



Оплодотворяющая способность сперматозоидов: факторы ее обуславливающие и методы определения (обзор)

© 2025. Т. Ю. Берелет, Е. А. Корочкина✉

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Оплодотворение – сложный процесс, результатом которого является слияние гамет. Для получения оплодотворяющей способности сперматозоидам необходимо пройти постэякуляционные процессы в репродуктивном тракте самок. К ним относятся капацитация, гиперактивация и акросомальная реакция. Капацитация является сложным процессом, во время которого сперматозоид подвергается различным изменениям метаболизма, внутриклеточных концентраций ионов и других веществ. Основными факторами капацитации являются концентрация внутриклеточных ионов кальция, изменение свойств и структуры плазматической мембраны, pH среды, а также воздействие прогестерона и холестерина на сперматозоид. Возникающая далее гиперактивация приводит к изменению подвижности сперматозоида, вследствие чего он достигает яйцеклетки для дальнейшего проникновения в нее. Затем происходит акросомальная реакция – выброс из акросомы веществ, обеспечивающих проникновение через прозрачную оболочку ооцита. Определить оплодотворяющую способность можно различными методами: НВА-тест основан на связывании сперматозоидов с гиалуроновой кислотой, SpermSlow используется для замедления сперматозоидов в гиалуронсодержащей среде. Целостность акросомы и подвижность сперматозоида можно определить с помощью метода Acrobeads, основанного на образовании у подвижных сперматозоидов комплекса с иммуноглобулинами, покрытыми антителами против белка с внутренней поверхности акросомальной мембраны. Метод SPA позволяет установить функциональную способность сперматозоидов связываться с оболочкой яйцеклетки. Помимо прямых методов, исследующих основные параметры и функции сперматозоида, есть методы, определяющие дополнительные параметры, такие как уровень окислительного стресса и факторов его вызывающих, наличие нарушений в генетическом аппарате мужской гаметы. Уровень окислительного стресса, количество активных форм кислорода можно найти с помощью реакции на тиобарбитуровую кислоту, реакцией с нитросиним тетразолием, путем оценки количества карбонильных производных аминокислотных остатков в белках, хемолюминисцентным анализом. Разрывы в ДНК можно определить тестом TUNEL, метод ДНК-комет используют для идентификации степени повреждения геномной ДНК, метод FISH применяют для анализа хромосомного набора сперматозоида. В шейке матки содержится цервикальная слизь, являющаяся необходимым фактором для оплодотворения. Способность сперматозоидов проникать через нее можно определить с помощью вспомогательных методов, например, swim-up. Его суть заключается в том, что в культуральной среде имитируют естественное перемещение мужских гамет, и отбирают те, которые отвечают требованиям. Концентрацию сперматозоидов и степень их подвижности в цервикальной слизи определяют посткоитальным тестом. Учитывая вышесказанное, и главным образом, доступность использования данных методик, актуальным является разработка отечественных наборов.

Ключевые слова: оценка фертильности, сперматозоид, капацитация, гиперактивация, акросомальная реакция

Благодарности: исследование выполнено при финансовой поддержке Фонда Содействия Инновациям («Студенческий стартап») (очередь VI), СтС-505397).

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Берелет Т. Ю., Корочкина Е. А. Оплодотворяющая способность сперматозоидов: факторы ее обуславливающие и методы определения (обзор). *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2025;26(5):963–974. DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2025.26.5.963-974>

Поступила: 18.03.2025

Принята к публикации: 22.09.2025

Опубликована онлайн: 31.10.2025

Fertilizing ability of spermatozoa: its conditioning factors and methods of determination (review)

© 2025. Tatiana Y. Berelet, Elena A. Korochkina✉

Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine, Saint Petersburg, Russian Federation

Fertilization is a complex process that results in the fusion of gametes. In order to obtain fertilizing ability, spermatozoa need to undergo post-ejaculation processes in the female reproductive tract. These include capacitation, hyperactivation, and acrosomal reaction. Capacitation is a complex process during which the sperm undergoes various changes in metabolism, intracellular concentrations of ions and other substances. The main factors of capacitation are the concentration of intracellular calcium ions, changes in the properties and structure of the plasma membrane, the pH of the medium, as well as the effect of progesterone and cholesterol on the sperm. The resulting hyperactivation leads to a change in the motility of the sperm, as a result of which it reaches the egg for further penetration into it. Then an acrosomal reaction occurs – the release

of substances from the acrosome that ensure penetration through the transparent membrane of the oocyte. The fertilizing ability can be determined by various methods: the HBA test is based on the binding of spermatozoa to hyaluronic acid, SpermSlow is used to slow down spermatozoa in a hyaluronic-containing medium. The integrity of the acrosome and the motility of the sperm can be determined using the Acrobeads method, based on the formation of a complex of motile spermatozoa with immunoglobulins coated with antibodies against the protein from the inner surface of the acrosomal membrane. The SPA method allows us to determine the functional ability of spermatozoa to bind to the egg shell. In addition to direct methods that examine the basic parameters and functions of the sperm, there are methods that determine additional parameters, such as the level of oxidative stress and the factors that cause it, and the presence of disorders in the genetic apparatus of the male gamete. The level of oxidative stress and the amount of reactive oxygen species can be determined by reaction to thio-barbituric acid, reaction with nitrosine tetrazolium, by estimating the amount of carbonyl derivatives of amino acid residues in proteins, and by chemoluminescence analysis. DNA breaks can be detected using the TUNEL test, the DNA comet method is used to identify the degree of damage to genomic DNA, and the FISH method is used to analyze the chromosome set of a sperm cell. The cervix contains cervical mucus, which is a necessary factor for fertilization. The ability of spermatozoa to penetrate through it can be determined using auxiliary methods, for example, swim-up. Its essence lies in the fact that in a cultural environment, the natural movement of male gametes is imitated, and those that meet the requirements are selected. The concentration of spermatozoa and the degree of their motility in the cervical mucus are determined by a postcoital test. Taking into account the availability of these techniques from a logistical point of view, the development of domestic kits is relevant.

Keywords: fertility evaluation, sperm, capacitation, hyperactivation, acrosomal reaction

Acknowledgments: the research was carried out under the financial support of Foundation for Assistance to Innovations (Student Startup (stage VI), StS-505397).

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work.

Conflict of interest: the authors stated that there was no conflict of interest.

For citations: Berelet T. Y., Korochkina E. A. Fertilizing ability of spermatozoa: its conditioning factors and methods of determination (review). *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka* = Agricultural Science Euro-North-East. 2025;26(5):963–974. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2025.26.5.963-974>

Received: 18.03.2025

Accepted for publication: 22.05.2025

Published online: 31.10.2025

Как известно, результат программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) зависит от качества половых гамет, главным образом, от их оплодотворяющей способности [1, 2].

Оплодотворение – сложный процесс, результатом которого является слияние мужской и женской гамет. Он состоит из последовательных взаимодействий между сперматозоидом, кумулюсным фолликулом, прозрачной оболочкой яйцеклетки и оолеммой [3].

После эякуляции сперматозоиды не считаются полностью сформированными. Для получения оплодотворяющей способности им необходимо пройти постэякуляционные процессы в половых путях самки. К ним относят капацитацию, гиперактивацию и акросомальную реакцию. Если сперматозоиды способны их пройти, то они обладают оплодотворяющей способностью и с высокой вероятностью смогут пройти через слои яйцеклетки и оплодотворить ее [4].

Довольно часто, при проведении стандартных методов оценки качества спермы производителей и определении ее пригодности наблюдается низкая эффективность искусственного осеменения. В этой связи актуальным является проведение дополнительных методов исследований спермы, а именно определение оплодотворяющей способности сперматозоидов.

Цель обзора – проведен анализ данных российских и зарубежных ученых в области оплодотворяющей способности спермы разных видов млекопитающих, факторов ее обуславливающих и методов определения.

Материал и методы. Поиск научных источников российских и зарубежных авторов был выполнен по следующим ключевым словам и словосочетаниям: сперматозоиды, сперма, оплодотворяющая способность, методы оценки. Поиск литературы в рамках данной темы проводили с использованием: поисковых систем Google (<https://www.google.ru>) и Yandex (<https://ya.ru/>); онлайн-каталога GoogleScholar (<https://scholar.google.ru/>); библиотечных ресурсов и баз данных PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>); eLIBRARY.RU (<http://elibrary.ru/defaultx.asp>); ResearchGate (<https://www.researchgate.net/>); CyberLeninka (<https://cyberleninka.ru/>); Scopus (<https://www.scopus.com/>); WebofScience (<https://apps.webofknowledge.com/>). Всего было рассмотрено не менее 110 научных работ, из которых для анализа и составления научной работы включили 55 источников.

Основная часть. Строение сперматозоидов. Сперматозоид является высокодифференцированной клеткой, в строении которой выделяют головку, шейку и жгутик. В жгутике выделяют следующие части: среднюю, основную и концевую. Он содержит много митохондрий, вырабатывающих энергию в виде аденозин-

трифосфата (АТФ), которая обеспечивает движущую силу сперматозоида. В головке сперматозоида находятся гаплоидное ядро с сильно уплотненным хроматином и экзоцитозная гранула – акросома [5]. Сверху акросому покрывает плазматическая мембрана. Акросома и плазматическая мембрана играют большую роль в процессе оплодотворения. Во время акросомальной реакции происходит усиленный приток ионов кальция, плазматическая мембрана соприкасается с наружной акросомной мембраной, образуя поры, затем они сливаются, формируя гибридный пузырек. Результатом этого процесса является выход содержимого акросомы через образовавшиеся поры [6, 7].

При оплодотворении важную роль играет переживаемость сперматозоидов в половых путях самки. Время жизни сперматозоидов отличается у разных видов животных: среди млекопитающих – у сук составляет порядка 9–11 дней; у крупного рогатого скота – 1,5–2 дня; у кобыл – 4–5 дней; у человека – 5–6 дней. Таким образом, сперма у крупных млекопитающих в среднем сохраняет жизнеспособность 5–6 дней до наступления овуляции. Учет этого фактора при оплодотворении повышает вероятность его успеха¹.

Основные постэякуляторные процессы: капацитация, гиперактивация и акросомальная реакция.

Капацитация сперматозоидов. К. Н. Джа и др. (K. N. Jha et al., 2003) в своей работе пишут, что сперматозоиды млекопитающих во время созревания в семенниках приобретают подвижность, а способность к оплодотворению у них появляется во время капацитации в репродуктивном тракте самок [8].

В своем обзоре К. Маэ, А. М. Злотковска, К. Рейно и др. (C. Mahé, A. M. Zlotkowska, K. Reynaud et al., 2021) приводят в пример исследование, которое показывает, что связаться с эпителиальными клетками маточных труб млекопитающих могут только некапацитированные сперматозоиды, обладающие жизнеспособностью и целостностью акросомы [9].

Считается, что если мужская гамета не имеет возможности распознать гликопротеины блестящей оболочки ооцита и связаться с ними, не реагирует на них акросомальной реакцией, то она не сможет в дальнейшем оплодотворить яйцеклетку [10].

Сперматозоиду необходимо суметь распознать яйцеклетку с помощью углеводно-

белковых взаимодействий, вследствие этого он связывается с блестящей оболочкой ооцита, и возникает акросомальная реакция. Результатом этого процесса является проникновение сперматозоида через блестящую оболочку в яйцеклетку, ее оплодотворение [10].

Во время процесса капацитации мужские гаметы подвергаются изменениям, в результате которых приобретают гиперактивированное движение. Оно необходимо им не только для того, чтобы добраться до ооцита, но и для столкновения яйцеклетки и сперматозоида. Последнее способствует соединению гамет для их дальнейшего взаимодействия [10].

Капацитация возникает после воздействия сигнальных веществ на сперматозоиды в репродуктивном тракте самок.

По мнению Н. К. Бернечич, Б. М. Гаделла, Т. Лихи, С. П. де Грааф (N. C. Bernecic, B. M. Gadella, T. Leahy, S. P. de Graaf, 2019), единственным фактором, указывающим на успешное прохождение процесса капацитации, является способность сперматозоида связываться с блестящей оболочкой ооцита и оплодотворять его [11].

Во время капацитации сперматозоид подвергается воздействию различных механизмов подготовки его к активации и оплодотворению. Активировать мужскую гамету могут реакции фосфорилирования блестящей оболочки, которые переводят сперматозоид из стабильного состояния в активное [10].

Капацитация – это комплекс изменений, которым подвергается сперматозоид в репродуктивном тракте самок. Эти изменения включают в себя такие процессы, как реорганизация мембранных белков, изменение метаболизма фосфолипидов мембраны, снижение количества мембранного холестерина. Происходит модификация подвижности сперматозоидов, называемая гиперактивацией, обеспечивающая им возможность прохождения вверх по маточным трубам, а также являющаяся движущей силой, необходимой для проникновения через прозрачную оболочку ооцита [12, 13]. Капацитацию рассматривают как сложный процесс, включающий в себя изменения метаболизма сперматозоида, концентрации внутриклеточных ионов, внутриклеточной реакции среды, концентрации активных форм водорода. Результатом этих изменений является появление оплодотворяющей способности у сперматозоида [8].

¹Сэнджер Ф. Л. Животные: от беременности к родам: учебное пособие. Науч. ред. пер. с англ. К. В. Племяшов. СПб.: ВНИИГРЖ-ПРОФ, 2019. 336 с.

Факторы капацикации. Фактором, активирующим процесс капацикации, считается увеличение концентрации внутриклеточных ионов кальция, бикарбонатов и пероксида водорода, которые в комплексе инициируют выработку циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) аденилатциклазой. После этого происходит активация протеинкиназы А, которая является необходимым компонентом для фосфорилирования белков [12].

Изменения затрагивают также плазматическую мембрану сперматозоида: происходит ее дестабилизация, распределение в ней липидов, фосфолипидов и других молекул. Эти процессы в дальнейшем приводят к увеличению текучести мембраны [12, 14].

Важным веществом, оказывающим влияние на процессы капацикации и акросомальной реакции, является кальций. Он также считается основным посредником в обмене информацией между сперматозоидом и яйцеклеткой [15].

Холестерол является фактором, отвечающим за стабилизацию цитоплазматической мембраны мужской гаметы. Он образует контакт с фосфолипидами мембраны, снижая таким образом ее проницаемость и текучесть [16]. Во время капацикации происходит выход холестерина мембраны, изменение концентрации ионов кальция и цинка внутри клетки, повышение внутриклеточной реакции среды и фосфорилирование тирозина. Эти изменения необходимы клетке для активации дальнейших процессов, приводящих к оплодотворению ооцита [17]. С. К. Джин, У. Х. Янг (S. K. Jin, W. X. Yang, 2017) отмечают, что отток холестерина из мембраны сперматозоидов вызывает снижение подвижности, изменения в текучести и перераспределение липидов мембраны мужской гаметы, что в совокупности способствует капацикации [18]. Перестройка фосфолипидов плазматической мембраны половой клетки в дальнейшем обуславливает связывание сперматозоидов с прозрачной оболочкой и таким образом способствует возникновению акросомальной реакции [19].

В процессе капацикации в мужской гамете происходит образование активных форм кислорода (АФК) в определенном количестве, вследствие чего запускается механизм молекулярных изменений. Под воздействием бикарбонатов происходит преобразование АТФ в цАМФ [20]. Увеличение концентрации цАМФ является важным фактором для активации

ферментов, фосфорилирования белков и контролирования процесса экспрессии генов в дальнейшем [21]. Повышение уровня цАМФ также приводит к появлению у половой клетки гиперактивированного движения. Во время гиперактивации у сперматозоида появляется увеличение подвижности, необходимое для прохождения следующих процессов, приводящих к появлению оплодотворяющей способности [22].

Важное значение в процессе индукции капацикации играет pH среды и спермы. Для возникновения капацикации необходимо внутриклеточное ощелачивание, которое происходит по мере продвижения сперматозоидов по репродуктивному тракту самок [18].

Лабораторные наблюдения за мышами показали, что капацитация и акросомальная реакция у большинства сперматозоидов возникают во время продвижения их от перешейка к ампуле. Это дает возможность пересмотреть мнение о том, что акросомальную реакцию сперматозоидов вызывает именно блестящая оболочка ооцита [23].

Гиперактивация. Для того чтобы оплодотворение произошло, сперматозоиду необходимо добраться до ооцита и суметь прикрепиться к нему. Это происходит благодаря процессу гиперактивации [10].

Гиперактивация – процесс биохимического преобразования сперматозоидов, который проявляется в виде изменений характера их подвижности.

С. С. Суарес (S. S. Suarez, 2008) выделяет гиперактивацию сперматозоидов как подкатегорию капацикации. В процессе капацикации мембрана мужской гаметы подвергается структурным изменениям, к которым относятся увеличение текучести мембраны под действием альбумина и повышение ее проницаемости. Это в совокупности приводит к увеличению притока бикарбонатов и ионов кальция, следствием чего является возникновение гиперактивации. Ученые описывают гиперактивацию как состояние мужских гамет, при котором они становятся крайне подвижными. В результате данного процесса сперматозоид производит высокоамплитудные и ассиметричные движения жгутиком, движется по неправильной траектории, и смещает головку из стороны в сторону. Благодаря гиперактивации сперматозоид становится способным достичь ампулярной части маточной трубы для дальнейшего проникновения в яйцеклетку [24, 25, 26].

После гиперактивации наблюдается связывание сперматозоида с блестящей оболочкой яйцеклетки и запускается акросомальная реакция – процесс взаимодействия внешней и внутренней мембран акросомы с последующим экзоцитозом различных ферментов [27].

Гиперактивация играет важную роль в проникновении через блестящую оболочку ооцита. Это было доказано путем проведения исследования на мышах, в котором предотвращали гиперактивацию у сперматозоидов, не затрагивая акросомальную реакцию. В результате эксперимента гиперактивные гаметы были более успешны в оплодотворении, в отличие от негиперактивных [28, 29].

Для гиперактивации необходимо наличие щелочной реакции среды. Передвижение сперматозоидов по половым путям самок регулируется ионными каналами. В процессе гиперактивации возникает особый вид движения мужской половой клетки против тока жидкости – реотаксис, в результате которого сперматозоид достигает яйцеклетки и может проникнуть в ее прозрачную зону [25].

Гиперактивацию инициируют активные формы кислорода. Эти данные были получены путем инкубации сперматозоидов в среде с низкими концентрациями гидроксида водорода, в результате чего у половых клеток возникала гиперактивация [30].

А. Агарвал и др. (A. Agarwal et al., 2014) отмечают, что во время акросомальной реакции совершаются процессы, схожие с процессами, происходящими при капацитации. АФК во время акросомальной реакции необходимы сперматозоидам для воздействия на блестящую оболочку путем фосфорилирования белков плазматической мембраны. Это было доказано проведением исследования *in vitro*: акросомальная реакция активировалась при добавлении в семенную жидкость физиологических концентраций АФК, таких как пероксид водорода, оксид азота, супероксид [22].

На поверхности сперматозоидов имеются углевод-связывающие белки, посредством которых они взаимодействуют с олигосахаридными комплексами блестящей оболочки яйцеклетки. Таким образом происходит процесс распознавания ооцита. При связывании белков и лигандов активируется цикл сигнальных реакций, который приводит к акросомальной реакции. Результатом этих процессов является проникновение сперматозоида через блестящую оболочку ооцита [13].

Акросомальная реакция – является рецепторопосредованным процессом выброса содержимого акросомы, который дает мужской гамете возможность пройти через оболочки ооцита [31].

Во время акросомальной реакции происходит выход таких веществ, как протеазы и гиалуронидаза, которые в совокупности помогают сперматозоиду проникнуть через прозрачную оболочку яйцеклетки для дальнейшего ее оплодотворения [32].

Э. Балди и др. (E. Baldi et al., 1998) выделяют прогестерон как один из главных стимулов акросомальной реакции, так как его количество в месте оплодотворения является достаточно большим. Данный гормон оказывает влияние на такие процессы и функции мужской гаметы, как подвижность, капацитация и акросомальная реакция. Было обнаружено, что реакция сперматозоидов на прогестерон у инфертильных мужчин происходит с нарушениями. Это имеет связь с вероятной возможностью оплодотворения яйцеклетки, а также может использоваться при оценке оплодотворяющей способности мужских гамет [33].

Важную роль в регуляции выброса веществ из акросомы играет внутриклеточный кальций. Одними из факторов индукции акросомальной реакции считаются такие вещества, как гликопротеин блестящей оболочки ооцита, прогестерон и кальций-ионофоры. Результатом действия этих веществ является повышение межклеточной концентрации ионов кальция и усиление притока этих ионов из внешней среды [12].

Роль АФК в акросомальной реакции была доказана путем добавления физиологических концентраций кислорода, перекиси водорода и оксида азота в семенную плазму. В результате этого эксперимента у сперматозоидов наблюдалась активация акросомальной реакции [22].

Считается, что акросомальная реакция должна возникать непосредственно вблизи яйцеклетки после некоторых биохимических изменений, происходящих в процессе капацитации, а также после индукции различными веществами и процессами, такими как взаимодействие с прозрачной оболочкой ооцита, воздействие ионов кальция, активных форм кислорода, прогестерона [34]. Одним из факторов, необходимых для возникновения акросомальной реакции, является образование F-актина, происходящее во время процесса капацитации, а затем его диспергирование [35].

В случае нарушения или прекращения образования F-актина при капацитации формируется спонтанная акросомальная реакция – она происходит до достижения сперматозоидом ооцита и без каких-либо стимулирующих факторов. Следствием этого является невозможность возникновения процесса оплодотворения [36].

В нескольких исследованиях было описано, что интактная акросома необходима спермиям мышей для хемотаксиса и сближения с ооцитом, вследствие этого был сделан вывод о том, что сперматозоиды со спонтанной акросомной реакцией не будут реагировать на химические сигналы от яйцеклетки, а значит не смогут к ней прикрепиться и оплодотворить ее [34, 35, 37].

Исследование сперматозоидов на качество акросомальной реакции (спонтанной и физиологической) необходимо, так как степень спонтанной акросомальной реакции имеет отрицательную корреляцию с частотой наступления беременности, а также с получением нормального потомства [35, 38].

Методы оценки оплодотворяющей способности. Учитывая важность постэякуляционных процессов, актуальным является определение оплодотворяющей способности сперматозоидов. Одним из методов оценки является спермограмма.

Стандартная спермограмма не дает 100%-й гарантии того, что сперматозоиды обладают оплодотворяющей способностью, потому что оцениваются только внешние их характеристики. Эти данные дают возможность получить общее представление о качестве спермы, однако не дают информации о других важных параметрах, также имеющих значение для оплодотворения яйцеклетки. Таким образом, даже при нормальной спермограмме оплодотворение может не произойти [22]. В связи с этим, при наличии низкой эффективности искусственного осеменения, а также определения репродуктивного потенциала самцов-производителей актуальным является детальное изучение фертильного статуса сперматозоидов.

Известно, что гиалуроновая кислота является одним из основных компонентов наружной (внеклеточной) оболочки яйцеклетки – лучистого венца. Зрелый сперматозоид должен обладать способностью связываться с этим веществом для возможности оплодотворения. Поэтому оценка реакции связывания сперматозоида с гиалуроновой кислотой явля-

ется важным критерием при определении его оплодотворяющей способности.

На сегодняшний день одним из таких методов является НВА-тест (анализ связывания гиалуроновой кислоты). Методика теста заключается в наслоении небольшого количества спермы на предметное стекло, на котором уже присутствует гиалуроновая кислота. Сперматозоиды должны связаться с ней посредством имеющихся на их мембране рецепторов. При связывании гаметы будут останавливаться в одном месте, продолжая активно двигать хвостиком. Незрелые сперматозоиды не имеют рецепторов к гиалуроновой кислоте, вследствие чего они будут продолжать свое движение без остановки. По истечении нескольких минут производят подсчет связанных подвижных и общих подвижных клеток с использованием фазово-контрастной микроскопии [26].

Данный тест используется для оценки зрелости сперматозоидов, их способности оплодотворить яйцеклетку.

Другой тест – SpermSlow – метод определения связывания сперматозоидов с гиалуроновой кислотой. SpermSlow – это вязкая среда, содержащая гиалуроновую кислоту, в которой зрелые сперматозоиды резко замедляют свое движение, что обеспечивает возможность отобрать их для дальнейшего использования [39].

Оплодотворяющая способность мужской гаметы зависит от разных факторов, одним из них является способность к акросомальной реакции.

К. Охашаи и др. (K. Ohashi et al., 1995) предлагают в качестве диагностики оплодотворяющей способности тест Acrobeads. С помощью него определяют экспрессию молекулы белка CD46 на внутренней акросомальной мембране после акросомальной реакции. Методика заключается в том, что подвижные сперматозоиды образуют комплекс с иммуноглобулинами, покрытыми моноклональными антителами МН61 против белка CD46. По мере развития акросомальной реакции комплекс сперматозоид-иммуноглобулин становится больше, сам процесс можно наблюдать в виде агглютинации с помощью фазово-контрастного микроскопа. Комплекс образуется только в случае целостности акросомы и нормальной подвижности мужской гаметы. В результате тест можно использовать для оценки сразу двух факторов оплодотворяющей способности – подвижность и функционирование головки [40].

А. Хершлаг и др. (A. Hershlag et al., 1997) провели исследование, в котором сравнивали результаты теста Acrobeds с результатами окрашивания TRITC-PSA. Тест Acrobeds не имел достоверной корреляции со скоростью осеменения и количеством сперматозоидов, подвергшихся спонтанной акросомной реакции. Исходя из этого был сделан вывод о том, что метод Acrobeds не рекомендован к повседневному использованию в качестве диагностики оплодотворяющей способности сперматозоидов и может использоваться только как дополнительный метод исследования [41].

Одним из популярных методов определения оплодотворяющей способности сперматозоидов является анализ на проникновение сперматозоидов (SPA) с использованием ооцитов хомяка, не содержащих прозрачную оболочку [40]. SPA (Sperm Penetration Assay) – многоэтапный сложный тест для определения функциональной способности сперматозоида связываться с оболочкой яйцеклетки, проникать в нее и подвергаться деконденсации. К подготовленным ооцитам хомяка добавляют тестируемые сперматозоиды, инкубируют их и измеряют количество мужских гамет, проникших в яйцеклетку. В процессе теста также проводится анализ способности данных клеток подвергаться необходимым для оплодотворения реакциям (капацитация, гиперактивация и акросомальная реакция) [42]. Его проводят редко по причине отсутствия экономической выгоды, высокой трудоемкости, присутствия достаточного количества ложноотрицательных результатов [43].

Факторы, влияющие на оплодотворяющую способность сперматозоидов. На оплодотворяющую способность могут оказывать влияние нарушения обмена веществ в организме. В своей работе Х. Чемлал и др. (H. Chemlal et al., 2020) описали влияние гликемии на мужскую фертильность. По результатам их исследования было выявлено, что плазма людей, больных диабетом, воздействует на все параметры подвижности сперматозоидов, а наиболее отрицательное воздействие оказывает высокий уровень гликолизированного гемоглобина (HbA_{1c}) – необратимое соединение гемоглобина эритроцитов с глюкозой [44]. Таким образом, помимо основных параметров спермограммы, людям с диабетом необходимо проводить также анализ на уровень гликемии. Для определения фертильности сперматозоидов в данном случае можно сделать тест

на окислительный стресс (ОС), например, проверить уровень ОС с помощью реакции на тиобарбитуровую кислоту. Его суть заключается в связывании этого вещества со стабильными продуктами окисления [45].

Окислительный стресс является важным фактором, влияющим на фертильность сперматозоидов. Для сохранения функции мужских гамет необходимо небольшое количество активных форм кислорода, однако превышение их уровня негативно воздействует на качество сперматозоидов и их оплодотворяющую способность, так как повреждаются структурная целостность клетки, ее ДНК, белки, липиды, нарушаются ферментативные системы [22]. АФК играют важную роль в постэякуляционных процессах – капацитации, гиперактивации и акросомальной реакции. Поэтому важно проводить оценку количества АФК, так как если их показатели выходят за пределы нормы – возникают нарушения в процессе оплодотворения, вызванные окислительным стрессом [46]. Во время ОС превышение количества АФК будет подавлять антиоксидантную систему организма, воздействуя на ДНК, липиды, белки сперматозоидов, влияя на ферментативные системы, вызывая необратимые изменения и приводить к гибели клетки [22].

Наиболее простой метод измерения количества АФК сперматозоидов – реакция с нитросиним тетразолием с применением световой микроскопии. Суть метода заключается в превращении реагента в синий пигмент при взаимодействии с супероксидом, который выделяется сперматозоидом [45].

В качестве тестов на окислительный стресс также используется оценка количества карбонильных производных аминокислотных остатков в белках. Данные соединения являются хорошим показателем для определения изменения белков под действием окислителей. Метод оценки заключается в проведении реакции между спермой и 2,4-динитрофенилгидразином, в результате которой образуются вещества, обладающие узким спектром поглощения в видимой и ультрафиолетовой частях спектра [45].

В своем обзоре М. М. Атрошенко и Д. В. Медведев (2023) предлагают хемотропно-флуоресцентный анализ для прямого измерения генерации активных форм кислорода сперматозоидами. С помощью этого метода измеряются внутриклеточные и внеклеточные АФК, для чего используют прибор люминометр

в совокупности с хемилюминисцентным зондом, например, люминолом. Люминол является крайне чувствительным веществом, и поэтому вступает в реакцию с различными АФК при нейтральном pH. В результате взаимодействия свободных радикалов с люминолом образуется световой сигнал, который преобразуется в фотон и улавливается люминометром. Измеряется количество фотонов в минуту [45, 22].

Окислительные процессы могут приводить к повреждению хроматина в ядре сперматозоида, что может повлечь за собой различные нарушения генетического аппарата клетки и нарушению ее оплодотворяющей способности. В ДНК встречаются такие нарушения, как одноцепочечные и двуцепочечные разрывы нитей. Первые появляются в результате повреждения ДНК продуктами окисления, а вторые являются результатом воздействия на ДНК продуктов липопероксидации [47]. Нарушения в виде 1- и 2-цепочечных разрывов можно обнаружить с помощью метода TUNEL (маркировка терминальной трансферазы dUTP Nick End). Метод основан на идентификации разрывов ДНК путем добавления к исследуемым клеткам терминальной дезоксиинуклеотидилтрансферазы – этот фермент катализирует присоединение меченых флуорохромом дезоксиинуклеотидов к концам разрывов цепи ДНК. Далее с помощью проточной цитометрии измеряют флуоресцентный сигнал, который прямо пропорционален фрагментации ДНК у анализируемых сперматозоидов [48]. Данный метод позволяет быстро и качественно оценить, и измерить порядка 10000 клеток [49].

Для идентификации степени повреждения геномной ДНК также используется метод ДНК-комет, основанный на миграции разорванных нитей ДНК к аноду в агаровом геле во время электрофореза [49]. Клетки помещают в агарозный гель, обрабатывают лизирующим раствором и ферментами, специфичными к конкретным нарушениям. Запускается процесс электрофореза, в результате которого ДНК выходит из клетки и движется в направлении анода. По мере движения образуется шлейф, наблюдаемый в флуоресцентный микроскоп. Чем больше разрывов в ДНК, тем сильнее выражено движение ее фрагментов. После этого стекла с ДНК нейтрализуют и окрашивают для визуализации с использованием флуоресцентного микроскопа. Если практически вся ДНК фрагментирована, то чаще всего такая клетка является мертвой. В результате движения ДНК

образуется дисперсионный рисунок, напоминающий хвост кометы [50].

Для определения сперматозоидов, которые способны проникать через цервикальную слизь, используют метод swim-up, имитирующий естественное перемещение сперматозоидов в культуральной среде [26]. Методика заключается в следующем: отбирают эякулят, добавляют к нему равный объем буфера для гамет, центрифугируют. После удаляют надосадочную жидкость, осадок ресуспендируют в буфере для гамет. Снова удаляют супернатант, на осадок наслаивают среду для сперматозоидов и инкубируют. Отбирают надосадочную жидкость со всплывшими гаметами в чистую пробирку, затем подсчитывают концентрацию спермиев [51].

Определить концентрацию и степень подвижности сперматозоидов в цервикальной слизи можно с помощью посткоитального теста. Суть его заключается в исследовании этих факторов в гиалуроновом полимере (аналог цервикальной слизи). Учеными была доказана статистическая взаимосвязь между проникновением гаметы через полимер и его способностью к слиянию с яйцеклеткой [27].

Нарушения в хромосомном материале могут приводить к снижению оплодотворяющей способности сперматозоидов. Исследования показали, что сперматозоиды с высокими показателями хромосомных аномалий, таких как анеуплоидия, имеют более низкие показатели оплодотворения, чем нормальные [52]. Анализ хромосомного набора сперматозоида можно проводить путем FISH (флуоресцентная гибридизация in situ) -диагностики с использованием флуоресцентных зондов. Этим методом можно определить изменения, возникшие в ядрах мужской гаметы, а также проследить за количеством спермиев с аномалиями в хромосомах. Суть метода заключается в использовании флуоресцентных зондов – коротких последовательностей ДНК, меченых флуоресцентной меткой, которые комплементарны последовательностям ДНК исследуемых аберрантных хромосом, то есть для разных аномалий используются разные ДНК-зонды. Для обеспечения доступа зондов к хроматину ядра сперматозоидов частично деконденсируют в лизирующем растворе. ДНК-зонды связываются с комплементарной последовательностью, в результате чего образуется специфическое свечение, позволяющее судить о наличии аберрантных хромосом. Обнаружить свечение

можно с помощью флуоресцентного микроскопа. При отсутствии хромосомной аномалии несвязанные зонды отмываются в процессе реакции, а свечение не обнаруживается [53].

Метод количественного кариологического анализа, предложенный Л. Ф. Курило и соавторами (1993), используется для анализа незрелых гамет. Суть метода заключается в подсчете клеток, которые проходят разные стадии мейоза или дифференцировки. С помощью него можно изучить процесс сперматогенеза, определить количество незрелых половых клеток и найти стадию, на которой произошло нарушение [54, 55].

Заключение. Проводя анализ данных, нужно отметить, что оплодотворяющая способность сперматозоидов является ключевым критерием успешности проведения искусственного осеменения. Сперматозоид приобретает фертильность при завершении постэякуляционных процессов, таких как капацитация, гиперактивация и акросомальная реакция. В этой связи первоочередной задачей является

определение фертильного статуса сперматозоидов, используя достоверные и информативные методы. К ним относятся НВА-тест, SpermSlow, SPA, Acrobeads, Swim-up, TUNEL, FISH, реакции на окислительный стресс, определение АФК. Одним из наиболее достоверных на данный момент считается НВА-тест, который помогает в определении уровня зрелости сперматозоидов, а, следовательно, и способности оплодотворения ооцита. Акросомальная реакция также играет большую роль в процессе оплодотворения, так как ее результатом является проникновение через прозрачную оболочку ооцита и дальнейшее его оплодотворение. Для определения целостности акросомы, без которой не будет нормальной акросомальной реакции, используют тест Acrobeads – фиксируют образование комплекса подвижных сперматозоидов с иммуноглобулинами. Учитывая сложность реализации данных методик с материально-технической точки зрения, а также высокую стоимость, актуальным является разработка отечественных наборов.

References

1. Peñagaricano F. Genomics and Dairy Bull Fertility. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2024;40(1):185–190. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2023.08.005>
2. Rahman M. S., Kwon W. S., Pang M. G. Prediction of male fertility using capacitation-associated proteins in spermatozoa. *Molecular Reproduction Development*. 2017;84(9):749–759. DOI: <https://doi.org/10.1002/mrd.22810>
3. Morales P., Llanos M. Interaction of human spermatozoa with the zona pellucida of oocyte: development of the acrosome reaction. *Frontiers in Bioscience Landmark*. 1996;1(4):146–160. DOI: <https://doi.org/10.2741/a122>
4. Xu F., Guo G., Zhu W., Fan L. Human sperm acrosome function assays are predictive of fertilization rate in vitro: a retrospective cohort study and metaanalysis. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2018;16(1):81. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12958-018-0398-y>
5. Teves M. E., Roldan E. R. S. Sperm bauplan and function and underlying processes of sperm formation and selection. *Physiological Reviews*. 2022;102(1):7–60. DOI: <https://doi.org/10.1152/physrev.00009.2020>
6. Брагина Е. Е. Интерпретация спермограммы. Структура и функция сперматозоидов в норме и при нарушении фертильности. М.: Изд-во «Практическая медицина», 2024. 240 с.
7. Bragina E. E. Interpretation of the spermogram. Structure and function of spermatozoa in normal and in case of fertility disorders. Moscow: *izd-vo «Prakticheskaya meditsina»*, 2024. 240 p.
8. Flesch F. M., Gadella B. M. Dynamics of the mammalian sperm plasma membrane in the process of fertilization. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Reviews on Biomembranes*. 2000;1469(3):197–235. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0304-4157\(00\)00018-6](https://doi.org/10.1016/s0304-4157(00)00018-6)
9. Jha K. N., Kameshwari D. B., Shivaji S. Role of signaling pathways in regulating the capacitation of mammalian spermatozoa. *Cellular and molecular biology (Noisy-le-grand)*. 2003;49(3):329–340.
10. Mahé C., Zlotkowska A. M., Reynaud K., Tsikis G., Mermillod P., Druart X. et al. Sperm migration, selection, survival, and fertilizing ability in the mammalian oviduct†. *Biology of Reproduction*. 2021;105(2):317–331. DOI: <https://doi.org/10.1093/biolre/ioab105>
11. Töpfer-Petersen E., Petrounina A. M., Ekhlesi-Hundrieser M. Oocyte-sperm interactions. *Animal Reproduction Science*. 2000;60-61:653–662. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0378-4320\(00\)00128-7](https://doi.org/10.1016/s0378-4320(00)00128-7)
12. Bernecic N. C., Gadella B. M., Leahy T., de Graaf S. P. Novel methods to detect capacitation-related changes in spermatozoa. *Theriogenology*. 2019;137:56–66. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.05.038>
13. Witte T. S., Schäfer-Somi S. Involvement of cholesterol, calcium and progesterone in the induction of capacitation and acrosome reaction of mammalian spermatozoa. *Animal Reproduction Science*. 2007;102(3-4):181–193. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.07.007>

13. Yanagimachi R. Fertility of Mammalian Spermatozoa: Its Development and Relativity. *Zygote*. 1994;2(4):371–372. DOI: <https://doi.org/10.1017/s0967199400002240>
14. Cross N. L. Decrease in order of human sperm lipids during capacitation. *Biology of Reproduction*. 2003;69(2):529–534. DOI: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.102.013052>
15. Darszon A., López-Martínez P., Acevedo J. J., Hernández-Cruz A., Treviño C. L. T-type Ca²⁺ channels in sperm function. *Cell Calcium*. 2006;40(2):241–252. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cecc.2006.04.028>
16. Денисенко В. Ю., Кузьмина Т. И., Бойцева Е. Н. Индукция капацитации бычьих сперматозоидов до криоконсервации повышает их жизнеспособность после размораживания. *Гены и клетки*. 2018;13(2):72–76. DOI: <https://doi.org/10.23868/201808023> EDN: YWRTQD
- Denisenko V. Yu., Kuzmina T. I., Boytseva E. N. Induction of capacitation of bovine spermatozoa before cryopreservation increases their viability after thawing. *Geny i kletki* = Genes & Cells. 2018;13(2):72–76. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.23868/201808023>
17. Leemans B., Stout T. A. E., De Schauwer C., Heras S., Nelis H., Hoogewijs M. et al. Update on mammalian sperm capacitation: How much does the horse differ from other species? *Reproduction*. 2019;157(5):R181–R197. DOI: <https://doi.org/10.1530/REP-18-0541>
18. Jin S. K., Yang W. X. Factors and pathways involved in capacitation: how are they regulated? *Oncotarget*. 2017;8(2):3600–3627. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12274>
19. Boerke A., Tsai P. S., Garcia-Gil N., Brewis I. A., Gadella B. M. Capacitation-dependent reorganization of microdomains in the apical sperm head plasma membrane: functional relationship with zona binding and the zona-induced acrosome reaction. *Theriogenology*. 2008;70(8):1188–1196. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.06.021>
20. Hess K. C., Jones B. H., Marquez B., Chen Y., Ord T. S., Kamenetsky M. et al. The “soluble” adenylyl cyclase in sperm mediates multiple signaling events required for fertilization. *Developmental Cell*. 2005;9(2):249–259. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2005.06.007>
21. Tsai W. W., Niessen S., Goebel N., Yates J. R., Guccione E., Montminy M. PRMT5 modulates the metabolic response to fasting signals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2013;110(22):8870–8875. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1304602110>
22. Agarwal A., Virk G., Ong C., du Plessis S. S. Effect of oxidative stress on male reproduction. *The World Journal of Men's Health*. 2014;32(1):1–17. DOI: <https://doi.org/10.5534/wjmh.2014.32.1.1>
23. La Spina F. A., Puga Molina L. C., Romarowski A., Vitale A. M., Falzone T. L. et al. Mouse sperm begin to undergo acrosomal exocytosis in the upper isthmus of the oviduct. *Developmental Biology*. 2016;411(2):172–182. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2016.02.006>
24. Suarez S. S. Control of hyperactivation in sperm. *Human Reproduction Update*. 2008;14(6):647–657. DOI: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmn029>
25. Беляева Л. А., Шурыгина О. В., Жилкина М. П., Миронов С. Ю., Кулакова О. В., Бовтунова С. С., Шурыгина А. С. Гиперактивация сперматозоидов и ее роль в процессе оплодотворения. *Acta Medica Eurasica*. 2024;(1):74–81. DOI: <https://doi.org/10.47026/2413-4864-2024-1-74-81> EDN: PXYRYW
- Belyaeva L. A., Shurygina O. V., Zhilkina M. P., Mironov S. Yu., Kulakova O. V., Bovtunova S. S., Shurygina A. S. Hyperactivation of spermatozoa and its role in the fertilization process. *Acta Medica Eurasica*. 2024;(1):74–81. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.47026/2413-4864-2024-1-74-81>
26. Marchlewska K., Erkiert-Kusiak M., Walczak-Jędrzejowska R., Słowikowska-Hilczek J. Sperm Migration and Hyaluronic Acid Binding: Implications for Male Fertility Evaluation. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(18):9995. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms25189995>
27. Федорова И. Д., Кузнецова Т. В. Генетические факторы мужского бесплодия. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2007;56(1):64–72. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=9483636> EDN: HEUFLB
- Fedorova I. D., Kuznetsova T. V. Geneticheskie faktory muzh-skogo besplodiya. *Zhurnal akusherstva i zhen-skikh bolezney* = Journal of obstetrics and women's diseases. 2007;56(1):64–72. (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=9483636>
28. Stauss C. R., Votta T. J., Suarez S. S. Sperm motility hyperactivation facilitates penetration of the hamster zona pellucida. *Biology of reproduction*. 1995;53(6):1280–1285. DOI: <https://doi.org/10.1095/biolreprod53.6.1280>
29. Ho H. C., Suarez S. S. Hyperactivation of mammalian spermatozoa: function and regulation. *Reproduction*. 2001;122(4):519–526. DOI: <https://doi.org/10.1530/rep.0.1220519>
30. Makker K., Agarwal A., Sharma R. Oxidative stress & male infertility. *Indian Journal of Medical Research*. 2009;129(4):357–367.
31. Tesarik J. Acrosome reaction testing. Report of the consensus workshop on advanced diagnostic andrology techniques. ESHRE, Andrology Special Interest Group Hum. Reprod, 1996. Vol. 11. pp. 1463–1479.
32. Ramalho-Santos J., Schatten G., Moreno R. D. Control of membrane fusion during spermiogenesis and the acrosome reaction. *Biology of Reproduction*. 2002;67(4):1043–1051. DOI: <https://doi.org/10.1095/biolreprod67.4.1043>

33. Baldi E., Luconi M., Bonaccorsi L., Forti G. Nongenomic effects of progesterone on spermatozoa: mechanisms of signal transduction and clinical implications. *Frontiers in Bioscience Landmark*. 1998;3(4):1051–1059. DOI: <https://doi.org/10.2741/a345>
34. Bowker Z., Goldstein S., Breitbart H. Protein acetylation protects sperm from spontaneous acrosome reaction. *Theriogenology*. 2022;191:231–238. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.08.005>
35. Breitbart H., Grinshtein E. Mechanisms That Protect Mammalian Sperm from the Spontaneous Acrosome Reaction. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(23):17005. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms242317005>
36. Shabtay O., Breitbart H. CaMKII prevents spontaneous acrosomal exocytosis in sperm through induction of actin polymerization. *Developmental Biology*. 2016;415(1):64–74. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2016.05.008>
37. Guidobaldi H. A., Hirohashi N., Cubilla M., Buffone M. G., Giojalas L. C. An intact acrosome is required for the chemotactic response to progesterone in mouse spermatozoa. *Molecular Reproduction and Development*. 2017;84(4):310–315. DOI: <https://doi.org/10.1002/mrd.22782>
38. Xuan X. J., Xu C., Zhao Y. R., Wu K. L., Chen T., Zhang H. B. et al. Application of spontaneous acrosome reaction of sperm in prediction of outcome of in-vitro fertilization and embryo transfer. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2016;96(16):1285–1288. DOI: <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2016.16.013>
39. Назаренко Р. В., Здановский В. М. Методы селекции сперматозоидов для процедуры интрацитоплазматической инъекции сперматозоида в программах экстракорпорального оплодотворения (обзор литературы). *Проблемы репродукции*. 2019;25(2):83–89. DOI: <https://doi.org/10.17116/repro20192502183> EDN: RVNRSH
- Nazarenko R. V., Zdanovskiy V. M. Sperm selection methods in IVF programs (literature review). *Problemy reproduksii* = Russian Journal of Human Reproduction. 2019;25(2):83–89. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17116/repro20192502183>
40. Ohashi K., Saji F., Kato M., Tsutsui T., Tomiyama T., Tanizawa O. Acrobeads test: a new diagnostic test for assessment of the fertilizing capacity of human spermatozoa. *Fertility and Sterility*. 1995;63(3):625–630.
41. Hershlag A., Paine T., Scholl G. M., Rosenfeld D. L., Mandel F. S., Zhu J. Z. et al. Acrobeads test as a predictor of fertilization in vitro. *American Journal of Reproductive Immunology*. 1997;37(4):291–299. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.1997.tb00232.x>
42. Lazarevic J., Wikarczuk M., Somkuti S. G., Barmat L. I., Schinfeld J. S., Smith S. E. Hyaluronan binding assay (HBA) vs. sperm penetration assay (SPA): Can HBA replace the SPA test in male partner screening before in vitro fertilization? *Journal of experimental & clinical assisted reproduction*. 2010;7:2.
43. Burkman L. J., Coddington C. C., Franken D. R., Kruger T. F., Rosenwaks Z., Hodgen G. D. The hemizona assay (HZA): development of a diagnostic test for the binding of human spermatozoa to the human hemizona pellucida to predict fertilization potential. *Fertility and Sterility*. 1988;49:688–697.
44. Chemlal H., Bensalem S., Bendiab K., Azzar M., Benberkane A., Lalaoui K. et al. High HbA_{1c} levels affect motility parameters and overexpress oxidative stress of human mature spermatozoa. *Andrologia*. 2021;53(1):e13902. DOI: <https://doi.org/10.1111/and.13902>
45. Атрощенко М. М., Медведев Д. В. Биохимические маркеры качества спермы жеребцов (обзор). *Сельскохозяйственная биология*. 2023;58(2):249–259. DOI: <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2023.2.249rus> EDN: WTNMEO
- Atroshchenko M. M., Medvedev D. V. Biochemical markers of stallion sperm quality (review). *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya* = Agricultural Biology. 2023;58(2):249–259. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2023.2.249rus>
46. Saleh R. A., Agarwal A. Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practice. *Journal of Andrology*. 2002;23:737–752.
47. Badouard C., Ménéz Y., Panteix G., Ravanat J. L., Douki T., Cadet J., Favier A. Determination of new types of DNA lesions in human sperm. *Zygote*. 2008;16(1):9–13. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0967199407004340>
48. Neelke D. M., El-Khatib I. Chapter 25 – How to set up an andrology laboratory for a fertility center? *Handbook of Current and Novel Protocols for the Treatment of Infertility*. Academic Press, 2024. pp. 345–355. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85687-4.00005-1>
49. Kandil H., Farkouh A., Saleh R., Boitrelle F., Agarwal A. Chapter 3 – Sperm DNA fragmentation and male infertility: a comprehensive review for the clinicians. *Handbook of Current and Novel Protocols for the Treatment of Infertility*. Academic Press, 2024. pp. 29–52. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85687-4.00018-X>
50. Kang S. H., Kwon J. Y., Lee J. K., Seo Y. R. Recent advances in in vivo genotoxicity testing: prediction of carcinogenic potential using comet and micronucleus assay in animal models. *Journal of Cancer Prevention*. 2013;18(4):277–288. DOI: <https://doi.org/10.15430/jcp.2013.18.4.277>
51. Плосконос М. В. Сравнительная характеристика методов выделения сперматозоидов из нативного эякулята мужчин. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016;61(6):342–347. DOI: <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2016-61-6-342-347> EDN: WFDVQH

Ploskonos M. V. The comparative characteristic of techniques of isolation of spermatozoons from native male ejaculate. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* = Clinical Laboratory Diagnostics. 2016;61(6):342–347. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2016-61-6-342-347>

52. Rubio C., Gil-Salom M., Simón C., Vidal F., Rodrigo L., Mínguez Y. et al. Incidence of sperm chromosomal abnormalities in a risk population: relationship with sperm quality and ICSI outcome. *Human Reproduction*. 2001;16(10):2084–2092. DOI: <https://doi.org/10.1093/humrep/16.10.2084>

53. Muriel L., Goyanes V., Segrelles E., Gosálvez J., Alvarez J. G., Fernández J. L. Increased aneuploidy rate in sperm with fragmented DNA as determined by the sperm chromatin dispersion (SCD) test and FISH analysis. *Journal of Andrology*. 2007;28(1):38–49. DOI: <https://doi.org/10.2164/jandrol.106.000067>

54. Курило Л. Ф., Любашевская И. А., Дубинская В. П., Гаева Т. Н. Кариологический анализ состава незрелых половых клеток эякулята. *Урология и нефрология*. 1993;(2):45–47.

Kurilo L. F., Lyubashevskaya I. A., Dubinskaya V. P., Gaeva T. N. Karyological analysis of the composition of immature ejaculate germ cells. *Urologiya i nefrologiya*. 1993;(2):45–47. (In Russ.).

55. Андреева М. В., Штаут М. И., Добродеева Л. Т., Сорокина Т. М., Черных В. Б., Курило Л. Ф. Количественный кариологический анализ незрелых половых клеток из эякулята при нормальной концентрации сперматозоидов. *Андрология и генитальная хирургия*. 2022;(1):37–44.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2022-23-1-37-44> EDN: MVMVPV

Andreeva M. V., Shtaut M. I., Dobrodeeva L. T., Sorokina T. M., Chernykh V. B., Kurilo L. F. Kolichestvennyy kariologicheskiy analiz nezrelykh polovykh kletok iz eyakulyata pri normal'noy kontsentratsii spermatozoidov. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya*. 2022;23(1):37–44. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2022-23-1-37-44>

Сведения об авторах

Берелет Татьяна Юрьевна, студент, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», ул. Черниговская, д. 5, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, 196084, e-mail: secretary@spbguv.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-5630-8987>

✉ **Корочкина Елена Александровна**, доктор вет. наук, доцент, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», ул. Черниговская, д. 5, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, 196084, e-mail: secretary@spbguv.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7011-4594>, e-mail: e.kora@mail.ru

Information about the authors

Tatiana Y. Berelet, student, Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine, Chernigovskaya St., 5, Saint Petersburg, Russian Federation, 196084, e-mail: secretary@spbguv.ru,

ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-5630-8987>

✉ **Elena A. Korochkina**, DSc in Veterinary Science, Associate Professor, Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine, Chernigovskaya St., 5, Saint Petersburg, Russian Federation, 196084, e-mail: secretary@spbguv.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7011-4594>, e-mail: e.cora@mail.ru

✉ – Для контактов / Corresponding author