



УДК 612.616.2:616.697

Активність Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази сперматозоїдів при чоловічому неплідді у поєднанні з ревматоїдним артритом

О. В. МЕЛЬНИК, М. З. ВОРОБЕЦЬ, З. Я. ФЕДОРОВИЧ, Р. В. ФАФУЛА,
 Д. З. ВОРОБЕЦЬ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
 Львів, Україна

E-mail: viruszet8@gmail.com

Резюме. Чоловічий фактор непліддя становить майже 50% усіх неплідних пар. Важливим чинником, який впливає на якість сперми та відіграє суттєву роль у репродуктивному процесі чоловіків, є іони кальцію (Ca^{2+}). Ca^{2+} , як внутрішньоклітинний та універсальний вторинний месенджер, має вирішальне значення для максимальної рухливості сперматозоїдів, їх гіперактивації, акросомної реакції, хемотаксису та процесів запліднення. **Метою** роботи було вивчення активностей Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФаз сперматозоїдів інфертильних чоловіків при ідіопатичному неплідді та супутній аутоімунній патології суглобів. Діагностика неплідності проводилася на амбулаторному етапі згідно зі стандартами Європейської асоціації урологів та ВООЗ. 53 чоловікам (група 1) встановлений діагноз «ідіопатичне непліддя», обумовлене олігоастенозооспермією. Водночас у 27 неплідних чоловіків, обстежених у ревматологічному відділенні, встановлений діагноз «ревматоїдний артрит» (група 2). Виявлено, що активність тапсигаргін-резистентної компоненти Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази сперматозоїдів здорових чоловіків становить $(9,2 \pm 1,1)$ нмоль $\text{P}_i/\text{хв}$ на 1 мг протеїну. У пацієнтів з ідіопатичним непліддям, обумовленим олігоастенозооспермією, тапсигаргін-резистентна компонента Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази була нижчою в 2,2 раза порівняно з нормозооспермічними зразками ($p < 0,001$). У неплідних чоловіків з аутоімунною патологією суглобів Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФаза активність сперматозоїдів статистично достовірно відрізнялась від контрольної групи та становила $(3,8 \pm 0,4)$ нмоль $\text{P}_i/\text{хв}$ на 1 мг протеїну, тобто знижувалась у 2,4 раза щодо контрольних значень ($p < 0,001$). У чоловіків із нормозооспермією рухливість сперматозоїдів становить $(50,7 \pm 5,2)$ %, при ідіопатичній неплідності – $(31,4 \pm 5,6)$ %, а при неплідді у поєднанні з аутоімунною патологією суглобів – $(42,2 \pm 5,2)$ %. Встановлено прямий вірогідний кореляційний зв'язок між активністю тапсигаргін-резистентної компоненти Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази сперматозоїдів та рухливістю сперматозоїдів ($r = 0,55$; $p < 0,05$).

Ключові слова: неплідність чоловіків, сперматозоїди, Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФаза, ревматоїдний артрит.

Ca²⁺,Mg²⁺-ATPase activity of spermatozoa in male infertility in combination with rheumatoid arthritis

O. V. MELNYK, M. Z. VOROBETS, Z. YA. FEDOROVYCH, R. V. FAFULA,
D. Z. VOROBETS

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

E-mail: viruszet8@gmail.com

Abstract. The male infertility factor accounts for almost 50% of all infertile couples. Calcium ions (Ca²⁺) are an important factor that affects the sperm quality and plays a significant role in the reproductive process of men. Ca²⁺, as an intracellular and universal second messenger, is crucial for maximal sperm motility, capacitation, hyperactivation, acrosome reaction, chemotaxis, and fertilization processes. The aim of present work was to study the Ca²⁺,Mg²⁺-ATPase activity of spermatozoa of infertile men with idiopathic infertility and concomitant autoimmune joint pathology. Diagnosis of infertility was carried out at the outpatient stage in accordance with the standards of the European Association of Urologists and WHO. 53 men (group 1) were diagnosed with «idiopathic infertility» caused by oligoasthenozoospermia. At the same time, 27 infertile men examined in the rheumatology department were diagnosed with «rheumatoid arthritis» (group 2). It was found that the thapsigargin-resistant Ca²⁺,Mg²⁺-ATPase activity of spermatozoa of healthy men was (9.2±1.1) nmol Pi/min per mg of protein. In patients with idiopathic infertility caused by oligoasthenozoospermia, the Ca²⁺,Mg²⁺-ATPase activity was 2.2 times lower compared to normozoospermic samples ($p<0.001$). In infertile men with autoimmune pathology of the joints, Ca²⁺, Mg²⁺-ATPase activity of spermatozoa was decreased 2.4 times compared to the control values ($p<0.001$) and equalled to (3.8±0.4) nmol Pi/min per 1 mg of protein. In men with normozoospermia, sperm motility was (50.7±5.2)%, in idiopathic infertility – (31.4±5.6) %, and in patients with infertility in combination with autoimmune pathology of the joints – (42.2±5.2)%. A direct significant correlation was established between the thapsigargin-resistant Ca²⁺, Mg²⁺-ATPase activity of spermatozoa and sperm motility ($r= 0.55$; $p<0.05$).

Key words: male infertility, spermatozoa, Ca²⁺,Mg²⁺-ATPase, rheumatoid arthritis.

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) та Європейської асоціації урологів, непліддя характеризується біологічною нездатністю жінки завагітніти протягом принаймні 12 місяців незахищеного статевого акту [1, 2]. Підраховано, що приблизно 15% пар стикаються з певною формою непліддя [3, 4], і серед них чоловічий фактор непліддя становить майже 50% [1, 5].

Важливим чинником, який впливає на якість сперми та відіграє суттєву роль у репродуктивному процесі чоловіків, є іони кальцію (Ca²⁺) [6–9]. Ca²⁺ є одним з найбільш детально вивчених елементів сперми ссавців [10]. Відомо, що Ca²⁺, як внутрішньоклітинний та універсальний вторинний месенджер, має вирішальне значення для максимальної рухливості сперматозоїдів, їх гіперактивації, акросомної реакції, хемотаксису та процесу запліднення [6, 9, 11]. Сперматозоїди не здатні запліднити яйцеклітину до їх дозрівання у жіночих репродуктивних шляхах. Процес запліднення та дозрівання чітко модулюється низкою сигнальних каскадів і Ca²⁺, який відіграє важливу динамічну роль у цьому процесі як внутрішньоклітинний вторинний месенджер. Отже, ймовірно, існує тісний взаємозв'язок між Ca²⁺, функцією сперматозоїдів та результатом фертильності. Розуміння процесів, за яких дефіцит чи надлишок кальцію може впливати на функцію сперматозоїдів

і фертильність, є надзвичайно важливим, оскільки механізми впливу Ca^{2+} на чоловіче непліддя недостатньо з'ясовані.

Сперматогенез – це процес, у якому диплоїдні сперматогоніальні стовбурові клітини піддаються мейозу і продукують диференційовані гаплоїдні сперматозоїди [12]. У низці досліджень зазначено, що Ca^{2+} відіграє важливу роль у регуляції процесів сперматогенезу та запліднення, а також у диференціації, проліферації та загибелі клітин – сперматогоній і сперматоцитів [12, 13]. Ультраструктурний розподіл внутрішньоклітинного Ca^{2+} проілюстровано в різних статевих клітинах та на різних стадіях розвитку гаметогенезу в яєчках щурів [13]. Цікаво, що концентрація Ca^{2+} значно зростала від ранніх до пізніх стадій сперматогенезу (сперматогонії > сперматоцити > сперматиди > спермії) і це, можливо, відображає зміни його гомеостазу та специфічної функції в процесі формування сперматозоїдів [12–14]. Схожі результати спостерігалися в сім'яносних канальцях щурів, де показано значне зростання Ca^{2+} від сперматогоній до ранніх сперматид [15]. Останні дослідження підтвердили, що накопичення кальцію спостерігаються в клітинах Сертолі та Лейдіга [13]. Цікаво, що Ca^{2+} -зв'язуючого білка кальмодуліна особливо багато в яєчках, що свідчить про важливість Ca^{2+} для нормального сперматогенезу [16]. Важливу роль у підтриманні внутрішньоклітинного гомеостазу Ca^{2+} відіграють $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази [7, 17, 18]. Ізоформа 4 $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази плазматичної мембрани (PMCA4) є найбільш поширеною ізоформою у сперматозоїдах та локалізована в основній частині джгутика сперматозоїда. Вестерн-блот аналіз та Нозерн-блот аналіз показав, що PMCA4 є основною ізоформою Ca^{2+} -АТФази, на яку припадає понад 90% протеїну PMCA [19].

Мета роботи – вивчення активності $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази плазматичної мембрани сперматозоїдів чоловіків при ідіопатичному неплідді та супутній аутоімунній патології суглобів.

Матеріали та методи дослідження. Дослідження чоловіків на непліддя проводилось у клініці урології КНП ЛОР «Львівська обласна клінічна лікарня». 53 чоловікам віком від 22 до 45 років, середній вік $32,7 \pm 4,3$ роки (група 1), був встановлений діагноз «ідіопатичне непліддя» обумовлене олігоастенозооспермією. Ці пацієнти не проходили медикаментозного чи іншого лікування, мали регулярні статеві контакти зі своїми партнерками, однак ті не могли завагітніти протягом 12 місяців. Були відсутні варикоцеле, гіпогонадізм, лейкоцитоспермія. В анамнезі були виключені куріння, алкоголь, тривалі хвороби. Детальний анамнез було зроблено і на чоловіка, і на дружину. Іншу дослідну групу складала неплідні чоловіки, які водночас проходили обстеження в ревматологічному відділенні Львівської обласної клінічної лікарні щодо ревматоїдного артриту, середній вік $36,5 \pm 5,5$ роки (група 2, $n = 27$).

До групи контролю входили фертильні чоловіки із нормозооспермією, такого ж віку (група 3, $n = 46$). Діагностика неплідності проводилася на амбулаторному етапі згідно зі стандартами Європейської асоціації урологів [1] та ВООЗ [20]. Усі дослідження проводилися з належного дозволу Комісії з питань біоетичної експертизи Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького та письмової згоди пацієнтів.

$\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФазну активність сперматозоїдів визначали, реєструючи процес гідролізу АТФ за накопиченням P_i . Визначення сумарної $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФазної активності сперматозоїдів проводили при 37 С в інкубаційному середовищі (об'єм – 1 мл) наступного складу (мМ): 150 KCl, 0,05 CaCl_2 , 5 MgCl_2 , 5 АТФ, 1 NaN_3 (інгібітор мітохондріальної АТФази), 1 убаїн (інгібітор Na^+, K^+ -АТФази), 20 Нерес-Трис-буфер (рН = 7,4). Для розділення сумарної $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФазної активності на компоненти до стандартного Ca^{2+} - та Mg^{2+} -вмісного середовища інкубації додавали інгібітор $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази внутрішніх Ca^{2+} -депо – тапсигаргін (0,1 мкМ) [21].

Результати подані як середнє арифметичне значення (M) \pm стандартна похибка (m). Для перевірки показників на нормальний розподіл використо-

ували критерій W Шапіро-Уїлка («Statistica 6.0 for Windows»). Достовірність змін встановлювали за *t*-критерієм Стьюдента. Коефіцієнт кореляції (*r*) розраховували методом Пірсона за допомогою прикладного програмного комплексу Microsoft Office Excel.

Результати дослідження та їх обговорення. Активність тапсигаргін-резистентної компоненти $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази (відповідає $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази плазматичної мембрани) сперматозоїдів здорових чоловіків (нормозооспермія) становила $(9,2 \pm 1,1)$ нмоль $\text{P}_i/\text{хв}$ на 1 мг протеїну (рис. 1). У пацієнтів з ідіопатичним непліддям, обумовленим олігоастенозооспермією, тапсигаргін-резистентна компонента $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази була нижчою в 2,2 раза порівняно з нормозооспермічними зразками і становила $(4,2 \pm 0,5)$ нмоль $\text{P}_i/\text{хв}$ на 1 мг протеїну ($p < 0,001$). У неплідних чоловіків з аутоімунною патологією суглобів $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФаза активність сперматозоїдів статистично достовірно відрізнялась від контрольної групи та становила $(3,8 \pm 0,4)$ нмоль $\text{P}_i/\text{хв}$ на 1 мг протеїну, тобто знижувалась в 2,4 раза щодо контрольних значень ($p < 0,001$).

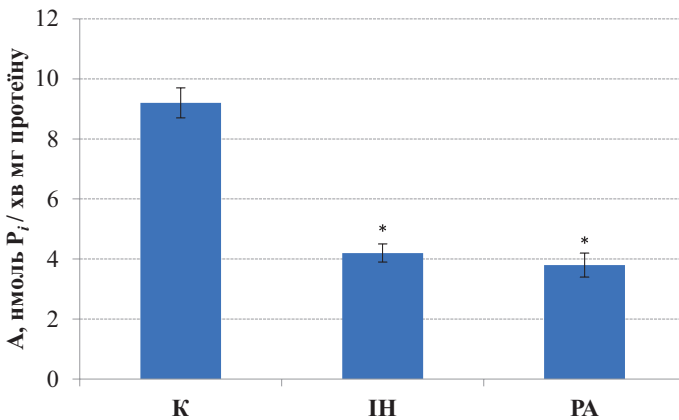


Рис. 1. Активність тапсигаргін-резистентної $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази сперматозоїдів інфертильних чоловіків з ідіопатичним непліддям (ІН) та аутоімунною патологією суглобів (РА), $M \pm m$, К – нормозооспермія.

Примітка. * $p < 0,001$ щодо величин в осіб групи контролю.

Пригнічення активності $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази плазматичної мембрани сперматозоїдів мало більш виражений характер за наявності супутньої аутоімунної патології. Відомо, що інгібування $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФазних активностей призводить до сповільнення відтоку Ca^{2+} з цитозоля і перевантаження його йонами кальцію, які у високих концентраціях є шкідливими для клітини.

На рис. 2 наведені дані щодо рухливості сперматозоїдів у різних досліджуваних групах. У чоловіків із нормозооспермією вона становить $(50,7 \pm 5,2)\%$, при ідіопатичній неплідності – $(31,4 \pm 5,6)\%$, а в неплідних чоловіків з аутоімунною патологією суглобів – $(42,2 \pm 5,2)\%$.

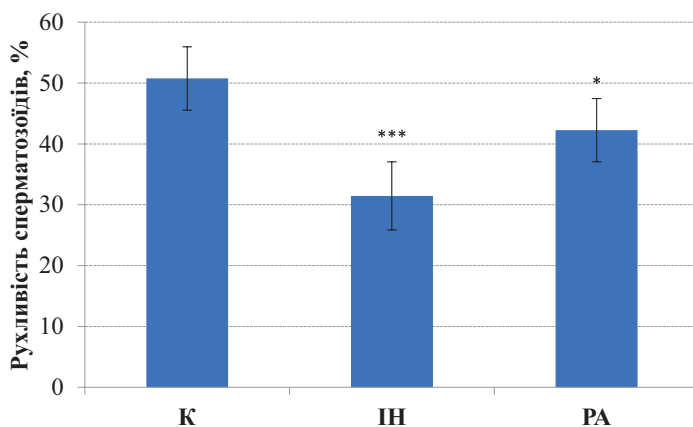


Рис. 2. Рухливість сперматозоїдів чоловіків при нормозооспермії (К), ідіопатичній неплідності (ІН) та неплідності, поєднаний з аутоімунною патологією суглобів (РА), $M \pm m$.

Примітка. * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ щодо величин в осіб групи контролю.

Враховуючи те, що $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФаза є основною системою, що відповідає за енергозалежне виведення йонів кальцію з цитоплазми сперматозоїдів та відіграє важливу роль у підтриманні їх рухливості, проведено кореляційний аналіз між активністю тапсигаргін-резистентної компоненти $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази сперматозоїдів та їх рухливістю (рис. 3). Встановлено прямий виражений кореляційний зв'язок між активністю тапсигаргін-резистентної компоненти $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази сперматозоїдів та рухливістю сперматозоїдів ($r = 0,55$; $p < 0,05$).

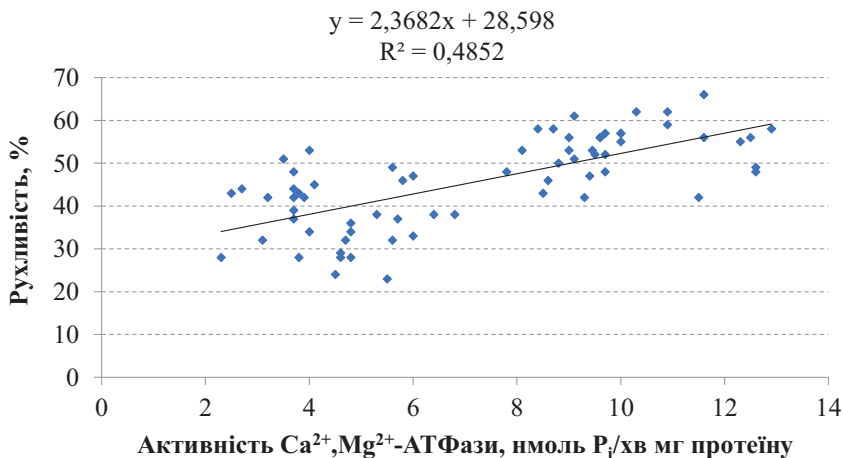


Рис. 3. Кореляційний зв'язок між активністю тапсигаргін-резистентної компоненти $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази сперматозоїдів та їх рухливістю.

Відомо, що концентрація іонів кальцію у цитоплазмі зазвичай утримується на дуже низькому рівні, приблизно 10^{-7} М, тоді як у позаклітинному середовищі становить близько 10^{-3} М [22, 23]. Також усередині клітини є компартменти зберігання Ca^{2+} , які депонують Ca^{2+} у мілімолярному діапазоні його концентрацій. Отож, існує величезний, 10^4 -кратний, градієнт концентрації Ca^{2+} на поверхні плазматичної мембрани, так і мембранах внутрішньоклітинних депо. Деякі види стимуляції клітини спричиняють потік Ca^{2+} за концентраційним градієнтом або з позаклітинного середовища, або з внутрішньоклітинного депо в цитозоль, зазвичай шляхом відкриття Ca^{2+} -каналів. Мобілізований таким чином Ca^{2+} спричиняє реакцію клітини

на подразник. Коли дія подразника припиняється, Ca^{2+} екструдується назад у позаклітинний простір або реакумулюється у внутрішньоклітинні депо, щоб припинити відповідь. У цьому процесі потрібний активний транспорт, який здійснюється за рахунок $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФаз, оскільки Ca^{2+} повинен транспортуватися проти великого градієнта електрохімічного потенціалу. Отже, Ca^{2+} відіграє роль вторинного месенджера, який у відповідь на подразник, надісланий першим месенджером ззовні, передає інформацію внутрішньоклітинним системам.

Існують докази того, що зміни концентрації Ca^{2+} і в сперматозоїдах, і в сім'яній плазмі можуть впливати на функцію та рухливість сперматозоїдів. Сперматозоїди модулюють свій рух у відповідь на зміну внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} залежно від рН середовища. Низка досліджень продемонстрували зв'язок між Ca^{2+} та рухливістю сперматозоїдів [24]. Враховуючи біохімічні потреби кальцію та АТФ для руху джгутиків, зв'язок між Ca^{2+} та рухливістю сперматозоїдів виглядає логічним. Оскільки концентрація кальцію в передміхуровій залозі, насінних бульбашках та придатку яєчка дуже висока, численні дослідження припускають зв'язок між концентрацією Ca^{2+} та чоловічим непліддям [6, 8–11].

Виявлений нами кореляційний зв'язок між активністю тапсигаргін-резистентної компоненти $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази сперматозоїдів та рухливістю сперматозоїдів узгоджується з даними інших дослідників, які також встановили позитивний зв'язок між активністю Na^+/K^+ - та Ca^{2+} -АТФазних активностей і рухливістю сперматозоїдів нормо- та астенозооспермічних чоловіків [25]. Інші дослідники визначили негативний кореляційний зв'язок між вмістом йонів Ca^{2+} у сперматозоїдах та рухливістю сперматозоїдів. Вищенаведені результати узгоджуються з отриманими нами даними та вказують на переважання цитозольним кальцієм, викликаним пригніченням систем активного транспорту при зниженні рухливості сперматозоїдів [26].

Беручи до уваги регуляторну функцію Ca^{2+} в стероїдогенезі, рухливості сперматозоїдів, хемотаксисі, капацитації та акросомних реакціях у жіночих репродуктивних шляхах, порушення гомеостазу Ca^{2+} може бути пов'язаним зі зниженням швидкості запліднення та чоловічим непліддям. Тому в спермі чоловіків з ідіопатичним непліддям потрібно контролювати рівень Ca^{2+} .

Отже, зміни в активності різних Ca^{2+} -каналів і Ca^{2+} -помп можуть спричинити порушення гомеостазу під час різних стадій розвитку сперматогенезу [27]. Функціонування $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФаз є важливим для підтримання низької концентрації Ca^{2+} у статевих клітинах; інакше будь-яке тривале підвищення рівня вільного Ca^{2+} є токсичним для клітинної функції, враховуючи конденсацію хроматину, пошкодження мітохондрій та активацію деградаційних ензимів, що зрештою може призвести до загибелі клітини [28].

Висновки. Зниження активності $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФаз сперматозоїдів, що, ймовірно, призводить до переважання клітин Ca^{2+} , характерно і для неплідних чоловіків з ідіопатичною формою непліддя, і для неплідних чоловіків у поєднанні з ревматоїдним артритом. Зміни ензиматичної активності мають більш виражений характер у неплідних чоловіків з поєднаною аутоімунною патологією суглобів. Встановлено прямий кореляційний зв'язок між активністю тапсигаргін-резистентної компоненти $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази сперматозоїдів і рухливістю сперматозоїдів.

Автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів та будь-якого фінансування.

ПОСИЛАННЯ

1. *Salonia A, Bettocchi C, Boeri L, Capogrosso P, Carvalho J, Cilesiz NC, et al.* European Association of Urology Guidelines on Sexual and Reproductive Health-2021 Update: Male sexual dysfunction. *Eur Urol.* 2021;80(3):333-57. DOI: 10.1016/j.eururo.2021.06.007.

2. *La Vignera S, Vicari E, Condorelli RA, D'Agata R, Calogero AE.* Male accessory gland infection and sperm parameters (review). *Int J Androl.* 2011;34(5):e330–e347. DOI: 10.1111/j.1365-2605.2011.01200.x.
3. *Thoma ME, McLain AC, Louis JF, King RB, Trumble AC, Sundaram R, et al.* Prevalence of infertility in the United States as estimated by the current duration approach and a traditional constructed approach. *Fertil Steril.* 2013;99(5):1324–1331. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2012.11.037.
4. *De Braekeleer M, Dao TN.* Cytogenetic studies in male infertility: a review. *Hum Reprod.* 1991;6(2):245–250.
5. *Kovac JR, Pastuszak AW, Lamb DJ.* The use of genomics, proteomics, and metabolomics in identifying biomarkers of male infertility. *Fertil Steril.* 2013;99(4):998–1007. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2013.01.111.
6. *Abdulsamad HMR, Murtaza ZF, AlMuhairi HM, Bafleh WS, AlMansoori SA, et al.* The therapeutic and diagnostic potential of phospholipase C Zeta, oocyte activation, and calcium in treating human infertility. *Pharmaceuticals (Basel).* 2023;16(3):441. DOI: 10.3390/ph16030441
7. *Fafula RV, Meskalo OI, Lychkovskyy EI, Vorobets ZD.* The ATP-induced changes in $[Ca^{2+}]_i$ in spermatozoa of infertile men with oligo- and asthenozoospermia. *Studia Biologica.* 2018;12(3-4):47–54. DOI: 10.30970/sbi.1203.580
8. *Harchegani AB, Irandoost A, Mirnamniha M, Rahmani H, Tahmasbpour E, Shahriary A.* Possible mechanisms for the effects of calcium deficiency on male infertility. *Int J Fertil Steril.* 2019;12(4):267–272. DOI: 10.22074/ijfs.2019.5420
9. *Kashir J, Nomikos M, Lai FA.* Phospholipase C zeta and calcium oscillations at fertilisation: The evidence, applications, and further questions. *Adv Biol Regul.* 2018;67:148–162. DOI: 10.1016/j.jbior.2017.10.012
10. *Blomberg JM, Gerner LJ, Andersson AM, Petersen JH, Nordkap L, Bang AK, et al.* Vitamin D deficiency and low ionized Ca are linked with semen quality and sex steroid levels in infertile men. *Hum Reprod.* 2016;31(8):1875–1885. DOI: 10.1093/humrep/dew152.
11. *Valsa J, Skandhan KP, Khan PS, Avni KP, Amith S, Gondalia M.* Ca and magnesium in male reproductive system and in its secretion. I. Level in normal human semen, seminal plasma and spermatozoa. *Urologia.* 2015;82(3):174–178. DOI: 10.5301/urologia.5000039.
12. *Golpour A, Pšenička M, Niksirat H.* Subcellular distribution of Ca during spermatogenesis of zebrafish, *Danio rerio*. *J Morphol.* 2017;278(8):1149–1159. DOI: 10.1002/jmor.20701.
13. *Golpour A, Psenicka M, Niksirat H.* Ultrastructural localization of intracellular Ca during spermatogenesis of sterlet (*Acipenser ruthenus*). *Microsc Microanal.* 2016;22(6):1155–1161. DOI: 10.1017/S1431927616011958
14. *Geybels MS, McCloskey KD, Mills IG, Stanford JL.* Ca channel blocker use and risk of prostate cancer by TMPRSS2:ERG gene fusion status. *Prostate.* 2017;77(3):282–290. DOI: 10.1002/pros.23267
15. *Santi CM, Martínez-López P, de la Vega-Beltrán JL, Butler A, Alisio A, Darszon A, et al.* The SLO3 sperm-specific potassium channel plays a vital role in male fertility. *FEBS Lett.* 2010;584(5):1041–1046. DOI: 10.1016/j.febslet.2010.02.005
16. *Abdou HS, Villeneuve G, Tremblay JJ.* The Ca signaling pathway regulates leydig cell steroidogenesis through a transcriptional cascade involving the nuclear receptor NR4A1 and the steroidogenic acute regulatory protein. *Endocrinology.* 2013;154(1):511–520. DOI: 10.1210/en.2012-1767
17. *Barylyak, RV, Iefremova UP, Onufrovych OK, Melnyk OV, Vorobets DZ, Vorobets ZD.* Characterization of Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATPase of blood lymphocytes in women with ovarian cancer. *Regulatory Mechanisms in Biosystems.* 2018;9(1):85–89. DOI:10.15421/021812
18. *Boczek T, Sobolczyk M, Mackiewicz J, Lisek MB, Feng Guo F, Zylinska L.* Crosstalk among calcium ATPases: PMCA, SERCA and SPCA in mental diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(6):2785. DOI: 10.3390/ijms22062785
19. *Okunade GW, Miller ML, Pyne GJ, Sutliff RL, O'Connor KT, Neumann JC, Andringa A, Miller DA, Prasad V, Doetschman T, Paul RJ, Shull GE.* Targeted ablation of plasma membrane Ca^{2+} ATPase (PMCA) 1 and 4 indicates a major housekeeping function for Pmca1 and a critical role in hyperactivated sperm motility and male fertility for Pmca4. *J Biol Chem.* 2004 Aug; 279(32):33742–50
20. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. Sixth edition, 2021. 292 p. Available at: http://www.ivfcpd.com/PDF/WHO_6th_edition.pdf
21. *Veklich TO, Mazur IuIu, Kosterin SO.* Mg^{2+} , ATP-depenent plasma membrane calcium pump of smooth muscle cells. II. Regulation of acrivity. *Ukr Biochem J.* 2015;87(2):5–25. DOI: 10.15407/ubj87.02.005
22. *Endo M.* Calcium ion as a second messenger with special reference to excitation-contraction coupling. *J Pharmacol Sci.* 2006;100:519–524. DOI: 10.1254/jphs.CPJ06004X
23. *Hamroun A, Pekar J-D, Lionet A, Ghulam A, Maboudou P, et al.* Ionized calcium: analytical challenges and clinical relevance. *Journal of Laboratory and Precision Medicine.* 2020;12:1–16. DOI: 10.21037/jlpm-20-60
24. *Bassey IE, Essien OE, Udoh AE, Imo IU, Effiong IO.* Seminal plasma, selenium, magnesium and zinc levels in infertile men. *J Med Sci.* 2013;13:483–487. DOI: 10.3923/jms.2013.483.487.

25. Vignini A, Buldreghini E, Nanetti L, Amoroso S, Boscaro M, Ricciardo-Lamonica G, Mazzanti L, Balercia G. Free thiols in human spermatozoa: are Na⁺/K⁺-ATPase, Ca²⁺-ATPase activities involved in sperm motility through peroxynitrite formation? *Reprod Biomed Online*. 2009;18(1):132-140. DOI: 10.1016/s1472-6483(10)60435-x

26. Schmid TE, Grant PG, Marchetti F, Weldon RH, Eskenazi B, Wyrobek AJ. Elemental composition of human semen is associated with motility and genomic sperm defects among older men. *Hum Reprod*. 2013;28(1):274-282. DOI: 10.1093/humrep/des321

27. Chiarella P, Puglisi R, Sorrentino V, Boitani C, Stefanini M. Ryanodine receptors are expressed and functionally active in mouse spermatogenic cells and their inhibition interferes with spermatogonial differentiation. *J Cell Sci*. 2004;117(18):4127–4134. DOI: 10.1242/jcs.01283

28. Lizama C, Alfaro I, Reyes JG, Moreno RD. Up-regulation of CD95 (Apo-1/Fas) is associated with spermatocyte apoptosis during the first round of spermatogenesis in the rat. *Apoptosis*. 2007;12(3):499–512. DOI: 10.1007/s10495-006-0012-1

Стаття надійшла до редколегії 17.04.2023