

## КРАТКОЕ СООБЩЕНИЕ

©Коллектив авторов

### ВИТАМИН В<sub>12</sub> КАК ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ МАРКЕР СНИЖЕНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ У МУЖЧИН

*А.Ф. Иштулин\*, Н.В. Короткова, И.В. Матвеева, И.В. Минаев, П.М. Полякова*

Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова,  
390026, Рязань, ул. Высоковольная, 9; \*эл. почта: a.ishtulin@yandex.ru

В научной литературе имеются данные, подтверждающие взаимосвязь количества витамина В<sub>12</sub> и качество спермы, но результаты противоречивы. Целью нашего исследования была количественная оценка витамина В<sub>12</sub> в спермоплазме у пациентов с хроническим простатитом и варикоцеле с сопутствующей астенозооспермией и выявление возможной взаимосвязи между количеством витамина В<sub>12</sub> и астенозооспермией. Объектом исследования служили 90 мужчины в возрасте 27±2 года с диагнозом хронический простатит и варикоцеле с сопутствующей астенозооспермией и бесплодием. Материалом для исследования была спермоплазма. Эякулят исследовали на спермоанализаторе и с помощью световой микроскопии. Количество витамина В<sub>12</sub> в спермоплазме определяли методом конкурентного ИФА. У пациентов с хроническим простатитом III В и астенозооспермией выявлено снижение витамина В<sub>12</sub> в 3,6 раза по сравнению с контрольной группой. У пациентов с варикоцеле II и III степени и астенозооспермией выявлено снижение витамина В<sub>12</sub> в 4,4 раза по сравнению с контрольной группой. Была выявлена положительная корреляция средней степени выраженности ( $r=0,683$ ;  $p=0,001$ ) между подвижностью сперматозоидов и количеством витамина В<sub>12</sub>. У пациентов с хроническим простатитом III В и варикоцеле II и III степени, сопровождающихся астенозооспермией, была выявлена положительная корреляция средней степени выраженности ( $r=0,690$ ;  $p=0,001$ ) между подвижностью сперматозоидов и количеством витамина В<sub>12</sub>. Снижение уровня витамина В<sub>12</sub> ниже в спермоплазме может служить маркером нарушения репродуктивной функции у мужчин.

**Ключевые слова:** витамин В<sub>12</sub>; цианкобаламин; спермограмма; астенозооспермия

**DOI:** 10.18097/PBMC20226803228

## ВВЕДЕНИЕ

Витамин В<sub>12</sub> (цианкобаламин) относится к водорастворимым витаминам группы В [1]. В организме человека витамин В<sub>12</sub> не синтезируется. Его источниками являются говяжья печень, почки, рыба, яйца, молоко и сыр [2]. Образование коферментных форм витамина В<sub>12</sub> (метилкобаламин и дезоксиаденозилкобаламин) происходит в печени и почках. Метилкобаламин участвует в реакции синтеза метионина из гомоцистеина, которую катализирует фермент 5-метилтетрагидрофолат-гомоцистеин-S-метилтрансфераза [3]. Основные биохимические функции витамина В<sub>12</sub> включают участие в синтезе ДНК, обмене жирных кислот и аминокислот [4]. Недостаток коферментной формы витамина В<sub>12</sub> метилкобаламина приводит к нарушению синтеза тимидина, входящего в состав ДНК, что может привести к развитию различных патологических состояний, например, таких, как мегалобластная анемия, потеря памяти [5, 6]. В обмене белков и аминокислот цианкобаламин является коферментом фермента 5-метилтетрагидрофолат-гомоцистеин-S-метилтрансферазы, который катализирует превращение гомоцистеина в метионин. Другой кофермент витамина В<sub>12</sub> — 5-дезоксиаденозилкобаламин — участвует в реакции превращения метилмалонил-S-CoA в сукцинил-S-CoA, катализируемой ферментом метилмалонил-КоА мутазой.

В научной литературе имеются данные о лечении бесплодных мужчин витамином В<sub>12</sub> с целью повышения фертильности. Исследования по изучению

влияния витамина В<sub>12</sub> на показатели спермограммы начали проводить ещё в прошлом веке. По данным Gual-Frau и соавт. [7], у бесплодных мужчин с варикоцеле отмечается самый высокий процент сперматозоидов с повреждённой ДНК. По данным других авторов, было выявлено снижение концентрации кобаламина в плазме крови у бесплодных мужчин по сравнению с фертильными [8]. Авторы показали, что витамин В<sub>12</sub> попадает в органы мужской репродуктивной системы с током крови, что существенно влияет на сперматогенез и качественные показатели спермы [9].

Бесплодие является одной из важнейших и глобальных проблем современного общества, в частности, бесплодие у мужчин составляет примерно 7% [10-12]. Причины, вызывающие бесплодие, различны. В 25% случаев фактором, способствующим мужскому бесплодию, является азооспермия (отсутствие сперматозоидов в эякуляте), у 40% пациентов этиология бесплодия неизвестна [13]. Одним из основных факторов мужского бесплодия является астенозооспермия (снижение подвижности сперматозоидов ниже нормы) [14].

Таким образом, участие витамина В<sub>12</sub> в контроле мужской репродуктивной функции является важным звеном в решении проблемы фертильности у мужчин. По данным Dhillon и соавт. [8] и Moriуama и соавт. [15] концентрация цианкобаламина в плазме крови у мужчин с нарушением репродуктивной функции ниже, чем у фертильных. В исследованиях, проведённых Isoyama и соавт. [16], было отмечено увеличение

подвижности сперматозоидов у бесплодных мужчин с астенозооспермией в 50 раз после введения им витамина В<sub>12</sub>. В то же время по результатам других исследователей Farthing и соавт. [17] и Chen и соавт. [18] взаимосвязь между количеством витамина В<sub>12</sub> и качеством спермы не была выявлена. Данные о взаимосвязи цианкобаламина в спермоплазме и подвижности сперматозоидов у пациентов с хроническим простатитом III В/синдромом хронической тазовой боли и варикоцеле II и III степени с сопутствующей астенозооспермией в научной литературе нами не были найдены. Целью нашего исследования была оценка количества витамина В<sub>12</sub> в спермоплазме у пациентов с хроническим простатитом III В/синдромом хронической тазовой боли и варикоцеле II и III степени с сопутствующей астенозооспермией и выявление взаимосвязи между количеством витамина В<sub>12</sub> и астенозооспермией.

## МЕТОДИКА

Объектом исследования были 90 мужчин в возрасте 27±2 года с диагнозом хронический простатит III В/синдром хронической тазовой боли и варикоцеле II и III степени с сопутствующей астенозооспермией. Все мужчины проходили обследование в клинко-диагностической лаборатории Городской клинической больницы №8 в 2021 году. По анкетным данным пациентов и результатам проведённых исследований были выделены три группы мужчин. Первая группа включала 30 пациентов с диагнозом хронический простатит III В/синдром хронической тазовой боли и астенозооспермия. Вторая группа — 30 пациентов с диагнозом варикоцеле II и III степени и астенозооспермия. В контрольную группу пациентов было включено 30 здоровых мужчин с нормозооспермией, сопоставимых по возрасту с пациентами исследуемых групп.

Материалом для исследования служила спермоплазма. Перед исследованием спермограммы было исключено употребление алкоголя в любых количествах, в течение 6-7 дней. Эякулят был получен путём мастурбации после полового воздержания от 2-х до 7-и суток. Для сбора эякулята использовали одноразовые пластиковые контейнеры с завинчивающейся крышкой. Спермоплазму получали методом центрифугирования (центрифуга СМ-6МТ низкоскоростная, “ELMI”, Латвия) образцов спермы, полученных для химико-микроскопического исследования в течение 10 мин при скорости 1000 об/мин. После отделения осадка спермоплазму замораживали при температуре -20°C до проведения исследования.

Химико-микроскопическое исследование эякулята выполнено на лазерном спермоанализаторе АФС-500-2 (“Биола”, Россия) с компьютерной обработкой и отображением полученных результатов и с помощью световой микроскопии (микроскоп MC 100 X, “Micros Productions und Handelsges.m.b.H”, Австрия). Количество витамина В<sub>12</sub> в спермоплазме определяли с помощью наборов фирмы “Cloud-Clone

Corp.” (США) методом конкурентного ИФА в спермоплазме на микропланшетном фотометре для иммуноферментного анализа STAT FAX 2100 (“Awareness Technologies”, США). Измерение проводили при длине волны 450 нм сразу после добавления стоп-реагента. Результаты выражали в пг/мл в спермоплазме.

Статистический анализ выполняли с помощью программ Microsoft Office Excel 2016 и Statistica 26.0. Нормальность распределения выборки оценивали по критерию Колмогорова-Смирнова. Сравнение нескольких групп проводили с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни с поправкой Бонферрони. Корреляционный анализ осуществляли с помощью теста Спирмена, учитывающего ненормальный характер распределения выборки. Различия считали статистически значимыми при  $p \leq 0,002$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Уровень витамина В<sub>12</sub> в контрольной группе составил 1058,2 [756,0; 1300,0] пг/мл. В спермоплазме у пациентов с хроническим простатитом III В/синдромом хронической тазовой боли и астенозооспермией было выявлено значительное снижение уровня витамина В<sub>12</sub> до 217,7 [91,4; 412,0] пг/мл по сравнению с контрольной группой ( $p=0,001$ ). У пациентов в группе с варикоцеле II и III степени и астенозооспермией также отмечалось снижение количества витамина В<sub>12</sub> — до 194,9 [86,4; 380,0] пг/мл по сравнению с контрольной группой ( $p=0,002$ ).

При проведении корреляционного анализа была выявлена положительная корреляция средней степени выраженности ( $r=0,690$ ,  $p=0,001$ ) между подвижностью сперматозоидов и количеством витамина В<sub>12</sub> у пациентов с хроническим простатитом III В/синдромом хронической тазовой боли и астенозооспермией (рис. 1).

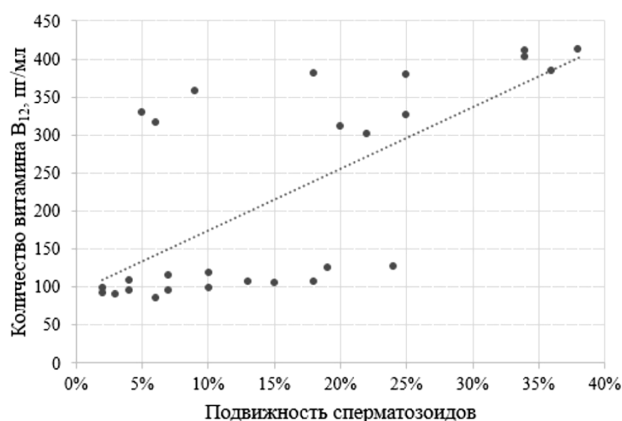
У пациентов с варикоцеле II и III степени с астенозооспермией, также была выявлена положительная корреляция средней степени выраженности ( $r=0,683$ ,  $p=0,001$ ) между подвижностью сперматозоидов и количеством витамина В<sub>12</sub> (рис. 2).

У пациентов без нарушения репродуктивной функции была выявлена положительная корреляционная взаимосвязь высокой степени выраженности ( $r=0,792$ ,  $p=0,01$ ) между подвижностью сперматозоидов и количеством витамина В<sub>12</sub> (рис. 3).

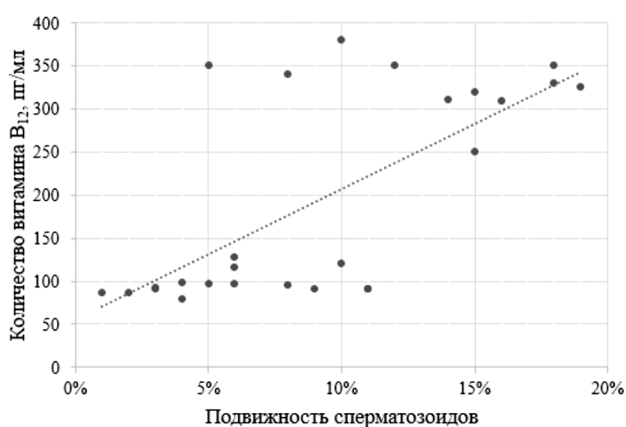
При проведении корреляционного анализа между первой и второй экспериментальными группами не было выявлено корреляционной взаимосвязи.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

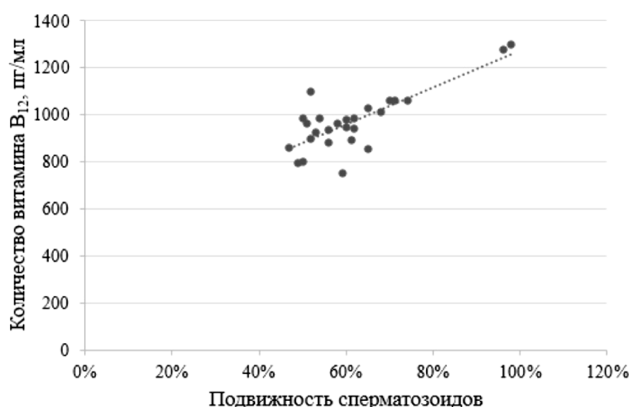
Количество витамина В<sub>12</sub> в спермоплазме у пациентов с хроническим простатитом III В/синдромом хронической тазовой боли и астенозооспермией значительно ниже, чем у здоровых мужчин. Количество витамина В<sub>12</sub> в спермоплазме



**Рисунок 1.** Зависимость подвижности сперматозоидов в спермоплазме у пациентов с хроническим простатитом III В и астенозооспермией от количества витамина В<sub>12</sub>.



**Рисунок 2.** Зависимость подвижности сперматозоидов в спермоплазме у пациентов с варикоцеле II и III степени и астенозооспермией от количества витамина В<sub>12</sub>.



**Рисунок 3.** Зависимость подвижности сперматозоидов в спермоплазме у обследуемых контрольной группы от количества витамина В<sub>12</sub>.

у пациентов с варикоцеле II и III степени с астенозооспермией также ниже по сравнению с контрольной группой. У пациентов с хроническим простатитом III В/синдромом хронической тазовой боли и варикоцеле II и III степени с астенозооспермией была выявлена положительная корреляция средней степени выраженности между количеством

витамина В<sub>12</sub> и подвижностью сперматозоидов. В контрольной группе была выявлена положительная корреляция высокой степени выраженности между количеством витамина В<sub>12</sub> и подвижностью сперматозоидов. Снижение уровня витамина В<sub>12</sub> в спермоплазме ниже, чем у лиц контрольной группы может служить маркером нарушения репродуктивной функции у мужчин.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Бюджет Рязанского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Исследование одобрено на заседании локального этического комитета Рязанского государственного медицинского университета РязГМУ 11 мая 2021 года (выписка из протокола № 11). Все обследуемые подписали информационное согласие на участие в исследовании и использовании их биопроб.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Adolfo F., do Nascimento P., Bohrer D., de Carvalho L.M., Viana C., Guarda A., Mattiazzi P. (2016) Simultaneous determination of cobalt and nickel in vitamin B<sub>12</sub> samples using high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry. *Talanta*, **147**, 241-245. DOI: 10.1016/j.talanta.2015.09.073
2. Brouwer-Brolsma E., Dhonukshe-Rutten R., van Wijngaarden J., Zwaluw N., Velde N., de Groot L. (2015) Dietary sources of vitamin B<sub>12</sub> and their association with vitamin B<sub>12</sub> status markers in healthy older adults in the B-PROOF study. *Nutrients*, **7**(9), 7781-7797. DOI: 10.3390/nu7095364
3. Liptak M., Datta S., Matthews R., Brunold T.C. (2008) Spectroscopic study of the cobalamin-dependent methionine synthase in the activation conformation: Effects of the y1139 residue and S-adenosylmethionin on the B<sub>12</sub> cofactor. *J. Am. Chem. Soc.*, **130**(48), 16374-16381. DOI: 10.1021/ja8038129
4. Lu H., Liu X., Deng Y., Qing H. (2013) DNA methylation, a hand behind neurodegenerative diseases. *Front. Aging Neurosci.*, **5**(85), 1-16. DOI: 10.3389/fnagi.2013.00085
5. Yadav M., Manoli N., Madhunapantula S. (2016) Comparative assessment of vitamin-B<sub>12</sub>, folic acid and homocysteine levels in relation to p 53 expression in megaloblastic anemia. *Plos One*, **11**(10), e0164559. DOI: 10.1371/journal.pone.0164559
6. Tun A., Thein K., Myint Z., Thein H. (2017) Pernicious anemia: Fundamental and practical aspects in diagnosis. *Cardiovasc. Hematol. Agents Med. Chem.*, **15**(1), 17-22. DOI: 10.2174/1871525715666170203114632
7. Gual-Frau J., Abad C., Amengual M.J., Hannaoui N., Checa M.A., Ribas-Maynou J., Lozano I., Nikolaou A., Benet J., Garcia-Peiro A., Prats J. (2015) Oral antioxidant

- treatment partly improves integrity of human sperm DNA in infertile grade I varicocele patients. *Human. Fertility*, **18**, 225-229. DOI: 10.3109/14647273.2015.1050462
8. Dhillon V., Shahid M., Husain S. (2007) Associations of MTHFR DNMT3b 4977 bp deletion in mtDNA and GSTM1 deletion, and aberrant CPG island hypermethylation of GSTM1 in non-obstructive infertility in indian men. *Mol. Hum. Reprod.*, **13**(4), 213-222. DOI: 10.1093/molehr/gal118
  9. Boxmeer J., Smit M., Weber R., Lindemans J., Romijn J.C., Eijkemans M.J., Steegers-Theunissen R.P. (2007) Seminal plasma cobalamin significantly correlates with sperm concentration in men undergoing IVF or ICSI procedures. *J. Androl.*, **28**(4), 521-527. DOI: 10.2164/jandrol.106.001982
  10. Adeoye O., Olawumi J., Opeyemi A., Christiania O. (2018) Review on the role of glutathione on oxidative stress and infertility. *J. Assisted Reproduction Genetics*, **22**(1), 61-66. DOI: 10.5935/1518-0557.20180003
  11. Собенников И.С., Жиборев Б.Н., Котанс С.Я., Черенков А.А. (2017) Диагностика и лечение мужского бесплодия у больных распространённой патологией гениталий и паховой области. *Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова*, **25**(3), 460-468. [Sobennikov I.S., Zhiborev B.N., Kotans S.Ya., Cherenkov A.A. (2017) Diagnosis and treatment of male infertility in patients with common pathology of genitals and inguinal region. *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*, **25**(3), 460-468.] DOI: 10.23888/PAVLOVJ20173460-468
  12. Галимова С.Ш., Гайсина А.Ф., Травников О.Ю., Галимова Э.Ф. (2018) Диоксины и окислительно-восстановительный статус эякулята: есть ли связь с фертильностью? *Наука молодых (Eruditio Juvenium)*, **6**(2), 259-266. [Galimova S.Sh., Gaisina A.F., Travnikov O.Yu., Galimova E.F. (2018) Dioxins and sperm redox status: Is there a connection with fertility? *Science of the Young (Eruditio Juvenium)*, **6**(2), 259-266.] DOI: 10.23888/HMJ201862259-266
  13. Krausz C., Riera-Escamilla A. (2018) Genetics of male infertility. *Nature reviews. Urology*, **15**(6), 369-384. DOI: 10.1038/s41585-018-0003-3
  14. Shahrokhi S.Z., Salehi P., Alyasin A., Taghiyar S., Deemeh M.R. (2019) Asthenozoospermia: Cellular and molecular contributing factors and treatment strategies. *Andrologia*, **52**(2), e13463. DOI: 10.1111/and.13463
  15. Moriyama H., Nakamura K., Sanda N., Fujiwara E., Seko S., Yamazaki A., Mizutani M., Sagami K., Kitano T. (1987) Studies on the usefulness of a long-term, high-dose treatment of methylcobalamin in patients with oligozoospermia. *Hinyokika Kiyo*, **33**, 151-156.
  16. Isoyama R., Kawai S., Shimizu Y., Harada H., Takihara H., Baba Y., Sakatoku J. (1984) Clinical experience with methylcobalamin (CH3-B12) for male infertility. *Hinyokika Kiyo*, **30**, 581-586.
  17. Farthing M.J., Edwards C.R., Rees L.H., Dawson A.M. (1982) Male gonadal function in coeliac disease: 1. Sexual dysfunction, infertility, and semen quality. *Gut*, **23**, 608-614.
  18. Chen Q., Ng V., Mei J., Chia S.E. (2001) Comparison of seminal vitamin B<sub>12</sub>, folate, reactive oxygen species and various sperm parameters between fertile and infertile males. *Wei Sheng Yan Jiu*, **30**, 80-82.

Поступила в редакцию: 28. 03. 2022.  
После доработки: 02. 06. 2022.  
Принята к печати: 03. 06. 2022.

## VITAMIN B<sub>12</sub> IS A DIAGNOSTIC MARKER OF DECREASED MEN REPRODUCTIVE FUNCTION

A.F. Ishtulin\*, N.V. Korotkova, I.V. Matveeva, I.V. Minaev, P.M. Polyakova

Academician I.P. Pavlov Ryazan State Medical University,  
9 Vysokovoltная str., Ryazan, 390026 Russia; \*e-mail: a.ishtulin@yandex.ru

Although the relationship between the amount of vitamin B<sub>12</sub> and the quality of sperm exists, but results are controversial and require several additional research. The objective of our study was to analyse the amount of vitamin B<sub>12</sub> in the sperm samples from patients with chronic prostatitis and varicocele with accompanying asthenozoospermia, and to identify the relationship between the amount of vitamin B<sub>12</sub> and asthenozoospermia. The research was carried out of men with chronic prostatitis and varicocele with accompanying asthenozoospermia and infertility at the age of 27±2 years. The material of the investigation was spermoplasm. A chemical microscopic examination of the ejaculate was carried out with a sperm analyzer and with the light microscopy. The amount of vitamin B<sub>12</sub> in the spermoplasm was determined by the method of competitive ELISA. It was found that the level of vitamin B<sub>12</sub> was 3.6 times lower in patients with chronic prostatitis III B and asthenozoospermia then in the control group. Among patients with varicocele of II and III grade and asthenozoospermia, the level of vitamin B<sub>12</sub> was 4.4 times lower than in control group. A positive correlation relationship of average strength was revealed ( $r=0,683$ ;  $p=0,001$ ). Additionally, it was revealed that among patients with Chronic prostatitis III B and varicocele of II and III grades with accompanying asthenozoospermia, there was the positive correlation relationship of average strength ( $r=0,690$ ;  $p=0,001$ ) between the amount of vitamin B<sub>12</sub> and sperm mobility. A decrease in vitamin B<sub>12</sub> levels may serve as a marker of reproductive dysfunction in men.

**Key words:** vitamin B<sub>12</sub>; cyanocobalamin; spermogram; asthenozoospermia

**Funding.** Budget of Ryazan State Medical University.

Received: 28.03.2022; revised: 02.06.2022; accepted: 03.06.2022.