

DOI: 10.12731/2658-6649-2024-16-3-1152

УДК 612.1:616.151:636.034



Научная статья

ИЗМЕНЕНИЕ МЕТАБОЛИЗМА НАТИВНЫХ И ДЕКОНСЕРВИРОВАННЫХ СПЕРМАТОЗОИДОВ БЫКОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДОРОДА

*М.Н. Иващенко, А.В. Дерюгина, О.Н. Ермохина, П.С. Игнатъев,
М.И. Латушко, В.Б. Метелин, А.А. Белов, А.И. Ерзутов*

Обоснование. Процесс хранения спермы в глубоководном состоянии вызывает структурно-функциональные нарушения сперматозоидов, что снижает их оплодотворяющую способность. Основным механизмом негативного влияния криоконсервации на сперматозоиды является развитие окислительного стресса.

Молекулярный водород обладает некоторыми преимуществами как потенциальная антиоксидантная молекула - это селективное воздействие на определенные активные формы кислорода, способностью преодолевать клеточные мембраны, отсутствие токсических эффектов.

Цель. Изучение влияния молекулярного водорода на функциональный статус нативных и деконсервированных сперматозоидов быков-производителей.

Материалы и методы. Объектом исследования были эякуляты быков до криоконсервации и после размораживания. Исследовали нативную разбавленную разбавителем «BioXcell» сперму, нативную разбавленную разбавителем «BioXcell» сперму, обогащенную молекулярным водородом, сперму после глубокой заморозки и сперму после глубокой заморозки, предварительно обработанную молекулярным водородом. В сперматозоидах определяли интенсивность протекания свободнорадикальных процессов и активность антиоксидантных ферментов.

Результаты. После криоконсервации спермы, процессы перекисного окисления липидов в сперматозоидах значительно активируются. Увеличивается содержание малонового диальдегида, диеновых и триеновых конъюгатов. Использование молекулярного водорода для коррекции качества спермопродукции после криоконсервации дало положительные результаты. Отмечено

снижение концентрации первичных и промежуточных продуктов перекисного окисления липидов. Значительно увеличивается активность супероксиддисмутазы и каталазы в сперматозоидах.

Заключение. Молекулярный водород имеет потенциал в качестве нового и эффективного антиоксиданта, широкое использование которого возможно в ветеринарных целях.

Ключевые слова: молекулярный водород; сперматозоиды; перекисное окисление липидов; малоновый диальдегид; супероксиддисмутаза; каталаза

Для цитирования. Иващенко М.Н., Дерюгина А.В., Ермохина О.Н., Игнатьев П.С., Латушко М.И., Метелин В.Б., Белов А.А., Ерзутов А.И. Изменение метаболизма нативных и деконсервированных сперматозоидов быков под действием молекулярного водорода // *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*. 2024. Т. 16, №3. С. 133-148. DOI: 10.12731/2658-6649-2024-16-3-1152

Original article

CHANGES IN THE METABOLISM OF NATIVE AND DECONSERVED BULL SPERMATOZOA UNDER THE ACTION OF MOLECULAR HYDROGEN

*M.N. Ivashchenko, A.V. Deryugina, O.N. Ermokhina, P.S. Ignatiev,
M.I. Latushko, V.B. Metelin, A.A. Belov, A.I. Erzutov*

Background. The process of storing sperm in a deeply frozen state causes structural and functional disorders of spermatozoa, which reduces their fertilizing ability. The main mechanism of the negative effect of cryopreservation on spermatozoa is the development of oxidative stress.

Molecular hydrogen has some advantages as a potential antioxidant molecule - it is a selective effect on certain reactive oxygen species, the ability to overcome cell membranes, the absence of toxic effects.

Purpose. To study the effect of molecular hydrogen on the functional status of native and deconserved sperm cells of breeding bulls.

Materials and methods. The object of the study was the ejaculates of bulls before cryopreservation and after defrosting. The native sperm diluted with the "BioXcell" diluent, the native sperm diluted with the "BioXcell" diluent enriched with molecular hydrogen, the sperm after deep freezing and the sperm after deep freez-

ing pretreated with molecular hydrogen were studied. The intensity of free radical processes and the activity of antioxidant enzymes were determined in spermatozoa.

Results. After cryopreservation of sperm, the processes of lipid peroxidation in spermatozoa are significantly activated. The content of malondialdehyde, diene and triene conjugates increases. The use of molecular hydrogen to correct the quality of sperm production after cryopreservation gave positive results. A decrease in the concentration of primary and intermediate products of lipid peroxidation was noted. The activity of superoxide dismutase and catalase in spermatozoa significantly increases.

Conclusion. Molecular hydrogen has the potential as a new and effective antioxidant, the widespread use of which is possible for veterinary purposes.

Keywords: molecular hydrogen; spermatozoa; lipid peroxidation; malondialdehyde; superoxide dismutase; catalase

For citation. Ivashchenko M.N., Deryugina A.V., Ermokhina O.N., Ignatiev P.S., Latushko M.I., Metelin V.B., Belov A.A., Erzutov A.I. Changes in the Metabolism of Native and Deconserved bull Spermatozoa under the Action of Molecular Hydrogen. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*, 2024, vol. 16, no. 3, pp. 133-148. DOI: 10.12731/2658-6649-2024-16-3-1152

Введение

Оплодотворяющая способность замороженных сперматозоидов до настоящего времени остается невысокой, тем не менее криоконсервация спермы является основным инструментом вспомогательных репродуктивных технологий [4, 16, 22].

Одной из ведущих причин нарушения функций сперматозоидов является окислительный стресс. Несмотря на то, что активные формы кислорода необходимы для капацитации и акросомальной реакции, их избыточная концентрация в сочетании с ослаблением антиоксидантной защиты приводит к окислительно-восстановительному дисбалансу, потере целостности клеточной мембраны, повышению ее проницаемости, снижению подвижности сперматозоидов, структурному повреждению ДНК [1, 8].

Диагностические и терапевтические стратегии при окислительном стрессе многообразны, но единый общепризнанный подход к решению этой проблемы пока не сформирован. Учитывая это, использование молекулярного водорода с широким спектром антиоксидантного действия на данный момент является обоснованным и безопасным вариантом при криоконсервации сперматозоидов на фоне развития окислительного стресса [3, 5, 10, 19].

Молекулярный водород избирательно нейтрализует агрессивные высокотоксичные $\bullet\text{OH}$ и ONOO^- , которые могут неконтролируемо вступать в реакции с нуклеиновыми кислотами, липидами и белками, вызывая фрагментацию ДНК, перекисное окисление липидов и инактивацию белков. Молекулярный водород не нарушает функционирование сигнальных активных форм кислорода. Это выделяет молекулярный водород из общего количества антиоксидантов, которые не обладают избирательным действием в отношении свободных радикалов. Известно, что, значительно снижая уровень $\bullet\text{OH}$ в клетках, молекулярный водород не влияет на уровень $\bullet\text{O}^{2-}$, H_2O_2 и $\bullet\text{NO}$ [14, 18]. Следовательно, молекулярный водород может уменьшать окислительный стресс и корректировать окислительно-восстановительный статус клеток [17, 19]. Благодаря своим действенным антиоксидантным свойствам, молекулярный водород способен вызывать многочисленные метаболические эффекты в клетках [12, 15, 21].

В связи с вышеизложенным, целью нашей работы - изучение влияния молекулярного водорода на функциональный статус нативных и деконсервированных сперматозоидов быков-производителей.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования были эякуляты быков до криоконсервации и после размораживания. Исследования проведены в ООО Племпредприятие «Нижегородское» на быках-производителях чёрно-пёстрой породы. Была сформирована группа из 20 чёрно-пёстрых голштинизированных быков в возрасте 3 лет с живой массой 900-1100 кг. Условия кормления и содержания животных были одинаковыми и соответствовали разработанным нормам (ФГБНУ ФНЦ животноводства — ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста). Сбор спермы проводили в соответствии с Национальной технологией замораживания и использования спермы племенных быков-производителей.

В исследовании были использованы образцы спермы, полученные непосредственно перед экспериментом. От каждого быка брали два эякулята. Использовали семя с минимальным количеством аномальных форм клеток. Исследовали по 3 образца каждого эякулята.

Эякуляты разбавляли синтетической средой для разбавления спермы быков «BioXcell» (Франция). Для изучения влияния молекулярного водорода на сперматозоиды использовали разбавитель для спермы «BioXcell», разведенный на дистиллированной воде, обогащённой молекулярным водородом. Последний получали используя установку Бозон-Н-Н₂/О₃ (НПП

Эконика, Украина). Прибор позволяет получать «суперсатурированную» водородом воду. Концентрация молекулярного водорода в растворе находилась в пределах 1,2-1,5 мг/л.

Далее проводили итоговое разбавление, фасовку и эквilibрацию семени. Заморозку проводили в открытых гранулах. Доза одной открытой гранулы соответствовала ГОСТу 26030-2015 и была равна 0,2 мл. Сперматозоиды замораживали в течение 7,5 минут до температуры -145°C , затем контейнер с образцами помещали в жидкий азот (-196°C). После окончания семидневного карантина семя, замороженное в открытых гранулах, было разморожено по стандартной технологии.

Освобождение сперматозоидов от семенной плазмы осуществляли путём отмывания физиологическим раствором.

В сперматозоидах определяли интенсивность протекания свободно-радикальных процессов путем определения в клетках - концентрации малонового диальдегида (МДА), диеновых (ДК), триеновых конъюгатов (ТК), оснований Шиффа (ОШ). Определяли активность антиоксидантных ферментов - супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы.

Активность СОД определяли по ингибированию образования продукта аутоокисления адреналина (Сирота, 2016) [7]. Для определения активности каталазы использовали спектрофотометрический метод, основанный на определении скорости разложения H_2O_2 каталазой исследуемого образца с образованием воды и кислорода (Рецкий, 2010) [6].

Концентрацию малонового диальдегида в половых клетках определяли при взаимодействии с тиобарбитуровой кислотой в кислой среде при температуре $90-100^{\circ}\text{C}$ (Владимиров, Арчаков, 1972) [2]. Содержание диеновых конъюгатов, триеновых конъюгатов, оснований Шиффа в сперматозоидах устанавливали по поглощению липидным экстрактом монохроматического светового потока в ультрафиолетовой области спектра (Хышиктуев и др., 1996) [9].

Исследовали нативную разбавленную разбавителем «BioXcell» сперму (группа I), нативную разбавленную разбавителем «BioXcell» сперму, обогащенную молекулярным водородом (группа II), сперму после глубокой заморозки (группа III) и сперму после глубокой заморозки, предварительно обработанную молекулярным водородом (группа IV).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы Statistica, оценку достоверности – по критерию Стьюдента. Уровень значимости устанавливался равным 0,05. При статистической обработке от одной пробы оценивали не менее 40 клеток.

Результаты исследования и их обсуждение

В таблице 1 отображены показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ) в изученных группах. Было установлено, что в нативных сперматозоидах протекает процесс ПОЛ, что подтверждается наличием первичных и вторичных продуктов ПОЛ (группа I). Инкубация нативных сперматозоидов молекулярным водородом не оказывала влияние на интенсивность свободнорадикальных процессов (группа II), содержание продуктов ПОЛ в группе II не отличалось от группы I.

После криоконсервации спермы, процессы ПОЛ в сперматозоидах значительно активируются (группа III). Содержание диеновых и триеновых конъюгатов по сравнению с нативными образцами (группа I) было выше соответственно на 67 % и 52 % ($p \leq 0,05$). Содержание МДА в исследуемых образцах статистически достоверно было повышено в сравнении с нативным семенем в среднем на 30 %.

Таблица 1.

Влияние молекулярного водорода на перекисное окисление липидов в сперматозоидах быков

Продукты ПОЛ	Нативные сперматозоиды, (группа I)	Нативные сперматозоиды после воздействия молекулярным водородом, (группа II)	Сперматозоиды после криоконсервации, (группа III)	Сперматозоиды после воздействия молекулярным водородом и криоконсервации, (группа IV)
МДА (нМоль/мл)	0,61±0,32	0,77±0,22	0,85±0,14*	0,56±0,08*, ^Δ
Содержание ДК (ед.опт.пл/мг)	0,24±0,04	0,27±0,09	0,40±0,08*	0,19±0,03 ^Δ
Содержание ТК (ед.опт.пл/мг)	0,58±0,24	0,47±0,17	0,88±0,11*	0,27±0,05*, ^Δ
Содержание ОШ (ед.опт.пл/мг)	50,17±4,87	47,24±3,21	61,21±2,46	50,50±7,02

Примечание: среднее ± SEM, «*» – статистически значимые различия по отношению к группе I, $p \leq 0,05$; «^Δ» – статистически значимые различия между группами после криоконсервации (группа III и группа IV), $p \leq 0,05$.

Использование молекулярного водорода для коррекции качества спермопродукции после криоконсервации дало положительные результаты. Отмечено снижение концентрации первичных и промежуточных продуктов ПОЛ - МДА, диеновых, триеновых конъюгатов ($p \leq 0,05$) (табл. 1).

Повышение концентрации продуктов перекисного окисления липидов в сперматозоидах возможно связано с изменением антиоксидантной защиты

в клетках. Поэтому следующим этапом в нашей работе было исследование активности супероксиддисмутазы и каталазы в сперматозоидах (табл. 2). Супероксиддисмутазы и каталаза являются важнейшими ферменты антиоксидантной защиты клеток. Супероксиддисмутазы – фермент, играющий ключевую роль в утилизации супероксидных анион-радикалов. Каталаза катализирует двухэлектронное восстановление пероксида водорода до H_2O . Доказано, активность данных ферментов в сперматозоидах положительно коррелирует с концентрацией и подвижностью половых клеток [12,14].

Было отмечено значительное увеличение активности СОД и каталазы в сперматозоидах после воздействия молекулярным водородом и криоконсервации (группа IV). Активность СОД и каталазы увеличилась на 42 % и 74 % соответственно ($p \leq 0,05$) относительно нативных сперматозоидов (группа I). Повышенное содержание супероксиддисмутазы в сперматозоидах после криоконсервации (группа III) на 28 % вероятно является компенсаторной реакцией на усиление процессов перекисного окисления липидов в клетках, поскольку этот фермент первым вступает в процесс антиоксидантной защиты (табл. 2).

Таблица 2.

**Влияние молекулярного водорода на антиоксидантную систему
в сперматозоидах быков**

Активность фермента, (Е, мкат)	Нативные сперматозоиды, (группа I)	Нативные сперматозоиды после воздействия молекулярным водородом, (группа II)	Сперматозоиды после криоконсервации, (группа III)	Сперматозоиды после воздействия молекулярным водородом и криоконсервации, (группа IV)
Каталаза, мкат/мг	9,03±0,76	8,76±0,54	8,48±0,82	15,78±0,71*, ^Δ
СОД, ед.акт./мг белка	0,61±0,08	0,56±0,09	0,78±0,09 *	0,87±0,08*, ^Δ

Примечание: среднее ± SEM, «*» – статистически значимые различия по отношению к группе I, $p \leq 0,05$; «Δ» – статистически значимые различия между группами после криоконсервации (группа III и группа IV), $p \leq 0,05$.

Полученные в ходе исследования результаты позволяют считать, что клеточные мембраны сперматозоидов при заморозке претерпевают значительные структурные изменения. Перекисные продукты могут оказать негативное влияние на подвижность и приводить к потере оплодотворяющей способности сперматозоидов.

Было установлено, что молекулярный водород предотвращает нарастание метаболических нарушений, а именно повышается активность каталазы и супероксиддисмутазы в сперматозоидах, снижается содержание диеновых и триеновых конъюгатов, малонового диальдегида в сперматозоидах. Таким образом, молекулярный водород оказывает положительный эффект на репродуктивные клетки – повышает антиокислительную активность и снижает липопероксидацию.

Заключение

Криоконсервация является обязательным этапом в биотехнике воспроизводства крупного рогатого скота. Сперма, не пригодная реализации, подлежит выбраковке ещё до процедуры глубокого замораживания, однако снижение качества спермы происходит после деконсервирования.

При криоконсервации спермы происходит накопление продуктов перекисного окисления липидов, в частности, малонового диальдегида, диеновых и триеновых конъюгатов. При криоконсервации спермы антиоксидантная защита клеток ослабевает, что приводит к деструкции фосфолипидов и мембранных белков, нарушениям функций мембран сперматозоидов и, как следствие, невозможности сперматозоидов полноценно выполнять свои функции [20].

Молекулярный водород способен легко проникать через клеточные барьеры, осуществлять нейтрализацию токсичных радикалов кислорода, усиливать активность антиоксидантных ферментов, выполняя цитопротекторное действие.

Предполагаемый механизм действия молекулярного водорода заключается в комплексном влиянии как на снижение продуктов свободнорадикального окисления, так и на экспрессию генов, отвечающих за антиоксидантный статус клеток организма. Все это способствует нивелированию негативного влияния оксидативного стресса на целостность структуры ДНК сперматозоидов [11, 13].

Таким образом, молекулярный водород имеет потенциал в качестве нового и эффективного антиоксиданта, широкое использование которого возможно в ветеринарных целях.

Заключение комитета по этике. Исследование проводили в соответствии с требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в научных целях (ETS №123, Страсбург, 1986) и Приказа МЗ РФ № 708 Н от 28 августа 2010 г.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Информация о спонсорстве. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00205.

Список литературы

1. Антонов М.П., Жигулина В.В. Влияние биохимических изменений липидов сперматозоидов и спермоплазмы на фертильность эякулята // Верхневолжский медицинский журнал. 2012. №3. С. 47–50.
2. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 252 с.
3. Волкова Н.П., Ланкин В.З. Изменение активности антиокислительных ферментов в процессе сперматогенеза // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1984. №11. С. 546–548.
4. Дерюгина А.В., Иващенко М.Н., Лодяной М.С. Оценка резистентности мембран сперматозоидов быков в процессе долгосрочного хранения // Естественные и технические науки. 2022. Т. 1 (164). С. 107-109.
5. Жабин С.Г., Артифесков С.Б., Нагайцев В.М. Современные представления о созревании сперматозоидов в придатке яичка // Проблемы репродукции. 2010. №2. С. 66–73.
6. Рецкий М.И., Шабунин С.В., Близнецова Г.Н. Методические положения по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма. Воронеж, 2010. 69 с.
7. Сирота Т.В. Стандартизация и регуляция скорости супероксидгенерирующей реакции автоокисления адреналина, используемой для определения про/антиоксидантных свойств различных материалов // Биомедицинская химия. 2016. Т. 62, №6. С. 650–655.
8. Хышиктуев Б.С., Кошмелев А.А. Особенности изменений фосфолипидного состава семенной жидкости у мужчин с нарушением фертильности // Клиническая лабораторная диагностика. 2010. №7. С. 27–30.
9. Хышиктуев Б.С., Хышиктуева Н.А., Иванов В.Н. Методы определения продуктов перекисного окисления липидов в конденсате выдыхаемого воздуха и их клиническое значение // Клиническая лабораторная диагностика. 1996. №3. С. 13-15.
10. Aitken R.J. et al. Proteomic changes in mammalian spermatozoa during epididymal maturation / R.J. Aitken, B. Nixon, M. Lin, A.J. Koppers, Y.H. Lee, M.A. Baker // Assia J. Androlog. 2007. Vol. 9, №4. P. 16-18.
11. Artamonov M.Y. et al. Molecular Hydrogen: From Molecular Effects to Stem Cells Management and Tissue Regeneration / M.Y. Artamonov, A.K. Martuse-

- vich, F.A. Pyatakovich, I.A. Minenko, S.V. Dlin, T.W. LeBaron // *Antioxidants*. 2023. Vol. 12, №3. P. 636. <https://doi.org/10.3390/antiox12030636>
12. Hong Y. et al. Survey of Human Papillomavirus Types and Their Vertical Transmission in Pregnant Women / Y. Hong, S.O. Li, Y.L. Hu, Z.Q. Wang // *BMC Infect Dis*. 2013. №13. P. 109. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-109>
 13. Iida A. et al. The clinical application of hydrogen as a medical treatment / A. Iida, N. Nosaka, T. Yumoto, E. Knaup, H. Naito, C. Nishiyama // *Acta Med Okayama*. 2016. Vol. 70 (5). P. 331-337.
 14. Koskimaa H.M. et al. Human Papillomavirus Genotypes Present in the Oral Mucosa of Newborns and Their Concordance with Maternal Cervical Human Papillomavirus Genotypes / H.M. Koskimaa, T. Waterboer, M. Pawlita, S. Grénman, K. Syrjänen, S. Syrjänen // *J Pediatr*. 2012. Vol. 160. №5. P. 837-843. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2011.10.027>
 15. Nicolson G.L. et al. Clinical effects of hydrogen administration: from animal and human diseases to exercise medicine / G.L. Nicolson, G.F. de Mattos, R. Settineri, C. Costa, R. Ellithorpe, S. Rosenblatt, J. La Valle // *International Journal of Clinical Medicine*. 2016. Vol. 7(1). P. 32-76. <http://dx.doi.org/10.4236/ijcm.2016.71005>
 16. Nongbua T. Adding bovine seminal plasma prior to freezing improves post-thaw bull sperm kinematics but decreases mitochondrial activity/ T. Nongbua // *Systems biology in reproductive medicine*. 2018. Vol. 64. №3. P. 183-190.
 17. Ohta S. Recent progress toward hydrogen medicine: potential of molecular hydrogen for preventive and therapeutic application // *Current Pharmaceutical Design*. 2017. Vol. 17 (22). P. 2241-2252.
 18. Ohta S. Molecular hydrogen as a preventive and therapeutic medical gas: initiation, development and potential of hydrogen medicine // *Pharmacology & Therapeutics*. 2014. Vol. 144 (1). P. 1–11.
 19. Ohta S. Molecular hydrogen as a novel antioxidant: Overview of the advantages of hydrogen for medical applications // *Methods in Enzymology*. 2015. Vol. 555. P. 289-317.
 20. Ollero M. et al. Variation in docosahexaenoic acid content in subsets of human spermatozoa at different stages of maturation: implications for sperm lipoperoxidative damage / M. Ollero, R.D. Powers, J.G. Alvarez // *Mol. Reprod. Devel*. 2000. Vol. 55. P. 326-334.
 21. Pahune P.P. et al. The total antioxidant power of semen and its correlation with the fertility potential of human male subjects / P.P. Pahune, A.R. Choudhari, P.A. Muley // *J. Clin. Diagn. Res*. 2013. Vol. 7(6). P. 991-995.
 22. Paudel B. et al. Sperm capacitation is associated with phosphorylation of the testis-specific radial spoke protein Rsph6a / B. Paudel, M.G. Gervasi, J. Porambo, D. Caraballo // *Biology of Reproduction*. 2018. Vol. 100. №2. P. 440-454.

References

1. Antonov M.P. et al. Vliyaniye biokhimicheskikh izmeneniy lipidov spermatozoidov i spermoplazmy na fertil'nost' eyakulyata [Influence of biochemical changes in sperm and seminal plasma lipids on the ejaculate fertility] / M.P. Antonov, V.V. Zhigulina. *Verkhnevolzhskiy meditsinskiy zhurnal* [Verkhnevolzhsky Medical Journal], 2012, no. 3, pp. 47-50.
2. Vladimirov Yu.A. et al. *Perekisnoe okislenie lipidov v biologicheskikh membranah* [Lipid peroxidation in biological membranes] / Yu.A. Vladimirov, A.I. Archakov. M.: Nauka Publ., 1972, 252 p.
3. Volkova N.P. et al. Izmeneniye aktivnosti antiokislitel'nykh fermentov v protsesse spermatogeneza [Changes in the activity of antioxidant enzymes in spermatogenesis] / N.P. Volkova, V.Z. Lankin. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny* [Bulletin of Experimental Biology and Medicine], 1984, no. 11, pp. 546-548.
4. Deryugina A.V. et al. Ocenka rezistentnosti membran spermatozoidov bykov v processe dolgosrochnogo hraneniya [Assessment of membrane resistance of bull spermatozoa during long-term storage] / A.V. Deryugina, M.N. Ivashchenko, M.S. Lodyanoy. *Estestvennyye i tekhnicheskije nauki* [Natural and technical sciences], 2022, vol. 1, no. 164, pp. 107-109.
5. Zhabin S.G. et al. Sovremennyye predstavleniya o sozrevanii spermatozoidov v pridatke yaichka [Modern views on the sperm maturation in epididymis] / S.G. Zhabin, S.B. Artifeksov, V.M. Nagaytsev. *Problemy reproduksii* [Problems of Reproduction], 2010, no. 2, pp. 66-73.
6. Retsky M.I. et al. *Metodicheskie polozeniya po izucheniyu processov slobodnoradikal'nogo okisleniya i sistemy antioksidantnoj zashchity organizma* [Methodological provisions for the study of free radical oxidation processes and the body's antioxidant defense system] / M.I. Retsky, S.V. Shabunin, G.N. Bliznetsova. Voronezh, 2010, 69 p.
7. Sirota T.V. Standartizatsiya i regulyatsiya skorosti superoksidgeneriruyushchej reakcii avtookisleniya adrenalina, ispol'zuemoj dlya opredeleniya pro/antioksidantnykh svoystv razlichnykh materialov [Standardization and regulation of the rate of superoxide-generating reaction of adrenaline autoxidation, used to determine the pro/antioxidant properties of various materials]. *Biomeditsinskaya himiya* [Biomedical chemistry], 2016, vol. 62, no. 6, pp. 650-655.
8. Khyshiktuev B.S. et al. Osobennosti izmeneniy fosfolipidnogo sostava semennoy zhidkosti u muzhchin s narusheniem fertil'nosti [Particularities of changes in phospholipid composition of semen in men with fertility disorders] / B.S. Khyshiktuev, A.A. Koshmelev. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* [Clin-

- ical laboratory diagnostics], 2010, no. 7, pp. 27-30.
9. Khyshiktuev B.S. et al. Metody opredeleniya produktov perekisnogo okisleniya lipidov v kondensate vydyhaemogo vozduha i ih klinicheskoe znachenie [Methods for determining lipid peroxidation products in exhaled air condensate and their clinical significance] / B.S. Khyshiktuev, N.A. Khyshiktueva, V.N. Ivanov. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* [Clinical laboratory diagnostics], 1996, no. 3, pp. 13-15.
 10. Aitken R.J. et al. Proteomic changes in mammalian spermatozoa during epididymal maturation / R.J. Aitken, B. Nixon, M. Lin, A.J. Koppers, Y.H. Lee, M.A. Baker. *Assia J. Androlog*, 2007, vol. 9, no. 4, pp. 16-18.
 11. Artamonov M.Y. et al. Molecular Hydrogen: From Molecular Effects to Stem Cells Management and Tissue Regeneration / M.Y. Artamonov, A.K. Martusevich, F.A. Pyatakovich, I.A. Minenko, S.V. Dlin, T.W. LeBaron. *Antioxidants*, 2023, vol. 12, no. 3, p. 636. <https://doi.org/10.3390/antiox12030636>
 12. Hong Y. et al. Survey of Human Papillomavirus Types and Their Vertical Transmission in Pregnant Women / Y. Hong, S.O. Li, Y.L. Hu, Z.Q. Wang. *BMC Infect Dis.*, 2013, no. 13, p. 109. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-109>
 13. Iida A. et al. The clinical application of hydrogen as a medical treatment / A. Iida, N. Nosaka, T. Yumoto, E. Knaup, H. Naito, C. Nishiyama. *Acta Med Okayama*, 2016, vol. 70 (5), pp. 331-337.
 14. Koskimaa H.M. et al. Human Papillomavirus Genotypes Present in the Oral Mucosa of Newborns and Their Concordance with Maternal Cervical Human Papillomavirus Genotypes / H.M. Koskimaa, T. Waterboer, M. Pawlita, S. Grénman, K. Syrjänen, S. Syrjänen. *J Pediatr*, 2012, vol. 160, no. 5, pp. 837-843. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2011.10.027>
 15. Nicolson G.L. et al. Clinical effects of hydrogen administration: from animal and human diseases to exercise medicine / G.L. Nicolson, G.F. de Mattos, R. Settineri, C. Costa, R. Ellithorpe, S. Rosenblatt, J. La Valle. *International Journal of Clinical Medicine*, 2016, vol. 7(1), pp. 32-76. <http://dx.doi.org/10.4236/ijcm.2016.71005>
 16. Nongbua T. Adding bovine seminal plasma prior to freezing improves post-thaw bull sperm kinematics but decreases mitochondrial activity. *Systems biology in reproductive medicine*, 2018, vol. 64, no. 3, pp. 183-190.
 17. Ohta S. Recent progress toward hydrogen medicine: potential of molecular hydrogen for preventive and therapeutic application. *Current Pharmaceutical Design*, 2017, vol. 17 (22), pp. 2241-2252.
 18. Ohta S. Molecular hydrogen as a preventive and therapeutic medical gas: initiation, development and potential of hydrogen medicine. *Pharmacology & Therapeutics*, 2014, vol. 144 (1), pp. 1-11.

19. Ohta S. Molecular hydrogen as a novel antioxidant: Overview of the advantages of hydrogen for medical applications. *Methods in Enzymology*, 2015, vol. 555, pp. 289-317.
20. Ollero M. et al. Variation in docosahexaenoic acid content in subsets of human spermatozoa at different stages of maturation: implications for sperm lipoperoxidative damage / M. Ollero, R.D. Powers, J.G. Alvarez. *Mol. Reprod. Devel.*, 2000, vol. 55, pp. 326-334.
21. Pahune P.P. et al. The total antioxidant power of semen and its correlation with the fertility potential of human male subjects / P.P. Pahune, A.R. Choudhari, P.A. Muley. *J. Clin. Diagn. Res.*, 2013, vol. 7(6), pp. 991-995.
22. Paudel B. et al. Sperm capacitation is associated with phosphorylation of the testis-specific radial spoke protein Rspha / B. Paudel, M.G. Gervasi, J. Porambo, D. Caraballo. *Biology of Reproduction*, 2018, vol. 100, no. 2, pp. 440-454.

ВКЛАД АВТОРОВ

Ивашенко М.Н., Дерюгина А.В.: разработка концепции научной работы, составление черновика рукописи.

Ермохина О.Н., Белов А.А., Латушко М.И., Метелин В.Б., Игнатьев П.С., Ерзутов А.И.: сбор и анализ данных, статистическая обработка полученных результатов.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Marina N. Ivashchenko, Anna V. Deryugina: development of the concept of scientific work, drafting of the manuscript.

Olga N. Ermokhina, Andrey A. Belov, Mikhail I. Latushko, Vladislav B. Metelin, Pavel S. Ignatiev, Alexey I. Erzutov: data collection and analysis, statistical processing.

ДАнные ОБ АВТОРАХ

Ивашенко Марина Николаевна, кандидат биологических наук, доцент
*ФГБОУ ВО «Нижегородский государственный агротехнологический университет»
пр. Гагарина, 97, г. Нижний Новгород, 603107, Российская Федерация
kafedra2577@mail.ru*

Дерюгина Анна Вячеславовна, доктор биологических наук, доцент
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследователь-

*ский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского”
пр. Гагарина, 23, г. Нижний Новгород, 603022, Российская Федерация
deryugina@ibbm.unn.ru*

Ермохина Ольга Николаевна, магистрант

*ФГБОУ ВО «Нижегородский государственный агротехнологический университет»
пр. Гагарина, 97, г. Нижний Новгород, 603107, Российская Федерация
olya.ermoxina@list.ru*

Игнатьев Павел Сергеевич, кандидат физико-математических наук

*Производственное объединение «Уральский оптико-механический завод» имени Э.С. Яламова
ул. Восточная, 33 Б, г. Екатеринбург, 620100, Российская Федерация
ignasha2000@yandex.ru*

Латушко Михаил Иванович, кандидат технических наук

*Производственное объединение «Уральский оптико-механический завод» имени Э.С. Яламова
ул. Восточная, 33 Б, г. Екатеринбург, 620100, Российская Федерация
ancord.m@yandex.ru*

Метелин Владислав Борисович, кандидат биологических наук

*Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»
ул. Щепкина 61/2, г. Москва, 129110, Российская Федерация
verrv01@gmail.com*

Белов Андрей Александрович, кандидат биологических наук, доцент

*ФГБОУ ВО «Нижегородский государственный агротехнологический университет»
пр. Гагарина, 97, г. Нижний Новгород, 603107, Российская Федерация
andrey.raven@gmail.com*

Ерзутов Алексей Иванович, аспирант

ФГБОУ ВО «Нижегородский государственный агротехнологический университет»

*пр. Гагарина, 97, г. Нижний Новгород, 603107, Российская Федерация
aerzutov@mail.ru*

DATA ABOUT THE AUTHORS

Marina N. Ivashchenko, Cand. of Bio. Sc., Associate Professor

*Nizhny Novgorod State Agrotechnological University
97, Gagarin Ave., Nizhny Novgorod, 603107, Russian Federation
kafedra2577@mail.ru
SPIN-code: 8510-8676
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6642-8518>*

Anna V. Deryugina, Dr. of Bio. Sc., Associate Professor

*National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod
23, Gagarin Ave., Nizhny Novgorod, 603022, Russian Federation
deryugina@ibbm.unn.ru
SPIN-code: 7974-4600
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8812-8559>*

Olga N. Ermokhina, Master's student

*National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod
23, Gagarin Ave., Nizhny Novgorod, 603022, Russian Federation
olya.ermoxina@list.ru
SPIN-code: 7974-4600
ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-7556-4648>*

Pavel S. Ignatiev, Cand. of Physical and Mathematical Sc.

*Production Association "Ural Optical and Mechanical Plant" named
after E.S. Yalamov
33B, Vostochnaya Str., Yekaterinburg, 620100, Russian Federation
ignasha2000@yandex.ru
SPIN-code: 7956-1778
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5075-7034>*

Mikhail I. Latushko, Candidate of Technical Sciences

*Production Association "Ural Optical and Mechanical Plant" named
after E.S. Yalamov
33B, Vostochnaya Str., Yekaterinburg, 620100, Russian Federation
ancord.m@yandex.ru*

Vladislav B. Metelin, Cand. of Bio. Sc.

Moscow Regional Research Clinical Institute named after M.F. Vladimirovsky

61/2, Shchepkina Str., Moscow, 129110, Russian Federation

verrv01@gmail.com

SPIN-code: 6277-6230

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0600-5729>

Andrey A. Belov, Cand. of Bio. Sc., Associate Professor

Nizhny Novgorod State Agrotechnological University

97, Gagarin Ave., Nizhny Novgorod, 603107, Russian Federation

andrey.raven@gmail.com

SPIN-code: 1394-7694

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4869-5054>

Alexey I. Erzutov, Graduate Student

Nizhny Novgorod State Agrotechnological University

97, Gagarin Ave., Nizhny Novgorod, 603107, Russian Federation

aerzutov@mail.ru

SPIN-code: 5401-2678

ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-6175-4820>

Поступила 27.11.2023

После рецензирования 25.12.2023

Принята 30.12.2023

Received 27.11.2023

Revised 25.12.2023

Accepted 30.12.2023