

Влияние различных факторов на параметры эякулята человека *in vitro*

В.В. Евдокимов¹, Д.Т. Айбятгов¹, В.Б. Туровецкий², Л.А. Андреева³, Н.Ф. Мясоедов³,
Е.В. Шмальгаузен⁴, В.И. Муранец⁴

¹НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ НМИРЦ Минздрава России;
Россия, 105425, Москва, ул. 3-я Парковая, 51, стр. 4;

²биологический факультет ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова»;
Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12;

³ФГБУН «Институт молекулярной генетики Российской академии наук»;
Россия, 123182, Москва, площадь Академика Курчатова, 2;

⁴Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского
ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова»; Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 40

Контакты: Валерий Васильевич Евдокимов vvevdok@mail.ru

Представлены результаты исследований влияния ряда экспериментальных воздействий (химических веществ и электромагнитного излучения) на сперматозоиды человека. Показано, что излучение подавляет подвижность сперматозоидов. Негативный эффект в отношении подвижности и жизнеспособности сперматозоидов оказывают также высокая концентрация перекиси водорода и криоконсервация эякулята. Противоположный эффект на подвижность сперматозоидов вызывает низкая концентрация перекиси водорода. Положительные результаты получены также при использовании некоторых регуляторных пептидов. Антиоксиданты в эксперименте увеличивают число подвижных половых клеток. Клинические наблюдения с использованием антиоксидантов подтверждают результаты лабораторных исследований.

Ключевые слова: демография, бесплодный брак, эндогенные и экзогенные воздействия, мужской фактор, сперматозоиды

DOI: 10.17650/2070-9781-2015-16-4-40-45

The *in vitro* influence of different factors on the indicators of human ejaculate

V.V. Evdokimov¹, D.T. Ayblyatov¹, V.B. Turovetsky², L.A. Andreeva³, N.F. Myasoedov³,
E.V. Shmal'gauzen⁴, V.I. Muranets⁴

¹N.A. Lopatkin Research Institute of Urology and Interventional Radiology – Branch of National Medical Radiology Research Center,
Ministry of Health of Russia; 51 3rd Parkovaya St., Build. 4, Moscow, 105425, Russia;

²Faculty of Biology, M.V. Lomonosov Moscow State University; 1 Leninsky Gory, Build. 12, Moscow, 119991, Russia;

³Institute of Molecular Genetics, Russian Academy of Sciences; 2 Akademika Kurchatova Square, Moscow, 123182, Russia;

⁴A.N. Belozersky Research Institute of Physicochemical Biology, M.V. Lomonosov Moscow State University;
1 Leninsky Gory, Build. 40, Moscow, 119991, Russia

The paper presents the results of investigations dealing with the impact of experimental exposures (to chemical substances and electromagnetic radiation) on human sperm. The radiation is shown to suppress sperm motility. High hydrogen peroxide concentrations and ejaculate cryopreservation have also a negative effect on sperm motility and viability. Low hydrogen peroxide levels cause the opposite effect on sperm motility. The use of some regulatory mechanisms also yields positive results. Antioxidants increase the number of mobile sex cells in an experiment. Clinical observations using antioxidants support the results of laboratory tests.

Key words: demography, infertile couples, endogenous and exogenous exposures, male factor, sperm

Введение

Современная демографическая ситуация в России характеризуется снижением рождаемости. По оценкам демографов и социологов, эта тенденция не исчезнет на протяжении многих лет. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), частота бесплод-

ных браков в разных странах колеблется от 10 до 20 % от общего числа супружеских пар (в России число бесплодных браков достигает 17 %) [1–3]. В настоящее время установлено, что ведущей причиной бесплодного брака служит мужской фактор. Поэтому проблема нарушения репродуктивной функции мужчин при-



обрела особую медицинскую и социальную значимость. Прогрессирующее снижение мужской фертильности оценивают как многофакторное состояние, которое может быть связано с воздействием эндогенных и экзогенных факторов или носить идиопатический характер. Основными внешними факторами являются экологические: электромагнитные излучения мобильных телефонов, компьютеров, ноутбуков, бытовых приборов, промышленной аппаратуры, радиация из различных источников — рентгеновская аппаратура, изотопы, а также загрязнение воздуха, воды, почвы. Эти воздействия могут быть одновременными, что повышает риск для человека. Установлено, что под влиянием даже незначительных по величине физических или химических факторов, действующих совместно, в организме человека происходят глубокие изменения различных функций, и это явление называется биологическим усилением. Причинами мужского бесплодия, помимо упомянутых внешних факторов, могут быть внутренние: различного рода инфекции, включая инфекции, передаваемые половым путем, вызывающие заболевания репродуктивных органов и варикоцеле [4–6]. Значительные усилия исследователей и клиницистов направлены на нейтрализацию вредных факторов, влияющих на мужскую фертильность. Эти работы ведутся с использованием различных веществ и препаратов, стимулирующих сперматогенез и повышающих фертильность эякулята.

Целью наших исследований явилось изучение влияния различных физико-химических факторов на параметры эякулята *in vitro* и *in vivo*.

Материалы и методы

Исследования проводили на сперматозоидах человека. Эякулят был получен в соответствии с рекомендациями ВОЗ. После разжижения эякулят исследовали с использованием микроскопа Amplival (Karl Zeiss Jena) при увеличении $\times 400$. Параметры эякулята оценивали по стандартам ВОЗ 4-го издания [7]. Эксперименты проводили при температуре 20–22 °С.

Для определения подвижности сперматозоидов в опытах с регуляторными пептидами в 1 мл эякулята вносили 10 или 1000 мкг пептида и измеряли общую и активную подвижность сперматозоидов через 1 и 3 ч инкубации. При изучении влияния низких концентраций перекиси водорода в 1 мл эякулята вносили 10 мкл вещества в соответствующем разведении, так чтобы конечная концентрация составляла 10^{-4} и 10^{-5} М. Определяли изменение подвижности сперматозоидов через 30 мин и 1 ч инкубации при комнатной температуре. После определения подвижности сперматозоидов перекись водорода удаляли добавлением каталазы и сперматозоиды отделяли центрифугированием в течение 20 мин при 3000 об/мин. Затем в сперматозоидах из тех же образцов эякулята определяли активность фер-

мента глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (ГАФДс), как описано в работе [8].

Жизнеспособность сперматозоидов оценивали по наличию или отсутствию проницаемости клеточной мембраны для красителя эозина (ЭО; 1 % водный раствор) по рекомендациям ВОЗ с последующим подсчетом живых и мертвых клеток через 3 и 24 ч. С помощью проточного цитометра Culter Epix XL с использованием 2 флюорохромов: сибра-14 и пропидия иодида (ПИ), как описано в работе [9], оценивали жизнеспособность сперматозоидов через 24 ч или после криоконсервации.

Для криоконсервации эякулята применяли стерильную среду для замораживания, используемую в практике вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) (Sperm Freeze, Бельгия). Замораживание эякулята в жидком азоте и его размораживание проводили по стандартной схеме. Подсчет окрашенных клеток осуществляли сразу после оттаивания образцов [10].

Применению антиоксидантной терапии в клинической практике предшествовали эксперименты с использованием оводорина и мексидола, как описано в работах [11–13].

Полученные результаты представлены в виде среднеарифметических значений и среднеквадратических ошибок исследованных параметров. Результаты экспериментов обрабатывали статистически с использованием критерия Стьюдента. Различия между средними арифметическими значениями параметров считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Широкое использование сотовых телефонов, компьютеров, ноутбуков и других аппаратов и приборов представляется небезвредным для человека. Многочисленные исследования в основном касаются их влияния на нервную и иммунную системы и в меньшей степени — на репродуктивную функцию [14–17]. В связи с этим мы провели изучение влияния этой аппаратуры на эякулят человека *in vitro*. Образцы эякулята подвергали облучению сотового телефона или монитора компьютера в течение 3 ч и затем определяли подвижность сперматозоидов через 1, 3 и 24 ч. Общая подвижность снизилась к 3-му часу наблюдения до 57 % по отношению к исходному уровню (100 %), через 24 ч подвижность упала до 16 % (в контроле — до 34 %). Активная подвижность сперматозоидов через 3 ч достигала только 66 % от исходного уровня (100 %), через 24 ч — 8 % (в контроле — 35 %). Выживаемость сперматозоидов через 24 ч сохранялась на уровне 74 % (в контроле — 95 %). Аналогичные результаты получены при изучении воздействия электромагнитного излучения компьютера на образцы эякулята.

При определении жизнеспособности сперматозоидов в нативном эякуляте с использованием разных красителей (ЭО и ПИ) были получены сопоставимые



результаты: при окрашивании как ЭО, так и ПИ число мертвых клеток составляло 35 %. Однако через 24 ч результаты подсчета клеток значительно различались: окрашивание ЭО выявляло 40 % мертвых сперматозоидов, окрашивание ПИ – 50 %. Эти различия были статистически достоверными, указывая на то, что флюоресцентный метод окрашивания обнаруживает большее число клеток с поврежденной мембраной, чем метод световой микроскопии.

Определение жизнеспособности сперматозоидов после криоконсервации представляет важную проблему в связи с широким применением метода длительного хранения спермы человека и племенных животных. Образцы эякулята замораживали по принятой схеме. Подсчет нежизнеспособных сперматозоидов осуществляли сразу после процедуры оттаивания. Использование ЭО выявляло 58 % мертвых клеток, использование ПИ – 69 %. Полученные результаты показывали достоверно большее количество поврежденных клеток при применении метода проточной цитометрии.

Параллельно с выявлением жизнеспособных сперматозоидов определяли содержание клеток с сохраненной подвижностью после размораживания. Общая подвижность сперматозоидов падала при нормозооспермии с 59 до 37 %, что составляло 64 % от исходных 100 %. Наиболее низкий уровень подвижности сперматозоидов был отмечен в группе пациентов с варикоцеле: после размораживания их подвижность составляла 32 % от исходных 100 %. В группе пациентов с хроническим простатитом подвижность клеток находилась на уровне 56 %.

В целях изучения влияния оксидативного стресса, создаваемого в клетках активными формами кислорода (АФК), включая перекись водорода, на жизнеспособность сперматозоидов были проведены опыты с использованием 3 % перекиси водорода. Окрашивание ЭО выявляло 48 % поврежденных клеток, а применение ПИ – 86 %. И в данной серии экспериментов метод проточной цитометрии выявлял достоверно более высокий уровень повреждения сперматозоидов.

Известно, что повышенный уровень АФК в клетках вызывает в них оксидативный стресс. Это происходит, например, при увеличении концентрации внутриклеточной перекиси водорода [18–21]. В нашем опыте были использованы 2 концентрации перекиси водорода: 47 и 97 мМ (1,4 и 2,9 %). После внесения в 1 мл эякулята соответствующего количества перекиси водорода определяли через 1, 3 и 24 ч число жизнеспособных клеток при окрашивании ЭО. Через 1 ч изменения проницаемости клеточной мембраны были незначительными в обоих случаях, но через 3 и 24 ч повреждения мембран были существенно заметнее: при концентрации 47 мМ число живых клеток через 3 ч составляло 70 %, через 24 ч – 66 %, при концентрации 97 мМ – 71 и 57 % соответственно, в контроле в эти

периоды оставалось 95 и 91 % живых клеток соответственно.

Для защиты от оксидативного стресса, вызванного перекисью водорода, в тех же экспериментах был использован этилметилгидроксипиридина сукцинат (мексидол), обладающий антиоксидантными свойствами [13]. Его добавляли в эякулят в концентрации 500 мкг/мл в присутствии перекиси водорода в указанных концентрациях и в те же интервалы времени определяли число живых сперматозоидов. Через 3 ч инкубации число живых клеток существенно не изменялось: при концентрации перекиси водорода 47 мМ оно составило 93 %, при 97 мМ – 84 % (в контроле – 95 %), но через 24 ч защитный эффект был менее заметен: 64 и 69 % соответственно (в контроле – 88 %). Мексидол, как антиоксидант, позволил поддерживать целостность мембран на протяжении лишь 3 ч.

Было также исследовано влияние мексидола на подвижность сперматозоидов. Оценивали общую подвижность на протяжении 1, 3 и 24 ч инкубации эякулята с мексидолом в концентрации 50 и 500 мкг/мл. Через 1 и 3 ч наблюдения существенное повышение подвижности отмечено в образцах эякулята с мексидолом в концентрации 500 мкг/мл: с 42 до 51 и 49 % соответственно. Мексидол в концентрации 50 мкг/мл не вызывал значительного изменения подвижности сперматозоидов. Через 24 ч инкубации подвижность в опытных образцах с мексидолом в обеих концентрациях находилась на уровне контроля: 12 и 15 % соответственно (контроль – 14 %).

Учитывая положительный экспериментальный эффект мексидола на подвижность сперматозоидов и целостность мембран клеток, мы использовали данный препарат в группе пациентов с выраженной астеноэрозоспермией. Поскольку мексидол является разрешенным фармакологическим препаратом в кардиологии, неврологии, травматологии, мы применили его в клинической практике [13]. В группе из 13 мужчин в возрасте 22–45 лет с жалобами на бесплодный брак назначали мексидол перорально в суточной дозе 100 мг, разделенной на 2 приема. У всех пациентов получено информированное согласие. Курс лечения составлял 1 мес. В анализах эякулята через 1 нед после завершения курса отмечено существенное улучшение параметров фертильности: активная подвижность повысилась почти в 2 раза (на 97 %), общая подвижность – на 50 %, число нормальных форм – на 31 %, число живых клеток – на 12 %. Монотерапия мексидолом дала выраженный эффект, повысив фертильность эякулята.

Наряду с мексидолом в качестве монотерапии был использован оводорин, также обладающий антиоксидантными свойствами [12]. Препарат имеет патентное подтверждение (патент на изобретение № 2422151 зарегистрирован в 2011 г.) и применяется в клинике



как гепатопротектор, при опухолях различной локализации, а также в неврологии. Препарат назначали 12 мужчинам с идиопатической астенотератозооспермией. У пациентов получено информированное согласие. Через 1 мес терапии отмечено повышение общей подвижности сперматозоидов на 18 %, активной подвижности — на 59 %, количества нормальных форм — на 23 %. Положительная динамика параметров фертильности эякулята при данной форме патоспермии сохранялась на протяжении 3–6 мес, что позволяет рекомендовать эти препараты в андрологической практике для коррекции выявляемых нарушений репродуктивной функции.

Актуальной задачей андрологии и репродукции является поиск агентов, способных увеличивать подвижность сперматозоидов, а также повышать их устойчивость к действию повреждающих факторов различной природы. В этом плане интерес в последние годы обращен к олигопептидам, которые способны повышать выживаемость клеток при неблагоприятных воздействиях [22–25]. Важным аспектом этих исследований является отбор тех пептидов, которые обладают максимально выраженным эффектом при действии на сперматозоиды. Нами были проведены эксперименты с несколькими регуляторными пептидами, синтезированными в отделе химии физиологически активных веществ Института молекулярной генетики РАН (руководитель — академик Н.Ф. Мясоедов). Каждый пептид в концентрации 1000 мкг/мл вносили в 1 мл эякулята больных с выраженной астенотератозооспермией (общая подвижность не превышала 43 %, активная — 20 %) и инкубировали при комнатной температуре. Определяли активную и общую подвижность сперматозоидов через 1 и 3 ч. Из исследованных пептидов максимальный эффект в отношении подвижности сперматозоидов был обнаружен при действии пептида семакса. Активная подвижность через 1 ч наблюдения повысилась в 5 раз, и этот уровень сохранялся на протяжении 3 ч (в контроле повышение составляло 95 %). Общая подвижность сперматозоидов увеличилась почти в 2 раза (в контроле — на 9 %). Эффект других пептидов был менее выраженным и не превышал 30–40 %. Эти результаты свидетельствуют о восстановлении подвижности, особенно активной фракции клеток. Вопрос о механизме действия пептидов еще не решен до конца и находится на стадии изучения, однако имеются указания на то, что эти свойства пептидов в определенной степени связаны с их влиянием на кальцие-

вый гомеостаз и функционирование митохондрий. Кроме того, известно, что подвижность сперматозоидов обеспечивается за счет энергии гликолиза, одним из ферментов которого является ГАФДс, который прочно связан с фиброзным слоем жгутика сперматозоида [26]. Авторы предполагают, что подвижность сперматозоидов существенно зависит от активности этого фермента, который высокочувствителен к повреждающему действию клеточных АФК. Это обстоятельство объясняет интерес к поиску агентов, снижающих повышенную продукцию АФК, которая приводит, в частности, к уменьшению подвижности сперматозоидов.

В литературе имеются указания на повышение активности некоторых типов клеток при действии низких концентраций перекиси водорода [27, 28]. В связи с этим нами были проведены эксперименты в целях изучения влияния низких концентраций перекиси водорода на подвижность сперматозоидов. В 1 мл эякулята вносили 10 мкл перекиси водорода в соответствующей концентрации, так чтобы конечная концентрация составляла 10^{-4} и 10^{-5} М. Через 1 ч инкубации отмечено повышение общей подвижности сперматозоидов на 11 %, активной — на 19 %. В тех же образцах эякулята определяли активность ГАФДс. Обнаружено повышение активности фермента на 24 %. Таким образом, действие низких концентраций перекиси водорода приводит к повышению подвижности сперматозоидов и одновременно к увеличению активности фермента ГАФДс. На основании этих данных можно предположить, что выявленный эффект связан с активацией метаболических путей, сопровождающихся увеличением содержания восстановленного глутатиона, что может приводить к восстановлению окисленных активных центров фермента, повышая его активность. Отмеченный эффект может служить индикатором нормальной работы клеточной системы антиоксидантной защиты.

Одним из практических приложений полученных экспериментальных результатов с регуляторными пептидами и низкими концентрациями перекиси водорода является возможность повышения подвижности сперматозоидов при исходной астенозооспермии для использования их в программах ВРТ (экстракорпоральное оплодотворение и интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида). Эти же вещества могут быть использованы при криоконсервации эякулята после процедуры размораживания.



ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Сухих Г.Т., Божедомов В.А. Мужское бесплодие. Практическое руководство для урологов и гинекологов. М.: Эксмо, 2009. 240 с. [Sukhikh G. T., Bozhedomov V.A. Male infertility. Practical guide for urologists and gynecologists. Moscow: Eksmo, 2009. 240 p. (In Russ.)].
2. Бесплодие. Серия технических докладов ВОЗ. 2001. С. 76. [Infertility. Technical Report Series of WHO. 2001. P. 76. (In Russ.)].
3. Андрология. Мужское здоровье и дисфункция репродуктивной системы. Под ред. Э. Нишлага и Г.М. Бере. М., 2005. 450 с. [Andrology. Men's health and reproductive system dysfunction. Eds.: E. Nishlag, G.M. Bere. Moscow, 2005. 450 p. (In Russ.)].
4. Евдокимов В.В., Гушин А.Н., Кондратьев А.С. и др. Изменение показателей сперматогенеза мужчин с сочетанным инфекционным поражением половых желез. Андрология и генитальная хирургия 2011;(2):127–30. [Evdokimov V.V., Gushchin A.N., Kondrat'ev A.S. et al. Change of indices of men's spermatogenesis with combined infectious affect of sexual glands. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2011;(2):127–30. (In Russ.)].
5. Абубакиров А.Н. Повреждение ДНК сперматозоидов и мужское бесплодие. Урология 2009;(3):86–90. [Abubakirov A.N. Damage of sperms' DNA and men's infertility. *Urologiya = Urology* 2009;(3):86–90. (In Russ.)].
6. Oehninger S.C., Kruger T.F. Male infertility diagnosis and treatment. London: Informa Healthcare, 2007.
7. Руководство ВОЗ по лабораторному исследованию эякулята человека и взаимодействия сперматозоидов с цервикальной слизью. 4-е изд. М., 2001. 143 с. [WHO guidance on laboratory studies of human ejaculate and sperms' interaction with cervical mucous. 4th ed. Moscow, 2001. 143 p. (In Russ.)].
8. Шуцкая Ю.Ю., Элькина Ю.Л., Куравский М.Л. и др. Исследование глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы из сперматозоидов человека. Биохимия 2008;73(2):228–37. [Shutskaya Yu. Yu., El'kina Yu.L., Kuravskiy M. L. et al. Investigation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase from human sperm. *Biokhimiya = Biochemistry* 2008;73(2):228–37. (In Russ.)].
9. Евдокимов В.В., Харламова Л.А., Айбяттов Д.Т. и др. Сопоставление методов и условий для качественной оценки сперматозоидов человека. Проблемы репродукции 2012;(3):68–71. [Evdokimov V.V., Kharlamova L.A., Aybyatov D. T. et al. Comparisons of methods and conditions for the qualitative evaluation of human sperms. *Problemy reproduktivnoy = Reproduction Problems* 2012;(3):68–71. (In Russ.)].
10. Евдокимов В.В., Ерохин А.С., Айбяттов Д.Т. Эффективность замораживания эякулята человека в зависимости от используемых сред и криопротекторов. Андрология и генитальная хирургия 2012;(1):21–5. [Evdokimov V.V., Erokhin A.S., Aybyatov D. T. Efficiency of freezing of human ejaculate depending on used media and cryoprotectors. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2012;(1):21–5. (In Russ.)].
11. Евдокимов В.В., Ерохин А.С., Туровецкий В.Б. и др. Исследование эффекта антиоксидантов на подвижность сперматозоидов и при криоконсервации спермы. Андрология и генитальная хирургия 2009;(1):23–8. [Evdokimov V.V., Erokhin A.S., Turovetskiy V.B. et al. Studies of antioxidants' effect on sperms' mobility, as well as on sperm cryonics. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2009;(1):23–8. (In Russ.)].
12. Евдокимов В.В., Харламова Л.А., Туровецкий В.Б. и др. Действие перекиси водорода и этилметилгидроксипиридина сукцината на сперматозоиды человека *in vitro*. Андрология и генитальная хирургия 2010;(1):35–7. [Evdokimov V.V., Kharlamova L.A., Turovetskiy V.B. et al. Effect of the hydrogen dioxide and of the ethylmethylhydroxypyridine succinate on human sperms *in vitro*. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2010;(1):35–7. (In Russ.)].
13. Короткина Р.Н., Руднева В.Г., Коростелев А.Н. и др. Защитное действие антиоксидантного препарата мексидол на мембраны тромбоцитов при кардиохирургических операциях. Клиническая лабораторная диагностика 2005;(9):67–8. [Korotkina R.N., Rudneva V.G., Korostelev A.N. et al. Protective effect of the antioxidant substance of mexidol on thrombocytes' membranes at cardio-surgical operations. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* 2005;(9):67–8. (In Russ.)].
14. Луцкий Д.Л., Николаев А.А., Сухова И.В. Влияние миллиметрового электромагнитного излучения низкой интенсивности на резистентность мембран сперматозоидов. Успехи современного естествознания 2004;(8):56–8. [Lutskiy D.L., Nikolaev A.A., Sukhova I.V. Influence of millimeter electromagnetic radiance of low intensiveness on the resistance of sperms' membranes. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya = Successes of the Modern Natural Science* 2004;(8):56–8. (In Russ.)].
15. Луцкий Д.Л., Николаев А.А., Сухова И.В. Эффекты КВЧ-облучения спермы человека. Успехи современного естествознания 2004;(3):22–3. [Lutskiy D.L., Nikolaev A.A., Sukhova I.V. Effects of the EHF radiation of the human sperm. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya = Successes of the Modern Natural Science* 2004;(3):22–3. (In Russ.)].
16. Волкова Н.А., Павлович Е.В., Гапон А.А. и др. Влияние электромагнитного облучения миллиметрового диапазона на морфофункциональное состояние криоконсервированных спермиев человека. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 2014;157(5):587–90. [Volkova N.A., Pavlovich E.V., Gapon A.A. et al. Influence of the electromagnetic radiation of millimeter diapason on the morphofunctional status of cryopreserved human sperms. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny = Bulletin of the Experimental Biology and Medicine* 2014;157(5):587–90. (In Russ.)].
17. Евдокимов В.В., Туровецкий В.Б. Влияние излучения сотового телефона на фертильность эякулята человека *in vitro*. В сб.: Материалы 1-го конгресса Украинской ассоциации андрологии и сексуальной медицины. Киев, 2009. С. 126. [Evdokimov V.V., Turovetskiy V.B. Influence of the cellular phone radiation on the ejaculate fertility *in vitro*. In: *Materials of the 1st congress of the Ukrainian Association of Andrology and Sexual Medicine*. Kiev, 2009. P. 126. (In Russ.)].
18. Божедомов В.А., Торопцева М.В. Активные формы кислорода и репродуктивная функция мужчин (обзор литературы). Андрология и генитальная хирургия 2011;(3):10–6. [Bozhedomov V.A., Toroptseva M.V. Active oxygen forms and men's reproductive function (literature review). *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2011;(3):10–6. (In Russ.)].
19. Agarwal A., Saleh R.A., Bedaiwy M.A. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril* 2003;79(4):829–43.
20. Зини А., Ал-Натал Н. Антиоксидантная терапия при мужском бесплодии: факт или вымысел? Азиатский журнал по андрологии 2011;13(3):374–81. [Zini A., Al-Natal N. Antioxidant therapy at men's infertility: fact or invention? *Aziatskiy zhurnal po andrologii = Asian Andrology Journal* 2011;13(3):374–81. (In Russ.)].
21. Tarozzi N., Bizzaro D., Flamigni C., Borini A. Clinical relevance of sperm DNA

damage in assisted reproduction. *Reprod Biomed Online* 2007;14(6):746–57.

22. Пирутин С.К., Туровещкий В.Б., Олгаева А.В. и др. Влияние пептида семакса на индуцированное УФ-излучением повреждение плазматических мембран перитонеальных макрофагов мышей. *Вестник МГУ. Серия 16. Биология* 2007;(3):3–5. [Pirutin S.K., Turovetskiy V.B., Odgaeva A.V. et al. Influence of the semax peptide on the damage of plasma membranes of peritoneal macrophages of mice, induced by UV-radiation. *Vestnik MGU. Seriya 16. Biologiya = MSU Herald. Series 16. Biology* 2007;(3):3–5. (In Russ.)].

23. Сторожевых Т.П., Тухбатова Г.Р., Сенилова Я.И. и др. Влияние семакса и его фрагмента pro-gly-pro на кальциевый гомеостаз нейронов и их выживаемость в условиях глутаматной токсичности. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины* 2007;143(5):538–41. [Storozhevyykh T.P., Tukhatova G.R., Senilova Ya.I. et al. Influence of the semax and of its pro-gly-pro fragment on the calcium homeostasis of neurons and on its survival rate under glutamate toxicity

conditions. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny = Bulletin of the Experimental Biology and Medicine* 2007;143(5):538–41. (In Russ.)].

24. Хавинсон В.Х., Тарновская С.И., Линькова Н.С. и др. Короткие пептиды, проникающие в клетку: модель взаимодействия с промоторными участками генов. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины* 2012;154(9):391–6. [Khavinson V.Kh., Tarnovskaya S.I., Lin'kova N.S. et al. Short cell-penetrating peptides: model of interaction with promoter parts of genes. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny = Bulletin of the Experimental Biology and Medicine* 2012;154(9):391–6. (In Russ.)].

25. Малинин В.В., Дурнова А.О., Полякова В.О. и др. Влияние пептида lys-glu-trp на межклеточные взаимодействия и пролиферацию эндотелия сосудов в норме и при атеросклерозе. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины* 2014;157(3):298–300. [Malinin V.V., Durnova A.O., Polyakova V.O. et al. Influence of lys-glu-trp peptide on intracellular interactions and

on the proliferation of vessels endothelium in both normal condition and atherosclerosis. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny = Bulletin of the Experimental Biology and Medicine* 2014;157(3):298–300. (In Russ.)].

26. Элькина Ю.Ю., Атрощенко Е.Е., Шмальгаузен Е.В. и др. Окисление глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы приводит к снижению подвижности сперматозоидов. *Биохимия* 2011;76(2):338–44. [El'kina Yu.Yu., Atroshchenko E.E., Shmal'gauzen E.V. et al. Oxidation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase leads to a reduction in sperm mobility. *Biokhimiya = Biochemistry* 2011;76(2):338–44. (In Russ.)].

27. Rivlin J., Mendel J., Rubinstein S. et al. Role of hydrogen peroxide in sperm capacitation and acrosome reaction. *Biol Reprod* 2004;70(2):518–22.

28. Hosseinzadeh Colagar A., Karimi F., Jorsaraei S.G. Correlation of sperm parameters with semen lipid peroxidation and total antioxidants levels in astheno- and oligoasthenoteratospermic men. *Iran Red Crescent Med J* 2013;15(9):780–5.