

Мшак-Манукян Г.Н., Брюхина Е.В.

Гликоделин как возможный маркер мужской фертильности

ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет Минздрава России», кафедра акушерства и гинекологии факультета дополнительного профессионального образования, г. Челябинск

Mshak-Manukyan G. N., Bruhina E. V.

Glycodelin as a possible marker of male fertility

Резюме

В обзоре обобщены результаты научных работ, свидетельствующих о важной роли определения гликоделина в сыворотке и эякуляте у супругов в парах с нарушением фертильности. Подтверждается необходимость установления региональных диапазонов нормальных и патологических значений.

Ключевые слова: гликоделин, семенная плазма, фертильность

Summary

This review summarizes the results of scientific research demonstrating the important role of determining serum and sperm glycodelin from men in couples with impaired fertility. It confirmed that necessary to establish the regional range of normal and pathological values.

Key words: glycodelin, seminal plasma, fertility

Введение

Термин «гликоделин» впервые предложен в 1991 г. группой хельсинских исследователей, занимающихся выделением и изучением углеводного состава гликопротеинов [1], ранее известных как плацентарный протеин 14, ассоциированный с беременностью эндометриальный альфа 2 микроглобулин. Название гликоделин отражает важность гликолизирования в биологической активности гликопротеинов, секретируемых в различных тканях и органах организма. Имея одинаковую белковую структуру, антигенную характеристику, изоформы гликоделина в зависимости от источника выделения различны по своему углеводному составу, что определяет уникальность биологического эффекта каждой из них [2,3]. Гликоделин определяется в эндометрии [4,5,6,7], плаценте [7,8], амниотической жидкости [8], семенной плазме [7,9,10,11], сыворотке крови. В отечественной литературе впервые описан Петруниным Д.Д. в 1976 г. как новый плацентарный антиген, который в значительных количествах выделен из ткани раннего хориона, плаценты, позднее он был обнаружен в сперме здоровых мужчин в количестве, соизмеримом содержанию в экстрактах зрелой плаценты [7,8,12].

В зависимости от источника выделения, в настоящее время различают 4 изоформы гликоделина: амниотический (А), фолликулярный (Ф), кумулюсный (К), спермальный (С).

Гликоделин А является наиболее изученной гли-

коформой в настоящее время, секретируется в железах секреторного и децидуализированного эндометрия [4,5,6,7], в маточных трубах [13], выделяется в маточную и амниотическую жидкость. Обладает контрацептивной способностью, подавляя связывание сперматозоидов с зола pellucida яйцеклетки [14,15]. При овуляторном цикле пик секреции приходится на 8-10 день после овуляции, уровень достигает максимума на 10-16 неделе беременности [16]. Также гликоделин А является маркером функционального состояния эндометрия и обеспечивает оптимальное иммунологическое микроокружение эмбриону, благодаря своим иммуносупрессивным свойствам [17,18,19].

Гликоделин Ф продуцируется лютеинизированными гранулезными клетками поздних вторичных фолликулов яичника, откуда поступает в фолликулярную жидкость. Данная форма гликоделина предотвращает акросомальную реакцию, индуцированную прогестероном [20,21,22].

Гликоделин К продуцируется кумулюсными клетками фолликулов, обеспечивает селекцию сперматозоидов с нормальной морфологией, интактной акросомой, высоким качеством генетического материала [23,24,25,26].

Все выше перечисленные формы гликоделина секретируются в тканях женской репродуктивной системы, лишь спермальный гликоделин секретируется в тканях мужского репродуктивного тракта.

Гликоделин С является одним из постоянных белков плазмы, продуцируется в семенных пузырьках и протоках бульбоуретральных желез и секретируется в семенную жидкость, в которой составляет около 3% общего белка [27]. Данный гликопротеин необычайно богат фруктозой, его главные двухантенные структуры представлены углеводными последовательностями групп крови LewisX и LewisY, последний редко встречается у человека и рассматривается как опухольевый и ассоциированный с апоптозом антиген [28].

Основная часть. В последние десятилетия широко исследуется роль гликоделина С при нарушенной репродукции в супружеских парах. Устанавливается диапазон нормативных значений гликоделина С и его роль в процессах репродукции. Несмотря на большой интерес к данному гликопротеину, пока он не входит в диагностический алгоритм определения мужской фертильности.

Определение гликоделина С в исследованиях осуществляется иммуноферментным методом с использованием диагностических наборов или методом двойной иммунодиффузии в агаре по Оухтердони в модификации с использованием стандартных тест-систем. Согласно инструкции к тест-системам (Glycodelin-ELISA, Германия) при мужском бесплодии содержание гликоделина в семенной плазме менее 9-14 мкг/мл, а в сыворотке крови показатель нормы у мужчин менее 10 нг/мл. Однако рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон нормальных и патологических значений.

Одной из основных функций гликоделина С в настоящее время считается регуляция процесса капацитации сперматозоидов - комплекса физиологических изменений, в результате которых спермий приобретает способность к акросомальной реакции и проникновению в яйцеклетку. Своевременность капацитации очень важна в процессе успешного оплодотворения, поскольку капацитурированные сперматозоиды сохраняют свою способность к развитию акросомальной реакции, индуцированной ZP яйцеклетки, только в течение 50-240 минут в условиях *in vitro* [29].

Гликоделин С семенной плазмы поддерживает сперматозоиды в некапацитурированном состоянии, являясь фактором блокирующим капацитацию в период прохождения через цервикальную слизь. P.Chiu и соавторы [30] показали, что гликоделин С в физиологических концентрациях подавляет индуцированный сывороточным альбумином выход холестерина из мембраны сперматозоидов, способствующий капацитации. Гликоделин С в семенной плазме находится в свободном и связанном со сперматозоидами состоянии. Связывание гликоделина С с мембраной молекулы является специфичным, но кратковременным и не прочным. [30, 31]. После эякуляции сперматозоиды контактируют с семенной плазмой в течение короткого промежутка времени в процессе прохождения через цервикальный канал шейки матки. При миграции через цервикальную слизь гликоделин С открепляется от поверхности сперматозоидов, что позволяет альбумину, присутствующему в маточной жидкости в

высоких концентрациях инициировать процесс капацитации [30]. Это было подтверждено в исследованиях: при иммунофлюоресцентном окрашивании сперматозоидов выявлено связывание гликоделина С с мембраной головки, которое уменьшилось после миграции гамет через суррогат цервикальной слизи [30]. Также выявлено, что при дегликализации гликоделина С его связывание со сперматозоидами снижалось и отменяло подавление капацитации, что указывает ведущую роль углеводной цепи в функционировании молекулы [30].

Gneist N. и соавт. [32] в своем исследовании (2006г.) показали, что уровень спермального гликоделина варьирует в широких пределах (36,4-576,2 мкг/мл), авторы подтвердили ранее полученные данные об отсутствии связи между уровнем гликоделина и параметрами спермограммы, также показали отсутствие взаимосвязи между высоким уровнем спермального (плазматического) гликоделина и интенсивностью его связывания с поверхностью сперматозоида. Было установлено, что морфологически измененные сперматозоиды связывают гликоделин С интенсивнее, чем нормальные. Возможно, таким образом, обеспечивается механизм иммунной защиты и инактивируются аномальные сперматозоиды, несущие неполноценный генетический материал.

Калашникова Е.А. [33] и соавт. в своем исследовании подтвердили иммуносупрессивный эффект гликоделина С в женском репродуктивном тракте. Выявлено повышение количества антиспермальных антител в сыворотке крови женщин при снижении уровня гликоделина С в спермальной плазме их супругов в парах с нарушением репродукции. Авторами было предположено, что гликоделина С, возможно, является иммунодепрессивным белком в процессе формирования антиспермального иммунитета у женщин, в то время как развитие антиспермального аутоиммунитета у мужчин регулируется иными факторами. Что касается уровня гликоделина С: его средний уровень в спермальной жидкости в группе с высоким титром антиспермальных антител в сыворотке крови женщин составил $48,9 \pm 13,1$ мкг/мл, с низким уровнем антиспермальных антител - $131,0 \pm 17,8$ мкг/мл. Оценивая уровень гликоделина С, важно отметить, что все пары, принимающие участие в исследовании были с репродуктивными нарушениями! Содержание АМГ определяли иммуноферментным методом с использованием диагностических наборов «АМГФ-Фертигест-М», разработанных в НИИ Морфологии человека РАМН. В данном исследовании также не выявлена связь между уровнем спермального гликоделина и характеристиками спермограммы, следовательно при одинаковых показателях спермограммы у разных мужчин имеются различия в оплодотворяющей способности сперматозоидов. По мнению авторов, концентрация АМГФ в нативной сперме 20-200 мг/мл является оптимальной для оплодотворения.

Низкие уровни гликоделина в эякуляте или сыворотке являются признаком нарушения фертильности у мужчин или женщин и прогностическим признаком привычного невынашивания беременности [34,35,36,37,38]

Сидоровым А.Н. в 1997г. [34] проведено сравнительная клиничко-лабораторная характеристика состояния соматического и репродуктивного здоровья мужчин и женщин в супружеских парах с нормальной репродуктивной функцией, бесплодием и невынашиванием беременности. Концентрацию гликоделина С определяли методом двойной иммунодиффузии в агаре по Оухтердони в модификации Е.И. Храмовой и Г.И. Абелева (1961) с использованием стандартных тест-систем. Чувствительность тест-систем для гликоделина С составляло 2 мкг/мл.

Значение гликоделина в спермальной жидкости находилось в широких пределах от 2 до 256 мкг/мл. У мужчин с нормальной репродуктивной функцией уровень гликоделина С составил в среднем $40,6 \pm 2,7$ мкг/мл. Наиболее часто уровень белка составлял 32 мкг/мл (65,4%). У мужчин с нарушенной репродуктивной функцией уровень гликоделина С был достоверно снижен; в этих группах преобладали значения протеина от 2 до 16 мкг/мл. Во всех исследуемых группах максимальные значения концентрации сперматозондов, количества активно подвижных гамет, средней линейной скорости движения сперматозондов одновременно с минимальным количеством морфологически измененных форм сперматозондов наблюдались при уровне гликоделина в семенной жидкости, равном 32 мкг/мл, при отклонении от которого как в сторону уменьшения, так и увеличения, отмечалось ухудшение показателей спермограммы. Автор отмечает, что прогностически значимы в возникновении репродуктивных потерь снижение уровня спермального гликоделина менее 16 мкг/мл.

По мнению Л. В. Посисеевой [35,36] при уменьшении содержания гликоделина С в эякуляте нарушается миграция и выживаемость сперматозоидов в женском репродуктивном тракте, что в случаях наступления беременности приводит к формированию неполноценного плодного яйца и спонтанному аборту. Повышенное количество протеина в семенной жидкости, возможно, приводит к изменению реологических свойств семенной жидкости и снижения подвижности сперматозоидов. Низкое содержание гликоделина С может быть обусловлено врожденной или приобретенной патологией семенных пузырьков или наличием аутоиммунных реакций, приводящих к снижению уровня белка. [36]

Посисеева Л.В., Герасимов А.М. [37] в исследовании использовали препарат гликоделина в дозе 50 мкг/мл с целью улучшения фертильных свойств спермы. После внесения в пробы эякулятов раствора гликоделина выявлено усиление исходной подвижности сперматозоидов при идопатической астенозооспермии и хроническом воспалительном процессе. В нормальной сперме, в эякулятах с признаками обострения воспалительного процесса и при тератозооспермии подвижность сперматозоидов либо не менялся, либо угнетался. По мнению авторов, это воздействие на половую клетку опосредовано влиянием на кальциевый обмен эякулята. Данное исследование открывает возможность использования раствора гликоделина в будущем для улучшения подвижности сперматозоидов.

Чухиной С.И. в 2011г. [38] при обследовании супругов в парах с привычным невынашиванием определялось содержание специфического белка фертильности – гликоделина в спермальной плазме методом ИФА («Bioserv-Diagnostics» (Германия)). В ходе построения границ доверительного интервала Р.Фишера, автором установлены нормы концентрации гликоделина в эякуляте мужчин при ненарушенной репродуктивной функции: от 20 до 35,3 мкг/мл. Низкий уровень гликоделина (менее 20 мкг/мл) и значения выше 35,3 мкг/мл были приняты за патологические. Было также выявлено, что у женщин с патологическим уровнем гликоделина в сперме мужа, по сравнению с нормальным содержанием гликоделина в эякуляте супруга, беременность чаще осложняется рождением детей с церебральной ишемией.

Также установлено, что уровень гликоделина может варьировать под воздействием определенных факторов. [39,40,41]

Евдокимовым В.В и соавторами [39] установлено, что при воспалительных заболеваниях репродуктивной системы уровень спермального гликоделина достоверно выше, чем у доноров спермы. При обострении воспалительных процессов его уровень повышается в 1,5-1,7 раза.

Гизатуллин Т.Р. [40] в своей диссертационной работе показал, что у мужчин, подвергших воздействию боевого стресса в условиях спецподразделений МВД, снижение содержания в сыворотке крови и эякуляте молекулярных маркеров фертильности, одним из которых является гликоделин С, предшествует изменению рутинных параметров спермограммы. До воздействия боевого стресса уровень спермального гликоделина был $17,4 \pm 1,6$ мкг/мл, после – $6,8 \pm 0,62$ мкг/мл, а в сыворотке крови – $9,4 \pm 0,21$ мкг/л и $6,3 \pm 0,12$ мкг/мл соответственно. Гликоделин определялся методом ИФА с помощью наборов Glycodelin-ELISA, Германия.

Галимов Ш.Н. и соаавт [41] провели исследование по выявлению роли воздействия острой алкогольной интоксикации на уровень биологических маркеров мужской фертильности, одним из которых является гликоделин С. Авторы пришли к выводу, что снижение оплодотворяющей способности при острой алкогольной интоксикации может быть обусловлено изменениями содержания в сыворотке крови и эякуляте ряда биологически активных соединений – регуляторов гаметогенеза и фертилизации, которое обнаруживается еще до изменения рутинных параметров спермограммы. Уровень спермального гликоделина был снижен у мужчин с острой алкогольной интоксикацией ($3,2 \pm 0,41$ мкг/мл) по сравнению с группой контроля ($21 \pm 2,3$ мкг/мл). Гликоделин С определялся методом ИФА с помощью наборов Glycodelin-ELISA, Германия.

Заключение

Важной задачей современной репродуктологии является поиск новых диагностических методов оценки фертильности мужчин. С этой целью широко изучаются белковые составляющие спермы, одним из которых

является гликоделин С. Являясь иммуносупрессорным белком, гликоделин С обеспечивает механизмы иммунной защиты аллогенных сперматозоидов в женском репродуктивном тракте, регулирует процесс капситазации сперматозоидов. Снижение гликоделина С приводит к нарушению репродуктивной функции в семейной паре: бесплодию, невынашиванию беременности. Однако, определяемый нормативный диапазон широко варьирует и требует дополнительных исследований, возможно, с учетом регионарных особенностей. Основные исследования в России по спермальному гликоделину проведены в г. Иваново, в то время как в других регионах этот показатель мало изучен. Необходимы новые исследования для установления региональных диапазонов нормальных и патологических значений гликоделина С. Дальнейшее более детальное изучение откроет новые возможности

в диагностике и лечении нарушений репродуктивной функции супружеских пар.■

Брихкина Елена Владимировна – д.м.н., профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии факультета дополнительного профессионального образования ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет Минздрава России», г. Челябинск; **Мишак-Манукян Гоар Норайровна** – ассистент кафедры акушерства и гинекологии факультета дополнительного профессионального образования ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет Минздрава России», г. Челябинск, Автор, ответственный за переписку - Мишак-Манукян Гоар Норайровна, 454080, Россия, г. Челябинск, ул. Воровского 64, тел. 89085765256, e-mail: gohar_m-t@mail.ru

Литература:

- Riittinen L., Narvanen O., Virtanen I. et al. Monoclonal antibodies against endometrial protein PP 14 and their use for purification and radioimmunoassay of PP 14. *J Immunol Methods* 1991; 136:85-90
- Dell A., Morris H.R., Easton R.L. et al. Structural analysis of the oligosaccharides derived from glycoprotein with potent immunosuppressive and contraceptive activities. *J Biol Chem* 1995; 270:41:24116—24125.
- Seppala M., Koistinen H., Koistinen R. et al. Glycosylation related actions of glycodelin: gamete, cumulus cells, immune cells and clinical associations. *Hum Reprod Update* 2007;13:28:275—287.
- Julkunen M., Koistinen R., Sjoberg A.M. et al. Secretory endometrium synthesizes placental protein 14. *Endocrinology* 1986a;118:1782-6
- Mandelin E., Koistinen H., Koistinen R. Levonorgestrel-releasing intrauterine device-wearing women express contraceptive glycodelin A in endometrium during mid-cycle: another contraceptive mechanism? *Hum Reprod* 1997;12:12:2671—2675.
- Mandelin E., Koistinen H., Koistinen R. et al. Endometrial expression of glycodelin in levonorgestrel-releasing subdermal implant wearing women. *Fertil Steril* 2001; 76:474-8.
- Петрунин Д.Д., Козляева Г.А., Месцякина Н.В., Шевченко О.П. Обнаружение хорионического α 2-микроглобулина в эндометрии в секреторной фазе менструального цикла и в сперме у мужчин. *Акушерство и гинекология*. 1980;3:22—23.
- Петрунин Д.Д., Грязнова И.М., Петрунина Ю.П., Татаринцов Ю.С. Иммунохимическая идентификация органоспецифического α 2-глобулина плаценты человека и его содержание в амниотической жидкости. *Бюлл экспер биол* 1976;7:803—804.
- Bohn H., Kraus W., Winckler W. New soluble placental tissue proteins: their isolation, characterization, localization and quantification. In: Klopper A. (ed). *Immunochemistry of human Placental Proteins*. Praeger Publ Placenta 1982;S4:67-81
- Julkunen M., Wahlstrom T., Seppala M. Human fallopian tube contains placental protein 14. *Am J Obstet Gynecol* 1986;154:1076-9
- Koistinen H., Koistinen R., Dell A. et al. Glycodelin from seminal plasma is a differentially glycosylated form of contraceptive glycodelin A. *Mol Hum Reprod* 1996;2:759-65
- Татаринов Ю.С., Посисеева Л.В., Петрунин Д.Д. Специфический α 2-микроглобулин (гликоделин) репродуктивной системы человека: 20 лет от фундаментальных исследований до внедрения в клиническую практику. *Иваново: МИК*. 1998. - 128 с.
- Saridogan E., Djahanbakhch O., Kervancioglu M.E., Kahyaoglu F. Placental protein 14 production by human Fallopian tube epithelial cells in vitro. *Hum Reprod* 1997;12:7:1500—1507
- Oehninger S., Coddington C.C., Hodgen G.D., Seppala M. Factor's affecting fertilization: endometrial placental protein 14 reduces the capacity of human spermatozoa to bind to the human zona pellucida. *Fertil Steril* 1995;63:2:377—383.
- Chiu P.C., Chung M.K., Koistinen R. et al. Glycodelin-A interacts with fucosyltransferase on human sperm plasma membrane to inhibit spermatozoa-zona pellucida binding. *J Cell Sci* 2007;1:120:Pt 1:33—44.
- Julkunen M., Rutanen E.M., Koskimies A.I. et al. Distribution of placental protein 14 in tissues and body fluids during pregnancy. *Br J Obstet Gynecol* 1985;442:571-2.
- Болтовская М.Н., Попов Г.Д., Калинина Е.А., Старостина Т.А. α 2-Микроглобулин фертильности (гликоделин) как маркер функциональной активности эндометрия (обзор литературы). *Проблемы репродукции*. 2000;6:6:6—11.
- Болтовская М.Н., Калинина И.И., Попов Г.Д. Экспрессия эндометриальных белков в маточных железах при физиологической и неразвивающейся бере-

- менности. *Arch Fam Phys* 2002;64:5:25—28.
19. Sterveus-Evers A., Mandelin E., Koistinen R. et al. Glycodelin is present in pinopodies of receptive-phase human endometrium and is associated with down-regulation of progesterone receptor B. *Fertil Steril* 2006;85:6:1803—1811.
 20. Chiu P.C., Koistinen R., Koistinen H. et al. Binding of zona binding inhibitory factor-1 (ZIF-1) from human follicular fluid on spermatozoa. *J Biol Chem* 2003;278:13570—13577
 21. Yeung W.S.B., Lee K.K., Koistinen R. et al. Roles of glycodelin in modulating sperm function. *Mol Cell Endocrinol* 2006;250:149—156.
 22. Tse J.Y.M., Chiu P.C., Lee K.F. et al. The synthesis and fate of glycodelin in human ovary during folliculogenesis. *Mol Hum Reprod* 2002;8:142-8
 23. Chiu P.C.N., Chung M.K., Koistinen R. et al. Cumulus oophorus-associated glycodelin-C displaces sperm-bound glycodelin-A and -F and stimulates spermatozoa-zona pellucida binding. *J Biol Chem* 2007;282:8:5378—5388.
 24. Carrell D.T., Middleton R.G., Peterson C.M. et al. Role of the cumulus in the selection of morphologically normal sperm and induction of the acrosome reaction during human in vitro fertilization. *Arch Androl* 1993;31:2:133—137
 25. Hong S.J., Chiu P.C., Lee K.F. et al. Establishment of a capillary-cumulus model to study the selection of sperm for fertilization by the cumulus oophorus. *Hum Reprod* 2004;19:7:1562—1569.
 26. Rijdsdijk M., Rossouw F.D. Use of the capillary-cumulus oophorus model for evaluating the selection of spermatozoa. *Fertil Steril* 2007.
 27. Bolton A.E., Clough K.J., Stoker R.J., Pockley A.G. Identification of placental protein 14 as an immunosuppressive factor in human reproduction. *Lancet* 1987;1:8533:593—595.
 28. Lapid K., Sharon N. Meet the multifunctional and sexy glycoforms of glycodelin. *Glycobiology* 2006;16:3:38R—45R.
 29. Cohen-Dayag A., Tur-Kaspa I., Dor J. et al. Sperm capacitation in humans is transient and correlates with chemotactic responsiveness to follicular factors. *PNAS* 1995;92:11039—11043.
 30. Chiu P.C., Chung M.K., Tsang H.Y. et al. Glycodelin-S in human seminal plasma reduces cholesterol efflux and inhibits capacitation of spermatozoa. *J Biol Chem* 2005;280:25580—25589.
 31. Morris H.R., Dell A., Easton R.L. et al. Gender specific glycosylation of human glycodelin affects contraceptive activity. *J Biol Chem* 1996;271:32159-32167
 32. Gneist N., Keck G., Zimmernann A. et al. Glycodelin binding to human ejaculated spermatozoa is correlated with sperm morphology. *Fertil Steril* 2007.
 33. Калашникова Е.А., Кокаровцева С.Н., Маршницкая М.И. и др. $\alpha 2$ -Микроглобулин фертильности (гликоделин-S) как возможный иммунодепрессивный фактор антиспермального иммунитета. *Проблемы репродукции*. 2004;10:5:37—41.
 34. Сидоров А.Н. Роль «мужского» фактора при бесплодии и невынашивании беременности в супружеской паре: автореферат дисс. ...канд. мед. наук.- Иваново, 1997.-21с
 35. Посисеева Л.В., Бойко Е.Л., Малышкина А.И., Шевелева А.А., Суриков И.В. Репродуктивные возможности мужчин и пути его улучшения. *Курортные ведомости*, 2009. - № 6 - С. 13-17
 36. Посисеева Л.В. Белковый фактор фертильности и его роль в репродукции человека. *Вестник Ивановской мед. академии*, 1996, т.1, № 1. С. 45
 37. Посисеева Л.В., Герасимов А.М. Гликоделин как возможный регулятор фертильной функции мужчины *Проблемы репродукции*, 6, 2008
 38. Чухина С.И. Клинико-иммунологическое обоснование использования иммуноцитотерапии в комплексе лечения женщин с привычным ранним невынашиванием беременности: Автореф. дис. ... кандидата мед. наук. Иваново 2011- 21с.
 39. Евдокимов В.В., Ерасов В.И., Орлова Е.В. Белковые Маркеры фертильности. *Андрология и генитальная хирургия*. 2004. - № 4. - С. 30-32.
 40. Гизатуллин Т.Р. Молекулярные маркеры фертильности и состояние свободнорадикального окисления у сотрудников спецподразделений МВД в условиях боевого стресса: автореферат дис. ...канд. мед. наук.- Нижний Новгород, 2010- 24с.
 41. Галимов Ш.Н., Мухминов А.А., Юлдашев В.Л., Круговых Н.Ф. Биохимические маркеры оплодотворяющей способности эякулята при острой алкогольной интоксикации. *Наркология*. №11. 2005, С. 62-64