., López-Pingarrón L., Almeida-Souza P. et al. Protective effects of melatonin in reducing oxidative stress and in preserving the fluidity of biological membranes: a review. *J Pineal Res.* 2014;56(3):225–237. DOI: 10.1111/jpi.12128
 21. Reiter RJ, Tan DX, Kim SJ, Qi W. Melatonin as a pharmacological agent against oxidative damage to lipids and DNA. *Proc West Pharmacol Soc.* 1998; 41:229–236.
 22. Venegas C., García J.A., Escames G. et al. Extrapineal melatonin: analysis of its subcellular distribution and daily fluctuations. *J Pineal Res.* 2012;52(2):217–227. DOI: 10.1111/j.1600-079X.2011.00931.x
 23. Cosme P., Rodríguez A.B., Garrido M., Espino J. Coping with oxidative stress in reproductive pathophysiology and assisted reproduction: melatonin as an emerging therapeutical tool. *Antioxidants (Basel).* 2022;12(1):86. DOI: 10.3390/antiox12010086
 24. Hardeland R. Taxon- and site-specific melatonin catabolism. *Molecules.* 2017;22(11):2015. DOI: 10.3390/molecules22112015
 25. McCubrey J.A., Lahair M.M., Franklin R.A. Reactive oxygen species-induced activation of the MAP kinase signaling pathways. *Antioxid Redox Signal.* 2006;8(9–10):1775–1789. DOI: 10.1089/ars.2006.8.1775
 26. Galano A., Tan D.X., Reiter R.J. Melatonin as a natural ally against oxidative stress: a physicochemical examination. *J Pineal Res.* 2011;51(1):1–16. DOI: 10.1111/j.1600-079X.2011.00916.x
 27. Shang X., Ye Z., Yu X., Huang Y. Detection of melatonin in the serum and seminal plasma of fertile and infertile men. *Zhonghua Nan Ke Xue.* 2004;10(4):293–294.
 28. Ortiz A., Espino J., Bejarano I. et al. High endogenous melatonin concentrations enhance sperm quality and short-term in vitro exposure to melatonin improves aspects of sperm motility. *J Pineal Res.* 2011;50(2):132–139. DOI: 10.1111/j.1600-079X.2010.00822.x
 29. Awad H., Halawa F., Mostafa T., Atta H. Melatonin hormone profile in infertile males. *Int J Androl.* 2006;29(3):409–413. DOI: 10.1111/j.1365-2605.2005.00624.x
 30. Kratz E.M., Piwowar A., Zeman M. et al. Decreased melatonin levels and increased levels of advanced oxidation protein products in the seminal plasma are related to male infertility. *Reprod Fertil Dev.* 2016; 28(4):507–515. DOI: 10.1071/RD14165
 31. H Hassan M., A El-Taieb M. et al. Men with idiopathic oligoasthenoteratozoospermia exhibit lower serum and seminal plasma melatonin levels: Comparative effect of night-light exposure with fertile males. *Exp Ther Med*;20(1):235–242. DOI: 10.3892/etm.2020.8678
 32. Guneli E., Tugyan K., Ozturk H. et al. Effect of melatonin on testicular damage in streptozotocin-induced diabetes rats. *Eur Surg Res.* 2008;40(4):354–360. DOI: 10.1159/000118032
 33. Жук Т.В., Яворская С.Д., Востриков В.В. Ожирение, репродукция и оксидативный стресс. Ожирение и метаболизм. 2017;14(4):16–22. DOI: 10.14341/omet2017416-22
 - Zhuk TV, Yavorskaya SD, Vostrikov VV. Obesity, reproduction and oxidative stress. *Obesity and metabolism.* 2017;14(4):16–22. (In Russ.). DOI: 10.14341/omet2017416-22
 34. Saidi A.O., Akintayo C.O., Atuma C.L. et al. Melatonin supplementation preserves testicular function by attenuating lactate production and oxidative stress in high fat diet-induced obese rat model. *Theriogenology.* 2022; 187:19–26. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2022.02.029
 35. Nasiraei-Moghadam S., Parivar K., Ahmadiani A. et al. Food deprivation and social inequality may lead to oxidative damage: a study on the preventive role of melatonin in the male rat reproductive system. *Reprod Fertil Dev.* 2016; 28:1232–1239. DOI: 10.1071/RD14432
 36. Безруков Е.А., Проскура А.В. Взаимосвязь окислительного стресса и повреждения генетического материала сперматозоидов. Проблемы репродукции. 2016; 22(6): 103–109. DOI: 10.17116/repro2016226103-109. Bezrukov EA, Proskura AV. Relation between oxidative stress and sperm DNA damage. *Russian Journal of Human Reproduction.* 2016; 22(6):103–109. (In Russ.) DOI: 10.17116/repro2016226103-109
 37. Dehdari Ebrahimi N., Sadeghi A., Ala M. et al. Protective effects of melatonin against oxidative stress induced by metabolic disorders in the male reproductive system: a



- systematic review and meta-analysis of rodent models. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023; 14:1202560. DOI: 10.3389/fendo.2023.1202560
38. Take G., Erdogan D., Helvaciglu F. et al. Effect of melatonin and time of administration on irradiation-induced damage to rat testes. *Braz J Med Biol Res*. 2009;42(7):621-628. DOI: 10.1590/s0100-879x2009000700006
39. Hussein M.R., Abu-Dief E.E., Abou El-Ghait A.T. et al. Morphological evaluation of the radioprotective effects of melatonin against X-ray-induced early and acute testis damage in Albino rats: an animal model. *Int J Exp Pathol*. 2006;87(3):237-250. DOI: 10.1111/j.1365-2613.2006.00480.x
40. Peng Z., Xin W.Z., Sheng Z.Y. et al. Melatonin alleviates cisplatin-induced mice spermatogenesis defects. *Reprod Toxicol*. 2023; 119:108391. DOI: 10.1016/j.reprotox.2023.108391
41. Wang Z., Teng Z., Wang Z. et al. Melatonin ameliorates paclitaxel-induced mice spermatogenesis and fertility defects. *J Cell Mol Med*. 2022;26(4):1219-1228. DOI: 10.1111/jcmm.17177
42. Dehdari Ebrahimi N., Sadeghi A., Shojaei-Zarghani S. et al. Protective effects of exogenous melatonin therapy against oxidative stress to male reproductive tissue caused by anti-cancer chemical and radiation therapy: a systematic review and meta-analysis of animal studies. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023; 14:1184745. DOI: 10.3389/fendo.2023.1184745
43. Ji Y.L., Wang H., Meng C. et al. Melatonin alleviates cadmium-induced cellular stress and germ cell apoptosis in testes. *J Pineal Res*. 2012;52(1):71-79. DOI: 10.1111/j.1600-079X.2011.00921.x
44. Sobhani M., Rouzbehi A., Mahmoodi R., Sobhani Z. The protective effect of melatonin on sperm morphology and histology of the rat testis damage induced by cadmium chloride. *J Mazandaran Univ Med Sci*. 2015; 25 (123) :32-44.
45. Bustos-Obregón E., Poblete D., Catriao R., Fernandes F.H. Protective role of melatonin in mouse spermatogenesis induced by sodium arsenite. *Int J Morphol Int J Morphol*. 2013; 31:849. DOI: 10.4067/S0717-95022013000300012
46. Olayaki L.A., Alagbonsi I.A., Abdulrahim A.H. et al. Melatonin prevents and ameliorates lead-induced gonadotoxicity through antioxidative and hormonal mechanisms. *Toxicol Ind Health*. 2018; 34(9):596-608. DOI: 10.1177/0748233718773508
47. Dehdari Ebrahimi N., Parsa S., Nozari F. et al. Protective effects of melatonin against the toxic effects of environmental pollutants and heavy metals on testicular tissue: A systematic review and meta-analysis of animal studies. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023; 14:1119553. DOI: 10.3389/fendo.2023.1119553
48. Kanter M. Protective effects of melatonin on testicular torsion/detorsion-induced ischemia-reperfusion injury in rats. *Exp Mol Pathol*. 2010; 89(3):314-320. DOI: 10.1016/j.yexmp.2010.07.006
49. Semercioz A., Onur R., Ogras S., Orhan I. Effects of melatonin on testicular tissue nitric oxide level and antioxidant enzyme activities in experimentally induced left varicocele. *Neuro Endocrinol Lett*. 2003;24(1-2):86-90.
50. Makris A., Alevra A.I., Exadactylos A., Papadopoulos S. The role of melatonin to ameliorate oxidative stress in sperm cells. *Int J Mol Sci*. 2023;24(20):15056. DOI: 10.3390/ijms242015056
51. Zhao F., Whiting S., Lambourne S. et al. Melatonin alleviates heat stress-induced oxidative stress and apoptosis in human spermatozoa. *Free Radic Biol Med*. 2021;164: 410-416. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.01.014
52. Malmir M., Naderi Noreini S., Ghafarizadeh A. et al. Ameliorative effect of melatonin on apoptosis, DNA fragmentation, membrane integrity and lipid peroxidation of spermatozoa in the idiopathic asthenoteratospermic men: In vitro. *Andrologia*. 2021;53(2):e13944. DOI: 10.1111/and.13944
53. Zhang X.Y., Xiong Y.M., Tan Y.J. et al. Melatonin rescues impaired penetration ability of human spermatozoa induced by mitochondrial dysfunction. *Reproduction*. 2019;158(5):465-475. DOI: 10.1530/REP-19-0231
54. Monllor F., Espino J., Marchena A.M. et al. Melatonin diminishes oxidative damage in sperm cells, improving assisted reproductive techniques. *Turk J Biol*. 2017;41(6):881-889. DOI: 10.3906/biy-1704-45
55. Pérez-Torres I., Guarner-Lans V., Rubio-Ruiz M.E. Reductive Stress in inflammation-associated diseases and the pro-oxidant effect of antioxidant agents. *Int J Mol Sci*. 2017;18(10):2098. DOI: 10.3390/ijms18102098
56. Halliwell B. The antioxidant paradox. *Lancet*. 2000; 355(9210):1179-1180. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)02075-4
57. Lu X.L., Liu J.J., Li J.T. et al. Melatonin therapy adds extra benefit to varicocelectomy in terms of sperm parameters, hormonal profile and total antioxidant capacity: A placebo-controlled, double-blind trial. *Andrologia*. 2018; 50(6):e13033. DOI: 10.1111/and.13033
58. Bejarano I., Monllor F., Marchena A.M. et al. Exogenous melatonin supplementation prevents oxidative stress-evoked DNA damage in human spermatozoa. *J Pineal Res*. 2014;57(3):333-339. DOI: 10.1111/jpi.12172

Вклад авторов

Белый Л.Е.: обзор публикаций по теме статьи, написание текста статьи.

Authors' contribution.

L.E. Belyi: review of publications on the topic of the article, article writing.

ORCID авторов/ ORCID of author

Л.Е. Белый / L.E. Belyi: <https://orcid.org/0000-0003-0908-1321>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства образования и науки России.

Сведения об авторе, ответственном за связь с редакцией

Белый Лев Евгеньевич — профессор кафедры госпитальной хирургии, анестезиологии, реаниматологии, урологии, травматологии и ортопедии ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», доктор медицинских наук. ORCID: 0000-0003-0908-1321. Персональный идентификатор РИНЦ: AuthorID: 214608 SPIN-код: 5537-6940. Контактный телефон: +7-917-605-97-19. E-mail: lbely@yandex.ru