

Анализ параметров эякулята у мужчин с нормальной концентрацией сперматозоидов и полизооспермией

С.Ш. Хаят¹, М.В. Андреева¹, Л.В. Шилейко¹, Т.В. Остроумова¹, Т.М. Сорокина¹,
Д.А. Мясников², В.Б. Черных¹, Л.Ф. Курило¹

¹ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН, Москва; ²ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

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

В статье приведены результаты ретроспективного исследования 10 178 образцов эякулята мужчин с бесплодием в браке и/или с заболеваниями половой системы, обратившихся в лабораторию генетики нарушений репродукции ФГБУ МГНЦ РАМН в 2007–2012 гг. Проанализированы основные показатели спермограммы при различных концентрациях сперматозоидов, а также результаты количественного кариологического анализа состава незрелых половых клеток на разных стадиях их развития из эякулята.

Ключевые слова: полизооспермия, патозооспермия, лейкоспермия, апоптоз

Semen parameters evaluation in men with normal sperm concentration and polyzoospermic men

S.Sh. Khayat¹, M.V. Andreeva¹, L.V. Schileyko¹, T.V. Ostroumova¹, T.M. Sorokina¹, D.A. Myasnikov², V.B. Chernykh¹, L.F. Kurilo¹

¹Medical Genetics Research Centre, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow;

²N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia, Moscow

We analyzed 10 178 semen samples from men in infertile couples within a retrospective clinical study (2007–2012). Basic semen parameters at different sperm concentrations were evaluated, immature germ cells in polyzoospermic men were estimated.

Key words: polyzoospermia, pathozoospermia, leukospermia, apoptosis

Введение

Возможная связь количества сперматозоидов в эякуляте с репродуктивным здоровьем мужчин давно привлекает внимание специалистов. Одной из первых таких работ была публикация D. Macomber и M. Sanders в 1929 г. [1]. Но если снижение фертильности вследствие низкой концентрации сперматозоидов в настоящее время не вызывает сомнений, то вопрос о связи высокой концентрации зрелых гамет в эякуляте с бесплодием до сих пор остается дискуссионным. Не существует ни общепринятого определения термина «полизооспермия», ни единого мнения о ее влиянии на фертильность.

В отечественной литературе повышенной часто называют концентрацию более 200 млн сперматозоидов в 1 мл эякулята [2], в зарубежной – более 130 млн/мл или более 250 млн/мл [3, 4]. Существует мнение, что термином «полизооспермия» следует обозначать повышенное количество быстро подвижных сперматозоидов в эякуляте [5]. Некоторые авторы обращают внимание только на концентрацию, но ряд исследователей уточняет, что о наличии полизооспермии можно говорить только при нормальном объеме эякулята [4]. Значительное повышение концентрации сперматозоидов может появляться в результате нарушения функции секреции придаточных половых желез, в первую

очередь семенных пузырьков, при котором снижается объем вырабатываемой семенной жидкости (олигоспермия). В таком случае причина повышения концентрации сперматозоидов может быть принципиально иной, чем при полизооспермии при нормальном объеме эякулята. Ни в 4-м, ни в 5-м изданиях Руководства ВОЗ по анализу эякулята [6–9] не указано, существует ли верхняя граница нормы для концентрации сперматозоидов. В Руководстве ВОЗ по обследованию мужчин с бесплодием [10] полизооспермией названо состояние, при котором наблюдают чрезвычайно высокую (выше 250 млн/мл) концентрацию сперматозоидов при нормальном объеме эякулята. Этого определения в настоящее время придерживается большинство исследователей. Некоторые авторы полагают, что концентрация сперматозоидов в эякуляте, значительно превышающая норму, может быть в той или иной степени связана со снижением мужской фертильности [4, 11, 12], другие специалисты не находят подтверждений тому, что у мужчин с полизооспермией нарушена репродуктивная функция [13–15]. Несмотря на исследования, показывающие, что полизооспермия может быть связана со снижением фертильности и повышением частоты спонтанных выкидышей, ряд авторов подчеркивают, что особенности этого явления до сих пор не выяснены [16].

Материалы и методы

Из более чем 14 тыс. семиологических анализов пациентов, обратившихся в лабораторию генетики нарушений репродукции ФГБУ «МГНЦ» РАМН в 2007–2012 гг. в связи с бесплодием в браке и/или заболеваниями половой системы, были отобраны 10 178 образцов, в которых объем эякулята соответствовал нормальному (по ВОЗ, 2010), т. е. 1,5 мл и более. Все анализы были разделены на 3 группы в зависимости от концентрации сперматозоидов в 1 мл: группа I – 15–129,9 млн/мл (8721 образец); группа II – 130–249,9 млн/мл (1266 образцов); группа III – 250 и более млн/мл (191 образец). Пациенты с гемоспермией были исключены из исследования. Оценивали долю (%) живых, морфологически нормальных, поступательно подвижных сперматозоидов, концентрацию лейкоцитов, наличие или отсутствие агглютинации сперматозоидов. Средние значения и стандартные отклонения основных параметров эякулята для каждой из групп приведены в табл. 1.

Для 45 пациентов (из них для 6 пациентов повторно) был выполнен количественный кариологический анализ состава по стадиям развития незрелых половых клеток (НПК) из эякулята [17] (патент на изобретение № 2328736), всего было выполнено 52 анализа НПК (табл. 2, 3). Все семиологические образцы были проанализированы согласно нормам ВОЗ 2010 г. Для сопоставимости данных заключения по анализам, выполненным в 2007–2009 гг., пересмотрены согласно нормам ВОЗ 2010 г., долю прогрессивно подвижных сперматозоидов (PR) считали как сумму быстро и медленно (a + b) поступательно подвижных сперматозоидов. Равенство дисперсий в группах проверено согласно критерию Левене, различия между тремя исследуемыми группами выявлены с использованием критерия Краскела–Уоллиса, последующие попарные сравнения проводили с использованием критерия Манна–Уитни. Для предотвращения ошибки при множественных сравнениях для критерия Манна–Уитни считали достоверными отличия при уровне $p < 0,017$.

Таблица 1. Средние значения и стандартные отклонения основных параметров эякулята для групп I–III

Параметры эякулята	Концентрация	Группа I (15–129,9 млн/мл)	Группа II (130–249,9 млн/мл)	Группа III (250 и более млн/мл)
		ср. ± ст. откл.	ср. ± ст. откл.	ср. ± ст. откл.
Количество сперматозоидов, млн/мл		58,39 ± 29,91	169,38 ± 30,4	313,29 ± 64,78
Объем эякулята, мл		3,59 ± 1,51	3,14 ± 1,36	2,79 ± 1,04
Живые сперматозоиды, %		93,39 ± 8,21	91,94 ± 8,34	90,09 ± 10,02
Подвижность (PR), %		20,5 ± 12,32	21,34 ± 12,62	17,72 ± 11,81
Морфологически нормальные сперматозоиды, %		11,52 ± 8,79	14,41 ± 9,91	14,93 ± 8,51
Лейкоциты, млн/мл		1,22 ± 1,62	1,86 ± 1,88	2,39 ± 1,97
Исследовано образцов		8721	1266	191

Таблица 2. Сравнение показателей НПК в норме [17] и при концентрации сперматозоидов 130 млн/мл и выше

Показатели	Норма [17]	Полизооспермия (≥ 130 млн/мл)
Индекс НПК	2–4 %	5,42 ± 3,01 %
В прелептотене-зиготене	0,66 ± 0,16 %	2,59 ± 2,27 %
В пахитене	0,45 ± 0,10 %	0,63 ± 1,28 %
В диплотене	1,11 ± 0,26 %	0,43 ± 0,84 %
В диакинезе, MI, MII	0,04 ± 0,02 %	0 ± 0 %
Сперматоциты II + сперматиды	91,99 ± 0,89 %	86,3 ± 8,11 %
Неразшедшиеся сперматиды	22,98 ± 2,65 %	18,93 ± 12,34 %
Неидентифицированные половые клетки	5,85 ± 0,85 %	10,05 ± 6,65 %

Результаты исследования и обсуждение

В предыдущих исследованиях нашей лаборатории мы уже изучали некоторые особенности сперматогенеза при полизооспермии [4, 18]. В данной работе мы проанализируем динамику изменения параметров эякулята отдельных пациентов и результаты семиологических исследований с различной концентрацией сперматозоидов.

Известно, что концентрация сперматозоидов в эякуляте значительно колеблется во времени. Согласно 4-му изданию Руководства ВОЗ по анализу эякулята [6, 7], концентрация сперматозоидов в эякуляте одного и того же мужчины, который не принимал никаких лекарств и не испытывал лихорадочного состояния, за 120 нед наблюдений 1 раз достигала 170 млн/мл и 3 раза снижалась до менее чем 10 млн/мл, в подавляющем большинстве наблюдений оставаясь в пределах от 120 до 20 млн/мл. В 5-м издании Руководства приведены результаты наблюдений за концентрацией спермато-



Таблица 3. Показатели количественного кариологического анализа состава по стадиям развития НПК из эякулята при концентрации сперматозоидов 130 млн/мл и выше

Код пациента	Концентрация сперматозоидов, млн/мл*	Индекс НПК, %	В прелептотене-зиготене, %	В пахитене, %	В диплотене, %	В диакинезе, МI, МII, %	Сперматоциты II + сперматиды, %	Неразшедшиеся сперматиды, %	Неидентифицированные половые клетки, %	Клетки эпителия, %	Лейкоциты, %
1	197	11,6	2,3	0	0,6	0	78,8	36,7	18,3	6,1	2,9
2	269	7,4	1,4	0	0	0	90,8	10,8	7,8	6,2	4,4
3	172	7	1,6	0	0,65	0	84,6	23	13,15	5,6	10
4	139	8,3	1	0	0,66	0	89,3	20	9,04	22,6	2,4
5	210	1,5	0	0	0	0	95	12	5	32	22
5	160,5	11,5	3	0	0	0	84,3	42,5	12,7	6	3,2
6	135	10,7	2,6	0	0	0	88,7	47,5	8,7	7,5	41,9
7	142,5	5,6	4,5	1,4	2,3	0	85	13	6,8	12	25
8	139	7,4	4,3	0	1,1	0	82,9	34,5	11,7	12,7	5,3
9	144	3,3	4,5	2,8	2,3	0	83	4	7,4	10	38
10	168	6,3	0	0	0	0	90	12	10	27	24
11	153	1,4	5,7	1,8	1,8	0	87	13	3,7	34	20
11	142	4,7	0,5	0	0,5	0	81,8	22,2	17,2	7	9,7
11	133	8	1,2	0	0	0	90	28	8,8	15	2,2
12	134	1,7	4	2	2	0	85	9	7	22	13
13	229	4,2	0	0	0	0	92,6	13	7,4	19	2
14	173	6	5	1,4	0,7	0	84,6	26	8,4	5	25
15	176	4,5	2,8	1	0	0	93	13,4	3,2	23	13
15	211	4	4,7	0,9	0,9	0	89,7	16	3,8	15	20
16	152	4	6	3	0	0	72	7	19	15	33
17	159	9,2	4,5	0	0	0	86,4	30	9,1	14	5,7
18	159	2,3	6	4	0	0	86	8	4	14	20
19	132	6,8	0	0	0	0	97	9	3	15	9
20	163	8,2	3	0	0	0	84,9	19,3	12,1	12	3,4
21	168	8,5	5,4	0	0,9	0	84,2	32,2	9,5	9,9	5,3
22	132	4,4	0	0	0	0	97	7	3	24	63
23	156	5,6	1	0	0	0	86,3	26,9	12,7	6,5	28
24	244	5,6	0	0	0	0	95	12	5	10	12
24	130	4,3	6	2	0	0	80	7	12	7,3	24
25	362	3	0	0	0	0	95	12	5	27	25
26	189	0,7	0	0	0	0	93	0	7	22	29
27	228	2,2	0	0	0	0	100	0	0	14	21
28	141	0,9	3,7	1,8	0	0	83,5	11	11	22	37
29	238	4,8	5	0	0	0	72,5	24,2	22,5	18,3	2,2
30	171	6,2	1,4	0	0	0	81,6	15,9	17	18	1,9
31	178	1,2	6,4	4,2	2	0	74,4	8	13	23	26
32	192	8,2	3	0	0	0	83,6	24,4	13,4	10,3	8,4
32	182	2,8	0	0	0	0	100	6	0	27	33
33	163	3	2	0	0	0	75,9	15,3	22,1	24,4	2,6
34	166	2	7,8	5,8	3,9	0	76,7	0	5,8	17	22
35	176	3,9	1,5	0	0	0	83	28,7	15,5	10	2,6
36	170	1,5	0	0	0	0	100	7	0	33	37
37	294	12,2	3,3	0	0	0	86,6	34,6	10,1	36,7	2
38	182	5,3	0	0	0	0	97,3	12	2,7	11	21
38	131	6,2	0	0	0	0	95	18	5	9	24
39	158	9,6	6,1	0	1,8	0	73	44,4	19,1	8	7
40	142,5	1,7	0	0	0	0	89	10	11	12	21
41	164	6,7	1,9	0,38	0	0	83,7	38,2	14,02	11,8	7,4
42	220	4,1	3,8	0,4	0	0	60	27	35,8	14,5	14
43	360	9,5	1,8	0	0	0	86,5	38	11,7	7,9	11,4
44	174	7,4	5	0	0	0	78,8	38,1	16,2	7,5	2,3
45	137,2	4,7	0,9	0	0	0	93,7	16,6	5,4	24,4	1,6

Примечание. * – концентрация сперматозоидов в нативном эякуляте на момент выполнения исследования количественного кариологического анализа НПК. Жирным шрифтом выделены образцы с концентрацией более 250 млн/мл.

зоидов 5 добровольцев, так же показывающие значительную вариабельность этого показателя [8, 9].

Доля образцов эякулята с концентрацией выше 250 млн/мл и объемом эякулята не менее 1,5 мл, по нашим данным, составляет 1,3 % среди мужчин с бесплодием в браке и/или заболеваниями половой системы (188 образцов из 14 388). Сходные данные получены для Пакистана, М. Khan et al. сообщают о 0,9 % полизооспермии в популяции [19, 20].

Всего за период исследования (2007–2012 г.) был обследован 161 пациент с концентрацией сперматозоидов выше 250 млн/мл и нормальным объемом эякулята. Для 71 из них выполнили 2 или более анализов эякулята за время обследования. Следует отметить, что пациенты с полизооспермией в большинстве случаев не являются исключениями из общего правила выраженной индивидуальной вариабельности концентрации сперматозоидов во времени. Так, концентрация выше 250 млн/мл в 2 анализах сохранилась только у 12 пациентов. У остальных 59 мужчин она варьировала, но не опускалась ниже нормы. Также повторно было обследовано 494 пациента, концентрация сперматозоидов в эякуляте которых хотя бы в 1 образце достигала 130 млн/мл, но не поднималась выше 250 млн. У большинства пациентов концентрация сперматозоидов в эякуляте во всех исследованных образцах изменялась в пределах нормы, но у 14 человек в одном из повторных исследований концентрация гамет была ниже 15 млн/мл. У одного из таких пациентов концентрация снизилась со 146 и 73 млн/мл (2 исследования, выполненные в 2007 г. с интервалом в 3 нед при 3 днях полового воздержания) до 0,1 и 2,5 млн/мл (2 исследования, выполненные в 2012 г. с интервалом в 2 мес при 2 и 3 днях полового воздержания), но подробные сведения об этом пациенте, к сожалению, отсутствуют.

Некоторые андрологи считают, что в ряде случаев полизооспермия может являться предшественником олигозооспермии [21, 22]. Предполагают, что пациенты с полизооспермией нуждаются в наблюдении врача-андролога и в периодическом проведении контрольных спермограмм.

Выявлена повышенная частота полизооспермии у работников газоперерабатывающего завода, которая, по предположению автора [23], может быть объяснена особенностями индивидуальных ответов организма на действие токсикантов и в ряде случаев может являться одной из стадий развития более тяжелых нарушений фертильности. Однако автор работы уточняет, что это предположение требует отдельных исследований.

В Руководстве ВОЗ (2010) [8, 9] подчеркивается, что невозможно охарактеризовать качество эякулята мужчины при анализе единственного образца семени, желателно оценить 2 или 3 образца [24, 25]. К сожалению, далеко не все следуют этому правилу, многие ограничиваются единственным анализом. Полученные

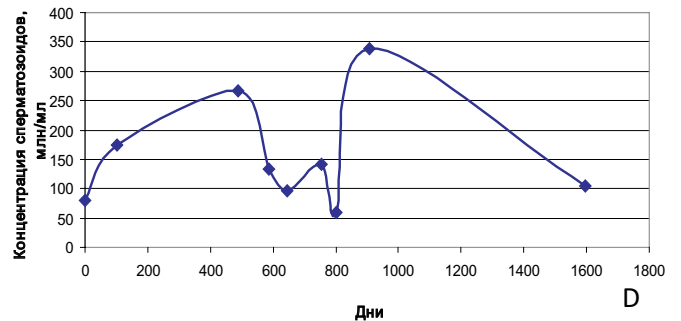
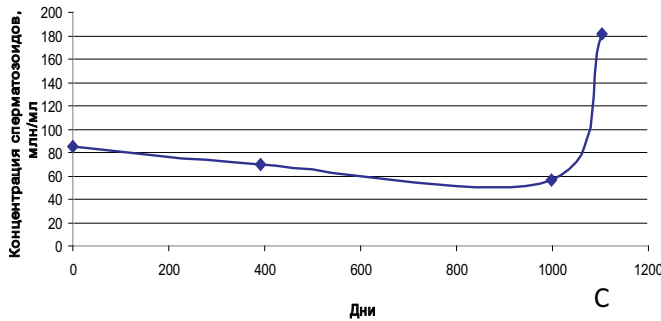
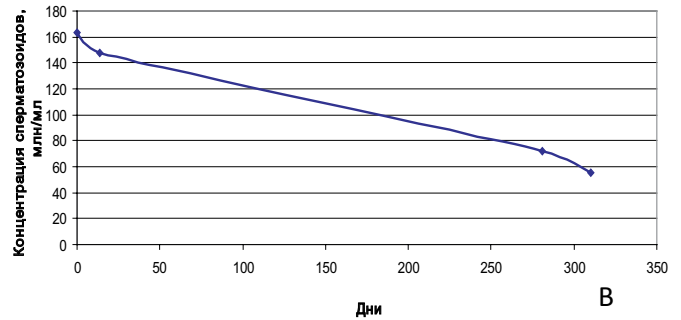
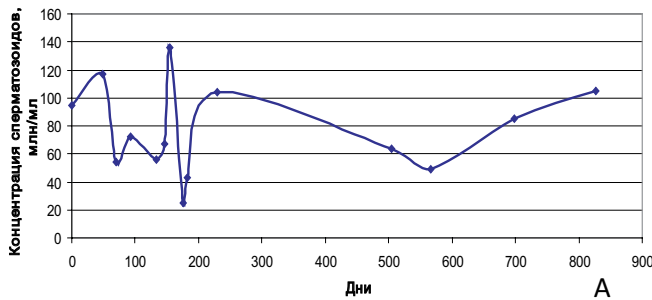
нами данные подтверждают значительную индивидуальную вариабельность показателей спермограммы, продемонстрированную другими исследователями, поэтому считаем нужным еще раз подчеркнуть необходимость повторной сдачи эякулята (не менее 2 раз, с интервалом между этими анализами не менее 2 нед) перед постановкой диагноза и назначением лечения. На графиках (рисунок) проиллюстрированы примеры динамики концентрации сперматозоидов в эякуляте отдельных пациентов.

При количественном анализе НПК – состава сперматоцитов I на разных стадиях профазы I мейоза, сперматоцитов II и сперматид, нарушения деления сперматид и дегенеративных форм (из эякулята) в 36 (69 %) образцах из 52 исследованных выявлен частичный блок на допахитенных стадиях: от прелептотены до зиготены профазы I мейоза (см. табл. 2, 3).

Среди всех 10 178 образцов эякулята с нормальной концентрацией сперматозоидов (≥ 15 млн/мл) доля таковых с концентрацией ≥ 130 млн/мл, но < 250 млн/мл (II группа) составляла 12,4 %, а с концентрацией ≥ 250 млн/мл (III группа) – 1,9 %. Максимальная концентрация среди исследованных нами образцов достигала 615 млн/мл. М. Khan et al. [19, 20] в своих работах по Пакистану наблюдали пациента с максимальной концентрацией 660 млн/мл, а R. Amelar et al. [26] обследовали 2 супружеские пары с бесплодием, в которых концентрация сперматозоидов у мужей превышала 1 млрд/мл.

Объем эякулята в нашем исследовании достоверно различается во всех 3 группах, в группе I он наибольший, в группе III – наименьший. Повышенная доля мертвых сперматозоидов в эякуляте (некрозооспермия) в группах I и II выявлена у 1 % мужчин, а в группе III – в 3 % случаев. При этом доля живых сперматозоидов (см. табл. 1) достоверно отличалась во всех 3 группах, в группе I она достоверно выше, а в группе III – ниже, чем в других группах.

У мужчин всех 3 групп преобладала астенозооспермия (доля прогрессивно подвижных сперматозоидов менее 32 %). Так, в группе I она была выявлена в 62 %, в группе II – в 64 %, а в III – в 77 % образцов. Астено-тератозооспермия выявлена в 18, 12 и 8 % образцов в группах I, II и III соответственно. В группе III тератозооспермия не была отмечена, в группах I и II она составляла менее 1 %. Между группами I и II не выявлено различий по показателю прогрессивной подвижности сперматозоидов, а в группе III она достоверно ниже, чем в группах с меньшей концентрацией. Доля морфологически нормальных сперматозоидов в группе I достоверно ниже, чем в группах II и III, а достоверных различий между группами II и III не выявлено. Нормозооспермия (по нормам ВОЗ, 2010) [8, 9] отмечена в 20, 24 и 15 % случаев в группах I, II и III соответственно.



Примеры изменения параметров эякулята отдельных пациентов (А–D)

В группе I доля образцов эякулята с агглютинацией сперматозоидов составляет 10,6 %, в группе II – 44 %, а в группе III – 55 %. Таким образом, при увеличении концентрации возрастает агглютинация сперматозоидов.

Доля пациентов с повышенной концентрацией лейкоцитов (лейкоспермией) в группе I составляет 30 %, в группе II – 55 %, в группе III – 67 %. Все группы достоверно отличаются друг от друга.

Качество сперматозоидов при повышенной концентрации лейкоцитов в эякуляте является предметом продолжающейся дискуссии в научной литературе. В ряде исследований показано, что лейкоциты могут оказывать положительное влияние на долю морфологически нормальных сперматозоидов в эякуляте. Так, M. Tomlinson et al. продемонстрировали, что лейкоциты фагоцитируют атипичные сперматозоиды [27], а A. Kiessling et al. отметили улучшение подвижности сперматозоидов в образцах эякулята с концентрацией лейкоцитов более 2 млн/мл [28].

Тем не менее результаты исследований последних лет свидетельствуют о негативном влиянии активных радикалов кислорода, выделяемых лейкоцитами, на качество сперматозоидов. Ряд авторов приводят данные о негативном действии окислительного стресса на сперматозоиды. Полагают, что следствием данного воздействия являются нарушения жгутика и акросомы сперматозоида [29]. Кроме того, было показано, что активные формы кислорода провоцируют изменения в симметрии цитоплазматической мембраны сперматозоидов [30], а по данным других авторов, также приводят к повышению фрагментации ДНК [31, 32].

Результаты некоторых исследований свидетельствуют о том, что при полизооспермии наблюдается снижение фертильной способности сперматозоидов, в частности нарушение акросомной реакции [33]. При исследовании акросомной реакции в 3 группах – у пациентов с полизооспермией, с нормозооспермией и в группе доноров (мужчин с доказанной фертильностью) было показано, что в большей части сперматозоидов пациентов с полизооспермией не происходит акросомная реакция [33]. Объектом ряда исследований стал акрозин (сернивая протеиназа), один из 3 ключевых акросомных ферментов, играющий важную роль в процессе оплодотворения яйцеклетки. В исследованиях W. Schill et al. установлено, что у пациентов с полизооспермией ферментативная активность акрозина снижена на 59 % по сравнению с группой контроля (нормозооспермия) [34]. J. Calamera et al. также сравнили показатели сперматогенеза и концентрацию акрозина у 46 пациентов с полизооспермией и в группе контроля (50 мужчин). Объем эякулята, подвижность и морфологические критерии в 2 группах статистически не различались, однако концентрация акрозина в группе пациентов с полизооспермией была значительно снижена [35].

Наряду с накоплением доказательств, что повышенные концентрации сперматозоидов при нормальном объеме эякулята может быть одной из причин снижения мужской фертильности, частое сохранение фертильности у пациентов с полизооспермией позволяет авторам [15] усомниться в том, действительно ли следует рассматривать полизооспермию как патологиче-

ское состояние, приводящее к бесплодию. В ретроспективном исследовании, включавшем 121 пациента с полизооспермией, было показано, что такие показатели спермограммы, как подвижность и доля морфологически нормальных сперматозоидов в эякуляте, у данных пациентов соответствовали нормам ВОЗ. При этом повышенная концентрация сперматозоидов не влияла на вероятность оплодотворения и частоту наступления беременности в циклах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) [15]. Другие авторы, проанализировавшие результаты переноса эмбриона после цикла ЭКО с использованием сперматозоидов мужчин с полизооспермией [13], также делают выводы, что частота наступления беременности в этих случаях находилась в тех же пределах, что и у мужчин с нормальной концентрацией сперматозоидов. При этом только 0,5 % из 7863 циклов ЭКО были проведены с использованием материала данных пациентов [13].

Согласно полученным нами результатам, доля образцов с концентрацией ≥ 130 млн/мл и нормальным объемом эякулята составляет около 10 % (1457 из 14 388) всех образцов, исследованных в нашей лаборатории за период 2007–2012 гг. У пациентов с бесплодием в браке и/или заболеваниями половой системы, в образцах эякулята которых концентрация сперматозоидов ≥ 130 млн/мл, доля морфологически нормальных сперматозоидов достоверно выше, чем при нормальной концентрации, повышена концентрация лейкоцитов и чаще встречается агглютинация сперматозоидов. Подвижность сперматозоидов в образцах с концентрацией ≥ 250 млн/мл достоверно ниже, чем в остальных.

До настоящего времени остается открытым вопрос, влияет ли повышенная концентрация сперматозоидов в эякуляте на фертильность мужчины. Для выяснения причин бесплодия в браке необходимо проведение комплексного медико-генетического обследования пар с бесплодием.

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. Тиктинский О.Л., Михайличенко В.В. Андрология. СПб.: Медиа Пресс, 1999. 464 с.
3. Krause W. The significance of the “routine spermogram”. A critical analysis. *Hautarzt* 1993;44(5):269–74.
4. Курило Л.Ф., Гришина Е.М., Сорокина Т.М. и др. Полизооспермия как одна из причин снижения мужской фертильности. *Андрол и генит хир* 2004;3:32–5.
5. Dorland’s Medical Dictionary for Health Consumers. Saunders, 2007. Доступен на <http://medical-dictionary.thefreedictionary.com/polyzoospermia>.
6. Руководство ВОЗ по лабораторному исследованию эякулята человека и взаимодействия сперматозоидов с цервикальной слизью. 4-е изд. Пер. с англ. Р.А. Нерсесяна, научн. ред. Л.Ф. Курило. М.: МедПресс, 2001. 143 с.
7. WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-cervical Mucus Interaction. 4th ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1999. 128 p.
8. Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека. 5-е изд. Пер. с англ. Н.П. Макарова, научн. ред. Л.Ф. Курило. М.: Капитал принт, 2012. 291 с.
9. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. WHO, 2010. 271 p.
10. WHO Manual for the Standardized Investigation, Diagnosis and Management of the Infertile Male. Cambridge: Cambridge University Press, 2000. 102 p.
11. Glezerman M., Bernstein D., Zakut C. et al. Polyzoospermia: a definite pathologic entity. *Fertil Steril* 1982;38:605–8.
12. Damjanov I. Clinical evaluation of the infertile couple. In: *Pathology of infertility*. Mosby-Year Book, Inc. St. Louis, Missouri, 1993. Pp. 7–42.
13. 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;12:2183–5.
14. 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.
15. 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.
16. 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.
17. Курило Л.Ф., Дубинская В.П., Остроумова Т.В. и др. Оценка сперматогенеза по незрелым половым клеткам эякулята. *Пробл репрод* 1995;3:33–8.
18. Хаят С.Ш., Мясников Д.А., Курило Л.Ф. Анализ патогенеза полизооспермии. *Андрол и генит хир* 2011;3:51–7.
19. 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.
20. 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.
21. <http://www.uronet.ru/analiz/spermogramma.html>.
22. <http://www.andrologia.ru/index.php/fuseaction/spermogramma>.
23. Выборнов С.В. Биохимические показатели репродуктивного здоровья мужчин, работающих на Астраханском газоперерабатывающем заводе. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2006. 19 с.
24. Berman N.G., Wang C., Paulsen C.A. Methodological issues in the analysis of human sperm concentration data. *J Androl* 1996;17(1):68–73.
25. Castilla J.A., Alvarez C., Aguilar J. et al. Influence of analytical and biological variation on the clinical interpretation of seminal parameters. *Hum Reprod* 2006;21(4):847–51.
26. Amelar R.D., Dubin L., Quigley M.M., Schoenfeld C. Successful management of infertility due to polyzoospermia. *Fertil Steril* 1979;31(5):521–4.



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. 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.
30. 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.
31. 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;85(1):149–54.
32. Henkel R., Kierspel E., Stalf 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.
33. Töpfer-Petersen E., Völcker C., Heissler E., Schill W.-B. Absence of acrosome reaction in polyzoospermia. *Andrologia* 1987;19:225–8.
34. Schill W.-B., Feifel M. Low acrosin activity in polyzoospermia. *Andrologia* 1984;16:589–91.
35. Calamera J.C., Gioenco P., Brugo S. et al. Adenosine 5 triphosphate (ATP) content and acrosin activity in polyzoospermic subjects. *Andrologia* 1987;19:460–3.