

# PRODIGEST

для специалистов по репродуктивному здоровью

от ПРОфессионалов для ПРОфессионалов

09'2015



## ОБЗОР МЕЖДУНАРОДНЫХ ПЕРИОДИЧЕСКИХ ИЗДАНИЙ ПО ТЕМАМ:

- Оксидативный стресс
- Варикоцеле
- Образ жизни и окружающая среда
- Идиопатическое бесплодие
- Фрагментация ДНК
- Урологические и общие аспекты мужского бесплодия
- Вспомогательные репродуктивные технологии
- Азооспермия

## Окислительный стресс

- 1 Биохимическая и гистологическая оценка эффектов грелина при кадмий-индуцированных повреждениях яичка.
- 2 Уровень лептина в семенной плазме и апоптоз сперматозоидов у пациентов варикоцеле и лейкоцитоспермией
- 3 Экспериментальный гипертиреоз влияет на окислительный и антиоксидантный статус и нарушает работу половой системы взрослых самцов крыс
- 3 Окислительно-восстановительная регуляция капацитации сперматозоидов млекопитающих
- 4 Капацитация сперматозоида и апоптоз — крайние проявления его окислительного стресса?
- 5 Продуцирующая АФК оксидаза Nox3 регулирует самообновление сперматогенных стволовых клеток мышей

## Варикоцеле

- 5 Оценка динамики параметров спермы у бесплодных мужчин после микрохирургической варикоцелэктомии
- 6 Инсулиноподобный фактор роста в сперме может участвовать в патогенезе бесплодия у пациентов с клиническим варикоцеле

## Образ жизни и окружающая среда

- 7 Уровень эстрадиола в сыворотке мужчин в бесплодном браке
- 7 Влияние микроволн (950 МГц мобильного телефона) на морфометрические и апоптотические изменения придатка яичка кроликов
- 8 Воздействие преходящей гипертермии мошонки на параметры сперматозоидов, биохимические маркеры семенной плазмы и окислительный стресс у мужчин
- 9 Потребление соевой пищи мужчинами не связано с исходами оплодотворения среди пар, посещающих центр репродукции
- 9 Оценка *in vitro* влияния АФК на подвижность эпидидимальных сперматозоидов самцов крыс после внутривагинального введения нонилфенола
- 10 Длительное воздействие низкочастотных электромагнитных полей влияет на ткани яичек, качество сперматозоидов и уровень тестостерона у самцов крыс
- 11 Ингибирование синтазы оксида азота сглаживает вызванное никотином нарушение параметров спермы сперматозоидов у самцов крыс
- 12 Вызванное несбалансированным питанием ожирение изменяет кинематические характеристики сперматозоидов крыс
- 13 Влияние физической активности, ожирения, уровня образования и употребления нюхательного табака на качество спермы: результаты исследования ActiART

## Идиопатическое бесплодие

- 14 Роль шаперона, белка теплового шока A2 (HSPA2), в регуляции распознавания сперматозоида и яйцеклетки у человека
- 15 Ремоделирование плазматической мембраны при подготовке к распознаванию сперматозоида и яйцеклетки: роль белков акросомы
- 15 Эпигенетический потенциал хроматина сперматозоидов человека: геномика, протеомика и мужское бесплодие
- 16 Тератозооспермия: в центре внимания основные генетические актеры человека
- 18 Количественная оценка экспрессии CatSper1 в сперматозоидах человека и связь этого показателя с функциональными параметрами
- 19 МикроРНК и метилирование ДНК как эпигенетические регуляторы митоза, мейоза и спермиогенеза
- 20 Скрининг на мутации гена NR5A1, кодирующего стероидогенный фактор 1 при крипторхизме, мужское бесплодие и функциональный анализ семи неописанных мутаций
- 21 Анализ мутаций у пациентов с полной неподвижностью сперматозоидов
- 22 Модель контроля целостности ДНК матриксом ядра сперматозоида
- 23 Фрагментация ДНК сперматозоидов, повторяющееся отсутствие имплантации и привычное невынашивание беременности
- 23 Нет связи между индексом массы тела и целостностью ДНК сперматозоидов

## Фрагментация ДНК

- 25 Снижение активности супероксиддисмутазы в семенной плазме мужчин с бесплодием коррелирует с повышенной фрагментацией ДНК сперматозоидов в течение первых часов после их получения
- 26 Согласованность результатов анализа целостности ДНК сперматозоидов и показателей спермограммы
- 27 Воздействие комплекса инсулиноподобного фактора роста-1 (ИФР-1) из семенной плазмы на капацитацию, целостность мембраны и фрагментацию ДНК сперматозоидов козлов
- 28 Оценка целостности ядер сперматозоидов у пациентов с различной процентной долей декапитированных сперматозоидов в эякуляте
- 28 Изучение анеуплоидии и фрагментации ДНК сперматозоидов трех мужчин с мозаичностью половых хромосом, в том числе 45X

## Урологические и общие аспекты мужского бесплодия

- 29 Связн ли аногенитальное расстояние с качеством спермы у мужчин в бесплодном браке?
- 30 Приобретенное неопущение яичек и потенциал фертильности: лучше ли орхипексия при установлении диагноза чем ожидание спонтанного опущения?
- 31 Высокий уровень глюкозы в крови сам по себе не оказывает неблагоприятного воздействия на функцию сперматозоидов человека *in vitro*
- 32 Эпидидимит: восходящая инфекция, ограничиваемая сегментарной структурой
- 33 Бесплодие как показатель здоровья мужчины в целом: результаты исследования методом «поперечного среза»
- 34 Параметры спермограммы и уровень воспалительных цитокинов в сперме у мужчин, инфицированных *Helicobacter pylori*
- 35 Обзор сообщений об объеме эякулята и старении мужчин за последние 33 года: с 1980 по 2013 гг.
- 35 Влияние тестостерона на воспалительный ответ в клетках яичек и экспрессию фактора транскрипции Foxp3 в Т-лимфоцитах.

## Вспомогательные репродуктивные технологии

- 36 Связь между этиологическими факторами бесплодия в паре и неудачным оплодотворением при традиционном цикле экстракорпорального оплодотворения
- 37 Отрицательное влияние криоконсервации спермы на качество и развитие эмбриона также зависит от морфологии ооцита
- 38 Влияние лейкоцитов спермы на исходы экстракорпорального оплодотворения и инъекции сперматозоида в цитоплазму яйцеклетки
- 39 Риск тяжелых пороков развития после вспомогательного хэтчинга: анализ данных Японского национального реестра использования вспомогательных репродуктивных технологий за три года
- 40 Применение интерференционной микроскопии для оценки морфологии сперматозоидов без использования меток
- 41 Разрывы двойной цепи ДНК в сперматозоидах человека помогают прогнозировать исход применения вспомогательных репродуктивных технологий
- 41 Изучение морфологии сперматозоидов при большом увеличении позволяет предсказать лабораторные и клинические исходы в парах, прибегающих к ИКСИ
- 42 Воздействие 24-часового культивирования тестикулярных сперматозоидов *in vitro* перед замораживанием на исходы ИКСИ: ретроспективное исследование

## Азооспермия

- 43 Использование комбинированной терапии на основе хорионического гонадотропина человека для возобновления сперматогенеза после приема тестостерона
- 44 Делеция в области AZFc не влияет на функцию сперматогоний человека *in vitro*
- 45 Вредная мутация SYCE1 связана с необструктивной азооспермией

# Биохимическая и гистологическая оценка эффектов грелина при кадмий-индуцированных повреждениях яичка.

## Biochemical and histopathological evaluations of ghrelin effects following cadmium toxicity in the rat testis.



Numerous reports demonstrate that cadmium (Cd) induces oxidative stress by increasing lipid peroxidation and altering antioxidant enzymes status. Thirty male rats were subdivided into control-saline, Cd-saline and Cd-ghrelin groups. A single dose of Cd was injected to induce testicular injury and also ghrelin for 10 consecutive days to group 3. SOD activity decreased and

lipid peroxidation increased by Cd administration. The mean activities of GPx and CAT as well as GSH content were lower in the Cd-saline rats; however, they did not statistically differ compared with the controls. Exposure to Cd resulted in complete degeneration of seminiferous tubules with severe depletion of germ cells and arrest in spermatogenesis. Notably, ghrelin treatment

not only prevented reduction in SOD, GPx, CAT and GSH level, but also increased enzyme activities from their normal values. Moreover, TBARS concentration was significantly reduced by ghrelin administration. Furthermore, ghrelin pre-treatment resulted in partial but not significant prevention in testicular histopathological features damaged by Cd. In conclusion, the obtained results

indicate for the first time the novel evidences of ghrelin ability in promotion of antioxidant enzyme activities and reduction of lipid peroxidation following Cd-induced oxidative stress in the rat testis. These observations also demonstrate that ghrelin may be considered as promising antioxidant agent in prevention and attenuation of testicular injury upon Cd toxicity.



## Грелин может являться эффективным антиоксидантом при Cd-индуцированном повреждении сперматогенного эпителия и блоке сперматогенеза.

В результате деятельности человека уровень присутствия кадмия в окружающей среде значительно вырос. Кадмий может переноситься атмосферными потоками на большие расстояния от источника выброса. Он легко накапливается во многих организмах, особенно в моллюсках и ракообразных. Более низкие его концентрации встречаются в овощах, зерновых культурах и крахмалсодержащих корнеплодах. Воздействие кадмия на человека происходит в основном при употреблении в пищу загрязненных продуктов, активном и пассивном вдыхании табачного дыма, а также при вдыхании частиц кадмия работниками, занятыми в цветной металлургии.

Грелин способствует активизации эндотелиальной изоформы синтазы оксида азота в сигнальном каскаде, который зависит от различных киназ, включая протеинкиназу В. Уровень грелина перед приёмами пищи увеличивается, а после приёмов пищи уменьшается, таким образом у страдающих ожирением людей он ниже, чем у людей с нормальной массой тела. Считается, что он взаимно дополняет гормон лептин, производимый в жировой ткани, который вызывает насыщение, когда присутствует в более высоких концентрациях. Грелин играет значительную роль в нервной системе и важен для познавательной адаптации при изменяющихся условиях среды и процесса еды. Многочисленные доклады показывают, что кадмий (Cd), вызывает окислительный стресс путем увеличения перекисного окисления липидов и изменения статуса антиоксидантных ферментов. Тридцать самцов крыс были разделены на группы: контроль-солевой раствор, Cd-солевой раствор и Cd-грелин. Разовую дозу Cd вводили, чтобы вызвать повреждение яичек, а также грелин в течение 10 дней

в третьей группе. Активность СОД (супероксиддисмутазы) уменьшилось, а перекисное окисление липидов увеличилось при назначении Cd. Средние значения GPx (глутатионпероксидазы) и каталазы, а также содержания GSH (глутатиона) были ниже в группе Cd-солевой раствор; однако, они статистически не отличаются в сравнении с контрольной группой. Воздействие Cd привело к полной атрофии семенных канальцев с тяжелой гипотрофией герминогенных клеток и блоку сперматогенеза. Примечательно, что лечение грелином не только предотвратило снижение активности СОД, GPx, каталазы и уровня GSH, но также увеличило активность ферментов по сравнению с нормальным уровнем. Кроме того,

**ГРЕЛИН** — пептидный гормон, обладающий свойствами гонадолиберина и другими метаболическими и эндокринными функциями. Был открыт в конце XX века. Прогормон грелина продуцируется в основном P/D1-клетками слизистой оболочки фундального отдела желудка.

концентрация TBARS (реактивные субстанции тиобарбитуровой кислоты), побочные продукты перекисного окисления липидов была значительно снижена при введении грелина. Оказалось, что предварительное введение грелина может быть частичной профилактикой гистологических особенностей повреждения яичка кадмием. В заключение, полученные результаты впервые свидетельствуют о способности грелина увеличивать активность антиоксидантных ферментов и снижать перекисное окисление липидов при Cd-индуцированном окислительном стрессе в яичках у крыс. Эти наблюдения также показывают, что грелин может рассматриваться как перспективный антиоксидант в профилактике и смягчении повреждающего действия Cd на яички.

2015

*Andrologia*, 47: 634–643.

*Kheradmand, A.*

*Alirezaei, M.*

*Dezfoulian, O.*

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/and.12311/abstract>

# Уровень лептина в семенной плазме и апоптоз сперматозоидов у пациентов с варикоцеле и лейкоцитоспермией

Wang, H., Lv, Y., Hu, K., Feng, T., Jin, Y., Wang, Y., Huang, Y. and Chen, B.  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/and.12313/abstract>

Уровень лептина в семенной плазме значимо коррелирует с частотой апоптоза сперматозоидов

**ЛЕПТИН** — один из основных гормонов жировой ткани. Он играет ключевую роль в регуляции энергетического гомеостаза, сигнализируя головному мозгу о запасах жира в организме. Лептин взаимодействует со специфическими (гомологичными цитокиновым IL-6) рецепторами в гипоталамусе (паравентрикулярные, латеральные, вентромедиальные, дорсомедиальные ядра), что приводит к подавлению синтеза орексигенных пептидов и стимуляции анорексигенных факторов. Воздействие лептина на рецепторы мозга активирует сигнализацию гормональной и нервной системы к периферическим жировым депо. Эти сигналы инициируют каскад реакций, включающих повышение продукции и активации PPAR-g, снижение продукции белка C/EBP, нарушение метаболизма митохондрий и повышение продукции активных форм кислорода, что приводит к повышению транскрипции и активации эндонуклеаз, протеаз, фосфорилаз. Эти ферменты способствуют инициации и развитию проапоптотических реакций в жировых клетках.

Мужское бесплодие сопровождается избыточным апоптозом сперматозоидов. Лептин регулирует апоптоз нескольких типов клеток. В рамках проспективного исследования с участием 74 больных варикоцеле и 70 больных с лейкоцитоспермией мы изучили, зависит ли апоптоз сперматозоидов от уровня лептина в семенной плазме. В качестве контроля использовали сперматозоиды 40 мужчин с нормозооспермией. Проводили стандартный анализ спермы, определяли частоту апоптоза сперматозоидов, уровень лептина в семенной плазме, уровень активных форм кислорода (АФК) и фактора некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ). У больных варикоцеле и лейкоцитоспермией уровень лептина в семенной плазме и частота апоптоза сперматозоидов были значимо выше, чем в контрольной группе. В группе варикоцеле уровень АФК в семенной

плазме был значимо выше, чем в контрольной группе. Значимых различий в уровне ФНО- $\alpha$  не отмечено. В группе лейкоцитоспермии уровни АФК и ФНО- $\alpha$  были значимо выше, чем в контрольной. В группах варикоцеле и лейкоцитоспермии отмечена значимая положительная корреляция между частотой апоптоза сперматозоидов и уровнем лептина, а также между уровнями АФК и лептина. В группе лейкоцитоспермии наблюдалась значимая корреляция уровня лептина и ФНО- $\alpha$ . Уровень лептина в семенной плазме значимо коррелировал с частотой апоптоза сперматозоидов. Таким образом, лептин может считаться фактором, способствующим апоптозу сперматозоидов.

Возможный механизм действия — образование АФК. У больных лейкоцитоспермией лептин может вызывать апоптоз посредством ФНО- $\alpha$ .



2015  
*Andrologia*, 47: 655–661.

## Seminal plasma leptin and spermatozoon apoptosis in patients with varicocele and leucocytospermia.



Excessive apoptotic spermatozoon death is associated with male infertility. Leptin regulates apoptosis in several cell types. We prospectively investigated if seminal plasma leptin mediates spermatozoon apoptosis in 74 varicocele (VC) patients and 70 leucocytospermia patients. Spermatozoa from 40 normospermic men were used as controls. Routine semen analysis,

spermatozoon apoptosis rate, seminal plasma leptin, reactive oxygen species (ROS) and tumour necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) levels were measured. In VC and leucocytospermia patients, seminal plasma leptin levels and spermatozoon apoptosis rates were significantly higher compared with controls. In the VC group, seminal plasma ROS levels were significantly higher

compared with controls; there were no significant differences in TNF- $\alpha$  levels. In the leucocytospermia group, both ROS and TNF- $\alpha$  levels were significantly higher compared with controls. In both the VC and leucocytospermia groups, there was a significant positive correlation between the spermatozoon apoptosis rate and leptin levels and ROS and leptin levels.

There was a significant correlation between leptin and TNF- $\alpha$  levels in the leucocytospermia group. Seminal plasma leptin levels correlate significantly with spermatozoon apoptosis rate, and leptin may be a spermatozoon pro-apoptotic factors. The generation of ROS is a possible mechanism. Leptin may induce apoptosis via TNF- $\alpha$  in leucocytospermia patients.

# Экспериментальный гипертиреоз влияет на окислительный и антиоксидантный статус и нарушает работу половой системы взрослых самцов крыс

Избыток гормонов щитовидной железы может неблагоприятно сказываться на работе яичек вследствие оксидативного стресса.

Asker, M. E.  
Hassan, W. A.  
El-Kashlan, A. M.

Цель настоящего эксперимента — изучить влияние гипертиреоза на работу мужской половой системы и окислительные и антиоксидантные биомаркеры в яичках взрослых самцов крыс.

Индукция гипертиреоза введением L-тироксина (L-T4, 300 мкг/кг массы тела) один раз в день в течение 3 или 8 недель привела к снижению прибавки массы тела, а также абсолютного веса половых органов. Число эпидидимальных сперматозоидов и их подвижность после введения L-T4 постепенно снижались в значимой степени. У крыс, страдающих гипертиреозом, по сравнению со здоровыми крысами наблюдалось значимое снижение сывороточного уровня лютеинизирующего гормона, фолликуло-стимулирующего

гормона и тестостерона, а также значимое повышение сывороточного уровня эстрадиола. Также после развития гипертиреоза отмечался значимый рост уровня малондальдегида и концентрации оксида азота, а также значимое уменьшение активности супероксиддисмутазы и каталазы. У крыс с гипертиреозом по сравнению с контрольными были снижены уровень глутатиона и активность глутатионпероксидазы.

На срезах яичек крыс с гипертиреозом отмечались выраженные гистопатологические изменения. Полученные результаты подтверждают, что усиление обмена веществ вследствие избытка гормонов щитовидной железы может неблагоприятно сказываться на работе яичек вследствие оксидативного стресса.



2015  
Andrologia, 47: 644–654.

## Experimentally induced hyperthyroidism influences oxidant and antioxidant status and impairs male gonadal functions in adult rats



The objective of the present experiment was to study the effect of hyperthyroidism on male gonadal functions and oxidant/antioxidant biomarkers in testis of adult rats. Induction of hyperthyroidism by L-thyroxine (L-T4, 300 µg kg<sup>-1</sup> body weight) treatment once daily for 3 or 8 weeks caused a decrease in body weight gain as well as in abso-

lute genital sex organs weight. The epididymal sperm counts and their motility were significantly decreased in a time-dependent manner following L-T4 treatment. Significant decline in serum levels of luteinising hormone, follicle stimulating hormone and testosterone along with significant increase in serum estradiol level was observed

in hyperthyroid rats compared with euthyroid ones. Significant increase in malondialdehyde and nitric oxide concentration associated with significant decrease in superoxide dismutase and catalase activity was also noticed following hyperthyroidism induction. Both reduced glutathione content and glutathione peroxidase activity were increased in

hyperthyroid rats compared with control rats. Marked histopathological alterations were observed in testicular section of hyperthyroid rats. These results provide evidence that hypermetabolic state induced by excess level of thyroid hormones may be a causative factor for the impairment of testicular physiology as a consequence of oxidative stress.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/and.12312/abstract>

## Окислительно-восстановительная регуляция капацитации сперматозоидов млекопитающих

Нарушение регуляции пероксиредоксинов и ферментов, ухудшает подвижность сперматозоидов, нарушает капацитацию и способствует повреждению ДНК сперматозоидов.

Cristian O'Flaherty

Капацитация — ряд морфологических и метаболических изменений, необходимых для обретения сперматозоидом способности к оплодотворению. Одно из ранних событий во время капацитации сперматозоидов млекопитающих — образование активных форм кислорода (АФК), которые постепенно запускают

и регулируют ряд событий, включающих фосфорилирование белков. Все еще неизвестно, какая оксидаза сперматозоидов участвует в образовании АФК во время капацитации, и в настоящем обзоре обсуждаются несколько потенциальных агентов. Окислительно-восстановительные сигналы во время капацитации связаны с изменени-



Asian Journal of Andrology  
Volume 17, Issue 4  
(July 2015) 17,  
583–590

[http://www.asiaandro.com/  
Abstract.asp?doi=10.4103/1008-  
682X.153303](http://www.asiaandro.com/Abstract.asp?doi=10.4103/1008-682X.153303)

ями в тиольных группах белков, расположенных на плазматической мембране и в компартментах сперматозоида. Окисление тиольных групп с образованием дисульфидных мостиков и повышение количества тиолов необходимы для регулирования различных белков сперматозоида, участвующих в капацитации. Восстанавливающие эквиваленты, такие как NADH и NADPH, необходимы для поддержания капацитации у многих видов, включая человека. Лактатдегидрогеназа, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа и изоцитратдегидрогеназа обеспечивают необходимое количество NAD(P)H для капацитации сперматозоидов.

Пероксиредоксины — недавно описанные ферменты с антиоксидантными свойствами, способные защищать сперматозоиды млекопитающих. Предполагается, что они же регулируют окислительно-восстановительные сигналы во время капацитации сперматозоидов. Нарушение регуляции пероксиредоксинов и ферментов, необходимых для их повторной активации, таких как система тиоредоксина и тиоредоксинредуктазы и глутатион-S-трансфераза, ухудшает подвижность сперматозоидов, нарушает капацитацию и способствует повреждению ДНК сперматозоидов, что ведет к мужскому бесплодию.

### Redox regulation of mammalian sperm capacitation



Capacitation is a series of morphological and metabolic changes necessary for the spermatozoon to achieve fertilizing ability. One of the earlier happenings during mammalian sperm capacitation is the production of reactive oxygen species (ROS) that will trigger and regulate a series of events including protein phosphorylation, in a time-dependent fashion. The identity of the sperm oxidase responsible for the production of ROS involved

in capacitation is still elusive, and several candidates are discussed in this review. Interestingly, ROS-induced ROS formation has been described during human sperm capacitation. Redox signaling during capacitation is associated with changes in thiol groups of proteins located on the plasma membrane and subcellular compartments of the spermatozoon. Both, oxidation of thiols forming disulfide bridges and the increase on thiol content are

necessary to regulate different sperm proteins associated with capacitation. Reducing equivalents such as NADH and NADPH are necessary to support capacitation in many species including humans. Lactate dehydrogenase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, and isocitrate dehydrogenase are responsible in supplying NAD (P) H for sperm capacitation. Peroxiredoxins (PRDXs) are newly described enzymes with antioxidant proper-

ties that can protect mammalian spermatozoa; however, they are also candidates for assuring the regulation of redox signaling required for sperm capacitation. The dysregulation of PRDXs and of enzymes needed for their re-activation such as thioredoxin/thioredoxin reductase system and glutathione-S-transferases impairs sperm motility, capacitation, and promotes DNA damage in spermatozoa leading to male infertility.

## Капацитация сперматозоида и апоптоз — крайние проявления окислительного стресса?

Are sperm capacitation and apoptosis the opposite ends of a continuum driven by oxidative stress?

Robert J Aitken, Mark A Baker, Brett Nixon | Volume 17, Issue 4 (July 2015) 17, 633–639;

**Окислительно-восстановительные химические реакции играют ключевую роль в вопросах жизни и смерти сперматозоида.**

This chapter explores the possibility that capacitation and apoptosis are linked processes joined by their common dependence on the continued generation of reactive oxygen species (ROS). According to this model capacitation is initiated in spermatozoa following their release into the female reproductive tract as a consequence of intracellular ROS generation, which stimulates intracellular cAMP generation, inhibits tyrosine phosphatase activity and enhances the formation of oxysterols prior to their removal from the sperm surface by albumin. The continued generation of ROS by capacitating populations of spermatozoa eventually overwhelms the limited capacity of these cells to protect themselves from oxidative stress. As a result the over-capacitation of spermatozoa leads to a state of senescence and the activation of a truncated intrinsic apoptotic cascade characterized by enhanced mitochondrial ROS generation, lipid peroxidation, motility loss, caspase activation and phosphatidylserine externalization. The latter may be particularly important in instructing phagocytic leukocytes that the removal of senescent, moribund spermatozoa should be a silent process unaccompanied by the generation of proinflammatory cytokines. These observations reveal the central role played by redox chemistry in defining the life and death of spermatozoa. A knowledge of these mechanisms may help us to engineer novel solutions to both support and preserve the functionality of these highly specialized cells.

В этой главе изучается возможность того, что капацитация и апоптоз связаны между собой зависимостью от непрерывного образования активных форм кислорода (АФК). Согласно этой модели, капацитация сперматозоида запускается после его попадания в женскую половую систему внутриклеточным образованием АФК, что стимулирует образование цАМФ внутри клетки, ингибирует тирозинфосфатазы и усиливает синтез окистеролов перед их удалением с поверхности сперматозоида альбумином. Продолжающееся образование АФК в капацитированных сперматозоидах в конце концов превышает возможности защиты этих клеток от окислительного стресса. Чрезмерная капацитация сперматозоида ведет к его старению и активации сокращенного

апоптозного каскада реакций, сопровождающегося усиленным образованием АФК в митохондриях, перекисным окислением липидов, утратой подвижности, активацией каспазы и появлением фосфатидилсерина на поверхности клетки. Последнее может играть важную роль в сообщении фагоцитам о необходимости удаления старых умирающих сперматозоидов с одновременным выделением провоспалительных цитокинов. Эти данные показывают, что окислительно-восстановительные химические реакции играют ключевую роль в вопросах жизни и смерти сперматозоида. Знание этих механизмов может помочь нам в разработке новых способов сохранения и поддержания функции этих высокоспециализированных клеток.

<http://www.asiaandro.com/Abstract.asp?doi=10.4103/1008-682X.153850>

# Продуцирующая АФК оксидаза Nox3 регулирует самообновление сперматогенных стволовых клеток мышей

## ROS-Generating Oxidase Nox3 Regulates the Self-Renewal of Mouse Spermatogonial Stem Cells.

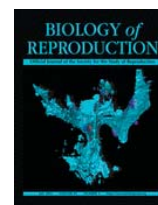


Spermatogonial stem cells (SSCs) represent a unique population of germ cells with self-renewal potential. Although reactive oxygen species (ROS) are considered toxic to germ cells, we recently showed that moderate levels of ROS are required for SSC self-renewal and that Nox1 is involved in ROS generation. In this study, we showed that self-renewal factor treatment induces Nox3 to trigger SSC self-renewal. Nox3 was transiently expressed in cultured spermatogonia by FGF2 and GDNF stimulation, whereas Nox1 was expressed predominantly during the stable phase of proliferation. Nox3 inhibition by short hairpin RNA reduced cytokine-induced ROS generation and limited the proliferation of cultured spermatogonia. Although Nox3 overexpression revealed no apparent effect, depletion of Nox3 decreased the number of SSCs in both cultured spermatogonia and freshly isolated testis cells. Our results suggest that self-renewal of SSCs is regulated by sequential activation of different Nox genes, and underscore the complexity of ROS regulation in the self-renewal division of SSCs.

### Запуск самообновления сперматогенных стволовых клеток регулируется оксидазой Nox3.

Сперматогенные стволовые клетки (ССК) — уникальная популяция половых клеток с потенциалом самообновления. Хотя считается, что активные формы кислорода (АФК) повреждают половые клетки, мы недавно показали, что для самообновления ССК необходимо умеренное количество АФК и что в образовании последних участвует Nox1. В этом исследовании мы обнаружили, что обработка соответствующими факторами стимулирует запуск самообновления ССК оксидазой Nox3. Преходящая экспрессия Nox3 наблюдалась в культуре сперматогониев при стимуляции FGF2 (фактором роста фибробластов 2) и GDNF (глиальным нейротрофическим фактором), в то время как Nox1

преимущественно экспрессировалась на стабильном этапе пролиферации. Ингибирование Nox3 короткой шпилечной РНК угнетало индуцированный цитокинами синтез АФК и ограничивало пролиферацию сперматогониев в культуре. Хотя чрезмерная экспрессия Nox3 не оказывала никакого видимого воздействия, снижение уровня этого фермента уменьшало количество ССК и в культуре сперматогоний и в свежеполученных клетках яичка. Полученные нами результаты позволяют предположить, что самообновление ССК регулируется последовательной активацией различных генов Nox, и подчеркивают сложность регуляции самообновления ССК активными формами кислорода.



*Biology of Reproduction*  
2015 Jun; 92(6):147

# Оценка динамики параметров спермы у бесплодных мужчин после микрохирургической варикоцелэктомии

### Степень улучшения параметров спермы через 3 месяца после варикоцелэктомии не изменяется по прошествии следующих 9 месяцев.

#### ЦЕЛЬ

Описать изменения результатов спермограммы бесплодных мужчин, перенесших варикоцелэктомию.

#### МЕТОДЫ

В исследовании участвовал 71 бесплодный мужчина, обратившийся в клинику. Все пациенты перенесли микрохирургическую варикоцелэктомию с низким лигированием и сдали 3 анализа спермы: до микрохирургической варикоцелэктомии, а также через 3 и 12 месяцев после нее. Общее количество подвижных сперматозоидов (ОКПС) рассчитывали по следующей формуле: [объем (мл) × концентрация (млн/мл) × подвижность (%)].

#### РЕЗУЛЬТАТЫ

Несмотря на отсутствие значимых изменений доли сперматозоидов с нарушенной морфологией, концентрация сперматозоидов, их подвижность и ОКПС у 71 пациента через 3 и 12 месяцев после варикоцелэктомии были значимо выше, чем до операции.

Однако показатели на 12 месяцев не отличались в лучшую сторону от таковых на 3 месяца. Кроме того, когда мужчин разделили на 3 группы по ОКПС до опе-

*Fukuda, Teruo et al.*



*Urology, Volume 86  
Issue 1, 48 – 51*

рации (менее 3 млн, 3–9 млн и более 9 млн), ОКПС через 3 месяца после варикоцелэктомии во всех группах было значимо выше, чем до операции, а ОКПС через 12 месяцев было таким же, как и через 3 месяца.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Степень улучшения параметров спермы через 3 месяца после варикоцелэктомии

не изменяется по прошествии еще 9 месяцев, независимо от исходного ОКПС. Следовательно, варикоцелэктомия может быть вариантом лечения бесплодных мужчин и даже пар с женщинами старшего возраста, поскольку уже через 3 месяца можно оценить эффективность этого вмешательства и при необходимости сразу использовать вспомогательные репродуктивные технологии.

**Assessment of Time-dependent Changes in Semen Parameters in Infertile Men After Microsurgical Varicocelectomy**



To characterize the changes in seminogram findings in infertile men after varicocelectomy.

**METHODS**

This study included 71 consecutive infertile men who underwent microsurgical low ligation varicocelectomy and received 3 semen analyses, 1 before microsurgical varicocelectomy and again at 3 and 12 months after. Total motile sperm count (TMSC) was calculated using the following formula: [volume (mL) × concentration (millions/mL) × motility (%)].

**RESULTS**

Despite the lack of significant changes in the proportion of sperm with abnormal morphology, sperm concentration, motility, and TMSC in the 71 patients were significantly higher at 3 and 12 months after varicocelectomy than before surgery. However, no further improvement in these parameters at 12 months after varicocelectomy was noted compared with

those at 3 months. Furthermore, when the included men were divided into 3 groups according to preoperative TMSC as <3 million, 3–9 million, and >9 million, TMSCs at 3 months after varicocelectomy in all 3 groups were significantly higher than those before varicocelectomy; however, TMSCs at 12 months after surgery in all groups were similar to those at 3 months.

**CONCLUSION**

The level of improvement in semen parameters at 3 months after varicocelectomy may be stable at 12 months after surgery, irrespective of baseline values of TMSC. Therefore, varicocelectomy could be offered as a therapeutic option for infertile men, even for couples with an older woman, because its efficacy is evaluable at 3 months after surgery, and assisted reproductive technology could be immediately applied to ineffective cases.

[http://www.goldjournal.net/article/S0090-4295\(15\)00360-X/abstract](http://www.goldjournal.net/article/S0090-4295(15)00360-X/abstract)

# Инсулиноподобный фактор роста в сперме может участвовать в патогенезе бесплодия у пациентов с клиническим варикоцеле

**Средний уровень ИФР-1 значимо отличается до и после варикоцелэктомии**

*GholamHossein Naderi  
Hamed Mohseni Rad,  
Firouzeh Tabassomi  
et al*

Варикоцеле, наиболее частая причина мужского бесплодия, — патологическое расширение вен гроздевидного сплетения. Хотя предлагались различные механизмы, объясняющие патогенез бесплодия при варикоцеле, этот вопрос все еще открыт. Предыдущие исследования показали влияние инсулиноподобного фактора роста-I (ИФР-I) на качество спермы животных и человека, но не проводились исследования вероятной роли ИФР-I спермы в патогенезе бесплодия у пациентов с клиническим варикоцеле. Следовательно, мы планировали изучить концентрацию ИФР-I в сперме 49 пациентов с варикоцеле и первичным бесплодием до и после варикоцелэктомии

и сравнить их данные с таковыми 50 здоровых фертильных мужчин (контрольная группа). Средний уровень ИФР-I у пациентов до варикоцелэктомии (93,7 ± 67,2 нг/мл) значимо отличался (P < 0,001) от такового после варикоцелэктомии (58 ± 35,1 нг/мл) и в контрольной группе (57,6 ± 22,1 нг/мл). Однако средний уровень ИФР-I в сперме пациентов, перенесших варикоцелэктомию, и в контрольной группе значимо не различался. Уровень ИФР-I в сперме не коррелировал со степенью и стороной развития варикоцеле, а также с качеством спермы. Мы сделали вывод, что локальное скопление ИФР-I в сперме может участвовать в патогенезе бесплодия у пациентов с варикоцеле.



*Human Fertility  
June 2015, Vol. 18, No. 2,  
Pages 92-95*

**Seminal insulin-like growth factor-I may be involved in the pathophysiology of infertility among patients with clinical varicocele**



Varicocele, the most common cause of male infertility, is defined as abnormal dilation of the pampiniform plexus. Although different mechanisms have been proposed to explain the pathophysiology of infertility caused by varicocele, it is still open to debate. Previous studies have demonstrated the effect of insulin-like growth factor-I

(IGF-I) on semen quality in animals and humans, but there are no studies on the probable role of seminal IGF-I in the pathophysiology of infertility among patients with clinical varicocele. We therefore aimed to examine the seminal IGF-I concentration in 49 patients with varicocele and primary infertility before and after varicocelectomy and

compare the results with those of 50 healthy fertile men (in the control group). Mean seminal IGF-I level of patients before varicocelectomy (93.7 ± 67.2 ng/mL) was significantly different (P < 0.001) from that following varicocelectomy (58 ± 35.1 ng/mL) and from that of the controls (57.6 ± 22.1 ng/mL). However, mean seminal IGF-I levels of

patients after varicocelectomy and the controls were not significantly different. Seminal IGF-I level was not correlated with grade and side of varicocele, and semen quality. We conclude that locally secreted IGF-I in the semen may be involved in the pathophysiology of infertility in patients with varicocele or semen.

Подробнее: <http://informahealthcare.com/doi/abs/10.3109/14647273.2014.965759>



## Уровень эстрадиола в сыворотке мужчин в бесплодном браке

Hagiuda, J., Ishikawa, H. and Marumo, K.

### Serum oestradiol levels in male partners of infertile couples.

A prospective clinical study was performed in the reproduction centre of Ichikawa General Hospital (Chiba, Japan) to investigate the relationship between sperm quality and serum oestradiol (E2) level in male partners of infertile couples. The semen parame-

ters and blood samples were assessed in relation to several variables, including body mass index (BMI) and serum oestradiol (E2) levels. Four hundred and nine male partners of infertile couples aged 22–55 years (mean: 36.5 years) were referred to the

reproduction centre. In total, 143 patients (35.0%) were included in the low E2 level group (18 pg ml<sup>-1</sup> ≥ E2). Serum E2 levels were slightly correlated with testosterone levels, BMI and serum FSH levels. Total motile sperm count and morphology were de-

creased in low E2 level group. In multivariate analysis, serum testosterone, E2 levels, existence of varicocele and age were risk factors for decreased semen quality. Serum E2 might be associated with BMI, serum testosterone level and spermatogenesis.



2015

*Andrologia*, 47:  
669–673.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/and.12315/abstract>

### Уровень эстрадиола в сыворотке крови может быть связан с ИМТ, уровнем тестостерона в сыворотке и сперматогенезом.

В центре репродукции больницы общего профиля г. Итикава (Тиба, Япония) было проведено проспективное исследование с целью изучить связь между качеством спермы и уровнем эстрадиола (E2) в сыворотке мужчин в бесплодном браке. Показатели спермограммы и анализа крови оценивали относительно нескольких переменных, в том числе индекса массы тела (ИМТ) и уровня эстрадиола (E2) в сыворотке. В центр репродукции было направлено четыреста девять мужчин из бесплодных пар в возрасте от 22 до 55 лет (средний возраст — 36,5 лет). В группу низкого уров-

ня E2 (не более 18 пг/мл) было включено 143 пациента (35,0%). Уровень E2 в сыворотке слабо коррелировал с уровнем тестостерона, ИМТ и уровнем ФСГ в сыворотке. Общее число подвижных сперматозоидов и число сперматозоидов с нормальной морфологией в группе низкого E2 было понижено. По результатам многофакторного анализа, факторами риска ухудшения качества спермы были уровень тестостерона и E2 в сыворотке, варикоцеле и возраст. Уровень E2 в сыворотке может быть связан с ИМТ, уровнем тестостерона в сыворотке и сперматогенезом.

## Влияние микроволн (950 МГц мобильного телефона) на морфометрические и апоптотические изменения придатка яичка кроликов

Azadi Oskouyi, E., Rajaei, F., Safari Variani, A., Sarokhani, M. R. and Javadi, A.

### Микроволновое излучение с частотой 950 МГц усиливает апоптоз клеток.

Воздействие излучения мобильного телефона на репродуктивную систему человека все еще обсуждается. В этом исследовании 18 самцов кроликов случайным образом разделили на две экспериментальные и одну контрольную группы. Экспериментальные группы получали микроволновое излучение с частотой 950 МГц и выходной мощностью 3 и 6 Ватт по 2 часа в день в течение 2 недель. После недельного перерыва были изучены под микроскопом срезы ткани четверти иссеченного придатка яичка каждого кролика. Определяли диаметр при-

датка яичка, высоту эпителия и количество клеток эпителия в процессе апоптоза в каждой группе. Данные сравнивали с помощью программного обеспечения SPSS и однофакторного дисперсионного анализа. Высота эпителия и диаметр придатка яичка в группах 3 Ватт и 6 Ватт были значимо ниже по сравнению с контрольной группой ( $P < 0,001$ ), а уровень тестостерона был значимо снижен по сравнению с контролем только в группе 6 Ватт. Скорость апоптоза клеток эпителия придатка яичка была значимо выше по сравнению с контролем



2015

*Andrologia*, 47:  
700–705.

только в группе 6 Ватт ( $P < 0,001$ ). Данное исследование показало, что микроволновое излучение с частотой 950 МГц оказывает

неблагоприятное воздействие на морфометрические параметры придатка яичка кроликов и усиливает апоптоз клеток.

### Effects of microwaves (950 MHz mobile phone) on morphometric and apoptotic changes of rabbit epididymis.



The effect of mobile phone radiation on human reproduction system is still a matter of debate. In this study, 18 male rabbits were randomly divided into two experimental groups and one control group. Experimental groups received simulated microwaves with the frequency of 950 MHz and the output power

of 3 and 6 watts for 2 weeks, 2 h a day. After a week of rest, the microscopic slides from the quada of the excised epididymis were prepared. Then, the diameter of epididymis, the height of epithelium and the number of apoptotic cells in epithelium in study groups were determined. The data were compared using SPSS

software and one-way ANOVA test. The epithelial height and diameter of the epididymis in 3 watt and 6 watt groups had a significant decrease compared to the control group ( $P < 0,001$ ), while the testosterone level only in 6 watt group was significantly decreased compared to control group. The rate of

apoptosis in the epithelial cells of the epididymis had a significant increase only in 6 watt group compared to the control group ( $P < 0,001$ ). This study showed that the microwaves with the frequency of 950 MHz can have negative impacts on morphometric and apoptotic changes of rabbit epididymis.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/and.12321/abstract>

## Воздействие преходящей гипертермии мошонки на параметры сперматозоидов, биохимические маркеры семенной плазмы и оксидативный стресс у мужчин

Meng Rao, Xiao-Ling Zhao<sup>1</sup>, Jing Yang, Shi-Fu Hu, Hui Lei, Wei Xia, Chang-Hong Zhu

### Effect of transient scrotal hyperthermia on sperm parameters, seminal plasma biochemical markers, and oxidative stress in men



In this experimental prospective study, we aimed to analyze the effect of transient scrotal hyperthermia on the male reproductive organs, from the perspective of sperm parameters, semen plasma biochemical markers, and oxidative stress, to evaluate whether different frequencies of heat exposure cause different degrees of damage to spermatogenesis. Two groups of volunteers (10 per group) received testicular warm-

ing in a 43°C water bath 10 times, for 30 min each time: group 1: 10 consecutive days; group 2: once every 3 days. Sperm parameters, epididymis and accessory sex gland function, semen plasma oxidative stress and serum sex hormones were tested before treatment and in the 16-week recovery period after treatment. At last, we found an obvious reversible decrease in sperm concentration ( $P = 0,005$  for Group 1 and

$P = 0,008$  for Group 2 when the minimums were compared with baseline levels, the same below), motility ( $P = 0,009$  and  $0,021$ , respectively), the hyposmotic swelling test score ( $P = 0,007$  and  $0,008$ , respectively), total acrosin activity ( $P = 0,018$  and  $0,009$ , respectively), and an increase in the seminal plasma malondialdehyde concentration ( $P = 0,005$  and  $0,017$ , respectively). The decrease of sperm concentration was greater for Group 2 than for

Group 1 ( $P = 0,031$ ). We concluded that transient scrotal hyperthermia seriously, but reversibly, negatively affected the spermatogenesis, oxidative stress may be involved in this process. In addition, intermittent heat exposure more seriously suppresses the spermatogenesis compared to consecutive heat exposure. This may be indicative for clinical infertility etiology analysis and the design of contraceptive methods based on heat stress.



Asian Journal of Andrology  
Volume 17, Issue 4  
(July 2015) 17,  
668–675

### Преходящая гипертермия мошонки оказывает серьезное, но обратимое неблагоприятное воздействие на сперматогенез

В этом экспериментальном проспективном исследовании мы ставили целью проанализировать воздействие преходящей гипертермии мошонки на мужские половые органы с точки зрения параметров сперматозоидов, биохимических маркеров семенной плазмы и оксидативного стресса, чтобы оценить, зависит ли степень нарушения сперматогенеза от частоты воздействия тепла. Две группы добровольцев (по 10 человек в группе) подвергались нагреванию яичек в ванне с температурой 43°C 10 раз по 30 минут. 1-я группа — непрерывно в течение 10 дней, 2-я — каждые 3 дня. До воздействия тепла и по прошествии 16-недельного периода восстановления оценивали параметры сперматозоидов, работу семенных канальцев и добавочных половых желез, маркеры оксидативного стресса в семенной плазме и уровень половых гормонов в сыворотке. Мы показали явное обратимое снижение концентрации сперматозоидов ( $P = 0,005$  в 1-й группе

и  $P = 0,008$  во 2-й группе; здесь и далее по сравнению с исходным), подвижности ( $P = 0,009$  и  $0,021$ , соответственно), ухудшение результата теста на набухание в гипосмотическом растворе ( $P = 0,007$  и  $0,008$ , соответственно), падение общей активности акрозина ( $P = 0,018$  и  $0,009$ , соответственно) и увеличение концентрации малондиальдегида в семенной плазме ( $P = 0,005$  и  $0,017$ , соответственно). Во 2-й группе концентрация сперматозоидов снизилась сильнее, чем в 1-й ( $P = 0,031$ ). Мы сделали вывод, что преходящая гипертермия мошонки оказывает серьезное, но обратимое неблагоприятное воздействие на сперматогенез, и в этом процессе может быть задействовано свободнорадикальное окисление. Кроме того, периодическое воздействие тепла может угнетать сперматогенез сильнее, чем непрерывно и последовательное. Это может помочь в анализе причин клинического бесплодия и разработке термических методов контрацепции.

<http://www.asiaandro.com/Abstract.asp?doi=doi:%2010.4103/1008-682X.146967>

## Потребление соевой пищи мужчинами не связано с исходами оплодотворения среди пар, посещающих центр репродукции

Male soy food intake was not associated with in vitro fertilization outcomes among couples attending a fertility center.



Male factor etiology may be a contributing factor in up to 60% of infertility cases. Dietary intake of phytoestrogens has been related to abnormal semen quality and hormone levels. However, its effect on couple fecundity is still unclear. Intake of soy products was assessed in 184 men from couples undergoing infertility treatment with in vitro fertilization. Couples were recruited

between February 2007 and May 2014 and prospectively followed to document treatment outcomes including fertilization, implantation, clinical pregnancy and live birth. Multivariate generalized linear mixed models with random intercepts, binomial distribution and logit link function were used to examine this relation while accounting for repeated treatment cycles

and adjusting for potential confounders. Male partner's intake of soy foods and soy isoflavones was unrelated to fertilization rates, the proportions of poor quality embryos, accelerated or slow embryo cleavage rate, and implantation, clinical pregnancy and live birth. The adjusted live birth rates per initiated cycle (95% CI) for partners of men in increasing categories of soy food

intake were 0.36 (0.28–0.45), 0.42 (0.29–0.56), 0.36 (0.24–0.51), and 0.37 (0.24–0.52), respectively. Soy food intake in men was not related to clinical outcomes among couples presenting at an infertility clinic. Data on the relation between phytoestrogens and male reproductive potential remain scarce and additional research is required to clarify its role in human reproduction.

Mínguez-Alarcón, L.

Afeiche, M. C.

Chiu, Y.-H.

Vanegas, J. C.

Williams, P. L.

Tanrikut, C.

Toth, T. L.

Hauser, R.

Chavarro, J. E.

Не получены данные о связи между фитоэстрогенами и мужским фактором бесплодия.

Мужской фактор может являться причиной почти 60% случаев бесплодия. Употребление фитоэстрогенов с продуктами питания связывают с аномальными параметрами спермы и уровня гормонов. Тем не менее, их влияние на фертильность пары до сих пор неясно. Потребление соевых продуктов оценивалось у 184 мужчин из супружеских пар, проходящих лечение бесплодия оплодотворением *in vitro* (ЭКО). Пары были набраны в период с февраля 2007 года по май 2014 года с перспективой последующей документации результатов лечения, в том числе оплодотворения, имплантации, клинической беременности и живорождения. Для изучения результатов использовалась многомерная обобщенная смешанная линейная модель с произвольными перехватами, биномиальное распределение и функция логит-преобразования. Потребление мужчинами соевых продук-

тов и изофлавонов сои не было связано с частотой оплодотворения, соотношением эмбрионов низкого качества, ускоренной и замедленной скорости деления эмбриона и имплантации, достижением клинической беременности и рождения живого ребенка. Скорректированный показатель живорождений в инициированном цикле (95% ДИ) для партнеров мужчин в группе повышенного потребления соевых продуктов были 0,36 (0,28-0,45), 0,42 (0,29-0,56), 0,36 (0,24-0,51), и 0,37 (0,24 -0,52), соответственно. Потребление соевой пищи мужчинами не было связано с клиническими исходами среди пар, обращающихся в клинику репродукции. Данные о связи между фитоэстрогенами и мужским репродуктивным потенциалом остаются неубедительными, поэтому необходимы дополнительные исследования для уточнения их роли в репродукции человека.



2015

Andrologia, 3:

702–708

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/andr.12046/abstract>

## Оценка *in vitro* влияния АФК на подвижность эпидидимальных сперматозоидов самцов крыс после внутрибрюшинного введения нонилфенола

Ansoumane Kourouma, Duan Peng, Hady Keita, Aidogie Osamuyimen, Qi Suqin1, Quan Chao1, Yu Tingting1, Yang Kedi

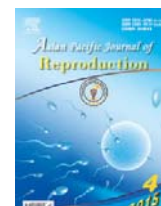
Нонилфенол способствует свободнорадикальному окислению сперматозоидов и влияет на их морфологию.

### ЦЕЛЬ

Изучить механизм участия нонилфенола (НФ) в развитии мужского бесплодия путем оценки его воздействия на эпидидимальные сперматозоиды взрослых самцов крыс.

### МЕТОДЫ

У двадцати четырех крыс Sprague-Dawley (SD) были получены эпидидимальные сперматозоиды. Перед этим крысы получали внутрибрюшинные инъекции НФ в дозах 0, 2, 10 и 50 мг/кг массы тела в ку-



Asian Pacific Journal of Reproduction

**НОНИЛФЕНОЛ** относится к неионным ПАВ, используется в промышленном и бытовом производстве. Является компонентом пестицидов, фармакологических средств, офисных принадлежностей используется при производстве пластмасс. В Российской Федерации нет ограничений на производство и использование нонилфенолов. Установлены нормативы для изононилфенолов – в атмосферном воздухе населенных мест — 0,02 мг/м<sup>3</sup> и для культурно-бытовых и хозяйственно-питьевых водоемов — 0,01 мг/л. Относятся к третьему классу опасности (умеренно опасные).

куружном масле каждый сорок восемь часов в течение тридцати дней. Параметры сперматозоидов определяли с помощью компьютерного анализа спермы. Морфологию сперматозоидов изучали под микроскопом с высоким разрешением.

**РЕЗУЛЬТАТЫ:**


Полученные результаты показывают, что экспозиция НФ не влияла на массу тела, но значительно снижала массу яичек. Компью-

терный анализ спермы показал значимое снижение доли подвижных сперматозоидов (P<0,001), линейности траектории и линейности усредненной траектории (P<0,01), значимое увеличение амплитуды латерального смещения головки сперматозоида (P<0,001) и значимое снижение частоты «биения» головки (P<0,001). Уровень лактатдегидрогеназы в плазме был значимо повышен, а активность гамма-глутамилтрансферазы — значимо понижена. Значимо усилился синтез H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и малондиальдегида. Активность каталазы, глутатионпероксидазы и супероксиддисмутаза была значимо понижена.

**ВЫВОДЫ**

Полученные результаты позволяют заключить, что НФ способствует свободнорадикальному окислению в эпидидимальных сперматозоидах крыс. Кроме того, НФ может снижать подвижность сперматозоидов и изменять их морфологию.

<http://www.apjr.net/Issues/201503/PDF/1.pdf>



**In vitro assessment of ROS on motility of epididymal sperm of male rat exposed to intraperitoneal administration of nonylphenol**

<p><b>OBJECTIVE</b> To explore the mechanism by which nonylphenol (NP) interferes with male infertility through evaluation of its effects on epididymal sperm of adult male rats.</p> <p><b>METHODS</b> Twenty four Sprague-Dawley (SD) rats were used as epididymal sperm donors. Previously rats were administrated with NP (0,</p>	<p>2, 10 and 50 mg/kg) body weight respectively in corn oil every forty-eight hours by intraperitoneal injection for 30 days. Computer assisted sperm analysis (CASA) was used to determine parameters of sperm. The sperm morphology examination was conducted with a high resolution microscope.</p> <p><b>RESULTS</b> Results indicated that exposure to NP has no effect on body</p>	<p>weight, while testes weights were significantly decreased. Computer assisted sperm analysis (CASA) showed significant decline in the percentage of motile spermatozoa (P&lt;0.001), STR and LIN (P&lt;0.01), significant increase in ALH (P&lt;0.001), while significant decline in BCF (P&lt;0.001) respectively. Plasma LDH was significantly increased while; plasma? γT activity was significantly decreased. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produc-</p> <p>tion and malondialdehyde (MDA) were significantly increased. The Plasma CAT, GSH-Px and SOD activities were significantly decreased.</p> <p><b>CONCLUSIONS</b> This concludes that NP leads oxidative stress in the epididymal sperm of rats. Moreover, NP can disrupt sperm motility and alterations in the sperm morphology.</p>
---	--	---

## Длительное воздействие низкочастотных электромагнитных полей влияет на ткани яичек, качество сперматозоидов и уровень тестостерона у самцов крыс

*Aminollah Bahaadini, Maryam Owjfar, AminTamadon, Seyedeh Marzieh Jafari*

**Длительное воздействие ЭМП с частотой 50 Гц оказывает неблагоприятное воздействие на мужскую фертильность.**

**ЭЛЕКТРОМАГНИТНОЕ ПОЛЕ 50ГЦ** является частью сверхнизкочастотного диапазона радиочастотного спектра, наиболее распространенной в производственных условиях; диапазон промышленной частоты представлен в нашей стране частотой 50 Гц (в ряде стран Американского континента 60 Гц). Основными источниками ЭМП ПЧ, создаваемыми в результате деятельности человека, являются различные типы производственного и бытового электрооборудования переменного тока, в первую очередь подстанции и воздушные ЛЭП сверхвысокого напряжения (СВН). Поскольку соответствующая частоте 50 Гц длина волны составляет 6000 км, человек подвергается воздействию фактора в ближней зоне. Гигиеническая оценка ЭМП ПЧ осуществляется отдельно по электрическому и магнитному полям.

**ЦЕЛЬ**

Оценить эффекты длительной экспозиции низкочастотного ЭМП на функцию и структуру яичек.

**МЕТОДЫ**

Четырнадцать взрослых самцов крыс случайным образом разделили на равные экспериментальную и контрольную группы.

Экспериментальная группа подвергалась воздействию ЭМП 1 мТ и 50 Гц в течение 85 дней в соленоиде. Контрольную группу содержали в тех же условиях, но без ЭМП. В конце периода экспозиции определяли вес и размер яичек, проводили анализ спермы (количество сперматозоидов, их подвижность и жизнеспособность), гистологический анализ срезов тканей яичек и определяли общий уровень тестостерона.

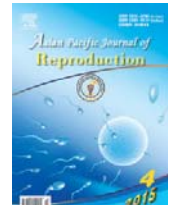
#### РЕЗУЛЬТАТЫ

Длительная экспозиция низкочастотного ЭМП значительно уменьшила размер

семенных канальцев и повысила количество семенных канальцев на единицу площади яичек. Кроме того, низкочастотное ЭМП значительно уменьшило подвижность сперматозоидов и уровень тестостерона. Однако оно не оказало воздействия на массу и размер яичек, концентрацию сперматозоидов и их жизнеспособность.

#### ВЫВОД

Длительное воздействие ЭМП с частотой 50 Гц оказывает неблагоприятное воздействие на мужскую фертильность.



Asian Pacific Journal  
of Reproduction

### Low frequency electromagnetic fields long-term exposure effects on testicular histology, sperm quality and testosterone levels of male rats



#### OBJECTIVE

To evaluate the effects of long-term exposure to low frequency EMF on the testicular function and structure.

#### METHODS

Fourteen adult male rats were randomly and equally divided into sham and experimental

groups. Experimental group was exposed to 1 mT, 50 Hz EMF, continuously for 85 days in a solenoid. Sham group was kept under conditions same as experimental group, without EMF. At the end of the exposure period, weight and size of testes, sperm evaluation (sperm counts, motility and viability), histological tes-

ticular sections and serum total testosterone were determined.

#### RESULTS

Long-term exposure to low frequency EMF significantly decreased the diameter of the seminiferous tubules and increased number of seminiferous tubules per unit area of testes. In addition, low frequency

EMF significantly reduced sperm motility and testosterone levels. However, it had no effect on the weight and size of testes, sperm concentration, and viability.

#### CONCLUSION

Prolonged exposure to 50 Hz EMF has an adverse effect on male fertility.

[http://www.apjr.net/  
Issues/201503/PDF/4.pdf](http://www.apjr.net/Issues/201503/PDF/4.pdf)

## Ингибирование синтазы оксида азота сглаживает вызванное никотином нарушение параметров спермы сперматозоидов у самцов крыс

IP Oyeyipo, Y Raji, Adeyombo F. Bolarinwa

Отмечено значимое снижение подвижности и количества эпидидимальных сперматозоидов после приема никотина.

#### ЦЕЛЬ

Оценить ингибирование синтазы оксида азота как способ лечения вызванного никотином бесплодия у самцов крыс.

#### МЕТОДЫ

Сорок восемь самцов и тридцать самок крыс Wistar (180–200 г) случайным образом разделили на шесть групп и давали им перорально в течение 30 дней физраствор (контроль), никотин (0,5 мг/кг, 1,0 мг/кг) с метиловым эфиром NG-нитро-L-аргинина (L-NAME, 50 мг/кг) или без него. Получавших лечение самцов спаривали с контрольными самками в соотношении 1:2 для исследований бесплодия. Анализ спермы проводили под микроскопом.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ

Отмечено значимое снижение подвижности и количества эпидидимальных спер-

В 1906 году под руководством Милтона Гринмана и Генри Доналдсона в Вистаровском институте (США, основное направление работы — иммунология, молекулярная и генная биология) была выведена первая разновидность стандартизованных лабораторных животных — крыс Вистар. Эта разновидность крыс-альбиносов до сих пор является самой распространённой среди лабораторных крыс.

матозоидов после приема никотина. Процент патологий в группах, получавших никотин, значительно повышался. Исследования фертильности показали, что никотин снижал либидо самцов крыс, вес помета и количество детенышей у не получавших никаких веществ самок. Одновременное введение L-NAME по сравнению с одним только никотином эффективно нейтрализовывало вызванные никотином изменения функций сперматозоидов, показатели фертильности и уровни гормонов.

[http://www.apjr.net/  
Issues/201503/PDF/7.pdf](http://www.apjr.net/Issues/201503/PDF/7.pdf)

**ВЫВОД**

Полученные данные позволяют говорить о способности L-NAME сглаживать токсичное

действие никотина на сперматозоиды самцов крыс через механизм, зависящий от уровня тестостерона в крови.

**Nitric oxide synthase inhibition ameliorates nicotine-induced sperm function decline in male rats**



**OBJECTIVE**

To evaluate the effects of inhibiting nitric oxide synthase as a means of intervention in nicotine-induced infertility in male rats.

**METHODS**

Forty-eight male and thirty female Wistar rats (180-200 g) were randomly assigned to six groups and treated orally for 30 days with saline (control), nicotine (0.5

mg/kg, 1.0 mg/kg) with or without NG Nitro-L-Arginine Methyl Ester (L-NAME, 50 mg/kg). Treated male rats were cohabited with untreated females in ratio 1:2 for fertility studies. Sperm analysis was done by microscopy.

**RESULTS**

There was a significant decrease in the epididymal sperm motility and count after nicotine treat-

ment. However, the percentage of abnormality significantly increased in nicotine treatment groups. Fertility studies revealed that nicotine reduced libido in male rats and decreased litter weight and number delivered by the untreated female during the experiments. Co-treatment with L-NAME effectively reversed the nicotine-mediated alterations in the sperm functional

parameters, fertility indexes and hormone when compared to nicotine only.

**CONCLUSION**

Taken together, the present data indicate the abilities of L-NAME to ameliorate nicotine-induced spermatotoxic effects in male rats via a mechanism dependent on the circulating testosterone level.

# Вызванное несбалансированным питанием ожирение изменяет кинематические характеристики сперматозоидов крыс

IP Oyeyipo  
PJ Maartens  
SS du Plessis

**Diet-induced obesity alters kinematics of rat spermatozoa**



**OBJECTIVE**

To investigate the effect of DIO on the kinematics and viability of spermatozoa in an albino rat model.

**METHODS**

Sperm suspensions from normal (Control) and diet-induced

obese (DIO) Wistar rats were collected and incubated for various times (30, 60, 120 or 180 min at 37°C). Motility parameters were analyzed with computer-aided sperm analysis (CASA), while viability was assessed by means of a dye exclusion staining technique (eosin/nigrosin).

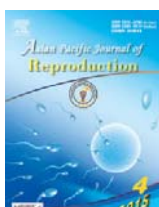
**RESULTS**

Results reveal that there was a significant time dependent decrease ( $P < 0.05$ ) in progressive motility, curvilinear velocity and beat cross frequency after 60 min, while amplitude of lateral head displacement and sperm viability was significantly reduced ( $P < 0.05$ )

after 120 min in the DIO group compared to control spermatozoa.

**CONCLUSIONS**

These results provided evidence that obesity is detrimental to sperm parameter in rats possibly through increased testicular temperature as a result of a rise in fat deposition.



Asian Pacific Journal of Reproduction

**Полученные результаты подтверждают, что ожирение негативно сказывается на подвижности сперматозоидов.**

**ЦЕЛЬ**

Изучить влияние алиментарного ожирения на кинематические характеристики и жизнеспособность сперматозоидов в модели крыс-альбиносов.

**МЕТОДЫ**

Суспензии сперматозоидов нормальных (контрольных) крыс Wistar и крыс той же линии с ожирением вследствие несбалансированного питания, инкубировали в течение разного времени (30, 60, 120 или 180 мин при 37°C). Подвижность оценивали с помощью компьютерного анализа, а жизнеспособность — по методике окрашивания с исключением красителя (эозин / нигрозин).

**РЕЗУЛЬТАТЫ**

Полученные результаты показывают значимое зависимое от времени ( $P < 0,05$ ) снижение прогрессивной подвижности, фактической скорости перемещения сперматозоида по траектории и частоты «биения» головки через 60 минут, а также значимое ( $P < 0,05$ ) снижение амплитуды латерального смещения головки и жизнеспособности сперматозоидов через 120 мин в группе алиментарного ожирения по сравнению с контрольными сперматозоидами.

**ВЫВОДЫ**

Полученные результаты подтверждают, что ожирение негативно сказывается на сперматозоидах крыс, возможно, по причине повышения температуры яичек в связи с разрастанием жировой ткани.

<http://www.apjr.net/Issues/201503/PDF/11.pdf>

.....  
Частота «биения» головки (BCF, биений/сек) — средняя частота, с которой реальная траектория сперматозоида пересекает усредненную траекторию

# Влияние физической активности, ожирения, уровня образования и употребления нюхательного табака на качество спермы: результаты исследования ActiART

Pärn, Triin et al.

## Physical activity, fatness, educational level and snuff consumption as determinants of semen quality: findings of the ActiART study



In this study, the association between physical activity and other potential determinants, objectively measured by accelerometry, was examined. Sixty-two men attending an infertility clinic participated in the study. Obese men (body mass index  $\geq 30$ ) and those with a waist circumference 102 cm

or more had lower semen volume than the other men ( $P < 0.05$ ). Higher values in sperm parameters were observed in participants who completed university studies and those who did not consume snuff, compared with the other participants ( $P < 0.05$ ). Finally, men who spent an aver-

age number of 10 min-bouts of moderate-to-vigorous physical activity had significantly better semen quality than those who engaged in low or high numbers of bouts of activity ( $P < 0.05$ ). No associations were found for sedentary or moderate-to-vigorous physical activity time when it was not sustained over 10 min, i.e. not

in bouts. Men who have average levels of physical activity over sustained periods of 10 min are likely to have better semen quality than men who engage in low or high levels of such activity. Similarly, high levels of total and central adiposity, low educational level and snuff consumption are negatively related to semen quality.



Reproductive BioMedicine Online  
Volume 31, Issue 1  
108 - 119

**У мужчин со средним уровнем регулярной физической активности более вероятно лучшее качество спермы, чем у мужчин с низкой или высокой степенью нагрузки.**

В этом исследовании изучали связь между физической активностью, объективно измеренной путем акселерометрии, и другими факторами.

В исследовании участвовали шестьдесят два мужчины, наблюдавшиеся в клинике по лечению бесплодия. У мужчин, страдающих ожирением, (индекс массы тела  $\geq 30$ ) и мужчин с обхватом талии более 102 см объем эякулята был меньше, чем у других ( $P < 0,05$ ). У участников, с высшим образованием, употреблявших нюхательный табак, отмечались более высокие значения параметров спермы, чем у остальных ( $P < 0,05$ ). Наконец, у мужчин, которые получали прогрессивную (от умеренно- до высокоинтенсивной) физическую нагрузку (среднее количество подходов по 10 минут), качество спермы было значимо выше, чем у мужчин, которые получали меньшую или большую физическую нагрузку ( $P < 0,05$ ). Не было выявлено никакой зависимости при малоподвижности или умеренной либо высокой физической нагрузке продолжительностью менее 10 минут. У мужчин со

**АКСЕЛЕРОМЕТРИЯ** — методика, позволяющая измерять ускорения в различных упражнениях. В качестве регистрирующей аппаратуры используются акселерометры и акселерографы. В спортивных исследованиях большое распространение получили датчики ускорений, которые используют тензо- или пьезоэффект. В обоих случаях измеряется сила инерции, возникающая при ускорении или торможении движущегося тела. Ускорения вызывают деформацию и изменение электрического потенциала на пьезодатчике или сопротивления тензодатчика. Обработка полученных результатов сводится в основном к определению времени нарастания ускорения, определению его максимального и минимального значений, а также к определению характера ускорения как всего тела спортсмена, так и его отдельных частей.

средним уровнем физической активности периодами по 10 мин более вероятно лучшее качество спермы, чем у мужчин с более низкой или высокой степенью такой активности. Также отрицательное воздействие на качество спермы оказывают общее и висцеральное ожирение, низкий уровень образования и употребление нюхательного табака.

[http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483\(15\)00144-3/abstract](http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483(15)00144-3/abstract)

# Роль шаперона, белка теплового шока A2 (HSPA2), в регуляции распознавания сперматозоида и яйцеклетки у человека

Brett Nixon, Elizabeth G Bromfield, Matthew D Dun, Kate A Redgrove, Eileen A McLaughlin, R John Aitken

Уровень HSPA2 положительно коррелирует с успешными исходами экстракорпорального оплодотворения (ЭКО).



Asian Journal of Andrology  
Volume 17, Issue 4  
July 2015  
568–573  
10.4103/1008-682X.151395

Правильное сворачивание (фолдинг) полипептидных цепей некоторых белков в клетках эукариот обеспечивается специфическими белками, называемыми шаперонами, которые необходимы для эффективного формирования третичной структуры полипептидных цепей других белков, но не входят в состав конечной белковой структуры.

Один из наиболее частых дефектов сперматозоидов при бесплодии у человека — идиопатическое нарушение ооцит-сперматозоидного распознавания. Хотя это уникальное клеточное взаимодействие сейчас легко осуществить с помощью вспомогательных репродуктивных технологий, таких как инъекция сперматозоида в цитоплазму яйцеклетки (ИКСИ), недавние масштабные эпидемиологические исследования дают повод относиться к этой технологии с осторожностью и требуют дальнейшего исследования механизмов нарушения распознавания сперматозоида и яйцеклетки. Предыдущие работы в этой области показали, что домены сперматозоида, ответственные за взаимодействие с ооцитом, формируются во время сперматогенеза до модификации в период созревания в семенном канальце и капацитации в женских половых органах. Факторы, регулирующие данные этапы созревания, несомненно, сложны, но исследования показали, что основ-

ной регулятор этих явлений в человеческом сперматозоиде — шаперон-белок теплового шока A2 (HSPA2). HSPA2 — это присутствующий в большом количестве в яичках представитель семейства белков теплового шока массой 70 кДа, способствующий сворачиванию, транспорту белков и сборке белковых комплексов. Его уровень положительно коррелирует с успешными исходами экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). Кроме того, снижение экспрессии HSPA2 в сперматозоиде человека ведет к нарушению способности к растворению матрикса яйценосного бугорка, распознаванию сперматозоида и яйцеклетки и оплодотворению при ЭКО и ИКСИ. В этом обзоре мы рассматриваем данные об участии HSPA2 в функционировании сперматозоида и изучаем потенциальные причины его недостатка в сперматозоидах бесплодных пациентов. Эта информация позволяет по-новому посмотреть на молекулярные механизмы функций спермы.

## The role of the molecular chaperone heat shock protein A2 (HSPA2) in regulating human sperm-egg recognition



One of the most common lesions present in the spermatozoa of human infertility patients is an idiopathic failure of sperm-egg recognition. Although this unique cellular interaction can now be readily by-passed by assisted reproductive strategies such as intracytoplasmic sperm injection (ICSI), recent large-scale epidemiological studies have encouraged the cautious use of this technology and highlighted the need for further

research into the mechanisms responsible for defective sperm-egg recognition. Previous work in this field has established that the sperm domains responsible for oocyte interaction are formed during spermatogenesis prior to being dynamically modified during epididymal maturation and capacitation in female reproductive tract. While the factors responsible for the regulation of these sequential maturational events are undoubtedly

complex, emerging research has identified the molecular chaperone, heat shock protein A2 (HSPA2), as a key regulator of these events in human spermatozoa. HSPA2 is a testis-enriched member of the 70 kDa heat shock protein family that promotes the folding, transport, and assembly of protein complexes and has been positively correlated with in vitro fertilization (IVF) success. Furthermore, reduced expression of HSPA2 from the human

sperm proteome leads to an impaired capacity for cumulus matrix dispersal, sperm-egg recognition and fertilization following both IVF and ICSI. In this review, we consider the evidence supporting the role of HSPA2 in sperm function and explore the potential mechanisms by which it is depleted in the spermatozoa of infertile patients. Such information offers novel insights into the molecular mechanisms governing sperm function.

<http://www.asiaandro.com/Abstract.asp?doi=10.4103/1008-682X.151395>



# Ремоделирование плазматической мембраны при подготовке к распознаванию сперматозоида и яйцеклетки: роль белков акросомы

Remodeling of the plasma membrane in preparation for sperm-egg recognition: roles of acrosomal proteins



The interaction of sperm with the egg's extracellular matrix, the zona pellucida (ZP) is the first step of the union between male and female gametes. The molecular mechanisms of this process have been studied for the past six decades with the results obtained being both interesting and confusing. In this article, we describe our recent work, which attempts to address two lines of questions from pre-

vious studies. First, because there are numerous ZP binding proteins reported by various researchers, how do these proteins act together in sperm-ZP interaction? Second, why do a number of acrosomal proteins have ZP affinity? Are they involved mainly in the initial sperm-ZP binding or rather in anchoring acrosome reacting/reacted spermatozoa to the ZP? Our studies reveal that a number of ZP

binding proteins and chaperones, extracted from the anterior sperm head plasma membrane, coexist as high molecular weight (HMW) complexes, and that these complexes in capacitated spermatozoa have preferential ability to bind to the ZP. Zonadhesin (ZAN), known as an acrosomal protein with ZP affinity, is one of these proteins in the HMW complexes. Immunoprecipitation indicates that ZAN in-

teracts with other acrosomal proteins, proacrosin/acrosin and sp32 (ACRBP), also present in the HMW complexes. Immunodetection of ZAN and proacrosin/acrosin on spermatozoa further indicates that both proteins traffic to the sperm head surface during capacitation where the sperm acrosomal matrix is still intact, and therefore they are likely involved in the initial sperm-ZP binding step.



Asian Journal of Andrology  
Volume 17, Issue 4  
July 2015  
574–582

## Зонадгезин и проакрозин / акрозин в сперматозоидах участвуют в первом этапе связывания сперматозоида с zona pellucida.

Взаимодействие сперматозоида с внеклеточным матриксом яйцеклетки, прозрачной оболочкой (ПО или zona pellucida), — первый этап слияния мужской и женской половых клеток. Молекулярные механизмы этого процесса изучались последние шестьдесят лет, и были получены интересные, но противоречивые результаты. В этой статье мы описываем свою недавнюю работу, проведенную с целью ответить на два типа вопросов, поднимавшихся в предыдущих исследованиях. Во-первых, другие исследователи сообщали о многих белках, связывающихся с ПО. Как эти белки взаимодействуют друг с другом при связывании сперматозоида с ПО? Во-вторых, почему ряд белков акросомы обладает сродством к ПО? Участвуют ли они в первичном связывании сперматозоида с ПО или закрепляют сперматозоид, акросомально взаимодействующий или уже связавшийся с ПО? Наши исследования показали,

что ряд белков, связывающихся с ПО, и шаперонов, извлеченных из плазматической мембраны передней части головки сперматозоида, находятся там в форме высокомолекулярных комплексов (ВМК) и что после капацитации сперматозоида эти комплексы обладают повышенным сродством к ПО. Зонадгезин (ZAN), известный как белок акросомы, обладающий сродством к ПО, — один из этих белков ВМК. Реакция иммунопреципитации показывает, что ZAN взаимодействует с другими белками акросомы, проакрозином / акрозином и sp32 (ACRBP), также входящими в состав ВМК. Иммунологический анализ ZAN и проакрозина/акрозина в сперматозоидах также показывает, что оба белка во время капацитации перемещаются к поверхности головки сперматозоида, где матрикс акросомы сперматозоида остается неизменным, то есть вероятно, что они участвуют в первом этапе связывания сперматозоида с ПО.

Nongnui Tanphaichitr  
Kessiri Kongmanas  
Hathairat Kruevaisayawan  
Arpornrad Saewu  
Clarissa Sugeng  
Jason Fernande  
Puneet Souda  
Jonathan B Angel  
Kym F Faull  
R John Aitken  
Julian Whitelegge  
Daniel Hardy  
Trish Berger  
Mark Baker

<http://www.asiaandro.com/Abstract.asp?doi=10.4103/1008-682X.152817>

## Эпигенетический потенциал хроматина сперматозоидов человека: геномика, протеомика и мужское бесплодие

Judit Castillo, Josep Maria Estanyol, Josep Lluís Ballescà, Rafael Oliva

Хроматин сперматозоидов обладает намного более сложным строением, чем считалось ранее, и вероятно, участвует в передаче важной информации эмбриону.

Классическое представление о функции хроматина сперматозоидов млекопитающих состоит в том, что он служит для передачи следующему поколению высокозащищенного и не подвергающегося транскрипции родительского генома, сильно конденсированного протаминами. Кроме того, недавние исследования строения всего хрома-

>>>



Asian Journal of Andrology  
Volume 17, Issue 4  
July 2015  
601-609

<http://www.asiaandro.com/Abstract.asp?doi=10.4103/1008-682X.153302>

тина сперматозоидов показали различное распределение генов и повторяющихся последовательностей в частях хроматина, конденсированных протаминами и гистонами, что может играть регуляторную роль после оплодотворения. Недавние протеомные исследования показали, что хроматин сперматозоидов, помимо большого количества гистонов и протаминов, содержит много дополнительных белков со специальными модификациями и повышенным сродством к хроматину, и эти белки передаются яйцеклетке. Представляется, что у бесплодных пациентов изменены профили экспрессии генов и трансляции, что согласуется с предполагаемым участием эпигенетических структур хроматина сперматозоида в раннем

развитии эмбриона. В настоящей работе рассматриваются имеющиеся сведения о строении хроматина сперматозоидов человека и его эпигенетическом потенциале. Особое внимание уделяется недавним результатам высокоэффективных геномных и протеомных исследований.

Также мы представляем экспериментальные данные по выявлению фосфорилированных и ацетилированных участков протамина 1 человека с помощью масс-спектрометрии. Имеющиеся данные показывают, что хроматин сперматозоидов обладает намного более сложным строением, чем считалось ранее, то есть повышается вероятность его участия в передаче важной родительской эпигенетической информации эмбриону.

### Human sperm chromatin epigenetic potential: genomics, proteomics, and male infertility



The classical idea about the function of the mammalian sperm chromatin is that it serves to transmit a highly protected and transcriptionally inactive paternal genome, largely condensed by protamines, to the next generation. In addition, recent sperm chromatin genome-wide dissection studies indicate the presence of a differential distribution of the genes and repetitive sequences in the protamine-condensed

and histone-condensed sperm chromatin domains, which could be potentially involved in regulatory roles after fertilization. Interestingly, recent proteomic studies have shown that sperm chromatin contains many additional proteins, in addition to the abundant histones and protamines, with specific modifications and chromatin affinity features which are also delivered to the oocyte. Both gene and pro-

tein signatures seem to be altered in infertile patients and, as such, are consistent with the potential involvement of the sperm chromatin landscape in early embryo development. This present work reviews the available information on the composition of the human sperm chromatin and its epigenetic potential, with a particular focus on recent results derived from high-throughput genomic and proteomic studies. As a com-

plement, we provide experimental evidence for the detection of phosphorylations and acetylations in human protamine 1 using a mass spectrometry approach. The available data indicate that the sperm chromatin is much more complex than what it was previously thought, raising the possibility that it could also serve to transmit crucial paternal epigenetic information to the embryo.

## Тератозооспермия: в центре внимания основные генетические акторы человека

Coutton C, Escoffier J, Martinez G, Arnoult C, Ray PF.

Молекулярные исследования выявили, что мутации в DPY19L2 и AURKC в основном отвечают за соответствующий патологический фенотип.

**КИНАЗЫ (ФОСФОТРАНСФЕРАЗЫ)** — ферменты, катализирующие перенос фосфатной группы от молекулы аденозинтрифосфата (АТФ) на различные субстраты. Обеспечивают включение глюкозы и гликогена в процесс гликолиза в живых клетках, участвуют в синтезе важных для организма соединений. Особенно хорошо известны митотические киназы, такие как циклин-зависимая киназа или киназа «аурога», катализирующая фосфорилирование корового (H3) и линкерного (H1) гистонов.

### ПРЕДПОСЫЛКИ

Бесплодием страдают более 20 миллионов мужчин во всем мире, что представляет высокую важность для здоровья. Несмотря на многофакторность, мужское бесплодие имеет мощный генетический базис, который до сих пор не изучен. Последние исследования близкородственных семей и небольших когорт фенотипически сопо-

ставимых пациентов, позволил выявить ряд аутосомно-рецессивных причин тератозооспермии. Гомозиготные мутации киназы Aurora C (AURKC) были впервые описаны как ответственные за большинство случаев макрозооспермий. Впоследствии была определена роль других генных дефектов, например, в гене связанном со сперматогенезом-16 (SPATA16) и DPY-19-like 2 (DPY19L2) у пациентов с глобозооспермией. В последнее время обсуждается роль динеина, аксонемала, тяжелой цепи 1 (DNAH1) в гетерогенной группе пациентов с аномалиями жгутика, которые были описаны ранее как дисплазия фиброзной оболочки или синдром короткого или культы жгутика, которые мы предлагаем называть множественные морфологические аномалии жгутиков (MMAF).

## МЕТОДЫ

Был проведён всеобъемлющий обзор научной литературы, доступной в PubMed/Medline для изучения данных по генетике человека, экспериментальным моделям и патофизиологии, связанных с тератозооспермией, в частности с глобозооспермией, макрозооспермией и аномалиями хвоста. В поиск включены все статьи на английском с доступным абстрактном в Интернете, изданные до сентября 2014 года.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Молекулярные исследования многочисленных пациентов, безотносительно глобозооспермии и большой головки сперматозоида подтвердили, что за подобные патологические фенотипы отвечают мутации в генах *DPY19L2* и *AURKC*, соответственно. При глобозооспермии, совокупность делеций гена *DPY19L2* представляет ~81% патологических аллелей, но были описаны также и точечные мутации, влияющие на функцию белка. При макрозооспермии, только две периодические мутации были выявлены в гене *AURKC*, соотносящиеся почти во всеми патологическими аллелями, что дает нам возможность предполагать наличие положительного отбора гетерозиготных индивидуумов. Недавнее выявление *DNAH1*

мутаций в доле пациентов с патологией хвоста сперматозоидов (ММАФ) является перспективным, но подчеркивает, что этот фенотип генетически неоднороден. Кроме того, идентификация мутаций динеина укрепляет формирующуюся точку зрения, что ММАФ может быть фенотипической вариацией классических форм первичной цилиарной дискинезии. Исходя из данных моделей человека и животных, фенотип ММАФ, кажется, благоприятствует дефектам непосредственно или косвенно влияющих на центральную пару аксонемных микротрубочек хвоста сперматозоидов.

## ВЫВОДЫ

Описанные исследования дают ценную информацию о генетических и молекулярных дефектах, вызывающих бесплодие, для улучшения нашего понимания патофизиологии тератозооспермии, давая подробную характеристику особенностей сперматогенеза. Кроме того, эти данные имеют существенное влияние на диагностическую стратегию для пациентов с тератозооспермией, позволяющих врачу провести информированное генетическое консультирование, для принятия наилучшей концепции лечения и разработки индивидуальной терапии, нацеленной непосредственно на дефектные гены.

### Teratozoospermia: spotlight on the main genetic actors in the human.



#### BACKGROUND

Male infertility affects >20 million men worldwide and represents a major health concern. Although multifactorial, male infertility has a strong genetic basis which has so far not been extensively studied. Recent studies of consanguineous families and of small cohorts of phenotypically homogeneous patients have however allowed the identification of a number of autosomal recessive causes of teratozoospermia. Homozygous mutations of aurora kinase C (*AURKC*) were first described to be responsible for most cases of macrozoospermia. Other genes defects have later been identified in spermatogenesis associated 16 (*SPATA16*) and dpy-19-like 2 (*DPY19L2*) in patients with globozoospermia and more recently in dynein, axonemal, heavy chain 1 (*DNAH1*) in a heterogeneous group of patients presenting with flagellar abnor-

malities previously described as dysplasia of the fibrous sheath or short/stump tail syndromes, which we propose to call multiple morphological abnormalities of the flagella (ММАФ).

#### METHODS

A comprehensive review of the scientific literature available in PubMed/Medline was conducted for studies on human genetics, experimental models and physiopathology related to teratozoospermia in particular globozoospermia, large headed spermatozoa and flagellar abnormalities. The search included all articles with an English abstract available online before September 2014.

#### RESULTS

Molecular studies of numerous unrelated patients with globozoospermia and large-headed spermatozoa confirmed that mutations in *DPY19L2* and

*AURKC* are mainly responsible for their respective pathological phenotype. In globozoospermia, the deletion of the totality of the *DPY19L2* gene represents ~81% of the pathological alleles but point mutations affecting the protein function have also been described. In macrozoospermia only two recurrent mutations were identified in *AURKC*, accounting for almost all the pathological alleles, raising the possibility of a putative positive selection of heterozygous individuals. The recent identification of *DNAH1* mutations in a proportion of patients with ММАФ is promising but emphasizes that this phenotype is genetically heterogeneous. Moreover, the identification of mutations in a dynein strengthens the emerging point of view that ММАФ may be a phenotypic variation of the classical forms of primary ciliary dyskinesia. Based on data from human and

animal models, the ММАФ phenotype seems to be favored by defects directly or indirectly affecting the central pair of axonemal microtubules of the sperm flagella.

#### CONCLUSIONS

The studies described here provide valuable information regarding the genetic and molecular defects causing infertility, to improve our understanding of the physiopathology of teratozoospermia while giving a detailed characterization of specific features of spermatogenesis. Furthermore, these findings have a significant influence on the diagnostic strategy for teratozoospermic patients allowing the clinician to provide the patient with informed genetic counseling, to adopt the best course of treatment and to develop personalized medicine directly targeting the defective gene product.



*Human Reproduction Update*  
Volume 21  
Issue 4 July/August 2015:  
455-85

<http://humupd.oxfordjournals.org/content/21/4/455.abstract>

# Количественная оценка экспрессии CatSper1 в сперматозоидах человека и связь этого показателя с функциональными параметрами

Tamburrino L  
Marchiani S  
Vicini E  
Muciaccia B  
Cambi M  
Pellegrini S  
Forti G  
Muratori M  
Baldi E

## Quantification of CatSper1 expression in human spermatozoa and relation to functional parameters.



### STUDY QUESTION

Is CatSper1 expression in human spermatozoa related to semen parameter values and sperm functions?

### SUMMARY ANSWER

CatSper1 expression is positively related to progressive and hyperactivated (HA) motility,  $[Ca^{2+}]_i$  responsiveness to progesterone but not the acrosome reaction (AR).

### WHAT IS KNOWN ALREADY

The role of cationic channel of sperm (CatSper) in sperm functions is clear in animal models but less defined in human sperm cells. Current knowledge is mostly based on low specificity CatSper inhibitors showing agonistic and toxic effects on human spermatozoa and is thus of little help in clarifying the role of the CatSper channel in human sperm functions.

### STUDY DESIGN, SIZE, DURATION

CatSper1 protein expression was evaluated in 115 men undergoing semen analysis for couple infertility. CatSper1 expression was related to routine semen parameters, motility kinematic parameters and

basal and progesterone-stimulated  $[Ca^{2+}]_i$  and the AR.

### PARTICIPANTS/MATERIALS, SETTING, METHODS

CatSper1 expression was evaluated (n=85 normozoospermic, n=30 asthenozoospermic patients) by immunofluorescence coupled to flow cytometry leading to quantitative measurement of the percentage of ejaculated sperm cells expressing the protein. Semen analysis was evaluated according to World Health Organization guidelines. Kinematic parameters were evaluated by a computer-aided sperm analysis system.  $[Ca^{2+}]_i$  was measured by a spectrofluorimetric method in fura-2-loaded spermatozoa. The AR was evaluated in live sperm cells by fluorescent-labeled lectin.

### MAIN RESULTS AND THE ROLE OF CHANCE

CatSper1 protein expression in spermatozoa was reduced in asthenozoospermic men (mean  $\pm$  SD:  $53.0 \pm 15.5\%$ , n=30 versus  $67.9 \pm 17.1\%$  in normozoospermic, n=85,  $P < 0.01$ ) and was significantly correlated with progressive ( $r=0.36$ ,

$P < 0.001$ ), total ( $r=0.35$ ,  $P < 0.001$ ) and HA ( $r=0.41$ ,  $P < 0.005$ ) motility. In addition to a higher percentage of spermatozoa not expressing CatSper1, asthenozoospermic men showed a large number of spermatozoa with immunofluorescent signal localized outside the principal piece compared with those in normozoospermia. A significant positive correlation was found between CatSper1 protein expression and the increase of  $[Ca^{2+}]_i$  in response to progesterone ( $r=0.36$ ,  $P < 0.05$ , n=40) but not with basal  $[Ca^{2+}]_i$ . No correlation was found with the AR, either basal or in response to progesterone.

### LIMITATIONS, REASONS FOR CAUTION

The study is partly descriptive. Furthermore, we cannot rule out the possibility that some round cells remain after a single round of 40% density gradient centrifugation or that this step may have removed some defective or slow swimming sperm, and therefore this preparation may not be representative of the entire sperm sample. Although our data suggest that CatSper1 may be a

useful marker for infertility, and a possible contraceptive target, any clinical application is limited without further research.

### WIDER IMPLICATIONS OF THE FINDINGS

Our results demonstrate an association of CatSper1 expression with human sperm progressive and HA motility and provide preliminary evidence that lack of expression or mislocalization of CatSper1 in spermatozoa may be involved in the pathogenesis of asthenozoospermia. However, mechanistic studies are needed to confirm that the correlations between CatSper1 expression and sperm functions are causative.

### STUDY FUNDING/COMPETING INTEREST(S)

Supported by grants from Ministry of University and Scientific Research (PRIN project to E.B. and FIRB project to S.M.) and by Regione Toscana (to G.F.). L.T. was recipient of a grant from Accademia dei Lincei (Rome, Italy). The authors have no conflicts of interest to declare.

**Отсутствие экспрессии или неправильное положение CatSper1 в сперматозоидах могут играть роль в патогенезе астенозооспермии.**



Human Reproduction  
2015 Jul; 30 (7):  
1532-44

## ИССЛЕДОВАНИЕ

Связана ли экспрессия CatSper1 в сперматозоидах человека с параметрами спермы и функциями сперматозоидов?

## ОСНОВНОЙ РЕЗУЛЬТАТ

Показана положительная связь экспрессии CatSper1 с прогрессивным и гиперактивным (ГА) движением, ответом  $[Ca^{2+}]_i$  на прогестерон, но не с акросомной реакцией (АР).

## ЧТО УЖЕ ИЗВЕСТНО

Роль катионного канала сперматозоидов (CatSper) в работе последних описана на животных моделях, но хуже изучена у человека. Имеющиеся данные преимущественно основаны на изучении низкоспецифичных ингибиторов CatSper, оказывающих антагонистическое и токсическое действие на сперматозоиды человека, и потому мало пригодны для прояснения роли канала CatSper в работе сперматозоидов человека.

## ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспрессию белка CatSper1 оценивали у 115 мужчин, сдававших анализ спермы в рамках лечения бесплодия. Изучали связь экспрессии CatSper1 со стандартными параметрами спермы, кинематическими параметрами подвижности, с исходной и увеличенной прогестероном концентрацией  $[Ca^{2+}]_i$  и с АР.

## МАТЕРИАЛЫ и МЕТОДЫ

Экспрессию CatSper1 оценивали (у 85 пациентов с нормозооспермией и 30 пациентов с астенозооспермией) методами иммунофлуоресцентного анализа и проточной цитометрии, что позволяло определить процент сперматозоидов в эякуляте, экспрессирующих этот белок. Спермограмму проводили согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения. Кинематические параметры оценивали с помощью компьютерной системы анализа спермы.  $[Ca^{2+}]_i$  определяли спектрофотометрически в сперматозоидах,

нагруженных зондом Fura-2. AP оценивали в живых сперматозоидах с помощью лектина с флуоресцентной меткой.

#### ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Экспрессия белка CatSper1 в сперматозоидах была снижена у мужчин с астенозооспермией (среднее  $\pm$  СКО:  $53,0 \pm 15,5\%$ ,  $n=30$ , против  $67,9 \pm 17,1\%$  при нормозоспермии,  $n=85$ ,  $P < 0,01$ ) и в значимой степени коррелировала с прогрессивной ( $r=0,36$ ,  $P < 0,001$ ), общей ( $r=0,35$ ,  $P < 0,001$ ) и ГА ( $r=0,41$ ,  $P < 0,005$ ) подвижностью. В дополнение к большей процентной доле сперматозоидов, не экспрессирующих CatSper1, у мужчин с астенозооспермией по сравнению с мужчинами с нормозоспермией было повышено количество сперматозоидов, в которых иммунофлуоресцентный сигнал располагался вне основного участка. Была показана положительная корреляция между экспрессией белка CatSper1 и увеличенной в ответ на прогестерон  $[Ca^{2+}]_i$  ( $r=0,36$ ,  $P < 0,05$ ,  $n=40$ ), но не исходной концентрацией  $[Ca^{2+}]_i$ . Отсутствовала корреляция с AP, исходной или в ответ на прогестерон.

#### ОГРАНИЧЕНИЯ

Исследование отчасти описательное. Мы также не исключаем возможность того, что после одного центрифугирования в градиенте плотности останутся некоторые круглые клетки или что

на этом этапе могут быть удалены некоторые дефектные или медленные сперматозоиды, то есть полученный препарат может отражать не весь спектр клеток образца. Хотя наши данные позволяют предполагать, что CatSper1 — полезный маркер при лечении бесплодия и возможная мишень противозачаточных средств, говорить о каком-либо клиническом применении без дополнительных исследований рано.

#### ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

Наши результаты говорят о связи экспрессии CatSper1 с прогрессивным и гиперактивным движением сперматозоидов человека, а также служат предварительным доказательством того, что отсутствие экспрессии или неправильное положение CatSper1 в сперматозоидах могут играть роль в патогенезе астенозооспермии. Однако требуются исследования механизмов, лежащих в основе корреляции между экспрессией CatSper1 и функционированием сперматозоидов.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Гранты Министерства образования, университетов и научных исследований (проект PRIN у E.B. и проект FIRB у S.M.) L.T. получил грант от Академии деи Линчеи (Рим, Италия). Авторы сообщают об отсутствии конфликтов интересов.

<http://humrep.oxfordjournals.org/content/30/7/1532.abstract>

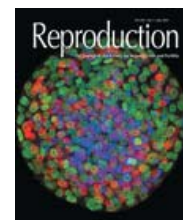
## МикроРНК и метилирование ДНК как эпигенетические регуляторы митоза, мейоза и спермиогенеза

Chencheng Yao, Yun Liu, Min Sun, Minghui Niu, Qingqing Yuan, Yanan Hai, Ying Guo, Zheng Chen, Jingmei Hou, Yang Liu, and Zuping He

**Рассмотрены роль и механизмы действия эпигенетических регуляторов в процессе митоза, мейоза и спермиогенеза.**

Спермиогенез подразделяется на три этапа: самообновление сперматогониев путем митоза, I/II фазы мейоза сперматозоидов и постмейотическое развитие гаплоидных сперматид в процессе спермиогенеза. Спермиогенез включает конденсацию хроматина в головке сперматиды перед превращением последней в сперматозоид. Эпигенетическое регулирование означает изменение наследуемых клеточных и физиологических характеристик не вследствие модификации последовательности ДНК (например, мутаций). Сделаны важные шаги в эпигенети-

ческом регулировании спермиогенеза. В настоящем обзоре мы рассматриваем роли и механизмы действия эпигенетических регуляторов, уделяя особое внимание роли микроРНК и метилирования ДНК в процессе митоза, мейоза и спермиогенеза. Мы также обозначаем вопросы, требующие дальнейшего исследования. Тщательное изучение эпигенетического регулирования спермиогенеза позволит пролить свет на этиологию некоторых необъясненных форм бесплодия и предложить новые подходы к лечению мужского бесплодия.



Reproduction 150 (1)  
R25-R34

## MicroRNAs and DNA methylation as epigenetic regulators of mitosis, meiosis and spermiogenesis



Spermatogenesis is composed of three distinctive phases, which include self-renewal of spermatogonia via mitosis, spermatocytes undergoing meiosis I/II and post-meiotic development of haploid spermatids via spermiogenesis. Spermatogenesis also involves condensation of chromatin in the spermatid head before transformation of spermatids to spermatozoa. Epigenetic regulation refers to changes of heritably cellular and physiological traits not caused by modifications in the DNA sequences of the chromatin such as mutations. Major advances have been made in the epigenetic

regulation of spermatogenesis. In this review, we address the roles and mechanisms of epigenetic regulators, with a focus on the role of microRNAs and DNA methylation during mitosis, meiosis and spermiogenesis. We also highlight issues that deserve attention for further investigation on the epige-

netic regulation of spermatogenesis. More importantly, a thorough understanding of the epigenetic regulation in spermatogenesis will provide insightful information into the etiology of some unexplained infertility, offering new approaches for the treatment of male infertility.

<http://www.reproduction-online.org/content/150/1/R25.abstract>

# Скрининг на мутации гена NR5A1, кодирующего стероидогенный фактор 1 при крипторхизме, мужское бесплодие и функциональный анализ семи неописанных мутаций

Ferlin, Alberto et al.



Fertility and Sterility, Volume 104, Issue 1, 163 - 169.e1

## Mutational screening of NR5A1 gene encoding steroidogenic factor 1 in cryptorchidism and male factor infertility and functional analysis of seven undescribed mutations.



**OBJECTIVE** To study the role of NR5A1 in cryptorchidism and male factor infertility. Mutations in NR5A1 have been initially associated with primary adrenal insufficiency and 46,XY gonadal dysgenesis and more recently with less severe phenotypes, including preliminary descriptions in severe forms of male factor infertility. Far less clear is the possible involvement of NR5A1 mutations in cryptorchidism.

**DESIGN** Retrospective cross-sectional cohort study and functional analysis of mutant proteins.

**SETTING** University department.

**PATIENT(S)** 959 subjects, including children with cryptorchidism and adults with different semen phenotypes associated or not associated with a history of cryptorchidism.

**INTERVENTION(S)** None.

**MAIN OUTCOME MEASURE(S)** Mutation screening of NR5A1 by sequencing all exons. Functional analysis of mutant proteins by transactivation assays of CYP11A1 and CYP17A1 promoters.

**RESULT(S)** We identified seven undescribed and one previously described missense mutation in subjects with severe spermatogenic impairment, without (4/236, 1.7%) and with (3/85, 3.5%) a history of cryptorchidism. Newborns with cryptorchidism carry NR5A1 mutations at low frequency (0.7%), whereas no mutations were found in milder forms of infertility and normozoospermia, irrespective of the presence of cryptorchidism. The mutant proteins showed impaired transactivation of gonadal promoters.

A single nucleotide polymorphism (rs1110061; c.437 G>C; p.Gly146Ala) was also associated with more severe forms of spermatogenic impairment with cryptorchidism.

**CONCLUSION(S)** This study, combined with what is already known about NR5A1-associated phenotypes, suggests considering mutations in this gene as a novel genetic cause of more severe forms of male factor infertility, especially when associated with a history of cryptorchidism.

**Мутации NR5A1 — новая генетическая причина более тяжелых форм мужского бесплодия, в особенности при крипторхизме в анамнезе.**

### ЦЕЛЬ

Изучить роль NR5A1 при крипторхизме и мужском бесплодии. Мутации NR5A1 изначально связывали с первичной недостаточностью надпочечников и дисгенезией гонад типа 46,XY, затем — с менее тяжелыми фенотипами, включая предварительные описания их роли при тяжелых формах мужского бесплодия. Возможная роль мутаций NR5A1 при крипторхизме не настолько ясна.

### ДИЗАЙН

Ретроспективное когортное исследование по методу «поперечного среза» и функциональный анализ мутантных белков.

### МЕСТО ПРОВЕДЕНИЯ

Университетская кафедра.

### ПАЦИЕНТ

959 участников, включая детей с крипторхизмом и взрослых с различными фенотипами спермы с крипторхизмом в анамнезе или без него.

### ВМЕШАТЕЛЬСТВА

Отсутствуют.

### ОСНОВНОЙ ПОКАЗАТЕЛЬ ИСХОДА

Скрининг на мутации NR5A1 путем расшифровки последовательностей всех экзонов. Функциональный анализ мутантных белков с помощью трансактивации промоторов CYP11A1 и CYP17A1.

### РЕЗУЛЬТАТ

Мы выявили семь неописанных и одну ранее описанную миссенс-мутацию у пациентов с тяжелым нарушением сперматогенеза с крипторхизмом в анамнезе (3/85, 3,5%) и без него (4/236, 1,7%). У новорожденных с крипторхизмом мутации NR5A1 встречаются редко

(0,7%), а при более легких формах бесплодия и нормозооспермии мутации выявлены не были, независимо от наличия крипторхизма. Было показано, что нарушена трансактивация промоторов поло-

вых клеток мутантными протеинами. Полиморфизм одного нуклеотида (rs1110061; c.437 G→C; p.Gly146Ala) был также связан с более тяжелыми формами нарушения сперматогенеза на фоне крипторхизма.

#### ВЫВОД

Учитывая то, что уже известно о связанных с NR5A1 фенотипах, данное исследование позволяет предположить, что мутации этого гена — новая генетическая причина более тяжелых форм мужского бесплодия, в особенности при крипторхизме в анамнезе.

[http://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(15\)00290-3/abstract](http://www.fertstert.org/article/S0015-0282(15)00290-3/abstract)

## Анализ мутаций у пациентов с полной неподвижностью сперматозоидов

Rute Pereira, Jorge Oliveira, Luis Ferraz, Alberto Barros, Rosário Santos, Mário Sousa

### Mutation analysis in patients with total sperm immotility

#### PURPOSE

Perform the genetic characterization of five patients with total sperm immotility using Sanger sequencing and Whole Exome Sequencing (WES), in order to increase the knowledge on the genetics of sperm immotility and, ultimately, allow the identification of potential genetic markers for infertility.

#### METHODS

Prospective study at a University

Medical school. We analysed five men with total sperm immotility, four with dysplasia of the fibrous sheath (DFS), associated with disruption of several axonemal structures, and one patient with situs inversus totalis, which showed absence of dynein arms (DA) and nexin bridges. We screened 7 genes by Sanger sequencing, involved in sperm motility and associated to ultrastructural defects found in these patients (CCDC39, CCDC40, DNAH5, DNAI1, RSPH1,

AKAP3 and AKAP4). Additionally, we performed WES analysis in the patient with situs inversus.

#### RESULTS

We identified nine new DNA sequence variants by WES. Two of these variants were considered particularly relevant: a homozygous missense change in CCDC103 gene (c.104G > C, p.R35P) probably related with absence of dynein arms; the other in the INSL6 gene (c.262\_263delCC) is thought to be

also involved in sperm immotility.

#### CONCLUSIONS

Our work suggests that WES is an effective strategy, especially as compared with conventional sequencing, to study highly heterogeneous genetic diseases, such as sperm immotility. For future work we expect to expand the analysis of WES to the other four patients and complement findings with expression analysis or functional studies to determine the impact of the novel variants.



*Journal of Assisted  
Reproduction and Genetics*  
June 2015,  
Volume 32,  
Issue 6,  
pp 893-902

**Полное секвенирование экзома — эффективная методика изучения высоко гетерогенных генетических заболеваний, таких как неподвижность сперматозоидов, особенно по сравнению с обычным секвенированием.**

#### ЦЕЛЬ

Составить генетическое описание пяти пациентов с полной неподвижностью сперматозоидов с помощью секвенирования по Сэнгеру и полного секвенирования экзома (ПСЭ) с целью получения дополнительных сведений о генетических основах неподвижности сперматозоидов и, наконец, выявления потенциальных генетических маркеров бесплодия.

#### МЕТОДЫ

Проспективное исследование на медицинском факультете университета. Мы проанализировали данные пяти мужчин с полной неподвижностью сперматозоидов: у четырех дисплазия фиброзной оболочки (ДФО), связанная с повреждением нескольких структур аксонемы, и у одного — полная транспозиция внутренних органов, при которой отсутству-

**СЕКВЕНИРОВАНИЕ ЭКЗОМА** — стратегия секвенирования всех белок-кодирующих генов в геноме (т. е. экзома), предполагающая выбор только тех участков ДНК, которые кодируют белки (экзонов) и их последующее секвенирование с использованием любой платформы высокопроизводительного секвенирования ДНК. Экзомное секвенирование позволяет обнаружить мутации в белок-кодирующих областях генов, которые нарушают функционирование белков. В то же время некоторые болезни могут быть связаны с мутациями в некодирующих областях или структурными перестройками, которые секвенирование экзома не позволит выявить. Для выявления таких мутаций может быть использовано полногеномное секвенирование: оно покрывает оставшиеся 99% генома и позволяет выявить более глубокие взаимосвязи, однако этот метод гораздо более дорогой и трудоемкий. На нынешнем этапе развития науки и технологий экзомное секвенирование представляется оптимальным методом для клинической диагностики редких наследственных заболеваний, не выявляемых микрочипами.



Asian Journal of Andrology  
Volume 17, Issue 4 (July 2015) 17  
610–615

ет динеиновая ручка (ДР) и нексиновые мостики. Мы провели секвенирование по Сэнгеру 7 генов, обеспечивающих подвижность сперматозоидов и связанных с ультраструктурными дефектами, выявленными у этих пациентов, (CCDC39, CCDC40, DNAH5, DNAI1, RSPH1, AKAP3 и AKAP4). Кроме того, мы провели ПСЭ у пациента с транспозицией органов.

**РЕЗУЛЬТАТЫ**

Мы выявили девять новых вариантов последовательности ДНК с помощью ПСЭ. Два варианта считаются особенно важными: гомозиготная миссенс-мутация в гене CCDC103 (с.104G > C, р.R35P), вероятно связанная с отсутствием динеиновых ручек, и мутация в гене INSL6 (с.262\_263delCC), которая также считается способствующей неподвижности сперматозоидов.

**ВЫВОДЫ**

Наши результаты позволяют предположить, что ПСЭ — эффективная стратегия изучения высоко гетерогенных генетических заболеваний, таких как неподвижность сперматозоидов, особенно по сравнению с обычным секвенированием. В будущем мы планируем провести ПСЭ у еще четырех пациентов и дополнить эти данные анализом экспрессии или функциональными исследованиями, чтобы определить влияние на фенотип новых вариантов последовательности.

<http://link.springer.com/article/10.1007/s10815-015-0474-6> Purpose

## Модель контроля целостности ДНК матриксом ядра сперматозоида

Joanna E Gawęcka, Jordi Ribas Maynou, Jordi Benet, W Steven Ward

**Существует механизм контроля полноценности сперматозоидов, проходящих по мужским половым органам, и разрушения генома дефектных сперматозоидов.**



Asian Journal of Andrology  
Volume 17, Issue 4 (July 2015) 17  
610–615

Высококонденсированный хроматин сперматозоидов млекопитающих обычно считается инертным с биологической точки зрения до оплодотворения. Однако мы обнаружили, что даже в упакованном состоянии хроматин сперматозоидов подвержен деградации на открытых участках, взаимодействующих с ядерным матриксом. Этот процесс мы назвали фрагментацией хроматина сперматозоидов (ФХС). Полученные данные позволяют предположить, что существует механизм контроля состояния сперматозоидов, проходящих по мужским половым органам, и разрушения генома дефектных

сперматозоидов. Места повреждения ДНК при ФХС, места прикрепления к матриксу, совпадают с теми, которые, как мы предполагаем, инициируют синтез ДНК в зиготе. При инъекции сперматозоидов с поврежденной ДНК в яйцеклетку образовавшаяся зигота реагирует на это задержкой синтеза ДНК в мужском пронуклеусе и, если повреждение достаточно тяжелое, развитие эмбриона останавливается. Мы представляем модель регулирования отцовской ДНК ядерным матриксом, начинающегося во время созревания сперматозоида и продолжающегося на ранних этапах развития эмбриона.

**A model for the control of DNA integrity by the sperm nuclear matrix**



The highly condensed chromatin of mammalian spermatozoa is usually considered to be biologically inert before fertilization. However, we have demonstrated that even in this compacted state, sperm chromatin is subject to degradation at open configurations associated with the nuclear matrix through a process we have termed sperm chromatin fragmentation (SCF). This suggests that a mechanism exists to monitor the health of spermatozoa during transit through the male reproductive tract and to destroy the genome of defective sperm cells. The site of DNA damage in SCF, the matrix attachment sites, are the same that we hypothesize initiate DNA synthesis in the zygote. When sperm that have damaged DNA are injected into the oocyte, the newly created zygote responds by delaying DNA synthesis in the male pronucleus and, if the damage is severe enough, arresting the embryo's development. Here we present a model for paternal DNA regulation by the nuclear matrix that begins during sperm maturation and continues through early embryonic development.

<http://www.asiaandro.com/Abstract.asp?doi=10.4103/1008-682X.153853>



# Фрагментация ДНК сперматозоидов, повторяющееся отсутствие имплантации и привычное невынашивание беременности

## Sperm DNA fragmentation, recurrent implantation failure and recurrent miscarriage



Evidence is increasing that the integrity of sperm DNA may also be related to implantation failure and recurrent miscarriage (RM). To investigate this, the sperm DNA fragmentation in partners of 35 women with recurrent implantation failure (RIF) following in vitro fertilization, 16 women diagnosed with RM and seven recent fathers (control) were

examined. Sperm were examined pre- and post-density centrifugation by the sperm chromatin dispersion (SCD) test and the terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL) assay. There were no significant differences in the age of either partner or sperm concentration, motility or morphology between three

groups. Moreover, there were no obvious differences in sperm DNA fragmentation measured by either test. However, whilst on average sperm DNA fragmentation in all groups was statistically lower in prepared sperm when measured by the SCD test, this was not seen with the results from the TUNEL assay. These results do not support

the hypothesis that sperm DNA fragmentation is an important cause of RIF or RM, or that sperm DNA integrity testing has value in such patients. It also highlights significant differences between test methodologies and sperm preparation methods in interpreting the data from sperm DNA fragmentation tests.



*Asian Journal of Andrology*  
Volume 17, Issue 4  
July 2015  
681–685

**Полученные данные не подтверждают гипотезу о том, что степень фрагментации ДНК сперматозоидов строго коррелирует с патологией беременности**

Появляется все больше данных в пользу того, что целостность ДНК сперматозоидов может быть связана с отсутствием имплантации эмбриона и привычным невынашиванием беременности (ПНБ). Для рассмотрения этого вопроса мы изучили фрагментацию ДНК сперматозоидов партнеров 35 женщин с повторяющимся отсутствием имплантации (ПОИ) после экстракорпорального оплодотворения, партнеров 16 женщин с ПНБ и нескольких мужчин, недавно ставших отцами, (контрольная группа). Проводили тест дисперсии хроматина (ТДХ), а также анализ по методу TUNEL (введение концевой метки дУТФ с использованием терминальной дезоксирибонуклеотидилтрансферазы) до и после центрифугирования сперматозоидов. Между группами не было значимых раз-

личий по возрасту или концентрации, подвижности либо морфологии сперматозоидов. Кроме того, не было явных различий по степени фрагментации ДНК сперматозоидов по результатам обоих тестов. Однако в обработанных сперматозоидах средняя степень фрагментации ДНК во всех группах была статистически значимо ниже по результатам ТДХ, но не по результатам анализа TUNEL. Полученные данные не подтверждают гипотезу о том, что степень фрагментации ДНК сперматозоидов — важная причина ПОИ или ПНБ или что у таких пациентов стоит проверять степень целостности ДНК сперматозоидов. Также видны значимые различия использованных методов анализа и способов подготовки сперматозоидов с точки зрения интерпретации данных по степени фрагментации ДНК.

*Carol Coughlan  
Helen Clarke  
Rachel Cutting  
Jane Saxton  
Sarah Waite  
William Ledger  
Tinchiu Li  
Allan A Pacey*

[http://www.asiaandro.com/  
Abstract.asp?doi=doi:%20  
10.4103/1008-682X.144946](http://www.asiaandro.com/Abstract.asp?doi=doi:%2010.4103/1008-682X.144946)

## Нет связи между индексом массы тела и целостностью ДНК сперматозоидов

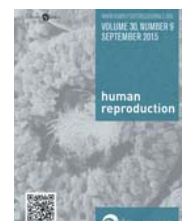
*Bandel I, Bungum M, Richtoff J, Malm J, Axelsson J, Pedersen HS, Ludwicki JK, Czaja K, Hernik A, Toft G, Bonde JP, Spanò M, Malm G, Haugen TB, Giwercman A.*

<http://humrep.oxfordjournals.org/content/30/7/1704.abstract>

**У мужчин с нормальным весом индекс фрагментации ДНК значимо выше, а прогрессивная подвижность сперматозоидов ниже, чем у пациентов с ожирением**

### ИССЛЕДОВАНИЕ

Связан ли избыточный вес с нарушением целостности ДНК сперматозоидов?



*Human Reproduction*  
2015 Jul; 30 (7):  
1704-13

## No association between body mass index and sperm DNA integrity.



**STUDY QUESTION** Is overweight associated with impaired sperm DNA integrity?

**SUMMARY ANSWER** High body mass index (BMI) is not associated with impaired sperm DNA integrity as assessed by the DNA Fragmentation Index (DFI).

**WHAT IS KNOWN ALREADY** Previous studies, based on fewer subjects and including mainly subfertile men, have shown conflicting results regarding the influence of overweight and obesity on sperm DNA integrity.

**STUDY DESIGN, SIZE, DURATION** This cross-sectional study was based on semen samples from 1503 men from the general population.

**PARTICIPANTS/MATERIALS, SETTING, METHODS** We included two cohorts (cohort A and B) of military recruits (n=275, n=304, respectively), one group (cohort C) of fertile men and men without known fertility problems (n=724), and one group (cohort D) of men between 19 and 40 years without known fertility problems (n=200). In all cohorts, data were available on BMI, DFI as measured by the sperm chromatin structure assay (SCSA), standard semen characteristics, and potential confounders (age, abstinence time, smoking habits). The subjects were categorized according to BMI into four groups: underweight (<18.5 kg/m<sup>2</sup>), normal weight (18.5–24.9 kg/m<sup>2</sup>), overweight (25.0–29.9 kg/m<sup>2</sup>) and obese (≥30.0 kg/m<sup>2</sup>). Using a linear regression model, the inter-group differences in DFI were calculated. Furthermore with the normal-weight group as the reference, the odds ratios (ORs) for DFI > 20% and DFI > 30%, were calculated for the other groups. Calculations were made for the material as a whole and after exclusion of cohort C which included proven fertile men.

**MAIN RESULTS AND THE ROLE OF CHANCE** We found that normal-weight men had significantly higher DFI than overweight men, with a mean difference of 1.13% (95% CI: 1.05–1.22%; P=0.001). Overweight men had a reduced risk of having DFI > 20% and DFI > 30%, compared with normal-weight men; adjusted odds ratio (OR)=0.61 (95% CI: 0.42–0.88; P < 0.01) and adjusted OR=0.48 (95% CI: 0.28–0.84; P < 0.01), respectively. When excluding cohort C, the statistical significance was lost. Regarding standard semen parameters, we found that obese men had a higher percentage of progressive motile spermatozoa than normal-weight men; mean difference 1.15% (95% CI: 1.02–1.30%, P < 0.05) but the significance was lost when excluding cohort C. All other standard semen parameters were unaffected by BMI.

**LIMITATIONS, REASONS FOR CAUTION** A main limitation might be the cross-sectional nature of the data. Furthermore our study included a significant proportion of men with proven fertility (75% of cohort C, n=550), and could therefore be biased toward fertility.

**WIDER IMPLICATIONS OF THE FINDINGS** Our study indicates that overweight per se is not associated with a higher level of sperm DNA damage.

**STUDY FUNDING/COMPETING INTEREST(S)** This research has been given grants from the following: EU 5th and 7th framework program (Inuendo and Clear projects, [Contracts no. QLK4-CT-2001-00202 and FP7-ENV-2008-1-226217]), the Swedish Research Council (Grants No. 2007-2590, 521-2004-6072 and 521-2002-3907); the Swedish Governmental Funding for Clinical Research, Skåne county council's research and development foundation, MAS Funds, University Hospital MAS Foundation in Malmö, Crafoordska Fund, Ove Tulefjords Fund, Foundation for Urological Research, Fundacion Federico SA, and Gunnar Nilssons Cancer Fund. The authors declare that there are no conflicts of interest.

## ОСНОВНОЙ РЕЗУЛЬТАТ

Анализ индекса фрагментации ДНК (ифДНК) показал, что высокий индекс массы тела (ИМТ) не связан с нарушением целостности ДНК сперматозоидов.

## ЧТО УЖЕ ИЗВЕСТНО

Предыдущие исследования с меньшей выборкой и участием преимущественно субфертильных мужчин дали противоречивые результаты о влиянии избыточной массы тела и ожирения на целостность ДНК сперматозоидов.

## ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное межгрупповое исследование проводилось с использованием образцов спермы 1503 мужчин из общей популяции.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Мы включили в исследование две когорты (А и В) призывников (n=275 и n=304, соответственно), одну группу (коhorta C) фертильных мужчин и мужчин без известных проблем с фертильностью (n=724) и еще одну группу (коhortу D) мужчин в возрасте от 19 до 40 лет без известных проблем с фертильностью (n=200). Во всех когортах имелись данные по ИМТ, ифДНК, измеренному путем анализа структуры хроматина сперматозоидов (sperm chromatin structure assay, SCSA), стандартным параметрам спермограммы и потенциальным искажающим факторам (возраст, продолжительность полового воздержания, курение). Участники разделили на четыре группы по ИМТ: пониженная масса тела (<18,5 кг/м<sup>2</sup>), нормальный вес (18,5–24,9 кг/м<sup>2</sup>), избыточный вес (25,0–29,9 кг/м<sup>2</sup>) и ожирение (≥30,0 кг/м<sup>2</sup>). Используя линейную регрессионную модель, рассчитали различия между группами по ифДНК. Кроме того, взяв за эталон группу с нормальным весом, рассчитали отношения шансов (ОШ) ифДНК>20% и ифДНК>30% для оставшихся групп. Расчеты проводили для всех участников и после исключения когорты C, в которую входили мужчины с доказанной фертильностью.

## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Мы показали, что у мужчин с нормальным весом ифДНК значимо выше, чем у мужчин с избыточным весом. Среднее различие составило 1,13% (95% ДИ: 1,05–1,22%), P=0,001). У мужчин с избыточным весом риск ифДНК ≥20% и ифДНК≥30% был

ниже, чем у мужчин с нормальным весом. Скорректированное отношение шансов составило 0,61 (95% ДИ: 0,42–0,88; P<0,01) и 0,48 (95% ДИ: 0,28–0,84; P < 0,01), соответственно. После исключения когорты C статистическая значимость пропала. Что касается стандартных параметров спермограммы, мы показали, что у мужчин с ожирением процент прогрессивно-подвижных сперматозоидов выше, чем у мужчин с нормальным весом. Среднее различие составило 1,15% (95% ДИ: 1,02–1,30%, P<0,05), но после исключения когорты C стало статистически незначимым. На все остальные стандартные параметры спермограммы ИМТ не влиял.

## ОГРАНИЧЕНИЯ

Основным ограничением может быть поперечный срез данных. Кроме того, в исследовании участвовало существенное количество мужчин с известной нормально фертильностью (75% когорты C, n=550), что могло внести систематическую ошибку.

## ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

Наше исследование показывает, что избыточный вес сам по себе не связан с большей степенью повреждения ДНК сперматозоидов.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование проводилось на следующие гранты: 5-й и 7-й рамочных программ ЕС (проекты Inuendo и Clear, [контракты №QLK4-CT-2001-00202 и FP7-ENV-2008-1-226217]), Шведского совета по научным исследованиям (гранты №2007-2590, 521-2004-6072 и 521-2002-3907); Шведского государственного фонда клинических исследований, Фонда научно-исследовательских работ регионального парламента лена Сконе, Фондов MAS, Фонда университетской больницы MAS в г. Мальмё, Крафордского фонда, Фонда им. Оле Тулефьорд, Фонда урологических исследований, «Фундацион Федерико СА» и Фонда борьбы с раком им. Гуннара Нильсона. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

# Снижение активности супероксиддисмутазы в семенной плазме мужчин с бесплодием коррелирует с повышенной фрагментацией ДНК сперматозоидов в течение первых часов после их получения

У мужчин с репродуктивными нарушениями уровень фрагментации ДНК ниже в первые часы после эякуляции

Фрагментация ДНК сперматозоидов колеблется между индивидуумами и является более выраженной с увеличением возраста пациента и времени после сдачи спермы. Интенсификация фрагментации ДНК зависит от баланса окислительно-восстановительной системы, которая регулируется в основном двумя ферментами — супероксиддисмутазой (СОД) и каталазой. Целью данного исследования было определить взаимосвязь между динамикой фрагментации ДНК сперматозоидов, фертильностью и семенной СОД, а также каталазой. Исследование было проведено в 2013 году и 2014 году во внутреннем отделе центра охраны здравоохранения «Ovum Reproduction and Andrology» в Люблине, Польша, и включало 218 мужчин в возрасте 25–35 (85 фертильных и 133 пациента получавших лечение по поводу бесплодия). Процент фрагментированной ДНК измеряли с помощью модифицированного теста дисперсии хроматина в четырех временных точках после сдачи анализа спермы (Т=0, 3, 6, 12 ч). СОД и каталазу определяли спектрофотометрически. Мы подтвердили, что деятельность СОД в семенной плазме муж-

чин с репродуктивными расстройствами была ниже по сравнению с фертильными мужчинами. Не были выявлены значимые корреляции между фертильностью и активностью каталазы. ДНК сперматозоидов бесплодных мужчин изначально более фрагментирована, чем у фертильных. СОД и каталаза не коррелирует со степенью фрагментации ДНК у фертильных мужчин. У мужчин с репродуктивными нарушениями, уровень фрагментации ДНК был низким в течение первых 3 ч после сдачи анализа спермы, а затем увеличивался между 6 и 12 ч. Из этой группы бесплодных мужчин, чья СОД была выше, отмечен более низкий индекс фрагментации ДНК после 12 ч, и снижение темпов интенсивности фрагментации от 6 до 12 ч. Кроме того, высокая активность каталазы наблюдалась среди мужчин, получавших терапию по поводу бесплодия и сочеталась с более высоким изначальным индексом фрагментации и высокой скоростью фрагментации ДНК от 6 до 12 ч. Эти результаты подчеркивают важность определения правильного периода времени между получением эякулята и процедурами вспомогательных репродуктивных технологий.

Wdowiak, A.  
Bakalczuk, S.  
Bakalczuk, G.

## Decreased activity of superoxide dismutase in the seminal plasma of infertile men correlates with increased sperm deoxyribonucleic acid fragmentation during the first hours after sperm donation.

Sperm DNA fragmentation varies between individuals and is more pronounced with increased patient age and time after sperm donation. The intensification of DNA fragmentation depends on the balance of the oxidoreductive system, which is regulated mainly by two enzymes – superoxide dismutase (SOD) and catalase. The objective of this study was to determine the relationship between sperm DNA fragmentation dynamics, fertility and seminal SOD and catalase activity. The

study was conducted in 2013 and 2014 at the Non-Public Health Care Unit 'Ovum Reproduction and Andrology' in Lublin, Lublin, Poland, and covered 218 men aged 25–35 (85 fertile and 133 patients treated for infertility). Percentage of fragmented DNA was measured in a modified chromatin dispersion test at four time points after sperm donation (t=0, 3, 6, 12 h). SOD and catalase activities were determined spectrophotometrically. We confirmed that the activity of SOD in the seminal plasma of men

with reproductive disorders was lower compared with fertile men. Conversely, no significant correlations were found between fertility and catalase activity. Sperm DNA of infertile males was initially more fragmented than fertile male sperm DNA. SOD and catalase activity did not correlate with the degree of DNA fragmentation in fertile men. In men with reproductive disorders, the rate of DNA fragmentation was slow within first 3 h after sperm donation and then increased between 6 and 12

h. In this group of infertile men, those with higher SOD activity had a lower DNA fragmentation index (DFI) after 12 h, and a reduced rate of intensity of fragmentation from 6 to 12 h. Alternatively, higher catalase activity among men treated for infertility was accompanied by higher initial DFI and higher rate of DNA fragmentation from 6 to 12 h. These results highlight the importance of determining a proper time window between sperm donation and procedures of assisted reproductive technology.



2015  
*Andrology*, 3:  
748–755.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/andr.12061/abstract>

# Согласованность результатов анализа целостности ДНК сперматозоидов и показателей спермограммы

Stahl, Peter J. et al.

**SCSA и TUNEL измеряют различные аспекты целостности ДНК и не являются взаимозаменяемыми исследованиями.**



Fertility and Sterility, Volume 104, Issue 1, 56 - 61.e1

## ЦЕЛЬ

Оценить согласованность стандартных параметров спермы и результатов анализа структуры хроматина сперматозоидов (sperm chromatin structure assay, SCSA) либо результатов анализа методом TUNEL (введение концевой метки дУТФ с использованием терминальной дезоксирибонуклеотидилтрансферазы) и эпифлуоресцентной микроскопии.

## ДИЗАЙН

Проспективное наблюдательное исследование.

## МЕСТО ПРОВЕДЕНИЯ

Специализированная клиника мужского здоровья.

## ПАЦИЕНТ (-Ы)

Всего 212 мужчин, проходивших обследование по поводу бесплодия у одного врача.

## ВМЕШАТЕЛЬСТВО (-А)

Медицинский анамнез, медицинский осмотр, спермограмма, анализ методами SCSA и TUNEL.

## ОСНОВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ИСХОДА

Коэффициенты ранговой корреляции Спирмена (r) между индексом фрагментации ДНК (ифДНК) по методу SCSA, процентной долей TUNEL-положительных сперматозоидов и показателями спермограммы.

## РЕЗУЛЬТАТ (-Ы)

Отмечена положительная корреляция между ифДНК SCSA и TUNEL (r=0,31), но эта корреляция была слабее выявленной ранее. В 86 случаях из 212 (40,6%) оценка нормы / патологии по результатам SCSA и TUNEL не совпадала. Отмечена умеренная отрицательная корреляция ифДНК SCSA с концентрацией и подвижностью сперматозоидов. Результаты TUNEL не были связаны с параметрами эякулята.

## ВЫВОД

ифДНК по методу SCSA и процентная доля TUNEL-положительных сперматозоидов — умеренно коррелирующие друг с другом показатели степени целостности ДНК сперматозоидов, но у большого процента пациентов они дают различные результаты. ифДНК хорошо коррелирует с показателями спермограммы, а TUNEL — нет. Эти данные показывают, что SCSA и TUNEL измеряют различные аспекты целостности ДНК и не взаимозаменяемы.

## Concordance among sperm deoxyribonucleic acid integrity assays and semen parameters



### OBJECTIVE

To assess the concordance of sperm chromatin structure assay (SCSA) results, epifluorescence TUNEL assay results, and standard semen parameters.

### DESIGN

Prospective, observational study.

### SETTING

Tertiary referral andrology clinic.

### PATIENT(S)

A total of 212 men evaluated for subfertility by a single physician.

### INTERVENTION(S)

Clinical history, physical examination, semen analysis, SCSA, and TUNEL assay.

### MAIN OUTCOME MEASURE(S)

Spearman's rank correlation coefficients (r) between SCSA DNA fragmentation index (DFI), percentage TUNEL-positive sperm, and semen analysis parameters.

### RESULT(S)

There was a positive correlation between SCSA DFI and TUNEL (r=0.31), but the strength of this correlation was weaker than has previously been reported. The discordance rate between SCSA and TUNEL in classifying patients as normal or abnormal was 86 of 212 (40.6%). The SCSA DFI was moderately negatively correlated with sperm concentration and motility. The TUNEL results were unrelated to standard semen parameters.

### CONCLUSION(S)

The SCSA DFI and percentage TUNEL-positive sperm are moderately correlated measures of sperm DNA integrity but yield different results in a large percentage of patients. The DFI is well-correlated with semen analysis parameters, whereas TUNEL is not. These data indicate that the SCSA and TUNEL assay measure different aspects of sperm DNA integrity and should not be used interchangeably.

[http://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(15\)00296-4/abstract](http://www.fertstert.org/article/S0015-0282(15)00296-4/abstract)

# Воздействие комплекса инсулиноподобного фактора роста-I (ИФР-I) из семенной плазмы на капацитацию, целостность мембраны и фрагментацию ДНК сперматозоидов козлов

The effects of insulin-like growth factor I (IGF I) complex from seminal plasma on capacitation, membrane integrity and DNA fragmentation in goat spermatozoa



**Objective:** To evaluate the effects of the insulin-like growth factor I (IGF I) complex from seminal plasma on capacitation, membrane integrity and DNA fragmentation. **Methods:** A total of 0.5 mL of fresh semen was added to 1 mL of Bracket-Oliphant (BO) medium, and the sample was then centrifuged at a speed of 1 800 rpm for 10 minutes. The samples were analyzed

before and after centrifugation for sperm viability, motility, membrane integrity and capacitation. The centrifuged samples were divided into three groups, each consisting of  $3 \times 10^6$  spermatozoa. BO medium was added to group 1, BO + 12 ng IGF I complex medium was added to group 2, and 12 ng IGF I complex was added to group 3. Then, the samples were incu-

bated for 15 minutes. **Results:** The result showed that sperm motility, viability and membrane integrity were significantly lower ( $P < 0.05$ ) after centrifugation. Furthermore, the sperm capacitation was significantly increased ( $P < 0.05$ ) after centrifugation. The percentages of sperm capacitation, membrane integrity and DNA fragmentation were significantly different ( $P <$

0.05) in all media, including BO, BO + IGF-I complex and the IGF-I complex alone. **Conclusions:** Sperm quality include motility, viability and membrane integrity were lower after centrifugation, whereas DNA fragmentation after incubation in the IGF-I complex medium also was lower compared to that of specimens in the BO and BO + IGF-I complex media.

Suherni Susilowati  
Indah Norma Triana  
Abdul Malik

Степень фрагментации ДНК после инкубации с добавлением ИФР-I была ниже, как и целостность мембран и подвижность сперматозоидов.

## ЦЕЛЬ

Оценить воздействие комплекса инсулиноподобного фактора роста I (ИФР I) из семенной плазмы на капацитацию, целостность мембраны и фрагментацию ДНК сперматозоидов.

## МЕТОДЫ

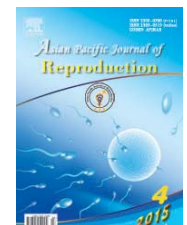
0,5 мл свежей спермы добавляли к 1 мл среды Bracket-Oliphant (BO) и центрифугировали при 1800 об/мин в течение 10 минут. Образцы анализировали до и после центрифугирования на предмет жизнеспособности и подвижности сперматозоидов, целостности их мембраны и капацитации. Центрифугированные образцы разделили на три группы, по  $3 \times 10^6$  сперматозоидов в каждой. К 1-й группе добавляли среду BO, ко второй — среду BO с 12 нг комплекса ИФР I, к третьей — 12 нг комплекса ИФР I. Затем образцы инкубировали в течение 15 минут.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Полученные данные показали, что после центрифугирования подвижность, жизнеспособность и целостность мембраны сперматозоидов были значимо ниже ( $P < 0,05$ ). Кроме того, после центрифугирования значимо повышалось количество сперматозоидов с завершённой капацитацией ( $P < 0,05$ ). Процентные доли сперматозоидов с завершённой капацитацией, показатели целостности мембраны и фрагментации ДНК во всех средах (BO, BO + комплекс ИФР-I и только комплекс ИФР-I) значимо различались ( $P < 0,05$ ).

## ВЫВОДЫ

После центрифугирования качество спермы (подвижность, жизнеспособность и целостность мембраны сперматозоидов) было значимо хуже. Степень фрагментации ДНК после инкубации с добавлением ИФР-I также была ниже, чем после инкубации в среде BO или в среде BO с добавлением ИФР-I.



Asian Pacific Journal of  
Reproduction 2015; 4(3):  
205-209

[http://www.apjr.net/  
Issues/201503/PDF/6.pdf](http://www.apjr.net/Issues/201503/PDF/6.pdf)

**ИНСУЛИНОПОДОБНЫЙ ФАКТОР РОСТА-1 (ИЗВЕСТЕН ТАКЖЕ КАК СОМАТОМЕДИН, ИФР-1, IGF-1)** — биологически активный пептид, образуемый, главным образом в печени и мышцах, важнейший посредник действия гормона роста. Обладает анаболическим действием и запускает гиперплазию мышц. ИФР-1 также обеспечивает обратную связь с гипоталамусом и гипофизом по соматотропной оси: от уровня ИФР-1 в крови зависит секреция соматотропин-рилизинг-гормона и соматотропного гормона. При низком уровне ИФР-1 в крови секреция соматотропин-рилизинг-гормона и соматотропина возрастает, при высоком — снижается. Также ИФР-1 регулирует секрецию соматостатина: высокий уровень ИФР-1 приводит к возрастанию секреции соматостатина, низкий — к её снижению. Уровень ИФР-1 в крови зависит от действия на печень не только соматотропного гормона, но и половых стероидов и тиреоидных гормонов, глюкокортикоидов, инсулина. При этом инсулин, андрогены, эстрогены повышают секрецию ИФР-1 печенью, а глюкокортикоиды её снижают. Это является одной из причин синергизма инсулина, соматотропина, половых и тиреоидных гормонов в отношении процессов роста и развития организма, роста и дифференцировки тканей, и одной из причин характерного тормозящего действия глюкокортикоидов на процессы линейного роста, полового созревания и пр. ИФР-1 воздействует на развитие всю жизнь, но его уровень в крови не постоянный: наиболее низкий уровень ИФР-1 производства в детстве и в старости, а самый высокий — во время подросткового периода жизни.

# Оценка целостности ядер сперматозоидов у пациентов с различной процентной долей декапитированных сперматозоидов в эякуляте

Rondanino, Christine et al.



Reproductive BioMedicine Online, Volume 31, Issue 1, 89 - 99

**Морфологические дефекты и патологии ядра у декапитированных сперматозоидов способствуют неудаче при ИКСИ.**

Декапитация сперматозоидов, — редкая форма тератозооспермии, обуславливающей мужское бесплодие. Пациенты, страдающие этим синдромом, прибегают к инъекции сперматозоида в цитоплазму яйцеклетки (ИКСИ), хотя немного известно о степени целостности ДНК их сперматозоидов. В этом исследовании оценивали изменения ядер сперматозоидов у четырех пациентов и десяти фертильных мужчин (контрольная группа). Образцы сперматозоидов изучали методами световой микроскопии, просвечивающей электронной микроскопии и фазово-контрастной микроскопии с большим увеличением и анализировали путем введения концевой метки ДУТФ с использованием терминальной дезоксирибонуклеотидилтрансферазы, окрашивания анилиновым синим и флуоресцентной гибридизации in situ. Сперматозоиды пациентов отлича-

лись декапитацией в той или иной степени, а также морфологическими и ультраструктурными патологиями головки. У пациентов 1–3 и контрольной группы доля сперматозоидов с фрагментированной ДНК и множественными патологиями хромосомы были сходными, но доля сперматозоидов с неплотно уложенным хроматином у пациентов 1–3 была выше, чем у фертильных мужчин. У пациента 4 был другой фенотип: повышенная доля сперматозоидов со жгутиками и разрывами цепи ДНК, а также повышенная частота анеуплоидии и диплоидии по сравнению с контрольной группой и пациентами 1–3. ИКСИ не привело к наступлению беременности, хотя от трех пациентов были получены эмбрионы. Морфологические дефекты и патологии ядра, отмеченные в сперматозоидах с декапитацией, могли способствовать неудаче ИКСИ.

[http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483\(15\)00155-8/abstract](http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483(15)00155-8/abstract)

## Evaluation of sperm nuclear integrity in patients with different percentages of decapitated sperm in ejaculates



The decapitated sperm defect is a rare type of teratozoospermia responsible for male infertility. Spermatozoa from patients affected by this syndrome are used for intracytoplasmic sperm injection (ICSI) although little is known about their DNA integrity. This study evaluated sperm nuclear alterations in four patients and ten fertile men (control group). Sperm samples were

examined by light, transmission electron and high-magnification contrast microscopy and analysed after terminal deoxynucleotidyltransferase-mediated dUTP nick end labelling, aniline blue staining and fluorescence in-situ hybridization. Spermatozoa from patients presented varying degrees of decapitation, along with morphological and ultrastructural head abnormali-

ties. Whereas the proportion of spermatozoa with fragmented DNA and numerical chromosome abnormalities was similar in patients 1–3 and controls, the percentage of spermatozoa with hypocondensed chromatin was higher in patients 1–3 than in fertile men. Patient 4 presented a distinct phenotype, with an increased proportion of flagellated spermatozoa with DNA strand

breaks as well as increased aneuploidy and diploidy rates compared with controls and with patients 1–3. No successful pregnancy resulted from ICSI although embryos were obtained for three patients. The morphological defects and the nuclear alterations observed in spermatozoa of patients with the decapitated sperm syndrome may have contributed to ICSI failures.

# Изучение анеуплоидии и фрагментации ДНК сперматозоидов трех мужчин с мозаичностью половых хромосом, в том числе 45X

Minh Huong Nguyen, Frederic Morel, Louis Bujan, et al



Human Fertility, June 2015, Vol. 18, No. 2: Pages 96-99

**Выявлено значимое увеличение частоты анеуплоидии у пациентов с мозаицизмом.**

Изучали мейотическое деление гамет мужчин с мозаицизмом и линией клеток 45,X. В этом исследовании мы оценивали риск образования анеуплоидных половых клеток с помощью флуоресцентной гибридизации in situ (FISH) и по степени

фрагментации ДНК в эякулированных сперматозоидах трех мужчин с мозаицизмом половой хромосомы с линией клеток 45,X. Проводилась трех- и двухцветная FISH. Степень фрагментации ДНК сперматозоидов оценивали по методу

TUNEL. У пациентов P1 и P2 отмечено значимое увеличение доли сперматозоидов с гомологичными хромосомами XY. У пациентов P2 и P3, соответственно, показано значимое увеличение частоты диплоидии и аутосомной анеуплоидии. Степень фрагментации ДНК незначимо отличалась от таковой в контрольной группе. Данные научной литературы скудные (описано всего 3 случая), и это затрудняет их сравнение с результатами этого исследования, в особенности в связи с тем, что соотношение линий клеток, отражающих мозаицизм, у пациентов различается. Кроме того, может различаться доля отдельных линий клеток в тканях одного пациента. Остается неизвестным, влияют ли относительные концентрации нескольких линий клеток, представленных при мозаицизме, на процентную долю анеуплоидных сперматозоидов.

**МОЗАИЦИЗМ** — наличие в тканях (растения, животного, человека) генетически различающихся клеток. Понятие мозаицизма связано с понятиями трисомии и анеуплоидии. С хромосомным мозаицизмом связаны некоторые генетические болезни человека, обычно трисомии: так, мозаичную форму могут иметь синдром Дауна (около 2%), синдром Клайнфельтера, синдром Шерешевского — Тёрнера (20-50% больных), синдром Эдвардса (около 10%), Синдром де Ля Шапеля; при этом, как правило, часть клеток характеризуется обычным набором хромосом, а часть клеток — наличием дефектной хромосомы. Мозаицизм гонад является частным случаем органного мозаицизма, возникающего на более поздних стадиях эмбрионального развития в процессе органогенеза. Наличие его у клинически здорового индивида может обусловить рождение детей с полной формой доминантной наследственной болезни (например, гемофилии). Синдром Тернера в 60% случаев обусловлен моносомией X-хромосомы (кариотип 45,X), в 20% случаев — мозаицизмом (например, 45,X/46,XX) и в 20% случаев — аберрацией одной из X-хромосом. Большинство пациентов имеют нормальное строение (в том числе гистологическое) мужских половых органов.

#### A study of aneuploidy and DNA fragmentation in spermatozoa of three men with sex chromosome mosaicism including a 45, X cell line



Meiotic segregation of mosaic males with a 45,X cell line has been little examined. In this study, we evaluated the risk of aneuploid gametes using fluorescence in situ hybridization (FISH) and DNA fragmentation in ejaculated spermatozoa of three men with sex chromosome mosaicism including a

45,X cell line. Triple- and dual-color FISH were performed. Sperm DNA fragmentation was detected using the TUNEL assay. A significantly increased frequency of XY disomic spermatozoa was observed for patients (P1) and P2. A significant increase in diploidy and autosomal aneuploidy was found

in P2 and P3, respectively. The rate of DNA fragmentation was not different from that observed in a control group. Data from the literature are scarce (only 3 cases reported), making comparison of the present data difficult, especially as the frequencies of the cell lines comprising the mosaicism dif-

fered between patients. Furthermore, the proportion of the different cell lines can differ from one tissue to another in the same patient. Whether the relative levels of the several cell lines present in the mosaicism can influence the rate of aneuploid spermatozoa remains unknown.

<http://informahealthcare.com/doi/abs/10.3109/14647273.2014.988663>

988663

## Связно ли аногенитальное расстояние с качеством спермы у мужчин в бесплодном браке?

Mendiola, J., Melgarejo, M., Moñino-García, M., Cutillas-Tolín, A., Noguera-Velasco, J. A. and Torres-Cantero, A. M.

#### Is anogenital distance associated with semen quality in male partners of subfertile couples?



Experimental studies have shown that anogenital distance (AGD) at birth reflects androgen concentrations during prenatal development and predicts adult AGD. In male rodents, shortened AGD is associated with compromised reproductive function. The aim of this study was to examine associations between AGD measures and semen quality in male partners

of subfertile couples. All men were attending an infertility service and provided a semen sample and completed epidemiological questionnaires on lifestyle and general health. Two variants of AGD [from the anus to the posterior base of the scrotum (AGDAS) and to the cephalad insertion of the penis (AGDAP)] were assessed in 91 men. Semen parameters (semen

volume, sperm concentration, total sperm counts, motility, and morphology) were determined following WHO guidelines. Associations between AGD measures and semen quality were tested using multiple regression analyses controlling for appropriate covariates. Significant positive associations between AGDAS measures and sperm concentration, total sperm

count, and total sperm motile count were detected (p-values < 0.05). This study represents the first analysis of AGD in potential infertile European men showing an association between perineal length and semen parameters. However, it is still uncertain the utility to clinical practice, therefore further studies are warranted to confirm and extend these findings.

### Выявлена связь между длиной промежности и качеством эякулята

Экспериментальные исследования показали, аногенитальное расстояние (АГР) при рождении отражает концентрации андрогенов во время пренатального развития и позволяет предсказать АГР во взрослом возрасте. У самцов грызунов

короткое АГР связано с нарушением репродуктивной функции. Целью настоящего исследования было изучить связь между АГР и качеством спермы у мужчин в бесплодном браке. Все мужчины обратились в центр лечения бесплодия,



2015  
Andrology, 3:  
672–676

предоставили образец спермы и заполнили эпидемиологические опросники по образу жизни и общему состоянию здоровья. У 91 мужчины измерили два АГР: от ануса до заднего основания мошонки (АГРАМ) и от ануса до основания полового члена со стороны головки (АГРАП). Параметры спермы (объем эякулята, концентрацию сперматозоидов, общее количество сперматозоидов, подвижность и морфологию) определяли по рекомендациям ВОЗ. По методу множественной регрессии с контролем некоторых ковариат проверили связь между АГР и качеством спермы. Была вы-

явлена значимая положительная связь между АГРАМ и концентрацией сперматозоидов, общим количеством сперматозоидов и общим количеством подвижных сперматозоидов (значения  $P < 0,05$ ). Это исследование представляет собой первый анализ АГР у мужчин европеоидной расы с предполагаемым бесплодием, результаты которого позволяют предположить связь между длиной промежности и параметрами спермы. Однако еще неизвестна полезность этих данных для клинической практики, поэтому требуются дополнительные исследования для их подтверждения и дополнения.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/andr.12059/abstract>

## Приобретенное неопущение яичек и потенциал фертильности: лучше ли орхипексия при установлении диагноза чем ожидание спонтанного опущения?

van der Plas, E. M., van Brakel, J., Meij-de Vries, A., de Muinck Keizer-Schrama, S. M. P. F., Hazebroek, F. W. J., Hack, W. W. M. and Dohle, G. R.

**НЕОПУЩЕНИЕ ЯИЧКА** (НЯ) является одной из наиболее распространенных аномалий при рождении у детей и связана с нарушением сперматогенеза и повышенным риском рака яичек в последующем. НЯ может проявляться при рождении как врожденный крипторхизм или позже в детстве, как приобретенное НЯ. Приобретенная форма НЯ представляет собой яичко, ранее определяемое в мошонке, которое не может быть больше пропальпировано в мошонке в стабильном положении. Она включает в себя высокие мошоночные, паховые и непальпируемые формы. На приобретенную форму НЯ приходится значительная часть орхипексий у мальчиков в возрасте до 2 лет и старше. Пока ее этиология остается неясной, предполагается гормональная природа патологии. Часто у мальчиков предполагают ошибочное обнаружение яичек при первичном осмотре и, игнорируя приобретенную форму неопущения, ставится диагноз врожденного крипторхизма, реже ретрактивного яичка.

Возраст при выполнении орхипексии не оказывает влияние на параметры рождаемости, выжидательная тактика является оправданной для одностороннего приобретенного неопущения яичка.

Целью данного исследования являлась оценка функции яичек у мужчин с анамнезом приобретенного неопустившегося яичка (ПНЯ), которым орхипексия проводилась при постановке диагноза по сравнению с аналогичной группой мужчин, у которых спонтанное опущение ожидало до наступления половой зрелости. Во-вторых, мы исследовали влияние возраста проведения орхипексии ребенку на параметры фертильности во взрослой жизни. Всего 169 мужчин находились

в группе «орхипексия после диагностики» и 207 мужчин были включены в протокол «ожидание и наблюдение». Все участники прошли андрологическое обследование, в том числе медицинский анамнез, физикальное обследование, УЗИ мошонки, определение уровня половых гормонов и анализа спермы. Результаты сравнивали между мужчинами, у которых орхипексия была выполнена при постановке диагноза, и мужчинами, у которых ожидали спонтанное опущение до пубертата с последующей орхипексией в случае неопущения. В группы были включены мужчины с ПНЯ: 63 мужчины 14 из которых с двусторонним ПНЯ в группу « орхипексия после диагностики» и в «ожидание и наблюдение» 65 мужчин, 15 из которых имели двустороннее неопущение. При одностороннем ПНЯ Ингибин В оказался значительно ниже, а средняя прогрессивная подвижность выше у мужчин с орхипексией при диагностике. При двустороннем ПНЯ, концентрация и прогрессивная подвижность сперматозоидов показали тенденцию к благоприятным исходам у пациентов с орхипексией при диагностике. Орхипексия в возрасте около 10 лет не оказала существенного влияния на фертильность. Итоги физикального осмотра, УЗИ мошонки, эндокринной функции и анализа спермы указывают на угрозу фертильности у мужчин с анамнезом приобретенного НЯ. Ни одна группа из протокола не оказалось лучше. Для двустороннего ПНЯ наблюдалась тенденция к благоприятному исходу орхипексии при диагно-



2015  
Andrology, 3:  
677-684



стике. Кроме того, возраст при выполнении орхипексии не оказывает влияние на параметры рождаемости. Поэтому, на наш взгляд «консервативная полити-

ка» является оправданной для одностороннего ПНЯ, особенно потому, что более 50% приобретенных НЯ спонтанно опускаются.

<http://www.asiaandro.com/Abstract.asp?doi=10.4103/1008-682X.153853>

### Acquired undescended testes and fertility potential: is orchiopexy at diagnosis better than awaiting spontaneous descent?



The aim of this study was to evaluate testicular function in men with previous acquired undescended testis (UDT) in whom orchiopexy was performed at diagnosis compared with a similar group of men in whom spontaneous descent was awaited until puberty. Secondly, we examined the influence of age at orchiopexy on fertility parameters in adult life. A total of 169 men of the 'orchiopexy at diagnosis' group and 207 men of the 'wait and see' protocol group were invited for participation.

All participants underwent an andrological evaluation, including medical history, physical examination, scrotal ultrasound, determination of reproductive hormones, and semen analysis. Results were compared for men in whom orchiopexy was performed at diagnoses with men in whom spontaneous descent was awaited until puberty followed by orchiopexy in case of non-descent. In the 'orchiopexy at diagnosis' group, 63 men of whom 14 with bilateral UDT, and in the 'wait and see' protocol

group, 65 men of whom 15 with bilateral UDT were included. For unilateral UDT Inhibin B was found to be significantly lower and median progressive motility was higher in men with orchiopexy at diagnosis. For bilateral UDT, semen concentration and progressive motility showed a trend toward a favorable outcome for orchiopexy at diagnosis. Age at orchiopexy being under or above 10 years of age had no significant influence on the fertility potential. The outcome of physical examination, scrotal

ultrasound, endocrine function, and semen analysis indicates a compromised fertility potential in men with previous acquired UDT. None of the protocols proved to be superior. For bilateral UDT, a trend toward favorable outcome of orchiopexy at diagnosis was seen. Furthermore, age at orchiopexy did not have an influence on fertility parameters. Therefore, in our opinion a 'conservative policy' is warranted for unilateral UDT, especially because over 50% of acquired UDT descend spontaneously.

## Высокий уровень глюкозы в крови сам по себе не оказывает неблагоприятного воздействия на функцию сперматозоидов человека *in vitro*

Отсутствие метаболизируемой глюкозы способствует тяжелым нарушениям функции сперматозоидов

### High glucose concentrations per se do not adversely affect human sperm function *in vitro*.



Diabetes mellitus (DM) represents one of the greatest concerns to global health and it is associated with diverse clinical complications, including reproductive dysfunction. Given the multifactorial nature of DM, the mechanisms that underlie reproductive dysfunction remain unclear. Considering that hyperglycemia has been described as a major effector of the disease pathophysiology, we used an *in vitro* approach to address the isolated

effect of high glucose conditions on human sperm function, thus avoiding other *in vivo* confounding players. We performed a complete and integrated analysis by measuring a variety of important indicators of spermatozoa functionality (such as motility, viability, capacitation status, acrosomal integrity, mitochondrial superoxide production and membrane potential) in human sperm samples after incubation with D- and L-glucose (5, 25, or 50 mM)

for 24 and 48 h. No direct effects promoted by 25 or 50 mM D-glucose were found for any of the parameters assessed ( $P > 0.05$ ), except for the acrosome reaction, which was potentiated after 48 h of exposure to 50 mM D-glucose ( $P < 0.05$ ). Interestingly, non-metabolizable L-glucose drastically increased superoxide production ( $P < 0.05$ ) and suppressed sperm motility ( $P < 0.05$ ) and capacitation ( $P < 0.05$ ) after 24 h of treatment, whereas mitochondrial

membrane potential ( $P < 0.05$ ), acrosomal integrity ( $P < 0.01$ ) and viability ( $P < 0.05$ ) were later decreased. The overall results suggest that high glucose levels per se do not influence human sperm function *in vitro*, which stresses the importance of other factors involved in DM pathology. Nevertheless, the absence of metabolizable glucose contributes to a severe impairment of sperm function and thus compromises male fertility.

Сахарный диабет (СД) представляет собой одну из сильнейших угроз здоровью населения Земли и связан с разнообразными клиническими осложнениями, в том числе с нарушением репродуктивной функции. В связи с многофакторной природой СД механизмы ее нарушения остаются неясными. Поскольку основным фактором развития патофизиологических процессов при этом заболевании считается гипергликемия, мы изучили воздействие повышенного уровня глюкозы на функцию сперматозоидов человека *in vitro*, исключив таким образом искажающие факторы, неотъемлемые *in vivo*. Мы провели полный интегрированный анализ, измерив ряд важных функциональных показателей сперматозоидов (таких как подвижность, жизнеспособность, капацитация, целостность акросомы, образование супероксидов и мембранный потенциал в митохондриях) в образцах спермы человека после инкубации с D- и L-глюкозой (5, 25 или 50 mM) в течение 24 и 48 часов.

Не обнаружено прямого влияния D-глюкозы в концентрации 25 или 50 mM ни на один из оцениваемых параметров ( $P > 0,05$ ), за исключением акросомной реакции, которая усиливалась через 48 часов экспозиции с 50 mM D-глюкозы ( $P < 0,05$ ). Интересно, что неметаболизируемая L-глюкоза за 24 ч резко увеличивала синтез супероксидов ( $P < 0,05$ ), угнетала подвижность сперматозоидов ( $P < 0,05$ ) и капацитацию ( $P < 0,05$ ), а еще через некоторое время снижала мембранный потенциал митохондрий ( $P < 0,05$ ), целостность акросомы ( $P < 0,01$ ) и жизнеспособность клеток ( $P < 0,05$ ). Общие результаты позволяют предположить, что высокий уровень глюкозы сам по себе не влияет на функцию сперматозоидов человека *in vitro*, что подчеркивает важность других патологических факторов СД. Напротив, отсутствие метаболизируемой глюкозы способствует тяжелым нарушениям функции сперматозоидов и таким образом снижает мужскую фертильность.

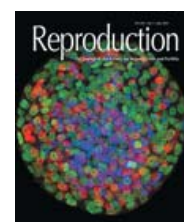
J M D Portela

R S Tavares

P C Mota

J Ramalho-Santos

S Amaral



Reproduction 150 (1)

77-84

<http://www.reproduction-online.org/content/150/1/77.abstract>

# Эпидидимит: восходящая инфекция, ограничиваемая сегментарной структурой

Stammler A, Hau T, Bhushan S, Meinhardt A, Jonigk D, Lippmann T, Pilatz A, Schneider-Hüther I, Middendorff R. *Human Reproduction* 2015 Jul; 30 (7): 1557-65

**Epididymitis: ascending infection restricted by segmental boundaries.**



**STUDY QUESTION** Is the regionalization of epididymitis related to epididymal segmentation?

**SUMMARY ANSWER** We show for the first time that luminal ascent of bacteria is strictly gated by epididymal segment boundaries, involving ductal constriction adjacent to the infected area.

**WHAT IS KNOWN ALREADY** The epididymal duct is a continuous, unbranched tube, coiled into segments that are divided by connective tissue septa. Sonographic analysis indicates that swelling associated with epididymitis is predominant in the cauda region. Epididymal segmentation has never been investigated in the context of pathological alterations.

**STUDY DESIGN, SIZE, AND DURATION** We analyzed segment-specific changes in the epididymal duct in a mouse model and in men. In the mouse epididymitis model (3 days post-infection, injection of bacteria into the lumen of the vas deferens), two *Escherichia coli* strains were tested: a uropathogenic strain CFT073 (UPEC, n=7) and a fecal non-pathogenic strain NPEC470 (NPEC, n=5). Two control groups: phosphate-buffered saline, sham-treated animals (n=4) and untreated mice (n=8). In addition, segmentation was verified by *ex vivo* injection of dye into the interstitial spaces of untreated mouse epididymides. Histological findings were compared with specimens from epididymitis patients (n=10, age range 14–78, median 60 years) who underwent surgical intervention; control: samples from patients without epididymitis (n=16, age range 38–87, median 73 years).

**PARTICIPANTS/MATERIALS, SETTING, AND METHODS** We investigated the ascending infections by detailed histological analysis in correlation with local infection status in a mouse epididymitis model. As a proof of concept, rare patient material from two archives was analyzed: epididymides from patients who underwent surgical intervention for persisting epididymitis, and for control, histologically normal epididymides from men who underwent orchiectomy for therapy of prostatic carcinoma.

**MAIN RESULTS AND THE ROLE OF CHANCE** Luminal ascent of *E. coli* in mice was strictly gated by epididymal segment boundaries. In the mouse model, both strains of *E. coli* were detected exclusively in the distal cauda segment associated with damage of the epithelium and muscle layer. Ductal constriction occurred in the non-infected upstream segments of infected area, putatively blocking further luminal ascent of bacteria in UPEC-infected animals. Corresponding histological and morphological changes were found in epididymitis patients. The caput region was found to be unaffected in patients and the mouse model.

**LIMITATIONS, REASONS FOR CAUTION** Patient samples represented advanced cases of epididymitis that made surgical intervention necessary.

**WIDER IMPLICATIONS OF THE FINDINGS** Our data demonstrate the impact of epididymal segmentation, presumably a protective response mechanism against infectious invasion and bacterial ascent, during epididymitis and affirm the importance of rapid intervention.

**STUDY FUNDING/COMPETING INTEREST(S)** This work was supported by grants from the State of Hessen (LOEWE-MIBIE) and the DFG (KFO 181). The authors have no conflicts of interest to declare.

## ИССЛЕДОВАНИЕ

Обусловлено ли ограниченное распространение эпидидимита сегментацией придатка яичка?

## ОСНОВНОЙ РЕЗУЛЬТАТ

Мы первыми показали, что восхождение бактерий по протоку придатка яичка строго ограничено сегментами последнего, в том числе путем сокращения протока вблизи инфицированной области.

## ЧТО УЖЕ ИЗВЕСТНО

Проток придатка яичка — непрерывная неразветвленная трубка, уложенная кольцами в сегменты, которые разделены соединительнотканными перегородками. Ультразвуковое исследование показывает, что отек при эпидидимите локализован преимущественно в хвосте. Сегментированное строение придатка яичка никогда не изучалось в контексте патологических процессов.

## ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

Мы проанализировали посегментные изменения протока придатка яичка на мышах и у человека. В модели эпидидимита у мышей (через 3 дня после инфицирования путем инъекции бактерий в просвет семявыносящего протока) изучали два штамма *Escherichia coli*: уropathогенный штамм CFT073 (UPEC, n=7) и фекальный непатогенный штамм NPEC470 (NPEC, n=5). Две контрольные группы: животные, получавшие для имитации лечения фосфатный буферный физиологический раствор, (n=4) и мыши, не получавшие лечения, (n=8). Кроме того, в межклеточное пространство придатков яичка мышей, не получавших лечения, *ex vivo* вводили краситель для проверки сегментации. Результаты гистологического анализа были сравнены с таковыми образцов мужчин, больных эпидидимитом, (n=10, возраст — 14–78 лет, медиана — 60 лет), получивших хирургическое лечение. Контроль: образцы мужчин со здоровыми придатками яичек (n=16, возраст — 38–87 лет, медиана — 73 лет).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Мы изучали восходящую инфекцию путем подробного гистологического анализа с учетом местного инфекционного статуса

в модели эпидидимита у мышей. Для доказательств концепции мы проанализировали редкие материалы пациентов из двух архивов: придатки яичек пациентов, перенесших хирургическое вмешательство по поводу хронического эпидидимита, и служившие контролем нормальные с гистологической точки зрения придатки яичек мужчин, перенесших орхидэктомия по поводу рака предстательной железы.

## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Восхождение *E. coli* по просвету протока у мышей строго ограничено сегментами придатка яичка. У модельных животных оба штамма *E. coli* выявлялись только в дистальном хвостовом сегменте одновременно с повреждением эпителиального и мышечного слоев. В неинфицированных проксимальных сегментах вблизи инфицированной области проток был сужен, что, предположительно, предотвращает дальнейшее восхождение бактерий по его просвету у животных, инфицированных уropathогенным штаммом. У мужчин с эпидидимитом показаны сходные гистологические и морфологические изменения. Область головки не была поражена ни у мужчин, ни у мышей.

## ОГРАНИЧЕНИЯ

Использовались образцы пациентов с запущенными случаями эпидидимита, потребовавшими хирургического вмешательства.

## ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

Исследование позволяет предположить, что сегментация придатка яичка играет роль защитного механизма против распространения инфекции и продвижения бактерий во время эпидидимита. Полученные данные подтверждают важность быстрого вмешательства.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ.

Данная работа спонсирована грантами земли Гессен (LOEWE-MIBIE) и Немецкого научно-исследовательского общества (KFO 181). Авторы сообщают об отсутствии конфликтов интересов.

<http://humrep.oxfordjournals.org/content/30/7/1557.abstract>

# Бесплодие как показатель здоровья мужчины в целом: результаты исследования методом «поперечного среза»

## Infertility as a proxy of general male health: results of a cross-sectional survey



**OBJECTIVE.** To evaluate the prevalence, and clinical and seminal impact of comorbidities in white European men presenting for couple infertility.

**DESIGN.** Cross-sectional study.

**SETTING.** Academic reproductive medicine outpatient clinic.

**PATIENTS.** Cohort of 2,100 consecutive infertile men (noninter-racial infertile couples).

**INTERVENTIONS.** Obtaining complete demographic, clinical, and laboratory data from 2,100 consec-

utive infertile men with health-significant comorbidities scored via the Charlson comorbidity index (CCI; categorized 0 vs. 1 vs.  $\geq 2$ ) and semen analysis values assessed based on 2010 World Health Organization reference criteria.

**MAIN OUTCOME MEASURES.** Assessment of the rate of comorbidities by means of CCI scores and possible associations between CCI, semen and hormonal parameters.

**RESULTS.** Descriptive statistics and regression models tested the associations among semen pa-

rameters, clinical characteristics, and CCI. When assessing general comorbidity prevalence, CCI 0, CCI 1, and CCI  $\geq 2$  was found in 1,921 (91.5%), 102 (4.9%), and 77 (3.6%) patients, respectively. Patient age and follicle-stimulating hormone levels increased as the general health status decreased. Conversely, the total testosterone levels and sperm concentration decreased as CCI scores increased. A higher rate of oligozoospermia and nonobstructive azoospermia was observed in patients with CCI  $\geq 1$ . No differences were observed among the considered comorbidity groups in terms of

testicular volume or further hormonal or seminal parameters. Both continuously coded and categorized sperm concentrations were independent predictors of CCI  $\geq 1$ . Patients with sperm concentration  $< 45.6$  million/mL (most informative cutoff value) had a 2.74-fold increased risk of having a CCI  $\geq 1$ .

**CONCLUSIONS.** Decreased general health status appears to be associated with impaired male reproductive health, including lower sperm concentration, lower total testosterone levels, and higher follicle-stimulating hormone values.

Ventimiglia, Eugenio et al.

## Ухудшенное общее состояние здоровья связано с нарушением репродуктивного здоровья мужчины

### ЦЕЛЬ

Оценить распространенность и влияние на общее здоровье и качество спермы сопутствующих заболеваний у мужчин европеоидной расы, обратившихся к врачу по поводу бесплодного брака.

### ДИЗАЙН

Исследование методом «поперечного среза».

### МЕСТО ПРОВЕДЕНИЯ

Университетская амбулаторная клиника репродуктивной медицины.

### ПАЦИЕНТЫ

Когорта 2100 бесплодных мужчин, обратившихся в клинику (пары одной расы).

### ВМЕШАТЕЛЬСТВО

Получение полных демографических, клинических и лабораторных данных от 2100 обратившихся в клинику бесплодных мужчин со значимыми для общего здоровья сопутствующими заболеваниями, оцененными по индексу коморбидности Чарлсона (CCI; категории 0, 1 или  $\geq 2$ ), и результатами спермограммы по критериям Всемирной организации здравоохранения 2010 г.

### ОСНОВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ИСХОДА

Оценка распространенности сопутствующих заболеваний по баллам CCI и возмож-

ной взаимосвязи CCI, показателей спермограммы и уровней гормонов в крови.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

С помощью описательной статистики и регрессионных моделей изучили взаимосвязи между показателями спермограммы, клиническими характеристиками и CCI. По результатам оценки общей распространенности сопутствующих заболеваний к категориям CCI 0, CCI 1 и CCI  $\geq 2$  были отнесены 1,921 (91,5%), 102 (4,9%) и 77 (3,6%) пациентов, соответственно. По мере ухудшения общего состояния здоровья увеличивались возраст пациентов и уровень фолликулостимулирующего гормона. Напротив, уровень общего тестостерона и концентрация сперматозоидов по мере роста балла CCI падали. У пациентов с CCI  $\geq 1$  чаще встречалась олигозооспермия и необструктивная азооспермия.

Между группами по коморбидности не отмечено различий по объему яичек или параметрам гормонального фона или спермы. Концентрация сперматозоидов (как с распределением по группам, так и без него) была независимым предиктором CCI  $\geq 1$ . У пациентов с концентрацией сперматозоидов  $< 45,6$  млн/мл (наиболее информативное пороговое значение) в 2,74 раза был повышен риск CCI  $\geq 1$ .



Fertility and Sterility, Volume 104, Issue 1, 48 – 55

[http://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(15\)00293-9/abstract](http://www.fertstert.org/article/S0015-0282(15)00293-9/abstract)

# Параметры спермограммы и уровень воспалительных цитокинов в сперме у мужчин, инфицированных *Helicobacter pylori*

Moretti, Elena et al.

**Инфекция HP CagA+ повышает уровень воспалительных цитокинов в сперме, что способствует ухудшению репродуктивного потенциала мужчин.**

**HELICOBACTER PYLORI** экспрессирует высокомолекулярный белок CagA, функция которого неизвестна. Ген *cagA*, кодирующий белок CagA, является одним из 20 генов так называемого островка вирулентности *cag*, который имеется у 60% штаммов, выделенных в США. Экспрессирующие CagA штаммы чаще обнаруживаются у страдающих язвенной болезнью и раком желудка.

## ЦЕЛЬ

Изучить взаимосвязь между уровнем интерлейкина-6 (ИЛ-6) и фактора некроза опухоли-α (ФНО-α) в сперме и параметрами спермограммы, апоптозом и некрозом сперматозоидов у пациентов, инфицированных *Helicobacter pylori* (HP) с и без экспрессии CagA.

## МЕТОДЫ

У 109 отобранных пациентов было обнаружено инфицирование HP. У них определяли уровни ИЛ-6 и ФНО-α в сперме методом твердофазного иммуноферментного анализа. Для выявления антител к CagA использовали вестерн-блоттинг. Качество спермы оценивали по рекомендациям Всемирной организации здравоохранения, апоптоз и некроз сперматозоидов оценивали с помощью аннексина V и пропидия йодида.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Двадцать восемь участников были инфицированы HP (HP+), из них у 12 в сыворотке выявлены CagA (CagA+), а у 16 — нет (CagA-). У 81 мужчины анализ сыворотки на HP был отрицательным (HP-). Концентрации ФНО-α и ИЛ-6 в сперме в группе HP+ были выше, чем в группе HP- (ФНО-α: 41 пг/мл против 27 пг/мл; ИЛ-6: 11 пг/мл против 5 пг/мл; P<0,01). По сравнению с группой HP-, в группе CagA+ была снижена подвижность сперматозоидов (24% против 32% подвижных сперматозоидов; P<0,05), усилен некроз (33,5% против 21% мертвых сперматозоидов; P<0,05) и повышены уровни цитокинов (ФНО-α: 46 пг/мл против 27 пг/мл; P<0,01; ИЛ-6: 17,5 пг/мл против 5 пг/мл; P<0,01). Подвижность сперматозоидов в группе CagA+ была ниже, чем в группе CagA- (24% против 36,5% подвижных сперматозоидов; P<0,05). Уровни ИЛ-6 и ФНО-α положительно коррелируют с процентной долей мертвых сперматозоидов (P<0,001).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Инфицирование HP CagA+ повышает уровень воспалительных цитокинов в сперме, что может снижать подвижность сперматозоидов, способствовать их повреждению и уменьшению репродуктивного потенциала мужчин.



*Urology*,  
Volume 86, Issue 1,  
41 – 47

## Sperm Parameters and Semen Levels of Inflammatory Cytokines in *Helicobacter pylori*-infected Men



To explore the relationships between seminal interleukin 6 (IL-6) and tumor necrosis factor α (TNF-α) with semen parameters, sperm apoptosis, and necrosis in subjects infected by *Helicobacter pylori* (HP) expressing and not expressing CagA.

### Methods

In 109 selected patients, HP infection and seminal levels of IL-6 and TNF-α were determined using enzyme-linked immunosorbent assays. Western blot-

ting was used to detect antibodies to CagA. Semen parameters were determined following World Health Organization guidelines and sperm apoptosis and necrosis by annexin V and propidium iodide assay.

### Results

Twenty-eight subjects were infected by HP (HP+); among them, 12 were CagA seropositive (CagA+) and 16 were negative (CagA-). Eighty-one men were HP seronegative (HP-).

Semen TNF-α and IL-6 concentrations were increased in HP+ vs HP- groups (TNF-α: 41 pg/mL vs 27 pg/mL; IL-6: 11 pg/mL vs 5 pg/mL; P<0.01). In comparison to the HP- group, CagA+ group showed reduced sperm motility (24% vs 32% motile sperm; P<0.05), enhanced necrosis (33.5% vs 21% necrotic sperm; P<0.05), and increased cytokines levels (TNF-α: 46 pg/mL vs 27 pg/mL; P<0.01; IL-6: 17.5 pg/mL vs 5 pg/mL; P<0.01). Sperm motility of CagA+ group was lower vs CagA- group (24% vs

36.5% motile sperm; P<0.05). Both IL-6 and TNF-α levels positively correlated with the percentage of necrotic sperm (P<0.001).

### Conclusion

CagA+ HP infection increases semen levels of inflammatory cytokines, which may reduce sperm motility and determine sperm damage and contribute to reduce the reproductive potential in men.

[http://www.goldjournal.net/article/S0090-4295\(15\)00367-2/abstract](http://www.goldjournal.net/article/S0090-4295(15)00367-2/abstract) Objective

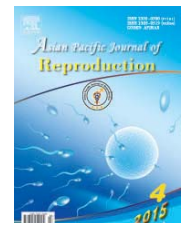
## Обзор сообщений об объеме эякулята и старении мужчин за последние 33 года: с 1980 по 2013 гг.

Department of Physiology, Vidyasagar College for Women University of Calcutta, Kolkata, West Bengal, India

### Reviewing reports of semen volume and male aging of last 33 years: From 1980 through 2013



Since several decades numerous experimental and epidemiological experiments tend to establish that in humans the semen volume declines with progression of age. This literature review is intended to report the association between male age and semen volume. Review of English language-published research over the last 33 years, from January 1, 1980, up to December 31, 2013, has been conveniently constructed using MEDLINE database. Studies with inadequate numbers of subjects and case reports were excluded. Among the methodologically stronger studies, declines in semen volume of 3% - 22% were likely when comparing 30-year-old men to 50-year-old men. The report suggests that increased male age is associated with a decline in semen volume, i.e. there has been a genuine diminution in semen volume over the past 33 years. As male fertility is to some extent correlated with semen volume the results may reflect an overall reduction in male fertility.



Asian Pacific Journal of Reproduction 2015; 4(3): 244-248

### Обзор связи между возрастом мужчины и объемом эякулята объясняет общую тенденцию к увеличению мужского фактора бесплодия.

За последние несколько десятилетий различные экспериментальные и эпидемиологические исследования установили, что у людей объем эякулята с возрастом снижается. Цель настоящего обзора литературы — описать связь между возрастом мужчины и объемом эякулята. Обзор англоязычных публикаций об исследованиях за последние 33 года, с 1 января 1980 г. по 31 декабря 2013 г., проводился в базе данных MEDLINE. Исключались исследования с недостаточным количеством участников и клинических случаев.

В методологически более сильных исследованиях показана вероятность снижения объема эякулята на 3—22% при сравнении 30- и 50-летних мужчин. Результаты обзора позволяют говорить, что увеличение возраста мужчины связано со снижением объема эякулята, то есть за последние 33 года объем спермы действительно уменьшился. Поскольку мужская фертильность в определенной степени связана с объемом эякулята, это может объяснять общее снижение мужской фертильности.

<http://www.apjr.net/Issues/201503/PDF/13.pdf>

## Влияние тестостерона на воспалительный ответ в клетках яичек и экспрессию фактора транскрипции Foxp3 в Т-лимфоцитах.

Fijak M, Damm L-J, Wenzel J-P, Aslani F, Walecki M, Wahle E, Eisel F, Bhushan S, Hackstein H, Baal N, Schuler G, Konrad L, Rafiq A, O'Hara L, Smith LB, Meinhardt A. Am J

### Андрогены могут изменять работу иммунной системы путем образования Т-лимфоцитов и прямого воздействия на клетки Сертоли.

#### РЕГУЛЯТОРНЫЕ Т-ЛИМФОЦИТЫ, Т-РЕГУЛЯТОРНЫЕ КЛЕТКИ, Т-СУПРЕССОРЫ (АНГЛ. REGULATORY T CELLS, SUPPRESSOR T CELLS, TREG) — центральные регуляторы иммунного ответа. Основная их функция — контролировать силу и продолжительность иммунного ответа через регуляцию функции Т-эффекторных клеток (Т-хелперов и Т-цитотоксических клеток). Эти Т-лимфоциты экспрессируют FOXP3 — транскрипционный фактор, регулирующий транскрипцию генов, ответственных за дифференцировку Т-клеток и экспрессию цитокинов и других факторов, участвующих в супрессии иммунного ответа. Часто эти клетки так и обозначают, как FOXP3+ регуляторные Т-клетки (FOXP3+ Treg cells). Кроме того, важным маркером Т-регуляторных клеток является экспрессия на их поверхности рецептора к цитокину IL-2 — CD25, соответственно это обозначают как CD25+ клетки. Помимо этих основных маркёров Treg клетки на своей мембране экспрессируют CD62L, различные изоформы мембрано-связанной фосфатазы CD45.



American Journal of Reproductive Immunology  
Volume 74, Issue 1,  
pages 12–25,  
July 2015

**ПРОБЛЕМА**

Предыдущие исследования показали прямую связь между низким уровнем андрогенов и пониженной способностью к воспалительному ответу. Однако механизмы, лежащие в основе этих наблюдений, изучены плохо.

**МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Образование CD4+, CD25+, Foxp3+ регуляторных Т-лимфоцитов в среде, кондиционированной клетками Лейдига, определяли путем проточной цитометрии и твердофазного иммуноферментного анализа (ТИФА). Воздействие тестостерона на выделение цитокинов измеряли в стимулированных липополисахаридом

макрофагах яичка, клетках Сертоли и перитубулярных клетках.

**РЕЗУЛЬТАТЫ**

Среда, кондиционированная клетками Лейдига, в дозозависимой степени стимулировала экспрессию фактора транскрипции Foxp3 и секрецию ИЛ-10 в CD4+ Т-лимфоцитах селезенки, но при добавлении антиандрогенного флутамида этот эффект исчезал. В изолированных клетках Сертоли и перитубулярных клетках предварительная обработка тестостероном подавляла индуцированный липополисахаридом воспалительный ответ на экспрессию мРНК ФНО-α, а в тестикулярных макрофагах такой эффект отсутствовал.

**Выводы**

Андрогены могут изменять работу иммунной системы в нормальных условиях путем образования и функциональной дифференциации регуляторных Т-лимфоцитов, а при воспалении в яичках — путем прямого воздействия на клетки Сертоли и перитубулярные клетки.

**Influence of testosterone on inflammatory response in testicular cells and expression of transcription factor Foxp3 in T cells.**



**PROBLEM**

Previous studies demonstrated a strong association between low androgen levels and reduced capacity to mount an inflammatory response. However, the mechanisms underlying these observations are largely not understood.

**METHODS OF STUDY**

Generation of CD4+CD25+

Foxp3+ regulatory T cells in Leydig cell-conditioned media was determined by flow cytometry and ELISA. Influence of testosterone on cytokine response was measured in LPS-stimulated testicular macrophages, Sertoli and peritubular cells.

**RESULTS**

Leydig cell-conditioned media dose-dependently stimu-

lated expression of transcription factor Foxp3 and secretion of IL-10 in splenic CD4+ T cells, an effect abolished by addition of the anti-androgen flutamide. In isolated Sertoli and peritubular cells, testosterone pre-treatment suppressed the LPS-induced inflammatory response on TNF-α mRNA expression, while no effect

was evident in testicular macrophages (TM).

**CONCLUSIONS**

Androgens can influence the immune system under normal conditions by the generation and functional differentiation of regulatory T cells and in testicular inflammation by direct effect on Sertoli and peritubular cells.

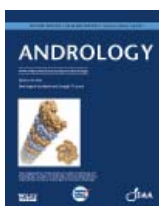
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/aji.12363/abstract>

## Связь между этиологическими факторами бесплодия в паре и неудачным оплодотворением при традиционном цикле экстракорпорального оплодотворения

Zhu, J., Jiang, H., He, R.-B., Yin, H.-Q., Wang, C.-L., Li, Y. and Du, X. (2015), <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/andr.12048/abstract>

**Первичное бесплодие и олигоастенозооспермия являются факторами риска для неудачного оплодотворения**

Спасительное ИКСИ используется спустя 24 часа при неудачном оплодотворении при традиционном ЭКО.



Andrology, 3: 717–722

Целью данного исследования было изучение взаимосвязи между этиологией бесплодия в паре и риском неудачного оплодотворения (НО) в циклах при экстракорпоральном оплодотворении (ЭКО) и влиянию интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ) на потомство. Всего 2542 циклов ЭКО

были разделены на четыре группы в соответствии с этиологией бесплодия: Группа А — первичное бесплодие с нормальными параметрами спермограммы; Группа В — вторичное бесплодие с олигоастенозооспермией; Группа С — первичное бесплодие с олигоастенозооспермией; и Группа D — вторичное бесплодие с нормальными параметрами спермограммы. Результаты показали, что существуют значительные различия в этиологии среди случаев НО:

группа А (16,8%), группа В (20,9%), группа С (48,7%), и группы D (0,9%) ( $p < 0,001$ ). Логистические регрессионные модели показали, что первичное бесплодие (ОШ: 10,898, 95% ДИ: 4.651-25.583,  $p < 0,001$ ) и олигоастенозооспермия (ИЛИ: 12,215, 95% ДИ: 5.903-25.276,  $p < 0,001$ ) были независимыми факторами риска для НО. Не было выявлено никаких

существенных различий в основных результатах между обычным ИКСИ и спасительной ИКСИ. В заключение можно сказать, что пациенты с первичным бесплодием и олигоастенозооспермией могут иметь более высокий риск НО. Техника спасительных ИКСИ является безопасной и полезной для ЭКО циклов при НО.

### Association between etiologic factors in infertile couples and fertilization failure in conventional in vitro fertilization cycles



The aim of this study was to investigate the relationship between the etiology of the couples and risk of fertilization failure (FF) in conventional in vitro fertilization (IVF) cycles and the effect of rescue intracytoplasmic sperm injection (ICSI) technique to offspring. A total of 2542 IVF cycles were divided into four groups

according to infertile etiology: Group A – primary infertility with normal semen parameters; Group B – secondary infertility with oligoasthenozoospermia; Group C – primary infertility with oligoasthenozoospermia; and Group D – secondary infertility with normal semen parameters. The results showed that there were significant

differences in incidence of FF among Group A (16.8%), Group B (20.9%), Group C (48.7%), and Group D (0.9%) ( $p < 0.001$ ). Logistic regression models demonstrated that primary infertility (OR: 10.898, 95% CI: 4.651–25.583,  $p < 0.001$ ) and oligoasthenozoospermia (OR: 12.215, 95% CI: 5.903–25.276,  $p < 0.001$ ) were inde-

pendent risk factors for FF. There were no significant differences in main outcomes between conventional ICSI and rescue ICSI. In conclusion, the patients with primary infertility and oligoasthenozoospermia might be at higher risk of FF. The rescue ICSI technique is safe and helpful for IVF cycles of FF.

## Отрицательное влияние криоконсервации спермы на качество и развитие эмбриона также зависит от морфологии ооцита

При использовании ооцитов с экстра-цитоплазматическим диморфизмом, инъекция криоконсервированного сперматозоида не влияет на качество эмбриона

### The negative influence of sperm cryopreservation on the quality and development of the embryo depends on the morphology of the oocyte.



The present case-control study aimed to identify the effect of sperm cryopreservation on the quality of the embryo and on the probability of blastocyst formation when oocytes free of dimorphisms are injected and when at least one dimorphism is present. The study included 22 186 zygotes, obtained from 2802 patients undergoing intracytoplasmic sperm injection cycles, in a private assisted reproduction

center, using either fresh or cryopreserved sperm. The effect of sperm cryopreservation on the embryo quality on cleavage stage and blastocyst formation chance were evaluated when oocytes free of dimorphisms are injected and when at least one dimorphism is present. The quality of the embryo on cleavage stage as well as the chance for blastocyst formation was not influenced by the origin of the spermatozoa

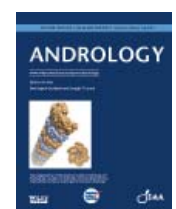
when the quality of the oocyte was not considered. When at least one oocyte defect was present, a negative influence of sperm cryopreservation on cleavage stage embryo quality and the chance for blastocyst formation was noted. In oocytes with extra-cytoplasmic dimorphisms, the injection of cryopreserved sperm did not affect the quality of the embryo during the cleavage stage, but did affect the chance for blas-

tocyst formation. Conversely, in oocytes with intracytoplasmic defects, the quality of the embryos on cleavage stage and the chance of blastocyst formation were negatively influenced by the injection of cryopreserved sperm. The results suggest an oocyte quality-dependent negative effect of sperm cryopreservation on embryo quality and on the probability of blastocyst formation.

Braga, D. P. A. F.  
Setti, A. S.  
Figueira, R. C. S.  
Iaconelli, A.  
Borges, E.

Настоящее исследование типа случай-контроль направлено на выявление влияния криоконсервации спермы на качество эмбриона и на вероятность формирования бластоцисты, в случае если участвуют ооциты без диморфизма и присутствует, по крайней мере, один диморфизм. В исследование были включены 22 186 зиготы, полученные от 2802 пациентов, перенесших интрацитоплазматическую инъекцию сперматозоида в частном центре ВРТ, использованием либо свежих, либо криоконсервированных сперматозоидов. Влияние криоконсервации спермы на качество эмбрионов на стадии деления и шанс образования бластоцисты были оценены при использовании ооцитов без диморфизма и, по крайней мере, с одним диморфизмом. Качество эмбриона на стадии дробления, а также вероятность формирования бластоцисты не зависит от происхождения сперматозоидов, если не брать в расчет качество яйцеклетки.

В случае, если, по меньшей мере, один дефект ооцитов присутствовал, было отмечено негативное влияние криоконсервации спермы на качество эмбрионов на стадии дробления и вероятность формирования бластоцисты. При использовании ооцитов с экстра-цитоплазматическим диморфизмом, инъекция криоконсервированного сперматозоида не влияет на качество эмбриона на стадии расщепления, но влияет на возможность формирования бластоцисты. С другой стороны, при использовании ооцитов с внутрицитоплазматическими дефектами, инъекции криоконсервированных сперматозоидов отрицательно влияют на качество эмбрионов на стадии дробления и вероятность формирования бластоцисты. Полученные результаты свидетельствуют о зависимости влияния криоконсервации спермы на качество эмбрионов и на вероятность формирования бластоцисты от качества ооцитов.



2015  
Andrology, 3:  
723–728

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/andr.12049/abstract>

# Влияние лейкоцитов спермы на исходы экстракорпорального оплодотворения и инъекции сперматозоида в цитоплазму яйцеклетки

Лейкоцитоспермия не оказывает значимого воздействия на исходы ЭКО или ИКСИ.

**ПРОТОЧНАЯ ЦИТОМЕТРИЯ** — метод исследования дисперсных сред в режиме поштучного анализа элементов дисперсной фазы по сигналам светорассеяния и флуоресценции. Название метода связано с основным приложением, а именно, с исследованием одиночных биологических клеток в потоке. Основа метода заключается в 1) использовании системы гидрофокусировки, которая обеспечивает прохождение клеток в потоке поодиночке; 2) облучении клетки лазерным излучением; 3) регистрации сигналов светорассеяния и флуоресценции от каждой клетки. Кроме того, в ходе анализа учитывается уровень флуоресценции химических соединений, входящих в состав клетки (аутофлуоресценция) или внесённых в образец перед проведением проточной цитометрии.

Ricci, Giuseppe et al.

**ЦЕЛЬ**

Изучить влияние лейкоцитов спермы на исходы стандартного ЭКО и инъекции сперматозоида в цитоплазму яйцеклетки (ИКСИ) методом проточной цитометрии.

**ДИЗАЙН**

Проспективное исследование.

**МЕСТО ПРОВЕДЕНИЯ**

Специализированный центр лечения бесплодия и научно-исследовательский институт.

**ПАЦИЕНТЫ**

Сто шестьдесят четыре пары, проходящие стандартные протоколы ЭКО или ИКСИ.

**ВМЕШАТЕЛЬСТВА**

Методом проточной цитометрии оценивали количество лейкоцитов в эякуляте.

**ОСНОВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ИСХОДА**

Корреляция между концентрацией лейкоцитов в сперме и репродуктивными исходами циклов ЭКО и ИКСИ.

дами циклов ЭКО и ИКСИ.

**РЕЗУЛЬТАТЫ**

Между пациентами с лейкоцитоспермией и без таковой ни после ЭКО, ни после ИКСИ не было статистически значимой разницы по медиане числа извлеченных яйцеклеток, частоте оплодотворения и начала деления эмбрионов, медиане количества и качеству перенесенных эмбрионов, медиане количества перенесенных эмбрионов хорошего качества и медиане процентной доли эмбрионов хорошего качества в общем числе перенесенных эмбрионов. Также не было выявлено значимых различий между двумя группами по частоте имплантации и наступления клинической беременности. Многофакторный логистический регрессионный анализ показал, что на репродуктивные исходы не влияла корректировка по возрасту женщины, диагнозу бесплодия, количеству предыдущих попыток, протоколу лечения (агонист или антагонист ГнРГ), методике ВРТ (ЭКО или ИКСИ) и лейкоцитоспермии. С помощью подходящих моделей регрессии Пуассона не удалось найти пороговый уровень лейкоцитов в сперме, который позволял бы выявить пациентов с риском неудачного оплодотворения яйцеклетки или деления эмбриона.

**ВЫВОДЫ**

Методом проточной цитометрии мы показали, что лейкоцитоспермия не оказывает значимого воздействия на исходы ЭКО или ИКСИ. Те же результаты были получены с использованием более низких и более высоких пороговых уровней лейкоцитов в сперме (от 0,2 до 2×10<sup>6</sup>/мл).



Fertility and Sterility  
Volume 104, Issue 1,  
87 – 93

[http://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(15\)00251-4/abstract](http://www.fertstert.org/article/S0015-0282(15)00251-4/abstract)

Effect of seminal leukocytes on in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection outcomes.



**OBJECTIVE.** To investigate the influence of seminal leukocytes on conventional IVF and intracytoplasmic sperm injection (ICSI) outcomes, using a flow cytometry method.  
**DESIGN.** Prospective study.  
**SETTING.** Tertiary infertility center and research institute.  
**PATIENTS.** One hundred sixty-four couples undergoing conventional IVF or ICSI.  
**INTERVENTIONS.** Seminal leukocytes were counted by flow cytometry.  
**MAIN OUTCOME MEASURES**

Correlation between seminal leukocytes concentration and reproductive outcomes in IVF and ICSI cycles.  
**RESULTS.** The median number of oocytes retrieved, the fertilization and cleavage rate, the median number and grade of embryos transferred, the median number of good-quality embryos transferred, and the median percentage of good-quality embryos from total embryos transferred, in leukocytospermic and non-leukocytosper-

mic patients were not statistically different after either IVF or ICSI. Similarly, there were no significant differences between the two groups for implantation rate and clinical pregnancy rate. Multivariate logistic regression analysis showed that the reproductive outcomes were not influenced by adjustment for female age, infertility diagnosis, number of previous attempts, treatment protocol (GnRH agonist or antagonist), assisted reproduction procedure (IVF or ICSI),

and leukocytospermia. By profiling the proper Poisson regression models, no leukocytospermia cut-off value was able to identify the subjects at risk for oocyte fertilization or embryo cleavage failure.  
**CONCLUSIONS.** Using a flow cytometry method, we demonstrated that leukocytospermia does not significantly influence IVF or ICSI outcomes. The same results were obtained by using lower or higher cut-off values for leukocytospermia (from 0.2 to 2 × 10<sup>6</sup>/mL).



# Риск тяжелых пороков развития после вспомогательного хэтчинга: анализ данных Японского национального реестра использования вспомогательных репродуктивных технологий за три года

Jwa, Junna et al.

## Risk of major congenital anomalies after assisted hatching: analysis of three-year data from the national assisted reproduction registry in Japan



**OBJECTIVE.** To assess perinatal risk of major congenital anomalies in children born after embryo transfer with assisted hatching (AH).  
**DESIGN.** Retrospective cohort study.  
**SETTING.** Not applicable.  
**PATIENT(S).** Cycles registered from 2010 to 2012 and conceived via single-embryo transfer were included for the analysis. Live births, still births after 22 weeks of gestation, and selectively ter-

minated cases because of congenital anomalies were included.  
**INTERVENTION(S).** None.  
**MAIN OUTCOME MEASURE(S).** Major congenital anomaly.  
**RESULT(S).** AH was performed in 35,488 cycles among 72,125 included cycles (49.2%). A total of 1,046 major congenital anomalies (1.4%) were identified (1.36% in AH group vs. 1.50% in non-AH group). Overall risks for major congenital anomalies were not

significantly different between AH and non-AH groups adjusting for maternal age, calendar year, fetal sex, embryo stage at transfer, and status of cryopreservation. There were 1,009 cases of twins (1.5%) and 10 cases of triplets (0.015%) among all included cycles. No specific organ system demonstrated significant association between AH and non-AH groups. Subgroup analysis demonstrated no significant

association between AH and non-AH groups in intracytoplasmic sperm injection cycles or in vitro fertilization in fresh cycles. Similar nonsignificant association was observed between early-cleavage or blastocyst stage at transfer in frozen-thawed cycles.  
**CONCLUSION(S).** Our results suggest that AH alone does not increase the risk of major congenital anomaly.



*Fertility and Sterility*,  
Volume 104, Issue 1,  
71 – 78

### ЦЕЛЬ.

Оценить риск тяжелых пороков развития в перинатальном периоде у детей, рожденных после переноса эмбриона с использованием вспомогательного хэтчинга (ВХ).

### ДИЗАЙН.

Ретроспективное когортное исследование.

**МЕСТО ПРОВЕДЕНИЯ.** Неприменимо.

### ПАЦИЕНТЫ.

В анализ были включены циклы ЭКО, проведенные с 2010 по 2012 г. с переносом одного эмбриона. Отобрали случаи рождения живых детей, рождения мертвых детей после 22-й недели беременности и случаи прерывания беременности по причине пороков развития плода.

**ВМЕШАТЕЛЬСТВА.** Отсутствуют.

### ОСНОВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ИСХОДА

Тяжелый порок развития.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

ВХ проводился в 35 488 из 72 125 случаев, включенных в анализ, (49,2%). Всего было

выявлено 1046 тяжелых пороков развития (1,4%) (1,36% в группе ВХ и 1,50% в группе без ВХ). Общий риск тяжелых пороков развития в группах с ВХ и без него при внесении поправок на возраст матери, календарный год, пол ребенка, стадию развития эмбриона при переносе и использование/ неиспользование криоконсервации различался незначимо. Среди всех включенных в анализ циклов было 1009 случаев рождения двойни (1,5%) и 10 случаев тройни (0,015%). Не было выявлено значимых различий между группами с ВХ и без него ни по какой системе органов. Анализ подгрупп не показал значимого различия между группами с ВХ и без него по циклам инъекции сперматозоида в цитоплазму яйцеклетки или экстракорпорального оплодотворения без криоконсервации. Различия в зависимости от переноса бластоцист или эмбрионов на более ранних стадиях деления с использованием криоконсервации также были незначимыми.

### ВЫВОДЫ

Полученные результаты позволяют предположить, что ВХ сам по себе не повышает риск тяжелых пороков развития.

[http://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(15\)00234-4/abstract](http://www.fertstert.org/article/S0015-0282(15)00234-4/abstract)

Ооцит человека окружен внеклеточной оболочкой — zona pellucida, которая играет важную роль в процессах оплодотворения, так как на ее поверхности расположены видоспецифические рецепторы узнавания и связывания со сперматозоидами. Благодаря ей происходит компактизация бластомеров на стадии морулы. Во время предимплантационного развития эмбриона наблюдается истончение блестящей оболочки, и на 5-7-й день после овуляции происходит естественный хэтчинг бластоцисты. Хэтчинг является одним из ключевых событий предимплантационного развития эмбриона, после завершения которого эмбрион входит в прямой контакт с эндометрием матки. При изменениях в плотности блестящей оболочки (старший возраст женщины, культивирование ex vivo, криоконсервация) разработана техника вспомогательного хэтчинга — это искусственное надсечение оболочки эмбриона. Вспомогательный хэтчинг может проводиться следующими способами: путем химического воздействия, механического рассечения, лазерного порирования, пьезо-методика.

# Применение интерференционной микроскопии для оценки морфологии сперматозоидов без использования меток

Интерференционная микроскопия может быть использована в клинических процедурах отбора сперматозоидов.

**ИНТЕРФЕРЕНЦИОННАЯ МИКРОСКОПИЯ** — метод исследования структуры различных, главным образом биологических, объектов и измерения их сухой массы, толщины и показателя преломления. Интерференционная микроскопия основана на интерференции света и осуществляется с помощью интерференционного микроскопа. Метод интерференционного контраста (интерференционная микроскопия) состоит в том, что каждый луч раздваивается, входя в микроскоп. Один из полученных лучей направляется сквозь наблюдаемую частицу, другой — мимо неё по той же или дополнительной оптической ветви микроскопа. В окулярной части микроскопа оба луча вновь соединяются и интерферируют между собой. Метод интерференционного контраста часто применяют совместно с другими методами микроскопии, в частности с наблюдением в поляризованном свете.

и МСП по критериям Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ). Оценивали длину и ширину головки и средней части сперматозоидов, размеры акросомы, конфигурацию головки, средней части и хвоста, а также морфологию клетки в целом.

**ОСНОВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ИСХОДА**  
Непрерывные переменные сравнивали по t-критерию Стьюдента. Категориальные переменные сравнивали по критерию независимости  $\chi^2$ . Рассчитанную чувствительность и специфичность ИФМ и МСП без меток сравнивали с таковыми МСП с метками.

Haifler, Miki et al.

**ЦЕЛЬ**  
Сравнить пригодность интерференционной микроскопии (ИФМ) без меток и микроскопии в светлом поле (МСП) с метками и без нее для оценки морфологии сперматозоидов. Такое сравнение позволяет оценить потенциал применения ИФМ в клиническом анализе сперматозоидов без окрашивания.

**РЕЗУЛЬТАТЫ**  
Не было показано статистически значимых различий по критериям ВОЗ, рассчитанным с помощью ИФМ и МСП с использованием меток. С другой стороны, оценки ширины головки и средней части, а также области акросомы по методу ИФМ отличались от таковых по методу МСП без меток. Чувствительность и специфичность ИФМ в отношении критериев ВОЗ были выше таковых МСП без меток.

**ДИЗАЙН**  
Сравнение методов визуализации.

**МЕСТО ПРОВЕДЕНИЯ**  
Университетская лаборатория.

**ВЫВОД**  
ИФМ без меток позволяет выявить патологии сперматозоидов, результаты отлично коррелируют с МСП с использованием меток и более точны, чем результаты анализа по методу МСП без меток. Для использования ИФМ в клинических процедурах отбора сперматозоидов требуются клинические проспективные исследования.

**ПАЦИЕНТЫ**  
Сперматозоиды были получены от здоровых доноров спермы.

**ВМЕШАТЕЛЬСТВО**  
Мы оценили 350 сперматозоидов с помощью портативных приборов для ИФМ



Fertility and Sterility, Volume 104, Issue 1, 43 - 47.e2

[http://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(15\)00286-1/abstract](http://www.fertstert.org/article/S0015-0282(15)00286-1/abstract)

## Interferometric phase microscopy for label-free morphological evaluation of sperm cells



**OBJECTIVE**  
To compare label-free interferometric phase microscopy (IPM) to label-free and label-based bright-field microscopy (BFM) in evaluating sperm cell morphology. This comparison helps in evaluating the potential of IPM for clinical sperm analysis without staining.

**DESIGN**  
Comparison of imaging modalities.

**SETTING.** University laboratory.

**PATIENT(S)**  
Sperm samples were obtained from healthy sperm donors.

**INTERVENTION(S)**  
We evaluated 350 sperm cells, using portable IPM and BFM, according to World Health Organization (WHO) criteria. The parameters evaluated were length and width of the sperm head and midpiece; size and width of the acrosome; head, midpiece, and tail configuration; and general normality of the cell.

**MAIN OUTCOME MEASURE(S)**  
Continuous variables were compared using the Student's t test. Categorical variables were compared with the  $\chi^2$  test of independence. Sensitivity and specificity of IPM and label-free BFM were calculated and compared with label-based BFM.

**RESULT(S).** No statistical differences were found between IPM and label-based BFM in the WHO criteria. In contrast, IPM measurements of head and midpiece width and acrosome

area were different from those of label-free BFM. Sensitivity and specificity of IPM were higher than those of label-free BFM for the WHO criteria.

**CONCLUSION(S).** Label-free IPM can identify sperm cell abnormalities, with an excellent correlation with label-based BFM, and with higher accuracy compared with label-free BFM. Further prospective clinical trials are required to enable IPM as part of clinical sperm selection procedures.

# Разрывы двойной цепи ДНК в сперматозоидах человека помогают прогнозировать исход применения вспомогательных репродуктивных технологий

## DNA double strand breaks in human spermatozoa can be predictive for assisted reproductive outcome



Sperm DNA status has been reported to predict fertility outcomes in infertile men. The terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUDP nick-end labelling test (TUNEL) is the most widely used method to evaluate this; however, its prognostic value is still debated. One hundred infertile men undergoing intracytoplasmic sperm

injection (ICSI) and 61 fertile men were tested for sperm parameters, sex hormones and sperm DNA status by chromatin tests (acridine orange, aniline blue, decondensation) and by direct assays (TUNEL and phosphorylated histone H2AX-γH2AX). In both groups, the prognostic value of each parameter to predict assisted clinical pregnancy

was compared. Sperm parameters ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ), FSH levels ( $P < 0.05$ ) and DNA status ( $P < 0.05$  to  $P < 0.001$ ) were significantly different in participants compared with controls. Among infertile men, 47 had positive and 53 had ICSI outcome. Both chromatin analysis and TUNEL test were unable to distinguish individuals who had success-

ful outcomes from those who failed ICSI treatments. γH2AX percentage and γH2AX fragmentation index were significantly higher in sperm from non-pregnant compared with pregnant couples ( $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ ). γH2AX assay is more predictive of ICSI outcome than TUNEL in infertile couples with male factor infertility.

Garolla, Andrea et al.



Reproductive BioMedicine  
Online, Volume 31, Issue 1,  
100 - 107

**У пар с мужским фактором бесплодия анализ γH2AX позволяет с большей точностью, чем TUNEL, предсказать исход ИКСИ.**

Сообщалось, что состояние ДНК сперматозоидов позволяет предсказать исход лечения бесплодных мужчин. Наиболее часто для такой оценки используется метод введения концевой метки дУТФ с использованием терминальной дезоксирибонуклеотидилтрансферазы (TUNEL), однако его прогностическая ценность все еще обсуждается. У ста бесплодных мужчин, подвергшихся инъекции сперматозоида в цитоплазму яйцеклетки (ИКСИ), и у 61 фертильного мужчины изучали параметры сперматозоидов, уровни половых гормонов и состояние ДНК сперматозоидов путем анализов хроматина (окрашивание акридиновым оранжевым, анилиновым синим, деконденсация) и прямого анализа (TUNEL и фосфорилирование гистона H2AX-γH2AX). Сравнивали прогностическое значение каждого параметра для оценки вероятности клинической беременности вследствие применения ВРТ в обеих группах. Параметры спермы ( $P < 0,05$  или  $P < 0,01$ ), уровень ФСГ ( $P < 0,05$ ) и состояние ДНК (от  $P < 0,05$  до  $P < 0,001$ ) пациентов значимо отлича-

С развитием индустрии флуоресцентно меченых антител широкое распространение получили методы оценки числа двунитевых разрывов ДНК, основанные на анализе изображений ядер клеток с флуоресцентными метками, закрепленными на антителах к различным белкам-маркерам разрыва ДНК. В качестве таких маркеров, как правило, используют белки, участвующие в репарации ДНК, или гистоновые белки, претерпевающие определенные модификации в зоне непосредственной близости от двунитевого разрыва ДНК, среди которых наиболее изученным является гистон H2AX.

лись от таковых контрольной группы. У 47 бесплодных мужчин был положительный исход ИКСИ, а у 53 — отрицательный. И анализ хроматина и тест TUNEL не позволили различить мужчин с успешным и неуспешным исходом ИКСИ. Процентная доля γH2AX и индекс фрагментации γH2AX в сперме небеременных пар были значимо выше, чем в сперме беременных пар ( $P < 0,05$  и  $P < 0,01$ ). У пар с мужским фактором бесплодия анализ γH2AX позволяет с большей точностью, чем TUNEL, предсказать исход ИКСИ.

[http://www.rbmojournal.com/  
article/S1472-6483\(15\)00152-2/  
abstract](http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483(15)00152-2/abstract)

## Изучение морфологии сперматозоидов при большом увеличении позволяет предсказать лабораторные и клинические исходы в парах, прибегающих к ИКСИ

**Большое увеличение (x6600) может стать рутинным информативным предиктором исходов ИКСИ**

Цель данного исследования — оценить, связаны ли результаты «анализа морфологии органелл подвижных сперматозоидов» (MSOME) с исходом ИКСИ. Всего методом MSOME (x6600) проанализировали 14400 сперматозоидов от 72 пар, прохо-

дящих ИКСИ. Сперматозоиды разделили на четыре группы: I степень — нормальная форма и нет вакуолей; II степень — нормальная форма и 2 небольших вакуоли или менее; III степень — нормальная форма и более 2 небольших вакуолей или

Livia Vingris, Amanda Souza Setti,  
Daniela Paes De Almeida Ferreira  
Braga, et al



Human Fertility  
June 2015, Vol. 18, No. 2,  
Pages 81-86

<http://informahealthcare.com/doi/abs/10.3109/14647273.2014.956812>

хотя бы одна большая вакуоль; и IV степень — большая вакуоль и патологическая форма головки или другие отклонения. Оценивали корреляции между долей морфологически нормальных сперматозоидов (I + II степени) и исходами ИКСИ. Доля сперматозоидов I + II степени была ниже у пациентов с олигоастенотератозооспермией (OAT) по сравнению с пациентами с другими изменениями качества спермы (10,6% против 17,0%,  $p=0,001$ ). Процентная доля сперматозоидов I + II степени положительно коррелировала с частотой образования бластоцисты

( $S=8,31$ ,  $R_2: 13,5\%$ ,  $p=0,014$ ) и имплантации ( $S=8,32$ ,  $R_2: 7,9\%$ ,  $p=0,030$ ). У пар с текущей беременностью доля сперматозоидов I + II степени была выше, чем у пар, перенесших выкидыш (23,2% против 10,8%,  $p=0,007$ ). Соответствие морфологии сперматозоидов норме было ниже у пациентов с олигоастенотератозооспермией, но коррелировало с частотой образования бластоцисты, имплантации и выкидыша у пар, проходящих ИКСИ. Таким образом, метод MSOME может быть полезен при прогнозировании исхода ИКСИ.

Sperm morphological normality under high magnification predicts laboratory and clinical outcomes in couples undergoing ICSI



The objective of this study was to evaluate whether 'motile sperm organelle morphology examination' (MSOME) is correlated with the outcome of ICSI. A total of 14400 spermatozoa from 72 couples undergoing ICSI were analysed by MSOME (x6600) and graded into four groups: grade I, normal form and no vacuoles; grade II, normal form and lesser than or equal to

2 small vacuoles; grade III, normal form greater than 2 small vacuoles or at least one large vacuole and grade IV, large vacuole and abnormal head shapes or other abnormalities. The correlations between the proportion of morphologically normal spermatozoa (grade I + II) and ICSI outcomes were assessed. The proportion of grade I+ II spermatozoa was lower in patients with

oligoasthenoteratozoospermia (OAT) compared to patients with other types of semen alterations (10.6% vs. 17.0%,  $p=0.001$ ). The proportion of grade I+ II spermatozoa was positively correlated with blastocyst formation ( $S=8.31$ ,  $R_2: 13.5\%$ ,  $p=0.014$ ) and implantation rates ( $S=8.32$ ,  $R_2: 7.9\%$ ,  $p=0.030$ ). The proportion of grade I + II spermatozoa was higher in patients with

ongoing pregnancy in comparison with those who had a miscarriage (23.2% vs. 10.8%,  $p=0.007$ ). Sperm morphological normality was lower in oligoasthenoteratozoospermia patients but correlated with blastocyst formation, implantation and miscarriage rates in couples undergoing ICSI. MSOME may be valuable in predicting ICSI outcomes.

## Воздействие 24-часового культивирования тестикулярных сперматозоидов in vitro перед замораживанием на исходы ИКСИ: ретроспективное исследование

Laurent Desch1, Céline Bruno1, Charlène Herbemont1, Frédéric Michel2, Shaliha Bechoua1, Sophie Girod3, Paul Sagot3 and Patricia Fauque1

**Криоконсервация сперматозоидов спустя 24 ч после биопсии яичек оказывает отрицательное влияние на исходы ИКСИ и частоту родов.**



BASIC AND CLINICAL ANDROLOGY

### ЦЕЛЬ

Сравнить параметры тестикулярных сперматозоидов и исходы интрацитоплазматической инъекции этих сперматозоидов в яйцеклетку (ИКСИ) при замораживании клеток в день биопсии (D0) или через 24 часа культивирования in vitro (D1).

### МЕТОДЫ

В этом ретроспективном исследовании, проведенном в период с 1999 по 2012 гг., использовались данные сорока четырех пациентов с азооспермией. Сравнивали сперматозоиды (подвижность и жизнеспособность) и исходы лечения (частоту оплодотворения (FR), имплантации (IR), наступления беременности (PR) и родов (DR)).

### РЕЗУЛЬТАТЫ

Культивирование in vitro повышало общую подвижность (+2,8%,  $p=0,0161$ ), но снижало жизнеспособность (-8,3%,  $p=0,007$ ). 24 ч в культуре незначимо изменяли подвижность и жизнеспособность

клеток после размораживания. Двадцать шесть пар прибегли к ИКСИ: тридцать четыре процедуры ИКСИ было проведено с использованием сперматозоидов, криоконсервированных в D0, и восемнадцать — с использованием сперматозоидов, криоконсервированных в D1. Полученные результаты IR и DR для ИКСИ с использованием сперматозоидов D1 были ниже таковых ИКСИ с использованием сперматозоидов D0 (IR: 21,6% с D0 против 9,8% с D1,  $p=0,102$ ; DR: 27,5% с D0 против 8,3% с D1,  $p=0,049$ ).

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на улучшение подвижности, замораживание сперматозоидов спустя 24 ч после биопсии яичек предположительно оказывает отрицательное воздействие на исходы ИКСИ, в особенности на частоту родов. Это может быть связано с нарушением целостности ядер сперматозоидов во время дополнительного культивирования.

## Impact on ICSI outcomes of adding 24 h of in vitro culture before testicular sperm freezing: a retrospective study



### PURPOSE

To compare sperm parameters and intracytoplasmic sperm injection (ICSI) outcomes for testicular spermatozoa frozen on the day of the biopsy (D0) with those frozen after 24 h of in vitro culture (D1).

### METHODS

In this retrospective study, from 1999 to 2012, forty-nine azoospermic patients were included to

compare sperm (motility and viability) and outcomes (fertilization (FR), implantation (IR), pregnancy (PR) and delivery rates (DR)).

### RESULTS

The in vitro culture increased total motility (+2.8%,  $p=0.0161$ ) but decreased viability (-8.3%,  $p=0.007$ ). After 24 h of culture, the post-thaw changes in motility and viability were not significant.

Twenty-six couples underwent ICSI: thirty-four ICSI were performed with spermatozoa cryopreserved at D0 and eighteen with spermatozoa frozen at D1. Cumulated IR and DR were lower for ICSI with D1 spermatozoa than with D0 spermatozoa (IR: 21.6% with D0 vs. 9.8% with D1,  $p=0.102$ ; DR: 27.5% with D0 vs. 8.3% with D1,  $p=0.049$ ).

### CONCLUSION

Despite improving motility, freezing spermatozoa 24 h after testicular biopsy had a potential negative effect on ICSI outcomes, notably on delivery rates. These results may be related to the detrimental impact of the additional culture on the nuclear integrity of sperm.

<http://www.bacandrology.com/content/25/1/6>

# Использование комбинированной терапии на основе хорионического гонадотропина человека для возобновления сперматогенеза после приема тестостерона

Evan P. Wenker BS, James M. Dupree MD, Gavin M. Langille MD, Jason Kovac MD, Ranjith Ramasamy MD, Dolores Lamb PhD, Jesse N. Mills MD and Larry I. Lipshultz MD

## The Use of HCG-Based Combination Therapy for Recovery of Spermatogenesis after Testosterone Use.



### INTRODUCTION AND AIM

About 3 million men take testosterone in the United States with many reproductive-age men unaware of the negative impact of testosterone supplementation on fertility. Addressing this population, we provide an early report on the use of human chorionic gonadotropin (HCG)-based combination therapy in the treatment of a series of men with likely testosterone-related azoospermia or severe oligospermia.

### METHODS

We retrospectively reviewed charts from two tertiary care infertility

clinics to identify men presenting with azoospermia or severe oligospermia (<1 million sperm/mL) while taking exogenous testosterone. All were noted to have been placed on combination therapy, which included 3,000 units HCG subcutaneously every other day supplemented with clomiphene citrate, tamoxifen, anastrozole, or recombinant follicle-stimulating hormone (or combination) according to physician preference.

### MAIN OUTCOME MEASURE

Clinical outcomes, including hormone values, semen analyses, and clinical pregnancies, were tracked.

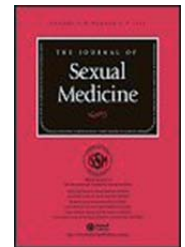
### RESULTS

Forty-nine men were included in this case series. Return of spermatogenesis for azoospermic men or improved counts for men with severe oligospermia was documented in 47 men (95.9%), with one additional man (2.1%) having a documented pregnancy without follow-up semen analysis. The average time to return of spermatogenesis was 4.6 months with a mean first density of 22.6 million/mL. There was no significant difference in recovery by type of testosterone administered or supplemental therapy.

No men stopped HCG or supplemental medications because of adverse events.

### CONCLUSIONS

We here provide an early report of the feasibility of using combination therapy with HCG and supplemental medications in treating men with testosterone-related infertility. Future discussion and studies are needed to further characterize this therapeutic approach and document the presumed improved tolerability and speed of recovery compared with unaided withdrawal of exogenous testosterone.



The Journal of Sexual Medicine  
Volume 12, Issue 6,  
pages 1334–1337, June 2015

**Среднее время до возобновления сперматогенеза составляет примерно 4,6 месяцев после отмены препаратов тестостерона.**

### ВВЕДЕНИЕ И ЦЕЛЬ

В США около 3 миллионов мужчин принимают тестостерон, и многие мужчины репродуктивного возраста не знают об отрицательном влиянии дополнительного приема тестостерона на фертильность. Мы представляем предварительный отчет об использовании комбинированной терапии на основе хорионического гонадотропина человека (ХГЧ) в этой популяции для лечения мужчин с азооспермией или тяжелой олигоспермией, вероятно связанными с приемом тестостерона.

### МЕТОДЫ

Мы ретроспективно изучили медицинские карты двух специализированных клиник по лечению бесплодия, чтобы выявить мужчин с азооспермией или тяжелой олигоспермией (<1 млн/мл сперматозоидов) на фоне приема тестостерона. Всем была назначена комбинированная

терапия, включавшая 3000 ед. ХГЧ подкожно через день вместе с кломифена цитратом, тамоксифеном, анастрозолом или рекомбинантным фолликулостимулирующим гормоном (либо вместе с комбинацией этих препаратов), по усмотрению врача.

### ОСНОВНОЙ ПОКАЗАТЕЛЬ ИСХОДА

Отслеживали клинические исходы, включая уровни гормонов в крови, показатели спермограммы и наступление клинической беременности.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

Эту серию случаев составляли данные сорока девяти мужчин. У 47 мужчин (95,9 %) возобновился сперматогенез при диагнозе азооспермии или увеличилось количество сперматозоидов при диагнозе тяжелой олигоспермии, а у партнерши еще одного мужчины (2,1 %) наступила беременность, но контрольную спермограмму не прово-

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jsm.12890/abstract>

дили. Среднее время до возобновления сперматогенеза составило 4,6 месяцев, при этом средняя концентрация сперматозоидов по результатам первой спермограммы составила 22,6 млн/мл. Значимого различия

по типу назначенного тестостерона или дополнительной терапии не наблюдалось. Ни один мужчина не прекратил прием ХГЧ или дополнительных препаратов по причине нежелательных явлений.

**ВЫВОДЫ**

Мы представляем предварительный отчет по пригодности комбинированной терапии на основе ХГЧ для лечения мужчин с бесплодием, вызванным приемом тестостерона. Требуется дополнительные исследования и обсуждения для подробного описания этого терапевтического подхода и описания предполагаемой лучшей переносимости и скорости выздоровления по сравнению с отменой экзогенного тестостерона без какой-либо дополнительной терапии.

## Делеции в области AZFc не влияют на функцию сперматогоний человека in vitro

*Mol. Hum. Reprod.* 2015 21: 553-562.

<http://molehr.oxfordjournals.org/content/21/7/553.abstract>

**AZFc deletions do not affect the function of human spermatogonia in vitro**



Azoospermic factor c (AZFc) deletions are the underlying cause in 10% of azoospermic or severe oligozoospermia. Through extensive molecular analysis the precise genetic content of the AZFc region and the origin of its deletion have been determined. However, little is known about the effect of AZFc deletions on the functionality of germ cells at various developmental steps. The presence of normal, fertilization-competent sperm in the ejaculate and/or testis of the majority of men with AZFc deletions suggests that the process of differentiation from spermatogonial stem cells (SSCs) to mature spermatozoa can take place in the absence of the AZFc region. To determine the functionality of AZFc-deleted spermatogonia, we compared in vitro propagated spermatogonia from six men with complete AZFc deletions with spermatogonia from three normozoospermic controls. We found that spermatogonia of AZFc-deleted men behave similar to controls during culture. Short-term (18 days) and long-term (48 days) culture of AZFc-deleted spermatogonia showed the same characteristics as non-deleted spermatogonia. This similarity was revealed by the same number of passages, the same germ cell clusters formation and similar level of genes expression of spermatogonial markers including ubiquitin carboxyl-terminal esterase L1 (UCHL1), zinc finger and BTB domain containing 16 (ZBTB16) and glial cell line-derived neurotrophic factor family receptor alpha 1 (GFRA1), as well as germ cell differentiation markers including signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3), spermatogenesis and oogenesis specific basic helix-loop-helix 2 (SOHLH2), v-kit Hardy-Zuckerman 4 feline sarcoma viral oncogene homolog (KIT) and synaptonemal complex protein 3 (SYCP3). The only exception was melanoma antigen family A4 (MAGEA4) which showed significantly lower expression in AZFc-deleted samples than controls in short-term culture while in long-term culture it was hardly detected in both AZFc-deleted and control spermatogonia. These data suggest that, at least in vitro, spermatogonia of AZFc-deleted men are functionally similar to spermatogonia from non-deleted men. Potentially, this enables treatment of men with AZFc deletions by propagating their SSCs in vitro and auto-transplanting these SSCs back to the testes to increase sperm counts and restore fertility.

**Сперматогонии мужчин с делециями AZFc имеют функциональный статус, сходный с таковыми сперматогониями мужчин без делеций.**

Делеции в гене фактора азооспермии (AZFc) лежат в основе 10 % случаев азооспермии или тяжелой олигозооспермии. Путем тщательного молекулярного анализа было определено точное строение области AZFc и причин ее делеции. Однако немного известно о влиянии делеций AZFc на работу половых клеток на различных этапах их развития. Наличие нормальных способных к оплодотворению сперматозоидов в эякуляте и (или) яичках большинства мужчин с делециями AZFc позволяет предположить, что область AZFc не участвует в дифференциации сперматогонияльных стволовых клеток (ССК) в зрелые сперматозоиды. Чтобы определить функциональный статус сперматогоний с делецией AZFc, мы сравнили размножившиеся in vitro сперматогонии шести мужчин с полными делециями AZFc и сперматогонии трех контрольных мужчин с нормозооспермией. Мы показали, что сперматогонии мужчин с делециями AZFc ведут себя сходно с контролями во время культивирования. Краткосрочное (18 дней) и долгосрочное (48 дней) культивирование сперматогоний с делециями AZFc не изменило их характеристики по сравнению со сперматогониями без делеций. Сходство выражалось в одинаковом количестве делений, одинаковом формировании групп половых клеток и сходной интенсивности экспрессии генов сперматогонияльных маркеров, в том

числе убиквитин-С-терминальной эстеразы L1 (UCHL1), белка, содержащего домены «цинковый палец» и BTB-16 (ZBTB16) и вырабатываемого глиальными клетками альфа-1-рецептора семейства нейротрофических факторов (GFRA1), а также маркеров дифференциации половых клеток, в том числе преобразователя сигнала и активатора транскрипции-3 (STAT3), специфического для сперматогенеза и оогенеза белкового элемента «спираль-петля-спираль»-2 (SOHLH2), гомолога вирусного онкогена кошачьей саркомы v-kit Hardy-Zuckerman 4 (KIT) и белка синаптонемного комплекса-3 (SYCP3). Единственным исключением было семейство антигенов меланомы A4 (MAGEA4), экспрессия которого значимо снижалась в образцах с делециями AZFc по сравнению с контролем при краткосрочном культивировании и едва выявлялась при долгосрочном культивировании сперматогоний с делециями AZFc и без них. Полученные данные позволяют предположить, что, по крайней мере, in vitro, сперматогонии мужчин с делециями AZFc имеют функциональный статус, сходный с таковыми сперматогониями мужчин без делеций. Это дает потенциал для лечения мужчин с делециями AZFc путем размножения ССК in vitro и аутотрансплантации их обратно в яички для увеличения количества сперматозоидов и восстановления фертильности.

# Вредная мутация SYCE1 связана с необструктивной азооспермией

Esther Maor-Sagie, Yuval Cinnamon, Barak Yaacov, Avraham Shaag, Hanoach Goldsmidt, Shamir Zenvirt, Neri Laufer, Carmelit Richler, Ayala Frumkin.

Journal of Assisted Reproduction and Genetics, June 2015, Volume 32, Issue 6, pp 887-891

Выявлена и описана наследственная аутосомно-рецессивная необструктивная азооспермия.

## ЦЕЛЬ

Определить молекулярную основу необструктивной азооспермии, наследуемой по аутосомно-рецессивному типу, в семье иранских евреев с близкородственными браками.

## МЕТОДЫ

Мы изучили генетическую причину необструктивной азооспермии у двух родных братьев из семьи с близкородственными браками. После гомозиготного картирования образцов ДНК пациентов и их братьев с нормозооспермией провели анализ экзотов одного из пациентов. Другие члены семьи прошли генотипирование на мутацию по методу секвенирования по Сэнгеру. Эффект мутации определяли путем иммунного окрашивания тканей яичек пациентов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Два пациента были гомозиготными по мутации сайта сплайсинга в SYCE1, что при-

вело к сохранению третьего интрона в кДНК и формированию преждевременного стоп-кодона. SYCE1 кодирует белок синаптонемного комплекса, который играет очень важную роль в мейозе. Иммуноокрашивание тканей яичек пациентов с помощью антител к SYCE1 не выявило SYCE1. Гистологическое исследование тканей пациентов показало наличие незрелых сперматоцитов без зрелых форм, что говорит об остановке созревания.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Значимость большинства белков синаптонемного комплекса была ранее показана на модели мутантных мышей. В настоящем отчете подчеркивается важность участия белков синаптонемного комплекса в сперматогенезе у человека. Наш новый подход, сочетание гомозиготного картирования и секвенирования экзота, дал возможность составить одно из первых описаний наследуемой по аутосомно-рецессивному типу НОА.



Deleterious mutation in SYCE1 is associated with non-obstructive azoospermia

### Purpose

To determine the molecular basis of familial, autosomal-recessive, non-obstructive azoospermia in a consanguineous Iranian Jewish family.

### Methods

We investigated the genetic cause of non-obstructive azoospermia in two affected siblings from a consanguineous family. Homozygosity mapping in the DNA samples of the patients and their normospermic brother was followed by exome analysis of one of the patients. Other family members were genotyped for the mutation by Sanger sequencing. The mutation effect was demonstrated by immunostaining of the patients' testicular tissue.

### Results

The two patients were homozygous for a splice site mutation in SYCE1 which resulted in retention of intron three in the cDNA and premature stop codon. SYCE1 encodes a Synaptonemal Complex protein which plays an essential role during meiosis. Immunostaining of patient's testicular tissue with anti-Syce1 antibody revealed an undetectable level of Syce1. Histological examination of the patients' tissue disclosed immature-stages spermatocytes without mature forms, indicating maturation arrest.

### Conclusion

The significance of most synaptonemal complex proteins was previously demonstrated in a mutant mouse model. The present report underscores the importance of synaptonemal complex proteins in spermatogenesis in humans. Our new approach, combining homozygosity mapping and exome sequencing, resulted in one of the first reports of an autosomal-recessive form of NOA.

**МЕТОД СЭНГЕРА** — метод секвенирования (определения последовательности нуклеотидов) ДНК, также известен как метод обрыва цепи. Впервые этот метод секвенирования был предложен Фредериком Сэнгером в 1977 году, за что он был удостоен Нобелевской премии по химии. В классическом варианте метода Сэнгера одна из цепочек анализируемой ДНК выступает в качестве матрицы для синтеза комплементарной цепочки ферментом ДНК-полимеразой. Реакцию с одной и той же матрицей проводят в четырёх разных пробирках, каждая из которых содержит: праймер (небольшую одноцепочечную молекулу ДНК, комплементарную началу участка, который нужно отсеквенировать); небольшое количество радиоактивно меченного дезоксинуклеотида, который включается в состав ДНК во время синтеза и позволяет впоследствии визуализировать продукты реакции; смесь трёх дезоксинуклеотидов в оптимальных для протекания реакции концентрациях, четвёртый дезоксинуклеотид в более низкой концентрации и дидезоксипроизводное четвёртого нуклеотида. На сегодняшний день секвенирование ДНК по Сэнгеру полностью автоматизировано и проводится на специальных приборах, секвенаторах. Результаты анализируют с помощью компьютера и представляют в виде последовательности разноцветных пиков, соответствующих четырём нуклеотидам. Секвенаторы такого типа могут «прочитать» за один раз последовательности длиной 500—1000 нуклеотидов

# PRODIGEST

Журнал для специалистов по репродуктивному здоровью «Обзор международных периодических изданий ПРОдайджест (PROdigest)». Выходит в свет с мая 2015 года. Учредитель и издатель: ООО «ПРОФАРМА ГРУП». Адрес редакции: 121087 Россия Москва, Багратионовский проезд, 7/20в. Менеджер проекта: Ермолович С.Ю. | Ermolovich.Sergey@profarma.info. Подписано в печать: 29.06.2015. Тираж: 2000 экз. Распространяется бесплатно.

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:



### Гамидов С. И.

д.м.н., проф. кафедры акушерства, гинекологии, перинатологии и репродуктологии ИПО ФГБУ «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава РФ, проф. кафедры урологии ФГБУ «РНМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава РФ, руководитель отделения андрологии и урологии ФГБУ «НЦАГиП им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России



### Ефремов Е. А.

Доктор медицинских наук. Заведующий отделом андрологии и репродукции человека НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России.



### Попова А. Ю.

к.м.н., доцент кафедры акушерства, гинекологии, перинатологии и репродуктологии ГБОУ ВПО «Первое МГМУ им. И.М. Сеченова» МЗ РФ, с.н.с. отделения андрологии и урологии ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. ак. В.И. Кулакова» МЗ РФ.



### Овчинников Р. И.

к.м.н., заведующий отделением андрологии и урологии по клинике ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени ак. В.И. Кулакова» Минздрава России.

Мониторинг, скрининг: Касатонова Е.В. Перевод: Чашникова Е.П. Дизайн и вёрстка: Кирьянова Е.Ю.

PROFERTIL®  
female

ФЕРТИЛЬНОСТЬ —  
ОСНОВА КАЖДОЙ ЖИЗНИ



Подтверждено  
клиническими  
исследованиями

- достижение регулярного цикла
- оптимизация созревания яйцеклетки
- запуск овуляции
- ускорение имплантации
- повышение либидо
- снижение числа осложнений беременности



БАД. Не является лекарством. Имеются противопоказания, перед применением необходимо проконсультироваться со специалистом.

производитель

LENUS PHARMA  
innovative medicine

официальный дистрибутор

ПРОФАРМА  
ГРУП

121087, Россия, г. Москва, Багратионовский проезд, д. 7 к. 20в.

Телефон: +7(499) 346 6096, info@profarma.info, www.profarma.info



МЕДИНТОРГ  
акционерное общество

## РОЛЬ МУЖЧИНЫ в привычном невынашивании беременности — часть прегравидарной подготовки



Прием микроэлементов повышает качество спермы у субфертильных мужчин. В группе наблюдения, принимавшей ПРОФертил, через 3 месяца отмечено **значимое увеличение НВА-теста\* на 19,7%**

НВА-тест — функциональный тест на связывание сперматозоидов с гиалуроновой кислотой. Высокий индекс связывания (60–80%) говорит о функциональной зрелости сперматозоидов: низком уровне фрагментации ДНК и частоте анеуплоидии, отсутствии апоптотических маркеров

Источник: European Medical Journal, Edition EMJ Urol. 2014;1: 60-65.

EMJ EUROPEAN  
MEDICAL JOURNAL

ПРОФЕРТИЛ®

защищает ДНК сперматозоидов  
и увеличивает вероятность  
успешного зачатия и нормального  
течения беременности



- Снижает фрагментацию ДНК сперматозоидов
- Улучшает результаты лечения пар с привычным невынашиванием беременности
- Уменьшает риск неразвивающейся беременности при использовании ВРТ

х 3 мес

БАД. Не является лекарством. Имеются противопоказания, перед применением необходимо проконсультироваться со специалистом.

производитель

LENUS PHARMA  
innovative medicine

официальный дистрибутор

ПРОФАРМА  
ГРУП

121087, Россия, г. Москва, Багратионовский проезд, д. 7 к. 20в.

Телефон: +7(499) 346 6096, info@profarma.info, www.profarma.info



МЕДИНТОРГ  
акционерное общество

СІР RU.77.99.11.003.E.007068.06.15 от 16.06.2015

СІР RU.77.99.11.003.E.012393.12.14 от 18.12.2014