

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

Review Articles

Обзор
УДК 616.64
DOI: 10.14489/icmp.2021.01.pp.057-068

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА МУЖСКОГО БЕСПЛОДИЯ. МАРКЕРЫ. Часть I

Ж. Ю. Сапожкова^{1,2}, Г. А. Милованова^{2,3}, О. И. Пацап^{1,4}

¹Международная Школа Цитологии и Медицинская Школа Инноваций, Москва, Россия, icsschool.2019@gmail.com

²Подольский диагностический центр, Подольск, Россия,

³ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Россия, g.milovanova2018@gmail.com

⁴ФГБУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» ФМБА, Москва, Россия, cleosnake@yandex.ru

В настоящее время клиническая лабораторная диагностика мужского бесплодия является неотъемлемой частью лечебно-диагностического процесса в сфере репродуктивной медицины. В данном реферативном обзоре представлена информация о новых и традиционных иммунологических, клеточных, биохимических и других маркерах эякулята человека. К сожалению, в настоящее время в силу отсутствия обновленных клинических рекомендаций по диагностике мужского и женского бесплодия, все чаще применяются неинформативные алгоритмы и несовместимые критерии оценки. Такая ситуация приводит к противоречивым дискуссиям, где ставится под сомнение диагностическая функция лабораторных маркеров и тестов. В целях углубленного изучения возможных причин мужской infertility и субфертильности необходим постоянный поиск инновационных подходов, предложение рациональных решений на основе уже существующих и новых и лабораторных маркеров.

Ключевые слова: мужское бесплодие, биомаркеры, лабораторная диагностика..

Для цитирования: Сапожкова Ж.Ю., Милованова Г.А., Пацап О.И. Лабораторная диагностика мужского бесплодия. Маркеры. Часть I // Лабораторная и клиническая медицина. Фармация. 2021. Т. 1, № 1. С. 57 – 68. DOI: 10.14489/icmp.2021.01.pp.057-068

Review

LABORATORY DIAGNOSTICS OF MALE INFERTILITY. BIOMARKERS. Part I

Zh. Yu. Sapozhkova^{1,2}, G. A. Milovanova^{2,3}, O. I. Patsap^{1,4}

¹International Cytology School, Head, Senior Lecturer, Moscow, Russia

²Privat Medical Centre of Podolsk, Podolsk, Russia

³Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

⁴Federal Center of Brain Research and Neurotechnologies FMBA, Moscow, Russia

Currently, clinical laboratory diagnostics of male infertility is an integral part of the diagnostic process in the field of reproductive medicine. This review provides information about novel and traditional immunological, cellular, biochemical and other markers of human semen, which are used in the complex laboratory diagnostics of male infertility. Unfortunately, at present, due to the lack of updated clinical guidelines for male and female infertility diagnostics, uninformative algorithms and incompatible assessment criteria are increasingly used. This situation leads to controversial discussions, where the diagnostic functions of laboratory tests and markers are questioned. That is why the constant search is needed for innovative diagnostic approaches aimed at in-depth study of the pathogenesis of male infertility and subfertility.

Key words: male infertility, biomarkers, laboratory diagnostics.

For citation: Sapozhkova ZhYu, Milovanova GA, Patsap OI. Laboratory diagnostics of male infertility. Biomarkers. Part I. *Laboratory and Clinical Medicine. Pharmacy.* 2021;1(1):57-68. (In Russ). DOI: 10.14489/lcmp.2021.01.pp.057-068

Сегодня клиническая лабораторная диагностика с каждым днем приобретает статус неотъемлемой и первостепенной во всех сферах медицины, в том числе и репродуктивной.

По данным литературы, причины мужского бесплодия могут быть разнообразными - генетические, иммунологические и др. Кроме того, на фертильность мужчины влияют любое системное заболевание, многочисленные факторы окружающей среды и образ жизни [1].

Диагностическая оценка возможных причин мужской инфертильности и субфертильности основана на лабораторных исследованиях. В настоящее время в силу отсутствия обновленных клинических рекомендаций по диагностике мужского и женского бесплодия, все чаще применяются неинформативные алгоритмы и несовместимые критерии оценки. Такая ситуация приводит к противоречивым дискуссиям, где ставится под сомнение диагностическая функция лабораторных тестов и маркеров. В этой связи, повышение профессиональной компетентности междисциплинарного сообщества врачей в целях верной интерпретации отдельных параметров и анализов комплексного анализа эякулята человека (АЭяЧ) является необходимым.

В реферативном обзоре представлена информация о новых и традиционных иммунологических, клеточных, биохимических и других маркерах эякулята человека, которые используются в комплексной лабораторной диагностике мужского бесплодия. Важно подчеркнуть, что согласно результатам многолетних исследований и разработок, АЭяЧ заслуживает особого внимания ввиду неинвазивного подхода к процедуре исследования, подтверждающего или исключающего как мужской фактор бесплодия, так и статус инфекционного носительства пациентов [2-5].

Эндокринная регуляция функции яичек. Тестостерон, синтезируемый клетками Лейдига (КЛ), подавляет как системные, так и тестикулярные иммунные ответы на аутоантигены [6, 7]. Более того, тестостерон может воздействовать на клетки Сертоли (КС) через рецептор андрогенов (АР), экспрессируемый на этих клетках. Мышиные модели клеточно-специфического подавления АР в КС приводят к нарушению иммунной привилегии яичек, что приводит к остановке сперматогенеза [8].

С другой стороны, наличие воспалительных факторов в яичках также может влиять на функцию КЛ, тем самым оказывая влияние на секрецию тестостерона при возникновении орхита. Сообщается, что *фолликулостимулирующий гормон* (ФСГ), продуцируемый гипофизом, регулирует пролиферацию КС [9, 10], которые, в свою очередь, способствуют проникновению макрофагов в семенные каналцы, секретирующих набор цитокинов, что приводит к апоптозу сперматогоний [11].

По данным литературных источников, распространенность иммуноопосредованного бесплодия, обусловленного присутствием в эякуляте аутоантител, которые иммобилизуют или агглютинируют сперматозоиды, составляет 4 % – 6 % [12, 13, 14]. Эти аутоантитела называют *анти-спермальными антителами* (АСА).

С одной стороны, следуя мировым публикациям, при врожденном двустороннем отсутствии семявыносящего протока, а также после вазэктомии аутоантитела к сперматозоидам выявляются более чем у 50 % пациентов. Некоторые ученые рассматривают доказательства неубедительными в пользу индукции аутоантител после инфекционно-воспалительного процесса половых путей [15, 16]. Вопреки многочисленным дискуссиям мировое профессиональное сообщество полагает, что АСА направлены против антигенов сперматозоидов и способны нарушать их функции. АСА, хотя и не являются абсолютной причиной бесплодия, тем не менее, могут способствовать снижению вероятности зачатия [17]. Более того, определение АСА включено в перечень стандартных тестов диагностики мужского и женского бесплодия [18 – 22] и в обязательный перечень обследования супружеской пары перед проведением экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) [23].

Вследствие нарушения гематотестикулярного барьера (ГТБ) у мужчин АСА могут обнаруживаться в семенной жидкости. Это важная находка в случае, когда все остальные параметры спермы в норме. Выявление АСА на живых сперматозоидах – это общепринятая методика определения аутоиммунного ответа. Не установлено взаимосвязи между АСА и снижением концентрации или подвижности сперматозоидов, но выявлено нарушение функции сперматозоидов вследствие присоединения АСА к их мембране: связываясь с по-

верхностью сперматозоидов, АСА могут нарушать их проникновение через *cumulus* и/или *zona pellucida* (ZP) – видоспецифический гликопротеиновый слой яйцеклетки. Кроме того, связывание АСА может стать причиной агглютинации сперматозоидов.

АСА могут присутствовать у гомосексуалистов и ВИЧ-инфицированных мужчин. К возможным факторам риска появления АСА у мужчин можно отнести травмы мочеполовых органов, крипторхизм, варикоцеле, *инфекции, передаваемые половым путем* (ИППП) [24]. Было установлено, что при ИППП инфицированная патогенными бактериями семенная жидкость насыщается микроорганизмами, которые могут вызывать провоспалительный ответ; такой эякулят не способен обеспечить достаточный уровень иммуносупрессии, поэтому у женщин-партнёров также могут появиться АСА [25].

АСА подразделяются: 1) по характеру действия антител: агглютинирующие, цитотоксические, иммобилизирующие; 2) по классу иммуноглобулинов: IgG – имеют системное происхождение, IgA – синтезируются местно в репродуктивном тракте, IgM – появляются при значительных повреждениях ГТБ; нарушение ГТБ может быть в результате травмы, инфекции, низкодозной хронической радиации [26].

Показаниями для определения АСА являются наличие агглютинации, олигозооспермия, астенозооспермия, тератозооспермия, некрозооспермия, азооспермия; повторный отрицательный посткоитальный тест (АСА нарушают проникновение и продвижение сперматозоидов в слизь цервикального канала); неустановленная причина бесплодия; реконструктивная операция вазовазостомии после вазэктомии; любая инвазивная процедура/исследование у партнера женского пола; *вспомогательные репродуктивные технологии* (BPT) для коррекции протокола.

Среди антигенов, специфичных для бесплодных мужчин, было выявлено двенадцать (12) белков сперматозоидов. Протеомный анализ позволил идентифицировать двадцать семь (27) антигенов сперматозоидов человека, о которых ранее не сообщалось [24]. Предполагается, что выявленные белки могут быть причиной иммуноопосредованного бесплодия, в частности провоспалительные цитокины, антитела к ламинину, белки теплового шока (Heat shock proteins/HSP) на поверхности сперматозоидов, а именно Hsp-60; мембранный антиген сперматозоидов CD52, богатый цистеином секреторный белок 2 (CRISP-2), дипептидаза

3 (DPEP3), простасомы, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (GAPDHS) и др. [18].

Простасомы – органеллы, секретируемые эозинофилами эпителиальных клеток ацинусов простаты. Они участвуют в защите сперматозоидов против иммунного ответа в женском репродуктивном тракте. Свойство сперматозоидов транспортировать прикрепленные простасомы позволило предположить, что они являются новым видом антигенов АСА. Циркулирующие человеческие АСА распознают простасомы. Среди двенадцати (12) идентифицированных простасомальных антигенов иммунодоминантными оказались пролактин-индуцибельный белок (частота встречаемости 95%) и кластерин (частота встречаемости 85%), тогда как остальные десять (10) встречались спорадически [27]. Возможно, это причина более частых находок АСА в семенной плазме по сравнению с определением на сперматозоидах.

DPEP3 – член семейства мембраносвязанных дипептидаз, ее тестикулярная форма является гликозилированным гомодимером с дисульфидными связями, экспрессируется герминативными тестикулярными клетками. Обнаружено, что DPEP3 образует комплексы с Ts4-иммунореактивными молекулами (антитела к акросомальному региону сперматозоидов из хвоста придатка яичек), такими как TEX101, на поверхности сперматоцитов, сперматид и сперматозоидов в тестикулах.

CRISP-2 – поверхностный белок сперматозоидов, необходимый для их взаимодействия с яйцеклеткой. Показано, что анти-CRISP-2-антитела снижают фертильность *in vitro*, приводя к иммобилизации сперматозоидов. Сообщалось о перекрестно реагирующих антителах, распознающих CRISP-2 и антиген 5 яда ос рода *Dolichovespula* (Vesv5) в человеческой сыворотке. У MAR+ пациентов была обнаружена более высокая частота аллергических реакций против яда перепончатокрылых и более высокий уровень перекрестно реагирующих с Vesv5 и CRISP-2-антител. Интересно, что очищенные АСА из MAR+ образцов сывороток пациентов реагировали с обеими типами антигенов – Vesv5 и CRISP-2. АСА связываются с поверхностью сперматозоидов, в том числе с головкой сперматозоидов, где локализуется CRISP-2. Предполагается, что MAR+ пациенты могут иметь более высокий риск развития аллергии к осиному яду или наоборот, у пациентов с аллергией к осиному яду может возникнуть аутоиммунитет.

Мембранный антиген сперматозоидов CD52 был обнаружен на моноклеарных клетках

крови (в том числе лимфоцитах и моноцитах) и на минорной популяции полиморфноядерных лейкоцитов. CD52-подобная молекула секретируется эпителием придатков яичек, а затем встраивается в мембрану сперматозоидов во время переноса в дистальную часть придатка.

HSP на поверхности сперматозоидов.

Плазматическая мембрана сперматозоидов, как известно, имеющая решающее значение для оплодотворения, разделена на домены головки, средней и хвостовой частей. Тем не менее, молекулярный состав мембраны сперматозоида и ее изменения при прохождении половых путей, капацитации и акросомальной реакции в настоящее время является малоизученным. Выявлено девяносто восемь (98) белков на плазматической мембране сперматозоидов человека, которые были доступны для маркировки биотином и радиоактивным йодом. Было идентифицировано семь (7) членов из четырех (4) различных семейств HSP, в том числе HYOU1 (ORP150), HSPC1 (HSP86), HSPA5 (Bip), HSPD1 (HSP60) и несколько изоформ двух специфичных для тестикул HSP70 шаперонов HSPA2 и HSPA1L. Антисыворотка к тестикулоспецифическому HSPA2 шаперону взаимодействует с тремя 65-kDa HSPA2 изоформами и тремя высокомолекулярными поверхностными белками (78 kDa, 84 kDa и 90–93 kDa). Эти белки вместе с семью (7) формами белка 65-kDa HSP70, взаимодействуют с антиспермальными IgG-антителами, которые блокируют экстракорпоральное оплодотворение у человека. Три (3) из поверхностных антигенов человеческих сперматозоидов иммунопреципитируют с кроличьей антисывороткой против линейного пептидного эпитопа хламидий HSP70. Результаты показывают, что ряд HSP шаперонов доступны для мечения на поверхности человеческих сперматозоидов. Некоторые из них имеют эпитопы, сходные с хламидийным HSP70, что предполагает связь между ИППП, иммунитетом к HSP70 и репродуктивной функцией.

Антитела к ламинину. Ламинины – гликопротеины базальной мембраны, большие тримерные белки, вовлеченные в различные биологические процессы, включая клеточную адгезию, миграцию, пролиферацию и дифференцировку клеток, а также в формирование структурирующей сети базальной мембраны. Ламинин-1 – это самый ранний синтезируемый компонент (уже на стадии бластоцисты), формирующий структурную сеть во время эмбриогенеза, который играет важную роль в эмбриональном развитии, имплантации и плацентации. Ламинин-1 локализован во внутренней

клеточной массе и базальной мембране трофобластической оболочки. Во время имплантации ламинин-1 экспрессируется в хорионической базальной мембране и мембране Рейхерта вблизи эктоплацентарного конуса. При недостаточности $\alpha 1$ цепи ламинина-1 эмбрион погибает, т. к. дефицит этого белка приводит к дефекту формирования мембраны Рейхерта и невозможности миграции и адгезии клеток эмбриона и образования эпителия. Самосборка и образование плотной сети ламинином-1 необходимы для поддержания структуры базальной мембраны. Показано, что IgG-антитела к ламинину-1 в значительной степени ассоциированы с выкидышами (по некоторым данным до 30 % женщин с рецидивирующим выкидышем первого триместра имели эти антитела). Антитела к ламинину-1 негативно влияют на процессы ранней стадии беременности, такие как имплантация эмбриона, эмбриогенез, васкуляризация и/или плацентарный транспорт нутриентов.

У 44 % мужчин с олигоастенозооспермией повышенные уровни IgG-антител к ламинину-1 в семенной плазме были обнаружены в сочетании с повышенным содержанием незрелых форм сперматид. При этом не наблюдалось корреляции между повышенным уровнем IgG-антител к ламинину-1 и положительным тестом на агглютинацию спермы.

Провоспалительные цитокины. Установлено, что макрофаги имеют ключевую роль в выработке провоспалительных цитокинов [28 – 31].

У бесплодных мужчин, в частности, с олигоспермией, обнаружены значительно более высокие концентрации макрофагального белка воспаления 1 альфа (MIP-1 α) и TNF- α в семенной плазме, чем у здоровых фертильных мужчин. Установлено, что в группе ACA + пациентов уровни MIP-1 α и TNF- α в сперме были значительно выше по сравнению с ACA «-» группой. Таким образом, концентрации MIP-1 α и TNF- α в семенной плазме тесно связаны с показателями качества спермы и их обнаружение помогает оценить тяжесть мужского бесплодия и скорректировать лечение [32].

Различные ***клеточные и биохимические маркеры*** были предложены в качестве показателей инфекционного воспаления мужских половых путей. В сперме нейтрофильные лейкоциты (гранулоциты)/пероксидазо-положительные клетки (ППК) значительно коррелируют с уровнем провоспалительных цитокинов IL-6, IL-8 и TNF- α [33]. Одновременное присутствие патогенов и лейкоцитов было связано с высоким уровнем IL-8 и TNF- α , тогда как IL-6 был более связан с наличием лейкоцитов. Анти-HSP-60 антитела положи-

тельно коррелируют с IL-6 и IL-8. Наличие АСА высоко ассоциировано с ростом анти-HSP-60-антител. Таким образом, тип цитокинов, присутствующих в сперме, будет зависеть от единственного или одновременного присутствия лейкоцитов и/или патогенных микроорганизмов. Установлено, что наряду с макрофагами, ППК усиливают образование активных форм кислорода (АФК), приводя к перекисному повреждению сперматозоидов [34].

Цинк, нейтральная α -глюкозидаза, лимонная кислота и фруктоза – дополнительные маркеры секреции ДМПЖ, которые можно измерить в семенной жидкости и получить информацию об их функциональном состоянии. Снижение концентрации этих маркеров может указывать на инфекцию, дефицит андрогенов или обструкцию мужского уrogenитального тракта.

Цинк играет большую роль в метаболизме РНК и ДНК, передаче сигнала, экспрессии генов и регуляции апоптоза [35]. Его антиоксидантные свойства обусловлены способностью замедлять образование перекиси водорода и гидроксильных радикалов благодаря антагонизму окислительно-восстановительных переходных металлов (железо и медь). Установлено, что концентрация цинка в семенной плазме значительно выше у фертильных мужчин, чем у субфертильных [36]. Считается, что цинк оказывает защитное действие на структуру сперматозоидов. Нарушения строения жгутика сперматозоидов, такие как гипертрофия и гиперплазия фиброзной оболочки, нарушение строения аксонем, дефекты внутренних микротубулярных динеиновых ручек и аномальная или отсутствующая средняя часть – все это связано с дефицитом цинка [37]. Количество цинка (норма $\geq 2,4$ нмоль / эякулят) отражает секреторную способность простаты.

Основная доля активности **α -глюкозидазы** в сперме, а конкретнее – ее нейтрального изофермента (в норме нейтральная α -глюкозидаза ≥ 20 мЕ / эякулят), зависит от секреции придатками яичка [38]. У пациентов с азооспермией и нормальным уровнем андрогенов в периферической крови активность нейтральной α -глюкозидазы в семенной плазме является надежным маркером вклада придатков яичка в эякулят. У мужчин с азооспермией при двухсторонней обструкции между придатками яичка и эякуляторным каналом наблюдаются очень низкая активность α -глюкозидазы в семенной плазме [39]. В то же время, если азооспермия вызвана нарушениями процесса сперматогенеза (задержкой созревания сперматозоида) или обструкцией между придатками яичка и сетью

яичка, активность α -глюкозидазы находится в пределах нормы. Таким образом, определение содержания нейтральной α -глюкозидазы в семенной плазме нормально вирилизированных мужчин с азооспермией позволяет дифференцировать основные причины данного состояния [40]. Низкая активность нейтральной α -глюкозидазы в семенной плазме пациентов с олигозооспермией может отражать частичную обструкцию придатков яичка, ассоциированную с инфекциями или воспалительным заболеванием [41,42].

В процессе онтогенеза и, особенно с момента полового созревания, в *секрете предстательной железы* (СПЖ) резко возрастает содержание **лимонной кислоты**, которая разжижает эякулят, активизирует гиалуронидазу, что в свою очередь, способствует проникновению сперматозоидов в яйцеклетку. Определение лимонной кислоты в семенной жидкости дает информацию о секреторной функции предстательной железы. Низкую концентрацию лимонной кислоты ($<2-3,5$ ммоль/л) находят у мужчин с ИППП. Оценка простатической функции позволяет определить субклинические варианты простатита, негативно влияющие на мужскую фертильность и предотвратить передачу инфекции женщине-партнеру [43, 44].

Фруктоза – главный источник энергии для сперматозоидов. Ее образование почти полностью происходит в семенных пузырьках под влиянием андрогенов, и поэтому по ее концентрации можно судить о секреторной функции семенных пузырьков. Быстрота расщепления фруктозы – фруктолиз, связан с подвижностью и жизнеспособностью сперматозоидов. Обнаружение нормального уровня фруктозы (норма ≥ 13 ммоль/эякулят) подтверждает наличие семенных пузырьков и исключает врожденное двустороннее отсутствие семявыносящих протоков (Congenital bilateral absence of the vas deferens/CBAVD) или редко встречающуюся обструкцию семявыносящего протока. Низкая концентрация фруктозы встречается у пациентов с низким уровнем андрогенов, указывает на CBAVD или отсутствие семенных пузырьков, на обструкцию семявыносящего протока в результате воспалительных заболеваний (вместе с малым объемом эякулята и нарушением коагуляции спермы) и на воспаление семенных пузырьков. Важно определить концентрацию фруктозы при азооспермии, когда сочетание низкого уровня фруктозы, кислотности эякулята (рН) и высокого содержания лимонной кислоты указывают на CBAVD.

Если у пациента на фоне бесплодия отсутствуют проявления синдрома Кляйнфельтера, необ-

ходимо определить содержание фруктозы в семенной жидкости и ФСГ в сыворотке. При концентрации ФСГ выше верхней границы нормы в 1,5 раза, дальнейшее обследование не имеет смысла в виду высокой вероятности тяжелого необратимого повреждения семенных канальцев. В этом случае показана вазография для оценки семявыносящих путей и биопсия яичек для установления наличия сперматогенеза [45 – 47].

Существует ряд дополнительных маркеров, определяющих способность сперматозоидов к оплодотворению. Одними из них являются **акросомальный белок**, позволяющий оценить целостность акросом сперматозоидов и фермент **акрозин**. Акросома – структура сперматозоида, расположенная на вершине его головки, содержит набор ферментов (гиалуронидаза, акрозин), среди которых важное место принадлежит акрозину. **Акрозин** – специфическая для сперматозоидов трипсиноподобная акросомальная протеиназа, которая находится в слабо связанном акросомном мешочке. Большая часть акрозина ($\geq 93\%$) присутствует в сперматозоидах человека в неактивной зимогенной форме, называемой проакрозином. Система проакрозин-акрозин помогает сперматозоидам проникать через ЗР. Акрозин высвобождается во время акросомальной реакции. При оплодотворении, в момент соприкосновения сперматозоида с яйцеклеткой, содержимое акросомы высвобождается и растворяет ЗР, обеспечивая гаплоидному ядру сперматозоида вход в яйцеклетку; мембрана акросомы образует трубчатые выпячивания, которые проникают через растворенный участок оболочек в кортикальный слой ооплазмы, осуществляя активацию ооцита. Этот процесс известен как акросомальная реакция.

Исследования показали, что общая активность акрозина положительно коррелирует с успешностью оплодотворения *in vitro*, а низкая его активность, наоборот, ассоциирована с отклонением в результатах теста пенетрации яйцеклетки. Около 7 % случаев мужского бесплодия связаны с нарушением акросомальной реакции. Нарушение целостности акросом или отсутствие внутриакросомального белка делают оплодотворение невозможным. Акрозиновая активность эякулята человека не зависит от других параметров спермы, таких как концентрация, двигательная активность сперматозоидов и их морфология. Таким образом, оценка общей активности акрозина может рассматриваться как дополнительный чувствительный биохимический маркер для клинической оценки необъяснимого мужского бесплодия [48,49].

В настоящее время отсутствуют регистрационные удостоверения в РФ на наборы реагентов вышеперечисленных биохимических маркеров, поэтому эти в эякуляте разрешены только в научных целях (информация актуальна на момент выхода публикации).

Окислительное повреждение спермы. Кислород обеспечивает сперматозоидам должную функциональную способность пенетрировать ооциты, что связано с высоким уровнем окислительного метаболизма. Однако, кислород и его метаболиты могут изменять клеточные функции, тем самым представляя угрозу жизни клеток. В виду того, что сперматозоиды содержат большие количества полиненасыщенных жирных кислот [50] и очень чувствительны к окислительному повреждению, перекисное окисление липидов мембраны сперматозоида индуцирует активные формы кислорода (АФК) – одноатомные молекулы, называемые свободными радикалами, которые могут повреждать митохондриальную энергетическую систему сперматозоида. Присутствие АФК является патофизиологическим признаком окислительного стресса [51].

Свободные радикалы способны подавлять сперматогенез на уровне повреждения ДНК и индуцировать апоптоз в примордиальных половых клетках; в зрелых сперматозоидах могут вызывать нарушение их основных функций, включая акросомальную реакцию и пенетрацию ооцита [52, 53], что может приводить к снижению в спермограмме всех четырех главных показателей: концентрации, общего числа, подвижности и морфологии сперматозоидов.

Образование свободных радикалов приводит к нарушению функции эякулята, что в 30 – 80 % случаев приводит к мужскому бесплодию [54]. Приблизительно у 25 % мужчин с субфертильностью в анализе спермы обнаруживается повышение уровня свободных радикалов, мерой которого служат АФК [55]. Следовательно, АФК должны инактивироваться непрерывно, но должны оставаться лишь небольшие количества для поддержания нормальной клеточной функции.

Одним из следствий окислительного стресса на молекулярном уровне является окислительное повреждение нуклеиновых кислот, вызванное действием АФК. Среди многих окислительных повреждений ДНК одним из наиболее исследованных соединений является **8-ОН-дезоксигуанозин** (8-ОНдГ) – модифицированный нуклеозид, являющийся клинико-лабораторным маркером ОС. Установлено, что качество бластоцисты связано с уровнем 8-ОНдГ и, соответственно, с исходами ВРТ.

Заключение

Диагностическая значимость различных маркеров и тестов в биоматериале «эякулят» является фундаментальной для создания новых стратегий профилактики и лечения мужского бесплодия. В целях повышения конкурентоспособности с мировыми производителями, упрощения получения формальных разрешающих документов, неотъемлемым шагом будет являться государственное стимулирование отечественных разработок наборов реагентов и молодого научно-практического потенциала России для постоянного поиска инновационных диагностических подходов, направленных на углубленное изучение патогенеза мужской инфертильности и субфертильности.

Список литературы

1. Leisegang K., Dutta S. Do lifestyle practices impede male fertility? // *Andrologia*. 2021. V. 53. No. 1. e13595. DOI: 10.1111/and.13595
2. Сапожкова Ж.Ю., Еремин К.И. Модификация аналитического этапа спермограммы // *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020. Т. 65. № 2. С. 106-110. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-2-106-110
3. Сапожкова Ж.Ю., Еремин К.И., Долгов В.В. Унификация процедур цитохимического окрашивания эякулята для определения фертильности мужчины // *Лабораторная диагностика. Восточная Европа*. 2020. Т. 9. № 1–2. С. 41-49. DOI: 10.34883/PI.2020.9.1.026
4. Сапожкова Ж.Ю. Способ микроскопической диагностики качества спермы после седиментации эякулята: Патент на интеллектуальную собственность, 2019. © 2 686685. URL: <http://new.fips.ru>
5. Сапожкова Ж.Ю., Еремин К.И. Способ комбинированного измерения концентрации пероксидазоположительных клеток (нейтрофильных гранулоцитов) и сперматозоидов в эякуляте человека с использованием вариаций на основе цитохимического окрашивания: Патент на интеллектуальную собственность, 2020. © 2 726207
6. Fijak M., Pilatz A., Hedger M.P., et al. Infectious, inflammatory and 'autoimmune' male factor infertility: how do rodent models inform clinical practice? // *Hum Reprod Update*. 2018. V. 24. No. 4. P. 416-441. DOI: 10.1093/humupd/dmy009
7. Avellar M.C.W., Ribeiro C.M., Dias-da-Silva M.R., Silva E.J.R. In search of new paradigms for epididymal health and disease: innate immunity, inflammatory mediators, and steroid hormones // *Andrology*. 2019. V. 7. No. 5. P. 690-702. DOI: 10.1111/andr.12654
8. Page S.T., Plymate S.R., Bremner W.J., et al. Effect of medical castration on CD4+ CD25+ T cells, CD8+ T cell IFN-gamma expression, and NK cells: a physiological role for testosterone and/or its metabolites // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2006. V. 290. No. 5. P. E856-E863. DOI: 10.1152/ajpendo.00484.2005
9. Cannarella R., Mancuso F., Condorelli R.A., et al. Effects of GH and IGF1 on Basal and FSH-Modulated Porcine Sertoli Cells In-Vitro // *J. Clin. Med.* 2019. V. 8. No. 6. P. 811. Published 2019 Jun 6. DOI: 10.3390/jcm8060811
10. Meroni S.B., Galardo M.N., Rindone G., et al. Molecular Mechanisms and Signaling Pathways Involved in Sertoli Cell Proliferation // *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 2019. No. 10. P. 224. Published 2019 Apr 16. DOI: 10.3389/fendo.2019.00224
11. Wang X.X., Ying P., Diao F., et al. Altered protein prenylation in Sertoli cells is associated with adult infertility resulting from childhood mumps infection // *J. Exp. Med.* 2013. V. 210. No. 8. P. 1559-1574. DOI: 10.1084/jem.20121806
12. Tüttelmann F., Nieschlag E. Nosologie andrologischer Krankheitsbilder // *Andrologie – Grundlagen und Klinik der reproduktiven Gesundheit des Mannes*. 3rd ed. / eds. Nieschlag E., Behre H.M., Nieschlag S. Heidelberg: Springer, 2009. P. 90–96.
13. Mazumdar S., Levine A.S. Antisperm antibodies: etiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment // *Fertil. Steril.* 1998. V. 70. No. 5. P. 799-810. DOI: 10.1016/s0015-0282(98)00302-1
14. Chamley L.W., Clarke G.N. Antisperm antibodies and conception // *Semin Immunopathol.* 2007. V. 29. No. 2. P. 169-184. DOI: 10.1007/s00281-007-0075-2
15. Bohring C., Krause W. Immune infertility: towards a better understanding of sperm (auto)-immunity. The value of proteomic analysis // *Hum. Reprod.* 2003. V. 18. No. 5. P. 915-924. DOI: 10.1093/humrep/deg207
16. Marconi M., Pilatz A., Wagenlehner F., et al. Are antisperm antibodies really associated with proven chronic inflammatory and infectious diseases of the male reproductive tract? // *Eur. Urol.* 2009. V. 56. No. 4. P. 708-715. DOI: 10.1016/j.eururo.2008.08.001
17. Bozhedomov V.A., Lipatova N.A., Alexeev R.A., et al. The role of the antisperm antibodies in male infertility assessment after microsurgical varicocelelectomy // *Andrology*. 2014. V. 2. No. 6. P. 847-855. DOI: 10.1111/j.2047-2927.2014.00254.x
18. Sikka S.C., Hellstrom W.J. Current updates on laboratory techniques for the diagnosis of male reproductive failure // *Asian. J. Androl.* 2016. V. 18. No. 3. P. 392-401. DOI: 10.4103/1008-682X.179161
19. Verón G.L., Molina R.I., Tissera A.D., et al. Incidence of Sperm Surface Autoantibodies and Relationship with Routine Semen Parameters and Sperm Kinematics // *Am. J. Reprod. Immunol.* 2016. V. 76. No. 1. P. 59-69. DOI: 10.1111/aji.12519
20. Tchiokadze Sh., Galdava G. Clinical and anamnestic characteristics of development of antisperm immunity in infertile men // *Georgian Med. News*. 2015. No. 246. P. 18-22.
21. Hu Y.Y., Wang L.Y., Song B.T., et al. // *Zhonghua Nan Ke Xue*. 2017. V. 23. No. 7. P. 620-625.
22. Huo Yю, Xu Yю, Wang Jю, et al. Analysis of the serum reproductive system related autoantibodies of infertility patients in Tianjin region of China // *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2015. V. 8. No. 8. P. 14048-14053. Published 2015 Aug 15.

23. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 26 февраля 2003 г. № 67 «О применении вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) в терапии женского и мужского бесплодия»: Зарегистрировано Министерством юстиции Российской Федерации 24 апреля 2003 г. Регистрационный № 4452. М., 2003.
24. Nowicka-Bauer K., Kamieniczna M., Cibulka J., et al. Proteomic identification of sperm antigens using serum samples from individuals with and without antisperm antibodies // *Andrologia*. 2016. V. 48. No. 6. P. 693-701. DOI: 10.1111/and.12502
25. Bobak L., Bobakova D., Vaczy Z., et al. Incidence of antibodies in women after failure of assisted reproduction // *Bratisl. Lek. Listy*. 2014. V. 115. No. 3. P. 145-149. DOI: 10.4149/bl_2014_031
26. Son Y., Heo K., Bae M.J., et al. Injury to the blood-testis barrier after low-dose-rate chronic radiation exposure in mice // *Radiat. Prot. Dosimetry*. 2015. V. 167. No. 1-3. P. 316-320. DOI: 10.1093/rpd/ncv270
27. Ronquist G. Prostatomes: Their Characterisation: Implications for Human Reproduction: Prostatomes and Human Reproduction // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2015. V. 868. P. 191-209. DOI: 10.1007/978-3-319-18881-2_9
28. Fathy A., Chen S.J., Novak N., et al. Differential leucocyte detection by flow cytometry improves the diagnosis of genital tract inflammation and identifies macrophages as proinflammatory cytokine-producing cells in human semen // *Andrologia*. 2014. V. 46. No. 9. P. 1004-1012. DOI: 10.1111/and.12188
29. Tremellen K., Tunc O. Macrophage activity in semen is significantly correlated with sperm quality in infertile men // *Int. J. Androl.* 2010. V. 33. No. 6. P. 823-831. DOI: 10.1111/j.1365-2605.2009.01037.x
30. Pelliccione F., D'Angeli A., Cordeschi G., et al. Seminal macrophages in ejaculates from men with couple infertility // *Int. J. Androl.* 2009. 32(6):623-628. DOI: 10.1111/j.1365-2605.2008.00909.x
31. Haidl F., Haidl G., Oltermann I., Allam J.P. Seminal parameters of chronic male genital inflammation are associated with disturbed sperm DNA integrity // *Andrologia*. 2015. V. 47. No. 4. P. 464-469. DOI: 10.1111/and.12408
32. Pochernikov D.G., Vinokurov E. Iu., Strel'nikov A.I., Iakovleva L.V. Experience in the treatment of autoimmune male infertility in patients with category 4 chronic prostatitis // *Urologiia*. 2014. No. 6. P. 75-80.
33. Who laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. Geneva, 2010. 287 p. URL: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44261/1/9789241547789_eng.pdf
34. Клинические рекомендации по андрологической урологии / под ред. П.А. Щеплева. М.: Медфорум, 2016. 120 с. [Clinical guidelines for andrology urology / ed. by P.A. Scheplev. Moscow: Medforum, 2016. 120 p. (In Russ.)].
35. Hambidge K.M., Krebs N.F. Zinc deficiency: a special challenge // *J. Nutr.* 2007. V. 137. No. 4. P. 1101-1105. DOI: 10.1093/jn/137.4.1101. PMID: 17374687.
36. Powell S.R. The antioxidant properties of zinc // *J. Nutr.* 2000. V. 130. No. 5S, Suppl. P. 1447S-1454S. DOI: 10.1093/jn/130.5.1447S
37. Omu A.E., Al-Azemi M.K., Kehinde E.O., et al. Indications of the mechanisms involved in improved sperm parameters by zinc therapy // *Med. Princ. Pract.* 2008. V. 17. No. 2. P. 108-116. DOI: 10.1159/000112963
38. Cooper T.G., Yeung C.H., Nashan D., et al. Improvement in the assessment of human epididymal function by the use of inhibitors in the assay of alpha-glucosidase in seminal plasma // *Int. J. Androl.* 1990. V. 13. No. 4. P. 297-305. DOI: 10.1111/j.1365-2605.1990.tb01035.x
39. Guerin J.F., Ali H.B., Rollet J., Souchier C., Czyba J.C. Alpha-glucosidase as a specific epididymal enzyme marker. Its validity for the etiologic diagnosis of azoospermia // *J. Androl.* 1986. V. 7. No. 3. P. 156-162. DOI: 10.1002/j.1939-4640.1986.tb00901.x
40. Casano R., Orlando C., Caldini A.L., et al. Simultaneous measurement of seminal L-carnitine, alpha,1-4-glucosidase, and glycerylphosphorylcholine in azoospermic and oligozoospermic patients // *Fertil. Steril.* 1987. V. 47. No. 2. P. 324-328. DOI: 10.1016/s0015-0282(16)50013-2
41. Guerin J.F., Ali H.B., Rollet J., et al. Alpha-glucosidase as a specific epididymal enzyme marker. Its validity for the etiologic diagnosis of azoospermia // *J. Androl.* 1986. V. 7. No. 3. P. 156-162. DOI: 10.1002/j.1939-4640.1986.tb00901.x
42. Haidl G., Badura B., Hinsch K.D., et al. Disturbances of sperm flagella due to failure of epididymal maturation and their possible relationship to phospholipids // *Hum. Reprod.* 1993. V. 8. No. 7. P. 1070-1073. DOI: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a138194
43. Wein A.J., Kavoussi L.R., Novick A.C., et al. Campbell Walsh Urology: Expert Consult Premium Edition: Enhanced Online Features and Print. Vol. 4. Philadelphia: Elsevier Health Sciences, 2011.
44. Plant T.M., Zeleznik A.J. Knobil and Neills Physiology of Reproduction. Amsterdam: Elsevier/Academic Press, 2015.
45. Obidoa O., Ezeanyika L.U., Okoli A.H. Effect of scopoletin on male guinea pig reproductive organs. I. Levels of citric acid and fructose // *Int. Urol. Nephrol.* 1999. V. 31. P. 107-111.
46. Lewis-Jones D.I., Aird I.A., Biljan M.M., Kingsland C.R. Effects of sperm activity on zinc and fructose concentrations in seminal plasma // *Hum Reprod.* 1996. V. 11. No. 11. P. 2465-2467. DOI: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a019138
47. Mann T. Studies on the metabolism of semen; fructose as a normal constituent of seminal plasma; site of formation and function of fructose in semen // *Biochem. J.* 1946. V. 40. No. 4. P. 481-491. DOI: 10.1042/bj0400481
48. Nayernia K., Adham I., Shamsedin R., Engel W. The role of acrosin in reproduction // *J. Reprod. Infertil.* 2000. V. 1. No. 4. P. 38-43.
49. Peknicova J., Chladek D., Hozak P. Monoclonal antibodies against sperm intra-acrosomal antigens as markers for male infertility diagnostics and estimation of spermatogenesis // *Am. J. Reprod. Immunol.* 2005. V. 53. No. 1. P. 42-49. DOI: 10.1111/j.1600-0897.2004.00245.x

50. Lewis S.E., Sterling E.S., Young I.S., Thompson W. Comparison of individual antioxidants of sperm and seminal plasma in fertile and infertile men // *Fertil. Steril.* 1997. V. 67. No. 1. P. 142-147. DOI: 10.1016/s0015-0282(97)81871-7

51. Suleiman S.A., Ali M.E., Zaki Z.M., et al. Lipid peroxidation and human sperm motility: protective role of vitamin E // *J. Androl.* 1996. V. 17. No. 5. P. 530-537.

52. Fisher H.M., Aitken R.J. Comparative analysis of the ability of precursor germ cells and epididymal spermatozoa to generate reactive oxygen metabolites // *J. Exp. Zool.* 1997. V. 277. No. 5. P. 390-400. DOI: 10.1002/(sici)1097-010x(19970401)277:5<390::aid-jez5>3.0.co;2-k

53. Sanocka D., Miesel R., Jedrzejczak P., Kurpisz M.K. Oxidative stress and male infertility // *J. Androl.* 1996. V. 17. No. 4. P. 449-454.

54. Agarwal A., Allamaneni S.S., Nallella K.P., et al. Correlation of reactive oxygen species levels with the fertilization rate after in vitro fertilization: a qualified meta-analysis // *Fertil. Steril.* 2005. V. 84. No. 1. P. 228-231. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2004.12.057

55. Smith R., Vantman D., Ponce J., et al. Total antioxidant capacity of human seminal plasma // *Hum. Reprod.* 1996. V. 11. No. 8. P. 1655-1660. DOI: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a019465

References

1. Leisegang K, Dutta S. Do lifestyle practices impede male fertility?. *Andrologia.* 2021;53(1):e13595. DOI: 10.1111/and.13595

2. Sapozhkova Zh.Yu., Eremin K.I. Updates in protocol for human semen examination. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics.* 2020; 65 (2):106-110. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-2-106-110 (in Russ.)

3. Sapozhkova Zh., Eremin K., Dolgov V. Unification of procedures of cytochemical staining of human ejaculate to determine the true fertility of men. *Laboratornaya diagnostika. Vostochnaya Evropa.* 2020, 9(1-2):41-49. DOI: 10.34883/PI.2020.9.1.026 (in Russ.)

4. Sapozhkova Zh.Yu. Patent on Invention. Method of Microscopic Diagnostics of Sperm Quality after Ejaculate Sedimentation. 2019 г © 2 686685 <http://new.fips.ru>

5. Sapozhkova Zh.Yu., Eremin K.I. Patent on Invention. Method for combined measurement of concentration of peroxidase-positive cells (neutrophilic granulocytes) and sperm cells in human ejaculate using variations based on cytochemical staining. 2020 г © 2 726207

6. Fijak M, Pilatz A, Hedger MP, et al. Infectious, inflammatory and 'autoimmune' male factor infertility: how do rodent models inform clinical practice?. *Hum Reprod Update.* 2018;24(4):416-441. doi:10.1093/humupd/dmy009

7. Avellar MCW, Ribeiro CM, Dias-da-Silva MR, Silva EJR. In search of new paradigms for epididymal health and disease: innate immunity, inflammatory mediators, and steroid hormones. *Andrology.* 2019;7(5):690-702. DOI: 10.1111/andr.12654

8. Page ST, Plymate SR, Bremner WJ, et al. Effect of medical castration on CD4+ CD25+ T cells, CD8+ T cell IFN-gamma expression, and NK cells: a physiological role for testosterone and/or its metabolites. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006;290(5):E856-E863. DOI: 10.1152/ajpendo.00484.2005

9. Cannarella R, Mancuso F, Condorelli RA, et al. Effects of GH and IGF1 on Basal and FSH-Modulated Porcine Sertoli Cells In-Vitro. *J Clin Med.* 2019;8(6):811. Published 2019 Jun 6. DOI: 10.3390/jcm8060811

10. Meroni SB, Galardo MN, Rindone G, Gorga A, Riera MF, Cigorraga SB. Molecular Mechanisms and Signaling Pathways Involved in Sertoli Cell Proliferation. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019;10:224. Published 2019 Apr 16. DOI: 10.3389/fendo.2019.00224

11. Wang XX, Ying P, Diao F, et al. Altered protein prenylation in Sertoli cells is associated with adult infertility resulting from childhood mumps infection. *J Exp Med.* 2013;210(8):1559-1574. DOI: 10.1084/jem.20121806

12. Tüttelmann F, Nieschlag E: Nosologie andrologischer Krankheitsbilder. In: Nieschlag E, Behre HM, Nieschlag S (eds.): *Andrologie – Grundlagen und Klinik der reproduktiven Gesundheit des Mannes.* 3rd edition. Heidelberg: Springer 2009; 90–6

13. Mazumdar S, Levine AS. Antisperm antibodies: etiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Fertil Steril.* 1998;70(5):799-810. DOI: 10.1016/s0015-0282(98)00302-1

14. Chamley LW, Clarke GN. Antisperm antibodies and conception. *Semin Immunopathol.* 2007;29(2):169-184. DOI: 10.1007/s00281-007-0075-2

15. Bohring C, Krause W. Immune infertility: towards a better understanding of sperm (auto)-immunity. The value of proteomic analysis. *Hum Reprod.* 2003;18(5):915-924. DOI: 10.1093/humrep/deg207

16. Marconi M, Pilatz A, Wagenlehner F, Diemer T, Weidner W. Are antisperm antibodies really associated with proven chronic inflammatory and infectious diseases of the male reproductive tract?. *Eur Urol.* 2009;56(4):708-715. DOI: 10.1016/j.eururo.2008.08.001

17. Bozhedomov VA, Lipatova NA, Alexeev RA, Alexandrova LM, Nikolaeva MA, Sukhikh GT. The role of the antisperm antibodies in male infertility assessment after microsurgical varicocelelectomy. *Andrology.* 2014;2(6):847-855. DOI: 10.1111/j.2047-2927.2014.00254.x

18. Sikka SC, Hellstrom WJ. Current updates on laboratory techniques for the diagnosis of male reproductive failure. *Asian J Androl.* 2016;18(3):392-401. DOI: 10.4103/1008-682X.179161

19. Verón GL, Molina RI, Tissera AD, Estofan GM, Marín-Briggiler CI, Vazquez-Levin MH. Incidence of Sperm Surface Autoantibodies and Relationship with Routine Semen Parameters and Sperm Kinematics. *Am J Reprod Immunol.* 2016;76(1):59-69. DOI: 10.1111/aji.12519

20. Tchiokadze Sh, Galdava G. Clinical and anamnestic characteristics of development of antisperm immunity in infertile men. *Georgian Med News.* 2015;(246):18-22.

21. Hu YY, Wang LY, Song BT, Cao SS, Chen AL. *Zhonghua Nan Ke Xue.* 2017;23(7):620-625.

22. Huo Y, Xu Y, Wang J, et al. Analysis of the serum reproductive system related autoantibodies of infertility patients in Tianjin region of China. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(8):14048-14053. Published 2015 Aug 15.
23. Prikaz Ministerstva zdravoohraneniya Rossijskoj Federaciyao 26 fevralya 2003 g. N 67 O primeneniі vspomogatel'nyh reproduktivnyh tekhnologij (VRT) v terapii zhenskogo i muzhskogo besplodiya Zaregistrirvano Ministerstvom yusticii Rossijskoj Federacii 24 aprelya 2003 g. Registracionnyj N 4452 (in Russ.)
24. Nowicka-Bauer K, Kamieniczna M, Cibulka J, Ulcova-Gallova Z, Kurpisz M. Proteomic identification of sperm antigens using serum samples from individuals with and without antisperm antibodies. *Andrologia*. 2016;48(6):693-701. DOI: 10.1111/and.12502
25. Bobak L, Bobakova D, Vaczy Z, Rosocha J, Halagovec A. Incidence of antibodies in women after failure of assisted reproduction. *Bratisl Lek Listy*. 2014;115(3):145-149. DOI: 10.4149/bl_2014_031
26. Son Y, Heo K, Bae MJ, et al. Injury to the blood-testis barrier after low-dose-rate chronic radiation exposure in mice. *Radiat Prot Dosimetry*. 2015;167(1-3):316-320. DOI: 10.1093/rpd/ncv270
27. Ronquist G. Prostatomes: Their Characterisation: Implications for Human Reproduction: Prostatomes and Human Reproduction. *Adv Exp Med Biol*. 2015;868:191-209. DOI: 10.1007/978-3-319-18881-2_9
28. Fathy A, Chen SJ, Novak N, Schuppe HC, Haidl G, Allam JP. Differential leucocyte detection by flow cytometry improves the diagnosis of genital tract inflammation and identifies macrophages as proinflammatory cytokine-producing cells in human semen. *Andrologia*. 2014;46(9):1004-1012. DOI: 10.1111/and.12188
29. Tremellen K, Tunc O. Macrophage activity in semen is significantly correlated with sperm quality in infertile men. *Int J Androl*. 2010;33(6):823-831. DOI: 10.1111/j.1365-2605.2009.01037.x
30. Pelliccione F, D'Angeli A, Cordeschi G, et al. Seminal macrophages in ejaculates from men with couple infertility. *Int J Androl*. 2009;32(6):623-628. DOI: 10.1111/j.1365-2605.2008.00909.x
31. Haidl F, Haidl G, Oltermann I, Allam JP. Seminal parameters of chronic male genital inflammation are associated with disturbed sperm DNA integrity. *Andrologia*. 2015;47(4):464-469. DOI: 10.1111/and.12408
32. Pochernikov DG, Vinokurov EIu, Strel'nikov AI, Iakovleva LV. Experience in the treatment of autoimmune male infertility in patients with category 4 chronic prostatitis Urologiia. 2014; (6):75-80.
33. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th edn. Geneva, 2010. 287 p. Available at: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44261/1/9789241547789_eng.pdf
34. Clinical guidelines for andrology urology. Ed. by P.A. Scheplev. Moscow: Medforum, 2016. 120 p. (In Russ.)
35. Hambidge KM, Krebs NF. Zinc deficiency: a special challenge. *J Nutr*. 2007 Apr;137(4):1101-5. DOI: 10.1093/jn/137.4.1101. PMID: 17374687.
36. Powell SR. The antioxidant properties of zinc. *J Nutr*. 2000;130(5S Suppl):1447S-54S. DOI: 10.1093/jn/130.5.1447S
37. Omu AE, Al-Azemi MK, Kehinde EO, Anim JT, Oriowo MA, Mathew TC. Indications of the mechanisms involved in improved sperm parameters by zinc therapy. *Med Princ Pract*. 2008;17(2):108-116. DOI: 10.1159/000112963
38. Cooper TG, Yeung CH, Nashan D, Jockenhövel F, Nieschlag E. Improvement in the assessment of human epididymal function by the use of inhibitors in the assay of alpha-glucosidase in seminal plasma. *Int J Androl*. 1990;13(4):297-305. DOI: 10.1111/j.1365-2605.1990.tb01035.x
39. Guerin JF, Ali HB, Rollet J, Souchier C, Czyba JC. Alpha-glucosidase as a specific epididymal enzyme marker. Its validity for the etiologic diagnosis of azoospermia. *J Androl*. 1986;7(3):156-162. DOI: 10.1002/j.1939-4640.1986.tb00901.x
40. Casano R, Orlando C, Caldini AL, Barni T, Natali A, Serio M. Simultaneous measurement of seminal L-carnitine, alpha,1-4-glucosidase, and glycerylphosphorylcholine in azoospermic and oligozoospermic patients. *Fertil Steril*. 1987;47(2):324-328. DOI: 10.1016/s0015-0282(16)50013-2
41. Guerin JF, Ali HB, Rollet J, Souchier C, Czyba JC. Alpha-glucosidase as a specific epididymal enzyme marker. Its validity for the etiologic diagnosis of azoospermia. *J Androl*. 1986;7(3):156-162. DOI: 10.1002/j.1939-4640.1986.tb00901.x
42. Haidl G, Badura B, Hinsch KD, Ghyczy M, Gareiss J, Schill WB. Disturbances of sperm flagella due to failure of epididymal maturation and their possible relationship to phospholipids. *Hum Reprod*. 1993;8(7):1070-1073. DOI: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a138194
43. Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA. *Campbell Walsh Urology: Expert Consult Premium Edition: Enhanced Online Features and Print*. Vol. 4. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2011.
44. Plant TM, Zeleznik AJ. *Knobil and Neills Physiology of Reproduction*. Amsterdam: Elsevier/Academic Press; 2015.
45. Obidoa O, Ezeanyika LU, Okoli AH. Effect of scopoletin on male guinea pig reproductive organs. I. Levels of citric acid and fructose. *Nutr Res*. 1999;19:443-8.
46. Lewis-Jones DI, Aird IA, Biljan MM, Kingsland CR. Effects of sperm activity on zinc and fructose concentrations in seminal plasma. *Hum Reprod*. 1996;11(11):2465-2467. DOI: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a019138
47. MANN T. Studies on the metabolism of semen; fructose as a normal constituent of seminal plasma; site of formation and function of fructose in semen. *Biochem J*. 1946;40(4):481-491. DOI: 10.1042/bj0400481
48. Nayernia K, Adham I, Shamsedin R, Engel W. The role of acrosin in reproduction. *J Reprod Infertil*. 2000;1(4):38-43.
49. Peknicova J, Chladek D, Hozak P. Monoclonal antibodies against sperm intra-acrosomal antigens as markers for male infertility diagnostics and estimation of spermatogenesis. *Am J Reprod Immunol*. 2005;53(1):42-49. DOI: 10.1111/j.1600-0897.2004.00245.x

50. Lewis SE, Sterling ES, Young IS, Thompson W. Comparison of individual antioxidants of sperm and seminal plasma in fertile and infertile men. *Fertil Steril.* 1997;67(1):142-147. DOI: 10.1016/s0015-0282(97)81871-7
51. Suleiman SA, Ali ME, Zaki ZM, el-Malik EM, Nasr MA. Lipid peroxidation and human sperm motility: protective role of vitamin E. *J Androl.* 1996;17(5):530-537.
52. Fisher HM, Aitken RJ. Comparative analysis of the ability of precursor germ cells and epididymal spermatozoa to generate reactive oxygen metabolites. *J Exp Zool.* 1997;277(5):390-400. DOI: 10.1002/(sici)1097-010x(19970401)277:5<390::aid-jez5>3.0.co;2-k
53. Sanocka D, Miesel R, Jedrzejczak P, Kurpisz MK. Oxidative stress and male infertility. *J Androl.* 1996;17(4):449-454.
54. Agarwal A, Allamaneni SS, Nallella KP, George AT, Mascha E. Correlation of reactive oxygen species levels with the fertilization rate after in vitro fertilization: a qualified meta-analysis. *Fertil Steril.* 2005;84(1):228-231. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2004.12.057
55. Smith R, Vantman D, Ponce J, Escobar J, Lissi E. Total antioxidant capacity of human seminal plasma. *Hum Reprod.* 1996;11(8):1655-1660. DOI: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a019465.

Поступила в редакцию / Received 06.06.2021

Принята к публикации / Accepted 03.07.2021

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was conducted without sponsorship.

Вклад авторов.

Ж. Ю. Сапожкова: 100% участия в разработке концепции и дизайна статьи, 50% сбор материалов;

Г.А. Милованова: 50% сбора материалов, 100% участия в работе над компиляцией материалов; 80% участия в оформлении статьи по правилам для авторов.

О. И. Пацап: 20% участия в оформлении статьи по правилам для авторов, 100% участия в написании абстрактов на русском и на английском.

Authors' contributions.

Zh. Yu. Sapozhkova: 100% participation in the development of the concept and design of the article, 50% of the materials collection.

G. A. Milovanova: 50% of the materials collection, 100% participation in the work of compiling materials; 80% participation in the preparation of the manuscript according to the rules for authors.

O. I. Patsap: 20% participation in the preparation of the manuscript according to the rules for authors, 100% participation in the writing of abstracts in Russian and English.

Сведения об авторах / Information about authors



Жанна Юрьевна Сапожкова – к.м.н, руководитель Международной Школы Цитологии и Медицинской Школы Инноваций, Москва, Россия; заведующий Подольским диагностическим центром, г. Подольск, Московская область, Россия.

Zhanna Yu. Sapozhkova – MD, PhD, International Cytology School, Head, Senior Lecturer, Moscow Russia; Privat Medical Centre of Podolsk, Moscow Region, Head of Clinical Lab, doctor/cytologist, Podolsk, Moscow region, Russia.

E-mail: icsschool.2019@gmail.com. **SPIN РИНЦ:** 3191-4189

ORCID: 0000-0003-3068-2260



Галина Александровна Милованова – ординатор кафедры клинической лабораторной диагностики РМАНПО, Москва, Россия.

Galina A. Milovanova – Resident, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia.

E-mail: g.milovanova2018@gmail.com

ORCID: 0000-0002-0919-7271



Ольга Игоревна Пацап – к.м.н., заведующая патологоанатомическим отделением ФГБУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» ФМБА, Москва, Россия.

Olga I. Patsap – MD, PhD, Federal Center of Brain Research and Neurotechnologies FMBA, Moscow, Russia.

E-mail: cleosnake@yandex.ru. **SPIN РИНЦ:** 6460-1758

ORCID: 0000-0003-4620-3922