

Роль кисневих радикалів у фізіології та патології сперми людини

Продукты неполного восстановления кислорода в небольших концентрациях являются необходимым компонентом капацитации и гиперактивации сперматозоидов. Супероксидный анион, гидроксильный радикал, перекись водорода иницируют эти процессы. Спонтанная и индуцированная гиперактивация сперматозоидов блокируется добавлением антиоксидантных ферментов. Продукция супероксидного аниона самими сперматозоидами сопровождает весь процесс капацитации. Большие дозы кислородных радикалов останавливают подвижность сперматозоидов посредством торможения митохондриальных ферментов и снижения синтеза АТФ, а также через поражение мембранных структур клетки.

Вступ

Молекулярні утворення, що мають хоча б один неспарений електрон на даній атомній чи молекулярній орбіталі, прийнято називати вільними радикалами. Останні мають набагато вищу активність порівняно з більш стабільними молекулами. Серед них важливу роль у життєдіяльності живих клітин відіграють кисневі радикали (КР) - проміжні продукти, що виробляються за допомогою відновлення кисню. Додавання одного електрона до кисню призводить до формування супероксидного радикала, додавання другого - до формування перекису водню, тривалентне відновлення продукує гідроксильний радикал [31]. Відомо, що кисневі радикали беруть участь у деяких синтетичних процесах, а також в імунних реакціях організму, але їх високі концентрації викликають значне порушення гомеостазу. В клітині вільні радикали спричиняють пошкоджуючу дію за трьома основними напрямками: пошкодження ДНК, перекисне окислення ліпідів і пошкодження протеїнів. При пошкодженні ДНК остання відновлюється за допомогою репараційної системи ензимів, яка в свою чергу використовує нікотинаміддинуклеотид (НАД). При інтенсивній роботі цієї системи запаси НАД виснажуються, що стає лімітуючою ланкою в системі репарації. Деякі КР здатні ініціювати процес окислення ліпідів клітинних мембран з утворенням ліпідних перекисів, внаслідок чого мембрана втрачає свої фізичні властивості та функціональну здатність. Пошкодження протеїнів відбувається в основному в місцях сульфгідрильних зв'язків у структурі білка. Сульфгідрильні групи ре-

агують з альдегідами та малоновим діальдегідом (МДА), призводячи до інtermолекулярних зшивок. МДА може також атакувати аміногрупи з подібним результатом. Крім того, протеїни можуть бути зруйновані безпосередньою атакою найбільш агресивного гідроксильного радикала [35].

Нині відомо декілька основних джерел вільних радикалів в організмі. Це продукція супероксидного аніон-радикала, перекису водню та хлорної кислоти нейтрофілами при їх бактерицидній діяльності; продукція супероксиду мітохондіями; при метаболізмі арахідонової кислоти; аутооксидзації катехоламінів і трансформації гемопротеїнів [30].

Пошкоджуючій дії кисневих радикалів протистойть добре розвинута система антиоксидантного захисту клітини. До неї належать антиоксидантні ферменти (супероксиддисмутаза - СОД, каталаза, глутатіонредуктаза) та неферментні низькомолекулярні антиоксиданти. Останні бувають жиророзчинні (каротиноїди, токоферолі) та водорозчинні (аскорбат, тіольні з'єднання, урат) [37]. Велика різниця в періоді напіврозпаду прооксидантів (від наносекунд для гідроксильного радикала до секунд для пероксидного радикала, оксиду азоту або пероксинітриту) зумовлює відмінність дії антиоксидантів, за якою вони поділяються на запобігаючі, перериваючі та відновлюючі [9].

Конструктивна роль вільних радикалів у капацитації та гіперактивації сперматозоїдів. Перш ніж стане можливим запліднення яйцеклітини, сперматозоїди ссавців повинні здійснити складний процес капацитації. Цей процес активується гормонами жіночого статевого тракту, концентрація яких збільшується з наближенням до фаллопієвих труб. Він включає в себе серію глобальних мембранних і метаболічних змін сперматозоїда.

Деякі автори поєднують термін «капацитація» з терміном «акросомна реакція». Акросома - це велика сплюснена секреторна гранула на передньому кінці головки сперматозоїда, яка містить протеолітичні та ліполітичні ферменти, необхідні для підготовки зони зв'язування ооцита. Під час акросомної реакції плазматична та акросомальна мембрани розчинюються, акросомні ферменти звільнюються. Це супроводжується надходженням Ca^{2+} у клітину, підвищенням активності цАМФ та плинності мембрани через зміну ліпідного складу, а також підвищенням активності деяких клітинних ферментів. Проте невідомо, чи є ці події причиною або наслідком акросомної реакції [25]. Згадані зміни збігаються за часом з початком батігоподібної рухливості сперматозоїдів, яка називається гіперактивацією. Сперматозоїд починає дуже швидко рухатися спочатку вперед, а потім петлями, безладно розкидаючи навкруги вміст акросоми. Показано, що цей процес активується входом кальцію. Можливо, що під час акросомної реакції, тобто коли сперматозоїд рухається, вміст акросоми омиває клітину, досягає її шийки і активує мітохондрії, що знаходяться там.

Нещодавно стало відомо, що вільнорадикальне окислення відіграє в капацитації конструктивну роль [22, 23]. Claude Gagnon із спіавт.

[21] показали, що супероксидний аніон, який генерується системою ксантин - ксантиноксидаза, при наявності каталази викликає гіперактивацію сперматозоїдів людини. Рівень цієї активації навіть вищий ніж той, який спостерігається при додаванні до сперми FCS (спінальна сироватка плоду) - відомого стимулятора цього процесу [21]). Присутність СОД в інкубаційному середовищі блокує гіперактивацію та капацитацію, як спонтанну, так і викликану супероксидним аніоном або FCS. Було також показано, що рівень капацитації, викликаной біологічними рідинami, негативно корелює з СОД-подібною активністю цих рідин. Подані факти свідчать про те, що здатність цих рідин вловлювати супероксидний аніон може бути одним з найважливіших факторів, які визначають їх здатність індукувати капацитацію сперми. Відомо, що додавання СОД до гіперактивованих сперматозоїдів пригнічує подальшу гіперактивацію [15]. Було показано, що самі сперматозоїди починають продукувати супероксидний аніон через 10-15 хв після ініціації капацитації та продовжують це робити до кінця всього процесу капацитації [24].

Значна роль перекисного окислення в зв'язуванні сперматозоїда з ооцитом описана Aitken [3]. Зона зв'язування сперматозоїдів розширювалася при додаванні супероксиду, і цей ефект зникав, якщо додавався вітамін Є (антиоксидант). Поширення зони не було пов'язане з підвищенням адгезивності сперматозоїдів [2]. Ці факти хоча і непрямо, але досить переконливо свідчать про те, що постійна генерація супероксидного аніона необхідна при капацитації та гіперактивації сперматозоїдів, а також при фертилізації ооцита. Можна припустити, що під час сперм-овоцитарної реакції в екстенсивних змінах мембрани можливо відіграє роль активація фосфоліпази А2. Підвищення інтенсивності ПОЛ може активувати фосфоліпазу за допомогою збільшення афінності чи доступності субстрату.

Джерела надмірної продукції вільних радикалів у спермі. Існує два основних джерела надмірної продукції КР у спермі - це аномальні сперматозоїди та лейкоцити [19]. За даними Aitken та співавт. [6], сперматозоїди здорових донорів продукують КР у дуже невеликій кількості і основним джерелом КР є активовані лейкоцити. У хворих на олігозооспермію сперматозоїди продукують у 167 разів більше КР, ніж у здорових людей [1]. M.Plante та співавт. [33] показали, що КР, які продукуються аномальними сперматозоїдами, не впливають на рухливість нормальних. При змішуванні сперми, продукуючої та непродукуючої КР, у співвідношенні 2:1 і 1:2, рухливість нормальних сперматозоїдів не зменшувалась. Автори пропонують два можливих пояснення цього явища: дуже низька концентрація КР; більшість КР, що генеруються аномальними сперматозоїдами, залишаються всередині клітини. В другій серії досліджень було показано, що тільки одна третина КР, котрі генеруються аномальними сперматозоїдами, потрапляє за межі клітини [33].

Серед можливих ензиматичних джерел КР у сперматозоїдах Aitken та співавт. [4, 5] звертають увагу на НАДФ · Н-оксидазу, яка розташована на мембрані сперматозоїда. Другий кандидат - це НАД · Н-оксидаза, яка розташована всередині клітини та включена в мітохондріо-альний дихальний ланцюг. Її активність підвищена в спермі безплідних пацієнтів. Завдяки тому, що цей фермент є внутрішньоклітинним, у супероксидного аніона, який ним генерується, більше шансів залишитися всередині клітини. Виявлений факт дозволяє віддати перевагу НАД · Н-оксидазі як ферменту, що відповідає за продукцію КР аномальними сперматозоїдами. Для того, щоб визначити критичний рівень КР для сперматозоїдів, до сперми додавалися поліморфноядерні лейкоцити. Лейкоцити продукували приблизно в 100 разів більше КР, ніж аномальні сперматозоїди, при цьому рухливість клітин знизилася тільки на 15 % [6].

Пошкоджуюча дія кисневих радикалів на сперматозоїди. Як вже було відмічено вище, сперматозоїди - це високодиференційовані клітини. В процесі визрівання їх специфічні мембранні регіони підлягають радикальним морфологічним і біохімічним змінам, які проявляються на початку капацитації і продовжуються до фертилізації. КР можуть негативно впливати на деякі з цих процесів, що призводить до формування дефективної сперми, зниженої рухливості клітин і безпліддя. Сперматозоїди людини особливо чутливі до кисневого пошкодження тому, що в складі їх мембран присутні в високій концентрації ненасичені жирні кислоти, та через неможливість репарації ДНК [1].

Якщо сперму піддати інкубації в аеробних умовах, то в ній буде виникати спонтанне аутоокислення, про що свідчить накопичення МДА. Цей процес ініціюється в присутності супероксидного аніона та перекису водню і призводить до формування ліпідних гідроперексидів [17]. Сперма є дуже чутливою до екзогенних ліпідних гідроперексидів. Показано, що вони мають сперміцидну дію - їх додавання повністю припиняє рухливість сперматозоїдів протягом кількох хвилин [8].

Під впливом КР, які продукуються системою ксантин-ксантинооксидаза, в сперматозоїдах людини спостерігається зниження рухливості сперматозоїдів, підвищення рівня ПОЛ, у тому числі ненасичених жирних кислот мембрани [4]. За даними Lenzi та співавт. [27] акросомна реакція найбільш чутлива до КР і її інтенсивність знижується вже тоді, коли рухливість сперми ще не змінюється. Iwasaki та співавт. [16] показали, що сперматозоїди безплідних пацієнтів продукують КР, і що існує негативний кореляційний зв'язок між інтенсивністю продукції КР і відсотком рухливих сперматозоїдів ($r = -0,48$, $P < 0,001$) [16]. Є дані про позитивну кореляцію між рівнем активності СОД і вмістом рухливих сперматозоїдів [5]. Ці факти підтверджують положення про гальмівну дію КР на рівень функціональної активності сперматозоїдів. Завдяки чому відбувається цей ефект? Дослідженнями de Lamirande та Gagnon [26] показано, що КР викликають у спермі різке зниження концентрації АТФ. Після

додавання до сперми суміші перекису водню, ксантину та ксантиноксидази - джерела супероксидного та гідроксильного радикалів - відбувалося зменшення вмісту АТФ і припинення рухливості сперматозоїдів, що настає за ним. Концентрація АТФ знижувалася набагато швидше, ніж зменшувалася рухливість сперматозоїдів. Це відбувалося тому, що ці клітини мають набагато більше АТФ, ніж потрібно для підтримки їхньої рухливості. Зниження концентрації АТФ під впливом КР може відбуватися завдяки зрушенням продукції АТФ через пригнічення мітохондріальних ферментів. Висловлюється думка, що фактором пошкодження в системі синтезу АТФ може бути інгібіція активності гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази - ключового ферменту процесу [15]. Інший можливий механізм гальмування синтезу АТФ - це руйнування ліпідів мембрани. Ліпідні гідроперекиси розпадаються до цитотоксичних альдегідів, які можуть дифундувати на досить велику відстань від місця їх утворення і впливати на інші компартменти клітини. Досить низькі концентрації цих речовин (від 1 до 100 мкмоль/л) здатні гальмувати активність багатьох різних ферментів і клітинних функцій, включаючи функції мітохондрій, анаеробний гліколіз, синтез РНК, ДНК протеїнів, плазматичну аденілатциклазу та рухливість сперми [8, 18]. Відносний внесок прямого і непрямого механізмів гальмування синтезу АТФ під впливом КР на сьогоднішній день невідомий.

Роль різних антиоксидантних чинників у захисті сперми від КР неоднозначна. Активність каталази є досить низькою і це може вважатися одним із можливих механізмів високої чутливості сперми до кисневого пошкодження [15]. Так, у дослідях, де вивчалася роль різних антиоксидантів сперми на моделі з генерацією КР системою ксантин - ксантиноксидаза, було показано, що повне запобігання пошкодження відбувалося тільки при наявності каталази [15]. Додавання СОД призводило до часткового протекторного ефекту. Автори цих досліджень трактують свої дані так, що найтоксичнішим радикалом для сперми є пероксид водню, за інактивування якого і відповідає каталаза [7]. Але існує багато свідчень про те, що мітохондріальна та цитозольна СОД відіграє значну роль в антиоксидантному захисті сперматозоїдів [15, 20, 34].

Вважається, що глутатіон - водорозчинний відновник токофероксильного радикала - відіграє незначну роль в антиоксидантному захисті сперми, але було показано, що його додавання позитивно впливає на її рухливість [27]. У хворих із запаленнями генітального тракту з диспермією глутатіонова терапія викликала статистично достовірне підвищення показників рухливості, особливо концентрації швидко рухливих сперматозоїдів [27].

Як обговорювалося вище, КР здатні активувати капацитацію та гіперактивацію сперматозоїдів. Lamirande та співавт. [24] показали, що при низькому рівні інактивації супероксиду в спермі може відбуватися передчасна гіперактивація клітин. Це може бути додатковим механізмом безпліддя пацієнтів, які знаходяться під впливом іонізуючої

радіації чи радіотерапії [22]. Встановлено, що показники плідності у хворих, які підлягали антими́тотичній терапії, знижені [11, 28, 29].

У дослідях на мишах було з'ясовано, що при тривалій дії низьких доз радіації ушкоджується ДНК сперматозоїдів, що впливає на плідність тварин, та їх нащадків - самців [10]. Під впливом низьких доз радіації спостерігалось також накопичення аномальних деформованих сперматозоїдів, що було пов'язано з підвищенням концентрації іонів заліза та міді [12]. Найбільш чутливими до радіаційного пошкодження виявилися сперматиди [36].

За даними українських дослідників у чоловіків, які брали участь у ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС або працювали там пізніше, спостерігається пошкодження репродуктивної функції [13, 24]. У цих пацієнтів є зниженим сперматогенез, при дослідженні морфології сперматозоїдів спостерігається багато аномальних форм, у багатьох зареєстровано безпліддя [13, 14]. Все це може пояснюватися тим, що під впливом радіації та іонотерапії інтенсивність вільнорадикального окислення в сперматозоїдах підвищується особливо завдяки утворенню гідроксильних радикалів [13].

Перелічені механізми пошкодження сперми КР діють і при інших патологічних станах організму. Активація вільнорадикального окислення в спермі може відбуватися при недостатності вітамінів Е і С. При запальних процесах репродуктивних органів рівень КР у спермі підвищується внаслідок активації лейкоцитів і радикальної гіперпродукції хворих сперматозоїдів. Підвищення рівня КР знижує здатність сперматозоїдів до акросомної реакції, гальмує їхню рухливість, здатність до капацитації та гіперактивації.

Висновок

КР відіграють важливу роль у фізіології та патології сперми. В невеликих концентраціях супероксидний аніон є необхідним компонентом визрівання сперматозоїда і підготовки його до реакцій запліднення. Необхідну для капацитації кількість супероксиду продукують самі сперматозоїди. Вони використовують для цього спеціальну ферментативну систему, подібну до системи утворення КР нейтрофілами. Якщо штучно вилучити супероксид зі сперми додаванням СОД, то капацитація та супроводжуюча її гіперактивація припиняється. Яку саме роль відіграє супероксидний аніон у реакції капацитації поки що невідомо. Він може виступати як ініціатор мітохондріальних окислювальних реакцій, або як необхідна ланка енергетичного метаболізму.

Підвищення концентрації КР у спермі внаслідок патологічних процесів або впливів радіації призводить до пошкодження сперматозоїдів - зниження їх рухливості та здатності до акросомної реакції. Тобто КР залежно від концентрації викликають ефекти протилежного напрямку: в малій кількості вони активують метаболізм сперматозоїдів, а у великій - гальмують його. Однак нема сумніву в тому, що значне підвищення концентрації активних форм кисню впливає негативно на функціональний стан сперми і може бути однією з причин безпліддя.

Reactive oxygen species in low doses are necessary compound of sperm capacitation and hyperactivation. Superoxide anion, hydroxyl radical and hydrogen peroxide initiate sperm capacitation. The edding of antyoxidant enzymes inhibits the spontaneous and induced sperm hyperactivation. The process of capacitation is accompanied with the superoxide anion production output by spermatozoa. High doses of reactive oxigen species block the sperm motility through the inhibition of ATP synthesy by the methohondrial enzymes and cell membrane compounds injury.

A.A.Bogomolets Institute of Physiology,
National Academy of Science of the Ukraine, Kiev;
Kiev State Medical University

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Aitken R.J., Clarkson J.S. Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa // J.Reprod. and Fertil. - 1987. - 81. - P. 459-469.
2. Aitken R.J., Clarkson J.S., Fishel S. Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation and human sperm function // Biol. Reprod. - 1989. - 40. - P. 183-197.
3. Aitken R.J. Free radicals, lipid peroxidation and sperm function // Reprod. Fertil. Dev. - 1995. - 7. - P. 659-668.
4. Aitken R.J., Buckingham D.W., Harkiss D. Use of xantine oxidase free radical generating system to investigate the cytotoxic effects of reactive oxygen species on human spermatozoa // J.Reprod. and Fertil. - 1993. - 97, № 2. - P. 441-450.
5. Aitken R.J., Buckingham D.W., West K.M. Reactive oxygen species and human spermatozoa, analysis of the cellular mechanisms involved in luminol - and lucigenin dependent chemiluminescence // J.Cell. Physiol. - 1992. - 151. - P. 466-477.
6. Aitken R.J., Buckingham D.W., West K.M., Wu F.C. et al. Differential contribution of leukocytes and spermatozoa to the generation of reactive oxygen species in the ejaculates of oligozoospermic patients and fertile donors // J.Reprod. and Fertil. - 1992. - 94. - P. 451-462.
7. Alvarez J.G., Storey B.T. Role of superoxide dismutase in protecting rabbit spermatozoa from O2 toxicity due to lipid peroxidation // Biol. Reprod. - 1983. - 28. - P. 1129-1136.
8. Alvarez J., Touchstone J., Blasco L. Spontaneous lipid peroxidation and production of hydrogen peroxide and superoxide in human spermatozoa // J.Androl. - 1987. - 8. - P. 338-348.
9. Byung Pal Yu. Cellular defences against reactive oxygen species // Physiol. Rev. - 1994. - 74, № 1. - P. 139-161.
10. Cai L., Wang P. Induction of a cytogenetic adaptive response in germ cells of irradiated mice with very low-dose rate of chronic gamma-irradiation and its biological influence on radiation-induced DNA or chromosomal damage and cell killing in their male offspring // Mutagenesis. - 1995. - 10(2). - P. 95-100.
11. Centola G.M., Keller J.W., Henzler M., Rubin P. Effect of low-dose testicular irradiation on sperm count and fertility in patients with testicular seminoma // J.Androl. - 1994. - 15(6). - P. 608-613.
12. Chatterjee J., De K., Basu S.K., Das A.K. Alteration of spermatozoal structure and trace metal profile of testis and epididymis of rat under chronic low-level X-ray irradiation // Biol. Trace Elem. Res. - 1994. - 41(3). - P. 305-319.
13. Cheburakov L.I., Cheburakova O.P. Disorders of spermatogenesis in people working at the clean-up of the Chernobyl nuclear power plant accident // Radiats Biol. Radioecol. - 1993. - 33(6). - P. 771-774.
14. Evdokimov U.U., Erasova U.I., Demin A.I. et al. State of the reproductive system of men who participated in the cleaning-up of aftereffects of the Chernobyl AES accident // Tr. Prom. Ekol. - 1993. - № 3-4. - P. 25-26.

15. Griveau J.F., Dumont E., Renard P., Callegari J.P., Lannou D.L. Reactive oxygen species, lipid peroxidation and enzymatic defence systems in human spermatozoa // J.Reprod. and Fertil. - 1995. - 103. - P. 17-26.
16. Iwasaki A., Gagnon C. Formation of reactive oxygen species in spermatozoa of infertile patients // Fertil. and Steril. - 1992. - 57, № 2. - P. 409-416.
17. Jones R., Mann T., Sherins R. Peroxidative breakdown of phospholipids in human spermatozoa, spermicidal properties of fatty acid peroxides, and protective action of seminal plasma // Ibid. - 1979. - 31. - P. 531-537.
18. Kanwar U., Kaur R., Chadha S., Sanyal S. Gossypol-induced inhibition of g uptake in human ejaculated spermatozoa may be mediated by lipid peroxidation Contraception. - 1990. - 42. - P. 573-585.
19. Kessopoulou E., Topmmlinson M.J., Barratt C.R. et al. Origin of reactive oxygen species in human semen: spermatozoa of leukocytes? // J.Reprod. and fertl. - 1992. - 94. - P. 463-470.
20. Kobayashi T., Miuzaki T., Natori M., Nozawa S. Protective role of superoxide dismutase in human sperm motility: superoxide dismutase activity and lipid peroxide in human seminal plasma and spermatozoa // Hum. Reprod. - 1991. - 6, № 7. - P. 987-991.
21. de Lamirande E., Eiley D., Gagnon C. Inverse relationship between the induction of human sperm capacitation and spontaneous acrosome reaction by various biological fluids and the superoxide scavenging capacity of these fluids // Int. J. Androl. - 1993. - 16, № 6. - P. 258-266.
22. de Lamirande E., Gagnon C. A positive role for the superoxide anion in triggering hyperactivation and capacitation of human spermatozoa // Int. J.Androl. - 1993. - 16, № 31. - P. 21-25.
23. de Lamirande E., Gagnon C. Capacitation-associated production of superoxide anion by human spermatozoa // Free. Rad. Biol. and Med. - 1995. - 18, № 3. - P. 487-495.
24. de Lamirande E., Gagnon C. Human sperm hyperactivation in hole semen and its association with low superoxide scavenging capacity in seminal plasma // Fertil. and Steril. - 1993. - 59, № 6. - P. 1291-1295.
25. de Lamirande E., Gagnon C. Reactive oxygen species and human spermatozoa. I. Effects on the motility of intact spermatozoa and on sperm axonemes // J.Androl. - 1992. - 13, № 5. - P. 369-378.
26. de Lamirande E., Gagnon C. Reactive oxygen species and human spermatozoa. II. Depletion of ATP plays an important role in the inhibition of sperm motility // Ibid. - P. 379-387.
27. Lenzi A., Culasso F., Gandini L. et al. Placebo-controlled, double-blind, cross-over trial of glutathione therapy in male infertility // Hum. Reprod. - 1992. - 8, № 10. - P. 1657-1662.
28. Marmor D. Fertility after antimetabolic treatments // Bull. Cancer, Paris. - 1994. - 81(9). - P. 764-769.
29. Marmor D., Duyck F. Male reproductive potential after MOPP therapy for Hodgkin's disease: a long-term survey // Andrologia. - 1995. - 27. - P. 99-106.
30. Mc Cord J.M. Human disease, free radicals, and the oxidant-antioxidant balance // Clin. Biochem. - 1993. - 26. - P. 351-357.
31. Mc Cord J.M., Bassman A.O. Sources of free radicals // Toxicol. and Indust. Health. - 1993. - № 9. - P. 23-37.
32. Mc Cord J.M. Mitochondrial generation of oxygen radicals during reoxygenation of ischemia tissues // Free Rad. Biol. and Med. - 1991. - 12(13). - P. 681-688.
33. Plante Mark, Eve de Lamirande, Claude Gagnon. Reactive oxygen species released by activated neutrophils, but not by deficient spermatozoa, are sufficient to affect normal sperm motility // Fertil. and Steril. - 1994. - 62, № 2. - P. 387-393.
34. Pradeep Kumar G., Malini Laloraya, Mammohan M.Laloraya. Superoxide radical level and superoxide dismutase activity changes in maturing mammalian spermatozoa // Andrologia. - 1991. - 23. - P. 171-175.
35. Riley J.C.M., Behrman H.R. Oxygen radicals and reactive oxygen species i reproduction // Proc. Sos. Exp. Biol. and Med. - 1991. - 198. - P. 781-791.
36. Sailer B.L., Jost L.K., Erickson K.R. et al. Effects of X-irradiation on mouse testicular cells and sperm chromatin structure // Environ. Mol. Mutagen. - 1995. - 25(1). - P. 23-30.
37. Siese H., Stahl W., Sundquist A.R. Antioxidant functions of vitamins (Uitamin E, C, b-carotene, and other carotinoids) // Beyond Deficiency. - 1992. - 669. - Sept. 30. - P. 7-20.

Ін-т фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ;
Нац. мед. ун-т ім. О.О.Богомольця, Київ

Матеріал надійшов
до редакції 19.11.97