Антиоксидантный потенциал семенной жидкости при нормозооспермии и патозооспермии

Е.В. Проскурнина[1], Н.А. Мельников[2], О.А. Долгих[1], М.И. Штаут[1], В.Б. Черных[1]

[1]ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. Н.П. Бочкова»; Россия, 115522 Москва, ул. Москворечье, 1;
[2]Факультет фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»; Россия, 119991 Москва, Ломоносовский пр-т, 27, корп. 1

***Контакты:** Елена Васильевна Проскурнина proskurnina@gmail.com*

***Цель исследования** – оценить антиоксидантный потенциал семенной жидкости при нормозооспермии и патозооспермии.*
***Материалы и методы.** Исследованы образцы эякулята 57 мужчин репродуктивного возраста. Проводили стандартное спермиологическое исследование и определяли антиоксидантный потенциал семенной жидкости по оригинальной хемилюминесцентной методике: измеряли длительность латентного периода от момента снижения активности свечения раствора, содержащего активные формы кислорода (АФК), при добавлении семенной жидкости до момента регистрации наиболее резкого усиления свечения, соответствующего ослаблению антиоксидантного действия семенной жидкости.*
***Результаты.** Длительность латентного периода варьировала от 4,6 до 17,5 мин. Антиоксидантный потенциал семенной жидкости оказался статистически значимо ниже у мужчин с астенозооспермией (примерно в 1,4 раза, $p < 0,05$) и у пациентов с астенотератозооспермией (примерно в 1,7 раза, $p = 0,03$), чем у мужчин с нормозооспермией. Между числом лейкоцитов и длительностью латентного периода при патозооспермии обнаружена слабая обратная корреляция ($r = -0,23$ и $-0,18$ соответственно при астенозооспермии и астенотератозооспермии). Между уровнем продукции АФК в сперматозоидах и длительностью латентного периода при нормозооспермии обнаружена сильная прямая корреляция ($r = 0,79$), при патозооспермии – обратная корреляция ($r = -0,26$ и $-0,62$ соответственно при астенозооспермии и астенотератозооспермии).*
***Заключение.** При патозооспермии снижается антиоксидантный потенциал семенной жидкости, причем более выраженное снижение наблюдается при астенотератозооспермии. Антиоксидантная способность семенной жидкости коррелирует с АФК-продуцирующей способностью лейкоцитов и, в большей мере, самих сперматозоидов. При нормозооспермии сохраняется оксидантно-антиоксидантный баланс, при патозооспермии более высокому уровню продукции АФК в сперматозоидах соответствует меньшее значение антиоксидантного потенциала.*

***Ключевые слова:** активные формы кислорода, антиоксидантный потенциал, хемилюминесценция, семенная жидкость, патозооспермия*

***Для цитирования:** Проскурнина Е.В., Мельников Н.А., Долгих О.А. и др. Антиоксидантный потенциал семенной жидкости при нормозооспермии и патозооспермии. Андрология и генитальная хирургия 2020;21(2):14–9.*

DOI: 10.17650/2070-9781-2020-21-2-14-19

CC BY

Antioxidant potential of seminal plasma in normozoospermia and asthenozoospermia

E.V. Proskurnina[1], N.A. Melnikov[2], O.A. Dolgikh[1], M.I. Shtaut[1], V.B. Chernykh[1]

[1]N.P. Bochkov Research Centre for Medical Genetics; 1 Moskvorechye St., Moscow 115522, Russia;
[2]Faculty of Fundamental Medicine, Lomonosov Moscow State University; Bld. 1, 27 Lomonosovsky Ave., Moscow 119991, Russia

***The study objective** is to evaluate the antioxidant potential of seminal plasma in normozoospermia and asthenozoospermia.*
***Materials and methods.** Samples of ejaculate from 57 men of reproductive age were studied. Standard spermiologic examination and determination of the antioxidant potential of the seminal fluid using an original chemiluminescent method were performed. The method allowed to measure duration of the latent period from the moment of a decrease in luminescence of the solution containing reactive oxygen species (ROS) after addition of the seminal fluid until the most dramatic increase in luminescence corresponding to decreased antioxidant effect of the seminal fluid.*
***Results.** In the samples, the latent time varies from 4.6 to 17.5 minutes. Compared with normozoospermia, the antioxidant potential is significantly lower ($p = 0.05$) in men with asthenozoospermia (about 1.4 times), and even lower in patients with asthenoteratozoospermia (about 1.7 times) ($p = 0.03$). An inverse weak correlation was found between the activity of leukocytes and latent time in pathospermia ($r = -0.23$ and -0.18 for asthenozoospermia u asthenoteratozoospermia, respectively). A direct strong correlation was found between ROS-producing sperm activity and latent time in normozoospermia ($p = 0.79$), and inverse correlation in pathospermia ($r = -0.26$ and -0.62 for asthenozoospermia u asthenoteratozoospermia, respectively).*
***Conclusion.** Pathospermia is characterized by antioxidant seminal plasma deficiency, more pronounced for asthenoteratozoospermia. The antioxidant system of seminal plasma correlates with the ROS-producing ability of leukocytes and, to a greater extent, of the sperm.*

With normozoospermia, the oxidative balance is maintained, with pathospermia, a higher value of ROS production by sperm corresponds to a lower value of antioxidant capacity.

Key words: *reactive oxygen species, antioxidant potential, chemiluminescence, seminal fluid, asthenozoospermia*

For citation: *Proskurnina E.V., Melnikov N.A., Dolgikh O.A. et al. Antioxidant potential of seminal plasma in normozoospermia and asthenozoospermia. Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery 2020;21(2):14–9. (In Russ.).*

Введение

В России около 8 % супружеских пар не имеют детей из-за нарушения репродуктивной функции мужчины, причем мужской фактор инфертильности или субфертильности обнаружен в 50 % случаев бесплодного брака [1]. Ввиду неблагоприятной демографической ситуации в стране эта проблема требует особого внимания.

Одной из причин нарушения мужской репродуктивной функции считается избыточная продукция активных форм кислорода (АФК) – окислительный стресс [2]. Гипотеза окислительного стресса как причины мужской инфертильности была подтверждена множеством исследований; маркеры оксидантно-антиоксидантного дисбаланса обнаруживают в семенной жидкости мужчин с идиопатическим бесплодием [3–6]. Наиболее значимые причины окислительного стресса сперматозоидов – инфекционно-воспалительные заболевания мужских репродуктивных органов, в частности хронический бактериальный простатит, эпидидимит, варикоцеле, при которых продукция АФК повышена в среднем на порядок, а также выработка антиспермальных антител, действие экзогенных токсикантов [1]. АФК могут повреждать белки, мембранные липиды, ядерную и митохондриальную ДНК. В результате происходит апоптоз сперматозоидов, снижается их подвижность и оплодотворяющая способность.

Антиоксидантная система семенной жидкости включает компоненты, присущие плазме крови: супероксиддисмутазу, каталазу, систему глутатиона, мочевую кислоту, аскорбат, витамин Е, альбумин и др. Как правило, антиоксидантная емкость семенной жидкости у мужчин с нарушенной фертильностью снижена; такие пациенты часто дополнительно принимают витамины Е и С, биологически активные добавки, содержащие антиоксиданты [7]. Хотя данные об эффективности антиоксидантной терапии неоднородны и иногда даже противоречат друг другу, большинство авторов сходятся во мнении, что прием антиоксидантов при идиопатическом мужском бесплодии может оказывать положительное действие [8]. Расхождение мнений в отношении эффективности антиоксидантов связано с недостаточной изученностью патогенеза окислительного стресса при бесплодии, а также с широкой вариабельностью используемых методов оценки и отсутствием единого протокола оценки антиоксидантных свойств семенной жидкости, что не дает возможности объективно сопоставить результаты [9].

Цель исследования – оценить антиоксидантный потенциал семенной жидкости при нормозооспермии и патозооспермии.

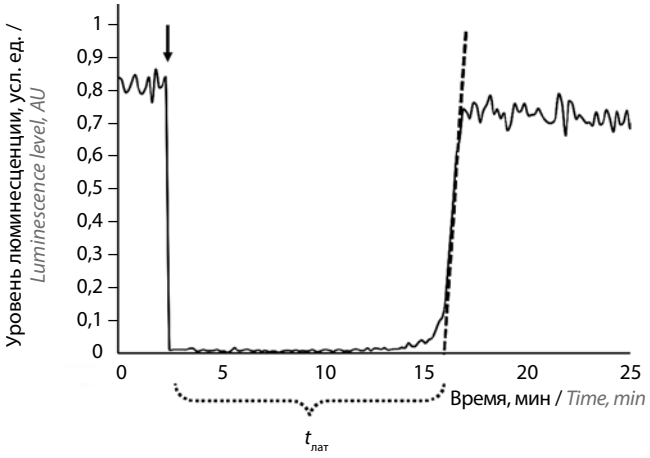
Материалы и методы

Изучены образцы эякулята 57 мужчин репродуктивного возраста, обратившихся в ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. Н.П. Бочкова» (Москва) для спермиологического обследования. Образцы эякулята были получены путем мастурбации после полового воздержания в течение 3–6 дней. Стандартное спермиологическое исследование выполняли в соответствии с руководством Всемирной организации здравоохранения (2010) [10].

По результатам спермиологического исследования сформированы 3 группы – пациенты с нормозооспермией (n = 12), астенозооспермией (n = 17), астенотератозооспермией (n = 28). Из исследования исключены пациенты с азооспермией, олигозооспермией, а также с варикоцеле.

Подготовка образцов эякулята для исследования антиоксидантного профиля включала отделение клеточных компонентов от семенной жидкости. Для этого после разжижения при температуре 37 °С в течение 30–60 мин образец эякулята центрифугировали при 1000 g в течение 10 мин, анализировали надосадочную жидкость. Все манипуляции от взятия материала до анализа занимали не более 120 мин.

Антиоксидантный профиль исследовали методом хемилюминометрии. Регистрацию хемилюминесценции проводили на хемилюминометре SmartLum 1200 («ДИСофт», Россия) по адаптированной методике, описанной ранее [11]. Хемилюминесценцию регистрировали при температуре 37 °С в системе, содержащей генератор АФК 2,2'-азобис(2-амидинопропан)дигидрохлорид и активатор свечения люминол, в фосфатном буферном растворе с pH 7,4 (все реагенты Sigma-Aldrich производства Merck, Германия). Регистрировали начальное свечение до достижения плато, далее добавляли 10 мкл семенной жидкости, предварительно разбавленной буферным раствором в 10 раз. Проводили регистрацию в течение примерно 30 мин до достижения нового стационарного уровня. По хемилюминограмме определяли длительность латентного периода ($t_{лат}$) – времени от добавления семенной жидкости до точки, отсекаемой на оси абсцисс касательной к участку наиболее крутого подъема (см. рисунок). Длительность



Метод определения антиоксидантного потенциала семенной жидкости, заключающийся в измерении длительности латентного периода $t_{лат}$ от момента снижения активности свечения раствора, содержащего активные формы кислорода (момент обозначен стрелкой), при добавлении семенной жидкости до момента регистрации наиболее резкого усиления свечения, соответствующего ослаблению антиоксидантного действия семенной жидкости (момент указан пунктиром)

Method of determination of antioxidant potential of the seminal fluid consisting of measuring the duration of the latent period t_{lat} from the moment of a decrease in luminescence of the solution containing reactive oxygen species (arrow) after addition of the seminal fluid until the most dramatic increase in luminescence corresponding to decreased antioxidant effect of the seminal fluid (dashed line)

латентного периода ($t_{лат}$) является характеристикой антиоксидантного потенциала пробы; состоянию окислительного стресса соответствует снижение этого показателя.

Для статистической обработки данных использовали программный пакет Statistica 10.0 (StatSoft, США). Нормальность распределения проверяли по критерию Шапиро–Уилка. Сравнительный анализ 2 независимых групп по количественному признаку проводили с помощью U-критерия Манна–Уитни. Статистически значимыми считали различия при значении $p \leq 0{,}05$. Для выявления взаимосвязи показателей рассчитывали коэффициент корреляции (r).

Результаты

Параметры эякулята пациентов с астенозооспермией и тератозооспермией значительно отличаются от показателей мужчин с нормозооспермией (табл. 1).

В образцах эякулята мужчин с нормозооспермией и патозооспермией длительность латентного периода варьирует от 4,6 до 17,5 мин. Поскольку исследованная выборочная совокупность не подчиняется нормальному распределению (критерий Шапиро–Уилка, $p = 0{,}04$), для статистического описания выборки использованы медиана (Me) и межквартильный интервал (Q_1; Q_3).

Таблица 1. *Результаты спермиологического исследования*

Table 1. *Results of spermiologic examination*

Показатель Characteristic	**Пациенты с нормозооспермией (n = 12)** Patients with normozoospermia (n = 12)	**Пациенты с астенозооспермией (n = 17)** Patients with asthenozoospermia (n = 17)	**Пациенты с астенотератозооспермией (n = 28)** Patients with asthenoteratozoospermia (n = 28)
Объем эякулята, мл Ejaculate volume, ml	4,35 (0,38)	3,73 (0,81)	3,68 (0,33)
Количество сперматозоидов в 1 мл, млн Sperm count per 1 ml, million	73,75 (0,52)	115,27 (0,81)	90,22 (0,62)
Доля живых сперматозоидов, % Live sperm, %	98 (0,02)	97 (0,02)	97 (0,04)
Доля прогрессивно подвижных сперматозоидов, % Progressive motile sperm, %	36 (0,09)	21 (0,31)	14 (0,56)
Доля непрогрессивно подвижных сперматозоидов, % Non-progressive motile sperm, %	13 (0,61)	18 (0,49)	23 (0,39)
Суммарная доля подвижных сперматозоидов, % Total motile sperm, %	49 (0,17)	39 (0,24)	37 (0,31)
Доля неподвижных сперматозоидов, % Non-motile sperm, %	51 (0,16)	61 (0,15)	63 (0,19)
Морфологически нормальные, % Morphologically normal sperm, %	7 (0,38)	7 (0,48)	2 (0,73)
Количество лейкоцитов в 1 мл, млн Leukocyte count in 1 ml, million	0,81 (0,40)	1,50 (0,65)	2,00 (0,99)

Примечание. *Данные представлены в виде средних значений, в скобках указан коэффициент вариации $\bar{x}$ (S_r).*

Note. *Data presented as mean with variation coefficient $\bar{x}$ (S_r) in parenthesis.*

Антиоксидантный потенциал статистически значимо ($p = 0,05$) ниже у мужчин с астенозооспермией (примерно в 1,4 раза) и еще ниже у пациентов с астенотератозооспермией (примерно в 1,7 раза), чем у мужчин с нормозооспермией (табл. 2).

Таблица 2. *Антиоксидантный потенциал семенной жидкости*

Table 2. *Antioxidant potential of seminal plasma*

Группа Group	Латентный период $t_{лат}$, мин, Me (Q_1; Q_3) Latent period t_{lat}, min, Me (Q_1; Q_3)	Статистическая значимость различий p Statistical significance p
Пациенты с нормозооспермией ($n = 12$) Patients with normozoospermia ($n = 12$)	12,8 (10,0; 15,1)	–
Пациенты с астенозооспермией ($n = 17$) Patients with asthenozoospermia ($n = 17$)	8,9 (6,0; 10,8)	0,05*
Пациенты с астенотератозооспермией ($n = 28$) Patients with asthenoteratozoospermia ($n = 28$)	7,6 (5,2; 9,7)	0,03* 0,34**

**В сравнении с данными пациентов с нормозооспермией.*
***В сравнении с данными пациентов с астенозооспермией.*
**Compared to patients with normozoospermia. **Compared to patients with asthenozoospermia.*

В тех же образцах семенной жидкости была ранее определена АФК-продуцирующая активность лейкоцитов методом люминолактивированной хемилюминесценции [12], а также АФК-продуцирующая активность сперматозоидов методом люцигенинактивированной хемилюминесценции. Уровень хемилюминесценции лейкоцитов семенной жидкости после стимулирования форбол-12-миристат-13-ацетатом и уровень базальной хемилюминесценции сперматозоидов сопоставлен с антиоксидантной емкостью семенной жидкости, рассчитаны коэффициенты корреляции (табл. 3).

Между активностью лейкоцитов и длительностью латентного периода при патозооспермии обнаружена слабая обратная корреляция, между АФК-продуцирующей активностью сперматозоидов и длительностью латентного периода при нормозооспермии – сильная прямая корреляция, при астенозооспермии – обратная слабая корреляция, при астенотератозооспермии – обратная корреляция средней силы.

Обсуждение

Полученные нами данные свидетельствуют о недостаточности антиоксидантного потенциала при патозооспермии, что подтверждает распространенное мнение о наличии окислительного стресса в семенной жидкости у мужчин с бесплодием, который может быть вызван не только урогенитальными заболеваниями (варикоцеле, простатит, эпидидимит), но и факторами образа жизни, такими как курение, прием алкоголя, кофеина. Антиоксидантный потенциал снижают ожирение, диабет, старение, чрезмерная физическая нагрузка и психический стресс [13]. В нашем исследовании у пациентов с астенозооспермией и астенотератозооспермией выявлен примерно одинаковый антиоксидантный потенциал семенной жидкости – возможно, для обнаружения статистически значимых различий следует формировать группы с учетом клинического диагноза и сопутствующей патологии.

Таблица 3. *Коэффициенты корреляции между уровнем продукции активных форм кислорода в лейкоцитах спермы и сперматозоидах и длительностью латентного периода*

Table 3. *Correlation coefficients between the level of reactive oxygen species production in seminal fluid leukocytes and spermatozoa and duration of the latent period*

Группа Group	Корреляция между длительностью латентного периода и уровнем продукции активных форм кислорода Correlation coefficients between the duration of the latent period and the level of reactive oxygen species production	
	в лейкоцитах спермы in seminal fluid leukocytes	в сперматозоидах in seminal fluid spermatozoa
Пациенты с нормозооспермией ($n = 12$) Patients with normozoospermia ($n = 12$)	–	0,79
Пациенты с астенозооспермией ($n = 17$) Patients with asthenozoospermia ($n = 17$)	–0,23	–0,26
Пациенты с астенотератозооспермией ($n = 28$) Patients with asthenoteratozoospermia ($n = 28$)	–0,18	–0,62

Снижение антиоксидантной защиты может происходить в ответ на усиление продукции АФК. В семенной жидкости существуют 2 основных источника АФК – лейкоциты и сперматозоиды. Лейкоциты являются внешними по отношению к сперматозоидам источниками АФК. Повышенная их активность не только вызывает «прямой» окислительный стресс, но и стимулирует продукцию АФК самими сперматозоидами опосредованно, через провоспалительные цитокины [14]. При процедуре экстракорпорального оплодотворения, когда половые клетки извлекают из естественной среды, этот фактор приобретает особое значение. Согласно нашим данным, повышенная АФК-продуцирующая

активность лейкоцитов действительно вызывает снижение антиоксидантной защиты, хотя корреляция является слабой.

Сперматозоиды продуцируют внутриклеточные АФК благодаря митохондриям, и повышенная активность этого источника особенно пагубно сказывается на функции мужских гамет, поскольку они не обладают мощной системой антиоксидантной защиты. Внеклеточная генерация АФК сперматозоидами обеспечивается ферментом НАДФН-оксидазой, схожим с НАДФН-оксидазой лейкоцитов, но использующим в качестве субстрата не только НАДФН, но и НАДН (Nox5). Эта система генерирует на 3 порядка меньше АФК, чем НАДФН-оксидаза нейтрофилов [15].

При высоком уровне АФК снижается подвижность сперматозоидов, что объясняют двумя возможными механизмами. Либо в результате действия внутриклеточного пероксида водорода снижается активность глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы и, следовательно, продукция энергии, необходимой для движения жгутика сперматозоида. Либо в результате перекисного окисления липидов повышается проницаемость клеточной мембраны для аденозинтрифосфорной кислоты и ее предшественника аденина, что тоже приводит к сокращению энергетического ресурса мужских гамет. Наличие большого количества полиненасыщенных жирных кислот в мембране сперматозоида делает его более подверженным липидной пероксидации [16].

Высокая внутриклеточная продукция АФК может привести к мутациям в митохондриальной ДНК, которые происходят примерно в 100 раз чаще, чем в ядерной. Геном митохондрий легко повреждается из-за отсутствия защиты митохондриальной ДНК гистонами, а также слабых возможностей механизмов репарации повреждений и более высокой скорости репликации митохондриальной ДНК. Кроме того, митохондриальная ДНК практически полностью состоит из кодирующих областей, более уязвимых к мутагенному воздействию, а также она локализуется вблизи внутренней мембраны, где образуется значительное количество АФК [17]. Высокий уровень АФК в семенной жидкости, недостаточность антиоксидантной защиты и увеличение числа мутаций митохондриальной ДНК коррелируют с нарушенной фертильностью у мужчин, однако вопрос, является ли повреждение ДНК причиной или следствием продукции АФК, остается открытым [18]. Митохондрии с поврежденными молекулами ДНК вырабатывают меньше аденозинтрифосфорной кислоты, приводя к «энергетическому кризису» в клетке, а также могут инициировать каскад апоптотических реакций [19].

Таким образом, при патозооспермии с доказанной недостаточностью антиоксидантной защиты можно ожидать эффекта от антиоксидантной терапии, при этом важно знать, является ли источник АФК внеклеточным или внутриклеточным. Следовательно, при оценке окислительного стресса в семенной жидкости целесообразно определять активность основных источников АФК и состояние антиоксидантной системы.

Заключение

Для патозооспермии характерна антиоксидантная недостаточность семенной жидкости, более выраженная при астенотератозооспермии, чем при астенозооспермии. Состояние антиоксидантной системы семенной жидкости коррелирует с АФК-продуцирующей способностью лейкоцитов и, в большей мере, самих сперматозоидов. При нормозооспермии повышению АФК-продуцирующей активности сперматозоидов сопутствует бóльшая антиоксидантная емкость, таким образом сохраняется свободнорадикальный баланс. При патозооспермии баланс нарушен: большей интенсивной продукции АФК сперматозоидами соответствует меньшая антиоксидантная емкость, причем этот дисбаланс более выражен при астенотератозооспермии.

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

1. Сухих Г.Т., Божедомов В.А. Мужское бесплодие. М.: Эксмо, 2008. 240 с. [Sukhih G.T., Bozhedomov V.A. Male infertility. Moscow: Eksmo, 2008. 240 p. (In Russ.)].
2. Agarwal A., Durairajanayagam D., Halabi J. et al. Proteomics, oxidative stress and male infertility. Reprod Biomed Online 2014;29(1):32–58. DOI: 10.1016/j.rbmo.2014.02.013.
3. Agarwal A., Makker K., Sharma R. Clinical relevance of oxidative stress in male factor infertility: an update. Am J Reprod Immunol 2008;59(1):2–11. DOI: 10.1111/j.1600-0897.2007.00559.x.
4. Patricio A., Cruz D.F., Silva J.V. et al. Relation between seminal quality and oxidative balance in sperm cells. Acta Urol Portug 2016(33):6–15.
5. Roychoudhury S., Sharma R., Sikka S., Agarwal A. Diagnostic application of total antioxidant capacity in seminal plasma to assess oxidative stress in male factor infertility. J Assist Reprod Genet 2016;33(5):627–35. DOI: 10.1007/s10815-016-0677-5.
6. Mayorga-Torres B.J.M., Camargo M., Cadavid A.P. et al. Are oxidative stress markers associated with unexplained male infertility? Andrologia 2017;49(5). DOI: 10.1111/and.12659.
7. Showell M.G., Mackenzie-Proctor R., Brown J. et al. Antioxidants for male subfertility. Cochrane Database Syst Rev 2014(12):CD007411. DOI: 10.1002/14651858.CD007411.pub3.
8. Tournaye H. Evidence-based management of male subfertility. Curr Opin Obstet Gynecol 2006;18(3):253–9. DOI: 10.1097/01.gco.0000192994.37965.c6.
9. Agarwal A., Prabakaran S.A., Said T.M. Prevention of oxidative stress injury to sperm. J Androl 2005;26(6):654–60. DOI: 10.2164/jandrol.05016.
10. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th edn. WHO, 2010.
11. Алексеев А.В., Проскурнина Е.В., Владимиров Ю.А. Определение антиоксидантов методом активированной хемилюминесценции с использованием

2,2'-азобис(2-амидинопропана). Вестник Московского университета. Серия 2: Химия 2012;53(3):187–93. [Alekseev A.V., Proskurnina E.V., Vladimirov Yu.A. Determination of antioxidants by sensitized chemiluminescence using 2,2'-azobis(2-amidinopropane). Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 2: Khimiya = Moscow University Chemistry Bulletin 2012; 53(3):187–93. (In Russ.)].
12. Проскурнина Е.В., Мельников Н.А., Черных В.Б. и др. Функциональная активность лейкоцитов в семенной жидкости при патоспермии. Урология 2019(6):78–82. [Proskurnina E.V., Melnikov N.A., Chernykh V.B. et al. Functional activity of leucocytes in seminal fluid of patients with pathospermia. Urologiya = Urology 2019(6):78–82. (In Russ.)]. DOI: 10.18565/urology.2019.6.78-82.
13. Sabeti P., Pourmasumi S., Rahiminia T. et al. Etiologies of sperm oxidative stress. Int J Reprod Biomed (Yazd) 2016;14(4):231–40.
14. Aitken R.J., Baker M.A., Nixon B. Are sperm capacitation and apoptosis the opposite ends of a continuum driven by oxidative stress? Asian J Androl 2015;17(4):633–9. DOI: 10.4103/1008-682X.153850.
15. Baker M.A., Aitken R.J. The importance of redox regulated pathways in sperm cell biology. Mol Cell Endocrinol 2004;216(1–2):47–54. DOI: 10.1016/j.mce.2003.10.068.
16. Aitken R.J. Reactive oxygen species as mediators of sperm capacitation and pathological damage. Mol Reprod Dev 2017;84(10):1039–52. DOI: 10.1002/mrd.22871.
17. Aitken R.J., De Iuliis G.N. On the possible origins of DNA damage in human spermatozoa. Mol Hum Reprod 2010;16(1):3–13. DOI: 10.1093/molehr/gap059.
18. St John J.C., Jokhi R.P., Barratt C.L. Men with oligoasthenoteratozoospermia harbour higher numbers of multiple mitochondrial DNA deletions in their spermatozoa, but individual deletions are not indicative of overall aetiology. Mol Hum Reprod 2001;7(1):103–11. DOI: 10.1093/molehr/7.1.103.
19. Aitken R.J., Koppers A.J. Apoptosis and DNA damage in human spermatozoa. Asian J Androl 2011;13(1):36–42. DOI: 10.1038/aja.2010.68.

Вклад авторов
Е.В. Проскурнина: разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, анализ научной литературы, написание статьи;
Н.А. Мельников, О.А. Долгих: хемилюминометрическое исследование;
М.И. Штаут: спермиологическое исследование;
В.Б. Черных: разработка дизайна исследования, анализ данных, научное редактирование текста статьи.
Authors' contributions
E.V. Proskurnina: development of research design, analysis of the obtained data, review of publications on the article's theme, article writing;
N.A. Melnikov, O.A. Dolgikh: chemiluminometric study;
M.I. Shtaut: spermiologic examination;
V.B. Chernykh: development of research design, analysis of the obtained data, final editing of the text.

ORCID авторов / ORCID of authors
Е.В. Проскурнина / E.V. Proskurnina: http://orcid.org/0000-0002-8243-6339
Н.А. Мельников / N.A. Melnikov: https://orcid.org/0000-0002-4881-5933
О.А. Долгих / O.A. Dolgikh: https://orcid.org/0000-0002-4426-8864
М.И. Штаут / M.I. Shtaut: https://orcid.org/0000-0002-0580-5575
В.Б. Черных / V.B. Chernykh: https://orcid.org/0000-0002-7615-8512

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 performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики
Протокол исследования одобрен этическим комитетом ФГБНУ «Медико-генетический центр им. Н.П. Бочкова» (протокол № 1/2 от 15 января 2018 г.)
Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.
Compliance with patient rights and principles of bioethics
The study protocol was approved by the ethics committee of N.P. Bochkov Research Centre for Medical Genetics (protocol No. 1/2 from January 15th 2019).
All patients gave written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 03.03.2020. **Принята к публикации:** 29.04.2020.
Article submitted: 03.03.2020. **Accepted for publication:** 29.04.2020.