

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК
УЧРЕЖДЕНИЕ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РАМН

«Утверждаю»

Директор НИИ фармакологии

СО РАМН

академик РАМН А.М. Дыгай

« 2009г »



ОТЧЕТ

О ВЫПОЛНЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

ПО ТЕМЕ

«Эффективность использования препарата «Мужской
Диэнай» (Таркус) при мужском бесплодии, обусловленного
повреждением стволовых клеток сперматогенного
эпителия»

Томск 2009

Название исследования: экспериментальное исследование эффективности использования препарата «Мужской Диэнай» (Таркус) при мужском бесплодии, обусловленного повреждением стволовых клеток сперматогенного эпителия.

Спонсор исследования:

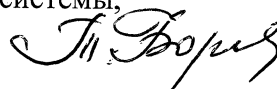
ЗАО «Сибирский центр фармакологии и биотехнологии»
Адрес: 630056, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 10.

Центр исследования:

НИИ Фармакологии СО РАМН, лаборатория фармакологии репродуктивной системы.
Адрес: 634028, г. Томск, пр. Ленина 3. Тел.: (3822) 41-83-75, факс: (3822) 41-83-79

Руководитель исследования:

Зав. лабораторией фармакологии репродуктивной системы,
профессор



Т.Г. Боровская

Исследователи:

С.н.с., канд. биол. наук

Н.с., канд. мед. наук

Н.с., канд. биол. наук

М.н.с

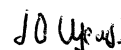
Лаборант-исследователь



М.Е. Полуэктова



А.В. Пахомова



Ю.А. Щемерова



О.А. Румпель



М.Г. Горб

Тестируемый препарат:

1. «Мужской Диэнай» (Таркус)

Препарат «Мужской Диэнай» (Таркус) поставляется ЗАО «Сибирский центр фармакологии и биотехнологии»

Сроки исследования: 01.03.2009 – 15.12.2009

Цель исследования: на крысах популяции Вистар изучить влияние препарата «Мужской Диэнай» (Таркус) на функциональное состояние репродуктивной системы крыс-самцов в отдаленные сроки после введения паклитаксела.

Задачи исследования:

1. Изучить функциональное состояние репродуктивной системы крыс-самцов через 2 мес после введения паклитаксела и сочетанного введения паклитаксела и препарата «Мужской Диэнай» (Таркус). Срок исследования соответствует проявлению воздействия на быстро обновляющиеся сперматогонии.
2. Изучить функциональное состояние репродуктивной системы крыс-самцов через 3 мес после введения паклитаксела и сочетанного введения паклитаксела и препарата «Мужской Диэнай» (Таркус). Срок исследования соответствует проявлению воздействия на резервные (стволовые) сперматогонии.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Реферат	5
3. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	8
3.1. Реактивы:	8
3.2. Приборы и материалы:	8
3.3. Экспериментальные животные:	8
3.4. Экспериментальные группы:	8
3.5. Обоснование выбора дозы препаратов:	9
3.6. Обоснование выбора пути введения препаратов:	9
3.7. Дизайн исследования:	9
3.8. Протокол исследования:	10
3.9. Статистическая обработка результатов:	11
4. РЕЗУЛЬТАТЫ	12
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	18
Приложение	21

Реферат

Отчет 27, стр., табл. 17, источн. 20.

Экспериментальное исследование эффективности использования препарата «Мужской Диэнай» (Таркус) при мужском бесплодии, обусловленном повреждением стволовых клеток сперматогенного эпителия

Цель исследования: на крысах популяции Вистар изучить влияние препарата «Мужской Диэнай» (Таркус) на функциональное состояние репродуктивной системы крыс-самцов в отдаленные сроки после введения паклитаксела.

Однократное введение в максимально-переносимой дозе цитостатического препарата паклитаксела приводит к тестикулярной недостаточности, основой которой является истощением пролиферативного пула сперматогенеза (популяции полу - и стволовых сперматогониев), Через 2 и 3 мес выявлялось значительное снижение фертилизующих свойств гамет. Сроки исследования, с учетом длительности стадий сперматогенеза у крыс, соответствуют воздействию на быстро обновляющиеся и резервные сперматогонии (стволовые клетки). Препарат Таркус вводили через 1 мес после введения паклитаксела в течение 2-х недель внутривенно в дозе 110 мг/кг. Через 2 и 3 мес после начала эксперимента определялась масса эпидидимиса, его весовой коэффициент, производили оценку морфологического и функционального состояния зрелых спермиев по их общему количеству, приходящихся на эпидидимис (ОКС), проценту подвижных форм и максимальной продолжительности их движения. Установлено, что препарат Таркус оказывает положительное влияние на быстро обновляющиеся и стволовые сперматогонии, о чем свидетельствует улучшение фертилизующие свойств гамет в сроки, соответствующие проявлению их повреждения. При воздействии на полу стволовые клетки препарат стимулирует процессы их репаративной регенерации, что проявляется в увеличении ОКС, весового коэффициента эпидидимиса, образования повышенного числа подвижных спермиев через 2 мес после начала эксперимента. Через 3 мес после сочетанного введения паклитаксела и препарата Таркус фертилизующие свойства зрелых половых клеток (количество подвижных форм и максимальная продолжительность их движения) оказались выше, чем при введении одного паклитаксела, что свидетельствует о защитных свойствах препарата Таркус на стволовые сперматогонии. Полученные данные позволяют сделать заключение, что препарат Таркус является эффективным средством лечения мужского бесплодия, обусловленного повреждением источник пролиферативного пула сперматогенеза быстро обновляющихся сперматогоний и стволовых клеток.

2. ВВЕДЕНИЕ

Состояние репродуктивного здоровья населения сегодня вызывает серьезные опасения. Количество бесплодных браков увеличилось до уровня, при котором проблема снижения репродуктивного потенциала становится социально-демографической государственного масштаба. В структуре бесплодия мужской фактор составляет 40-59% [6]. Бесплодие возникает в результате многочисленных патологических процессов, приводящих к патозооспермии (врожденные аномалии развития половой системы, эндокринологические нарушения, воспалительные заболевания дополнительных половых желез, токсические влияния, в том числе ятрогенные) [10,16]. У больных страдающих бесплодием, наблюдается уменьшение объема эякулята, снижение концентрации сперматозоидов, снижение количества подвижных форм. Большой проблемой клинической андрологии является крайняя ограниченность возможностей медикаментозной терапии мужского бесплодия, обусловленного патозооспермией [17,18].

Необратимые изменения, приводящие к бесплодию, в извитом семенном канальце могут быть связаны с истощением пролиферативного пула сперматогенеза, источником которого при повреждении является популяция сперматогониев [15], а именно, стволовых (резервных) клеток [8]. Возникновение этой формы бесплодия может быть связано с различными токсическими факторами внешней среды (радиация), ятрогенными факторами, к числу которых принадлежит целый ряд лекарственных препаратов, в том числе и противоопухолевых [7,8]. Этот тип бесплодия относят к секреторно-токсической форме мужской инфертильности, которая сопровождается, как повреждением сперматогенного эпителия, так и гипогонадотропным гипергонадизмом.

В настоящем исследовании изучена эффективность использования препарата «Мужской Диэнай» на модели тестикулярной недостаточности, вызванной истощением пролиферативного пула сперматогенеза, которое

воспроизводилось введением цитостатического препарата из группы таксанов – паклитаксел [1,14]. Данные литературы свидетельствуют о том, что этот препарат вызывает повреждение сперматогоний, в том числе и стволовых [1,14], что приводит в отдаленные сроки после его введения к снижению фертилизующих свойств зрелых мужских половых клеток и может быть причиной бесплодия. Выбор в качестве модели паклитаксела связан не только с тем, что он повреждает стволовые сперматогонии. Паклитаксел является один из самых востребованных в онкологической практике препаратов, использование которого позволяет добиться длительных ремиссий, и даже излечения [19]. Борьба с бесплодием, вызываемым этим препаратом и сходными с ним по механизмам повреждения сперматогенеза, является одной из актуальных проблем онкофармакологии [11,20].

3. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Реактивы:

- спирт этиловый

3.2. Приборы и материалы:

- весы лабораторные ВК-300.1 (ЗАО «МАССА-К»)
- весы электронные ПВ-6 (ЗАО «МАССА-К»)
- микроскопы Мик-Мед -6 (Россия)
- камера Горяева (Россия)
- лейкоцитарные меланжеры (Россия)
- бинты
- зонды для внутрижелудочного введения
- иглы инъекционные (SFM Hospital products, Германия)
- предметные стекла (microscope SLIDES, MiniMed)
- перчатки (Dermagrip, Малайзия)

3.3. Экспериментальные животные:

Эксперименты были проведены на 60 крысах-самцах популяции Вистар (возраст 3 мес). Животные были получены из лаборатории биологического моделирования НИИ фармакологии СО РАМН г. Томск (сертификат имеется). Содержание крыс осуществлялось в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986). До и в период эксперимента крысы находились в виварии при $t_{\text{возд}} = 20 \div 22^{\circ}\text{C}$; влажности – не более 50%; объем воздухообмена (вытяжка: приток) – 8:10; в световом режиме день-ночь; в стандартных пластиковых клетках (не более 10 особей в каждой) с мелкой древесной стружкой; на стандартном рационе – гранулированный корм ПК 120-3 (согласно приказу № 1179 МЗ СССР от 10.10.83).

3.4. Экспериментальные группы:

Крысы были рандомизированы на группы с учетом их массы тела:

1. Интактные животные (n=20)
2. Контроль (n=20) крысам вводили однократно внутривенно паклитаксел в МПД. Через 1 мес после введения цитостатика в течение 2-х недель внутрижелудочно вводили 2% крахмал в эквивалентном объеме.
3. «Таркус» (n=20) вводили внутрижелудочно в дозе 110 мг/кг в 2% крахмале в течение 2-х недель через 1 мес после введения паклитаксела.

3.5. Обоснование выбора дозы препаратов:

Доза препарата «Мужской Диэнай» (Таркус) была предложена ЗАО «Сибирский центр фармакологии и биотехнологии».

3.6. Обоснование выбора пути введения препаратов:

Путь введения препарата «Мужской Диэнай» (Таркус) был предложен ЗАО «Сибирский центр фармакологии и биотехнологии».

3.7. Дизайн исследования:

До проведения эксперимента животные проходили карантин в виварии в течение 10 дней. Паклитаксел вводили 40 крысам-самцам однократно внутривенно в МПД – 7,6 мг/кг. За величину МПД принимали дозу на пробитной сетке, вызывающую 5% гибель животных. Фоновые животные (n = 20) получали растворитель. Через 1 мес после введения паклитаксела 20-ти крысам-самцам в течение 2-х недель внутрижелудочно вводили препарат «Таркус» в дозе 110 мг/кг в 2% крахмале. Контрольные животные получали растворитель в эквивалентном объеме. Через 2 и 3 мес после введения паклитаксела крыс (по 10 особей в группе) забивали методом дислокации шейных позвонков, и производили оценку функционального состояния репродуктивной системы крыс-самцов по общему количеству половых клеток, приходящихся на эпидидимис (ОКС), проценту подвижных форм и максимальной продолжительности их движения. Для этого извлекали придаток семенника, гомогенизировали в физиологическом растворе и

используя клеточную взвесь половых клеток эпидидимиса определяли процент подвижных форм сперматозоидов и максимальную длительность их движения (на стекле, во влажной камере) [12]. При подсчете общего количества сперматозоидов, приходящихся на придаток, использовали гомогенизированную клеточную взвесь эпидидимиса в дозированном количестве физиологического раствора с применением лейкоцитарного меланжера и камеры Горяева [13]. Учитывая, что длительность сперматогенеза у крыс составляет 3 мес [13], срок 2 мес после введения препарата соответствует, по времени проявления, воздействию на активно обновляющиеся сперматогонии, 3 мес – стволовые (резервные сперматогонии) [13].

3.8. Протокол исследования:

Дни исследования	Манипуляции
25.05.2009	Поступление препарата «Таркус»
10.08. - 20.08.2009	Поступление животных в виварий, карантин.
20.08. – 25.08.2009	Взвешивание животных. Введение паклитаксела.
20.09. – 08.10.2009	Взвешивание животных. Введение препарата «Таркус».
20.10. – 25.10.2009	Окончание I этапа эксперимента. Взвешивание животных, забор экспериментального материала.
20.11. - 25.11.2009	Окончание II этапа эксперимента. Взвешивание животных, забор экспериментального материала.
25.11. - 30.11 2009	Статистическая обработка результатов
30.11 - 15.12.2009	Составление отчета по исследованию

3.9. Статистическая обработка результатов:

Полученные экспериментальные данные обрабатывались статистически с помощью непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни и углового преобразования Фишера [4].

4. РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты оценки исследуемых показателей через 2 мес после начала эксперимента представлены в табл. 2 и 3 (приложение табл. 6-11). Данные таблицы 2 свидетельствуют о том, что, масса тела животных в начале эксперимента и через 2 мес после введения цитостатика во всех сравниваемых группах оказалась сходной. Масса эпидидимиса и его весовой коэффициент в группе животных, получавших паклитаксел, статистически значимо снижались по сравнению с фоновыми значениями. Известно, что одной из основных функций эпидидимиса – является резервуарная (2/3 сперматозоидов хранятся в хвостовой части придатка в течение 2-5 дней) [5]. В связи с этим полученные данные могут свидетельствовать о недостаточности продуктивности сперматогенеза. С учетом длительности сперматогенеза у крыс, проявление этого эффекта через 2 мес после введения паклитаксела, очевидно, связано, с токсическим действием препарата на делящиеся сперматогонии. В группе животных, получавших сочетанное введение паклитаксела и препарата Таркус, масса эпидидимиса и его весовой коэффициент статистически значимо не отличались от фоновых значений, а весовой коэффициент достоверно превышал таковой в контроле (паклитаксел).

Результаты морфологических и функциональных показателей зрелых половых клеток через 2 мес после начала эксперимента представлены в табл. 3 (приложение 9-11). Установлено, что через 2 мес после введения паклитаксела общее количество половых клеток достоверно снижалось и составило 65,6 % от фоновых значений, выявлялось также снижение подвижности спермиев. Этот показатель составил 78% от фоновых значений. Максимальная продолжительность движения спермиев во всех сравниваемых группах была сходной. При сочетанном введении цитостатика и препарата Таркус наблюдалось достоверно большее, чем в контроле, общее количество половых клеток. При подсчете процента

Таблица 2

Масса тела, масса и весовой коэффициент эпидидимиса крыс через 2 мес после сочетанного ведения паклитаксела и препарата Таркус

Группа	Масса животного в начале эксперимента, г	Масса животного в конце эксперимента, г	Масса эпидидимиса, г	Весовой коэффициент эпидидимиса, мг/г
Фон	328,30±12,04	486,50±19,56	0,29±0,01	0,59±0,02
Паклитаксел	327,90±7,25	474,50±11,09	0,25±0,01 *	0,52±0,03 *
Паклитаксел «Таркус»	327,00±3,19	455,80±9,56	0,27±0,01	0,60±0,02 #

Примечание: Здесь и далее * - различия достоверны по сравнению с фоном; # - различия достоверны по сравнению с контролем

Таблица 3

Морфологические и функциональные показатели зрелых половых клеток крыс через 2 мес после сочетанного ведения паклитаксела и препарата Таркус

Группа	% подвижных форм	ОКС, Мл	Максимальная продолжительность движения, мин.
Фон	74,90±1,03	73,36±1,11	241,56±9,39
Паклитаксел	58,11±6,34*	48,11±2,83*	243,70±4,81
Паклитаксел + Таркус	79,62±0,74 # *	56,87±1,98 # *	241,80±9,0

подвижных форм установлено, что при сочетанном введении препаратов их число не только достоверно возросло по сравнению с контролем (паклитаксел), но и статистически значимо превышало фоновые показатели.

Таким образом, цитостатический препарат паклитаксел оказывает токсическое действие на полу- стволовые сперматогонии, что проявляется в снижении продуктивности сперматогенеза и функциональной неполноценности гамет в сроки, соответствующие воздействию на этот тип клеток (2 мес после начала эксперимента). Препарат Таркус оказывает защитное действие на полу- стволовые (быстро делящиеся сперматогонии), что проявляется в увеличении общего числа половых клеток, что подтверждается возрастанием весового коэффициента эпидидимиса. В этот период наблюдения при сочетанном введении препаратов возрастает и процент подвижных форм зрелых спермиев. Полученные данные свидетельствуют о том, препарат Таркус может быть использован для ускорения процессов репаративной регенерации в мужских половых железах при их повреждении.

Результаты оценки исследуемых показателей через 3 мес после начала эксперимента представлены в табл. 4 и 5 (приложение табл.12-17). Данные таблицы 4 свидетельствуют о том, что, масса тела животных в начале эксперимента и через 3 мес после его начала во всех сравниваемых группах оказалась сходной. Масса эпидидимиса и его весовой коэффициент при введении паклитаксела снижался, но различия оказались статистически не значимыми. Введение препарата Таркус не оказало существенного влияния на эти показатели (табл. 4, приложение табл. 12-14)

Результаты оценки фертилизующих свойств гамет крыс через 3 мес после введения паклитаксела и препарата Таркус представлен в табл. 5 (приложение табл. 15-17). Учитывая, что процесс сперматогенеза у крыс длится 3 мес [13], этот срок соответствует воздействию на стволовые (резервные сперматогонии). Установлено, что у интактных животных общее количество половых клеток, приходящихся на придаток семенника (эпидидимис), процент их подвижных форм спермиев, максимальная

Таблица 4

Масса тела, масса и весовой коэффициент эпидидимиса крыс через 3 мес после начала эксперимента

Группа	Масса животного в начале эксперимента, г	Масса животного в конце эксперимента, г	Масса эпидидимиса, г	Весовой коэффициент эпидидимиса, мг/г
Фон	325,90±12,42	502,00±10,87	0,26±0,01	0,51±0,02
Паклитаксел	327,60±9,30	485,30±15,09	0,23±0,01	0,48±0,01
Паклитаксел + Таркус	321,50±13,25	482,30±18,32	0,24±0,01	0,50±0,02

Таблица 5

Морфологические и функциональные показатели зрелых половых клеток крыс через 3 мес после сочетанного ведения паклитаксел и препарата Таркус

Группа	% подвижных форм	ОКС, Мл	Максимальная продолжительность движения, мин.
Фон	72,59±1,48	77,49±0,83	392,90±6,79
Паклитаксел	47,21±3,30*	49,80±0,80*	269,40±9,59 *
Паклитаксел + Таркус	77,12±1,61#	51,25±0,83*	404,10±17,77 #

продолжительность их движения находится в пределах возрастной нормы животных (возраст крыс 5-6 мес), соответствующий данному виду животных [2, 3]. Общее количество половых клеток у крыс через 3 мес после внутривенного введения цитостатического препарата паклитаксела в МПД составила 64 % от фоновых значений, процент подвижных форм снижен на 35 % от фона, максимальная продолжительность движения сократилась на 32%. Аналогичные изменения этих показателей выявлены в эксперименте,

включающем группу крыс, получавших паклитаксел по аналогичной схеме [1]. Полученные данные свидетельствуют о том, что состояние мужских гамет через 3 мес после введения паклитаксела характеризуется сниженными показателями их фертилизующих свойств. Одно только снижение процента подвижных форм ниже 50% , может приводить к бесплодию [8]. Через 3 мес после сочетанного введения паклитаксела и препарата Таркус общее количество половых клеток статистически значимо не возросло по сравнению с контролем (паклитаксел). В тоже время количество подвижных форм клеток достоверно увеличивалось в 1,5 раза по сравнению с контролем (паклитаксел) и практически не отличалось от такового у интактных животных. Положительный эффект препарата Таркус на фертилизующие свойства мужских гамет крыс, получавших паклитаксел, проявился и по отношению к такому показателю, как максимальная продолжительность движения спермиев. Она возросла до уровня фоновых значений. Учитывая, что самым значимым дискриминационным показателем фертильности спермы является подвижность сперматозоидов [8], то полученные данные позволяют заключить, что препарат Таркус оказывает защитное действие на стволовые сперматогонии.

Таким образом, цитостатический препарат паклитаксел оказывает токсическое действие на стволовые сперматогонии, что проявляется в снижении продуктивности сперматогенеза и функциональной неполноценности гамет в сроки, соответствующие воздействию на этот тип сперматогоний (3 мес после введения паклитаксела). Препарат Таркус оказывает защитное действие на стволовые (резервные сперматогонии), что проявляется в увеличении процента их подвижных форм и максимальной продолжительности их движения через 3 мес после цитостатического воздействия. В связи с этим препарат Таркус может быть использован для защиты мужских половых желез при повреждении источников их пролиферативного пула –стволовых клеток.

С учетом выявленных эффектов целесообразно оценить действие препарата Таркус при астеноспермии гормонального генеза и на моделях хронического простатита. Последние, по данным литературы, также сопровождаются снижением числа подвижных форм зрелых мужских половых клеток [9,17]. Положительное влияние препарата Таркус на этих моделях могло бы значительно расширить сферу его использования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Препарат Таркус при введении его в дозе 110 мг/кг в течение 2-х недель через 1 мес после введения препарата паклитаксел, повреждающего источники пролиферативного пула сперматогенеза) оказывает положительное влияние на полу- и на стволовые сперматогонии извитых семенных канальцев крыс, При воздействии на полу- стволовые сперматогонии препарат стимулирует процессы их репаративной регенерации, что проявляется в увеличении продуктивности сперматогенеза (увеличение ОКС, весового коэффициента эпидидимиса), образования большего числа подвижных спермиев через 2 мес после его совместного введения с цитостатическим препаратом. Через 3 мес после сочетанного введения паклитаксела и препарата Таркус показатели, характеризующие фертилизующие свойства зрелых половых клеток (количество подвижных форм и максимальная продолжительность их движения) оказались выше, чем при введении одного паклитаксела, что свидетельствует о защитных свойствах препарата Таркус на стволовые сперматогонии. Полученные данные позволяют сделать заключение, что препарат Таркус является эффективным средством лечения мужского бесплодия, обусловленного повреждением источников пролиферативного пула сперматогенеза быстро обновляющихся сперматогоний и резервных сперматогоний (стволовых клеток).

С учетом выявленных эффектов целесообразно оценить действие препарата Таркус при астеноспермии гормонального генеза, на моделях хронического простатита. Положительное влияние препарата Таркус на этих моделях могло бы значительно расширить сферу его использования.

Список литературы

1. Боровская Т.Г., Гольдберг В.Е., Румпель О.А., Пахомова А.В., Перова А.В., Гольдберг Е.Д. Состояние сперматогенеза крыс после введения противоопухолевого препарата паклитаксела.// Бюлл. эксперим. биол. и мед. - 2009. -Т. 147. - №5.- С. 655-658.
2. Боровская Т.г., Гольдберг В.Е., Щемерова Ю.А., Полуэктова М.Е., Тимина Е.А., Перова А.В. Влияние ингибиторов топоизомеразной активности гп морфологические и функциональные показатели сперматогенеза крыс// Бюлл. эксперим. биол. и мед. - 2005. - №1. Приложение 1. - С. 28-30.
3. Боровская Т.Г., Фомина Т.И., Смирнова М.Е. Отдаленные эффекты повреждающего действия противоопухолевых препаратов на семенники крыс.// Русский онкол. Журнал. - 1999. - №3. - С. 27-30.
4. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. - М.: Медицина. - 1978. - С.72-75.
5. Долгопятов Д.Г., Сегал А.С. Современные аспекты физиологии и биохимии придатка яичка.// Урология и нефрология. - 1994.- №3. - С. 52-55.
6. Калинина С.Н. Михайличенко В.В., Тикстинский О.Л., Фесенко Роль уролога поликлиники в лечении мужского бесплодия. // Материалы пленума правления российского общества урологов. Санкт-Петербург 29-31 октября 2008 г.- С. 50.
7. Лисаковская О.В. Влияние горца птичьего и некоторых адаптогенов на функциональные показатели репродуктивной системы. Дисс. на соискание уч. степени канд. мед наук. - Владивосток. 1998. С 42.
8. Липатова Н.А. Лабораторные критерии фертильности эякулята // Клиническая лабораторная диагностика. - 1998. - Т.5. - С. 11-15.
9. Неймарк А.И., Алиев Р.Т., Ноздрачев Н.А. и др. Нарушения сперматогенеза и их коррекция у больных хроническим абактериальным простатитом. //Урология. - 2008. - №1. С. 44-50
10. Пшеничникова Т.Я. Бесплодие в браке. М.: Медицина.- 1991. - 320 с.
11. Резниченко Н.А. Влияние химио- и радиотерапии на сперматогенез онкологических больных (обзор литературы. // Проблемы репродукции - 2007. - №4. - С. 70-75.

- 12.Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Хобриева Р.У. - М.: Медицина. - 2005.
- 13.Саноцкий И.В., Фоменко В.И. Отдаленные последствия влияния химических соединений на организм. М.:Наука. -1979. -210с
- 14.Сухачева Т.В., Богуш Т.А., Коломиец О.Л. Повреждающее действие таксола на сперматогенез мыши. // Бюл. эксперим. биол. и мед.- 2001.- Т.132.- №11. С. 554-560.
- 15.Сухоруков В.С., Шамшад Д.С. Определение степени зрелости сперматогенного пласта крысы при его регенерации и в процессе созревания интактного семенника.// Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1989. – Т.97. – №9. – С. 89.
- 16.Тикстинский О.Л., Михайличенко В.В. Андрология СПб. -1999.
- 17.Хотимченко Ю.С., Кропотов А.В., Лисаковская О.В. Влияние настоя горца птичьего на дискриминационные показатели эякулята крыс, подвергнутых фармакологической кастрации.// Вестник ДВО РАН. – 1996. - №5. - , С.15-24.
- 18.Хотимченко Ю.С., Кропотов А.В., Лисаковская О.В. Влияние настоя горца птичьего на дискриминационные показатели эякулята крыс при воздействии алкелана. //Бюлл. эксперим. биол и мед. – 2000. - №12. – С. 636- 638.
- 19.Фисенко В.П., Дрожжын А.П., Абидов МюГ. И др. Анализ наиболее перспективных исследований по созданию новых лекарственных препаратов. Научный центр экспертизы и государственного контроля лекарственных препаратов России. 2000.
- 20.Steliarova-Foucher E., Stiller C., Kaatsch P. et al. //Lancet, 2004;364:9451:2097-2105.