

УДК: 616.147.22-007.64-06:616.697]-097-037

DOI: <https://doi.org/10.25040/aml2019.01.039>

ПРОГНОСТИЧНІ ФАКТОРИ НЕПЛІДДЯ ЗА ПОКАЗНИКАМИ ПРО-/АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ У ЧОЛОВІКІВ З ЛІВОБІЧНИМ ВАРИКОЦЕЛЕ

Наконечний Й.А.

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького
Кафедра урології ФПДО (зав. - проф. Борис Ю.Б.)

Реферат

Мета. Ідентифікувати прогностичні фактори непліддя за показниками про-/антиоксидантної системи у чоловіків з лівобічним варикоцеле II-III ст.

Матеріал і методи. Дослідження охоплює 67 пацієнтів з лівобічним варикоцеле II-III ст. у віці від 19 до 33 років, з супутньою суб- або інфертильністю впродовж 1 року, яка характеризувалася змінами у спермограмі та/чи непліддям. Через 3 місяці після варикоцелектомії обстежено 62 пацієнти. Контрольну групу склали 25 практично здорових чоловіків у віці від 19 до 33 років. При біохімічних дослідженнях визначали активність ензимів про-/антиоксидантної системи у сироватці крові кубітальної і яєчкової вен, а також у сперматозоїдах. Зокрема, визначали активності глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази та глутатіонтрансферази, концентрації відновленого глутатіону та малонового діальдегіду. Окрім цього, в сперматозоїдах вивчали активності аргінази, конститутивної та індукцибельної ізоформ синтази оксиду азоту, активності іон-транспортувальних систем натрії, калієвої та кальцій, магнієвої аденозинтрифосфатази.

Результати й обговорення. У хворих на лівобічне варикоцеле II-III ст. активність ензимів глутатіонової антиоксидантної системи та концентрації малонового діальдегіду і відновленого глутатіону у сироватці внутрішньої сім'яної вени чоловіків з варикоцеле II-III ст. характеризувалися кардинальними відмінностями щодо груп порівняння. Так, діагностовано статистично високозначуще зниження концентрації ензимів глутатіон-пероксидази системи та відновленого глутатіону в сироватці внутрішньої сім'яної вени на фоні вірогідного зростання рівня малонового діальдегіду в порівнянні з концентраціями цих показників у сироватці периферичної венозної крові, а тим більше з нормою. Тому і ROC-аналіз активності вищенаведених ензимів про-/антиоксидантної системи у сироватці крові з внутрішньої сім'яної вени пацієнтів з лівобічним варикоцеле II-III ступенів виявив певні закономірності. Концентрації ферментів глутатіонпероксидази системи та відновленого глутатіону у сперматозоїдах хворих на лівобічне варикоцеле II-III ст. за аналогією до відмінностей, які спостерігалися у сироватці внутрішньої сім'яної вени цих же пацієнтів, характеризувалися суттєвим відставанням від показників у практично здорових чоловіків. Натомість рівень малонового діальдегіду статис-

тично високозначущо перевищував норму. Отримані результати підтверджують тезу про виснаження компенсаторних механізмів глутатіонової антиоксидантної системи та підвищення інтенсивності ліпопероксидних процесів у сперматозоїдах чоловіків з лівобічним варикоцеле II-III ст. До прогностичних предикторів імовірності розвитку непліддя у чоловіків з варикоцеле II-III ст. слід віднести зниження у сироватці внутрішньої яєчкової вени активності глутатіонпероксидази $\leq 148,55$ нмоль GSH/хв·г Hb, глутатіонредуктази $\leq 32,7$ мкмоль NADPH/хв·г Hb та глутатіонтрансферази ≤ 137 нмоль GSH/хв·г Hb, а також відновленого глутатіону $\leq 0,85$ ммоль/л при зростанні малонового діальдегіду понад 7,9 мкмоль/л. Найбільш значимими предикторами імовірності розвитку непліддя у чоловіків з лівобічним варикоцеле II-III ст. зарекомендували себе активності таких ферментів у сперматозоїдах як аргіназа та індукцибельна синтаза оксиду азоту з точками відсікання - відповідно ≤ 46 нмоль сечовини/хв мг протеїну та $> 1,2$ пмоль цитруліну/хв-мг протеїну. Негативний вплив АФК на якість еякуляту залишається достатньо актуальним питанням. Тому практичне застосування даних щодо порушень антиоксидантної рівноваги у пацієнтів з варикоцеле потребує подальшого, більш детального вивчення.

Висновки. Варикозне розширення вен сім'яного канатика з розвитком тестикулярної (секреторної) неплідності призводить до виснаження ферментів антиоксидантного захисту та зростання активності прооксидантів у сироватці венозної крові яєчка і сперматозоїдах. Показники про-/антиоксидантної системи зарекомендували себе як предиктори розвитку непліддя у пацієнтів з варикоцеле.

Ключові слова: варикоцеле, непліддя, про/антиоксидантна система, прогностичні фактори

Abstract

INFERTILITY PROGNOSTIC FACTORS OF THE PRO-/ANTIOXIDANT SYSTEM IN PATIENTS WITH VARICOCELE

NAKONECHNYI Y.A.

The Danylo Halytsky National Medical University in Lviv

Aim. To identify infertility prognostic factors of the pro-/antioxidant system in men with left-side varicocele grade II-III.

Materials and methods. The trial includes 67 patients with left-side varicocele grade II-III and concomitant changes in spermogram and / or infertility. During the follow up, three months after varicocelectomy, 62 patients were reexamined. The control group consisted of 25 virtually healthy men aged 19 to 33 years. Enzymes activity of pro-/antioxidant system in the blood plasma from peripheral and from testicular veins, as well as in the spermatozoa were measured, before and 3 months after varicocelectomy. In particular, the activity of glutathione peroxidase, glutathione reductase and glutathione transferase, the concentration of reduced glutathione and malonic dialdehyde were determined. In addition, the activity of arginase, constitutive and inducible isoforms of nitric oxide synthase, the activity of ion-transport systems of sodium, potassium and calcium, magnesium adenosine triphosphatase in the spermatozoa were studied.

Results and Discussion. The activity of glutathione antioxidant enzymes and the concentration of malonic dialdehyde as well as reduced glutathione in the serum of the internal spermatic veins in men with left side varicocele grade II-III were significantly different in comparison groups. Thus, a statistically significant reduction in the concentration of the glutathione-peroxidase system enzymes and of reduced glutathione in the serum of the internal spermatic vein were observed against the background of a reliable increase in the level of malonic dialdehyde compared with the concentrations of these parameters in serum of peripheral venous blood, and even more so with norm. Therefore, the ROC analysis of the above enzymes' activity of the pro-/antioxidant system in serum from the internal spermatic vein of patients with left side varicocele grade II-III revealed certain patterns. Concentrations of glutathione-peroxidase system enzymes and reduced glutathione in spermatozoa of patients with left side varicocele grade II-III by analogy with the differences observed in the serum of the internal spermatic vein of these same patients, were characterized by a significant lag behind the rates in practically healthy men. In contrast, the level of malonic dialdehyde statistically significantly exceeded the norm. The obtained results confirm the thesis about the exhaustion of the compensatory mechanisms of the glutathione antioxidant system and increase the intensity of lipoperoxidic processes in spermatozoa in men with left-side varicocele grade II-III. The reduction in serum of the internal testicular vein of glutathione peroxidase activity to $\leq 148,55$ nmol GSH/min·g Hb, of glutathione reductase to $\leq 32,7$ mcmol NADPH/min·g Hb, and glutathione transferase to ≤ 137 nmol GSH/min·g Hb, as well as reduced glutathione to $\leq 0,85$ mmol/l with malondialdehyde growth greater than 7,9 mcmol/l should be attributed to the prognostic predictors of the probability of infertility development in patients with left-side varicocele grade II-III. Results showed, that the most

significant predictors of the probability of infertility development in spermatozoa were decreased activities of arginase ≤ 46 pmol citrulline/min⁻¹ mg protein and inducible nitric oxide synthase $> 1,2$ pmol citrulline/min⁻¹ mg protein.

Conclusions. The negative influence of the reactive oxygen species on the quality of the ejaculate remains a relevant issue. Therefore, the practical application of the data about antioxidant imbalance in patients with varicocele requires further, more detailed study. Changes in fertility status in patients with varicocele leads to decreased levels of antioxidant and increased levels of prooxidant enzymes in the blood and spermatozoa which can be used as a predictors of male infertility. Indicators of the pro-/antioxidant system have proven themselves as predictors of infertility in patients with varicocele.

Key words: varicocele, infertility, pro-/antioxidant system, prognostic factors

Вступ

Оксидативний стрес - універсальний механізм ушкодження клітин при різних патологіях, зокрема при неплідді чоловіків [1]. Так, ураження сперматозоїдів активними формами кисню (АФК) спостерігається у 30-80% чоловіків з порушеннями фертильності [2, 6]. Саме гіперпродукція АФК є однією з провідних причин непліддя у пацієнтів з варикоцеле [1, 2, 6, 13].

Тому діагностика та аналіз балансу активності про- та антиоксидантних ензимів дозволяє прогнозувати фертильність не тільки при патологічних змінах в еякуляті, але і в умовах нормоспермії [1]. Враховуючи прогресивне погіршення функції яєчок при варикоцеле, важливим є пошук ранніх та ефективних діагностичних критеріїв, які б допомогли зберегти фертильність [2, 5, 6, 9].

Матеріал і методи

Дослідження охоплює 67 пацієнтів з лівобічним варикоцеле II-III ст. у віці від 19 до 33 років, яке класифікували за L. Dubin, R.D. Amelar (1970). Варикоцеле II ст. визначається у спокої лише пальпаторно, а III ст. - візуально та пальпаторно у стані спокою. Обов'язковим критерієм включення слугувала супутня суб-або інфертильність впродовж 1 року, яка характеризувалася змінами у спермограмі та/чи відсутністю настання вагітності впродовж по-

над 1 рік без застосування засобів контрацепції. Одружених чоловіків включали у дослідження тільки з підтвердженим задовільним фертильним статусом їх жінок. Натомість не включали пацієнтів зі супутньою патологією, яка могла б впливати на плідність. Через 3 місяці після варикоцелектомії обстежено 62 пацієнти. Контрольну групу склали 25 практично здорових чоловіків у віці від 19 до 33 років.

При біохімічних дослідженнях визначали активність ензимів про-/антиоксидантної системи у сироватці крові кубітальної і яєчкової вен, а також у сперматозоїдах. Зокрема, визначали активності глутатіонпероксидази (GP), глутатіонредуктази (GR) і глутатіонтрансферази (GT), концентрації відновленого глутатіону (GSH) та MDA. Окрім цього, в сперматозоїдах вивчали активності аргінази (Arg), конститутивної (cNOS) та індукцибельної (iNOS) ізоформ синтази оксиду азоту, активності іон-транспортувальних систем натрій, калієвої (Na^+ , K^+ -ATPase) та кальцій, магнієвої аденозинтрифосфатаз (Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATPase). Для розкриття латентних ензиматичних активностей використовували пермеабілізуючий агент - сапонін.

Статистичне опрацювання проведено із використанням комерційного статистичного пакету прикладних програм STATISTICA 10.0 (StatSoft Inc. USA) та інтернет-порталу "Медицинская статистика" <http://medstatistic.ru/calculators/calcrisk.html>, "Free statistical calculators" MedCalc, MedCalc Software.

Для оцінки діагностичної значущості методик використовували спеціальний різновид логістичної регресії ROC-аналіз (receiver operator characteristic curve), який оперує 2 класами подій - з позитивними і негативними результатами. Частка істинно позитивних випадків називається "чутливість" (Se), а істинно негативних - "специфічність" (Sp). ROC-крива показує залежність кількості вірно класифікованих позитивних результатів від кількості невірно класифікованих негативних. За площею під кривою - AUC (Area Under Curve) оцінювали якість моделі: 0,9-1,0 - відмінна, 0,8-0,9 - дуже добра, 0,7-0,8 - добра, 0,6-0,7 -

середня та 0,5-0,6 - незадовільна. Рівень статистичної значущості щодо $\text{AUC}=0,5$ становив $p<0,001$. Для показників AUC обчислювали довірчий інтервал (ДІ) з імовірністю 95%, порівняння яких дозволяє строго встановити статистичну значущість відмінностей ROC-кривих. Показник подавали у форматі [L-U], де L - lower (нижня) та U - upper (верхня) межа ДІ.

При ROC-аналізі передбачається, що у досліджуваної незалежної змінної є оптимальний поріг (optimal cut-off value) - ОС, який характеризує оптимальне співвідношення чутливості та специфічності. Для оптимального порогу відсікання визначали прогностичну цінність тесту (+/-PV - predictive value) - імовірність наявності/відсутності захворювання при відомому результаті дослідження, а також відношення правдоподібності позитивного (+LR) і негативного (-LR) результатів тесту.

Результати й обговорення

У хворих на лівобічне варикоцеле II-III ст. активність ензимів глутатіонової антиоксидантної системи та концентрації MDA і GSH у сироватці периферичної крові майже не відрізнялися від показників у практично здорових чоловіків. Навіть клінічно виражене лівобічне варикоцеле, яке супроводжувалося розвитком секреторної неплідності, ніяким чином не відображалося на системі про-/антиоксидантного захисту за результатами біохімічних показників з кубітальної вени. Однак вищевказані біохімічні показники у сироватці внутрішньої сім'яної вени чоловіків з варикоцеле II-III ст. уже характеризувалися кардинальними відмінностями щодо груп порівняння. Так, діагностовано статистично високозначуще зниження концентрації ензимів глутатіонпероксидазної системи та GSH у сироватці внутрішньої сім'яної вени на фоні вірогідного зростання рівня MDA в порівнянні з концентраціями цих показників у сироватці периферійної венозної крові, а тим більше з нормою. Тому і ROC-аналіз активності вищевказаних ензимів про-/антиоксидантної системи у си-

Таблиця 1

ROC-аналіз біохімічних показників у сироватці внутрішньої сім'яної вени хворих на варикоцеле II-III ступенів

Показник	svGP, нмоль GSH/ хв·г Hb	svGR, мкмоль NADPH/ хв·г Hb	svGT, нмоль GSH/ хв·г Hb	svMDA, мкмоль/л	svGSH, ммоль/л
AUC 95% CI	0,995* [0,95-0,999]	1,0* [0,96-1,0]	0,997* [0,95-1,0]	0,86* [0,77-0,92]	0,89* [0,81-0,95]
OC	≤148,55	≤32,7	≤137	>7,9	≤0,85
Se 95% CI	100 [94,6-100]	100 [94,6-100]	98,5 [92-100]	59,7 [47-71,5]	62,7 [50-74,2]
Sp 95% CI	96 [79,6-99,9]	100 [86,3-100]	100 [86,3-100]	96 [79,6-99,9]	100 [86,3-100]
+LR 95% CI	25 [3,7-170,6]	—	—	14,93 [2,2-102,9]	—
-LR 95% CI	<0,001	<0,001	0,015 [0,002-0,1]	0,42 [0,3-0,6]	0,37 [0,3-0,5]
+PV 95% CI	98,5 [92,1-100]	100 [94,6-100]	100 [94,6-100]	97,6 [87,1-99,9]	100 [91,6-100]
-PV 95% CI	100 [85,8-100]	100 [86,3-100]	96,2 [80,4-99,9]	47,1 [32,9-61,5]	50 [35,5-64,5]

* - $p < 0,001$, рівень значущості щодо $AUC=0,5$

роватці крові з внутрішньої сім'яної вени пацієнтів з лівобічним варикоцеле II-III ступенів виявив певні закономірності (табл. 1).

При ROC-аналізі активності глутатіонредуктази у сироватці крові з внутрішньої сім'яної вени хворих на лівобічне варикоцеле II-III ступенів стосовно здорових чоловіків отримано відмінну якість моделі з максимальною площею під кривою ROC-аналізу на рівні 1,0 [0,96-1,0] і зрозуміло статистично високозначущими відмінностями - $p < 0,001$. Оптимальний поріг для активності глутатіонредуктази щодо імовірності розвитку непліддя зафіксовано на рівні ≤32,7 мкмоль NADPH/хв·г Hb. Він характеризувався максимальни-

ми специфічністю і прогностичною цінністю позитивних результатів діагностичних тестів - 100 [94,6-100], а також чутливістю та прогностичною цінністю негативних результатів тестів - 100 [86,3-100]. Відношення правдоподібності негативних результатів тестів було практично ідеальним <0,001 (табл. 1, рис. 1).

ROC-аналіз активності глутатіонтрансферази у сироватці крові внутрішньої сім'яної вени також дав відмінну якість моделі з площею під кривою 0,997 [0,95-1,0], $p < 0,001$. Поріг відсікання ензиму склав ≤137 нмоль GSH/хв·г Hb при максимальних специфічності - 100 [86,3-100] та прогностичності позитивного результату діагностичного тесту - 100 [94,6-100], а також високих чутливості - 98,5 [92-100] та прогностичній цінності негативного результату тесту - 96,2 [80,4-99,9]. Підтвердженням цьому слугувало і високе відношення правдоподібності позитивного результату тесту - 0,015 [0,002-0,1] (табл. 1, рис. 2).

Майже на такому ж рівні ми отримали відмінної якості модель для активності глутатіонпероксидази у сироватці крові внутрішньої сім'яної вени. Площа під кривою становила 0,995 [0,95-0,999], $p < 0,001$, а поріг відсікання ≤148,55 нмоль GSH/хв·г Hb. Його чутливість і прогностичність негативного результату тесту були максимальними - відповідно 100 [94,6-100] та 100 [85,8-100] при також високих специфічності і прогностичній цінності позитивного результату тесту - 96 [79,6-99,9] та 98,5 [92,1-100]. Відношення правдоподібності позитивного результату

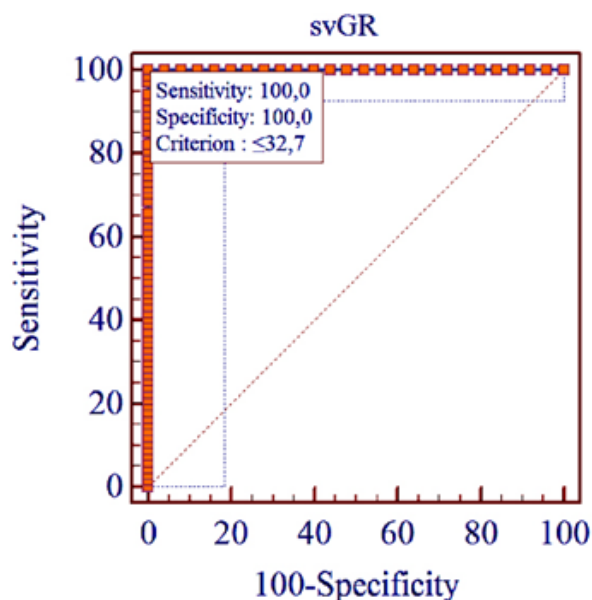


Рис. 1

Крива ROC-аналізу імовірності розвитку непліддя залежно від активності глутатіонредуктази у сироватці крові з внутрішньої сім'яної вени хворих на лівобічне варикоцеле II-III ст.

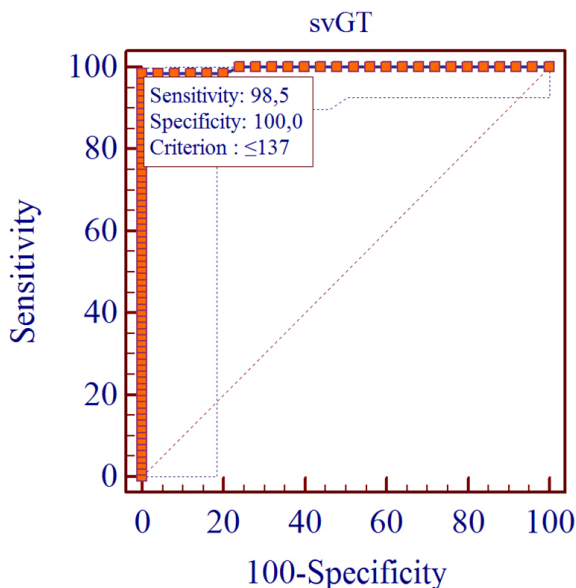


Рис. 2

Крива ROC-аналізу імовірності розвитку непліддя залежно від активності глутатіонтрансферази у сироватці крові з внутрішньої сім'яної вени хворих на лівобічне варикоцеле II-III ст.

тесту дало задовільний результат - 25 [3,7-170,6], а негативного практично ідеальний $<0,001$ (табл. 1, рис. 3).

Концентрації ферментів глутатіонпероксидазної системи і GSH у сперматозоїдах хворих на лівобічне варикоцеле II-III ст. за аналогією до відмінностей, які спостерігалися у сироватці внутрішньої сім'яної вени цих же пацієнтів, характеризувалися суттєвим відставанням від показників у практично здорових чоловіків. Натомість рівень MDA статистично високозначущо перевищував норму. Отримані результати підтверджують тезу про виснаження компенсаторних механізмів глутатіонової антиоксидантної системи та підвищення інтенсивності ліпопероксидних процесів у сперматозоїдах чоловіків з лівобічним варикоцеле II-III ст.

Істотне зростання вмісту MDA, як вторинного продукту перокисного окиснення ліпідів, свідчить про інтенсифікацію вільнорадикальних процесів, що пов'язано з підвищенням рівня АФК, або інгібуванням системи антиоксидантного захисту [1, 2, 6]. Тобто, стан оксидативного стресу виникає як через посилене утворення вільнорадикальних субстратів, так і внаслідок виснаження систем

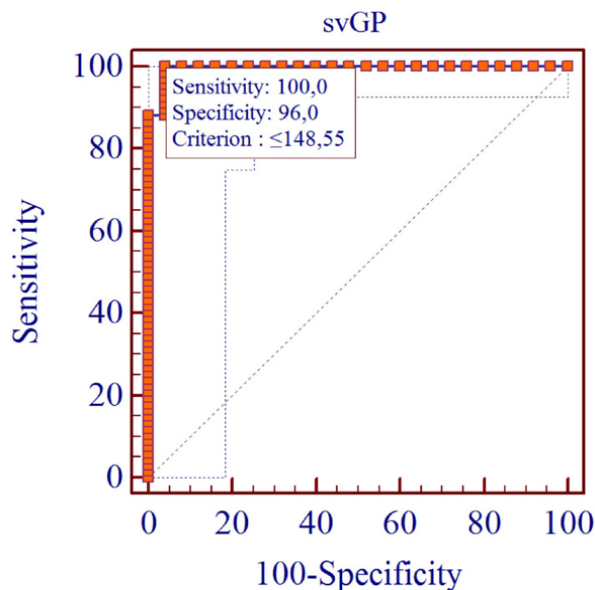


Рис. 3

Крива ROC-аналізу імовірності розвитку непліддя залежно від активності глутатіонпероксидази у сироватці крові з внутрішньої сім'яної вени хворих на лівобічне варикоцеле II-III ст.

антиоксидантного захисту [1, 2, 13]. Дані літератури підтверджують значне зростання прооксидантів - MDA і монооксиду азоту, а також надмірне утворення NO, який тісно пов'язаний з порушенням сперматогенезу [8] поряд зі зниженням антиоксидантів в еякуляті пацієнтів з варикоцеле [8, 13].

ROC-аналіз біохімічних маркерів у сперматозоїдах хворих на лівобічне варикоцеле II-III ст. також характеризувався певними закономірностями (табл. 2, 3). Найкращу якість моделі ми отримали за активністю малонового діальдегіду в сперматозоїдах - 0,999 [0,96-1], $p < 0,001$ з точкою відсікання >181 нмоль/мг протеїну. Остання характеризувалася максимальними чутливістю - 100 [94,6-100] та прогностичною цінністю негативного результату тесту - 100 [85,8-100]. Специфічність та прогностичність позитивного результату тесту дещо відставали, хоча також були високими - 96 [79,6-99,9] і 98,5 [92,1-100]. Відношення правдоподібності позитивного результату тесту виявилось тільки задовільним - 25 [3,7-170,6], натомість негативного ідеальним $<0,001$ (табл. 2, рис. 4).

Активність глутатіонпероксидази сперматозоїдів за площею під кривою харак-

Таблиця 2

ROC-аналіз про-/антиоксидантних систем у сперматозоїдах хворих на варикоцеле II-III ступенів

Показник	sGP, мкмоль GSH/ хв×мг протеїну	sGR, нмоль NADPH/ хв×мг протеїну	sGT, мкмоль GSH/ хв×мг протеїну	sMDA, нмоль/ мг протеїну	sGSH, пмоль/ 10 ⁶ клітин
AUC 95% CI	0,997* [0,96-1]	0,95* [0,88-0,98]	0,63 [0,52-0,73]	0,999* [0,96-1]	0,88* [0,8-0,94]
OC	≤4,7	≤0,39	≤0,44	>181	≤25
Se 95% CI	95,52 [87,5-99,1]	73,13 [60,9-83,2]	67,16 [54,6-78,2]	100 [94,6-100]	58,21 [45,5-100]
Sp 95% CI	100 [86,3-100]	96 [79,6-99,9]	52 [31,3-72,2]	96 [79,6-99,9]	100 [86,3-100]
+LR 95% CI	–	18,28 [2,7-125,4]	1,4 [0,9-2,2]	25 [3,7-170,6]	–
-LR 95% CI	0,045 [0,01-0,1]	0,28 [0,2-0,4]	0,63 [1,0-1,5]	<0,001	0,42 [0,3-0,6]
+PV 95% CI	100 [94,4-100]	98 [89,4-99,9]	78,9 [66,1-88,6]	98,5 [92,1-100]	100 [91-100]
-PV 95% CI	89,3 [71,8-97,7]	57,1 [41-72,3]	37,1 [21,3-55,4]	100 [85,8-100]	47,2 [33,3-61,4]

* - $p < 0,001$, рівень значущості щодо $AUC=0,5$

теризувалася відмінною якістю моделі зі статистично високозначущими відмінностями - 0,997 [0,96-1], $p < 0,001$. Оптимальний поріг активності глутатіонпероксидази щодо можливого розвитку непліддя склав 4,7 мкмоль GSH/хв мг протеїну при високих показниках специфічності - 100 [86,3-100] і чутливості - 95,52 [87,5-99,1]. Прогностична цінність позитивного результату тесту, як і специфічність, виявилася максимальною - 100 [94,4-100], а негативного дещо нижчою - 89,3 [71,8-97,7]. Відношення правдоподібності негативного результату тесту дало задовільний результат - 0,045 [0,01-0,1] (табл. 2, рис. 5).

Площа під кривою ROC-аналізу для глутатіонредуктази була незначно меншою,

аніж для глутатіонпероксидази. Вона також дала відмінну якість моделі зі статистично високозначущими відмінностями - 0,95 [0,88-0,98], $p < 0,001$. Точка відсікання активності глутатіонредуктази у сперматозоїдах становила ≤0,39 нмоль NADPH/хв·мг протеїну. При цьому, ми зареєстрували високу специфічність - 96 [79,6-99,9] та ще більшу прогностичну цінність позитивного результату тесту - 98 [89,4-99,9]. Чутливість виявилася середньою - 73,13 [60,9-83,2] зі ще меншою прогностичністю негативного результату тесту - 57,1 [41-72,3]. Відношення правдоподібності позитивного результату тесту мало задовільний показник - 18,28 [2,7-125,4], а від'ємного посередній - 0,28 [0,2-0,4] (табл. 2, рис. 6).

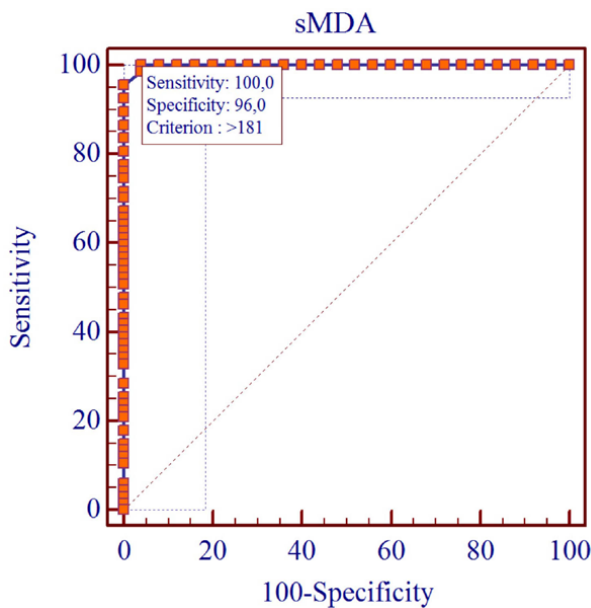


Рис. 4

Крива ROC-аналізу імовірності розвитку непліддя залежно від концентрації MDA у сперматозоїдах хворих на лівобічне варикоцеле II-III ст.

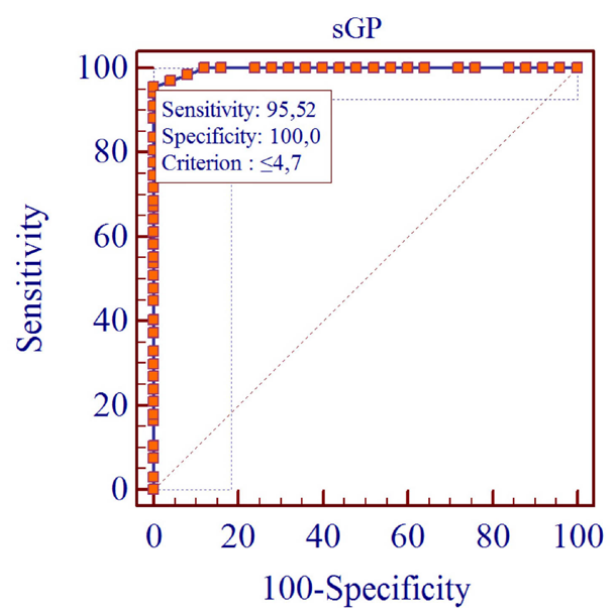


Рис. 5

Крива ROC-аналізу імовірності розвитку непліддя залежно від активності глутатіонпероксидази у сперматозоїдах хворих на лівобічне варикоцеле II-III ст.

Таблиця 3

ROC-аналіз аргіназної, оксиду азоту синтазної і аденозинтрифосфатазних систем у сперматозоїдах чоловіків з лівобічним варикоцеле II-III ступенів

Показник	Arg, нмоль сечовини/ хв×мг протеїну	cNOS, пмоль цитруліну/ хв×мг протеїну	iNOS, пмоль цитруліну/ хв×мг протеїну	Na ⁺ ,K ⁺ -ATPase, нмоль P/хв×мг протеїну	Ca ²⁺ ,Mg ²⁺ -ATPase, нмоль P/хв×мг протеїну
AUC 95% CI	1* [0,96-1]	0,99* [0,94-0,999]	1* [0,96-1]	0,996* [0,95-0,999]	0,89* [0,81-0,95]
OC	≤46	≤4,4	>1,2	≤37	≤7,6
Se 95% CI	100 [94,6-100]	95,52 [87,5-99,1]	100 [94,6-100]	97,01 [89,6-99,6]	64,18 [51,5-75,5]
Sp 95% CI	100 [86,3-100]	92 [74-99]	100 [86,3-100]	96 [79,6-99,9]	100 [86,3-100]
+LR 95% CI	–	11,4 [3,2-45,2]	–	24,25 [3,6-165,6]	–
-LR 95% CI	<0,001	0,049 [0,02-0,1]	<0,001	0,031 [0,008-0,1]	0,36 [0,3-0,5]
+PV 95% CI	100 [94,6-100]	97 [89,5-99,6]	100 [94,6-100]	98,5 [91,8-100]	100 [91,8-100]
-PV 95% CI	100 [86,3-100]	88,5 [69,8-100]	100 [86,3-100]	92,3 [74,9-99,1]	51 [36,3-65,6]

* - $p < 0,001$, рівень значущості щодо $AUC=0,5$

ROC-аналіз активності аргінази та індуцибельної синтази оксиду азоту у сперматозоїдах чоловіків з лівобічним варикоцеле II-III ступенів дав максимально відмінні якості моделей, оскільки площа під кривою склала 1,0 [0,96-1] з $p < 0,001$ для рівня значущості щодо $AUC=0,5$. Для активності аргінази ми отримали оптимальний поріг ≤ 46 нмоль сечовини/хв·мг протеїну, а для активності індуцибельної синтази оксиду азоту $> 1,2$ пмоль цитруліну/хв·мг протеїну. Вони характеризувалися максимальними чутливістю і прогностичністю позитивного результату тесту - 100 [94,6-100], а також специфічністю і прогностичною цінністю негативного результату тесту - 100 [86,3-100] при практично ідеальному відношенні правдоподібності позитивного результату тесту $< 0,001$ (табл. 3, рис. 7, 8).

Відмінна якість моделі зафіксована і за активністю іон-транспортальної системи натрій, калієвої аденозинтрифосфатази у сперматозоїдах хворих на лівобічне варикоцеле II-III ступенів. Площа під кривою дорівнювала 0,996 [0,95-0,999], $p < 0,001$. Оптимальний поріг ферменту зупинився на рівні ≤ 37 нмоль P/хв·мг протеїну з високими чутливістю - 97,01 [89,6-99,6], специфічністю - 96 [79,6-99,9], а також прогностичними цінностями позитивного - 98,5 [91,8-100] і негативного результатів тесту - 92,3 [74,9-99,1].

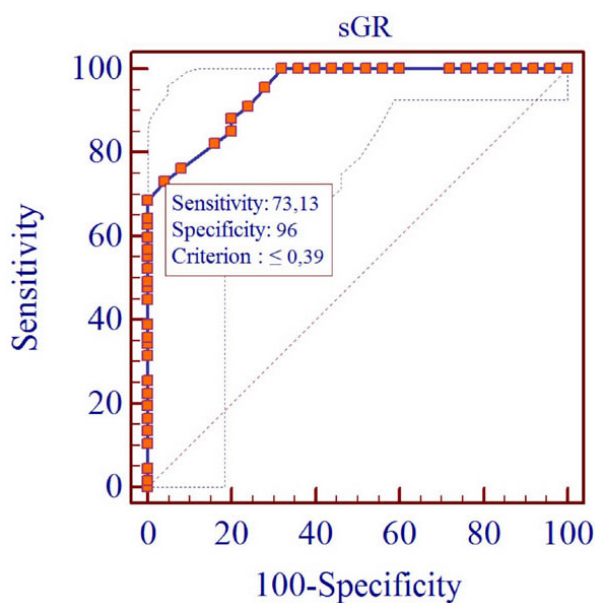


Рис. 6

Крива ROC-аналізу імовірності розвитку непліддя залежно від активності глутатіонредуктази у сперматозоїдах хворих на лівобічне варикоцеле II-III ст.

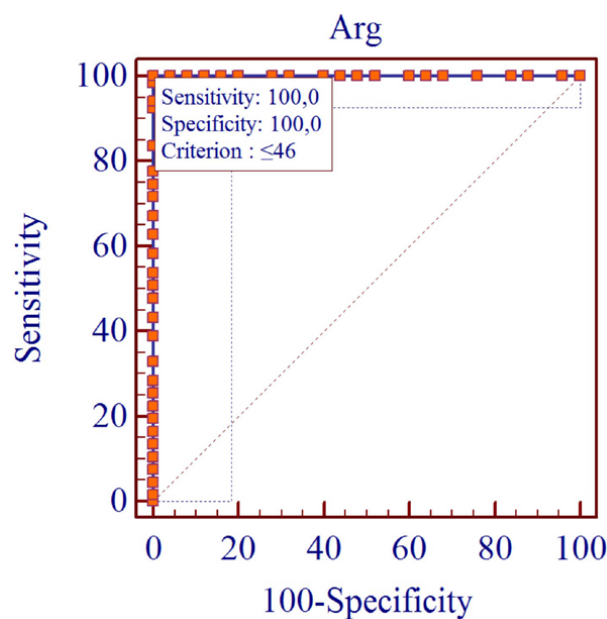


Рис. 7

Крива ROC-аналізу імовірності розвитку непліддя залежно від активності аргінази у сперматозоїдах хворих на лівобічне варикоцеле II-III ст.

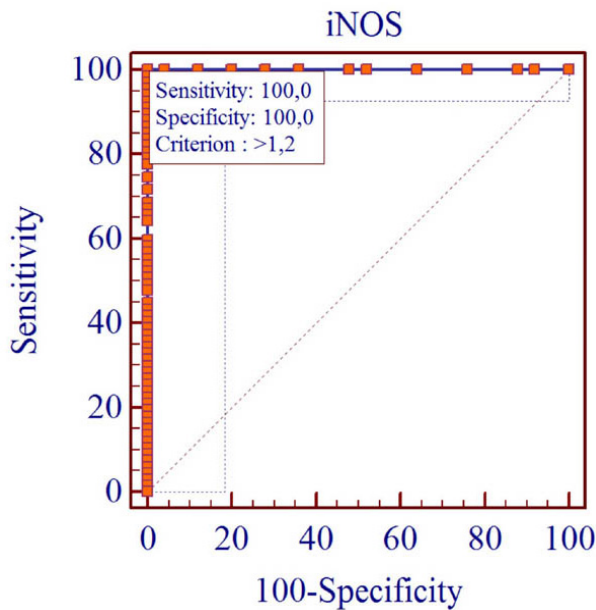


Рис. 8

Крива ROC-аналізу імовірності розвитку непліддя залежно від активності індукцибельної синтази оксиду азоту у сперматозоїдах хворих на лівобічне варикоцеле II-III ст.

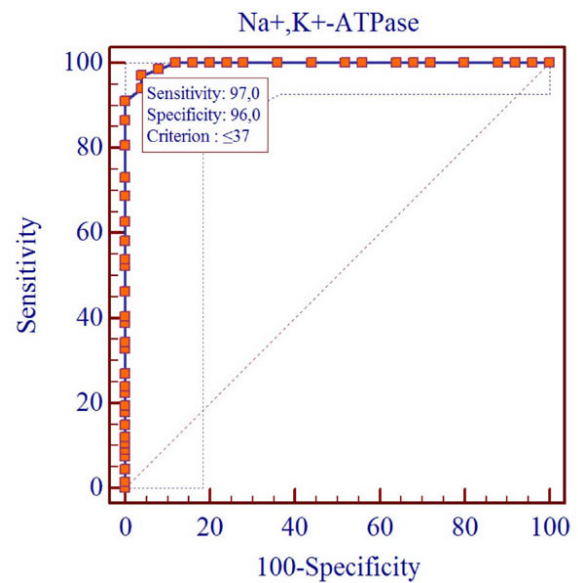


Рис. 9

Крива ROC-аналізу імовірності розвитку непліддя залежно від активності іон-транспортальної системи натрій, калієвої аденозинтрифосфатази у сперматозоїдах хворих на лівобічне варикоцеле II-III ст.

Він характеризувався задовільними відношеннями правдоподібності позитивного - 24,25 [3,6-165,6] і негативного результату тесту - 0,031 [0,008-0,1] (табл. 3, рис. 9).

Дещо нижчу площу під кривою ROC-аналізу, але також відмінну, ми отримали за активністю конститутивної синтази оксиду азоту у сперматозоїдах хворих на лівобічне варикоцеле II-III ступенів - 0,99 [0,94-0,999], $p < 0,001$. Точка відсікання цього ферменту склала $\leq 4,4$ пмоль цитруліну/хв мг протеїну з високими чутливістю - 95,52 [87,5-99,1] та специфічністю - 92 [74-99] і відповідно прогностичними цінностями позитивного - 97 [89,5-99,6] і негативного результатів тесту - 88,5 [69,8-97,6]. Задовільними виявилися відношення правдоподібності позитивного - 11,94 [3,2-45,2] та негативного результату тесту - 0,049 [0,02-0,1] (табл. 3, рис. 10).

У чоловіків з варикоцеле оксидативний стрес спричинює непліддя за рахунок вивільнення оксиду азоту (NO) ендотеліальними клітинами дилатованих вен сім'яного канатика і утворення пероксинітриду внаслідок реакції з супероксидним радикалом, які призводять до оксидативного пошкодження

гамет [8]. На даний час підтверджено, що хворим на варикоцеле притаманний оксидативний стрес [2, 6], підвищена продукція АФК, дефіцит антиоксидантної системи у сперматозоїдах [2, 6, 13]. "Золотим стандартом" визначення оксидативного стресу при варикоцеле зарекомендував себе малоновий діальдегід (MDA) [9, 13].

Натомість для захисту сперматозоїдів у чоловіків потрібні антиоксиданти, бо саме баланс між ними та АФК забезпечує функцію живчиків [2, 6]. Серед ензимів антиоксидантного захисту у чоловіків важливу роль відіграють глутатіонова системи та аргіназа. Нижчі активності цих ензимів корелюють з гіршими показниками спермограми [3, 4]. Глутатіонова система захищає мембрани сперматозоїдів від пероксидації ліпідів, вираженість якої оцінюють за концентрацією MDA [2, 6, 8]. При олігоастенозооспермії констатовано відємний кореляційний зв'язок MDA з рухливістю сперматозоїдів [7]. У пацієнтів зі зниженим фертильним потенціалом змінюється біодоступність L-аргініну для синтаз оксиду азоту (NO-синтаз), впливаючи на продукцію NO. Тобто при зниженні актив-

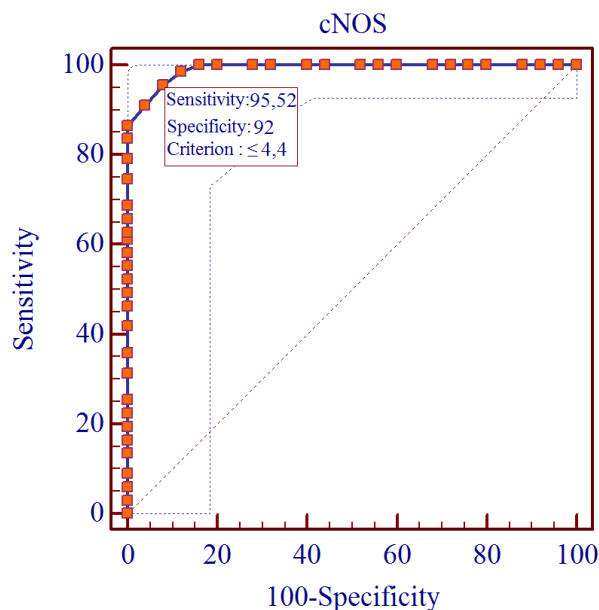


Рис. 10

Крива ROC-аналізу імовірності розвитку непліддя залежно від активності конститутивної синтази оксиду азоту у сперматозоїдах хворих на лівобічне варикоцеле II-III ст.

ності аргінази, вищі концентрації L-аргініну стимулюють синтез NO-синтаз [3, 4] та відповідно порушення сперматогенезу [10, 11]. Надмірне утворення NO тісно пов'язане з порушенням сперматогенезу [3, 8].

Негативний вплив АФК на якість еякуляту залишається достатньо актуальним питанням. Тому практичне застосування даних щодо порушень антиоксидантної рівноваги у пацієнтів з варикоцеле потребує подальшого, більш детального вивчення [1, 2, 5, 12].

Висновки

Варикозне розширення вен сім'яного канатика з розвитком тестикулярної (секреторної) неплідності призводить до виснаження ферментів антиоксидантного захисту та зростання активності прооксидантів у сироватці венозної крові яєчка і сперматозоїдах.

Показники про-/антиоксидантної системи зарекомендували себе як предиктори розвитку непліддя у пацієнтів з варикоцеле.

До прогностичних предикторів імовірності розвитку непліддя у чоловіків з варикоцеле II-III ст. слід віднести зниження у сироватці внутрішньої яєчкової вени активності

глутатіонпероксидази $\leq 148,55$ нмоль GSH/хв·г Hb, глутатіонредуктази $\leq 32,7$ мкмоль NADPH/хв·г Hb та глутатіонтрансферази ≤ 137 нмоль GSH/хв·г Hb, а також відновленого глутатіону $\leq 0,85$ ммоль/л при зростанні малонового діальдегіду понад 7,9 мкмоль/л.

Найбільш значними предикторами імовірності розвитку непліддя у чоловіків з лівобічним варикоцеле II-III ст. зарекомендували себе активності таких ферментів у сперматозоїдах як аргіназа та індукцибельна синтаза оксиду азоту з точками відсікання - відповідно ≤ 46 нмоль сечовини/хв·мг протеїну та $> 1,2$ пмоль цитруліну/хв·мг протеїну.

Література

1. Aitken RJ, Gibb Z, Baker MA, Drevet J, Gharagozloo P: Causes and consequences of oxidative stress in spermatozoa. *Reprod Fertil Dev* 2016, 28 (1-2), 1-10. DOI: 10.1071/RD15325.
2. Agarwal A, Hamada A, Esteves SC: Insight into oxidative stress in varicocele-associated male infertility: part 1. *Nat Rev Urol* 2012, 9 (12), 678-690.
3. Fafula RV, Iefremova UP, Onufrovykh OK, Maksymyuk H, Besedina AS, Nakonechnyi IA, Vorobets DZ, Vorobets ZD: Alterations in arginase-NO-synthase system of spermatozoa in human subjects with different fertility potential. *Journal of Medical Biochemistry* 2018, 37, 1-7.
4. Fafula RV, Iefremova UP, Onufrovykh OK, Maksymyuk HV, Vorobets DZ, Vorobets ZD. The kinetic properties of arginase in sperm cells of infertile men: *Regul. Mech. Biosyst* 2018, 9 (1), 80-84. DOI: 10.15421/021811.
5. Gavrilyuk AM, Chopyak VV, Nakonechnyi AI, Kamennichna M, Kurpish M: Immune-dependent causes of male infertility. *Medical aspects of women's health* 2010, 4/2 (31), 6-14. Ukrainian (Гаврилюк АМ, Чоп'як ВВ, Наконечний АЙ, Камєнічна М, Курпіш М: Імунозалежні причини чоловічого непліддя. *Медичні аспекти здоров'я жінки* 2010, 4/2 (31), 6-14.).
6. Hamada A, Esteves SC, Agarwal A: Insight into oxidative stress in varicocele-associated male infertility: part 2. *Nat Rev Urol* 2013, 10 (1), 26-37.
7. Kohn TP, Phil M, Jaden R Kohn, Alexander BS, Pastuszak W: Varicocelectomy before assisted reproductive technology: are outcomes improved? *Fertil Steril* 2017, 108, 385-391.
8. Kullisaar T, Turk S, Kilik 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.
9. Majzoub A, Esteves S, Gosalves J, Agarwal A:

- Specialized sperm function tests in varicocele and the future of andrology laboratory. *Asian Journal of Andrology* 2016, 18, 205-212.
10. Micheli L, Cerretani D, Collodel G, Menchiari A, Moltoni L, Fiaschi AI, Moretti E: Evaluation of enzymatic and non-enzymatic antioxidants in seminal plasma of men with genitourinary infections, varicocele and idiopathic infertility. *Andrology* 2016, 4, 456-464.
 11. Nematollahi-Mahani SN, Azizollahi GH, Baneshi MR, Safari Z, Azizollahi S: Effects of folic acid and zinc sulphate on endocrine parameters and seminal antioxidant level after varicocelectomy. *Andrologia* 2014, 46, 240-245.
 12. Peng J, Zhang Z, Cui W, Yuan Y, Song W, Gao B, Zhu S: Spontaneous pregnancy rates in Chinese men undergoing microsurgical subinguinal varicocelectomy and possible preoperative factors affecting the outcomes. *Fertility and Sterility* 2015, 103, 635-639.
 13. Wagner H, Cheng JW, Edmund YK: Role of reactive oxygen species in male infertility: An updated review of literature. *Arab J Urol* 2018, 16 (1), 35-43.