



Назарова Г.Э.

Азербайджанский медицинский университет, Баку, Азербайджан

## Изменение концентрации оксида азота и фруктозы при мужском бесплодии

**Конфликт интересов:** не заявлен.

**Этические принципы:** комитет по этике медицинского университета Азербайджана в Баку одобрил протокол. Информированное письменное согласие было получено от субъектов до сбора образцов, а пробам спермы были присвоены номера для сохранения анонимности между персоналом лаборатории и пациентами.

**Заявление о финансировании:** исследование не получило внешнего финансирования.

**Заявление об информированном согласии:** информированное согласие было получено от всех субъектов, участвовавших в исследовании.

Подана: 15.03.2024

Принята: 03.06.2024

Контакты: gunay.nezerova.93@mail.ru

### Резюме

**Введение.** В бесплодных браках мужской фактор имеет важное значение. В последние годы определение оксида азота (NO) и фруктозы считают важным индикатором в диагностике мужского бесплодия.

**Цель.** Определение влияния оксида азота и фруктозы на морфологию и подвижность сперматозоидов при мужском бесплодии.

**Материалы и методы.** В исследовании проанализированы образцы крови и спермы 86 мужчин в возрасте 20–46 лет с идиопатическим мужским бесплодием (астенозооспермия – 56 человек, олигозооспермия – 30 человек). В контрольную группу вошли фертильные мужчины в возрасте 23–40 лет. В семенной жидкости определили концентрацию фруктозы, а в крови – концентрацию оксида азота и тестостерона.

**Результаты.** По результатам анализа спермы у мужчин с астенозооспермией концентрация фруктозы имела тенденцию к увеличению на 19,3%, а в группе олигозооспермии наблюдалось значительное увеличение концентрации фруктозы на 60,8% ( $p_{\text{H}} < 0,001$ ) по сравнению с контрольной группой. Концентрация NO у пациентов с астенозооспермией увеличилась в 2,1 раза ( $p = 0,007$ ) по сравнению с группой контроля, а у пациентов с олигозооспермией – на 64,3%. Не было выявлено достоверного изменения концентрации тестостерона в крови. У мужчин с астенозооспермией обнаружена положительная корреляция ( $p = 0,604$ ;  $p < 0,001$ ) между уровнем фруктозы и концентрацией оксида азота и отрицательная корреляция между оксидом азота и подвижностью сперматозоидов ( $p = -0,691$ ;  $p < 0,001$ ) и между концентрацией фруктозы и подвижностью сперматозоидов ( $p = -0,542$ ;  $p < 0,001$ ). Такая же тенденция наблюдалась и в группе олигозооспермии. У пациентов с олигозооспермией существует обратная корреляция между оксидом азота и количеством сперматозоидов ( $p = -0,872$ ;  $p < 0,001$ ) и фруктозой ( $p = 0,744$ ;  $p = 0,004$ ).

**Выводы.** Таким образом, повышение концентрации NO приводит к понижению количества сперматозоидов и ослаблению их подвижности. По мере снижения активности сперматозоидов в семенной жидкости увеличивается концентрация фруктозы. Между концентрацией фруктозы и активностью сперматозоидов существует обратная зависимость.

**Ключевые слова:** идиопатическое мужское бесплодие, качество спермы, фруктоза, оксид азота, тестостерон

Nazarova G.  
Azerbaijan Medical University, Baku, Azerbaijan

## The Effect of Nitric Oxide and Fructose on Sperm Quality in Infertility

**Conflict of interest:** nothing to declare.

Submitted: 15.03.2024

Accepted: 03.06.2024

Contacts: gunay.nezerova.93@mail.ru

### Abstract

**Introduction.** In infertile marriages, the male factor is important. In recent years, the determination of nitric oxide (NO) and fructose are considered important indicators in the diagnosis of male infertility.

**The purpose of the study.** To determine the effect of nitric oxide and fructose on the morphology and motility of sperm in male infertility.

**Materials and methods.** The study analyzed blood and semen samples from 86 men aged 20–46 years with idiopathic male infertility (asthenozoospermia – 56 people, oligozoospermia – 30 people). The control group included fertile men aged 23–40 years. The concentration of fructose was determined in the seminal fluid, and the concentration of nitric oxide and testosterone in the blood.

**Results.** According to the results of semen analysis in men with asthenozoospermia, fructose concentration tended to increase by 19.3%, and in the oligozoospermia group there was a significant increase in fructose concentration by 60.8% ( $p_{H1} < 0.001$ ) compared to the control group. The NO concentration in patients with asthenozoospermia increased 2.1 times ( $p = 0.007$ ) compared to the control group, and in patients with oligozoospermia – by 64.3%. There was no significant change in the concentration of testosterone in the blood. In men with asthenozoospermia, a positive correlation ( $p = 0.604$ ;  $p < 0.001$ ) was found between the level of fructose and the concentration of nitric oxide and a negative correlation between nitric oxide and sperm motility ( $p = -0.691$ ;  $p < 0.001$ ) and between fructose concentration and sperm motility ( $p = -0.542$ ;  $p < 0.001$ ). The same trend was observed in the oligozoospermia group. In patients with oligozoospermia, there is an inverse correlation between nitric oxide and sperm count ( $p = -0.872$ ;  $p < 0.001$ ) and fructose ( $p = 0.744$ ;  $p = 0.004$ ).

**Conclusions.** Thus, an increase in NO concentration leads to a decrease in sperm count and weakened sperm motility. As sperm activity decreases, the concentration of fructose in the seminal fluid increases. There is an inverse relationship between fructose concentration and sperm activity.

**Keywords:** idiopathic male infertility, sperm quality, fructose, nitric oxide, testosterone

## ■ ВВЕДЕНИЕ

Бесплодие является одной из актуальных социально-медицинских проблем здравоохранения. В мире количество бесплодных пар достигает 48,5 млн, и это число охватывает около 25% супружеских пар. В бесплодных браках мужской фактор в различных странах варьирует от 20 до 70%. В целом на мужской фактор бесплодия приходится 40%, на женский фактор – 40%, а на смешанные факторы – 20% [1, 2]. С этой точки зрения, наряду с женщинами, изучение причин и патогенетических механизмов мужского бесплодия имеет большое научное и практическое значение как в диагностическом, так и в терапевтическом отношении. Проведенные исследования могут позволить выявить новые биохимические маркеры в дифференциальной диагностике мужского бесплодия. В последние годы некоторые биохимические маркеры, в том числе определение оксида азота (NO) и фруктозы, считаются важными индикаторами в диагностике мужского бесплодия. Известно, что многие параметры спермы, в том числе количество, подвижность и морфологическое строение сперматозоидов, очень чувствительны к воздействию свободных радикалов. В нормальных физиологических условиях сперматозоиды сами производят небольшое количество активных форм кислорода (АФК). Оксид азота является одной из активных форм кислорода и в высоких концентрациях ускоряет окислительный стресс в сперматозоидах. NO образуется в результате окисления атомом кислорода L-аргинина в присутствии специфического фермента NO-синтазы (NOS) [3–5].

NO действует посредством двойного механизма. Его двойной эффект зависит, прежде всего, от его концентрации и реакции с радикалами  $O_2^-$  и  $H_2O_2$ . Таким образом, NO в нормальных физиологических концентрациях участвует в фосфорилировании тирозина, передаче межклеточных сигналов, биосинтезе гормонов, капацитации сперматозоидов, слиянии с пеллюцидной зоной, гиперактивации сперматозоидов и акросомальной реакции в процессе оплодотворения. Многие исследования свидетельствуют о важной роли NO в патофизиологии сперматозоидов. Однако влияние NO на подвижность и жизнеспособность сперматозоидов полностью не установлено [4, 5].

В результате реакции между NO с супероксид-анионом кислорода ( $O_2^-$ ) образуются активные формы оксида азота (АФА), такие как диоксид азота ( $NO_2$ ), триоксизот ( $N_2O_3$ ), тетраоксид ( $N_2O_4$ ), пероксинитрит ( $ONOO^-$ ) и нитроксил ( $HNO$ ) [3, 5, 6]. Дисбаланс между оксидантной и антиоксидантной системой семенных путей приводит к увеличению генерации АФА. Таким образом, поскольку объем цитоплазмы сперматозоидов невелик, концентрация антиоксидантов в них низка, и в то же время из-за богатства полунасыщенными жирными кислотами эти клетки подвергаются большему перекисному окислению липидов. В связи с этим антиоксидантные ферменты на уровне хвоста и акросомы сперматозоидов не могут защитить клеточную мембрану [7].

NO в высоких концентрациях может вызывать гиперполяризацию мембраны, высвобождение цитохрома C, угнетение митохондриального дыхания и апоптоз. В результате нарушения реакций нитрозилирования в сперматозоидах ослабление синтеза ДНК приводит к уменьшению количества аденозинтрифосфата (АТФ) в клетке и ослаблению подвижности сперматозоидов [3, 5, 6]. Следует отметить, что NO связывается с пероксильным радикалом липидов и окисляет нитрозилированные жирные кислоты, способствуя тем самым остановке цепных радикальных реакций [6]. В результате дефицита антиоксидантных систем и нарушения механизмов репарации

дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) АФА может напрямую влиять на ДНК, приводя к деконденсации хроматина и фрагментации ДНК, при этом наблюдаются понижение жизнеспособности сперматозоидов и генетические изменения эмбриона. В результате окислительного стресса структурные изменения ДНК встречаются в 100 раз чаще у бесплодных мужчин, чем у фертильных [8, 9]. Поскольку высокая концентрация NO вызывает расслабление мышц бедер, это также может привести к эректильной дисфункции [10]. Среди АФА более агрессивен пероксинитрит (ONOO<sup>-</sup>). Пероксинитритный (ONOO<sup>-</sup>) радикал, образующийся в результате реакции NO с O<sub>2</sub><sup>-</sup>, вызывает окисление многих биомолекул в сперматозоидах, в том числе липидов, белков и ДНК, активацию металлопротеиназ, ингибирование некоторых ферментов в митохондриях, особенно I типа (никотинамидадениндинуклеотид-дегидрогеназа (НАДН-дегидрогеназа)) и II типа (сукцинатдегидрогеназа) электрон-транспортных комплексов. Понижение активности митохондрий приводит к разрушению сперматозоидов путем апоптоза или некроза [9]. Окисление тиоловых групп в результате реакции ONOO-радикала с сульфгидрильными группами цистеина также вызывает снижение уровня глутатиона – одного из важных антиоксидантов в клетке [6, 11].

Наряду с NO фруктоза также играет важную роль в метаболизме и активности сперматозоидов. Углеводы имеют большое значение в обмене веществ сперматозоидов. Таким образом, если глюкоза является источником энергии в течение всей функциональной активности сперматозоидов, то фруктоза обеспечивает быстрое движение для контакта с яйцеклеткой в фазе акросомальной реакции. Сперматозоиды используют метаболическую энергию фруктозы для нескольких функций, прежде всего для обеспечения своей подвижности. Фруктоза является важным питательным веществом для сперматозоидов, поскольку метаболизируется по пути гликолиза Эмдена – Мейера до пирувата и лактата. Лактат является основным источником углеводов для сперматозоидов. Лактат и пируват, накапливающиеся в микроокружении при оплодотворении яйцеклетки, стимулируют акросомальную реакцию. В митохондриях фруктоза подвергается полному метаболизму до углекислого газа и воды в цикле Кребса. В среде с большим количеством и высокой активностью сперматозоидов требуется больше энергии, при этом наблюдается снижение концентрации фруктозы [2, 12, 13]. Концентрация фруктозы обратно пропорциональна количеству подвижных сперматозоидов, что указывает на то, что только подвижные сперматозоиды используют фруктозу после эякуляции. В связи с этим концентрация фруктозы может быть одним из важных показателей определения подвижности сперматозоидов. В ряде исследований концентрация фруктозы в сперме мужчин с астенозооспермией и олигозооспермией повышена по сравнению с нормальными фертильными мужчинами. Повышение концентрации фруктозы у этих пациентов свидетельствует об отсутствии врожденных дефектов семенных канальцев и семенных пузырьков [2, 12, 13].

Мы считаем, что для изучения причины и патофизиологии мужского бесплодия целесообразно определить роль оксида азота и фруктозы в морфологических и физиологических изменениях сперматозоидов у мужчин.

## ■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить изменение концентрации оксида азота и фруктозы при мужском бесплодии.

## ■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании проанализированы образцы крови и спермы 86 мужчин в возрасте 20–46 лет ( $31,6 \pm 0,5$  года) с идиопатическим мужским бесплодием. В контрольную группу вошли фертильные мужчины в возрасте 23–40 лет ( $31,1 \pm 1,1$  года). Через 3–5 дней воздержания от половых контактов у каждого пациента мужского пола методом мастурбации отбирали образцы спермы, которые разливали в сухие чистые одноразовые стерильные контейнеры и через 30 минут анализировали морфологически. Для оценки структуры и функций сперматозоидов использовали фазово-контрастную микроскопию и специальные красители. За 4 дня до спермограммы запрещается употребление алкоголя, в том числе пива, а также горячие процедуры – посещение бани, сауны, горячей ванны, неблагоприятные условия труда.

Анализировали количество и качество сперматозоидов в сперме. Пациенты, включенные в исследование, были разделены на 2 группы по количеству и активности сперматозоидов на основании критериев, установленных Всемирной организацией здравоохранения в 2010 г. [14]: астенозооспермия (пациенты с нормальным количеством сперматозоидов и низкой поступательной подвижностью) – 56 человек; олигозооспермия (количество сперматозоидов в 1 мл спермы  $< 15$  млн) – 30 человек. Морфологическую структуру сперматозоидов оценивали по внешнему виду и сравнивали с критериями Крюгера. Таким образом, в спермограмме можно обнаружить сперматозоиды с патологией головки, шейки и хвоста. В некоторых случаях в аномальных клетках выявляют одновременно несколько патологий (смешанная патология). Когда доля таких сперматозоидов превышает 96%, сперма теряет способность к оплодотворению и возникает тератозооспермия. Это, возможно, вызвано хромосомными патологиями, ферментными заболеваниями, вирусными инфекциями и т. д. Астенозооспермию диагностируют, когда концентрация прогрессивно подвижных сперматозоидов ниже 32%. Доля морфологически нормальных форм сперматозоидов, полностью соответствующих критериям Крюгера, не должна быть менее 4%. Морфологически нормальный сперматозоид, согласно этим критериям, имеет головку овальной формы с акросомой, занимающей 40–70% от объема головки, и длинным ровным хвостом [15].

Концентрацию фруктозы определяли центрифугированием образца спермы при 3000 об./мин в течение 10 мин. Концентрацию фруктозы в сперматозоиде определяли колориметрическим методом с помощью набора реагентов B.I.R.D Diagnostics (Baharafshan Institute of Research and Development) «Фруктоза спермы», а концентрацию оксида азота в крови – с помощью набора реагентов R&D system.

Концентрацию тестостерона в сыворотке крови измеряли методом электрохемилюминесцентного иммуноанализа на автоанализаторе Roche e411. Статистический анализ полученных результатов проводился с использованием пакета программ SPSS-26 на основе критериев  $t$  Стьюдента – Бонферрони,  $H$  Краскела – Уоллиса и  $U$  Манна – Уитни. Различия между группами считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Корреляционная зависимость между показателями определялась на основе статистического критерия Спирмена.

## ■ РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам анализа спермы количество сперматозоидов уменьшилось на 41,1% ( $p_1 < 0,001$ ) в группе астенозооспермии и в 7,9 раза ( $p_1 < 0,001$ ) в группе

олигозооспермии по сравнению с контрольной группой. Количество прогрессивно подвижных сперматозоидов уменьшилось на 73,7% ( $p_1<0,001$ ) в группе олигозооспермии и в 3,7 раза ( $p_1<0,001$ ) в группе астенозооспермии по сравнению с контролем. Как видно, у мужчин с олигозооспермией общее количество сперматозоидов в 5,6 раза ( $p_2<0,001$ ), а количество подвижных сперматозоидов в 2,1 раза ( $p_2<0,001$ ) уменьшилось по сравнению с мужчинами с астенозооспермией. По результатам расчетов между группами установлена статистически значимая разница по количеству прогрессивно подвижных сперматозоидов ( $p_H<0,001$ ).

Мужское бесплодие может быть обусловлено не только количеством сперматозоидов, но и изменениями их морфологической структуры. В нашей исследовательской работе определялось процентное соотношение численности сперматозоидов с патологией головы и шеи. По результатам микроскопического анализа не выявлено статистически значимого изменения количества сперматозоидов с патологией шеи и головки у мужчин с астенозооспермией по сравнению с контрольной группой. У мужчин с олигозооспермией процент сперматозоидов с патологией шеи и головки был достоверно снижен на 10,3% ( $p_1=0,010$ ) и 41,7% ( $p_1=0,003$ ) соответственно по сравнению с контрольной группой. Установлена статистически значимая разница между группами по доле сперматозоидов с патологией шеи ( $p_H=0,031$ ) и головки ( $p_H=0,005$ ).

По результатам микроскопического анализа у мужчин с бесплодием преобладали сперматозоиды со смешанной патологией. У мужчин с астенозооспермией процент сперматозоидов со смешанной патологией увеличился на 29,3% ( $p_1=0,014$ ), а у мужчин с олигозооспермией – на 61,0% ( $p_1<0,001$ ) по сравнению с группой контроля. Процент сперматозоидов со смешанной патологией у мужчин с олигозооспермией был на 24,5% ( $p_2=0,001$ ) выше, чем у мужчин с астенозооспермией. Между группами установлена статистически значимая разница в количестве сперматозоидов со смешанной патологией ( $p_H<0,001$ ).

Процент морфологически нормальных форм сперматозоидов у мужчин с астенозооспермией статистически значимо снизился на 66,7% ( $p_1<0,001$ ); у мужчин с олигозооспермией – в 2,5 раза ( $p_1<0,001$ ) по сравнению с контрольной группой. Процент морфологически нормальных форм сперматозоидов у мужчин с олигозооспермией на 50,0% ( $p_2=0,016$ ) ниже, чем у мужчин с астенозооспермией. Статистически значимая разница установлена между группами по доле морфологически нормальных форм сперматозоидов ( $p_H<0,001$ ) (см. таблицу).

**Показатели сперматозоидов и концентрации оксида азота, фруктозы и тестостерона при мужском бесплодии**  
**Sperm parameters and concentrations of nitric oxide, fructose and testosterone in male infertility**

| Показатели сперматозоидов |         | Группы          |                         |                                   | Р <sub>H</sub> |
|---------------------------|---------|-----------------|-------------------------|-----------------------------------|----------------|
|                           |         | Контроль (n=20) | Астенозооспермия (n=56) | Олигозооспермия (n=30)            |                |
| Количество в 1 мл, млн    | М       | 64,6            | 45,9                    | 7,2                               | <0,001         |
|                           | Медиана | 63,5            | 45,0<br>$p_1<0,001$     | 8,0<br>$p_1<0,001$<br>$p_2<0,001$ |                |
|                           | Q1      | 61,0            | 30,0                    | 4,5                               |                |
|                           | Q2      | 74,0            | 60,0                    | 10,0                              |                |

Окончание таблицы

|                                                   |         |       |                      |                                     |        |
|---------------------------------------------------|---------|-------|----------------------|-------------------------------------|--------|
| Прогрессивно подвижные сперматозоиды, %           | M       | 34,6  | 17,9                 | 7,8                                 | <0,001 |
|                                                   | Медиана | 33,0  | 19,0<br>$p_1<0,001$  | 9,0<br>$p_1<0,001$<br>$p_2<0,001$   |        |
|                                                   | Q1      | 32,0  | 14,0                 | 2,0                                 |        |
|                                                   | Q2      | 35,5  | 23,0                 | 11,0                                |        |
| Сперматозоиды с патологией шеи, %                 | M       | 63,3  | 60,0                 | 55,2                                | 0,031  |
|                                                   | Медиана | 64,0  | 61,0                 | 58,0<br>$p_1=0,010$                 |        |
|                                                   | Q1      | 61,0  | 55,0                 | 48,0                                |        |
|                                                   | Q2      | 68,5  | 68,0                 | 62,0                                |        |
| Сперматозоиды с патологией головки, %             | M       | 9,9   | 8,1                  | 5,3                                 | 0,005  |
|                                                   | Медиана | 8,5   | 7,0                  | 6,0<br>$p_1=0,003$<br>$p_2=0,041$   |        |
|                                                   | Q1      | 7,0   | 5,0                  | 3,0                                 |        |
|                                                   | Q2      | 12,0  | 10,0                 | 7,0                                 |        |
| Сперматозоиды со смешанной патологией, %          | M       | 21,2  | 28,2                 | 37,3                                | <0,001 |
|                                                   | Медиана | 20,5  | 26,5<br>$p_1=0,014$  | 33,0<br>$p_1<0,001$<br>$p_2=0,001$  |        |
|                                                   | Q1      | 17,5  | 21,0                 | 28,0                                |        |
|                                                   | Q2      | 24,0  | 35,0                 | 48,0                                |        |
| Морфологически нормальные формы сперматозоидов, % | M       | 5,7   | 3,7                  | 2,2                                 | <0,001 |
|                                                   | Медиана | 5,0   | 3,0<br>$p_1<0,001$   | 2,0<br>$p_1<0,001$<br>$p_2=0,016$   |        |
|                                                   | Q1      | 4,0   | 2,0                  | 2,0                                 |        |
|                                                   | Q2      | 7,0   | 5,0                  | 2,0                                 |        |
| Фруктоза, мг/дл (в сперме)                        | M       | 241,1 | 300,5                | 388,6                               | <0,001 |
|                                                   | Медиана | 238,8 | 284,8                | 384,0<br>$p_1<0,001$<br>$p_2<0,001$ |        |
|                                                   | Q1      | 232,1 | 244,2                | 356,0                               |        |
|                                                   | Q2      | 245,5 | 350,5                | 406,0                               |        |
| Оксид азота, нмоль/л (в сыворотке крови)          | M       | 16    | 55                   | 13                                  | 0,020  |
|                                                   | Медиана | 65,8  | 135,1<br>$p_1=0,007$ | 108,1                               |        |
|                                                   | Q1      | 51,6  | 144,3                | 110,0                               |        |
|                                                   | Q2      | 43,8  | 27,4                 | 96,0                                |        |
| Тестостерон, нмоль/мл (в сыворотке крови)         | M       | 12,4  | 13,1                 | 14,0                                | 0,167  |
|                                                   | Медиана | 11,8  | 12,7                 | 13,8                                |        |
|                                                   | Q1      | 10,6  | 9,3                  | 10,1                                |        |
|                                                   | Q2      | 15,0  | 15,5                 | 15,5                                |        |

Примечания: M – среднее арифметическое число, N – количество, Q1 – квартиль 1, Q2 – квартиль 2,  $p_1$  – по сравнению с контролем,  $p_2$  – по сравнению с пациентами с астенозооспермией,  $p_{12}$  – сравнение между группами по Н Краскела – Уоллиса.

Как видно из полученных результатов, при мужском бесплодии в образцах спермы значительно снижается процент морфологически нормальных форм сперматозоидов, а процент сперматозоидов со смешанной патологией, наоборот, увеличивается. Эта разница была более выражена у мужчин с олигозооспермией.

Наблюдается значительное повышение концентрации NO в крови пациентов с мужским бесплодием. Концентрация NO у пациентов с астенозооспермией увеличилась в 2,1 раза ( $p_1=0,007$ ) по сравнению с группой контроля, а у пациентов с олигозооспермией – на 64,3%.

В ходе исследования не было выявлено достоверного изменения концентрации тестостерона в крови мужчин с астенозооспермией по сравнению с контрольной группой. Концентрация тестостерона в сыворотке крови мужчин с олигозооспермией имела тенденцию к увеличению на 17,0% по сравнению с контролем.

Полученные результаты показали, что при астенозооспермии концентрация фруктозы имела тенденцию к увеличению на 19,3%. В группе олигозооспермии наблюдалось статистически значимое увеличение концентрации фруктозы на 60,8% ( $p_1<0,001$ ) по сравнению с контрольной группой и на 34,8% ( $p_1<0,001$ ) по сравнению с астенозооспермией. Между группами была установлена статистически значимая разница по уровню фруктозы ( $p_H<0,001$ ).

В ходе исследования у пациентов с диагнозом «мужское бесплодие» были определены корреляционные связи между клинико-морфологическими показателями сперматозоидов и концентрацией оксида азота и фруктозы. Статистические расчеты показали, что существует положительная корреляция ( $p=0,604$ ;  $p<0,001$ ) между уровнем фруктозы и концентрацией оксида азота у мужчин с астенозооспермией. Так, в результате увеличения оксида азота подвижность сперматозоидов ослабевает ( $p=-0,691$ ;  $p<0,001$ ), при этом уменьшение потребления фруктозы приводит к увеличению ее концентрации в сперматозоиде. Как видно из результатов корреляции, существует отрицательная связь между концентрацией фруктозы и прогрессивной подвижностью сперматозоидов ( $p=-0,542$ ;  $p<0,001$ ), хотя в этой группе уменьшилось количество сперматозоидов, но увеличился процент сперматозоидов со смешанной патологией ( $p=-0,455$ ;  $p=0,001$ ). Установлена отрицательная корреляционная связь между процентом сперматозоидов со смешанной патологией и сперматозоидов с патологией шеи ( $p=-0,784$ ;  $p<0,001$ ) и головки ( $p=-0,356$ ;  $p=0,008$ ). Наблюдалась отрицательная корреляция между количеством сперматозоидов со смешанной патологией и количеством морфологически нормальных форм сперматозоидов ( $p=-0,769$ ;  $p<0,001$ ).

Такая же тенденция наблюдалась и в группе олигозооспермии. В группе олигозооспермии показана положительная корреляция между тестостероном и количеством сперматозоидов ( $p=0,511$ ;  $p=0,004$ ), т. е. снижение уровня тестостерона вызывало уменьшение количества сперматозоидов. У пациентов с олигозооспермией существует обратная корреляция между оксидом азота и количеством сперматозоидов ( $p=-0,872$ ;  $p<0,001$ ), а также фруктозой ( $p=0,744$ ;  $p=0,004$ ). Иными словами, увеличение оксида азота приводит к нарушению сперматогенеза и уменьшению количества сперматозоидов. Когда количество сперматозоидов уменьшается, потребление фруктозы в семенной жидкости снижается и, таким образом, концентрация фруктозы в сперме повышается. В этой группе установлена прямая корреляционная связь между общим количеством сперматозоидов и процентом сперматозоидов со смешанной патологией ( $p=0,472$ ;  $p=0,048$ ). Процент сперматозоидов с патологией шеи снижается, а доля сперматозоидов со смешанной патологией достоверно увеличивается ( $p=-0,919$ ;  $p<0,001$ ). Отсюда следует, что хотя общее количество сперматозоидов в группе олигозооспермии снижается по сравнению с пациентами

с астенозооспермией, количество сперматозоидов со смешанной патологией увеличивается.

## ■ ОБСУЖДЕНИЕ

Наши результаты показывают, что NO в высоких концентрациях влияет не только на процесс сперматогенеза, но и на подвижность сперматозоидов. Некоторые исследования продемонстрировали, что низкие концентрации NO не влияют на подвижность сперматозоидов, но увеличивают их емкость [16]. NO, регулируя концентрацию t-AMF, активирует аденилатциклазу, которая участвует в капацитации сперматозоидов [17, 18]. Наше исследование показывает, что концентрация NO выше у пациентов с астенозооспермией, чем с олигозооспермией. В целом астенозооспермия является многофакторным синдромом, и данная патология выявляется более чем у половины бесплодных мужчин. Это может быть вызвано дефектами хвостовой части сперматозоидов или патологиями, возникающими при выработке энергии. Более высокий процент тератозооспермии наблюдается у пациентов с астенозооспермией по сравнению с мужчинами с нормозооспермией. Дисфункция спермы у этих пациентов может быть связана с высокими концентрациями NO [19]. В нашем исследовании у пациентов с астенозооспермией установлена отрицательная корреляция между концентрацией NO и подвижностью сперматозоидов. Это доказывает, что высокая концентрация NO у бесплодных мужчин с астенозооспермией оказывает существенное влияние на подвижность и жизнеспособность сперматозоидов [10, 18, 20]. Известно, что подвижность сперматозоидов напрямую зависит от хвостовой части. Его движение вперед имеет решающее значение для успешного оплодотворения яйцеклетки. При астенозооспермии снижение подвижности сперматозоидов напрямую связано со структурными дефектами белковых компонентов их хвоста. Эти структурные белки взаимодействуют с t-AMF-зависимой протеинкиназой, участвующей в фосфорилировании тирозина, и регулируют функцию хвоста сперматозоида. Подвижность хвостовой части обеспечивается за счет энергии АТФ, вырабатываемой в митохондриях, расположенных в шейной части. Основные белки, участвующие в энергетических и метаболических процессах, связанных с образованием АТФ, расположены в дистальной части хвоста. Снижение экспрессии этих белков наблюдалось у пациентов с астенозооспермией. Снижение экспрессии и нитрозилирование этих белков влияют на структуру фиброзного слоя и синтеза АТФ, что приводит к нарушению подвижности сперматозоидов [21].

Влияние NO на снижение активности сперматозоидов можно объяснить тем, что АФА вызывают перекисное окисление мембранных липидов и тиоловых белков в мембранах сперматозоидов. NO также нитрозилирует гем митохондриальных ферментов, таких как аконитаза и глицеральдегидфосфатдегидрогеназа, что приводит к истощению АТФ в сперматозоидах и, следовательно, к потере подвижности сперматозоидов [9, 18]. В сперме этих пациентов потребление фруктозы снижается, поэтому увеличивается ее концентрация в семенной плазме. В то же время повышение концентрации NO приводит к увеличению количества сперматозоидов со смешанной патологией. Это позволяет предположить, что NO вызывает структурные и функциональные изменения в мембране и ДНК сперматозоидов и приводит к образованию патологических сперматозоидов. В результате подвижность таких сперматозоидов ослабляется и теряется способность к оплодотворению. Таким образом,

NO, оказывая окислительное действие, играет потенциальную патогенетическую роль в подвижности сперматозоидов [16, 17]. В группе олигозооспермии отрицательная корреляция между концентрацией NO и количеством сперматозоидов доказывает, что высокая концентрация NO оказывает прямое негативное влияние на процесс сперматогенеза [18]. NO также может ингибировать секрецию тестостерона, поскольку NO регулирует эндокринную функцию тестостерона посредством паракринного механизма. В то же время уровень тестостерона у мужчин также влияет на экспрессию ферментов NOS [22, 23].

Фруктоза в семенной жидкости является источником энергии сперматозоидов и имеет решающее значение в их обмене веществ, подвижности и концентрации [2, 12, 13, 25]. Фруктоза синтезируется в семенных пузырьках при участии семенных канальцев, и только подвижные сперматозоиды используют фруктозу. Это важно при диагностике пациентов с астенозооспермией [12]. Полученные результаты показали, что концентрация фруктозы в сперме мужчин с астенозооспермией имеет тенденцию к увеличению по сравнению с нормальными фертильными мужчинами. Повышение концентрации фруктозы у пациентов с астенозооспермией свидетельствует об отсутствии нарушений в семенных пузырьках [19]. Многие исследования показали, что концентрация фруктозы в семенной жидкости пациентов с олигозооспермией значительно повышена по сравнению с мужчинами с нормозооспермией, а также существует отрицательная корреляция между концентрацией фруктозы и количеством и подвижностью сперматозоидов. Как видно из результатов, у мужчин с олигозооспермией значительно снижается количество сперматозоидов, а доля сперматозоидов с патологией шеи увеличивается. В этой группе повышение фруктозы связано с уменьшением количества сперматозоидов [12, 25]. Существует тесная связь между концентрацией фруктозы в сперме и уровнем тестостерона в организме. Снижение синтеза тестостерона сопровождается снижением концентрации фруктозы в сперме [26].

## ■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Повышение концентрации NO приводит к понижению количества сперматозоидов и ослаблению их подвижности. По мере снижения активности сперматозоидов потребление фруктозы в семенной жидкости снижается. Поэтому концентрация фруктозы в сперматозоиде увеличивается. Результаты исследования еще раз подтвердили, что фруктоза является основным энергетическим субстратом сперматозоидов. Между концентрацией фруктозы и активностью сперматозоидов существует обратная зависимость. Основная причина этой зависимости заключается в том, что активные сперматозоиды используют больше энергии. Следовательно, фруктоза и оксид азота играют важную роль в проблеме бесплодия, могут быть определены как основные показатели подвижности сперматозоидов. Определение фруктозы и оксида азота рекомендуется у бесплодных мужчин при любых изменениях спермограммы.

## ■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Agarwal A., Mulgund A., Hamada A., Chyatte M.R. A unique view on male infertility around the globe. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2015;13:37. doi: 10.1186/s12958-015-0032-1
2. Chalyj M.E., Ahvlediani N.D., Harchilava R.R. Male infertility. *Urology.* 2017;28:4–19. (in Russian)
3. Kuchakulla M., Masterson T., Arora H., et al. Effect of nitroso-redox imbalance on male reproduction. *Transl Androl Urol.* 2018;7(6):968–977. doi: 10.21037/tau. 2018.08.14
4. Doshi S.B., Khullar K., Sharma R.K., Agarwal A. Role of reactive nitrogen species in male infertility. *Reprod Biol Endocrinol.* 2012;10:109. doi: 10.1186/1477-7827-10-109
5. Miraglia E.E., De Angelis F.F., Gazzano E., et al. Dar: nitric oxide stimulates human sperm motility via activation of the cyclicGMP/protein kinase G signaling pathway. *J Reprod Fertil Suppl.* 2011;141:47–54. doi: 10.1530/REP-10-0151
6. Kadlec M., Ros-Santaella J.L., Pintus E. The Roles of NO and H<sub>2</sub>S in Sperm Biology: Recent Advances and New Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences.* 2020;21(6):2174. doi: 10.3390/ijms21062174
7. Saleh R.A., Agarwal A. Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practice. *J. Androl.* 2002;23(6):737–752.
8. Gharagozloo P., Gutiérrez-Adán A., Champroux A. et al. A novel antioxidant formulation designed to treat male infertility associated with oxidative stress: promising preclinical evidence from animal models. *Hum. Reprod.* 2016;31(20):252–262.
9. Gholinezhad M., Aliarab A., Abbaszadeh-Goudarzi G. et al. Nitric oxide, 8-hydroxydeoxyguanosine, and total antioxidant capacity in human seminal plasma of infertile men and their relationship with sperm parameters. *Clin Exp Reprod Med.* 2020;47(1):54–60. doi: 10.5653/ cerm.2020.00423
10. Dutta S., Sengupta P., Das S. et al. Reactive Nitrogen Species and Male Reproduction: Physiological and Pathological Aspects. *Int J Mol Sci.* 2022;23(18):10574. doi: 10.3390/ijms231810574
11. Litvickij P.F., Galimov K.Sh., Gromenko Yu.Yu., et al. The role of sperm mitochondria in the occurrence and development of male infertility. *Pathological physiology and experimental therapy.* 2022;66(2):72–79. doi: 10.25557/0031-2991.2022.02.72-79. (in Russian)
12. Trang N.T., Sang T.T., Hoang N., et al. Assessment of the level of seminal zinc and fructose concentration in seminal plasma of Vietnamese infertile men. *MOJ Biorg Org Chem.* 2018;2(4):185–190. doi: 10.15406/mojboc.2018.02.00079
13. Al-Fartosy A.J.M., Al-Sawaad H.Z., Al-khazali I.H.A. Seminal Biochemical Markers and Serum Fertility Hormones in Men with or without Infertility Basrah. *International Medical Journal.* 2020;25(4):2129–2140.
14. World Health Organization. *Laboratory manual for the examination and processing of human semen.* 5th ed. Geneva: World Health Organization; 2010.
15. Wald G., Punjani N., Hayden R., et al. Assessing the clinical value of the Kruger strict morphology criteria over the World Health Organization. 4 ed. *F S Rep.* 2021;2(2):176–180. doi: 10.1016/j.xfre.2021.04.003
16. Wang J., He Q., Yan X., et al. Effect of exogenous nitric oxide on sperm motility in vitro. *Biol Res.* 2014;47:44. doi: 10.1186/0717-6287-47-44
17. Mannucci A., Argento F.R., Fini E., et al. The Impact of Oxidative Stress in Male Infertility. *Front. Mol. Biosci.* 2022;8:799294. doi: 10.3389/ fmolb.2021.799294
18. Balercia G., Moretti S., Vignini A., et al. Role of nitric oxide concentrations on human sperm motility. *J Androl.* 2004;25(2):245–9. doi: 10.1002/ j.1939-4640.2004.tb02784.x
19. Abd Elrahman M.M., El Makawy A.I., Hassanane M.S., et al. Assessment of correlation between asthenozoospermia and mitochondrial DNA mutations in Egyptian infertile men. *J Genet Eng Biotechnol.* 2021;19(1):11. doi: 10.1186/s43141-020-00111-0
20. Dutta S., Sengupta P. The Role of Nitric Oxide on Male and Female Reproduction. *Malays J Med Sci.* 2022 Apr;29(2):18–30. doi: 10.21315/ mjjms2022.29.2.3
21. Cao X., Cui Y., Zhang X. et al. Proteomic profile of human spermatozoa in healthy and asthenozoospermic individuals. *Reprod Biol Endocrinol.* 2018;16(1):16. doi: 10.1186/s12958-018-0334-1
22. Luo Y., Zhu Y., Basang W. et al. Roles of Nitric Oxide in the Regulation of Reproduction: A Review. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021;12:752410. doi: 10.3389/fendo.2021.752410
23. Ritchie C., Ko E.Y. Oxidative stress in the pathophysiology of male infertility. *Andrologia.* 2021;53(1):e13581. doi: 10.1111/and.13581
24. Andrade D.L., Viana M.C., Esteves S.C. Differential Diagnosis of Azoospermia in Men with Infertility. *J. Clin. Med.* 2021;10:3144. doi: 10.3390/ jcm10143144
25. Al-Khazali I.H.A., Al-Fartosy A.J.M., Al-Sawaad H.Z. Studying the effect of seminal fructose and citric acid level in men with infertility. *Ann Trop Med & Public Health.* 2020;23(S13B):SP231375.
26. Trang N.T. Seminal Fructose Concentration in Man Infertility and the Fructose Test's Meaning In Diagnosis Reason of Azoospermia Man. *Biomedical.* 2018. ISSN 2574-1241. doi: 10.26717/BJSTR.2018.08.001598