

Показатели спермограммы при полизооспермии

С.Ш. Хаят, М.В. Андреева, Л.В. Шилейко, Т.В. Остроумова, М.И. Штаут,
Т.М. Сорокина, В.Б. Черных, Л.Ф. Курило

Лаборатория генетики нарушений репродукции ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»;
Россия, 115478, Москва, ул. Москворечье, 1

Контакты: Любовь Федоровна Курило kurilo@med-gen.ru

Полизооспермия – состояние, при котором наблюдается чрезвычайно высокая (≥ 250 млн/мл) концентрация сперматозоидов при нормальном объеме эякулята ($\geq 1,5$ мл). В целях изучения частоты распространения и особенностей сперматогенеза при полизооспермии мы провели анализ более 14 тыс. образцов эякулята мужчин, обратившихся в лабораторию генетики нарушений репродукции ФГБНУ «Медико-генетический научный центр» в 2007–2012 гг. в связи с бесплодием в браке и/или заболеваниями половой системы. В данное исследование включены только результаты семиологических исследований пациентов с полизооспермией. Полизооспермия (концентрация сперматозоидов ≥ 250 млн/мл при объеме эякулята $\geq 1,5$ мл) была выявлена в 191 (1,3 %) образце эякулята. В 15 % образцов эякулята от пациентов с полизооспермией наблюдались нормальные показатели подвижности и морфологии сперматозоидов (нормозооспермия). В остальных 85 % образцов была выявлена патозооспермия: астенозооспермия (77 %) и астенотератозооспермия (8 %). Средняя доля живых сперматозоидов составила $90,09 \pm 10,02$ %, морфологически нормальных – $14,93 \pm 8,51$ %, а поступательно-подвижных сперматозоидов – $17,72 \pm 11,81$ %. Средняя концентрация сперматозоидов в эякуляте в обследованной группе пациентов с полизооспермией составила $313,29 \pm 64,78$ млн/мл. Концентрация сперматозоидов 250–300 млн/мл наблюдалась более чем в половине исследованных образцов, а концентрация ≥ 450 млн/мл – в 3 % случаев. Максимальное отмеченное нами общее количество сперматозоидов в эякуляте составляло более 2 млрд и выявлено в 2 из 191 образца эякулята с полизооспермией. При этом в одном из этих образцов наблюдалась максимальная концентрация сперматозоидов (615 млн/мл). При полизооспермии выявлена положительная корреляция ($r = 0,89$; $p < 0,01$) между объемом эякулята и общим количеством сперматозоидов. При количественном кардиологическом анализе незрелых половых клеток из осадка эякулята с учетом их состава по стадиям сперматогенеза (от сперматоцитов I профазы I мейоза до поздних сперматид) у 5 из 7 обследованных пациентов выявлены признаки частичного блока сперматогенеза на допахитенных стадиях профазы I мейоза.

Ключевые слова: полизооспермия, концентрация сперматозоидов, фертильность, сперматогенез, патозооспермия, репродукция, половые клетки, эякулят, спермограмма

DOI: 10.17650/2070-9781-2015-16-2-37-43

Semen parameters in polyzoospermic men

S.Sh. Khayat, M.V. Andreeva, L.V. Schileiko, T.V. Ostroumova, M.I. Shtaut,
T.M. Sorokina, V.B. Chernykh, L.F. Kurilo

Laboratory of Genetic Disorders of Reproduction, Research Centre for Medical Genetics;
1 Moskvorech,e St., Moscow, 115478, Russia

Polyzoospermia is extremely high (above 250 mln/ml) sperm concentration with normal volume of ejaculate. In the laboratory of genetic disorders of reproduction of Research Centre for Medical Genetics in 2007–2012 years we analyzed more than 14 000 semen samples from infertile men and men with reproductive disorders in order to study the distribution and characteristics of spermatogenesis in polyzoospermic men. Only polyzoospermic men semen analysis results were interpreted in present article. Polyzoospermia (sperm count over 250 mln/ml in volume over 1,5 ml) was detected in 191 semen samples (1.3 %). At the same time 15 % of the samples with polyzoospermia were normozoospermic. Among 85 % of the sperm pathology samples asthenozoospermia occurred most frequently (77 %), astenoteratozoospermia was detected in 8 % of cases with polyzoospermia. The average proportion of vitality was 90.09 ± 10.02 %, normal morphology – 14.93 ± 8.51 %, and progressive motility – 17.72 ± 11.81 %. The average concentration of spermatozoa in the ejaculate in the examined samples was 313.29 ± 64.78 mln/ml. More than half of the tested samples with polyzoospermia had a concentration 250–300 mln/ml. Concentration of 450 mln/ml and more detected in 3 % of samples. The maximum total number of spermatozoa in the ejaculate in our study was more than 2 billion sperm cells and was observed in two polyzoospermic men. One of these patients had the maximum concentration (615 mln/ml) also. We found a high correlation ($r = 0.89$; $p < 0.01$) between the volume of ejaculate and the total number of spermatozoa. Immature germ cells from ejaculate were estimated in 7 patients. There was a partial spermatogenesis arrest at meiosis I prophase in 5 out of 7 of the examined semen samples.

Key words: polyzoospermia, sperm concentration, fertility, spermatogenesis, patozoospermia, reproduction, germ cells, ejaculate, spermogram

Введение

Вопрос о возможном влиянии повышенной концентрации сперматозоидов в эякуляте на репродуктивное здоровье мужчин освещен фрагментарно, в том числе и вследствие низкой распространенности полизооспермии. Связь между концентрацией сперматозоидов и наступлением зачатия начали изучать с 20-х годов XX в. Одна из первых задач исследователей была установить достаточную для оплодотворения концентрацию сперматозоидов. Ранние попытки определить нижнюю границу концентрации сперматозоидов, относящуюся к условной норме, методом количественного анализа были предприняты в 1929 г. В ретроспективном исследовании D. Macomber и A. Sanders установили среднее и минимальное значение концентрации сперматозоидов (100 и 60 млн/мл соответственно) [1]. В дальнейшем нижняя граница концентрации сперматозоидов в эякуляте, условно разделяющая нормозооспермию и олигозооспермию, была снижена сначала до 40 млн/мл, затем до 20 млн/мл. В 5-м издании руководства Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) по исследованию и обработке эякулята человека в качестве нормативного значения приведена концентрация сперматозоидов 15 млн/мл и выше [2].

Изначально повышенную концентрацию сперматозоидов в эякуляте разные авторы обозначали различными терминами. С.А. Joël называл концентрацию сперматозоидов в эякуляте ≥ 120 млн/мл «гиперспермией» и выделял 3 степени тяжести: 120–200, 200–250 и ≥ 250 млн/мл [3]. В 1962 г. R. Doerpfmeier использовал термин «полиспермия» для обозначения концентрации сперматозоидов ≥ 250 млн/мл [4]. Этим же определением пользовались F. Niendorf [5] и К.-Н. Rätz [6]. Но данное понятие является неоднозначным, так как биологический термин «полиспермия» означает проникновение в яйцеклетку более 1 сперматозоида. Поэтому для обозначения концентрации сперматозоидов ≥ 250 млн/мл R.D. Amelar и соавт. предложили термин «полизооспермия» [7]. В настоящее время большинство исследователей определяют полизооспермию как чрезвычайно высокую (≥ 250 млн/мл) концентрацию сперматозоидов при нормальном объеме эякулята. Таким образом, данное понятие для концентрации сперматозоидов ≥ 250 млн/мл остается актуальным уже более 50 лет, несмотря на то что ряд авторов отмечают стойкую тенденцию снижения показателей спермограммы [8–10]. В каждом новом издании руководства ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека [2, 11] неуклонно снижались нормативные значения показателей концентрации сперматозоидов в эякуляте.

Некоторые авторы полагают, что концентрация сперматозоидов в эякуляте, значительно превышающая норму, может быть в той или иной степени связа-

на со снижением мужской фертильности [12, 13], другие специалисты не находят подтверждений того, что у мужчин с полизооспермией нарушена репродуктивная функция [14–16], и не считают «слишком высокую» концентрацию сперматозоидов клинически значимой [17].

В процессе сперматогенеза происходит дегенерация части незрелых половых клеток (НПК), поэтому количество образующихся сперматозоидов меньше теоретического значения. Предполагают, что нарушение естественных процессов физиологической дегенерации на разных стадиях сперматогенеза может являться одной из причин повышенной концентрации сперматозоидов. Среди других возможных процессов, приводящих к полизооспермии, исследователи называют повышенную пролиферацию гониев, а также нарушение апоптоза на уровне НПК [18].

Материалы и методы

В целях изучения частоты распространенности высокой концентрации сперматозоидов и особенностей сперматогенеза при полизооспермии мы провели анализ более 14 тыс. образцов эякулята мужчин, обратившихся в лабораторию генетики нарушений репродукции ФГБНУ «Медико-генетический научный центр» в 2007–2012 гг. в связи с бесплодием в браке, невынашиванием беременности и/или заболеваниями органов половой системы. В данное исследование были включены образцы с нормальным объемом эякулята ($\geq 1,5$ мл) и концентрацией сперматозоидов ≥ 250 млн/мл (всего 191 образец). Средний возраст обследованных мужчин $33,7 \pm 7,39$ года. Все семиологические образцы были проанализированы согласно рекомендациям ВОЗ. Заключение по анализам, выполненным в 2007–2009 гг., для сопоставимости данных пересмотрены согласно рекомендациям ВОЗ 2010 г. [2]. Долю прогрессивно-подвижных сперматозоидов (PR, %) считали как сумму быстрых и медленных (A + B, %) поступательно-подвижных сперматозоидов. Для проверки наличия корреляционной связи использовали коэффициент корреляции Спирмена r ($p < 0,05$).

Для 7 пациентов был выполнен количественный кариологический анализ (ККА) состава эякулята по стадиям развития НПК из осадка (патент на изобретение № 2328736) [19].

Результаты и обсуждение

Частота встречаемости полизооспермии среди обследованных мужчин с бесплодием в браке и/или заболеваниями органов половой системы составила 1,3%. Показатели эякулята соответствовали нормативам ВОЗ у 15% пациентов с полизооспермией. Среди патологии сперматогенеза наиболее часто встречалась астенозооспермия (77% образцов), в 8% случаев выявлена астенотератозооспермия.

Средняя доля живых и морфологически нормальных сперматозоидов в образцах эякулята мужчин с полизооспермией составила $90,09 \pm 10,02$ и $14,93 \pm 8,51$ % соответственно, а поступательно-подвижных сперматозоидов – $17,72 \pm 11,81$ %. Выявлена положительная корреляционная связь между долей поступательно-подвижных и морфологически нормальных сперматозоидов ($r = 0,56$). Повышенная доля мертвых сперматозоидов в эякуляте (некрозооспермия) отмечена в 3 % образцов.

При ККА НПК из осадка эякулята с учетом их состава по стадиям сперматогенеза (от сперматоцитов I профазы I мейоза до поздних сперматид) в 5 (71 %) из 7 образцов исследованных пациентов выявлены признаки

частичного блока сперматогенеза на допахитенных стадиях профазы I мейоза (см. таблицу).

Концентрацию сперматозоидов ≥ 250 млн/мл при нормальном объеме эякулята ($\geq 1,5$ мл) наблюдали в 191 образце эякулята, полученном от 179 мужчин. Из них 76 (42 %) пациентов обращались в лабораторию для анализа эякулята 2 или более раз. Концентрация сперматозоидов ≥ 250 млн/мл при нормальном объеме эякулята более чем в 1 анализе сохранялась только у 11 пациентов (14 % случаев). Поэтому условно можно выделить 2 формы полизооспермии – регулярную и транзиторную.

Известно, что концентрация сперматозоидов в эякуляте одного и того же мужчины может значительно

Показатели спермограммы и ККА НПК при полизооспермии ($n = 7$)

Показатель	Значение показателя по образцу эякулята							Среднее \pm стандартное отклонение	Норма*
	1	2	3	4	5	6	7		
Концентрация сперматозоидов, млн/мл	362	294	269	360	290	268	397,5	$320,07 \pm 52,04$	≥ 15
Объем образца эякулята, мл	4,2	2,5	3,6	2,5	6,5	3	5	$3,9 \pm 1,47$	$\geq 1,5$
Общее количество сперматозоидов в эякуляте, млн	1520,4	735	968,4	900	1885	804	1987,5	$1257,19 \pm 530,07$	≥ 39
Живые сперматозоиды, %	88	97	94	85	86	80	99	$89,86 \pm 6,96$	≥ 58
Прогрессивно-подвижные сперматозоиды (PR), %	4,5	9	35	20	38	19	21	$20,93 \pm 12,29$	≥ 32
Непрогрессивно-подвижные сперматозоиды (NP), %	10,5	3,5	5	10	13	23	10	$10,71 \pm 6,35$	–
Неподвижные сперматозоиды (IM), %	85	87,5	60	70	49	58	69	$68,36 \pm 14,13$	–
Морфологически нормальные формы сперматозоидов, %	12	18	35	26	26	10	15	$20,29 \pm 9,03$	≥ 4
Концентрация лейкоцитов, млн/мл	3,5	3	2	2	2	0,5	1,5	$2,07 \pm 0,98$	< 1
Индекс НПК, %	3	12,2	7,4	9,5	2,9	1,3	2,1	$5,49 \pm 4,22$	2–4
НПК на стадиях прелептотены – зиготены, %	0	3,3	1,4	1,8	2,2	7	0	$2,24 \pm 2,41$	$0,66 \pm 0,16$
НПК на стадии пахитены, %	0	0	0	0	0	7	0	$1 \pm 2,65$	$0,45 \pm 0,10$
НПК на стадии диплотены, %	0	0	0	0	0	0	0	0 ± 0	$1,11 \pm 0,26$
НПК на стадии диакинеза, MI, MII, %	0	0	0	0	0	0	0	0 ± 0	$0,04 \pm 0,02$
Сперматоциты II + сперматиды, %	95	86,6	90,8	86,5	86,6	86	92	$89,07 \pm 3,53$	$91,99 \pm 0,89$
Неразшедшиеся сперматиды, %	12	34,6	10,8	38	11,5	5	8	$17,13 \pm 13,35$	$22,98 \pm 2,65$
Неидентифицированные половые клетки, %	5	10,1	7,8	11,7	11,2	0	8	$7,69 \pm 4,1$	$5,85 \pm 0,85$

* Нормативные показатели эякулята по ВОЗ, 2010 [2] и ККА НПК по Л.Ф. Курило и соавт., 1995 [19].

колебаться [2, 11]. Полученные нами количественные данные еще раз подтверждают вариабельность показателей спермограммы. Считаем нужным подчеркнуть необходимость повторной сдачи эякулята (с интервалом между анализами не менее 2 нед) перед постановкой диагноза.

Более 50 % проанализированных образцов имели концентрацию 250–300 млн/мл (рис. 1). Средняя концентрация сперматозоидов в эякуляте в обследованной группе пациентов составила $313,29 \pm 64,78$ млн/мл, при этом в 21 образце количество зрелых половых клеток превышало 400×10^6 в 1 мл эякулята. Концентрация сперматозоидов ≥ 450 млн/мл отмечалась в 3 % случаев. Максимальная концентрация сперматозоидов среди проанализированных образцов составила 615 млн/мл (при объеме эякулята 3,5 мл). Еще в 2 случаях наблюдалась концентрация 600 млн/мл, объем эякулята при этом был 1,5 и 3,0 мл. В своих работах V.S. Khan и соавт. наблюдали пациента с максимальной концентрацией сперматозоидов 660 млн/мл [20], при этом другие пакистанские исследователи не встречали образцы эякулята, концентрация сперматозоидов в которых превышала 600 млн/мл [21].

В работе группы американских ученых максимальная установленная концентрация сперматозоидов составила 1,75 млрд/мл при объеме эякулята 1,7 мл [7]. При повторном обследовании этого же пациента со сдачей 4 образцов эякулята с интервалом 1–2 дня концентрация снизилась с 1,685 млрд/мл до 565 млн/мл, при этом ни в одном из анализов не был отмечен нормальный объем (изменялся от 0,5 до 1 мл). У другого пациента, обследованного этими же учеными, дважды выявлена концентрация сперматозоидов > 1 млрд/мл при нормальном объеме эякулята. В 2 циклах обследования данного мужчины, каждый из которых включал двукратную сдачу эякулята с интервалом в 2 дня, концентрация сперматозоидов снижалась с > 1 млрд/мл (первая спермограмма в обоих циклах) до 900 и 750 млн/мл (вторая спермограмма в первом и втором цикле соответственно), а объем эякулята варьировал от 2 до 2,7 мл [7].

Поскольку объем эякулята определяется преимущественно количеством семенной жидкости, которая включает в себя секреты придаточных половых желез — семенных пузырьков, предстательной железы, бульбоуретральных и парауретральных желез, нарушение работы каждой из этих желез может привести к уменьшению объема эякулята и, как следствие, — относительному повышению концентрации. При этом при полизооспермии объем эякулята остается нормальным.

В нашем предыдущем исследовании [22] было показано, что объем эякулята при полизооспермии в среднем меньше, чем при других концентрациях сперматозоидов, находящихся в пределах нормы (15–250 млн/мл). В 5-м издании руководства ВОЗ рекомендовано учитывать не только концентрацию, но и общее количество сперматозоидов в эякуляте [2]. Чтобы выяснить, что при полизооспермии в большей степени определяет общее количество сперматозоидов — их концентрация или объем эякулята, мы провели сравнительный анализ корреляции между данными параметрами.

В среднем в исследованной группе образцов объем эякулята был $2,79 \pm 1,04$ мл. При этом приблизительно с равной частотой (39 % и 35 % образцов соответственно) отмечен объем эякулята 1,5–2,4 и 2,5–3,4 мл. В 19 % образцов наблюдали объем 3,5–4,4 мл, а объем $\geq 4,5$ мл был отмечен в 7 % образцов (рис. 2).

Оценка возможной связи между концентрацией, общим количеством сперматозоидов и объемом эякулята показала, что между концентрацией сперматозоидов и их общим количеством в эякуляте корреляционная связь слабая ($r = 0,36$; $p < 0,01$) (рис. 3), а между объемом эякулята и общим количеством сперматозоидов — высокая корреляция ($r = 0,89$; $p < 0,01$) (рис. 4), т. е. в образцах с нормальным объемом эякулята и концентрацией сперматозоидов ≥ 250 млн/мл общее количество сперматозоидов определяется преимущественно объемом эякулята. При этом связь между объемом эякулята и концентрацией сперматозоидов в исследованной группе образцов отсутствовала.

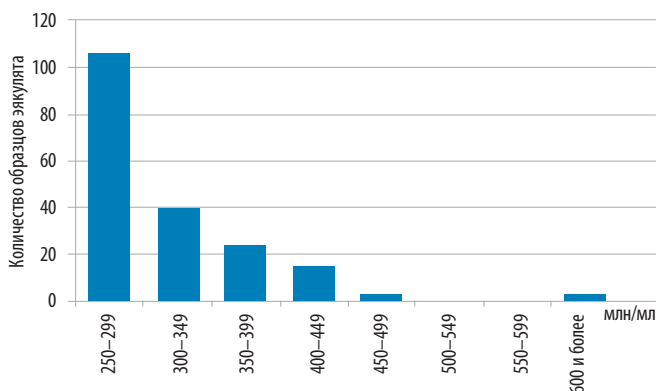


Рис. 1. Концентрация сперматозоидов в образцах эякулята с полизооспермией

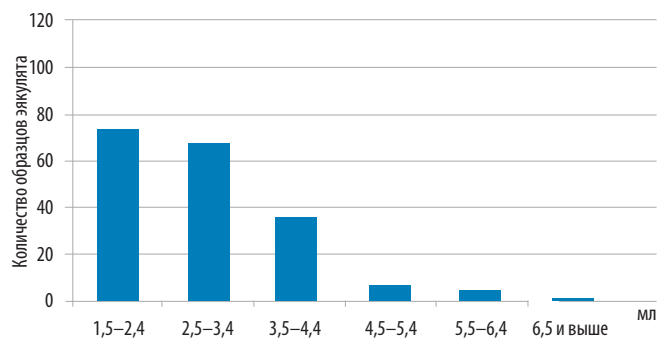


Рис. 2. Объем эякулята в образцах с полизооспермией

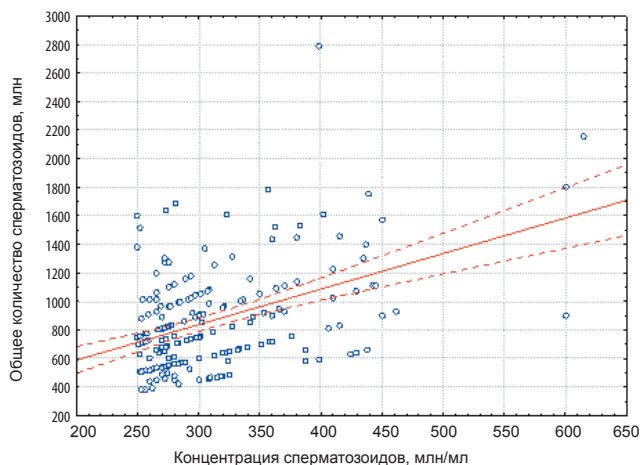


Рис. 3. Общее количество и концентрация сперматозоидов в образцах эякулята с полизооспермией (слабая положительная корреляция; $r = 0,36$; $p < 0,01$, штрихом показан 95 % доверительный интервал)

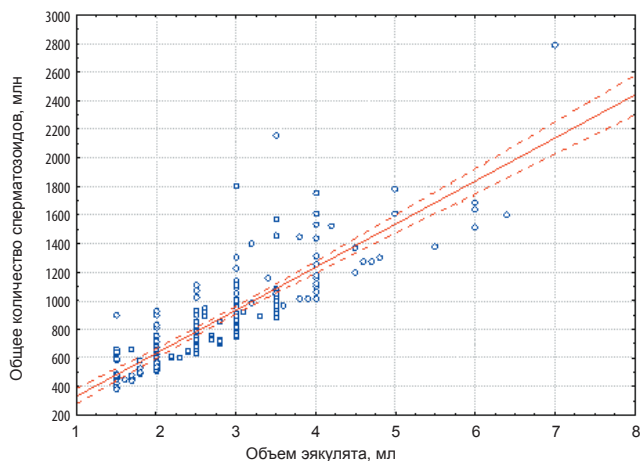


Рис. 4. Объем эякулята и общее количество сперматозоидов в образцах с полизооспермией (положительная корреляция; $r = 0,89$; $p < 0,01$, штрихом показан 95 % доверительный интервал)

Поскольку секреция семенной жидкости (за исключением некоторых аномалий формирования органов половой системы) напрямую не связана с состоянием сперматогенеза и, соответственно, с общим количеством сперматозоидов в эякуляте, корреляция данных параметров (объема эякулята и общего количества сперматозоидов) не была ожидаемой.

Максимальное отмеченное нами количество сперматозоидов в 1 порции эякулята составляло > 2 млрд и наблюдалась у 2 обследованных мужчин. При этом у одного из них выявлена максимальная концентрация (615 млн/мл), но, к сожалению, для повторного обследования данный мужчина не был доступен. Во 2-м случае, когда общее количество сперматозоидов превышало 2 млрд, концентрация сперматозоидов в образце составляла 400 млн/мл, а общий объем эякулята — 7 мл.

В нашем предыдущем исследовании мы показали, что при полизооспермии поступательная подвижность сперматозоидов в среднем ниже, чем при концентрациях, находящихся в пределах нормы [22]. Кроме того, при полизооспермии выше частота лейкоспермии и агглютинации сперматозоидов. В обследованной группе агглютинация сперматозоидов была отмечена в 55 % образцов. Лейкоспермия наблюдалась в 67 % случаев, средняя концентрация лейкоцитов составила $2,39 \pm 1,97$ млн/мл. Следует подчеркнуть, что при полизооспермии повышенная концентрация лейкоцитов не всегда может являться показателем наличия инфекции.

Качество сперматозоидов при повышенной концентрации лейкоцитов в эякуляте — предмет продолжающейся дискуссии в научной литературе. Лейкоциты могут снижать подвижность сперматозоидов и нарушать целостность ДНК посредством оксидативного воздействия [2]. Полагают, что следствием влияния активных радикалов кислорода, выделяемых лейкоцитами, являются нарушения жгутика и акросомы сперматозоида [23]. Кроме того, было обнаружено, что оксидативный стресс провоцирует изменения в целостности цитоплазматической мембраны сперматозоидов [24], а по данным других авторов, также приводит к повышению фрагментации ДНК [25, 26]. В ряде исследований показано, что лейкоциты оказывают и некоторое положительное влияние на долю морфологически нормальных сперматозоидов в эякуляте. Так, М.Ж. Tomlinson и соавт. продемонстрировали, что лейкоциты фагоцитируют атипичные сперматозоиды [27], а А.А. Kiessling с соавт. отметили повышение подвижности сперматозоидов в образцах эякулята с концентрацией лейкоцитов > 2 млн/мл [28].

В обследованной нами группе пациентов с полизооспермией связь между поступательной подвижностью сперматозоидов и концентрацией лейкоцитов не выявлена. Между концентрацией сперматозоидов и поступательной подвижностью выявлена очень слабая отрицательная корреляция ($r = -0,19$), т. е. связь между этими параметрами практически отсутствует.

Среди обследованных нами мужчин с бесплодием и/или нарушением органов репродуктивной системы частота встречаемости полизооспермии составила 1,3 %. Сходные с нашими результатами данные опубликованы для Германии — 1,75 % среди мужчин, вступивших в цикл экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) [29], и Пакистана — 0,9 % среди мужчин с бесплодием [30]. Более высокая распространенность полизооспермии у мужчин с бесплодием описана для США — 4,2 % [12], Южной Африки — 5 % [31] и Мексики — 13 % [32]. К сожалению, возможное влияние различных средовых и генетических факторов на частоту полизооспермии не изучено.

Следует отметить, что при обсуждении проблемы полизооспермии необходимо указывать, наблюдалась

ли повышенная концентрация сперматозоидов регулярно (в нескольких анализах) или она отмечена только 1 раз. Известно, что характеристики эякулята высоковариабельны как у одного мужчины, так и между пациентами и не могут служить единственным показателем фертильности супружеской пары [2]. Концентрация, объем, морфология и подвижность сперматозоидов могут значительно отличаться как в образцах эякулята, полученных от одного и того же пациента, так и в сперме разных мужчин. Поэтому для диагностики полизооспермии необходимо проведение 2–3 повторных семиологических исследований. С учетом того, что на концентрацию сперматозоидов влияет срок полового воздержания, пациентам с полизооспермией с бесплодием в браке перед назначением лечения можно рекомендовать сократить период воздержания перед половым актом.

До сих пор нет доказательств, что полизооспермия — патологическое состояние. Повышенная концентрация сперматозоидов может наблюдаться как у фертильных

мужчин, так и у мужчин с нарушениями репродуктивной функции. Возможно, что пациенты с полизооспермией нуждаются в наблюдении андрологом и периодическом проведении повторных семиологических исследований. Предполагают, что в ряде случаев полизооспермия может быть ответом организма на действие токсикантов [33]. Кроме того, некоторые специалисты считают, что в ряде случаев полизооспермия может являться предшественником олигозооспермии. Возможно также, что повышенная концентрация сперматозоидов — индивидуальная особенность организма. В связи с этим может быть целесообразно выделять конституциональную и патологическую формы полизооспермии. Для выяснения этого вопроса нужны длительные наблюдения за состоянием сперматогенеза в динамике. Необходимы дальнейшие исследования факторов, предрасполагающих к полизооспермии, а также изучение особенностей сперматогенеза при высокой концентрации сперматозоидов и взаимосвязи концентрации с другими факторами, влияющими на мужскую фертильность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Macomber D., Sanders M. The spermatozoa count: its value in the diagnosis, prognosis and concentration in fertile and infertile men. *N Engl J Med* 1929;200:981–4.
2. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. WHO, 2010. 271 p.
3. Joël C.A. Fertility Disturbances in Men and Women: A Textbook with Special Reference to Etiology, Diagnosis and Treatment. Basel: Karger, 1971. 617 p.
4. Doepfmer R. Die Bedeutung einer absoluten Polyspermie für die Ätiologie einer sterilen Ehe und gehaufter Aborte. *Munch Med Wochenschr* 1962;104:794–7.
5. Niendorf F. Polyspermie und Spontanabort. *Gynaecologia* 1964; 158:35–41.
6. Rätz K.-H., Mattheus A. Beziehungen zwischen Polyspermie und Fehlgeburt. *Andrologia* 1970;2(3):137–45.
7. Amelar R.D., Dubin L., Quigley M.M., Schoenfeld C. Successful management of infertility due to polyzoospermia. *Fertil Steril* 1979;31(5):521–4.
8. Carlsen E., Giwercman A., Keiding N., Skakkebaek N.E. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *BMJ* 1992;305(6854):609–13.
9. Carlsen E., Giwercman A., Skakkebaek N.E., Keiding N. Decreasing quality of semen. *BMJ* 1993;306(6875):461–2.
10. Merzenich H., Zeeb H., Blettner M. Decreasing sperm quality: a global problem? *BMC Public Health* 2010;19:10–24.
11. Руководство ВОЗ по лабораторному исследованию эякулята человека и взаимодействия сперматозоидов с цервикальной слизью. 4-е изд. Пер. с англ. Р.А. Нерсесяна, науч. ред. Л.Ф. Курило. М.: МедПресс, 2001. 143 с. [WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4th ed. Translation from English by R.A. Nersesyan, Science Editor L.F. Kurilo. M.: MedPress, 2001. 143 p. (In Russ.)].
12. Glezerman M., Bernstein D., Zakut C. et al. Polyzoospermia: a definite pathologic entity. *Fertil Steril* 1982;38(5): 605–8.
13. Damjanov I. Clinical evaluation of the infertile couple. In: *Pathology of infertility*. St. Louis, Missouri: Mosby-Year Book, Inc., 1993. Pp. 7–42.
14. Tournaye H., Staessen C., Camus M. et al. No evidence for a decreased fertilizing potential after in-vitro fertilization using spermatozoa from polyzoospermic men. *Hum Reprod* 1997;12(10):2183–5.
15. Chan S.Y., Tang L.C., Tang G.W. et al. Spermatozoal fertilizing capacity in polyzoospermia: a preliminary study. *Andrologia* 1986;18(2):208–13.
16. Haji-Maghsoudi F., Anvari M., Khalili M. Semen analysis and *in vitro* fertilization cycle outcome in polyzoospermia. *J Reprod Infertil* 2008; 9(3):238–45.
17. Cooper T.G., Noonan E., Eckardstein S. et al. World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Hum Reprod Update* 2010; 16(3):231–45.
18. Курило Л.Ф., Гришина Е.М., Сорокина Т.М. и др. Полизооспермия как одна из причин снижения мужской фертильности. *Андрология и генитальная хирургия* 2004;3:32–5. [Kurilo L.F., Grishina E.M., Sorokina T.M. et al. Polyzoospermia as one of the causes of male fertility reduction. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2004;3:32–5. (In Russ.)]
19. Курило Л.Ф., Дубинская В.П., Остроумова Т.В. и др. Оценка сперматогенеза по незрелым половым клеткам эякулята. *Проблемы репродукции* 1995;3:33–8. [Kurilo L.F., Dubinskaya V.P., Ostroumova T.V. et al. Evaluation of spermatogenesis by ejaculate immature gametal cells. *Problemy reproduksii = Problems of Reproduction* 1995;3:33–8. (In Russ.)].
20. Khan M.S., Ali I., Khattak A.M. et al. Frequency of polyzoospermia and teratozoospermia in infertile men. *Gomal J Med Sci* 2006;4(1):10–4.
21. Rabbani K.J. Infertility: the male factor. First national symposium on current trends in developmental and reproductive biology. Islamabad, Pakistan, 1997. Pp. 22–3.
22. Хаят С.Ш., Андреева М.В., Шилейко Л.В. и др. Анализ показателей спермограммы у мужчин с нарушениями репродуктивной функции и полизооспермией. *Андрология и генитальная хирургия*



- 2014;1:47–53. [Hayat S.S., Andreeva M.V., Shileyko L.V. et al. Analysis of semen analysis values in men with reproductive function disorders and polyzoospermia. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2014;1:47–53. (In Russ.)].
23. Aziz N., Agarwal A., Lewis-Jones I. et al. Novel associations between specific sperm morphological defects and leukocytospermia. *Fertil Steril* 2004;82(3):621–7.
24. Villegas J., Schulz M., Soto L. et al. Influence of reactive oxygen species produced by activated leukocytes at the level of apoptosis in mature human spermatozoa. *Fertil Steril* 2005;83(3):808–10.
25. Barroso G., Taylor S., Morshedi M. et al. Mitochondrial membrane potential integrity and plasma membrane translocation of phosphatidylserine as early apoptotic markers: a comparison of two different sperm subpopulations. *Fertil Steril* 2006;5(1):149–54.
26. Henkel R., Kierspel E., Staf T. et al. Effect of reactive oxygen species produced by spermatozoa and leukocytes on sperm functions in non-leukocytospermic patients. *Fertil Steril* 2005;83(3):635–42.
27. Tomlinson M.J., White A., Barratt C.L. et al. The removal of morphologically abnormal sperm forms by phagocytes: a positive role for seminal leukocytes? *Hum Reprod* 1992;7(4):517–22.
28. Kiessling A.A., Lamparelli N., Yin H.Z. et al. Semen leukocytes: friends or foes? *Fertil Steril* 1995;64(1):196–8.
29. Henkel R., Müller C., Miska W. et al. Acrosin activity of human spermatozoa by means of a simple gelatinolytic technique: a method useful for IVF. *J Androl* 1995;16(3):272–7.
30. Khan M.S., Deepa F., Ahmed Z. et al. Assessment of male reproductive health by conventional method of semen analysis. *J Ayub Med Coll Abbottabad* 2011;23(1):84–8.
31. Bornman M.S., Schulenburg G.W., Boomker D. et al. Observations in infertile African males at an andrology clinic in South Africa. *Arch Androl* 1994;33(2):101–4.
32. Merino G., Carranza-Lira S. Semen characteristics, endocrine profiles, and testicular biopsies of infertile men of different ages. *Arch Androl* 1995;35(3):219–24.
33. Выборнов С.В. Биохимические показатели репродуктивного здоровья мужчин, работающих на Астраханском газоперерабатывающем заводе. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2006. 19 с. [Vybornov S.V. Biochemical values of reproductive health in men, working at Astrakhan Gas Processing Plant. Abstract of Thesis of Ph. D. in Medicine. M., 2006. 19 p. (In Russ.)].