

Особливості аргіназного шляху метаболізму L-аргініну в сперматозоїдах чоловіків при різних формах патоспермії

Р.В. Фафула, О.К. Онуфрович, У.П. Єфремова, Д.З. Воробець, З.Д. Воробець

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького;
e-mail: roman_fafula@ukr.net

При різних формах патоспермії у чоловіків досліджували зміни активності аргінази сперматозоїдів та гормональний профіль периферичної крові. Встановлено, що активність аргінази в сперматозоїдах чоловіків з олігозоо-, астенозоо-, олігоастенозоо- та лейкоцитоспермією знижується в 2,1, 2,3, 2,4 і 3,3 рази відповідно. Це вказує на пригнічення аргіназного шляху метаболізму L-аргініну, яке суттєво не залежить від типу порушення сперматогенезу. Проте зниження активності аргінази має найбільш виражений характер у пацієнтів з лейкоцитоспермією, адже лейкоцити стимулюють утворення реактивних форм кисню, індукцію та розвиток оксидативного та нітразивного стресу в сперматозоїдах. Пригнічення аргіназного шляху метаболізму L-аргініну має пристосувальне значення, яке полягає в обмеженні його біодоступності та запобіганні надлишкового утворення NO у цитотоксичних для сперматозоїдів концентраціях. Відзначено також зміщення сироваткового вмісту гонадотропних і статевих гормонів у чоловіків з різними формами патоспермії. Так, зокрема вміст фолікулостимулюючого гормону при олігозооспермії, спричиненій гіпогонадізмом вищий вдвічі, а у разі лейкоцитоспермії в 1,8 рази щодо значень у фертильних чоловіків. Водночас за умов астенозооспермії цей показник нижчий в 2,2 рази стосовно значень у чоловіків з нормозооспермією, проте знаходиться в межах фізіологічної норми. Вміст тестостерону нижчий в 1,6 рази у чоловіків з порушенням сперматогенезу за типом олігозооспермії і знаходиться на нижній межі фізіологічної норми. Встановлено, що у неплідних чоловіків з порушенням сперматогенезу за типом олігозооспермії пригнічення активності аргінази сперматозоїдів позитивно корелює зі зниженням їх концентрації в еякуляті ($r = 0,68$).

Ключові слова: аргіназа; оксид азоту; неплідність у чоловіків.

ВСТУП

Непліддя є важливою соціально-демографічною та медико-біологічною проблемою не тільки для України, а й для більшості розвинутих країн, його частка за різними даними сягає до 35-50 %. Серед причин цієї патології вагоме місце займають порушення сперматогенезу [1]. Одним з ключових патогенетичних ланок розвитку непліддя у чоловіків є порушення функціонування NO-сигнальної системи [2]. Оксид азоту (NO) – молекула, якій властива висока реакційна здатність та широкий спектр біорегуляторних ефектів у різних органах, зокрема і в чоловічій ста-

тевій системі. Ензиматичне утворення NO здійснюється за участю NO-синтаз (NOS), які експресуються у різних клітинах статевої системи чоловіків [3]. Швидкість продукції NO значною мірою залежить від біодоступності L-аргініну, який виступає субстратом для NOS.

Аргіназа (EC 3.5.3.1) – металоензим циклу сечовини, який каталізує гідроліз L-аргініну до сечовини та орнітину, конкуруючи за спільний субстрат із NOS та впливаючи на її активність. Співвідношення між різними шляхами метаболізму L-аргініну (NO-синтазним (окисним) та аргіназним (неокисним)) підтримує фізіологічний пул цієї

© Р.В.Фафула, О.К.Онуфрович, У.П.Єфремова, Д.З.Воробець, З.Д. Воробець

амінокислоти у клітинах та детермінує інтенсивність продукції NO та його метаболітів [4]. Відомо, що ензим представлений у двох ізоформах: аргіназа I – ензим цитозольної локалізації, який найбільш інтенсивно експресується у клітинах печінки і, головним чином, задіяний в утворенні сечовини, аргіназа II – ензим мітохондріальної локалізації, який ідентифіковано в різних типах клітин. Вона бере участь в біосинтезі поліамінів, орнітину, проліну, глутамату та в прозапальних процесах [5]. Таким чином, аргіназа відіграє важливу роль у регуляції клітинного синтезу NO і модифікує його біологічні ефекти [6]. У свавців аргіназу ідентифіковано в клітинах простати, сім'яників, у сім'яній рідині та сперматозоїдах.

У науковій літературі можна зустріти поодинокі дані щодо активності аргінази в сперматозоїдах чоловіків з непліддям, проте ці дані є вкрай суперечливими [7]. Вивчення активності аргінази в патогенезі порушень репродуктивної функції чоловіків є перспективним, оскільки з'ясування нових відомостей дасть можливість удосконалити діагностику і сприятиме розробленню правильної тактики й оптимальних схем обґрунтованого лікування.

Метою нашої роботи було дослідити активність аргінази в сперматозоїдах неплідних чоловіків з різними порушеннями спермогенезу та встановити кореляційний зв'язок між активністю аргінази і гормональним профілем периферичної крові.

МЕТОДИКА

Проаналізовано дані 72 чоловіків, що проходили первинне обстеження у зв'язку з непліддям у консультативній поліклініці Львівської обласної клінічної лікарні з січня 2014 по квітень 2016 р. Середній вік пацієнтів становив $26,2 \pm 4,2$ років. Критерії включення: вік 21-39 років, неплідність у шлюбі 1-10 років, чоловічий фактор неплідності, за умов олігозооспермії або терато- і/або астенозоо-

спермії. Критерії виключення: неплідність у шлюбі понад 10 років, азооспермія, надмірне вживання алкоголю та вплив будь-яких шкідливих фізико-хімічних чинників під час діагностично-лікувальних заходів.

Усіх пацієнтів було розділено на 4 групи. За показниками спермограм олігозооспермія була виявлена у 12 пацієнтів (16,7 %), які увійшли в 1-шу групу, астенозооспермія у 17 пацієнтів (23,6 %), що склали 2-гу групу, олігоастеноспермія у 10 пацієнтів (13,9 %), які увійшли в 3-тю групу. У 39 (54,2 %) обстежуваних неплідних чоловіків вміст лейкоцитів у спермі становив $<1,0 \cdot 10^6$ /мл, лише у 33 (45,8 %) пацієнтів відзначалася лейкоцитоспермія, тобто вміст лейкоцитів коливався від $1,0 \cdot 10^6$ до $3,0 \cdot 10^6$ /мл, що свідчило про наявність запального процесу у цього відсотка чоловіків. Вони склали 4-ту групу. До контрольної групи увійшло 20 соматично здорових чоловіків віком від 22 до 39 років зі збереженою фертильністю й нормозооспермією та підтвердженим батьківством (перебувають у шлюбі протягом 3-10 років і мають 1-3 здорових дітей).

Матеріалом для дослідження були зразки сім'яної рідини, яку отримували мастурбацією після статевої абстиненції 3-5 днів. Показники спермограм (концентрація сперматозоїдів, їх рухливість, морфологія та відсоток живих форм) оцінювали за допомогою світлооптичної мікроскопії, згідно з директивами щодо їх проведення (ВООЗ, 2010) [8]. Матеріал отримували відповідно до передбачених заходів, спрямованих на забезпечення задовільних умов збереження здоров'я пацієнта, дотримання його прав, людської гідності та морально-етичних норм. Умови відбору дослідних зразків відповідали вимогам принципів Гельсінської декларації охорони прав людини, конвенції Ради Європи про права людини і біомедицину та положенням відповідних законів України.

Сперматозоїди чоловіків відмивали від плазми еякуляту 3-разовим центрифугуванням при 3000 об/хв протягом 10 хв у середо-

вищі, яке містило (ммоль/л): NaCl – 120, KCl – 30, Нерес (рН 7,4) – 30. Вміст загального протеїну в пробах визначали методом Лоурі з використанням набору виробництва НВФ “Simko Ltd” (Україна). Активність аргінази визначали на пермеабілізованих сперматозоїдах. Для цього до їх суспензії додавали детергент сапонін у кінцевій концентрації 0,5 %. Аргіназну активність обчислювали за утворенням сечовини, вміст якої визначали спектрофотометрично за допомогою діагностичного набору відповідно до інструкції фірми-виробника (НВФ “Simko Ltd”). Середовище інкубації (об’єм 0,5 мл) для визначення аргіназної активності містило (ммоль/л): L-аргінін – 100, MnCl₂ – 2, тріс-НCl (рН 9,5) – 20. Кількість протеїну в пробі не перевищувала 50-100 мкг. Тривалість інкубації при 37 °С становила 90 хв. Ензиматичну реакцію ініціювали внесенням до середовища інкубації аліквоти пермеабілізованих сперматозоїдів, а зупиняли – додаванням 1 мл 50%-го розчину трихлороцтової кислоти. Після центрифугування в надосадовій суміші визначали вміст сечовини. У контрольні зразки замість суспензії клітин вносили відповідну аліквоту фізрозчину. Крім дослідних і контрольних проб готували також пробу, яка містить стандартний розчин сечовини (16,65

ммоль/л). Гормональний профіль сироватки периферичної крові чоловіків (вміст гонадотропних та статевих гормонів) визначали методом імуноферментного аналізу.

Отримані результати обробляли методами варіаційної статистики за допомогою програмного забезпечення *MS Office*. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами двох вибірок використовували критерій *t* Стьюдента для незалежних вибірок. Вірогідними вважали результати за умови $P < 0,05$. Результати представлені як середнє арифметичне ± стандартна похибка середнього. Кількість дослідів (*n*) відповідає кількості зразків, досліджених у кожному випадку (кожен раз використовували сперматозоїди від одного пацієнта або здорового донора).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У табл. 1 наведено результати основних морфофункціональних характеристик еякуляту інфертильних чоловіків з різними формами патоспермії. Відмічаються статистично вірогідні відхилення за основними показниками спермограм у всіх досліджуваних групах. Найбільш виражені зміни спостерігаються у значенні концентрації лейкоцитів в еякуляті інфертильних чоловіків (4-та група), проте

Таблиця 1. Основні морфофункціональні характеристики еякуляту інфертильних чоловіків з різними формами патоспермії

Досліджувані показники еякулятів	Нормозооспермія	Інфертильні чоловіки			
		олігозооспермія	астенозооспермія	олігоастенозооспермія	лейкоциспермія
Концентрація сперматозоїдів, 10 ⁶ мл ⁻¹	50,0±6,40	11,95±2,35 ***	44,30±5,35	9,95±1,65 ***	46,40±6,20
Відносна кількість рухливих сперматозоїдів, %	52,86±3,22	42,33±4,95	24,05±5,35 ***	26,05±4,25 ***	42,34±3,24
Кількість патологічних форм, %	32,8±2,8	39,72±3,2	45,5±5,2 *	42,7±3,2	42,4±3,6
Концентрація лейкоцитів в еякуляті, 10 ⁶ мл ⁻¹	0,28±0,06	0,46±0,08	0,34±0,08	0,44±0,09	1,56±0,25 ***

Примітка: тут і в табл. 2: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ відносно контрольної групи (нормозооспермія).

інші показники спермограми знаходяться в межах фізіологічної норми.

Слід відмітити, що активність аргінази в сперматозоїдах неплідних чоловіків з олігозооспермією в 2,1 раза нижча ($P < 0,001$), ніж при нормозооспермії (рис. 1). У чоловіків з порушеним сперматогенезом за типом астенозооспермії активність аргінази вірогідно нижча в 2,3 раза порівняно з контролем. У разі поєднаної патології (олігоастенозооспермія) аргіназна активність сперматозоїдів є дещо нижчою, ніж при ізольованих порушеннях та в 2,4 раза ($P < 0,001$) нижча, ніж у фертильних чоловіків.

За наявності лейкоцитоспермії цей показник був нижчим в 3,3 раза ($P < 0,001$) щодо значень у фертильних чоловіків. Загальновідомо, що лейкоцити є маркерами запалення та/або наявності інфекції. Вони негативно впливають на сперматозоїди, стимулюють утворення реактивних форм кисню, індукцію та розвиток оксидативного стресу, у такий спосіб пригнічуючи рухливість і функціональну активність сперматозоїдів [9]. Активні форми кисню, які продукуються лейкоцитами, можуть викликати пошкодження ДНК сперматозоїдів [10].

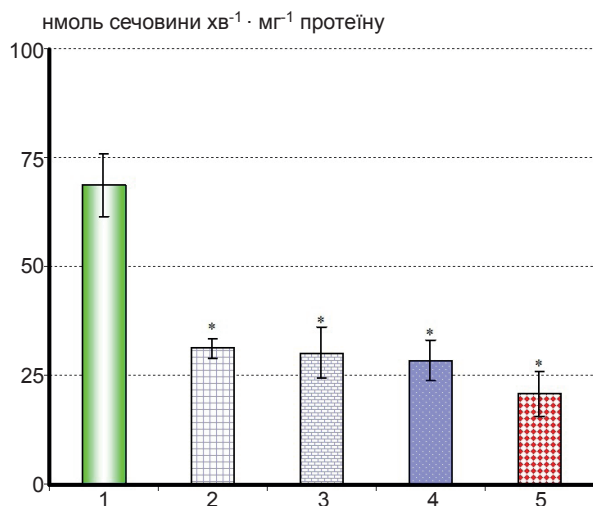


Рис. 1. Аргіназна активність сперматозоїдів чоловіків з різними формами патоспермії: 1 - нормозооспермія (контроль), 2 - олігозооспермія, 3 - астенозооспермія, 4 - олігоастенозооспермія, 5 - лейкоцитоспермія. * $P < 0,001$ щодо контролю

Функціональна активність аргінази має важливе клінічне значення. Конкуруючи з NOS за спільний субстрат, яким є L-аргінін, аргіназа знижує біодоступність останнього та регулює утворення NO. Залежно від концентрації та умов утворення, останній і його вільнорадикальні похідні проявляють регуляторні або цитотоксичні ефекти. Низькі концентрації NO підвищують рухливість сперматозоїдів, а його надлишок призводить до порушення сперматогенезу. Показано, що L-аргінін збільшує рухливість сперматозоїдів пацієнтів з астенозооспермією, а аргіназа відіграє важливу роль у забезпеченні рухливості сперматозоїдів і запобіганні передчасної акросомної реакції [11].

Відомо, що внутрішньоклітинна локалізація аргінази визначає різні шляхи метаболізму L-аргініну. Колокалізація цитозольної аргінази I та орнітиндекарбоксилази спрямовує перетворення орнітину на синтез поліамінів, тоді як мітохондріальна аргіназа II та орнітиамінотрансфераза зумовлюють утворення проліну та L-глутамату. Власне, аргіназа II функціонально пов'язана з утворенням поліамінів у позапечінкових тканинах. Поліаміни є органічними полікатионними сполуками, які відіграють важливу роль у процесах реплікації та диференціації клітин, регулюванні продукції NO в клітинах та транспортуванні Ca^{2+} . Окрім того, вони проявляють антирадикальні властивості та відіграють протекторну роль запобігаючи пероксидації ліпідів і сприяють антиоксидантному захисту [12].

У науковій літературі відомості щодо активності (експресії) аргінази в сперматозоїдах чоловіків є обмеженими. Отримані нами середні значення активності аргінази в сперматозоїдах чоловіків з нормозооспермією є дещо вищими порівняно з літературними даними [13]. Наші результати, в яких показано пригнічення активності аргінази в сперматозоїдах інфертильних чоловіків з різними формами патоспермії, узгоджуються з даними інших авторів. Зокрема відомо, що цей показник у фертильних чоловіків є істот-

но вищим, ніж у неплодних з астенозооспермією [7]. Також активність аргінази сім'яної плазми є вищою в здорових чоловіків, ніж у пацієнтів з астенозооспермією. Введення хворим з астенозооспермією добавок цинку в раціон призводить до нормалізації показників спермограм та статистично вірогідного відновлення активності аргінази сперматозоїдів та сім'яної плазми до контрольних значень. У роботі Eskiosak та співавт. [14] показано, що активність аргінази сім'яної плазми здорових чоловіків є істотно нижчою за умов психологічного стресу, ніж протягом нестресового періоду. Встановлено наявність позитивного кореляційного зв'язку між активністю аргінази і концентрацією сперматозоїдів, активністю аргінази й індексом рухливості сперматозоїдів. Аналогічні залежності між активністю аргінази сім'яної плазми та концентрацією і рухливістю сперматозоїдів виявлено у баранів і биків [15, 16].

Слід зауважити, що отримані нами результати суперечать даним дослідників, які виявили, що аргіназна активність сперматозоїдів неплодних чоловіків з олігозооспермією є суттєво вищою, ніж у здорових донорів [13]. Водночас, ними не виявлено статистично достовірної різниці в активності аргінази сім'яної плазми неплодних чоловіків з олігозооспермією та здорових донорів. Проте також показано наявність позитивного кореляційного зв'язку між активністю аргінази (як в сперматозоїдах, так і в сім'яній плазмі) і рухливістю сперматозоїдів і негативного кореляційного зв'язку між активністю аргінази та концентрацією сперматозоїдів. Застосовуючи сучасні протеомічні технології та методи біоінформатики встановлено [17], що експресія протеїну мітохондріальної аргінази II характерна лише для сперматозоїдів неплодних чоловіків з одностороннім варикоцеле, а у фертильних чоловіків її не ідентифіковано.

Зростання аргіназної активності у чоловіків з олігозооспермією може мати пристосувальне значення, яке полягає в обмеженні біодоступності *L*-аргініну, який є субстратом для

надсинтезу NO за участю NOS. Гіперпродукцією NO виявлено [18] при запальних захворюваннях урогенітального тракту, яку пов'язують з патоспермією через прямі токсичні ефекти NO та стимуляцію перикисного окиснення ліпідів. Проте слід зауважити, що взаємозв'язок активності (експресії) аргінази та NOS є значно складнішим, ніж просто конкуренція за спільний субстрат [19]. В умовах фізіологічної норми афіність ізоформ NOS до *L*-аргініну (2-20 мкмоль/л) є на три порядки вищою, ніж для аргінази (2-20 ммоль/л), тому за нормальних умов ці ензими не можуть конкурувати за спільний субстрат. Окрім того, біодоступність *L*-аргініну регулюється також його синтезом *de novo* та функціонуванням транспортувальних систем цієї амінокислоти. Пригнічення активності аргінази, на нашу думку, може бути пов'язано з інгібуванням ензиму нітритами – кінцевими стабільними продуктами метаболізму NO. Показано наявність негативного кореляційного зв'язку між концентрацією NO та активністю аргінази в сім'яній плазмі за умов психологічного стресу, причому протягом нестресового періоду цей зв'язок не простежується [14].

Одним з патогенетичних механізмів чоловічого неплоддя є порушення гормональної регуляції сперматогенезу, в якому ключову роль відіграють чоловічі статеві гормони андрогени. Взаємодіючи із специфічними андрогенними рецепторами, вони визначають розвиток чоловічих статевих ознак, активують та підтримують сперматогенез. Етіологію різних форм патоспермії пов'язують з гормональними порушеннями [20]. Встановлено, що андрогени регулюють експресію аргінази та аргінін- і орнітинметаболізуючих ензимів [21]. Здатність андрогенів до регулювання експресії аргінази I та аргінази II продемонстровано в гормончутливих клітинних лініях простати у чоловіків з раком простати [22].

У табл. 2 наведено результати гормонального профілю крові інфертильних чоловіків з різними формами патоспермії.

Таблиця 2. Гормональний профіль крові інфертильних чоловіків з різними формами патоспермії

Гормони	Нормо-зооспермія	Інфертильні чоловіки			
		олігозооспермія	астенозооспермія	олігоастенозооспермія	лейкоцитоспермія
Фолікулостимулюючий гормон, МО/мл	6,8±0,8	13,8±2,3 **	3,1±0,4 **	6,6±1,2	10,2±1,6 *
Лютеїнізуючий гормон, МО/л	5,2±2,2	7,2±1,1	2,8±0,5	7,1±0,9	8,4±1,5
Тестостерон, нмоль/л	16,8±2,1	10,7±1,1 *	15,2±1,2	12,6±1,6	12,4±1,6
Естрадіол, пг/мл	23,8±7,2	40,8±8,8	31,8±7,7	38,2±7,0	43,2±9,2
Пролактин, нг/мл	12,4±2,2	10,8±4,2	12,8±4,3	12,4±5,2	13,2±3,6

При вивченні гормонального профілю сироватки периферичної крові у чоловіків з різними формами патоспермії відзначено зміщення вмісту гонадотропних і статевих гормонів. Найбільш виражені вірогідні зміни спостерігаються у вмісті фолікулостимулюючого гормону та тестостерону. Так, вміст фолікулостимулюючого гормону в чоловіків з олігозооспермією, спричиненою гіпогонадизмом, у середньому в 2 рази, а з лейкоцитоспермією в 1,8 рази вищий, ніж у фертильних чоловіків. У разі астенозооспермії цей показник нижчий в 2,2 рази щодо значень при нормозооспермії і знаходиться в межах фізіологічної норми. Вміст тестостерону нижчий в 1,6 рази у чоловіків з порушенням сперматогенезу за типом олігозооспермії і знаходиться на нижній межі фізіологічної норми. Концентрація лютеїнізуючого гормону, естрадіолу та пролактину у неплідних чоловіків з різними формами патоспермії статистично вірогідно не відрізняється від контролю. Слід зазначити, що вміст естрадіолу вищий у неплідних чоловіків, проте ці зміни не є статистично достовірними.

Більшість дослідників підтверджує високий вміст фолікулостимулюючого гормону у хворих з олігозооспермією порівняно з нормозооспермією або у чоловіків з підтвердженим батьківством [23, 24]. Проте, Alaa

Shaker та співавт. [25] змін у вмісті фолікулостимулюючого гормону при патосперміях не виявили. Відомості щодо вмісту іншого гонадотропного гормону (лютеїнізуючого гормону) теж різняться [23, 25]. Суперечливі дані отримані й при вивченні сироваткових концентрацій статевих гормонів. Переважна більшість авторів підтверджує зниження вмісту тестостерону у неплідних чоловіків з олігозооспермією [24, 25], проте деякими дослідниками не виявлено відхилень значень цього показника [23, 26]. Shaikh MA та співавт. [27] виявили зниження вмісту тестостерону не лише у чоловіків з олігозооспермією, але й з астенозооспермією. Літературні дані щодо вмісту естрадіолу та пролактину в неплідних чоловіків з різними формами патоспермії також вкрай різняться. Таким чином, однозначної думки щодо зміщення сироваткових концентрацій гонадотропних і статевих гормонів в неплідних чоловіків з різними формами патоспермії дотепер немає.

Оскільки дані літератури [21] свідчать, що функціональна активність сперматозоїдів тісно пов'язана зі вмістом андрогенів, ми встановили кореляційний зв'язок між активністю аргінази та концентрацією тестостерону в сироватці крові неплідних чоловіків з олігозооспермією (рис. 2).

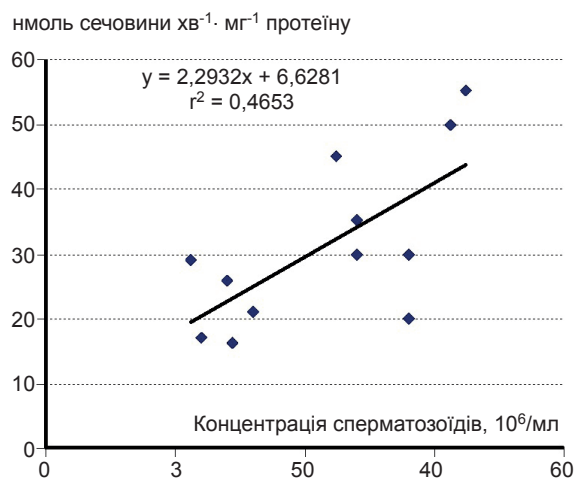


Рис. 2. Кореляційний зв'язок активності аргінази сперматозоїдів неплідних чоловіків з олигозооспермією та концентрації сперматозоїдів у еякуляті

У чоловіків з порушенням сперматогенезу за типом олигозооспермії пригнічення активності аргінази сперматозоїдів позитивно корелює зі зниженням їх концентрації в еякуляті ($r = 0,68$). Кореляційним аналізом статистично достовірних залежностей між змінами аргіназної активності при різних формах патоспермій та іншими показниками гормонального профілю неплідних чоловіків не виявлено.

Таким чином, отримані нами результати вказують на порушення функціональної активності системи *L*-аргінін–NO у сперматозоїдів неплідних чоловіків, яке проявляється в інгібуванні активності аргінази. Спостерігається пригнічення аргіназної активності, що свідчить про порушення в неокисному шляху обміну *L*-аргініну. Найбільш виражені зниження активності аргінази відмічається при лейкоцитоспермії, що, очевидно, пов'язано з утворенням активних форм кисню та ініціацією процесів перекисного окиснення ліпідів. На нашу думку, пригнічення активності аргінази пов'язане з оксидативним і нітрооксидативним стресом та гіперпродукцією NO, який пригнічує активність аргінази. Припускається, що зниження активності аргінази призводить до дисбалансу в системі *L*-аргінін–NO, що спричинює порушення запліднювальної здатності сперматозоїдів.

R.V. Fafula, O.K. Onufrovych, U.P. Iefremova, D.Z. Vorobets, Z.D. Vorobets

THE PECULIARITIES OF ARGINASE PATHWAY OF *L*-ARGININE IN SPERMATOZOEA IN MEN WITH DIFFERENT FORMS OF PATHOSPERMIA

The changes in arginase activity of spermatozoa and hormonal profile of peripheral blood of infertile men with various forms pathospermia have been studied. It has been found that arginase activity in the sperm cells of men with oligozoospermia, astenoospermia, oligoastenoospermia and leucocytospermia is decreased in 2.1, 2.3, 2.4 and 3.3 times respectively. This indicates about inhibition of arginase pathway of *L*-arginine metabolism, which is not significantly dependent on the type of disruption of spermatogenesis. The most significant changes have been observed in infertile men with leucocytospermia since white blood cells stimulate the formation of reactive oxygen species, induction and development of oxidative and nitrate stress in spermatozoa. Inhibition of arginase pathway of *L*-arginine metabolism has adaptive role, which is to limit bioavailability of *L*-arginine and to prevent excessive formation of NO in cytotoxic concentrations to sperm cells. It has been noted changes in serum concentrations of gonadotropin and sex hormones in men with various forms of pathospermia. The most expressed significant changes were in levels of follicle stimulating hormone and testosterone. The concentration of follicle stimulating hormone in patients with oligozoospermia caused by hypogonadism is twice higher and in patients with leucocytospermia in 1.8 times higher than in fertile men. In patients with astenoospermia this value is in 2.2 times lower than in normozoospermic samples but within the physiological norm. The testosterone level in men with oligozoospermia is in 1.6 times lower than in fertile men but within the physiological norm. It has been found that arginase inhibition of spermatozoa positively correlated with a decrease in their concentration in the ejaculate of infertile men with oligozoospermia ($r = 0.68$).
Keywords: arginase; nitric oxide; infertility in men.

Danylo Halytsky Lviv National Medical University.

Р.В. Фафула, О.К. Онуфрович, У.П. Єфремова, Д.З. Воробець, З.Д. Воробець

ОСОБЕННОСТИ АРГИНАЗНОГО ПУТИ МЕТАБОЛИЗМА *L*-АРГИНИНА В СПЕРМАТОЗОИДАХ МУЖЧИН ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ ПАТОСПЕРМИИ

Исследовано изменения активности аргиназы в сперматозоидах и гормональный профиль периферической крови бесплодных мужчин при различных формах патоспермии. Обнаружено угнетение аргиназного пути метаболизма *L*-аргинина в сперматозоидах мужчин с олиго-, астено-, олигоастенозоо- и лейкоцитоспермией. Наиболее выраженные изменения отмечаются у бесплодных мужчин

при лейкоцитоспермії. Следует отметить изменение содержания в сыворотке крови гонадотропных и половых гормонов у мужчин с различными формами патоспермии. Наиболее значительные достоверные изменения наблюдаются в содержании фолликулостимулирующего гормона и тестостерона. Установлено, что у бесплодных мужчин с нарушением сперматогенеза по типу олигозооспермии подавление активности аргиназы сперматозоидов положительно коррелирует со снижением их концентрации в эякуляте ($r = 0,68$).

Ключевые слова: аргиназа; оксид азота; бесплодие у мужчин.

REFERENCES

- Lee LK, Foo KY. Recent insights on the significance of transcriptomic and metabolomic analysis of male factor infertility. *Clin Biochem.* 2014; 47(10-11):973-82.
- Kullisaar T, Türk S, Kilk K, Ausmees K, Punab M, Mandar R. Increased levels of hydrogen peroxide and nitric oxide in male partners of infertile couples. *Andrology.* 2013; 1(6):850-8.
- Foghi K, Novin MG, Jabbari ZM, Najafi T, Heidari MH, Yasoori AR. Immuno-histochemical localization of endothelial nitric oxide synthase in testicular cells of men with nonobstructive azoospermia. *Iran J Reprod Med.* 2011; (9):277-80.
- Barska ML, Brodyak IV, Sybirna NO. The study individual components of oxidative unoxidative pathways of L-arginine metabolism in leukocytes in diabetes type 1. *Med Chem.* 2006; 8(3):67-9 [Ukrainian].
- Stephen DC, Hong Y, Wayne, WG, Rita MK, Paul Y, Ramaswamy KI. Arginases I and II: do their functions overlap? *Mol Gen Metab.* 2004; (81):38-44.
- Mori M: Regulation of nitric oxide synthesis and apoptosis by arginase and arginine recycling. *J Nutr.* 2007, 137:1616S-1620S.
- Hadwan MH, Almashhedy LA, Razzaq AS. Study of the effects of oral zinc supplementation on peroxynitrite levels, arginase activity and NO synthase activity in seminal plasma of Iraqi asthenospermic patients. *Reprod Biol Endocrinol.* 2014; (12): 1.
- World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. Geneva: World Health Organization Press; 2010.
- Lackner JE, Lakovic E, Waldhor T, Schatzl G, Marberger M. Spontaneous variation of leukocytospermia in asymptomatic infertile males. *Fertil Steril.* 2008; 90(5):1757-60.
- Gavriliouk D, Aitken RJ. Damage to Sperm DNA Mediated by reactive oxygen species: its impact on human reproduction and the health trajectory of offspring. *Adv Exp Med Biol.* 2015; (868):23-47.
- Morgante G, Scolaro V, Tosti C, Di Sabatino A, Piomboni P, De Leo V. Minerva. Treatment with carnitine, acetyl carnitine, L-arginine and ginseng improves sperm motility and sexual health in men with asthenospermia. *Urol Nefrol.* 2010; 62(3):213-8.
- Rhee HJ, Kim EJ, Lee JK. Physiological polyamines: simple primordial stress molecules. *J Cell Mol Med.* 2007; 11(4). P.685-703.
- Elgun S, Kacmaz M, Sen I, Durak I. Seminal arginase activity in infertility. *Urol Res.* 2000 Jan; 28(1):20-3.
- Eskioçak S, Gozen AS, Taskiran A, Kilic AS, Eskioçak M, Gulen S. Effect of psychological stress on the L-arginine-nitric oxide pathway and semen quality. *Braz J Med Biol Res.* 2006; 39(5):581-8.
- Gür S, Kandemir FM. Relationships between seminal plasma arginase activity and spermatological parameters in rams. *Andrologia.* 2012; 44(2):86-91.
- Türk G, Güra S, Kandemir FM, Sünmez M. Relationship between seminal plasma arginase activity and semen quality in Saanen bucks. *Small Rum Res.* 2011; 97(1-3):83-7.
- Agarwal A, Sharma R, Durairajanayagam D, Ayaz A, Cui Z, Willard B, Gopalan B, Sabanegh E. Major protein alterations in spermatozoa from infertile men with unilateral varicocele. *Reprod Biol Endocrinol.* 2015; (13):8.
- Semenova AV, Tomilova IK, Panikratov KD, Kadykova EL, Basharin AV. The role of nitric oxide in fertility disorders in men. *Urologia.* 2005; (6):31-6 [Russian].
- Venkatakrishnan P, Nakayasu ES, Almeida IC, Miller RT. Arginase activity in mitochondria – an interfering factor in nitric oxide synthase activity assay. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010; (394):448-52.
- Cavallini G. Male idiopathic oligoasthenoteratozoospermia. *Asian J Androl* 2006; (8):143-57.
- Levillain O, Diaz JJ, Blanchard O, Déchaud H. Testosterone down-regulates ornithine aminotransferase gene and up-regulates arginase II and ornithine decarboxylase genes for polyamines synthesis in the murine kidney. *Endocrinology.* 2005; 146(2):950-9.
- Gannon PO, Godin-Ethier J, Hassler M, Delvoe N, Aversa M, Poisson AO, Péant B, Alam Fahmy M, Saad F, Lapointe R, Mes-Masson AM. Androgen-regulated expression of arginase 1, arginase 2 and interleukin-8 in human prostate cancer. *PLoS One.* 2010; 5(8):e12107.
- Taha AB, Rashid KH. Etiology of infertility in couples attending maternity hospital in Erbil Zanco. *J Med Sci.* 2013; 17(1): 322-30.
- Wei TC, Huang WJ, Lin AT, Chen KK. The role of hormones on semen parameters in patients with idiopathic or varicocele-related oligoasthenoteratozoospermia (OAT) syndrome. *J Chin Med Assoc.* 2013; 76(11):624-8.
- Alaa Shaker Al-Nahi. Evaluation of FSH, LH, testosterone, prolactin, TSH and T4 hormones levels in different subgroups of infertile males. *Al-Kufa J Biol.* 2016; 7(3):47-54.
- Sharma MK, Parchwani D, Pankaj M, Upadhyah A. Relationship between thyroid profile and semen quality. *Nat J Comm Med.* 2012; 3(1):20-4.
- Shaikh MA, Khan MS, Turabi A, Shakoor KA, Ali I. Semen and hormonal analysis of patients with azoospermia and oligozoospermia. *Intl Chem Phann Med J.* 2004; 1(2):131-33.

Матеріал надійшов до редакції 16.05.2016