

Н.О. Карпенко, В.А. Бондаренко, Н.С. Кавок, О.Ю. Боріков

Дозрівання сперматозоїдів: події, наслідки, можливі шляхи контролю

Созревание сперматозоида – образование компетентной, способной к оплодотворению клетки. В этой связи в обзоре описаны морфологические и функциональные изменения структурных элементов сперматозоидов: ядер, плазматической и ядерной мембран, хвостового отдела, а также изменения локализации и активности ферментов для иллюстрации эпидидимального этапа созревания. Особое внимание уделено роли активных форм кислорода в трансформации клетки, про- и антиоксидантному балансу во время ее созревания, а также системам, которые контролируют качество половых клеток. Показаны возможные пути воздействия на некоторые события при созревании сперматозоида.

Безпліддя, яким страждає практично кожне шосте подружжя, є важливою медичною та соціальною проблемою як для України, так і для більшості розвинутих країн. Внесок чоловічого фактора безпліддя за різними даними коливається від 30 до 50 %. Особливо складно діагностувати та лікувати гіпофертильність невстановленого генезу, яка визначається у 50 % чоловіків з неплідністю [76] і нерідко пов'язана з порушеннями дозрівання статевих клітин. Тому велика увага приділяється вивченню процесу матурації, пошуку адекватних критеріїв оцінки функціональної зрілості статевих клітин [101], розробці ефективних технологій діагностики та терапії порушень репродуктивного здоров'я.

Сім'яники ссавців є комплексним органом, який виконує дві функції: синтезу стероїдних гормонів і продукції сперматозоїдів. Повноцінний розвиток сім'яників і сперматогенез контролюються гонадотропінами та тестостероном [3], ефекти яких модулюються факторами, що виділяються локально.

У чоловічому організмі диференціація диплоїдних сперматогоніїв призводить до утворення гаплоїдних сперматозоїдів. Нез-

рілі сперматозоїди, що відокремилися від суспензії сім'яних канальців, переносяться потоком рідини спочатку у тестикулярну мережу, а потім – у епідидиміс. При цьому відбуваються послідовні морфологічні та біохімічні модифікації – спочатку у сім'яниках (тестикулярне дозрівання), а потім – у епідидимісі (епідидимальне дозрівання), які призводять до утворення акросомальної вакуолі, зсуву ядра, що подовжується, на периферію клітини, конденсації хроматину та набуття рухливості і, кінець кінцем, спроможності до запліднення яйцеклітини [84]. Різним змінам піддаються всі елементи клітини: ядро, акросома, перинуклеарна тека, фіброзна оболонка, мітохондрії, цитоплазматична крапля та, безперечно, плазматичні мембрани.

Епідидиміс ділять на три функціонально різні частини: caput, corpus і cauda [18], і сперматозоїди, що досягають його дистального кінця, стають рухливими та зрілими, здатними до прямолінійного руху та запліднення, яке включає розпізнавання zona pellucida та акросомальну реакцію. Характер люмінальної рідини, яка складається з секретів епітеліального прошарку сім'яних канальців і генітального тракту та

у якій знаходяться сперматозоїди до емісії, послідовно змінюється. Відомо, що епітелій придатка поглинає певні речовини з крові, включаючи деякі тестикулярні фактори, та секретує (як вважають, за апокриновим типом [44]) у просвіт епідидимісу специфічні компоненти (електроліти, ферменти та функціонально важливі протеїни), які безпосередньо контактують зі статевими клітинами. При цьому рН рідини змінюється у кислий бік, підвищується її осмолярність, вона збагачується іонами магнію та сірки та збіднюється іонами кальцію [9]. Вважають, що деяку роль у відповіді сперматозоїда на осмотичні зміни відіграє цитоплазматична крапля, яку в клітинах з каудального епідидимісу знаходять між середньою та основною частинами хвоста [96].

Головним наслідком матурації сперматозоїдів слід вважати конденсацію спермального ядерного хроматину. У теплокровних тварин вона здійснюється у два основні етапи. На першій стадії, у сім'яниках відбувається заміна гістонових білків на специфічні для сім'яників протаміни [40], котрі за розміром наполовину менші за гістони і складаються переважно з аргініну та численної кількості залишків цистеїну, спроможних утворювати дисульфідні містки з прилеглими молекулами протамінів під час конденсації хроматину. Довжини молекули білка достатньо для заповнення одного витка ДНК, і протаміни, утворюючи множинні дисульфідні містки з прилеглими молекулами, закривають простір навколо неї [23]. Утворення значної кількості перехресних дисульфідних містків між протаміновими молекулами описує події другої стадії конденсації хроматину, коли сперматозоїди покидають голову епідидимісу та прямують у його хвіст [39]. Під час цього транзиту на один сперматозоїд утворюється майже 1,5 млн дисульфідних зв'язків, що робить об'єм ядра у 20 разів меншим. Виходячи з цього стає зрозумілим, що після конденсації хроматину сперма-

тозоїд стає дуже стійким до дії різних агентів, включаючи кислоти, протеази, ДНКаз та детергенти [60]. Процес конденсації хроматину супроводжується зміщенням ядерних пор і припиненням або обмеженням синтезу білка на етапах транскрипції, трансляції та посттрансляції [64]. Біологічне значення конденсації хроматину полягає у тимчасовій інактивації чоловічого геному [19].

Конденсація хроматину має безпосереднє відношення до здатності сперматозоїдів до запліднення. Порушення цього процесу спричинює утворення спермійів зі сферичним ядром і відсутністю акросоми [80]. У людини сперматозоїди, хроматин яких конденсований не повністю, дають низький відсоток запліднень навіть при введенні їх безпосередньо у яйцеклітину [72]. При цьому такий варіант функціональної неповноцінності сперматозоїдів може бути не пов'язаним з іншими формами безпліддя, при яких спостерігаються відхилення у морфології сперматозоїдів, олігоспермія, астенозооспермія, тобто є самостійним фактором чоловічого безпліддя [43].

Слід звернути увагу на гіпотезу Charman та Michael [21] про можливий механізм конденсації хроматину у сперматозоїдах. Згідно з нею, у цьому процесі задіяний андрогензв'язувальний білок (АЗБ) люмінальної рідини. Після втрати сперматозоїдом більшості цитоплазми, його ядерна мембрана, яка містить сайти з високою спорідненістю до цього білка, стає безпосередньо доступною для компонентів люмінальної рідини. Внаслідок цього люмінальний АЗБ зв'язується з рецепторами ядра та вбудовується у ядерну мембрану. Далі АЗБ зв'язується з 5 α -ДГТ і робить його доступним для ферменту 3 β -стероїддегідрогенази. При перетворенні 5 α -ДГТ у 3 β -андростандіол утворюється НАД(Ф)⁺, який потрібний для побудови дисульфідних містків протамінами [21]. Тому для збільшення ефективності запліднення у проце-

дурі екстракорпорального запліднення для підвищення ступеню конденсації ядерного матеріалу вважають доцільним проведення попередньої інкубації сперматозоїдів з 5 α -ДГТ.

Процес набування сперматозоїдом спроможності до запліднення щільно пов'язаний з трансформацією спермальної мембрани на етапах посттестикулярного дозрівання, яка опосередкована ферментами та секретами епідидимального епітелію. Вважають, що саме на етапі епідидимального дозрівання відбуваються перебування молекул, які розташовані на поверхні гамет, за допомогою додавання або адсорбції нових молекул, зміни просторової конфігурації та/або біохімічної модифікації компонентів-попередників.

У період матурації змінюється співвідношення білки/фосфоліпиди у плазматичній мембрані. Зменшується вміст загальних фосфоліпідів мембран, холестерину, білка. Наприклад, майже 56 % фосфоліпідів у мембрані сперматозоїдів бика – фосфатидилхолін і фосфатидилетаноламін, інше – сфінгомієлін, фосфатидилсерин і кардіоліпін. Концентрація фосфатидилетаноламіну збільшується при проходженні сперматозоїдів від голови до тіла придатка, а потім зменшується при транзиті клітин у хвіст епідидимісу. Залишки жирних кислот, які зв'язані з фосфоліпідами, представлені переважно пальмітатом і стеаратом, зі значним збільшенням концентрації у каудальних сперматозоїдах докозапентеноїлових ацильних груп. Вважають, що ці зсуви можуть зумовлювати зміни плинності мембрани та енергії активації кальційзалежної АТФази протягом епідидимального дозрівання [41].

У зрілих сперматозоїдах з'являється низка глікопротеїнів, які розташовані на поверхні, та яких немає або є у дуже малій кількості у недозрілих клітинах [71]. Показано, що глікопротеїни з гідрофобними властивостями, котрі секретуються у хвості епідидимісу, можуть безпосередньо

вбудовуватись у специфічні домени мембрани сперматозоїдів [37]. При зміні розподілу та щільності кінцевих залишків олігосахаридів у період дозрівання клітин змінюються їх електрофоретичні та цитохімічні характеристики. Крім цього, відбувається специфічна взаємодія гліканів люмінальної рідини та ферментів зовнішнього боку мембрани клітини. Нестача деяких гліканмодифікованих ферментів (глюкозидази та глікозилтрансферази), які існують у вільному або зв'язаному з мембраною вигляді [87], пов'язують з чоловічою неплодністю [27].

Епідидимальна рідина також містить численні протеїни, котрі стабілізують плазматичні мембрани сперматозоїдів, відіграючи певну роль у дозріванні клітин і захисті від окисного стресу. Наприклад, протеом люмінальної рідини у жеребців містить більше ніж 250 білків, з яких головними є альбумін, лактоферин, крустерин, глутатіонпероксидаза, простагландин-D2-синтаза, гексозамінідаза, прокатепсин D тощо [32].

Існують переконливі дані, що недостатня або низька експресія деяких білків поверхні клітини характерна для протеограми сперматозоїдів пацієнтів з репродуктивними проблемами, що показано, наприклад, для білка масою 57 кДа [70], актинзв'язувального протеїну, протеїну зовнішнього щільного волокна [67], P34H-протеїну [55].

Стан фосфорилування фосфопротеїдних субстратів як у мембрані, так і у секреті репродуктивного тракту, є також важливим фактором функціонування статевих клітин. Процес регулюється фосфопротеїнфосфатазою, яка розташована на зовнішній поверхні мембрани сперматозоїдів. Активність цього ферменту значно посилюється на первинних стадіях епідидимального дозрівання клітин і різко пригнічується на його кінцевих етапах. При цьому змінюється топографія розподілу ензиму на поверхні клітини. У сперматозоїдах з голови

епідидимісу фермент є на усій поверхні мембран, у сперматозоїдів, що пройшли у тіло придатка, – на передній частині голови, а при транзиті гамет у хвіст епідидимісу – виявляються на її задній поверхні [17].

В епідидимісі відбувається синтез і секреція таких активних лізосомальних ферментів, як катепсин D, β -гексозамінідаза, кисла та нейтральна α -глюкозидази, які також ремоделюють мембрану сперматозоїда під час епідидимального дозрівання [68] і активність яких змінюється при дозріванні гамет. Відомо, що від проксимальної частини голови придатка до його хвоста значно посилюється активність α -глюкозидази. При цьому у голові знаходиться переважно її “кисла” ізоформа, а у хвості – “нейтральна”, яка і превалує при нормальних значеннях рН [30]. Фізіологічна роль цих ізоферментів полягає у руйнуванні або модифікації глікокон’югатів епідидимального секрету або сперматозоїдів. Активність α -глюкозидази знаходиться під негативним контролем тестостерону [86] і її зміни свідчать про модифікацію секреторних функцій при обструктивних порушеннях на рівні придатка або сім’явиносної протоки [85]. Деякі автори вважають, що активність нейтральної α -глюкозидази у разі патологічних змін, виявлених на спермограмі, можна розглядати як специфічний маркер епідидимальної секреції [59, 101] або повноцінності шляху транзиту статевих клітин [66]. Однак у разі нормо-, оліго- або азооспермії без обструктивних явищ активність такого ферменту суттєво не відрізняється. На думку Krause зі співавт. [52] цей показник не дає додаткової інформації про фертилізаційний потенціал пацієнта, хоча є спроби використати його при розрахунку окремого індексу сертилізаційної здатності сперм [95].

Крім нейтральної α -глюкозидази, у дозріванні сперматозоїдів під час епідидимального транзиту має значення також β -галакто-

зидаза [42], а такі ферменти спермальної плазми, як α -манозидаза та β -N-ацетилглюкозамінідаза беруть участь у зв’язуванні сперматозоїда з яйцеклітиною [82] та пенетрації її оболонки [26].

Існують дані, що певну роль у дозріванні сперматозоїдів відіграє ангіотензин-І-перетворювальний фермент, активність якого у клітин сім’яників вища, ніж у епідидимальних сперматозоїдів [62]. При дозріванні гамет відбуваються значні зміни у розподілі Spam1-білка, який має гіалуронідазну активність, що пов’язують зі структурними та функціональними змінами його молекули. У статевих клітин цей білок знаходять на усій поверхні голови епідидимісу, а у сперматозоїдів з хвоста придатка – на передній і задній поверхні, де його ферментативна активність значно посилюється внаслідок власного деглікозилування [29].

Важливе місце у дозріванні сперматозоїда відіграють події в акросомі, яка розташована попереду ядра у його голові. Було з’ясовано, що акросомальні білки, які компартменталізуються на початку формування акросоми у сперматиді, пізніше ремоделюються та перерозподіляються на відповідні місця у зрілій клітині, де вони стають здатними до подальших модифікацій під час акросомальної реакції [97].

Однією з головних властивостей повноцінного зрілого сперматозоїда є рухливість внаслідок коливальних рухів хвоста. Гамети набувають здатність рухатися саме на етапі епідидимального дозрівання, при цьому клітини, отримані з голови епідидимісу нерухомі як *in vivo*, так і *in vitro* та здатні лише до коливань. Пізніше вони починають здійснювати циркуляторні рухи, і лише при надходженні до хвоста придатка сперматозоїди здатні до поступального прямування. Про регуляцію надбання рухливості відомо мало. Можливо, у цей процес задіяні як тестикулярні, так і посттестикулярні фактори.

Флагеллярна аксонема сперматозоїда, що забезпечує його просування по жіночим статевим шляхам, – структурно та хімічно складна органела, яка здатна генерувати хвилі з енергії гідролізу аденозинтрифосфату (АТФ), який утворюється внаслідок метаболізму екзо- та ендогенних субстратів [7].

Перебуваючи в епідидимісі, сперматозоїди переважно отримують енергію саме через окиснення жирних кислот. Крім того, джерелом енергії для клітин, що дозрівають, є гліколіз, окиснення ліпідів, накопичення жирних кислот та ацетилкарнітину у епітелії епідидимісу [9]. Оскільки порушення на цьому етапі епідидимального дозрівання можуть призводити до зниження рухливості зрілих гамет, увагу дослідників привертає L-карнітин (β -гідрокси- γ -N-триметиламін-бутилова кислота, вітамін БТ), головна функція якого полягає у транспорті ацильних та ацетильованих груп через внутрішню мітохондріальну мембрану [20], а також у регуляції β -окиснення. Клітини епітелію епідидимісу захоплюють карнітин із крові за допомогою активного андрогензалежного механізму [25]. У чоловічому репродуктивному тракті знайдено дуже високі концентрації вільного L-карнітину та ацетил-L-карнітину, які майже у 2000 разів перевищують їх у крові. Через мембрану сперматозоїда (як і клітин інших тканин) L-карнітин проходить шляхом пасивної дифузії і його вміст усередині клітин не більший, ніж у епідидимальній рідині. При цьому у хвості придатка вміст карнітину підвищується на кілька порядків порівняно з головою або тілом епідидимісу, а більше поглинання вільної речовини та її ефірів “хвостовими” сперматозоїдами є характеристикою саме зрілих гамет. Ацилювання карнітину також відбувається лише у сперматозоїдах з хвоста придатка. Високі концентрації ацил-L-карнітину у зрілих сперматозоїдах відображають посилене використання жирних кислот як джерела

енергії. Це вказує на те, що окисний метаболізм більш активний у зрілих клітинах [48], які потребують багато АТФ для забезпечення рухливості.

Виходячи з енергозалежності процесу руху, стає зрозумілою роль одних із найважливіших органел сперматозоїдів – мітохондрій. Їхня зовнішня мембрана дозволяє великим молекулам проникати у міжмембранний простір, а внутрішня мембрана, яка має велику поверхню, відповідає за окисне фосфорильовання. Значення виникаючого електрохімічного градієнта концентрації протонів між зовнішньою та внутрішньою мембранами мітохондрій, так званий мембранний потенціал мітохондрій, відображає метаболічну активність клітини. Численні дослідження показали, що він позитивно корелює з рухливістю, життєздатністю [64] і концентрацією сперматозоїдів [91], тобто якістю сперми. У цілому можна казати, що будь-які зміни функції мітохондрій позначаються на рухливості сперматозоїдів.

Вочевидь, що для утворення повноцінних і компетентних статевих клітин необхідний не тільки належний процес сперматогенезу, а й дієві механізми “відбраковування” дефектних клітин. Головним з них можна вважати мейотичний добір, а під час епідидимального транзиту відбувається й постмейотичний добір повноцінних гамет.

Прикладом одного з механізмів контролю можна вважати убіквітинову систему. Убіквітин, який синтезується в апікальних пухирцях епідидимального епітелію, зв'язується з білками плазматичної мембрани, мітячи таким чином дефектні сперматозоїди [44, 81]. Цей процес активується ферментативним шляхом, що об'єднує кілька убіквітинлігаз E1-E4 [22, 33]. Розщеплення убіквітинованих субстратів відбувається у лізосомах і протеосомах з подальшим їх фагоцитозом. Існують два основних компоненти убіквітинзалежного

протеолітичного шляху – (8,5 кДа)-убіквітин та убіквітинрецикуюча С-термінальна гідролаза.

Убіквітинова система знаходиться під супресивним контролем андрогенів, які впливають на епітелій епідидимісу. При відсутності або недостатності цих гормонів активуються убіквітинпротеосомна система, ДНКазы тощо, що заподіює розчинення спермальних органел та нуклеопротейнів [49].

Загалом, процес репродукції і за нормальних умов зазнає деяких окисдаивних впливів, через що тканини чоловічої репродуктивної системи постійно піддаються дії активних форм кисню (АФК). Значне посилення метаболізму під час сперматогенезу, який підтримується чоловічими статевими гормонами, вказує на те, що репродуктивна система сама продукує значні кількості АФК під час метаболічних перетворень молекули кисню [12]. У здорових плідних чоловіків продукція АФК дозрілими повноцінними сперматозоїдами може коливатись від $1 \cdot 10^4$ до $1,4 \cdot 10^5$ імп. \cdot хв⁻¹ у розрахунку на $20 \cdot 10^6$ клітин (за даними хемілюмінометрії) [91]. Крім того, у процесі передачі чоловічої ДНК партнеру жіночої статі сперматозоїдам необхідно пройти навколишнє середовище з високим вмістом кисню. Можливо, через це фізіологічні рівні АФК (зокрема, супероксидний аніон-радикал) дуже важливі для нормального перебігу запліднення внаслідок ініціації гіперактивації, капацитації та акросомальної реакції [10].

Внаслідок того, що сперматозоїди містять надзвичайно великі кількості поліненасичених жирних кислот – декозагексаєнової та ейкозапентаєнової, що знаходяться у клітині в етерифікованому вигляді у складі мембранних фосфоліпідів, головним чином фосфатидилетаноламіну [13], вони є легкодоступним субстратом для вільних радикалів (супероксид-радикала, гідроксильного радикала, оксиду азоту, пероксид-радикала, пероксинітрилу). Надмірна гене-

рація АФК та ініціація цими радикалами пероксидних процесів призводить до значного погіршення нормальних спермальних функцій, зменшення рухливості сперматозоїдів, пенетрації до ооцита, зниження здатності гамет до запліднення [98]. Зміни спектра фосфоліпідів (збільшення вмісту фосфатидилхоліну, лізофосфатидилхоліну, фосфатидилсерину та сфінгомієліну) виявлені у пацієнтів зі зниженою фертильністю [8]. Така заміна фракцій, що легко окиснюються, більш стійкими фракціями фосфоліпідів, на нашу думку, може відображати адаптацію плазматичної мембрани сперматозоїда до пошкоджувальної дії АФК, що, водночас, може негативно впливати на такі її властивості, як плинність, активність ферментних та транспортних систем.

Численні дослідження останніх років свідчать про наявність щільного зв'язку між утворенням кисневих радикалів і плідністю. Перш за все, усі дослідники відмічають більш значний рівень продукції АФК у чоловіків з репродуктивними проблемами у порівнянні зі здоровими донорами [2, 4, 6, 74, 93]. У безплідних чоловіків він може коливатись від $2,6 \cdot 10^5$ до $3,86 \cdot 10^7$ імп. \cdot хв⁻¹ у розрахунку на $20 \cdot 10^6$ клітин [91]. Показано, що ступінь продукування АФК негативно корелює з концентрацією сперматозоїдів, їх морфологічними характеристиками, рухливістю [14, 75], значенням мембранного потенціалу мітохондрій [92] і запліднювальною здатністю [94, 98].

Дослідженнями пошкоджувальної дії АФК на різних етапах дозрівання статевих клітин було з'ясовано, що найбільший рівень продукції АФК притаманний нерухомим сперматозоїдам із залишками резидуальної цитоплазми та аномальною морфологією голови і найменший – зрілим, рухливим сперматозоїдам [65]. При цьому показано, що інтенсивність утворення АФК сперматозоїдами, що не дозріли, обернено пропорційна числу рухливих сперматозоїдів.

Отримані результати дали підставу зробити висновок, що з погіршенням якості сперматозоїдів зростає їх здатність до генерації АФК [74].

Кисневі радикали можуть атакувати компоненти плазматичної мембрани сперміїв, чим змінюють їх плинність і функціональну активність, та порушувати цілісність ядерної ДНК. Вважають, що останнє у зрілих сперматозоїдах є результатом оксидативних ушкоджень АФК, які продукують недозрілі клітини під час транзиту в епідидимісі [65]. Характер ушкоджень генетичного матеріалу та явище мембранної транслокації фосфатидилсерину у сперматозоїдах неплідних чоловіків дозволяє думати, що кисневі радикали індують апоптоз в ушкоджених клітинах [15]. Про це ж свідчать і численні дослідження, які доводять, що розвиток апоптозу опосередкований і може прискорюватися високим рівнем АФК [12]. При цьому відмічається, що в умовах оксидативного стресу відбувається підвищення концентрації білків, що опосередковують апоптоз, таких, як цитохром *c* і каспази 9 та 3 [93].

Слід зазначити, що факт індукції апоптозу в умовах надмірної продукції АФК дуже важливий через схильність сперматогенних клітин до природного апоптозу. Цей процес стимулюється різними стресорними факторами і може бути причиною безпліддя, зумовленого загибеллю статевих клітин. Знайдена значна негативна кореляція між індексом апоптозу та концентрацією сперматозоїдів [16]. При порівнянні внеску дисфункції проліферації сперматогоніїв та апоптозу в розвиток гіпосперматогенезу було показано, що саме прискорений апоптоз може індукувати зменшення кількості сперматогоніїв [83]. Це може призводити не тільки до зменшення кількості сперматозоїдів, а й до їх функціональних дефектів, що вказує на те, що апоптоз може бути одним з факторів чоловічого безпліддя.

Небезпека надмірного утворення АФК існує і в тому, що токсичну дію можуть мати й проміжні продукти пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), наприклад ТБК-активні продукти, вміст яких негативно корелює зі зрілістю ядра та позитивно – з розміром частки сперматозоїдів з морфологічними аномаліями [54].

У нормальній ситуації антиокиснювальні механізми у тканинах репродуктивної системи стримують утворення цих АФК і захищають гамети та зрілі сперматозоїди від оксидативних ушкоджень. Пригнічення активності системи антиоксидантного захисту, яка регулює всі етапи вільнорадикальних реакцій у клітинах, сприяє інтенсифікації вільнорадикальних процесів [34]. За умов хронічних захворювань, старінні, контакті з токсинами або інфекціях/запаленнях урогенітального тракту ці клітинні антиокиснювальні механізми послабляються і створюється ситуація, яку називають оксидативним стресом. Таким чином, для підтримки відповідної репродуктивної здатності дуже важливий захисний механізм проти оксидативного стресу.

Супероксиддисмутаза (СОД) і глутатіонпероксидаза (ГП) - основні ферменти ферментативної ланки антиоксидантного захисту, які нейтралізують АФК в органах чоловічої репродуктивної системи. Різні дослідження демонструють наявність СОД, що синтезується та секретується на посттестикулярному рівні [100], як у сім'яній плазмі, так і в сперматозоїдах. Вважають, що існує прямий зв'язок між активністю СОД сперматозоїдів (але не плазми) та їх рухливістю [51], на користь чого свідчить і збереження рухливості сперміїв у разі додавання екзогенного ферменту, що також може відбуватися внаслідок гальмування підвищення концентрації токсичного маломолекулярного діальдегіду (МДА). Крім того, показано, що СОД відіграє антиапоптичну роль, що сприяє захисту тестикулярних клітин [53]. Але пізніші повідомлення не

підтверджують наявність кореляції між активністю ферменту та іншими показниками якості сперми та плідністю як *in vivo*, так і *in vitro* [45, 63, 99]. Тобто питання про значення цього ферменту для репродуктивної системи досі відкрите. Наприклад, СОД-дефіцитний генотип чоловічої репродуктивної системи (за цитозольною ізоформою Cu-Zn-СОД) невідомий, проте при високому рівні експресії мітохондріального ферменту трансгенні самці мишей безплідні, та механізм цього феномена не встановлений [69] Можна припустити, що це є наслідком зниження або відсутності необхідного помірному продукування АФК, яке потрібно для повноцінної матурації статевих клітин.

Каталаза сім'яної плазми також секретується на посттестикулярному рівні [100]. На відміну від печінки, де вона відіграє істотну роль у детоксикації значних концентрацій пероксиду водню, у чоловічому статевому тракті специфічне значення ферменту та детальні характеристики його активності в еякуляті практично не досліджені. Деякими авторами виявлено існування різниці між каталазною активністю при астенозооспермії та олігоастенозооспермії з гіперв'язкістю [78].

Виявлено позитивну кореляцію між активністю ГП в сім'яній плазмі та чоловічою фертильністю [38]. Це сімейство ізоферментів знешкоджує пероксид водню та органічні пероксиди, попереджує апоптоз, викликаний оксидативним стресом та іншими стимулами [50]. Показано, що активність ізоформи ГП, яка є специфічною до гідропероксидів фосfolіпідів, корелює з наявністю чоловічого безпліддя [31, 46]. Проте встановлено, що ГП-дефіцитні миші не є безплідними.

Головним джерелом антиоксидантних ферментів (за виключенням каталазоподібної активності) вважають передміхурову залозу [100]. У сперматозоїдах також відбувається експресія ГП і глутатіонредук-

тази (ГР) і виявляється активність цих ферментів [36], але їх значення для захисту протиліпідної пероксидації досить невелике.

Крім ферментів у захисті тканин репродуктивної системи велику роль відіграють низькомолекулярні речовини з антиоксидантними та антирадикальними властивостями, до яких відноситься й глутатіон. Він може знаходитися у відновленому чи окисненому стані при утворенні дисульфідного зв'язку між двома молекулами. Крім того, глутатіон є донором електронів для ГП, за участі відновленого глутатіону зберігається внутрішньоклітинний відновлений статус. Вміст відновленого глутатіону підтримується двома метаболічними шляхами: один - синтез *de novo*, який каталізується ферментами γ -глутамілцистеїнсинтазою і глутатіонсинтазою; другий - відновлення за допомогою ГР при використанні НАДФН як донора електронів. Уведення глутатіону поліпшує чоловічу плідність, бо сполуки, що збільшують вміст відновленого глутатіону можуть бути корисними у терапії чоловічої безплідності [47, 57]. Доведено, що вміст глутатіону в сперматозоїдах дуже малий [58], що може бути пов'язано з процесом конденсації хроматину.

Крім глутатіону, для покращення сперматогенезу корисно використання антиоксидантних речовин: вітаміну Е та аскорбінової кислоти [73]. Повідомляють, що така дія зумовлена зменшенням інтенсивності ПОЛ з підвищенням активності СОД і зниженням вмісту МДА [5, 88, 89].

Отже, продукція АФК є значною в репродуктивних тканинах і процес відтворення у ссавців повністю залежить від статусу редокс-системи.

Утворення АФК, яке є високим у репродуктивних тканинах, і виснаження резервів глутатіону в статевих клітинах є фізіологічним процесом, що супроводжує функціональне визрівання та капацитацію сперматозоїдів. За таких умов фізіологічно контрольованого оксидативного стресу відбу-

вається значне окиснення сульфгідрильних груп протейнів на останніх етапах сперматогенезу. Таким чином, фосфоліпід-гідропероксид-глутатіонпероксидаза, що каталізує ці реакції, залучена до регуляції процесів конденсації хроматину та упаковки середньої частини сперматозоїда, яка містить мітохондрії. Надмірне утворення АФК, яке перевищує можливості антиоксидантного захисту системи, може спричинити ушкодження на молекулярному рівні редокс-чутливих елементів ферментних систем. Але ці ушкодження можуть бути усунені за допомогою відповідних ферментів, за участі НАДФН як джерела електронів. Тобто збалансованість про- та антиоксидантного станів є однією з важливих умов забезпечення повноцінності репродуктивної системи [77].

Підтримання такого балансу та підвищення антиоксидантної ємності сім'яної плазми є однією зі стратегій у лікуванні патології чоловічої репродуктивної системи. Серед дієтичних добавок і препаратів найбільш ефективно підвищують якість сперми, кількість сперматозоїдів та їх рухливість низькомолекулярні антиоксиданти (вітаміни Е і С, коензим Q, глутатіон), кофактори антиоксидантних ферментів (Zn, Se), карнітин, аргінін, вітамін B₁₂ [1, 11, 35, 73, 79, 90]. Повідомляють, що комбінація цинку та фолієвої кислоти або антиоксиданта Astaxanthin, або ацилкарнітину (Proxeed) поліпшують якісні та функціональні властивості сперми. Екстракт з *Pinus maritima* bark (Pynogenol), який інгібує циклооксигеназні ферменти, зменшує продукування простагландинів і запалення, а екстракт з *Lepidium meyenia* покращує морфологію сперматозоїдів і сприяє збільшенню їх кількості. Лляна олія, яка містить а-лінолеву кислоту та лігнани, компенсує нестачу незамінних ω-3 жирних кислот і позитивно позначається на рухливості сперматозоїдів безплідних пацієнтів [24]. Доведено, що використання карнітину дає

найкращий результат у пацієнтів з найгіршими вихідними показниками за умов збереження нормальних мітохондріальних функцій сперматозоїдів [35, 56]. Слід також підкреслити, що використання антиоксидантної терапії потребує певної обережності внаслідок залежності ефекту від дози та негативних наслідків застосування значних доз вітаміну Е, що показано у досліджах на тваринах [28].

Безперечно, подальші дослідження розкриють більш глибокі механізми дозрівання сперматозоїдів на молекулярному рівні. Ми сподіваємося, що цей огляд буде корисним для більш глибокого розуміння патогенезу ідіопатичної гіпофертильності внаслідок порушення матурації статевих клітин.

N. A. Karpenko, V.A. Bondarenko, N.S. Kavok, A.Yu. Borikov

THE MATURATION OF THE SPERMATOZOA: EVENTS, CONSEQUENCES AND POSSIBLE WAYS OF CONTROL

Maturation of spermatozoa represents a formation of competent cell with capacity to fertilize. For the purpose of this review the morphological and functional changes of nucleus, plasmatic and nuclear membranes, tail region as well as the change of localisation and activity of enzymes have been described to illustrate the epididymis stage of maturation. Particular attention has been paid to the role of active oxygen species in the cell transformation, pro- and antioxidant balance during the maturation and to the systems controlling gametes control. The possible ways of influence on the some events of spermatozoa maturation are shown.

Institute of Problems of Endocrinological Pathology named after V.Danyilevskiy, AMS of Ukraine, Kharkiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Божедомов И.А., Николаева М.А., Теодорович О.В. Нормализация акросомальной реакции сперматозоидов в результате комплексной терапии карнитином, фруктозой и лимонной кислотой // Пробл. репродуктивности. – № 6. – Р. 49–51.
2. Бойко М.І., Свенсон Р.Д., Серебровська Т.В. та ін. Вільнорадикальні процеси в спермі чоловіків з неплідністю // Сексологія та андрологія. – 2000. – 5. – С. 66–69.

3. Гладкова А.И. Гормональная регуляция сперматогенеза // Биол. вестн. – 2001. – **5**, № 1–2. – С. 149–156.
4. Громенко Д.С., Фархутдинов Р.Р. Использование метода регистрации хемилюминесценции эякулята для определения патоспермии. – В кн.: Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и здоровье человека: Тр. 4-й науч.-практ. конф. с междунар. участием (Смоленск, 26-30 сент. 2005). – Смоленск, 2005. – С. 321–323.
5. Костев Ф.И., Чистяков Р.Б., Турчин Д.Ф. Антиоксидантная терапия нарушения репродуктивной функции у мужчин // Сексология та андрология. – 2002. – **6**. – С. 209–210.
6. Костев Ф.И., Чистяков Р.Б., Тучин Д.Ф. и др. Показатели про- и антиоксидантного статуса у пациентов с нарушениями репродуктивной системы // Там само. – С. 207–208.
7. Ленинджер А. Основы биохимии / Под ред. В. Энгельгардта, Я. Варшавского. – М.: Мир, 1985. – Т. 2. – 732 с.
8. Маргітїч В.М., Гула Н.М., Бойко М.Ш., Трифонова Ю.П. Ушкоджуюча дія вільних радикалів на ліпиди сперми за пониженого фертильного потенціалу // Андрология та сексология. – 2000. – **5**. – С. 69–72.
9. Пшеничникова Т.Я. Бесплодие в браке. – М.: Медицина, 1991. – 320 с.
10. Цебржинський О.І. Оксидативна активність у сперматозоїдах // Фізіол. журн. – 2000. – **46**, № 4. – С. 71–75.
11. Agarwal A., Said T.M. Carnitines and male infertility // *Reprod. Biomed. Online*. – 2004. – **8**, № 4. – P. 376–384.
12. Agarwal A., Saleh R.A., Bedaiwy M.A. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction // *Fertil. and Steril.* – 2003. – **79**. – P. 829–843.
13. Alvarez J.G., Storey B.T. Differential incorporation of fatty acids into and peroxidative loss of fatty acids from phospholipids of human spermatozoa // *Mol. Reprod. Dev.* – 1995. – **42**. – P. 334–346.
14. Aziz N., Saleh R.A., Sharma R.K. et al. Novel association between sperm reactive oxygen species production, sperm morphological defects, and the sperm deformity index // *Fertil. Steril.* – 2004. – **81**, № 2. – P. 349–354.
15. Barroso G., Morshedi M., Oehninger S. Analysis of DNA fragmentation, plasma membrane translocation of phosphatidylserine and oxidative stress in human spermatozoa // *Ibid.* – 2000. – **15**, № 6. – P. 1338–1344.
16. Barroso G., Morshedi M., Oehninger S. Apoptosis in human sperm: its correlation with semen quality and the presence of leukocytes // *Hum. Reprod.* – 2002. – **17**, № 10. – P. 2665–2672.
17. Barua M., Nath D., Majumder G.C. Alteration of goat sperm ecto-phosphoprotein phosphatase activity and its distribution on the sperm surface during epididymal maturation // *Reprod. Fertil. Dev.* – 2001. – **13**, № 5-6. – P. 443–450.
18. Bedford J.M. Maturation, transport and fate of spermatozoa in the epididymis. – In: *Handbook of physiology, section 7. Endocrinology, vol.5.* – Bethesda, MD, 1975. – P. 303–317.
19. Bedford J.M., Calvin H.I. The occurrence and possible functional significance of -S-S- crosslinks in sperm heads, with particular reference to eutherian mammals // *J. Exp. Zool.* – 1974. – **188**. – P. 137–158.
20. Bremer J. Carnitine - metabolism and functions // *Physiol. Rev.* – 1983. – **63**. – P. 1420–1480.
21. Chapman J.C., Michael S.D. Proposed mechanism for sperm chromatin condensation/decondensation in the male rat // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2003. – № 1. – P. 20.
22. Ciechanover A., Orian A., Schwartz A.L. Ubiquitin-mediated proteolysis: biological regulation via destruction // *BioEssays*. – 2000. – **22**. – P. 442–451.
23. Coelingh J.P., Monfoort C.H., Rozijn T.H. et al. The complete amino acid sequence of the basic nuclear protein of bull spermatozoa // *Biochem. and Biophys. Acta.* – 1972. – **285**. – P. 1–14.
24. Comhaire F.H., Mahmoud A. The role of food supplements in the treatment of the infertile man // *Reprod. Biomed. Online*. – 2003. – **7**, № 4. – P. 385–391.
25. Cooper T.G., Yeung C.H., Weinbauer G.F. Transport of carnitine by the epididymis of the cynomolgus macaque (*Macaca fascicularis*) // *J. Reprod. Fertil.* – 1986. – **77**. – P. 297–301.
26. Cornwall G.A., Tulsiani D.R.P., Orgebin-Crist M.C. Inhibition of the mouse sperm surface 6-D-mannosidase inhibits sperm-egg binding in vitro // *Biol. Reprod.* – 1991. – **44**. – P. 913–921.
27. Corrales J.J., Bugo R.M., Miralles J.M. et al. Abnormalities in sperm acid glycosidase from infertile men with idiopathic oligoasthenoteratozoospermia // *Fertil. and Steril.* – 2000. – **78**. – P. 470–478.
28. Danikowski S., Sallmann H.P., Halle I., Flachowsky G. Influence of high levels of vitamin E on semen parameters of cocks // *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)*. – 2002. – **86**, № 11–12. – P. 376–382.
29. Deng X., Czymmek K., Martin-DeLeon P.A. Biochemical maturation of Spam1 (PH-20) during epididymal transit of mouse sperm involves modifications of N-linked oligosaccharides // *Mol. Reprod. Dev.* – 1999. – **52**, № 2. – P. 196–206.
30. Dias A.J., Maia M.S., Retamal C.A., Lopez M.L. Identification and partial characterization of alpha-1,4-glucosidase activity in equine epididymal fluid // *Theriogenology*. – 2004. – **61**, № 7–8. – P. 1545–1558.
31. Foresta C., Flohe L., Garolla A. et al. Male fertility is linked to the selenoprotein phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase // *Biol. Reprod.* – 2002. – **67**. – P. 967–971.
32. Fouchecourt S., Metayer S., Locatelli A. et al. Stallion epididymal fluid proteome: qualitative and quantitative characterization; secretion, and dynamic changes of major proteins // *Ibid.* – 2000. – **62**. – P. 1790–1803.

33. Fraile B., Martin R., DeMiguel M.P. et al. Light and electron microscopic immunohistochemical localization of protein gene product 9.5 and ubiquitin immunoreactivities in the human epididymis and vas deferens // *Ibid.* – 1996 – **55**. – P. 291–297.
34. Fujii J., Iuchi Y., Matsuki S. et al. Cooperative function of antioxidant and redox systems against oxidative stress in male reproductive tissues // *Asian. J. Androl.* – 2003. – **5**. – P. 231–242.
35. Garolla A., Maiorino M., Roverato A. et al. Oral carnitine supplementation increases sperm motility in asthenozoospermic men with normal sperm phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase levels // *Fertil. and Steril.* – 2005. – **83**, № 2. – P. 355–361.
36. Garrido N., Meseguer M., Simon C. et al. Pro-oxidative and anti-oxidative imbalance in human semen and its relation with male fertility // *Asian. J. Androl.* – 2004. – № 6. – P. 59–65.
37. Gatti J.L., Druart X., Syntin P. et al. Biochemical characterization of two ram cauda epididymal maturation-dependent sperm glycoproteins // *Biol. Reprod.* – 2000. – **62**, № 4. – P. 950–958.
38. Giannattasio A., De Rosa M., Smeraglia R. et al. Glutathione peroxidase (GPX) activity in seminal plasma of healthy and infertile males // *J. Endocrinol. Invest.* – 2002. – **25**. – P. 983–986.
39. Golan R., Cooper T.G., Oschry Y. et al. Changes in chromatin condensation of human spermatozoa during epididymal transit as determined by flow cytometry // *Hum. Reprod.* – 1996. – **11**. – P. 1457–1462.
40. Goldberg R.B., Geremia R., Bruce W.R. Histone synthesis and replacement during spermatogenesis in the mouse // *Differentiation.* – 1977. – **7**. – P. 167–180.
41. Hall J.C., Hadley J., Doman T. Correlation between changes in rat sperm membrane lipids, protein, and the membrane physical state during epididymal maturation // *J. Androl.* – 1991 – **12**, № 1. – P. 76–87.
42. Hall J.C., Killian G.J. Changes in rat sperm membrane glycosidase activities and carbohydrate and protein contents associates with epididymal transit // *Biol. Reprod.* – 1987. – **36**. – P. 709–718.
43. Hammadeh M.E., Zeginiadev T., Rosenbaum P. et al. Predictive value of sperm chromatin condensation (aniline blue staining) in the assessment of male fertility // *Arch. Androl.* – 2001. – **46**. – P. 99–104.
44. Hermo L., Lacks D., Nature's ingenuity: bypassing the classical secretory route via apocrine secretion // *Mol. Reprod. Dev.* – 2002. – **63**, № 3. – P. 394–410.
45. Hsieh Y.Y., Sun Y.L., Chang C.C. et al. Superoxide dismutase activities of spermatozoa and seminal plasma are not correlated with male infertility // *J. Clin. Lab. Anal.* – 2002. – **16**. – P. 127–131.
46. Imai H., Suzuki K., Ishizaka K. et al. Failure of the expression of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase in the spermatozoa of human infertile males // *Biol. Reprod.* – 2001. – **64**. – P. 674–683.
47. Irvine D.S. Glutathione as a treatment for male infertility // *Rev. Reprod.* – 1996. – № 1. – P. 6–12.
48. Jeulin C., Dacheux J.L., Soufir J.C. Uptake and release of free L-carnitine by boar epididymal spermatozoa in vitro and subsequent acetylation rate // *J. Reprod. Fertil.* – 1994. – **100**, № 1. – P. 263–271.
49. Jones R. Sperm survival versus degradation in the mammalian epididymis: an hypothesis // *Biol. Reprod.* – 2004. – **71**, № 5. – P. 1405–1411.
50. Kayanoki Y., Fujii J., Islam K.N. et al. The protective role of glutathione peroxidase in apoptosis induced by reactive oxygen species // *J. Biochem.* – 1996. – **119**. – P. 817–822.
51. Kobayashi T., Miyazaki T., Natori M. Protective role of superoxide dismutase in human sperm motility: superoxide dismutase activity and lipid peroxide in human seminal plasma and spermatozoa // *Hum. Reprod.* – 1991. – № 6. – P. 987–991.
52. Krause W., Bohring C. Why do we determine alpha-glucosidase activity in human semen during infertility work-up? // *Andrologia.* – 1999. – **31**, № 5. – P. 289–294.
53. Kumagai A., Kodama H., Kumagai J. et al. Xanthine oxidase inhibitors suppress testicular germ cell apoptosis induced by experimental cryptorchidism // *Mol. Hum. Reprod.* – 2002. – № 8. – P. 118–123.
54. Laudat A., Lecourbe K., Palluel A.M. Lipid peroxidation, morphological stress pattern and nuclear maturity of spermatozoon // *Ann. Biol. Clin. (Paris).* – 1999. – **57**, № 1. – P. 51–56.
55. Legare C., Thabet M., Picard S., Sullivan R. Effect of vasectomy on P34H messenger ribonucleic acid expression along the human excurrent duct: a reflection on the function of the human epididymis // *Biol. Reprod.* – 2001. – **64**, № 2. – P. 720–727.
56. Lenzi A., Lombardo F., Sgro P. et al. Use of carnitine therapy in selected cases of male factor infertility: a double-blind crossover trial // *Fertil. and Steril.* – 2003. – **79**, № 2. – P. 292–300.
57. Lenzi A., Picardo M., Gandini L. et al. Glutathione treatment of dyspermia: effect on the lipoperoxidation process // *Hum. Reprod.* – 1994. – **9**. – P. 2044–2050.
58. Li T.K. The glutathione and thiol content of mammalian spermatozoa and seminal plasma // *Biol. Reprod.* – 1975. – № 12. – P. 641–646.
59. Loko F., Alihonou E., Gonfodji B. et al. Neutral alpha-glucosidase, a specific marker for epididymal secretion in semen pathology // *Contracept. Fertil. Sex.* – 1997. – **25**, № 12. – P. 939–941.
60. Mahi C.A., Yanagimachi R. Induction of nuclear decondensation of mammalian sperm in vitro // *J. Reprod. Fertil.* – 1975. – **44**. – P. 293–296.
61. Marchetti C., Obert G., Deffosez A. et al. Study of mitochondrial membrane potential, reactive oxygen species, DNA fragmentation and cell viability by flow cytometry in human sperm // *Hum. Reprod.* – 2002. – **17**. – P. 1257–1265.

62. Metayer S., Dacheux F., Dacheux J.L., Gatti J.L. Germinal angiotensin I-converting enzyme is totally shed from the rodent sperm membrane during epididymal maturation // *Biol. Reprod.* – 2002. – **67**, № 6. – P. 1763–1767.
63. Miesel R., Jedrzejczak P., Sanocka D. et al. Severe antioxidant deficiency in human semen samples with pathological spermogram parameters // *Andrologia.* – 1997. – **29**. – P. 77–83.
64. Okabe M., Ikawa M., Ashkenas J. Male infertility and the genetics of spermatogenesis // *Amer. J. Hum. Genet.* – 1998. – **62**. – P. 1274–1281.
65. Ollero M., Gil-Guzman E., Lopez M.C. et al. Characterization of subsets of human spermatozoa at different stages of maturation: implications in the diagnosis and treatment of male infertility // *Hum. Reprod.* – 2001. – **16**, № 9. – P. 1912–1921.
66. Pena P., Sanchez R., Vasquez B. et al. Effects of proteolytic enzymes and sexual abstinence on alpha-glucosidase biochemical quantification in human seminal plasma // *Rev. Med. Chil.* – 2001. – **129**, № 5. – P. 489–493.
67. Pixton K.L., Deek E.D., Flesch F.M. et al. Sperm proteom mapping of a patient who experienced failed fertilization at IVF reveals altered expression of at least 20 proteins compared with fertile donors: case report // *Hum.Reprod.* – 2004. – **19**, № 6. – P. 1438–1447.
68. Raczek S., Yeung C.H., Hasilik A. et al. Immunocytochemical localisation of some lysosomal hydrolases, their presence in luminal fluid and their directional secretion by human epididymal cells in culture // *Cell. Tissue Res.* – 1995. – **280**, № 2. – P. 415–425.
69. Raineri I., Carlson E.J., Gacayan R. et al. Strain-dependent high-level expression of a transgene for manganese superoxide dismutase is associated with growth retardation and decreased fertility // *Free Radic. Biol. Med.* – 2001. – **31**. – P. 1018–1030.
70. Rajeev S.K., Reddy K.V.R. Sperm membrane protein profiles of fertile and infertile men: identification and characterization of fertility-associated sperm antigen // *Hum. Reprod.* – 2004. – **19**, № 2. – P. 234–242.
71. Retamal C., Urzua J., Lorca C. et al. Changes in the plasma membrane proteins of stallion spermatozoa during maturation in the epididymis // *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.* – 2000. – **32**, № 2. – P. 229–239.
72. Rosenbusch B.E. Frequency and patterns of premature sperm chromosome condensation in oocytes failing to fertilize after intracytoplasmic sperm injection // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2000. – **17**. – P. 253–259.
73. Sahnoun Z., Ghozzi H., Hammami S. et al. Sperm oxidative stress and the effect of an oral vitamin E and selenium supplement on semen quality in infertile men // *Arch. Androl.* – 2003. – **49**, № 2. – P. 83–94.
74. Said T.M., Agarwal A., Sharma R.K. et al. Human sperm superoxide anion generation and correlation with semen quality in patients with male infertility // *Fertil. Steril.* – 2004. – **82**, № 4. – P. 871–877.
75. Schill W.B., Henkel R. Advancement in biochemical assays in andrology // *Asian. J. Androl.* – 1999. – № 1. – P. 45–51.
76. Sherins R.J. How is male infertility defined? // *Handbook of Andrology / Robaire, B., Pryor, J.L., Trilair J.M. (eds).* – The American Society of Andrology, Allen Press, Lawrence, KS, 1995. – P. 48–51.
77. Sheweita S.A., Tilmisany A.M., Al-Sawaf H. Mechanisms of male infertility: role of antioxidants // *Curr. Drug Metab.* – 2005. – **6**, № 5. – P. 495–501.
78. Siciliano L., Tarantino P., Longobardi F. et al. Impaired seminal antioxidant capacity in human semen with hyperviscosity or oligoasthenozoospermia // *J. Androl.* – 2001. – **22**. – P. 798–803.
79. Sinclair S. Male infertility: nutritional and environmental considerations // *Altern. Med. Rev.* – 2000. – **5**, № 1. – P. 28–38.
80. Steger K., Failing K., Klonisch T. et al. Round spermatids from infertile men exhibit decreased protamine-1 and -2 mRNA // *Hum. Reprod.* – 2001. – **16**, № 4. – P. 709–716.
81. Sutovsky P., Moreno R., Ramalho-Santos J. et al. A putative, ubiquitin-dependent mechanism for the recognition and elimination of defective spermatozoa in the mammalian epididymis // *J. Cell Science.* – 2001. – **114**. – P. 1665–1675.
82. Takada M., Yonezawa N., Yoshizawa M. et al. pH-Sensitive dissociation and association of v-N-acetylhexosaminidase from boar sperm acrosome // *Biol. Reprod.* – 1994. – **50**. – P. 860–868.
83. Takagi S., Itoh N., Kimura M. et al. Spermatogonial proliferation and apoptosis in hypospermatogenesis associated with nonobstructive azoospermia // *Fertil. Steril.* – 2001. – **76**, № 5. – P. 901–907.
84. Toshimori K. Biology of spermatozoa maturation: an overview with an introduction to this issue. // *Microsc. Res. Tech.* – 2003. – **61**, № 1. – P. 1–6.
85. Tremblay R.R., Chapdelaine P., Dube J.Y. Neutral alpha-glucosidase in human seminal plasma: molecular forms in varicocele and after vasectomy // *Fertil. and Steril.* – 1982. – **38**, № 3. – P. 344–348.
86. Tremblay R.R., Demers P., Besanson J., Lemay J.P. Alpha-1,4-glucosidase activity in ram seminal plasma is inversely related to serum testosterone // *Enzyme.* – 1990. – **43**, № 2. – P. 107–111.
87. Tulsiani D.R.P., Orgebin-Crist M.C., Skudlarek M.D. Role of luminal fluid glycosyltransferases and glucosidases in the modification of rat sperm plasma membrane glycoproteins during epididymal maturation // *J. Reprod. Fertil.* – 1998. – Suppl. 58. – P. 85–97.
88. Verma A., Kanwar K.C. Effect of vitamin E on human sperm motility and lipid peroxidation in vitro // *Asian. J. Androl.* – 1999. – **1**, № 3. – P. 151–154.
89. Verma A., Kanwar K.C. Human sperm motility and lipid peroxidation in different ascorbic acid concentrations in vitro analysis // *Andrologia.* – 1998. – **30**, № 6. – P. 325–329.
90. Vezina D., Mauffette F., Roberts K.D. et al. Selenium-

- vitamin E supplementation in infertile men. Effect on semen parameters and micronutrient levels and distribution // Biol. Trace Elem. Res. – 1996. – **53**. – P. 1–3.
91. Wang X., Sharma R.K., Gupta A. et al. Alterations in mitochondria membrane potential and oxidative stress in infertile men: a prospective observational study // Fertil. and Steril. – 2003. – **80**, Suppl 2. – P. 844–850.
 92. Wang X., Sharma R.K., Gupta A. et al. Alteration in mitochondria membrane potential and oxidative stress in infertile men: a prospective observational study // Ibid. – P. 531–535.
 93. Wang X., Sharma R.K., Sikka S.C. et al. Oxidative stress is associated with increased apoptosis leading to spermatozoa DNA damage in patients with male factor infertility // Ibid. – № 3. – P. 531–535.
 94. Whittington K., Harrison S.C., Williams K. M. et al. Reactive oxygen species (ROS) production and outcome of diagnostic tests of sperm function // Int. J. Androl. – 1999. – **22**, № 4. – P. 236–242.
 95. Yassa D.A., Idriss W.K., Atassi M.E., Rao S.K. The diagnostic value of seminal alpha-glucosidase enzyme index for sperm motility and fertilizing capacity // Saudi. Med. J. – 2001. – **22**, № 11. – P. 987–991.
 96. Yeung C.H., Sonnenberg-Reithmacher E., Cooper T.G. Infertile spermatozoa of c-ros tyrosine kinase receptor knockout mice show flagellar angulation and maturational defects in cell volume regulatory mechanisms // Biol. Reprod. – 1999. – **61**. – P. 1062–1069.
 97. Yoshinaga K., Tanii I., Oh-ka T., Toshimori K. Changes in distribution and molecular weight of the acrosomal protein acrin2(MC41) during guinea pig spermatogenesis and epididymal maturation // Cell Tissue Res. – 2000. – **303**. – P. 253–261.
 98. Zabludovsky N., Eltes F., Geva E. et al. Relationship between human sperm lipid peroxidation, comprehensive quality parameters and IVF outcome // Andrologia. – 1999. – **31**, № 2. – P. 91–98.
 99. Zini A., Lamirande E., Gagnon C. Reactive oxygen species in semen of infertile patients: levels of superoxide dismutase- and catalase-like activities in seminal plasma and spermatozoa // Int. J. Androl. – 1993. – **16**. – P. 183–188.
 100. Zini A., Fischer M.A., Mak V. et al. Catalase-like and superoxide dismutase-like activities in human seminal plasma // Urol. Res. – 2002. – **30**. – P. 321–323.
 101. Zopfggen A., Priem F., Sudhoff F. et al. Relationship between semen quality and the seminal plasma components carnitine, alpha-glucosidase, fructose, citrate and granulocyte elastase in infertile men compared with a normal population // Hum. Reprod. – 2000. – **15**, № 4. – P. 840–845.

*Ин-т проблем ендокрин. патології ім. В.Я. Данилевського
АМН України, Харків*

*Матеріал надійшов до
редакції 04.05.2006*