

## Окислительный стресс и патозооспермия

В.В. Евдокимов<sup>1</sup>, О.Б. Жуков<sup>1</sup>, Ю.В. Кастрикин<sup>2</sup>,  
А.А. Байжуманов<sup>2</sup>, В.Б. Туровецкий<sup>2</sup>, С.К. Пирутин<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Минздрава России;

Россия, 105037 Москва, 3-я Парковая ул., 51, стр. 1;

<sup>2</sup>биологический факультет ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»;  
Россия, 119234 Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12

**Контакты:** Валерий Васильевич Евдокимов vvevdok@mail.ru

*Цель работы – выявить уровень окислительного стресса и антиоксидантной защиты эякулята при различных видах патозооспермии, обусловленной заболеваниями органов репродуктивной системы, включая варикоцеле, идиопатическую астенозооспермию, необструктивную азооспермию. Группы включали по 14, 11 и 16 мужчин в возрасте 20–45 лет.*

*Методы исследования эякулята: изучение морфологических параметров по рекомендациям Всемирной организации здравоохранения 5-го издания. Определение биохимических параметров спермоплазмы проводили по стандартным методам, описанным в ранее проведенных работах.*

*В исследование включали мужчин, в эякуляте которых были обнаружены нарушения подвижности и морфологии сперматозоидов, т. е. диагностировалась патозооспермия в форме астенотератозооспермии. Морфологические и биохимические изменения отмечены в группах больных с варикоцеле и с астено- и азооспермией по сравнению с группой нормозооспермии.*

*В отдельной выделенной группе с варикоцеле обследование пациентов проводили до и после варикоцелэктомии. Морфологические параметры эякулята не претерпели существенных улучшений, однако по биохимическим параметрам спермоплазмы были выявлены более значительные изменения: повышение общей антиоксидантной активности, снижение уровня супероксиддисмутазы как свидетельство ослабления влияния окислительного стресса после варикоцелэктомии.*

**Ключевые слова:** сперматозоид, патозооспермия, биохимические параметры

DOI: 10.17650/2070-9781-2017-18-2-27-32

### Oxidative stress and sperm pathologies

V.V. Evdokimov<sup>1</sup>, O.B. Zhukov<sup>1</sup>, Yu.V. Kastrikin<sup>1</sup>, A.A. Baizhumanov<sup>2</sup>,  
V.B. Turovetskiy<sup>2</sup>, S.K. Pirutin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>N. Lopatkin Scientific Research Institute of Urology and Interventional Radiology –  
branch of the National Medical Research Radiology Center, Ministry of Health of Russia;  
51-1, 3<sup>rd</sup> Parkovaya St., Moscow 105425, Russia;

<sup>2</sup>Biological Faculty, Lomonosov Moscow State University; 1-12, Leninskie Gory, Moscow 119234, Russia

*The study objective was to evaluate the level of oxidative stress and antioxidant defense of the ejaculate in different types of sperm pathologies caused by reproductive system disorders including varicocele, idiopathic asthenozoospermia, non-obstructive asthenozoospermia. Patients groups included 14, 11, and 16 men aged 20–45.*

*Methods of ejaculate examination included study of morphological parameters in accordance with the 5<sup>th</sup> edition of the World Health Organization Guidelines. Biochemical parameters of the spermoplasm were measured according to the standard procedures described in previous articles.*

*The study included men with abnormal sperm motility and morphology in the ejaculate, i. e. men with sperm pathologies in the form of asthenozoospermia. Morphological and biochemical changes were detected in the patient groups with varicocele and with asthen- and azoospermia compared to the normospermia group.*

*In the separate varicocele group, patients were examined before and after varicocelectomy. Morphological parameters of the ejaculate didn't show significant improvement, but biochemical parameters of the spermoplasm changed significantly: total antioxidant activity increased, the level of superoxide dismutase decreased which demonstrates decreased effect of oxidative stress after varicocelectomy.*

**Key words:** spermatozoa, sperm pathologies, biochemical parameters

## Введение

Стандартное лабораторное исследование эякулята является необходимым, но недостаточным условием для установления причины бесплодия у мужчины, особенно при идиопатической форме. Полное обследование включает помимо морфологических методов биохимические, иммунологические и генетические тесты. В последние годы в качестве критерия нормальной фертильности эякулята используют эпигенетические методы: оценку уровня структурных нарушений ДНК и упаковки хроматина [1–3]. Проявленный интерес вызван тем обстоятельством, что, например, при варикоцеле или при воспалительном процессе в репродуктивных органах повышается генерация активных форм кислорода, вызывающих оксидативный стресс (ОС) [4–6]. Эпигенетические факторы приводят к нарушению молекулярной организации клеточных структур. При этом обнаруживается снижение активности антиоксидантной системы и ее компонентов, что обуславливает повышение частоты фрагментации ДНК [7, 8] и оказывает влияние на ранние этапы эмбрионального развития [9]. Установлено также, что сперматозоиды с поврежденной ДНК сохраняют способность к оплодотворению яйцеклетки.

Однако оказалось, что в группе с высоким уровнем повреждений ДНК в сперматозоидах повышена частота возникновения спонтанных аборт у женщин [1, 10]. Выявлено, что основными источниками фрагментации ДНК служат апоптоз и ОС [8, 11–13]. Элиминация половых клеток путем апоптоза – нормальный физиологический процесс, приводящий к ограничению числа клеток в популяции и к выбраковке аномальных сперматозоидов. При этом регистрируется значительное повышение уровней маркеров апоптоза в спермоплазме [14, 15]. Выявлена прямая связь повреждений ДНК и хроматина с воздействием активных форм кислорода и ОС. По данным S.S. Chen и соавт. и R. Henkel и соавт. [3, 16], в результате влияния ОС на сперматозоиды более 30 % мужчин можно отнести к группе субфертильных. К факторам, вызывающим ОС, относят внешние воздействия: электромагнитное излучение, перегревание, высокие физические нагрузки, химические вещества, токсиканты и др., – и внутренние: инфекции, передающиеся половым путем (ИППП), варикоцеле, курение, избыточная масса тела, сахарный диабет и др. [17, 18].

Предприняты многочисленные попытки нейтрализовать негативный эффект ОС: устранение этиопатогенетического фактора, например варикоцеле, ИППП; этиотропное лечение антиоксидантами, которые, как клинически установлено, имеют значимый эффект. Он состоит в повышении подвижности сперматозоидов и улучшении их морфологии [7, 19]. Например, после проведения варикоцелэктомии отмечается повышение целостности ДНК сперматозоидов,

снижение индекса фрагментации ДНК до нормального уровня [20–22].

**Целью** нашего исследования явилось определение уровня ОС и антиоксидантной активности эякулята при различных видах патозооспермии, обусловленной заболеваниями органов репродуктивной системы.

## Материалы и методы

Материалом для исследования служил эякулят, полученный от каждого пациента, по параметрам рекомендаций Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) 5-го издания [15]. Всего были обследованы 69 мужчин в возрасте от 20 до 45 лет. В группе пациентов с варикоцеле ( $n = 14$ ) диагноз устанавливали по данным ультразвукового исследования с цветной доплерографией венозного кровотока органов мошонки. Преобладало левостороннее варикоцеле. В группу с азооспермией ( $n = 11$ ) вошли больные с необструктивной формой заболевания. В группу с астенозооспермией ( $n = 14$ ) включены пациенты без варикоцеле и хронического простатита. Группа с нормозооспермией ( $n = 14$ ) представлена фертильными мужчинами. Отдельно была выделена группа пациентов с варикоцеле ( $n = 16$ ), обследованных до и после варикоцелэктомии.

Образцы эякулята после разжижения подвергали стандартному морфологическому изучению в соответствии с рекомендациями ВОЗ. Тот же образец центрифугировали 25 мин при скорости 3000 об./мин. Супернатант (спермоплазму) отбирали по 200 мкл и оставляли в холодильнике при температуре  $-80^{\circ}\text{C}$  для определения величин исследуемых биохимических параметров.

Биохимический анализ спермоплазмы включал определение следующих параметров:

- общий белок, г/л;
- активность супероксиддисмутазы (СОД), усл. ед./мг белка;
- содержание продуктов, образующихся в результате процессов перекисного окисления липидов и реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК-АП), мкМ аскорбиновой кислоты;
- общая антиоксидантная активность (ОАА).

Выбор параметров был обусловлен тем, что СОД является основным антиоксидантным ферментом, ответственным за утилизацию супероксидного анионрадикала, ТБК-АП является маркером ОС, а определение ОАА позволяет оценить суммарное количество низкомолекулярных водорастворимых антиоксидантов.

Исследование биохимических параметров спермоплазмы проводили на кафедре биофизики биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова с использованием ряда методов, описанных в работе [4].

Метод определения активности СОД основан на измерении количества продукта автоокисления

адреналина в щелочной среде, при образовании которого происходит генерация супероксидных анион-радикалов. Этот продукт автоокисления имеет максимум поглощения при 320 нм. Активность СОД оценивали по ингибированию процесса автоокисления адреналина с добавлением образцов спермоплазмы и выражали в усл. ед./мг белка, где за 1 усл. ед. активности фермента принимали такое его количество, которое необходимо для ингибирования образования продукта автоокисления на 50 %. Расчет содержания ТБК-АП проводили с учетом коэффициента молярной экстинкции малонового диальдегида и выражали в нмоль/мл спермоплазмы. Оптическую плотность измеряли при 532 нм. Определение ОАА спермоплазмы проводили методом, основанным на способности водорастворимых антиоксидантов восстанавливать  $Fe^{3+}$  до  $Fe^{2+}$ . Измеряли образовавшийся окрашенный продукт комплекса восстановленного железа с 2-, 4-, 6-трипиридилтиразином, поглощающий при 593 нм. ОАА выражали в мкМ аскорбиновой кислоты согласно калибровочной кривой.

Все измерения оптической плотности проводили на спектрофотометре Hitachi-556 (Япония).

Для обработки полученных результатов применяли методы описательной статистики с использованием программ Statistica. Средние значения по группам представлены в виде  $M \pm S$  с исключением значений, отклоняющихся от средней арифметической более чем на  $+2S$ . Значимость различий между группами проверяли с помощью *t*-критерия Стьюдента и непараметрического критерия Манна–Уитни.

## Результаты

Несмотря на небольшие объемы выборки, основные показатели фертильности эякулята в группе пациентов с варикоцеле имеют сниженный уровень по отношению к группе с нормозооспермией. В группе пациентов с астенозооспермией все показатели, кроме объема эякулята, также характеризуются существенно более низким уровнем по сравнению с нормой и варикоцеле. Следует отметить, что во всех обследованных группах в образцах эякулята уровень лейкоцитов находился в пределах нормативных показателей, т. е. не более 1 млн/мл (табл. 1).

В табл. 2 представлены данные о состоянии оксидантной и антиоксидантной систем. В группе с варикоцеле выявлено незначительное снижение антиоксидантной активности эякулята на фоне некоторого повышения СОД. При астенозооспермии наблюдается нормальный уровень. При азооспермии не зарегистрировано существенных отличий от нормы. Концентрация белка во всех группах находилась на одном уровне, т. е. не зависела от вида патозооспермии.

Величины морфологических параметров эякулята у пациентов группы варикоцеле до и после (через 3–6 мес) варикоцелэктомии представлены в табл. 3. Не обнаружено значительного повышения всех показателей, однако можно выделить положительные сдвиги в подвижности и морфологии сперматозоидов.

Табл. 4 демонстрирует изменения в состоянии оксидантной и антиоксидантной систем эякулята. Мы сравнивали биохимические показатели у пациентов

**Таблица 1.** Морфологические параметры эякулята в группах пациентов

**Table 1.** Morphological parameters of the ejaculate in patient groups

Показатель Characteristic	Норма (n = 14) Norm (n = 14)	Варикоцеле (n = 14) Varicocele (n = 14)	Астенозооспермия (n = 14) Asthenozoospermia (n = 14)	Азооспермия (n = 11) Azoospermia (n = 11)
Объем эякулята, мл Ejaculate volume, ml	4,7 ± 0,4 (100 %)	3,3 ± 0,3* (70 %)	5,1 ± 0,5 (108 %)	2,7 ± 0,4* (57 %)
Концентрация сперматозоидов, млн/мл Spermatozoa concentration, m/ml	72,7 ± 6,3 (100 %)	64,5 ± 6,1 (88 %)	45,7 ± 4,2* (63 %)	0
Живые клетки, % Alive cells, %	74,7 ± 2,9 (100 %)	61,5 ± 3,5* (82 %)	55,1 ± 1,9* (73 %)	0
Активная подвижность клеток, % Active cell motility, %	31,0 ± 2,6 (100 %)	11,5 ± 2,3* (37 %)	5,4 ± 0,9* (17 %)	0
Общая подвижность клеток, % Total cell motility, %	51,5 ± 3,8 (100 %)	29,7 ± 2,5* (57 %)	19,6 ± 2,1* (38 %)	0
Нормальные формы клеток, % Normal cell shapes, %	34,1 ± 1,2 (100 %)	26,4 ± 1,3* (77 %)	21,3 ± 1,6* (62 %)	0

\*Различия между значениями параметров в группах больных и здоровых считали достоверными по отношению к норме при  $p < 0,05$ .

\*Differences between parameter values in the healthy and patient groups were considered significant compared to the norm at  $p < 0.05$ .

**Таблица 2. Биохимические параметры спермоплазмы**

**Table 2. Biochemical parameters of the spermoplasm**

Показатель Characteristic	Норма (n = 14) Norm (n = 14)	Варикоцеле (n = 14) Varicocele (n = 14)	Астенозооспермия (n = 14) Asthenozoospermia (n = 14)	Азооспермия (n = 11) Azoospermia (n = 11)
Общий белок, г/л Total protein, g/l	63,5 ± 3,9 (100 %)	56,3 ± 6,3 (88 %)	64,3 ± 5,3 (101 %)	57,6 ± 8,0 (90 %)
FRAP, OE FRAP, AU	1693 ± 121 (100 %)	1549 ± 119 (91 %)	1742 ± 128 (103 %)	1760 ± 146 (104 %)
СОД, усл. ед./мг белка SOD, RU/mg of protein	2,24 ± 0,15 (100 %)	2,65 ± 0,3 (118 %)	2,42 ± 0,26 (108 %)	2,43 ± 0,66 (108 %)
ТБК-АП, мкМ аскорбиновой кислоты TBA-RS, μM of ascorbic acid	2,23 ± 0,15 (100 %)	2,06 ± 0,36 (92 %)	2,27 ± 0,24 (101 %)	2,33 ± 0,23 (104 %)

Здесь и в табл. 4: СОД – супероксиддисмутаза; ТБК-АП – 2-тиобарбитуровая кислота.  
Here and in Table 4: SOD – superoxide dismutase; TBA-RS – 2-thiobarbituric acid.

с варикоцеле до операции и после. Обнаружено значительное повышение величин ОАА и ТБК-АП и одновременно существенное снижение СОД, при этом концентрация белка достоверно не изменялась.

### Обсуждение

Полученные результаты обследования пациентов с разными видами патозооспермии (см. табл. 1) показывают наличие существенных изменений морфологических параметров сперматозоидов и в меньшей

степени – биохимических параметров спермоплазмы. Варикоцеле и астенозооспермия сопровождаются падением активной подвижности сперматозоидов до 37 и 17 % соответственно по отношению к группе с нормозооспермией. Также заметно уменьшение числа нормальных форм половых клеток: до 77 и 62 % соответственно по сравнению с нормозооспермией. Такие изменения можно рассматривать как результат влияния ОС, подтверждающийся некоторым повышением активности СОД в этих группах (на 18 и 8 % соответственно) как ответ на усиление продукции активных форм кислорода и снижением общей антиоксидантной активности на 9 % (см. табл. 2). Несмотря на незначительные сдвиги величин клеточных параметров антиоксидантной защиты, они направлены на нейтрализацию свободных радикалов, т. е. действуют синхронно и однонаправленно. Следует также подчеркнуть, что во всех анализах эякулята количество лейкоцитов не превышало нормального уровня, т. е. отсутствовал воспалительный компонент, и все обнаруживаемые изменения, вероятно, обусловлены ишемией, связанной с варикоцеле.

Обращает на себя внимание группа пациентов с азооспермией, где биохимические показатели значительно отличались от группы с нормозооспермией, т. е. секреция этих компонентов эякулята зависит не от концентрации сперматозоидов, а от выработки их клетками эпителия придатков, семенных пузырьков, предстательной железы [14]. Наиболее показательны изменения величин параметров эякулята в группе пациентов с варикоцеле (см. табл. 3). Обследование этих больных в дооперационном периоде обнаруживает снижение параметров общей и активной подвижности сперматозоидов по сравнению с нормами, принятыми ВОЗ. В постоперационном периоде (через 3–6 мес) отмечается незначительное улучшение характеристик морфологических параметров: общей

**Таблица 3. Параметры эякулята у пациентов с варикоцеле (до и после операции)**

**Table 3. Parameters of the ejaculate of varicocele patients (before and after surgery)**

Показатель Characteristic	Варикоцеле (n = 8) Varicocele (n = 8)	После варикоцел- эктомии (n = 8) After varicocelectomy (n = 8)
Объем эякулята, мл Ejaculate volume, ml	3,3 ± 1,4 (100 %)	3,6 ± 1,3 (109 %)
Концентрация сперматозоидов, млн/мл Spermatozoa concentration, m/ml	68,6 ± 15,1 (100 %)	65,0 ± 16,4 (95 %)
Живые клетки % Alive cells, %	62,0 ± 11,5 (100 %)	62,1 ± 6,7 (100 %)
Активная подвижность клеток, % Active cell motility, %	10,6 ± 4,3 (100 %)	13,5 ± 3,6 (127 %)
Общая подвижность клеток, % Total cell motility, %	29,4 ± 5,5 (100 %)	32,2 ± 4,2 (109 %)
Нормальные формы клеток, % Normal cell shapes, %	25,6 ± 11,1 (100 %)	28,0 ± 5,6 (109 %)

**Таблица 4.** Биохимические параметры спермоплазмы при варикоцеле (до и после операции)

**Table 4.** Biochemical parameters of the spermoplasm in varicocele (before and after surgery)

Показатель Characteristic	Варикоцеле (n = 8) Varicocele (n = 8)	После варикоцел- эктомии (n = 8) After varicocelectomy (n = 8)
Общий белок, г/л Total protein, g/l	57,05 ± 13,8 (100 %)	56,7 ± 10,1 (99 %)
FRAP, ОЕ FRAP, AU	1548 ± 218 (100 %)	2047 ± 332* (132 %)
СОД, усл. ед./мг белка SOD, RU/mg of protein	3,2 ± 0,8 (100 %)	2,4 ± 0,5* (75 %)
ТБК-АП, мкМ аскорби- новой кислоты TBA-RS, μM of ascorbic acid	2,2 ± 0,8 (100 %)	2,7 ± 0,5 (122 %)

\*Различия между значениями параметров в группах больных и здоровых считали достоверными по отношению к норме при  $p < 0,05$ .

\*Differences between parameter values in the healthy and patient groups were considered significant compared to the norm at  $p < 0.05$ .

и активной подвижности — на 27 и 9 % соответственно, морфологии — на 9 %. Эти результаты совпадают с данными, полученными в других работах [18, 21, 22]. Также в послеоперационном периоде выявлено повышение ОАА эякулята на 32 % и одновременно значительное снижение оксидантной активности на 25 %. Известно, что СОД инактивирует активные формы кислорода защищая сперматозоиды от оксидативного влияния. В этих условиях происходит снижение негативного эффекта ОС на эякулят и его компоненты (см. табл. 4).

ОС обусловлен нарушением равновесия между продукцией активных форм кислорода и внутриклеточной антиоксидантной системой. Избыток активных форм кислорода приводит к индуцированному апоптозу сперматозоидов и повреждению их ДНК.

На основании полученных результатов об улучшении морфологических характеристик сперматозоидов и биохимических показателей эякулята можно предположить, что варикоцеле является этиологическим фактором, создающим условие для появления ОС, а варикоцелэктомия нейтрализует избыток активных форм кислорода и уменьшает фрагментацию ДНК, как и подчеркивалось в других работах [18, 23, 24]. ОС имеет место только в группе больных с варикоцеле, но не у пациентов с патозооспермией, что может указывать на патогенетическую роль хронической ишемии, сопровождающей варикоцеле, в инициации избыточной продукции активных форм кислорода.

### Заключение

Полученные нами результаты позволяют сделать заключение о том, что при обнаружении варикоцеле, сопровождаемого астенотератозооспермией, необходимо обследование пациента на предмет выявления степени фрагментации ДНК. Хирургическая коррекция варикоцеле приводит, по всей вероятности, к повышению фертильности эякулята за счет снижения уровня ОС и увеличению числа клеток с нормальной упаковкой хроматина, что обеспечивает потенциал оплодотворения яйцеклетки в условиях супружеской половой жизни либо при использовании эякулята в процедурах вспомогательных репродуктивных технологий.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Agarwal A., Said T.M. Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male fertility. *Hum Reprod* 2003;19(4):331–45. PMID: 12926527.
- Tremellen K. Oxidative stress and male infertility — a clinical perspective. *Hum Reprod Update* 2008;14(3):243–58. DOI: 10.1093/humupd/dmn004.
- Chen S.S., Huang W.J., Chang L.S. et al. Attenuation of oxidative stress after varicocelectomy in subfertile patients with varicocele. *J Urol* 2008;179(2):639–42. DOI: 10.1016/j.juro.2007.09.039.
- Панкратова М.С., Юсипович А.И., Воронцова М.В. и др. Особенности кислородного и антиоксидантного статуса крови на фоне заместительной терапии гормоном роста у детей с соматотропной недостаточностью. *Клиническая эндокринология* 2012;(5):10–5. [Pankratova M.S., Yusipovich A.I., Vorontsova M.V. et al. Features of oxygen and antioxidant status of blood on the background of substitution therapy with growth hormone in children with growth failure. *Klinicheskaya endokrinologiya = Clinical Endocrinology* 2012;(5):10–5. (In Russ.)].
- Sharma R.K., Agarwal A. Role of reactive oxygen species in male infertility. *Urology* 1996;48(6):835–50. PMID: 8973665.
- Seli E., Gardner D.K., Sakkas D. et al. Extent of nuclear DNA damage in ejaculated spermatozoa impacts on blastocyst development after *in vitro* fertilization. *Fertil Steril* 2004;82(2):378–83. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2003.12.039.
- Piomboni P., Gambera L., Serafini F. et al. Sperm quality improvement after natural antioxidant treatment of asthenoteratozoospermic men with leucocytospermia. *Asian J Androl* 2008;10(2):201–6. DOI: 10.1111/j.1745-7262.2008.00356.x.
- 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. *Fertil Steril* 2003;80(3):531–5. PMID: 12969693.
- Meseguer M., Pellicer A., Garrido N. et al. The significance of sperm DNA oxidation in embryo development and reproductive outcome in an oocyte donation program: a new model to study a male infertility prognostic factor. *Fertil Steril* 2007;8:415–20. PMID: 12935955.
- Lachaud C., Tesarik J., Cacadas M.L. et al. Apoptosis and necrosis in human ejaculated spermatozoa. *Hum Reprod*



- 2004;19(3):607–10.  
DOI: 10.1093/humrep/deh130.
11. Sadek A., Almohamdy A.S., Zaki A. et al. Sperm chromatin condensation in infertile men with varicocele before and after surgical repair. *Fertil Steril* 2011;95(5):1705–8. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2011.01.008.
  12. Henkel R.R. Leukocytes and oxidative stress: dilemma for sperm function and male fertility. *Asian J Androl* 2011;13:43–52. DOI: 10.1038/aja.2010.76.
  13. Ершова О.А., Баирова Т.А., Колесников С.И. и др. Окислительный стресс и ген каталазы. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 2016;161(3):378–81. [Ershova O.A., Bairova T.A., Kolesnikov S.I. et al. Oxidative stress and catalase gene. *Bulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2016;161(3):378–81. (In Russ.)].
  14. Smith R., Kaune H., Parodi D. et al. Increased sperm DNA damage in patients with varicocele: relationship with seminal oxidative stress. *Hum Reprod* 2006;21(4):986–93. DOI: 10.1093/humrep/dei429.
  15. Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека. 5-е изд. М., 2012. [The WHO Guidelines for the study and treatment of human sperm. 5<sup>th</sup> edn. Moscow, 2012. (In Russ.)].
  16. Henkel R., Kierspel E., Stalf T. et al. Effect of reactive oxygen species produced by spermatozoa and leukocytes on sperm functions in nonleukocytospermic patients. *Fertil Steril* 2005;83(3):635–42. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2004.11.022.
  17. Gharagozloo P., Aitken R.J. The role of sperm oxidative stress in male infertility and the significance of oral antioxidant therapy. *Hum Reprod* 2011;26(7):1628–40. DOI: 10.1093/humrep/der132.
  18. Божедомов В.А., Торопцева М.В., Ушакова И.В. и др. Активные формы кислорода и репродуктивная функция мужчин: фундаментальные и клинические аспекты (обзор литературы). *Андрология и генитальная хирургия* 2011;(3):10–6. [Bozhedomov V.A., Toroptseva M.V., Ushakova I.V. et al. Reactive oxygen species and reproductive function in men: basic and clinical aspects (review of literature). *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2011;(3):10–6. (In Russ.)].
  19. Showell M.G., Brown J., Yazdani A. et al. Antioxidants for male subfertility. *Cochrane Database Syst Rev* 2011;19(1):CD007411. PMID: 21249690.
  20. Baaseem A., Belzile E., Ciampi A. et al. Varicocele and male factor infertility treatment. *Eur Urol* 2011;60(4):796–808. DOI: 10.1016/j.eururo.2011.06.018.
  21. Agarwal A., Prabakaran S., Allamaneni S.S. et al. Relationship between oxidative stress, varicocele and infertility: a meta-analysis. *Reprod Biomed Online* 2006;12(5):630–3. PMID: 16790111.
  22. Altunoluk B., Efe E., Kurutas E.D. et al. Elevation of both reactive oxygen species and antioxidant enzymes in vein tissue of infertile men with varicocele. *Urol Int* 2012;88(1):102–6. DOI: 10.1159/000332156.
  23. Hamada A., Esteves S.C., Agarwal A. et al. Insight into oxidative stress in varicocele-associated male infertility: part 2. *Nat Rev Urol* 2013;10(1):26–37. DOI: 10.1038/nrurol.2012.198.
  24. Valko M., Leibfritz D., Moncol J. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39:44–8. DOI: 10.1016/j.biocel.2006.07.001.