

В.А. БОЖЕДОМОВ,
Н.А. ЛИПАТОВА,
М.В. ТОРОПЦЕВА,
Г.Е. БОЖЕДОМОВА,
И.В. УШАКОВА,
Е.Л. ГОЛУБЕВА,
М.А. НИКОЛАЕВА,
Е.В. АБРОСИМОВА,
Г.Т. СУХИХ

Клиническая больница
Росздрава, НЦАГиП
им. В.И. Кулакова,

ММА им. И.М. Сеченова,
Москва

Эффективность лекарственного комплекса, включающего карнитины, при лечении различных нарушений качества спермы

Наиболее важными биохимическими предикторами нарушения качества спермы в настоящее время считают карнитины, которые участвуют в обеспечении сперматозоидов энергией, необходимой для дыхания и движения, за счет переноса ацил-группы и окислительного фосфорилирования жирных кислот в митохондриях (2-4).

Существует мнение (5-7), что карнитины, кроме того, обладают прямой антиоксидантной активностью и защищают сперматозоиды от действия избыточного количества активных форм кислорода (АФК) – известно, что гиперпродукция АФК является одним из важных патогенетических факторов, снижающих фертильность мужчин (8, 9). Рядом исследователей отмечается прямая корреляция между концентрацией в сперме карнитина, с одной стороны, и концентрацией, общей и прогрессивной подвижностью, жизнеспособностью сперматозоидов, целостностью их ДНК и способностью проникать в цервикальную слизь, с другой (7).

Цель настоящего исследования – изучить эффективность применения лекарственного комплекса Спермактин®, включающего

L-карнитин и ацетил-L-карнитин, при различных нарушениях качества эякулята и установить взаимосвязь наблюдаемых эффектов с продукцией АФК.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследуемую группу вошли 97 мужчин из бесплодных пар. Критериями включения служили:

- отсутствие беременности в браке более 12 месяцев половой жизни без контрацепции;
- отсутствие инфекций репродуктивного тракта (*Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Trichomonas vaginalis*), диагностированных методом полимеразной цепной реакции;
- отсутствие клинических и лабораторных признаков воспалительного процесса дополнительных половых желез;
- отсутствие выраженных аутоиммунных реакций против сперматозоидов, антиспермальные антитела (АСАТ) покрывают не более десятой части подвижных гамет (MAR IgG < 10%);
- концентрация сперматозоидов не менее 5 млн/мл;
- отсутствие эякуляторных нарушений;
- отсутствие выраженной соматической патологии.

Пациенты получали Спермактин® (L-карнитин фумарат (1000 г), ацетил-L-карнитин (500 мг), фруктозу (2000 мг) дважды в сутки перорально, а также альфа-токоферол ацетат 400 мг/сут.

Исследование спермы до и во время лечения проводили в соответствии с требованиями ВОЗ (1): определяли концентрацию, подвижность и долю нормальных форм, вычисляли индекс качества спермы – количество прогрессивно подвижных и морфологически нормальных сперматозоидов в эякуляте (объем × концентрация × доля прогрессивно подвижных × доля морфологически нормальных форм). Методом смешанной реакции агглютинации (MAR) определяли процент подвижных сперматозоидов, покрытых АСАТ (1). Методом люминолзависимой хемилюминесценции определяли продукцию в сперме активных форм кислорода (АФК) (1). Нормальной считали продукцию АФК не более 0,44 мВ/с (8). Для оценки спонтанной и индуцированной ионофором А23187 АР использовали способ двойного флуоресцентного окрашивания сперматозоидов с использованием ФИТС-меченого лектина *P. sativum* и ТРИЦ-меченого лектина *A. hypogaea* (23). Спонтанную АР более чем у 20% сперматозоидов считали преждевременной, приращение менее 15% сперматозоидов с АР после добавления ионофора считали недостаточностью индуцированной АР (24).

Обработку эмпирических данных проводили с использованием

Через 3 месяца лечения Спермактином® у 74% мужчин индуцируемость АР увеличилась в 3,1 раза. У 53% пациентов возрастает доля прогрессивно подвижных сперматозоидов (категория А + В). Увеличение доли морфологически нормальных форм произошло у 57% пациентов.

программы STATISTICA. Степень взаимосвязи между признаками оценивали по коэффициенту корреляции R Спирмена. Средние значения по группам представляли в виде $M \pm SD$. В оговоренных случаях из анализа исключены пары «выпадающих» значений, исходно отличающиеся от средней арифметической более чем на $\pm 3SD$. Значимость различий между группами проверяли с помощью критериев Стьюдента (t), знаков (z) и Вилкоксона (w) для парных значений.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У мужчин, вошедших в анализируемую группу, имели место различные формы патоспермии изолированно или в сочетании: олигозооспермия – у 19%, астенозооспермия – у 74%, тератозооспермия – у 47%, нарушения индуцируемости АР – у 67%; у 52% мужчин наблюдалась гиперпродукция в сперме АФК.

В процессе лечения Спермактином® быстрее и нагляднее всего происходит нормализация акросомальной реакции (АР) сперматозоидов (рисунок 1). Улучшение АР имеет место во всех группах (олиго-, астено-, тератозооспермия изолированно и в сочетании) и наблюдается уже через 1 мес. лечения у 85% пациентов ($p_z < 0,001$). Если до лечения нарушения индуцируемости АР имели место у 67% мужчин, то через месяц остаются только у 24% ($p_z < 0,001$).

В этот период индекс индуцируемости АР в среднем по группе увеличился в 4,2 раза (на 21% от исходного; $p_t = 0,00004$).

Через 3 месяца лечения Спермактином® у 74% мужчин ($p_z < 0,001$) индуцируемость АР увеличилась в 3,1 раза от исходного уровня (на 18%; $p_w = 0,000002$); у 68% мужчин АР остается нормальной ($p_z < 0,001$).

Также через месяц лечения у 70% мужчин происходит увеличение объема эякулята в среднем по группе на 0,5 мл, что составляет 115% исходного объема ($p_w = 0,0004$) (рисунок 2).

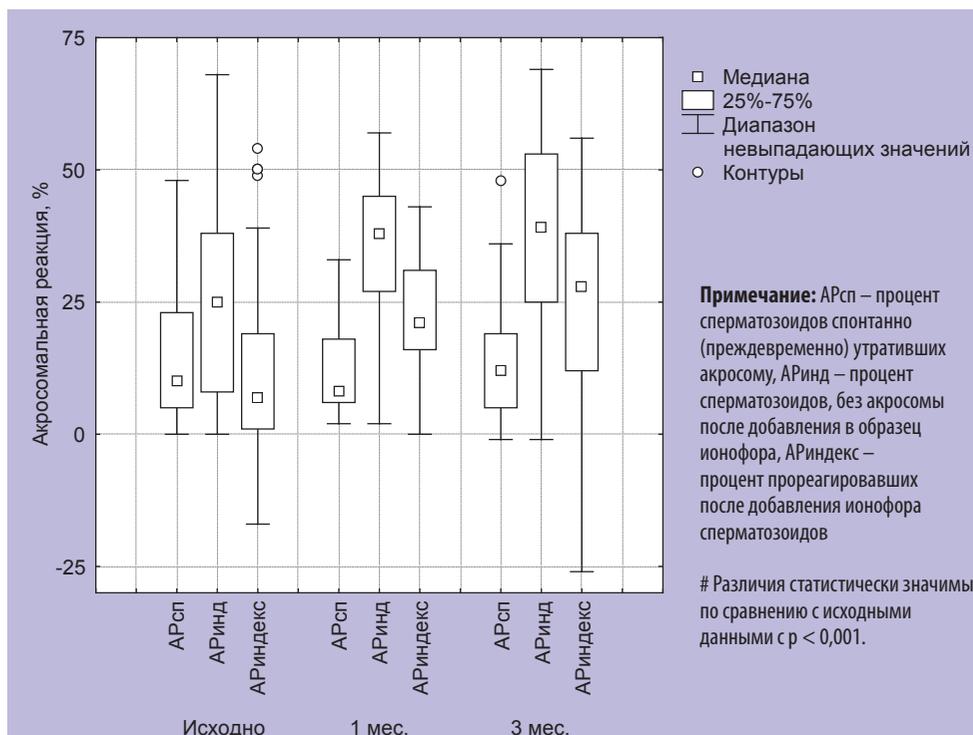


Рисунок 1. Акросомальная реакция сперматозоидов в группе мужчин из бесплодных пар, получающих комплекс карнитина, фруктозы, лимонной кислоты и витамина Е

У 74% мужчин увеличивается с 69% до 76% в среднем по группе жизнеспособность сперматозоидов ($p_w = 0,0009$).

Отмечены положительные изменения концентрации, подвижности и морфологии сперматозоидов. Через 3 месяца лечения доля пациентов с олигозооспермией уменьшается до 15% ($p_z > 0,05$), у 50% пациентов отмечается увеличение концентрации сперматозоидов ($p_z > 0,05$). У 53% пациентов возрастает доля прогрессивно подвижных сперматозоидов (категория А + В) ($p_z > 0,05$). Увеличение доли морфологически нормальных форм произошло у 57% пациентов. Не обнаружено значимых изменений и в среднем проценте патологических форм до и через 3 мес. лечения соответственно ($p_t > 0,05$). Детальный анализ дает нам конкретные цифры позитивных изменений спермограмм у всех групп пациентов во время лечения.

При олигозооспермии ($n = 18$) через 3 мес. лечения концентрация сперматозоидов увеличивается

у 83% мужчин ($p_z = 0,01$) в среднем по группе с 15,6 до 37,7 млн/мл (242%; $p_w = 0,005$), при этом олигозооспермия сохраняется в этот период только у 39% пролеченных (рисунок 3). Отмечено, что в процессе лечения в 67% случаев происходит увеличение доли сперматозоидов с активным поступательным движением (категория А) с 16,7% до 22,2% ($p_w = 0,004$), одновременно пропорционально уменьшается доля сперматозоидов категории В.

Эту закономерность подтвердило наблюдение мужчин с изолированной астенозооспермией ($n = 33$): у 84% таких пациентов процент подвижных гамет категории А через 3 мес. лечения увеличивается более чем в 2 раза (с 10,9 до 22,5%; $p_w = 0,0001$) (рисунок 5), что происходит за счет пропорционального уменьшения процента сперматозоидов категории В.

В группе мужчин с тератозооспермией ($n = 46$) через 3 мес. у 78% пациентов происходит уменьшение на 11,9% аномальных форм (с 81,4% до 71,7% в относительных значени-

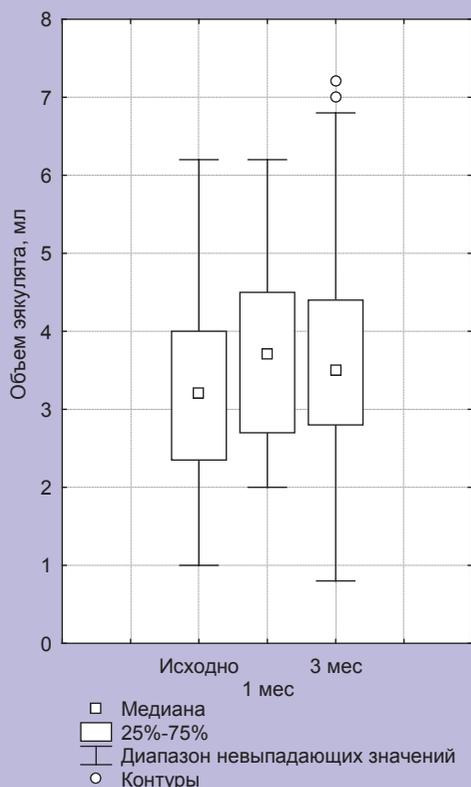


Рисунок 2. Динамика объема эякулята у мужчин из бесплодных пар, получающих лечение

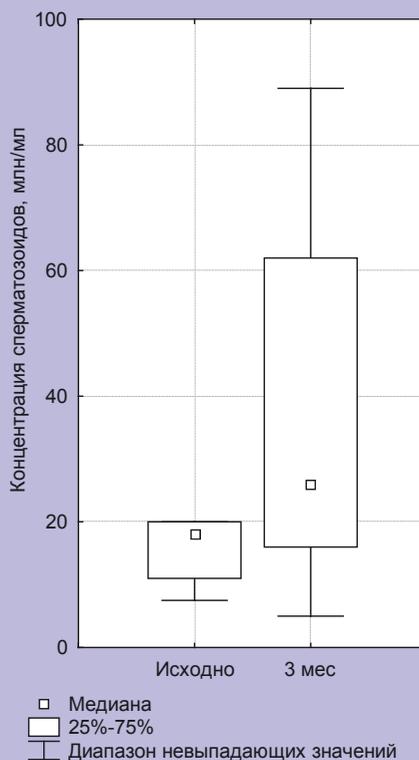


Рисунок 3. Динамика концентрации сперматозоидов у пациентов с олигозооспермией

Различия статистически значимы по сравнению с исходными данными с $p < 0,001$.

ях, $p_w = 0,00004$) преимущественно за счет уменьшения случаев дефектов головок и хвостов (рисунок 6). Параллельно, в 75% случаев ($p_z = 0,005$), происходит улучшение подвижности сперматозоидов.

В результате у 79% пациентов индекс качества спермы увеличивается в 2,31 раза (с 13,3 до 30,6 млн, $p_w = 0,0001$). В этой же группе AP улучшается у 64% пациентов, индекс индуцируемости AP увеличивается

с 11,6% до 23,1% (+ 11,5%; $p_t = 0,02$), а в 65% случаев становится нормальным. В целом для всей выборки пролеченных нами мужчин из бесплодных пар ($n = 97$) через 3 мес. лечения Спермактином® у 65% пациентов ($p_z = 0,011$) отмечается увеличение индекса качества спермы в среднем на 53% ($p_w = 0,005$). При выбраковке «выпадающих» до начала лечения значений различия становятся еще более значимыми

и составляют 179% исходного уровня ($p_w = 0,0004$).

Чтобы оценить роль АФК в наблюдаемых эффектах лечения, мы сравнили изменение данного показателя в период терапии, а также результаты лечения в зависимости от исходного уровня продукции АФК. Обнаружено, что на фоне лечения происходит существенное уменьшение продукции в сперме АФК (рисунок 8) ($p_w = 0,002$), и такие положительные изменения имеют место у 89% пациентов ($p_z = 0,014$). Если до лечения больше нормы продукция АФК была у 52% обследованных, то через 3 мес. лечения гиперпродукция АФК сохранилась только у 24% (уменьшение в 2,2 раза; $p_{\text{хи-квадрат}} < 0,02$), причем повторно обследование на АФК проводили мужчинам с исходно повышенным содержанием АФК.

Разделив всех мужчин на две группы с исходно нормальным или повышенным содержанием АФК, мы установили, что при нормальном содержании АФК ($n = 30$) через 3 мес. лечения различий по сравнению с исходными значениями по продукции АФК и основным показателям спермограммы нет, кроме процента сперматозоидов с патологией хвоста ($4,4 \pm 5,4$ и $1,1 \pm 1,9\%$; $p_w = 0,0007$) и претерпевшую индуцированную AP ($19,5 \pm 14,2$ и $37,3 \pm 20,6\%$; $p_w = 0,009$), при этом соответственно увеличилась индуцируемость AP ($6,4 \pm 7,3$ и $25,3 \pm 19,2\%$; $p_w = 0,003$).

При повышенном содержании АФК ($n = 33$) в результате лечения произошло снижение продукции АФК у 89% обследованных ($p_z = 0,002$) в среднем с 4,11 до 0,56 мВ/с (в 7,3 раза; $p_w = 0,0014$). Также у мужчин этой группы наблюдалось увеличение объема эякулята у 71% мужчин ($p_z = 0,031$) в среднем с $3,5 \pm 1,5$ до $4,0 \pm 1,7$ мл ($p_w = 0,041$) и нормализация AP аналогично группе с нормальной продукцией АФК: индуцируемость увеличилась у 82% мужчин в среднем с $5,9 \pm 10,0\%$ до $19,6 \pm 19,4\%$ (в 2,34 раза; $p_w = 0,01$). Корреляционный анализ показал, что до лечения между продукцией

При олигозооспермии у 84% пациентов происходит увеличение концентрации сперматозоидов в 2,4 раза и в 60% случаев происходит ее полная нормализация.

В целом у 65% мужчин бесплодных пар с различными формами патозооспермии индекс качества спермы увеличивается в среднем на 50%.

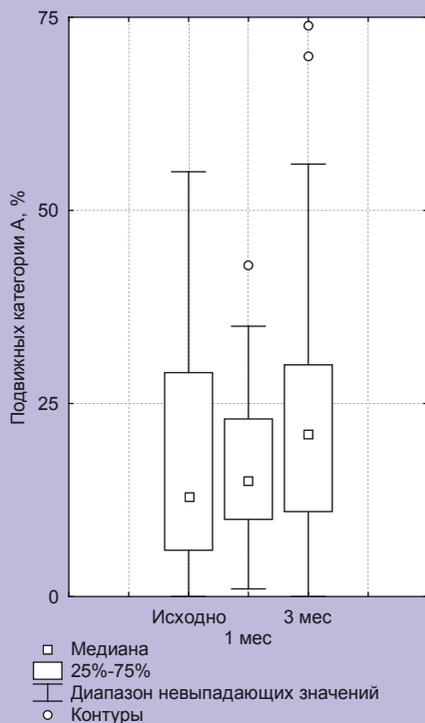


Рисунок 4. Подвижность сперматозоидов в группе мужчин из бесплодных пар, получающих лечение

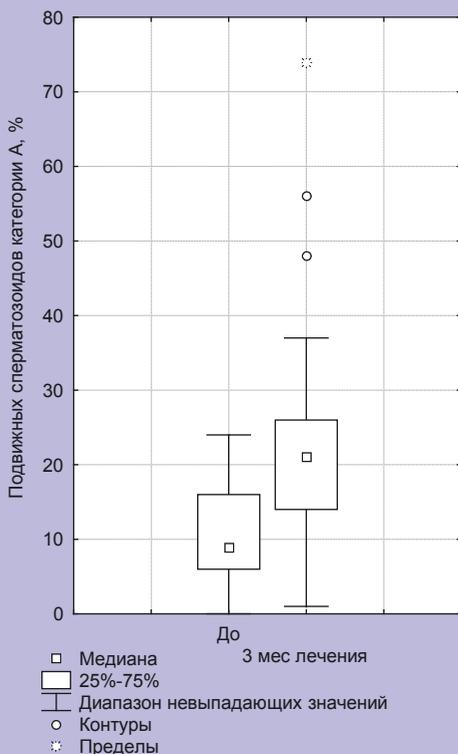


Рисунок 5. Подвижность сперматозоидов в группе мужчин из бесплодных пар с изолированной астенозооспермией, получающих лечение

Различия статистически значимы по сравнению с исходными данными с $p < 0,001$.

АФК и индексом качества спермы имеется значимая положительная корреляция: $R = 0,26$ ($p_r = 0,032$). Через 3 мес. лечения зависимость между этими показателями становится обратная: $R = -0,22$. Различия значения коэффициента корреляции до и в процессе лечения статистически значимы ($p = 0,029$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Наши данные подтверждают мнение исследователей, которые считают, что карнитины способствуют улучшению количественных показателей спермограммы и функциональных характеристик сперматозоидов (6, 16, 18 и др.).

Улучшение показателей спермо-

граммы во время лечения происходит при исходно сниженных показателях концентрации, подвижности и/или морфологии.

У большинства пациентов с астенозооспермией мы наблюдали в процессе лечения улучшение подвижности в виде увеличения процента активно подвижных гамет (категория А) за счет уменьшения доли сперматозоидов с медленным поступательным движением (категория В). Эффект становился заметным уже через месяц и нарастал через 3 месяца лечения. Наши данные подтвердили мнение, что лечение карнитинами дает большой эффект при исходно более низких показателях подвижности (16, 17), и не подтвердили описанной G. Balercia et al. (2005) обратной взаимосвязи подвижности и продукции свободных радикалов. Существует мнение (3), что высокие концентрации АФК приводят к снижению подвижности сперматозоидов путем истощения АТФ и влияния на фосфорилирование компонентов аксонемального комплекса. Наши данные не показали значимой отрицательной взаимосвязи между увеличением процента прогрессивно подвижных сперматозоидов и снижением продукции АФК в результате лечения.

Наши данные не позволили до конца разобраться с вкладом антиоксидантной активности в наблюдаемых лечебных эффектах. С одной стороны, на фоне лечения происходит снижение продукции АФК, если она была повышена, и улучшение при этом спермограммы. С другой стороны, улучшение показателей спермограммы происходит аналогично в группе с нормальной продукцией АФК. Это означает, что в большинстве случаев низкая подвижность была вызвана иными, чем гиперпродукция АФК, факторами. Надо также иметь в виду, что между продукцией АФК и подвижностью сперматозоидов на больших выборках значимая корреляция отсутствует, что демонстрируют выполненные нами ранее исследования (8).

Требует объяснения существенное изменение величины и знака

Лечение Спермактином® в сочетании с альфа-токоферол ацетатом позволяет у 89% пациентов снизить продукцию в сперме АФК, если имелась их гиперпродукция. В среднем по группе такое снижение составило 79% от исходного уровня.

Полученные данные позволяют сделать вывод, что применение Спермактина® приводит к значительному улучшению показателей спермограммы и способствует нормализации функций мужских гамет. Функциональные изменения сперматозоидов наблюдаются уже через месяц лечения, увеличение концентрации – через 3 месяца.

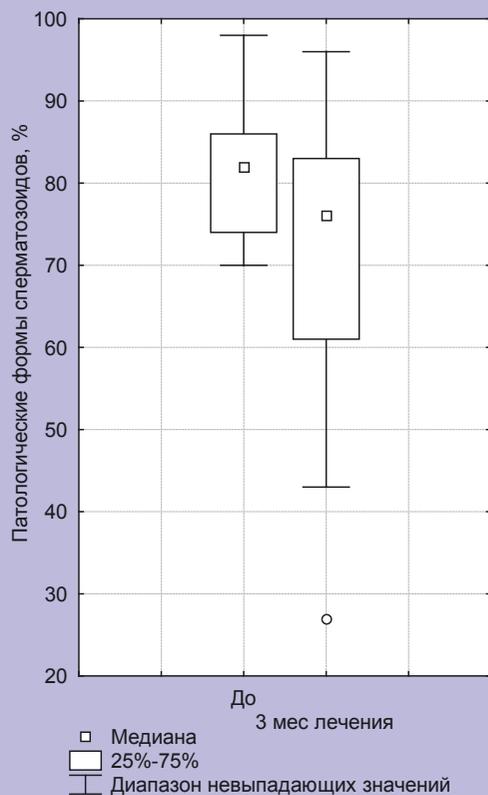


Рисунок 6. Изменения доли патологических форм сперматозоидов при лечении пациентов из бесплодных пар с тератозооспермией

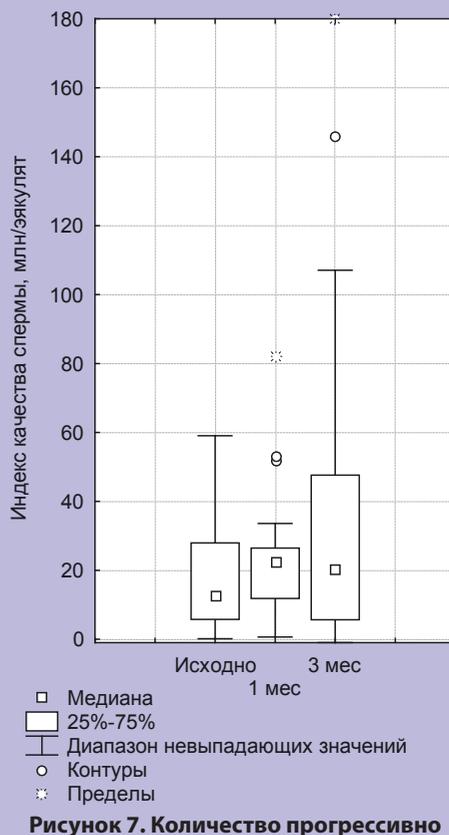


Рисунок 7. Количество прогрессивно подвижных и морфологически нормальных сперматозоидов в эякуляте (расчетный индекс качества спермы) у мужчин из бесплодных пар, получающих лечение

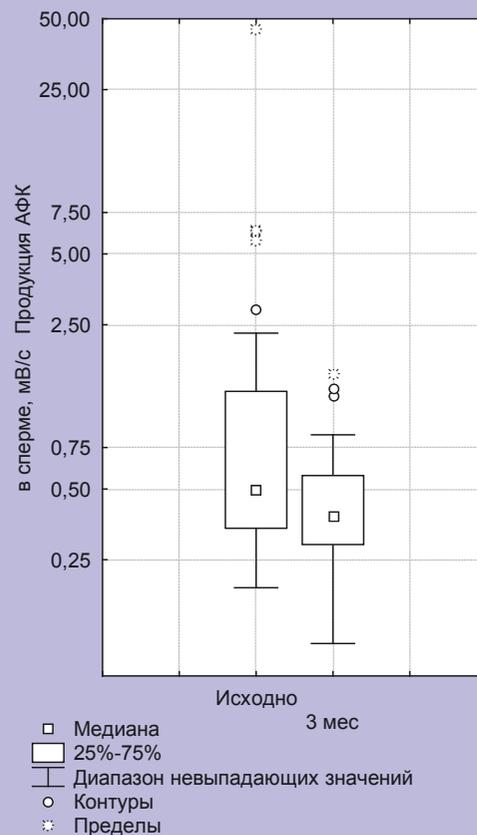


Рисунок 8. Продукция активных форм кислорода (АФК) в эякуляте мужчин из бесплодных пар, получающих лечение

Различия статистически значимы по сравнению с исходными данными с $p < 0,001$.

корреляции между продукцией АФК и индексом качества спермы в процессе лечения. Поскольку известно (9), что при отсутствии воспаления АФК продуцируют главным образом аномальные сперматозоиды, исходно продукция АФК была тем больше, чем больше было абсолютное количество морфологически дефектных форм, т.е. увеличивалась с ростом концентрации. При лечении увеличение концентрации сопровождалось снижением доли патологических форм, поэтому продукция АФК не росла. Кроме того, очевидно, сам Спермактин® обладает прямой антиоксидантной активностью, что и приводит к инверсии такой связи.

Известно (9), что АФК непосредственно повреждают ДНК хро-

мосом и инициируют опосредованный эндонуклеазами апоптоз сперматозоидов. Если с помощью ИКСИ сперматозоид, содержащий значительно поврежденные ДНК, оплодотворил яйцеклетку, часто нарушается развитие зародыша. Несмотря на то, что многие из полученных эмбрионов гибнут на ранних эмбриональных стадиях, есть вероятность, что ребенок с поврежденной отцовской ДНК может родиться. Последствия этого пока достоверно неизвестны, но предполагается, что поврежденная ДНК может обуславливать генетические дефекты и рак у детей. Было высказано мнение, что карнитины могут ингибировать вызванный АФК апоптоз сперматозоидов (2). Наши данные по

снижению продукции АФК на фоне лечения служат косвенным подтверждением этому. Но необходимо провести прямые исследования по антиапоптотическому эффекту карнитинол.

Наши данные показали, что при умеренно сниженном (5-20 млн/мл) содержании сперматозоидов лечение в ~60% случаев способствует нормализации концентрации. Поскольку одновременно растет объем эякулята, увеличивается и общее количество мужских гамет. Показанное нами существенное увеличение объема эякулята уже через 1 мес. у большинства (70%) пациентов следует считать достаточно доказательным.

Впервые нами описана нормализация акросомальной реакции

на фоне лечения Спермактином®. Эффект заключается в значительном увеличении доли сперматозоидов, способных сбрасывать акросомальную мембрану при действии индуктора-ионофора. Это объясняет описанные ранее факты наступления беременности при неизменных показателях стандартной спермограммы (8).

Положительный эффект лечения наблюдается даже в группе мужчин с тератозооспермией, причем значительное улучшение АР имеет место уже через один месяц лечения. Это свидетельствует о том, что формирование полноценной акросомы происходит за относительно короткий период, и при подобных нарушениях лечение может быть эффективным даже при длительности курса существенно меньше длительности цикла сперматогенеза (~70 сут.). Эти данные имеют большое значение при подготовке мужчин, включенных в программу ЭКО по стандартному протоколу. Антиоксидантная активность данного лекарственного комплекса важна и при выполнении ИКСИ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использованный лекарственный комплекс Спермактин®, включающий L-карнитин фумарат (2000 мг/сут.), ацетил-L-карнитин (1000 мг/сут.), фруктозу (4000 мг/сут.), в сочетании с альфа-токоферол ацетатом (400 мг/сут.) способствует улучшению качества спермы у мужчин с различной патозооспермией.

Уже через месяц в 85% случаев происходит нормализация АР и в 70% случаев наблюдается увеличение объема эякулята в среднем на 0,5 мл.

Улучшение показателей спермограммы во время лечения происходит при исходно сниженных показателях концентрации, подвижности и/или морфологии.

При олигозооспермии у 84% пациентов происходит увеличение концентрации сперматозоидов в 2,4 раза и в 60% случаев происходит ее полная нормализация.

При астенозооспермии у 84% пациентов в 2 раза увеличивается доля сперматозоидов с активным поступательным движением (категория А) с одновременным умень-

шением доли сперматозоидов категории В.

При тератозооспермии в 75% наблюдений через 3 месяца лечения Спермактином® происходит снижение процента патологически измененных форм в среднем на 12%.

Лечение Спермактином® в сочетании с альфа-токоферол ацетатом позволяет у 89% пациентов снизить продукцию в сперме АФК, если имелась их гиперпродукция. В среднем по группе такое снижение составило 79% от исходного уровня.

В целом у 65% мужчин бесплодных пар с различными формами патозооспермии индекс качества спермы увеличивается в среднем на 50%.

Полученные данные позволяют сделать вывод, что применение Спермактина® приводит к значительному улучшению показателей спермограммы и способствует нормализации функций мужских гамет. Функциональные изменения сперматозоидов наблюдаются уже через месяц лечения, увеличение концентрации – через 3 месяца. 

Литература

- WHO laboratory manual for the examination of human sperm and semem-cervical mucus interaction. WHO, 4-th edn.: Cambridge universiti press, 1999. 128 p.
- Ng C.M., Blackman M.R., Wang C. et al. The role of carnitine in the male reproductive system. *Ann N Y Acad Sci.* 2004 Nov; 1033: 177-88.
- Dokmeci D. Oxidative stress, male infertility and the role of carnitines. *Folia Med (Plovdiv).* 2005; 47(1): 26-30.
- Li K., Li W., Huang Y.F. et al. Correlation of free L-carnitine level with accessory gland markers and its clinical significance. *Zhonghua Nan Ke Xue.* 2007 Jun; 13(6): 507-10.
- Vicari E., Calogero A.E. Effects of treatment with carnitines in infertile patients with prostatic-vesiculo-epididymis. *Hum. Reprod.*, 2001, 16 (11): 2338-2342.
- Agarwal A., Said T.M. Carnitines and male infertility. *Reprod Biomed Online.* 2004 Apr; 8(4): 376-84.
- De Rosa M., Boggia B., Amalfi B. et al. Correlation between seminal carnitine and functional spermatozoal characteristics in men with semen dysfunction of various origins. *Drugs RD.* 2005; 6(1): 1-9.
- Божедомов В.А., Громенко Д.С., Ушакова И.В. и соавт. Причины оксидативного стресса сперматозоидов // Проблемы репродукции, 2008, №6: 67-73.
- Tremellen K. Oxidative stress and male infertility – a clinical perspective // *Hum. Reprod. Update*, 2008, 14(3): 243-258.
- Rhemrev J.P., van Overveld F.W., Haenen G.R. et al. Quantification of the nonenzymatic fast and slow TRAP in a postaddition assay in human seminal plasma and the antioxidant contributions of various seminal compounds // *J Androl.* 2000 Nov-Dec; 21(6): 913-20.
- Mieusset R., Parinaud J., Chap H. et al. Absence of correlation between the levels of ATP and other seminal compounds in semen and the results of human in-vitro fertilization // *Int J Androl.* 1989 Oct; 12(5): 346-53.
- Lay M.F., Richardson M.E., Boone W.R. et al. Seminal plasma and IVF potential. Biochemical constituents of seminal plasma of males from in vitro fertilization couples // *J Assist Reprod Genet.* 2001 Mar; 18(3): 144-50.
- Божедомов В.А., Николаева М.А., Теодорович О.В. Нормализация акросомальной реакции сперматозоидов в результате комплексной терапии карнитином, фруктозой и лимонной кислотой // Проблемы репродукции, 2003, 9 (6): 49-52.
- Тер-Аванесов Г.В. Состояние репродуктивной функции мужчин на рубеже двух веков / Кулаков В.И., Тер-Аванесов Г.В. Мужское здоровье и вспомогательные репродуктивные технологии. М., 2006.
- Comhaire F.H., Mahmoud A. The role of food supplements in the treatment of the infertile man, 2003, 7(4): 385-91.
- Lenzi A., Sgrò P., Salacone P. et al. A placebo-controlled double-blind randomized trial of the use of combined L-carnitine and L-acetyl-carnitine treatment in men with asthenozoospermia. *Fertil Steril.* 2004 Jun; 81(6): 1578-84.
- Balercia G., Regoli F., Armeni T. et al. Placebo-controlled double-blind randomized trial on the use of L-carnitine, L-acetylcarnitine, or combined L-carnitine and L-acetylcarnitine in men with idiopathic asthenozoospermia. *Fertil Steril.* 2005 Sep; 84(3): 662-71.
- Zhou X., Liu F., Zhai S. et al. Effect of L-carnitine and/or L-acetyl-carnitine in nutrition treatment for male infertility: a systematic review. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2007; 16 Suppl 1: 383-90.
- Cavallini G. Male idiopathic oligoasthenozoospermia. *Asian J Androl.* 2006 Mar; 8(2): 143-57.
- Seo J.T., Kim K.T., Moon M.H. et al. The significance of microsurgical varicocelectomy in the treatment of subclinical varicocele. *Fertil Steril.* 2009 Feb 25. (Epub ahead of print).
- Sigman M., Glass S., Campagnone J. et al. Carnitine for the treatment of idiopathic asthenospermia: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial // *Fertil Steril.* 2006 May; 85(5): 1409-14. Epub 2006 Apr 5.
- Dambrova M., Cirule H., Svalbe B. et al. Effect of inhibiting carnitine biosynthesis on male rat sexual performance. *Physiol Behav.* 2008 Oct 20; 95(3): 341-7. Epub 2008 Jun 29.
- Nikolaeva M.A., Golubeva E.L., Kulakov V.I., Sukhikh G.T. Evaluation of stimulus-induced acrosome n flow cytometric analysis // *Molec. Hum. Reprod.*, 1998, 4 (3): 243-250.
- Tesarik J. Acrosome reaction testing. Report of the consensus workshop on advanced diagnostic andrology techniques. *ESHRE, Andrology Special Interest Group. Hum. reprod.*, 1996, 11: 1463-1479.
- Garolla A., Maiorino M., Roverato A. et al. Oral carnitine supplementation increases sperm motility in asthenozoospermic men with normal sperm phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase levels // *Fertil Steril.* 2005 Feb; 83(2): 355-61.