Формы патозооспермии у мужчин с бесплодием в браке и/или с нарушениями репродуктивной системы

М.В. Андреева¹, С.Ш. Хаят¹, Т.М. Сорокина¹, В.Б. Черных^{1,2}, Л.В. Шилейко¹, М.И. Штаут¹,
Е.В. Машина¹, Л.Т. Добродеева¹, А.О. Седова¹, Л.Ф. Курило¹

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

²ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Островитянова, 1

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

В работе представлены результаты исследования 755 образцов эякулята мужчин, обратившихся в ФГБНУ «МГНЦ» в связи с бесплодием в браке и/или нарушениями репродуктивной системы. Для всех образцов выполняли стандартное спермиологическое исследование (ВОЗ, 2010, 5 изд.). Нормозооспермия определена в 11 % случаев, в 89 % образцов эякулята выявлена патозооспермия. Некрозооспермия выявлена в 1 % исследованных образцов. Олигоспермия (сниженный объем эякулята) выявлена в 12 % образцов, при этом в 98 % случаев патология сочеталась с другими нарушениями (снижение концентрации, морфологически нормальных форм или подвижности сперматозоидов). Наиболее распространенными формами патозооспермии являлись астенозооспермия (41 %), астенотератозооспермия (26 %) и олигоастенотератозооспермия (15 %). Частота встречаемости азоо- и криптозооспермии суммарно составила 4 %. Другие формы патозооспермии (тератозооспермия, олигозооспермия, олиготератозооспермия) в сумме составили 3 %. Выявлено, что доля морфологически нормальных форм положительно коррелирует с долей прогрессивно подвижных гамет, общей подвижностью сперматозоидов, концентрацией, а также общим количеством сперматозоидов в эякуляте.

Ключевые слова: бесплодие, патозооспермия, репродукция, половые клетки, эякулят, сперматогенез, спермограмма

DOI: 10.17650/2070-9781-2017-18-2-33-38

Types of pathozoospermia in men with infertility in marriage and/or disorders of reproductive system

M.V. Andreeva¹, S.Sh. Khayat¹, T.M. Sorokina¹, V.B. Chernykh^{1,2}, L.V. Schileyko¹, M.I. Shtaut¹, E.V. Mashina¹, L.T. Dobrodeeva¹,
A.O. Sedova¹, L.F. Kurilo¹

¹Research Centre of Medical Genetics; 1 Moskvorech'e St., Moscow 115478, Russia;

²N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 1 Ostrovityanova St., Moscow 117997, Russia

We analyzed 755 semen samples from men with infertility in marriage and/or disorders of reproductive system. Standard semen analysis (WHO, 2010) was performed for all the samples. Only 11 % of the samples were normozoospermic. Various types of semen pathology were found in 89 % of the investigated samples. Necrozoospermia was detected in 1 % of the samples. Oligospermia was revealed in 12 % of the samples, in 98 % cases it was accompanied by pathozoospermia (abnormal morphology, low sperm concentration or motility). The most common types of pathozoospermia were asthenozoospermia (41 % of all studied samples), asthenoteratozoospermia (26 %) and oligoasthenoteratozoospermia (15 %). Azoospermia and cryptozoospermia were totally observed in 4 % of the samples. 3 % of the samples were defined as other types of pathozoospermia (teratozoospermia, oligozoospermia etc.). Positive correlations between the percentage of morphologically normal spermatozoa and the percentage of motile, percentage of progressively motile spermatozoa, concentration and total number of spermatozoa were found.

Key words: infertility, pathozoospermia, reproduction, spermatozoa, ejaculate, spermatogenesis, semen analysis

Введение

Бесплодие является важной медико-социальной проблемой. Нарушение фертильности приводит к росту частоты бесплодных браков, разводов и стрессовых расстройств. Бесплодием супружеской пары называют отсутствие наступления беременности в течение 12 мес регулярной половой жизни без предохранения. Извест-

но, что на долю мужского фактора приходится до 50 % случаев бесплодия в браке [1]. Микроскопическое исследование эякулята (спермограмма) является обязательным этапом первичного обследования мужчин при бесплодии и одним из наиболее простых и информативных методов оценки состояния сперматогенеза. Основными показателями эякулята, исследуемыми при

семиологическом анализе, являются жизнеспособность сперматозоидов, их концентрация, подвижность и количество (в %) сперматозоидов нормальной морфологии [2]. Отклонение от нормативных значений каких-либо показателей эякулята называют патозооспермией, в структуре которой выделяют азооспермию (отсутствие сперматозоидов в эякуляте), олигозооспермию (снижение концентрации сперматозоидов), астенозооспермию (снижение числа прогрессивно подвижных сперматозоидов или снижение общей подвижности), тератозооспермию (снижение числа морфологически нормальных сперматозоидов в эякуляте), а также сочетания данных форм патологии.

Нормативные показатели эякулята, предложенные в последнем издании Руководства Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) по оценке и анализу эякулята (5-е издание (2010)) [2], вызвали полемику среди специалистов в области андрологии, сперматологии и репродукции человека. Многие врачи-урологи считают, что в связи с недостаточной строгостью предложенных критериев нарушения репродуктивной системы мужчин будут недооценены [3–5]. В последнем издании Руководства ВОЗ [2] использованы данные из спермограмм мужчин, беременность у партнерш которых наступала в течение 12 мес половой жизни без предохранения. Вопрос о роли мужского фактора в бесплодии и невынашивании беременности партнершей до сих пор остается недостаточно изученным. В связи с этим мы считаем актуальным изучение сперматогенеза мужчин с бесплодием в браке, с невынашиванием беременности, а также пациентов, имеющих в анамнезе заболевания органов репродуктивной системы (варикоцеле, хронический простатит и т. п.).

Материалы и методы

Исследовали 755 образцов эякулята мужчин, обратившихся в МГНЦ в 2015 г. для выполнения спермиологического анализа в связи с первичным или вторичным бесплодием в браке, невынашиванием беременности партнершей или планированием деторождения. Информацию о наличии в анамнезе заболеваний органов репродуктивной системы получали со слов пациентов. Для всех образцов выполняли стандартное спермиологическое исследование [2]. Определяли объем эякулята, вязкость, pH, долю живых и мертвых сперматозоидов, долю морфологически нормальных и атипичных клеток, концентрацию и общее количество сперматозоидов, подвижность по категориям: прогрессивно подвижные, непрогрессивно подвижные, неподвижные. При написании заключения по анализу использовали рекомендации ВОЗ [2]: олигоспермия — объем эякулята <1,5 мл; некрозооспермия — доля живых сперматозоидов в эякуляте <58 %; астенозооспермия — доля прогрессивно подвижных сперматозоидов <32 %; тератозооспермия — доля морфологически нормальных

сперматозоидов <4 %; олигозооспермия — общее число сперматозоидов в эякуляте <39 млн. Статистический анализ данных проводили в программе Statistica 6.0 (StatSoft), достоверными считали результаты при уровне $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Нормозооспермия выявлена в 80 (11 %) из 755 исследованных образцов (рис. 1). Из них более половины ($n = 42$; 53 %) содержали от 5 до 9 % морфологически нормальных сперматозоидов (рис. 2a). В 30 % образцов с нормозооспермией доля морфологически нормальных сперматозоидов составила от 10 до 19 %; 20 % и более морфологически нормальных сперматозоидов отмечено в 6 % образцов. Доля образцов с нормозооспермией с нижней границей принятой нормы (4 %) составила 11 % (рис. 2a).

В 89 % случаев (666 из 755 образцов) выявлена патозооспермия. Наиболее распространенной (84 %) формой нарушений являлось нарушение подвижности сперматозоидов, в половине случаев оно сочеталось с нарушениями морфологии. Частота встречаемости астенозооспермии составила 41 % (307 из 755 образцов), астенотератозооспермии — 26 % (197 образцов) и олигоастенотератозооспермии — 15 % (115 образцов) (рис. 1).

- Астенозооспермия / Asthenozoospermia
- Астенотератозооспермия / Asthenoteratozoospermia
- Олигоастенотератозооспермия / Oligoasthenoteratozoospermia
- Нормозооспермия / Normozoospermia
- Азоо- и криптозооспермия / Azoo- and cryptozoospermia
- Олигоастенозооспермия / Oligoasthenozoospermia
- Тератозооспермия / Teratozoospermia
- Олиготератозооспермия / Oligoteratozoospermia
- Олигозооспермия / Oligozoospermia

Рис. 1. Частота встречаемости нормозооспермии и разных форм патозооспермии у мужчин с бесплодием в браке и/или с нарушениями репродуктивной системы

Fig. 1. Frequency of normozoospermia and different sperm pathologies in men with infertility in marriage and/or reproductive system disorders

Рис. 2. Доля морфологически нормальных сперматозоидов в образцах эякулята с нормозооспермией (а) и патозооспермией (б)

Fig. 2. Percentage of morphologically normal spermatozoa in ejaculate samples with normozoospermia (a) and sperm pathology (b)

Отсутствие сперматозоидов в эякуляте (азооспермия) или крайне низкая концентрация — сперматозоиды обнаружены только после ступения осадка эякулята (криптозооспермия) — выявлены в 4 % случаев (32 образца) (см. рис. 1). Азооспермия и криптозооспермия являются наиболее тяжелыми формами патозооспермии. В подавляющем большинстве случаев азооспермия связана с рядом необратимых нарушений работы яичек, приводящих к угнетению сперматогенеза [6]. Такие нарушения чаще всего связаны с генетическими, эндокринными, а также с воспалительными заболеваниями.

При патозооспермии (за исключением образцов с азоо- и криптозооспермией, $n = 643$) в 27 % образцов найдено от 5 до 9 % морфологически нормальных сперматозоидов, в 8 % случаев их доля составила от 10 до 19 %. Образцов с патозооспермией, содержащих более 19 % морфологически нормальных половых клеток, не выявлено (см. рис. 2б). В 98% образцов с патозооспермией подвижность сперматозоидов была снижена (рис. 3).

Корреляционный анализ (коэффициент корреляции Спирмена (r); $p < 0,05$) показал взаимосвязь основных параметров эякулята. Так, выявлено, что доля (%) морфологически нормальных форм положительно коррелирует с долей прогрессивно подвижных гамет ($r = 0,7$), общей подвижностью сперматозоидов ($r = 0,5$), концентрацией ($r = 0,5$), а также общим количеством сперматозоидов в эякуляте ($r = 0,5$). Слабая положительная корреляция выявлена между долей прогрессивно подвижных клеток и общим количеством сперматозоидов ($r = 0,4$), а также их концентрацией ($r = 0,3$).

В целом среди всех исследованных образцов эякулята, содержащих сперматозоиды ($n = 723$), доля со сниженной подвижностью составила 88 % (633 образца), а со сниженным числом морфологически нормальных форм — 44 % (320 образцов) (рис. 4).

Некрозооспермия отмечена в 1 % образцов. В большинстве случаев (5 из 7 образцов) она сочеталась с олиго-

Рис. 3. Доля прогрессивно подвижных сперматозоидов в образцах эякулята с патозооспермией

Fig. 3. Percentage of progressively motile spermatozoa in ejaculate samples with sperm disorders

астенотератозооспермией, в 1 наблюдении — с астенотератозооспермией и еще в 1 — с астенозооспермией. Наличие большого количества живых, но неподвижных сперматозоидов может указывать на структурные дефекты их жгутиков [7]. Повышенное количество неподвижных и мертвых сперматозоидов при нормальной концентрации может свидетельствовать о патологии придатка яичка [8].

Олигоспермия (сниженный объем эякулята) выявлена в 12 % всех образцов, при этом в 97 % случаев патология сочеталась с другими нарушениями сперматогенеза (снижение концентрации, и/или морфологии, и/или подвижности сперматозоидов). Наиболее часто олигоспермия сочеталась с астенозооспермией (39 %), астенотератозооспермией (24 %) и олигоастенотератозооспермией (24 %). Объем эякулята определяется количеством семенной жидкости, которая включает секреты придаточных половых желез — семенных пузырьков, предстательной железы, бульбоуретральных

Рис. 4. Доля прогрессивно подвижных (а) и морфологически нормальных сперматозоидов (б) во всех исследованных образцах эякулята
Fig. 4. Percentage of progressively motile (a) and morphologically normal spermatozoa (b) in all investigated semen samples

и парауретральных желез. Определение основных продуктов их секреции в семенной плазме (фруктозы семенных пузырьков, цинка, кислой фосфатазы, лимонной кислоты, карнитина, глицерофосфохолина, нейтральной α -глюкозидазы придатка яичка) используют для выяснения возможных причин бесплодия [1]. Нарушение работы каждой из этих желез может привести к уменьшению объема эякулята.

При оценке фертильности мужчин существенным фактором прогноза наступления беременности является оплодотворяющая способность эякулята. В первую очередь она зависит от концентрации, доли прогрессивно подвижных и морфологически нормальных сперматозоидов [9, 10].

Подвижность сперматозоидов является одним из ключевых факторов, обуславливающим доставку отцовского генетического материала к яйцеклетке. Подвижность обеспечивается компактным расположением структур, ответственных за движение жгутика сперматозоида, функционированием ферментов гликолиза (анаэробные процессы) и дыхательной цепи митохондрий (аэробные процессы) [11, 12]. Нарушение каждой составляющей может влиять на снижение подвижности сперматозоидов. Гетерогенность причин и механизмов, приводящих к астенозооспермии, значительно усложняет изучение ее этиологии и патогенеза. Одним из способов выявления механизмов, вовлеченных в обеспечение подвижности сперматозоидов, является изучение ультраструктуры жгутика. Электронно-микроскопическое исследование сперматозоидов при разных формах патозоспермии и нарушении фертильности у мужчин позволяет выявлять сбои ультраструктур сперматозоидов — наличие и состояние акросомы, аномалии головки, компактизация хроматина, строение жгутика и других компонентов.

Морфологически аномальные сперматозоиды обладают рядом биологических свойств, приводящих к снижению фертильности и вероятности оплодотворения [13]. Они имеют более низкую по сравнению

с нормальными клетками скорость прямолинейного движения, меньшие частоту колебаний жгутика и способность к проникновению через блестящую оболочку яйцеклетки (*zona pellucida*). При аномальной морфологии сперматозоиды медленнее передвигаются в слизи шейки матки, которая становится для них труднопроходимым или непреодолимым барьером. Сперматозоиды с морфологическими дефектами обычно имеют сниженный оплодотворяющий потенциал, зависящий от типа аномалии, и могут также содержать аномальный генетический материал. Морфологические дефекты (особенно дефекты головки, акросомы) коррелируют с повышенными фрагментацией ДНК, уровнем анеуплоидии и содержанием незрелого хроматина [14].

Описанные нарушения сперматогенной функции у мужчин могут возникать в результате воздействия различных факторов как на внутриутробно развивающийся организм, так и на организм взрослого. Известно, что факторы образа жизни (питание, употребление алкоголя, курение, стресс, негативные экологические факторы, профессиональные вредности) оказывают неблагоприятное воздействие на мужскую репродуктивную систему. Поскольку процессы дифференцировки половых клеток в сперматогенном эпителии протекают непрерывно, процесс сперматогенеза уязвим на молекулярном, клеточном, тканевом и органном уровнях при действии повреждающих факторов [15–18].

Изучению влияния различных факторов на сперматогенез посвящено значительное число работ. В исследованиях оценки гаметотоксического и гонадотоксического эффектов воздействия ряда химических, физических и биологических факторов показано, что средовые факторы могут вызывать генные, хромосомные, геномные, гаметотоксические и эмбриотоксические эффекты, нарушая уникальный процесс деления половых клеток — мейоз, дифференцировку и резерв гамет, а также оплодотворение и развитие эмбрионов [16–19].

Бесплодие пары может быть обусловлено вирусной (вирус простого герпеса, цитомегаловирус и др.) или бактериальной инфекцией. Показано, что вирусоносительство не всегда негативно отражается на показателях спермограммы, но может проявляться нарушением фертильности. У партнерш пациентов с вирусной или бактериальной инфекцией чаще встречается невынашивание беременности [20, 21].

Характеристика состояния сперматогенеза и оценка фертильности, включая прогноз вероятности наступления беременности, являются наиболее важной задачей при исследовании мужского фактора бесплодия. Основываясь только на результатах семиологического анализа, не всегда можно однозначно оценить фертильность и репродуктивный статус пациента. Сниженные значения количества и качества сперматозоидов не являются абсолютным показанием для назначения лечения или применения вспомогательных репродуктивных технологий. Показано, что даже в случае значительных отклонений параметров эякулята от нормативных значений применение вспомогательных репродуктивных технологий рекомендовано только после этиотропного лечения [22]. По результатам комплексного обследования пары можно определить, необходимо ли проведение лечения перед планированием беременности и следует ли рекомендовать продолжать попытки зачатия естественным путем. Для этого необходимо учитывать состояние как муж-

ской, так и женской репродуктивной системы, а также их сочетание.

Выводы

У большинства (89 %) пациентов с бесплодием в браке и/или с нарушениями репродуктивной системы как минимум один из основных показателей эякулята ниже нормы. Наиболее часто встречающимися формами патозооспермии явились астенозооспермия и астенотератозооспермия. Даже при использовании современных критериев оценки эякулята (ВОЗ, 2010) [2], значительно сниженных по сравнению с предыдущим изданием Руководства ВОЗ [23], распространенность патозооспермии значительно превышает известную в настоящее время частоту вклада мужского фактора в бесплодие в браке. Известно, что наступление беременности партнерши естественным путем возможно и при показателях эякулята ниже нормативных значений. Нарушения репродуктивной системы часто имеют многофакторную природу, а фертильность супружеской пары зависит от состояния репродуктивной системы обоих партнеров и их совместимости. Однако с учетом высокой распространенности патозооспермии у мужчин с бесплодием следует отметить, что роль мужского фактора в этиологии бесплодия и невынашивания беременности партнершами еще недостаточно изучена, и необходимо уделять больше внимания вопросам репродуктивного здоровья мужчин.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Nieschlag E., Behre H.M., Nieschlag S. (eds.) Andrology: male reproductive health and dysfunction. 3rd edn. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2010. 629 p.
2. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th edn. 271 p.
3. Haidl G. New WHO-reference limits-revolution or storm in a teapot? Asian J Androl 2011;13(2):208–11. DOI: 10.1038/aja.2010.156.
4. Murray K.S., James A., McGeady J.B. et al. The effect of the new 2010 World Health Organization criteria for semen analyses on male infertility. Fertil Steril 2012;98(6):1428–31.
5. Esteves S.C. Clinical relevance of routine semen analysis and controversies surrounding the 2010 World Health Organization criteria for semen examination. Int Braz J Urol 2014;40(4):443–53. DOI: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2014.04.02.
6. Esteves S.C., Agarwal A. The azoospermic male: current knowledge and future perspectives. Clinics (Sao Paulo) 2013;68(Suppl 1):1–4. PMID: 23503949.
7. Chemes H.E., Rawe Y.V. Sperm pathology: a step beyond descriptive morphology. Origin, characterization and fertility potential of abnormal sperm phenotypes in infertile men. Human Reproduction Update 2003;9(5):405–28. PMID: 14640375.
8. Correa-Perez J.R., Fernández-Pelegrina R., Aslanis P., Zavos P.M. Clinical management of men producing ejaculates characterized by high levels of dead sperm and altered seminal plasma factors consistent with epididymal necrozoospermia. Fertility and Sterility 2004;81(4):1148–50. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2003.09.047. PMID: 15066482.
9. Леонтьева О.А., Воробьева О.А., Козлов В.В. Прогностическое значение показателей спермограммы в программе оплодотворения ооцитов человека в культуре. Проблемы репродукции 2000;(5):39–49. [Leont'eva O.A., Vorob'eva O.A., Kozlov V.V. The prognostic value of indicators of semen in the program of fertilization of oocytes in human culture. Problems of reproduction 2000;(5):39–49.
10. Ярман В.В., Михайличенко В.В., Новиков А.И., Долгов Г.В. О значении медико-биологических факторов, влияющих на наступление беременности в супружеской паре. Андрология и генитальная хирургия 2013;14(4):28–35. [Yarman V.V., Mikhaylichenko V.V., Novikov A.I., Dolgov V.G. On the importance of biological factors affecting the occurrence of pregnancy in a married couple. Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery 2013;14(4):28–35. (In Russ.)].
11. Элькина Ю.Л., Атрошенко М.М., Брагина Е.Е. и др. Окисление глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы приводит к снижению подвижности сперматозоидов. Биохимия 2011;76(2):268–72. [El'kina Yu.L., Atroshchenko M.M., Bragina E.E. et al. Oxidation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase leads to the reduction

- of sperm motility. *Biokhimiya = Biochemistry* 2011;76(2):268–72. (In Russ.).
12. Ferramosca A., Provenzano S.P., Montagna D.D. et al. Oxidative stress negatively affects human sperm mitochondrial respiration. *Urology* 2013;82(1):78–83.
DOI: 10.1016/j.urology.2013.03.058.
13. Liu D.Y., Garrett C., Baker H.W. Clinical application of sperm-oocyte interaction tests in in vitro fertilization-embryo transfer and intracytoplasmic sperm injection programs. *Fertil Steril* 2004;82(5):1251–63.
DOI: 10.1016/j.fertnstert.2003.10.057.
14. Брагина Е.Е., Арифулин Е.А., Хафизова П.О., Харчилава Р.Р. Структуры хроматина сперматозоидов человека и фрагментация ДНК в норме и при нарушениях фертильности. *Врач* 2013;(2):81–5. [Bragina E.E., Arifulin E.A., Khafizova P.O., Kharchilava R.R. Structure of the chromatin of human spermatozoa and DNA fragmentation in health and fertility disorders. *Vrach = Physician* 2013;(2):81–5. (In Russ.).]
15. Захидов С.Т. Процессы нормального и атипичного сперматогенеза у животных. Автореф. дисс. докт. биол. наук, 03.00.11, М., 1993. 45 с. [Zakhidov S.T. The processes of normal and atypical spermatogenesis in animals. Moscow, 1993. (In Russ.).]
16. Курило Л.Ф., Игнатъева Е.Л., Хилькевич Л.В., Леонов Б.В. Нарушение пролиферации оогониев при введении в культуру яичников плодов окситетрациклина либо 17-β-эстрадиола. *Акушерство и гинекология* 1985;(4):53–5. [Kurilo L.F., Ignat'eva E.L., Khil'kevich L.V., Leonov B.V. A violation of the proliferation of oogonia in the introduction to the culture of ovaries of the fruit of oxytetracycline or 17-β-estradiol. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology* 1985;(4):53–5. (In Russ.).]
17. Курило Л.Ф., Корлев Ю.Н., Никулина Л.А. и др. Анализ влияния общего облучения на сперматогенез и систему кроветворения крыс. Подходы к первичной профилактике радиационного облучения, приводящей к коррекции индуцированных нарушений. *Андрология и генитальная хирургия* 2004;(1–2):64–6. [Kurilo L.F., Korolev Yu.N., Nikulina L.A. et al. Analysis of the effects of irradiation on spermatogenesis and hematopoietic system of rats. Approaches to primary prevention of radiation exposure, leading to correction of induced infringement. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2004;(1–2):64–6. (In Russ.).]
18. Курило Л.Ф., Макарова Н.П., Шилейко Л.В. Система оценки состояния сперматогенеза человека и млекопитающих. *Андрология и генитальная хирургия* 2005;(4):8–17. [Kurilo L.F., Makarova N.P., Shileyko L.V. System of state assessment of spermatogenesis of man and mammals. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2005;(4):8–17. (In Russ.).]
19. Павлюченкова С.М. Изучение закономерностей развития мужских половых клеток и клеток Сертоли у мышей после различных экспериментальных воздействий. Автореф. дисс. канд. биол. наук, 03.00.11, М., 2015. 23 с. [Pavlyuchenkova S.M. The study of regularities of development of male germ cells and Sertoli cells in mice after the different experimental influences. Moscow, 2015. (In Russ.).]
20. Брагина Е.Е., Арифулин Е.А., Хафизова П.О. Вирусное инфицирование сперматозоидов. *Terra Ameriga* 2011;(1):20–3. [Bragina E.E., Arifulin E.A., Khafizova P.O. Viral infection of the sperm. *Terra Ameriga* 2011;(1):20–3. (In Russ.).]
21. Naumenko V., Tyulenev Y., Kurilo L. et al. Detection and quantification of human herpes viruses types 4–6 in sperm samples of patients with fertility disorders and chronic inflammatory urogenital tract diseases. *Andrology* 2014;2(5):687–94.
DOI: 10.1111/j.2047-2927.2014.00232.x.
22. Milardi D., Grande G., Sacchini D. et al. Male fertility and reduction in semen parameters: a single tertiary-care center experience. *Int J Endocrinol.* 2012;2012:649149.
DOI: 10.1155/2012/649149.
23. WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-cervical Mucus Interaction. 4th edn. Cambridge: Cambridge University Press, 1999. 128 p.