

Значение определения содержания аргинина и стабильных метаболитов цикла оксида азота в спермальной плазме у бесплодных мужчин

В.А. Бондаренко, Н.А. Карпенко, Н.Ф. Величко, Е.И. Скорняков, С.П. Кошель, Л.Б. Овчаренко, Т.В. Сахнюк

ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского НАМН Украины», г. Харьков

Исследовано содержание аргинина и стабильных метаболитов цикла оксида азота (NOx) в семенной плазме у мужчин. Установлено, что при идиопатических патоспермиях концентрация в сперме аргинина снижена, а содержание NOx повышено. Показано положительное влияние на параметры спермограмм у бесплодных мужчин при использовании L-аргинина аспартата в тех случаях, когда под влиянием терапии в сперме больных нормализуется содержание аргинина и NOx. **Ключевые слова:** аргинин, идиопатические патоспермии, семенная жидкость, стабильные метаболиты цикла оксида азота.

Условно незаменимая аминокислота аргинин (6-амино-d-гуанидиновалериановая кислота) является активным и разносторонним клеточным регулятором многочисленных функций организма [1]. Она обладает антигипоксическим, мембраностабилизирующим, антирадикальным действием, проявляет себя как активный регулятор промежуточного обмена и процессов энергообеспечения, играет определенную роль в поддержании гормонального баланса организма [2]. Известно, что аргинин стимулирует секрецию инсулина, соматотропного гормона и пролактина, которые опосредованно принимают участие в регуляции сперматогенеза [3]. При этом усиливается подвижность гамет, функциональная активность их митохондрий, восстанавливается содержание АТФ [4]. В эксперименте было установлено, что аргинин стимулирует процесс роста и созревания половых клеток. Авторы объясняют это положительное действие улучшением кровоснабжения семенников, угнетением оксидативного апоптоза, стимуляции, пролиферации и дифференциации клеток яичек при использовании аргинина [5]. При назначении бесплодным мужчинам с олигозооспермией 4 г аргинина в сутки на протяжении трех месяцев отмечается возрастание концентрации сперматозоидов в семенной жидкости [6]. Положительное влияние на параметры спермограмм при использовании аргинина было установлено нами у мужчин с идиопатическими патоспермиями [7]. Между тем, основная функция аргинина в организме – быть субстратом для синтеза оксида азота (NO) [8], стабильными метаболитами цикла которого являются нитраты и нитриты (NOx) [9]. На этом пути аргинин, участвуя в образовании NO, модулирует вазодилатацию сосудов [10]. Кроме того, посредством внутриклеточного цГМФ-сигнального пути аминокислота влияет на стероидогенез в клетках Лейдига [11].

Между тем, в настоящее время сведения об уровне аргинина и NOx в сперме у мужчин с различным состоянием сперматогенеза достаточно противоречивы [5, 12, 13]. Кроме того, остается открытым вопрос о том, является ли этот показатель предиктором эффективности терапии аргинином, в частности, идиопатических патоспермий.

Цель исследования: изучение концентрации аргинина и стабильных метаболитов цикла NO в семенной плазме эякулята гипоперильных пациентов с различными вариантами пато-

спермии, а также оценка эффективности терапии L-аргинином в форме препарата тивортина аспартат.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 104 мужчины в возрасте 23–44 лет, которые находились в бесплодном браке более одного года. У всех пациентов проводили анализ параметров спермограмм в соответствии с критериями ВОЗ [14]. При этом у 24 пациентов была установлена олигоастенозооспермия (ОАстЗС), у 29 – астенозооспермия (АстЗС) и у 51 мужчины – нормозооспермия (НЗС). Показатели, полученные в последней группе, приняты за контроль.

Анамнестические данные и клиническое обследование позволило исключить у лиц с АстЗС и ОАстЗС наличие гипогонадизма, варикоцеле, травматических и воспалительных поражений половых органов. Это дало основание констатировать у них идиопатические патоспермии.

В образцах семенной жидкости спектрофотометрическими методами определяли концентрацию NOx [15], аргинина [16] и фруктозы [17]. Содержание в сыворотке крови пациентов тестостерона, фолликулостимулирующего (ФСГ) и лютеинизирующего (ЛГ) гормонов устанавливали иммуноферментным методом.

У 16 мужчин с патоспермиями, которые в основном относились к АстЗС, содержание в сперме NOx, аргинина и фруктозы определяли через месяц после применения L-аргинина (препарат тивортина аспартат), который назначали по 2 г дважды в день.

Данные представлены как среднее арифметическое (М) и ошибка среднего арифметического ($\pm m$). Сравнение между группами проводили, используя t-критерий Стьюдента, корреляционные связи между показателями оценивали с помощью рангового коэффициента Спирмена [18].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что у лиц с НЗС концентрация аргинина в сперме существенно выше по сравнению с мужчинами, у которых были установлены патоспермии (табл. 1). Наиболее низкое содержание аргинина отмечалось при ОАстЗС, для которой характерно не только снижение подвижности, но и концентрации сперматозоидов в эякуляте.

Следует отметить, что на фоне снижения концентрации аргинина в сперме при патоспермиях отмечается достоверное возрастание содержания NOx в семенной жидкости в сравнении с показателями при НЗС. Это приводит к существенному увеличению соотношения NOx/аргинин, особенно при ОАстЗС.

При этом концентрация фруктозы в эякуляте была сниженной относительно контрольных величин только в случаях констатации АстЗС.

Проведенный корреляционный анализ выявил у лиц с НЗС положительную связь между процентом подвижных

Таблица 1

Биохимические показатели спермальной плазмы обследуемых мужчин, М±m

Показатель	Группа		
	Нормозооспермия, n=51	Астенозооспермия, n=29	Олигоастенозооспермия, n=24
Аргинин мкмоль/л	147,1±9,3	85,7±5,0 ¹	61,9±4,7 ^{1,2}
NOx, мкмоль/л	5,0±0,3	9,1±0,5 ¹	8,8±0,5 ¹
NOx/аргинин, у. е.	0,042±0,004	0,118±0,010 ¹	1,158±0,013 ^{1,2}
Фруктоза, ммоль/л	15,2±0,8	12,0±1,0 ¹	14,1±1,2

Примечания: ¹ – статистически значимые отличия от показателей группы нормозооспермии;

² – статистически значимые отличия от показателей группы астенозооспермии.

Таблица 2

Наличие корреляционных связей между биохимическими показателями спермальной плазмы, параметрами спермограмм и уровнем гормонов в крови у обследуемых пациентов

Показатели	Группа	
	Нормозооспермия	Астенозооспермия
Процент подвижных форм спермиев – аргинин	+	
Процент аномальных форм спермиев – аргинин	-	
ФСГ – аргинин	+	
Тестостерон – аргинин		+
Концентрация спермиев – NOx		+
Тестостерон – NOx/аргинин		-

Примечания: + – положительная корреляция; - – отрицательная корреляция.

Таблица 3

Динамика биохимических показателей эякулята у бесплодных мужчин под влиянием терапии тивортином, М±m

Показатель	Наличие эффекта от терапии, n=9		Отсутствие эффекта от терапии, n=79	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Аргинин, мкмоль/л	92,3±16,3 ¹	143,1±16,2 ²	122,3±2 ^{2,1}	111,4±25,4
NOx, мкмоль/л	9,9±0,8 ¹	5,8±0,8 ²	7,3±0,8 ^{1,3}	8,2±1,3
NOx/аргинин, у. е.	0,127±0,017 ¹	0,047±0,010 ²	0,075±0,015 ³	0,101±0,024
Фруктоза, ммоль/л	18,0±1,9	17,6±2,9	16,7±1,3	17,3±1,4

Примечания: ¹ – статистически значимые отличия от показателей группы нормозооспермии;

² – достоверные изменения показателя после лечения; ³ – достоверные отличия показателя между подгруппами до лечения.

форм спермиев и концентрацией аргинина в семенной жидкости, уровнем ФСГ в крови и отрицательную – между концентрацией аргинина и процентом аномальных форм спермиев (табл. 2). Последнее согласуется с данными о нормализации спермогенеза и увеличении доли морфологически нормальных гамет у мужчин при терапии L-аргинином [19]. В то же время при патоспермиях обнаруживается положительная корреляция между концентрацией тестостерона в крови и уровнем аргинина в семенной жидкости, между концентрацией сперматозоидов и содержанием NOx. Такая коррелятивная связь согласуется с известным наблюдением о повышенной продукции кислородных радикалов сперматозоидами с нарушенной подвижностью или морфологией [13]. Повышение содержания NOx в сперме свидетельствует об усилении образования при патоспермиях нитрит/нитратов в токсических концентрациях, с участием которых образуются нитрозосоединения, способные повреждать ДНК [9]. Кроме того, если в физиологических концентрациях NO нейтрализует супероксидрадикал, то при возрастании этого показателя он берет участие в образовании более вредоносного кислородного радикала – пероксинитрита [13].

При этом уровень тестостерона в крови негативно коррелирует с соотношением NOx/аргинин. В случае патоспермий увеличение соотношения NOx/аргинин, по-видимому, может отмечаться в случаях снижения уровня тестостерона в плазме

крови. Кроме того, можно видеть, что в норме концентрация аргинина в сперме коррелирует с уровнем ФСГ в крови.

После завершения терапии L-аргинином пациенты были распределены на две группы: 1-я группа, у которых через месяц лечения отмечалось достоверное увеличение концентрации сперматозоидов в эякуляте и возрастание процента их активно подвижных форм (9 человек); 2-я группа, в которую вошли 7 мужчин, у которых отсутствовала положительная динамика параметров спермограмм. Анализ полученных результатов показал, что у лиц 1-й группы до лечения уровни аргинина, NOx в спермальной плазме и соотношение NOx/аргинин статистически достоверно отличаются от показателей группы НЗС и соответствуют данным группы АстЗС (см. табл. 2 и табл. 3).

У пациентов 2-й группы, хотя уровень NOx был повышенным, средние величины концентрации аргинина в спермальной плазме и соотношение NOx/аргинин до лечения не отличались от показателей группы НЗС и не изменялись после терапии. Также не наблюдалось снижения повышенного уровня NOx в семенной жидкости, отсутствовала положительная динамика параметров спермограмм.

Необходимо отметить, что не наблюдались и какие-либо изменения в концентрации фруктозы – андрогензависимого показателя эякулята как в 1-й, так и во 2-й группе. Полученные данные свидетельствуют о том, что положительные изменения параметров спермограмм под влиянием терапии L-аргинином

могут быть только в тех случаях, когда происходит нормализация концентраций аргинина и NOx в сперме при отсутствии, по-видимому, в этих случаях изменений инкреторной функции семенников.

ВЫВОДЫ

Таким образом, можно сделать следующие выводы:

1. При идиопатических патоспермиях отмечается пониженная средняя концентрация аргинина и увеличенный

средний уровень стабильных метаболитов цикла NO в семенной жидкости.

2. Сниженный уровень аргинина и повышенный уровень стабильных метаболитов цикла NO в семенной плазме пациента является предиктором эффективности терапии идиопатической патоспермии (астенозооспермии) L-аргинином в виде препарата тивортин. В результате такого лечения улучшаются параметры спермограммы и нормализуются изученные биохимические параметры семенной жидкости.

Значення виявлення вмісту аргініну та стабільних метаболітів циклу оксиду азоту в спермальній плазмі у безплідних чоловіків

В.О. Бондаренко, Н.О. Карпенко, Н.Ф. Величко, В.І. Скорняков, С.П. Кошель, Л.Б. Овчаренко, Т.В. Сахнюк

Досліджено вміст аргініну та стабільних метаболітів циклу оксиду азоту (NOx) у сім'яній плазмі у чоловіків. Установлено, що у випадках ідіопатичних патоспермій концентрація в спермальній плазмі аргініну знижена, а вміст NOx підвищений. Показаний позитивний вплив на параметри спермограми у безплідних чоловіків при використанні L-аргінину аспартату в тих випадках, коли під дією терапії у спермальній плазмі хворих нормалізується вміст аргініну та NOx.

Ключові слова: аргінін, ідіопатичні патоспермії, спермальна плазма, стабільні метаболіти циклу оксиду азоту.

The importance of determination of arginine and stable metabolites of the nitric oxide cycle in the semen fluid of infertile men

V.A. Bondarenko, N.A. Karpenko, N.F. Velichko, E.I. Skorniakov, S.P. Koshe', L.B. Ovcharenko, T.V. Sakhniuk

The content of arginine and stable metabolites of the nitric oxide cycle (NOx) in the semen fluids of men has been studied. The research finds out that within the idiopathic pathospermia the concentration of arginine in the sperm is reduced, and the content of NOx is increased. The article reveals the positive effect on the spermogram parameters of infertile men using L-arginine aspartate, when, within the therapy, the content of arginine and NOx in the semen fluid of patients are normalized.

Key words: arginine, idiopathic pathospermia, sperm metabolites of stable nitrogen oxide cycle.

Сведения об авторах

Бондаренко Владимир Александрович – ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского НАМН Украины», 61002, г. Харьков, ул. Артема, 10; тел.: (050) 163-54-49

Карпенко Нина Алексеевна – ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского НАМН Украины», 61002, г. Харьков, ул. Артема, 10; тел. (050) 582-61-27. E-mail: nina_karpenko@mail.ru

Величко Наталья Федоровна – ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского НАМН Украины», 61002, г. Харьков, ул. Артема, 10.

Скорняков Евгений Иванович – ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского НАМН Украины», 61002, г. Харьков, ул. Артема, 10

Кошель Светлана Петровна – ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского НАМН Украины», 61002, г. Харьков, ул. Артема, 10

Овчаренко Лилия Борисовна – ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского НАМН Украины», 61002, г. Харьков, ул. Артема, 10

Сахнюк Татьяна Владимировна – ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского НАМН Украины», 61002, г. Харьков, ул. Артема, 10. E-mail: sexology@sexology.com.ua

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Arginine: New and exciting developments for an «old» amino acid / L. Beaumier et al. // Biomed. Environ. Sci. – 1996. – № 9. – P. 296–315.
2. Аргинин в медицинской практике / Ю.М. Степанов, И.Н. Кононов, А.И. Журбина, А.Ю. Филиппова // Журн. АМН України, 2004. – Т. 10, № 1. – P. 340–352.
3. Holdcraft R.T.W., Braun B.E. Hormonal regulation of spermatogenesis // Int. J. of Androl. – 2004. – Vol. 27. – P. 335–342.
4. Srivatsava S., Agarwal A. Effect of anion channel blockers on L-arginine action in spermatozoa from asthespermatic men // J. Androl. – 2005. – Vol. 26, № 3. – P. 396–378.
5. Вплив солей важких металів на сперматогенну функцію і їх корекція препаратом тивортин / А.М. Романюк, С.В. Сауляк, С.А. Москаленко та ін. // Лікарська справа. – 2012. – № 1–2. – С. 123–128.
6. Sindair S., Male infertility: Nutricional Environmental Consideration // Alternative Medicine Review. – 2000. – Vol. 15, № 1. – P. 28–38.
7. Динаміка функціонального стану сім'яників та печінки у неплідних чоловіків під впливом терапії L-аргініном / В.О. Бондаренко, Є.І. Скорняков, І.І. Алексеева та ін. // Пробл. ендокрин. патології. – 2013. – № 2. – С. 56–61.
8. Горпинченко И.И. Применение L-аргинина в лечении эректильной дисфункции // Здоровье мужчины. – 2013. – № 1. – С. 39–40.
9. Мушамбаров Н.Н., Кузнецов С.Л. Молекулярная биология. – М.: Медицинское, 2003. – 620 с.
10. Hanafy K.A. NO, nitrotyrosine, and cyclic GMP in signal transduction / K.A. Hanafy, J.S. Krumenacker, F. Murad // Med. Sci. Monit. – 2001. – 7 (4). – P. 801–819.
11. Sustained in vivo blockade of 61-adrenergic receptors prevented some of stress-triggered effects on steroidogenic machinery in Leydig cells / N.J. Stojkov, M.M. Janjic, A.Z. Baburski, A.I. Mihajlovic et al. // Am. J. Physiology – Endocrinology and Metabolism Published. – 2013. – Vol. 305. – P. 28–31.
12. Effects of pollen extract EA-10, P5 on chronic prostatitis or infertility with chronic prostatitis / H.J. Chen, Z.P. Wang, Y.R. Chen, D.S. Qin // Acta Pharmacol Sin. – 2002. – Vol. 23 (11). – P. 1035–1039.
13. Role of reactive nitrogen species in male infertility / S.B. Doshi, K. Khullar, R.K. Sharma, A. Agarwal // Reprod. Biol. Endocrinol. – 2012. – Vol. 10. – P. 109.
14. World Health Organization reference values for human semen characteristics / T.G. Cooper, E. Noonan, S. von Ecardstein et al. // Human Reprod. Update. – 2010. – Vol. 16, № 3. – P. 231–245.
15. Пат. 31600 Україна, МПК А6G01N 33/52. Спосіб кількісного визначення нітрит-аніону в біологічній рідині / А.В. Коцюрба, Т.В. Семикопка, О.П. Ікторов та ін. (UA); заявник і патентовласник Укр. НДІ кардіології ім. М.Д. Стражеска (UA). – № 98095152; заявл. 30.09.98; Опубл. 15.12.00, Бюл. № 7–2 с.
16. Алейникова Т.Л., Рубцова Г.В., Павлова Н.А. Руководство по биохимии. – М.: Медицина, 2000. – 128 с.
17. Михайличенко В.В. Бесплодие у мужчин. Руководство по андрологии / Под ред. О.Л. Тиктинского. – Л.: Медицина, 1990. – С. 297–335.
18. Атраментова Л.А. Статистические методы в биологии / Л.А. Атраментова, О.М. Утевская. – Горьковск, 2008. – С. 63.
19. Improvement of seminal parameters with Prelox: a randomized, double-blind, placebo-controlled, cross-over trial / R. Stanislavov, V. Nikolova, P. Rohdewald // Phytother Res. – 2009. – Vol. 23 (3). – P. 297–302.

Статья поступила в редакцию 27.02.2014