

УДК 591.463.1:591.463

DOI <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2023-4-11>

Денис ЯРОШЕНКО

аспірант кафедри патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології, Дніпровський державний медичний університет, вул. Вернадського, 9, м. Дніпро, Україна, індекс 49044 (derg77s@gmail.com)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8359-2766>

Denys YAROSHENKO

PhD student of the Department of Pathological Anatomy, Forensic Medicine and Pathological Physiology, Dnipro State Medical University, 9 Vernadsky street, Dnipro, Ukraine, postal code 49044 (derg77s@gmail.com)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8359-2766>

Бібліографічний опис статті: Ярошенко Д. Вплив бісфенолу А на морфофункціональні характеристики еякуляту. *Сучасна медицина, фармація та психологічне здоров'я*. 2023. Вип. 4 (13). С. 69–74. DOI: <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2023-4-11>

Bibliographic description of the article: Yaroshenko, D. (2023). Vplyv bisfenolu A na morfofunktsionalni kharakterystyky eiakuliatu [Effect of bisphenol A on the morphofunctional characteristics of ejaculate]. *Suchasna medytsyna, farmatsiia ta psykhologichne zdorovia – Modern medicine, pharmacy and psychological health*, 4 (13), 69–74. DOI: <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2023-4-11>

ВПЛИВ БІСФЕНОЛУ А НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЕЯКУЛЯТУ

Анотація. Актуальність теми дослідження. Дослідження патологічного впливу полютантів на процеси сперматогенезу вказують на найбільш вірогідні причини чоловічого безпліддя. До основних причин відносять вплив ендокринних дизрапторів і найбільш розповсюдженого в якості складового компонента промислових пластикових виробів – бісфенолу А (BPA). Відзначається, що найважливішими аспектами чоловічої фертильності є якість сперми. Механізми цього впливу, особливо при тривалій дії бісфенолу А, на даний момент є недостатньо зрозумілими, що зумовлює важливість вивчення цієї медичної проблеми.

Мета дослідження. Провести порівняльний аналіз тривалого впливу бісфенолу А на якість еякуляту щурів як фундаментального біомаркера репродуктивної функції.

Матеріали та методи. Дослідження проведено на 120 білих щурах-самцях лінії Wistar. Тварин рандомізовано поділили на чотири групи: контрольна група, група порівняння – тваринам вводили кукурудзяну олію; в третій і четвертій групах щурам вводили розчинений в кукурудзяній олії, бісфенол А, відповідно дозами 50 і 250 мг/кг/добу.

Результати. Встановлено, що тривале застосування BPA навіть у невеликих дозах викликало негативні зміни досліджуваних параметрів сперми – кількості, рухливості та морфології сперматозоїдів, що вказує на порушення в системі сперматогенезу щурів. Визначено зниження параметру загальної кількості сперматозоїдів на 21,8%, $p < 0,05$, та 32,4%, $p < 0,05$ в групах F0-3 і F0-4 під дією BPA. Фракція прогресивно рухливих сперматозоїдів мала стійку тенденцію до зниження і на кінець експерименту значення параметру склало 22,7%, $p < 0,05$ та 37,4%, $p < 0,05$ в групах F0-3 та F0-4 відповідно. Тривалий вплив BPA призвів до статистично значущого зростання більше ніж у 2,7 рази, $p < 0,05$ нерухливих сперматозоїдів у тварин груп F0-3 та більше ніж у 5,7 рази, $p < 0,05$, у групі F0-4, порівняно з групою контролю. Введення BPA дозою 250 мг/кг/добу призводило до статистично значущих змін частки аномальних форм сперматозоїдів, порівняно з контрольною групою.

Висновки. Під впливом BPA поступово сформувалися комплекси порушень, які змінили якісні і кількісні характеристики сперми щурів: прогресуюче зниження загальної кількості сперматозоїдів в аліквоті еякуляту, зменшилась кількість статевих клітин фертильної фракції і збільшилась кількість клітин нефертильної фракції, а також спостерігалось зменшення рухливості статевих клітин.

Ключові слова: бісфенол А, електростимуляція, сперма, сперматогенез, фертильність.

EFFECT OF BISPHENOL A ON THE MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF EJACULATE

Abstract. Introduction. Studies of the pathological effect of pollutants on the processes of spermatogenesis indicate the most likely causes of male infertility. The main reasons include the influence of endocrine disruptors and the most common component of industrial plastic products – bisphenol A. It is noted that the most important aspects of male fertility are the quality of sperm. The mechanisms of this effect, especially with prolonged exposure to bisphenol A, are currently poorly understood, which makes it important to study this medical problem.

The aim of the study was to conduct a comparative analysis of the long-term effect of bisphenol A (BPA) on rat ejaculate quality as a fundamental biomarker of reproductive function.

Materials and methods. The study was conducted on 120 white male rats of the Wistar line. The animals were randomly divided into four groups: control group, comparison group – the animals were injected with corn oil; in the third and fourth groups, the rats were injected with BPA dissolved in corn oil, respectively, at doses of 50 and 250 mg/kg/day.

The result. It was found that long – term use of BPA, even in small doses, caused negative changes in the studied parameters of spermatozoa – the number, motility and morphology of spermatozoa, which indicates a violation in the rat spermatogenesis system.

A decrease in the total sperm count was determined by 21.8%, $P < 0.05$, and 32.4%, $P < 0.05$ in groups F0-3 and F0-4 under the influence of BPA. The proportion of progressively motile spermatozoa had a steady downward trend, and at the end of the experiment, the parameter value was 22.7%, $P < 0.05$ and 37.4%, and $P < 0.05$ in groups F0-3 and F0-4, respectively. Prolonged exposure to bisphenol A resulted in a statistically significant increase of more than 2.7 times, $P < 0.05$, in the number of Immobile spermatozoa in animals of groups F0-3 and more than 5.7 times, $P < 0.05$, in Group F0-4 compared to the control group. Administration of ARBs at a dose of 250 mg/kg/day resulted in statistically significant changes in the proportion of abnormal sperm forms compared to the control group.

Conclusion. Under the influence of BPA, complexes of disorders were gradually formed that changed the qualitative and quantitative characteristics of rat spermatozoa: a progressive decrease in the total number of spermatozoa in the ejaculate aliquot, a decrease in the number of germ cells of the fertile fraction, and an increase in the number of cells of the non-fertile fraction.-fertile fraction, as well as reduced mobility of germ cells.

Key words: bisphenol A, electroejaculation, spermatozoa, spermatogenesis, fertility.

Безпліддя чоловіків – це показник порушення загального здоров'я чоловіків репродуктивного віку та народжуваності в популяції. Проблема чоловічого безпліддя систематично зростає, кожного року кількість хворих на безпліддя чоловіків в Україні збільшується на 10 тис випадків. В теперішній час близько 20% подружніх пар безплідні, причому частка безпліддя за чоловічим фактором складає не менше 50% [1; 12; 8].

У науковій літературі широко обговорюють можливі причини чоловічого безпліддя невідомої етіології, до яких відносять негативний вплив на організм штучних гормоноподібних хімічних речовин [3]. Найбільш відомим з групи ендокринно-активних хімічних речовин є бісфенол А (BPA), який має достатньо широке розповсюдження в якості складового компонента промислових пластикових виробів. На сьогоднішній день BPA виявляють в усіх біологічних речовинах організму людини, що може свідчити про його високу проникну здатність та накопичувальний ефект [4]. Доведено, що шляхом функціональної модифікації генів BPA впливає на диференціювання сперматогенних клітин [13]. У ряді досліджень показано погіршення якості еякуляту у чоловіків, які мали, як правило, тривалий контакт з BPA. Механізми цього впливу, особливо при тривалій дії BPA, на даний момент є недостатньо зрозумілими.

Складність механізмів репродуктивних процесів робить їх вразливими до несприятливих впливів на будь-якому етапі реалізації функції, тому вивчення впливу ендокринних дизрапторів, зокрема найбільш поширеного з них бісфенолу А на якість еякуляту, зумовлює важливість вивчення цієї медичної проблеми, а розробка заходів профілактики та лікування порушень репродуктивного здоров'я через вплив BPA набуває особливої цінності при створенні моделі комплексної медичної допомоги чоловікам, які страждають на безпліддя [14].

BPA, ймовірно, відіграє значну роль у патогенезі широкого спектру розладів здоров'я чоловіків, в тому числі безпліддя. Враховуючи поширеність ксеноестрогену та недослідженість механізмів впливу BPA на структуру і функціонування органів чоловічої репродуктивної системи вимагає фундаменталь-

них досліджень, що, без сумніву, виводить цей науковий напрямок в розряд своєчасних і актуальних.

Мета роботи. Проведення порівняльного аналізу впливу бісфенолу А на репродуктивну систему, зокрема на якість еякуляту щурів як фундаментального біомаркери репродуктивної функції.

Матеріал та методи дослідження. Дослідження проведено на кафедрі патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології Дніпровського державного медичного університету (м. Дніпро). Тварини утримувались у стандартних умовах віварію ДДМУ, усі процедури проведено відповідно до міжнародних вимог і норм гуманного відношення до тварин. Директиви № 2010/63/ЄС про захист тварин, що використовуються з науковою метою (2010 р.), Закону України 3447-IV від 21.02.2006 р., та висновку комісії з питань біомедичної етики ДДМУ (протокол № 8 від 17.12. 2019 р.).

Дослідження проведені на 120 білих щурах-самцях лінії Wistar віком 3–4 місяці, масою 210–230 г. Тварин утримували у клітках із вільним доступом до води та їжі, що включає в себе всі необхідні вітаміни і мікроелементи за умов: 12/12 годинний цикл світло/темрява при температурі 22°C. Відібрані щури були розділені на чотири групи: F0-1 – контрольна група (n=30) – інтактні тварини, які знаходились на звичайному харчуванні; F0-2 – група порівняння (n=30) – тварини, яким додатково давали кукурудзяну олію; F0-3 – експериментальна група (n=30) – піддослідні тварини, яким протягом 120 днів вводили бісфенол А (Sigma-Aldrich, USA), розчинений в кукурудзяній олії, дозою – 50 мг/кг/добу; F0-4 – експериментальна група (n=30) – тварини, яким протягом 120 днів вводили бісфенол А, розчинений в кукурудзяній олії дозою – 250 мг/кг/добу.

В дослідженні оцінювались кількісні та якісні показники еякуляту, зразки якого отримували методом трансректальної електростимуляції сім'яних горбиків щурів [2]. Підрахунок загальної кількості сперматозоїдів з урахуванням характеру їх рухливості проводився в камері Маклера. Оцінка рухливості сперматозоїдів виконувалась за категоріями, рекомендованими ВООЗ. Розрізняли сперматозоїди з прогресивним і непрогресивним рухом та нерухомі сперматозоїди [11]. Тварин виводили з ек-

перименту шляхом введення тіопенталу натрію (50 мг/кг маси тіла внутрішньочеревенно) Статистичну обробку результатів дослідження проводили за допомогою пакету програм STATISTICA 6.1 (StatSoft Inc., серійний № AGAR909E415822FA) для оформлення результатів дослідження застосовували програмне забезпечення Microsoft Office. Перевірку розподілу даних на нормальність проводили за допомогою тесту Шапіро-Вілка. Оскільки розподіл більшості даних оцінювався як відмінні від нормального, для оцінки відмінностей між експериментальними групами використовувався критерій Краскела-Уолліса. Критичний рівень значимості нульової статистичної гіпотези приймали $< 0,05$ [6].

Результати. У ході експерименту визначено, що тривале застосування ВРА погіршувало якість еякуляту щурів-самців груп F0-3 та F0-4. Негативні зміни досліджуваних параметрів еякуляту виявлено в кількості сперматозоїдів, їх рухливості та в морфологічних характеристиках сперматозоїдів.

Одним з найважливіших показників якості сперми є показник загальної кількості сперматозоїдів. Нами встановлено, що у статевозрілих щурів-самців груп F0-3 та F0-4 після 60 діб експерименту спостерігалось статистично значиме зниження кількості сперматозоїдів в аліквоті еякуляту, відповідно, на 7,4% та 15,0 %, $p < 0,05$. До кінця експерименту відзначалось прогресуюче зниження даного параметру, який на 120 добу знизився на 21,8% у групі F0-3 та 32,4% у групі F0-4, порівняно з контрольним варіантом $p < 0,05$. Слід зазначити, що виявлене статистично значиме зниження кількості сперматозоїдів в еякуляті щурів, однак за таких втрат сперматозоїдів в експериментальних групах F0-3 і F0-4, однак здатність до запліднення все ще зберігалася. Разом з тим за період експерименту параметр кількості сперматозоїдів в контрольній групі не демонстрував статистично значимого рівня відхилення від аналогічного показника у інтактних щурів $p < 0,05$ (рис. 1).

В експериментальних групах щурів, які зазнали тривалого впливу ВРА, спостерігалось зменшення частки нормальних та збільшення частки аномальних форм сперматозоїдів порівняно з контрольною групою та групою порівняння. Так, в ході експерименту починаючи з 59–61 доби виявлено збільшення кількості аномальних форм сперматозоїдів в групах щурів, F0-3 і F0-4, порівняно з контрольним варіантом відповідно на 2,8 і 7,0%, причому їх кількість постійно зростала і на 120 добу дослідження склала 18,01% і 23,73 % (рис 2). Перевірка значущості відмінностей частки аномальних форм сперматозоїдів по групах за критерієм Краскела-Уолліса показала, що зміна якості еякуляту у щурів експериментальних груп F0-3 і F0-4 за досліджуваним параметром досягла статистично значимого

рівня відхилення від контрольного варіанту F0-1 і варіанту порівняння F0-2 починаючи від 59 доби і до кінця експерименту. Разом з цим при порівнянні контрольного варіанту F0-1 з варіантом F0-2 значущої відмінності між кількістю аномальних форм сперматозоїдів протягом всього експерименту не спостерігалось.

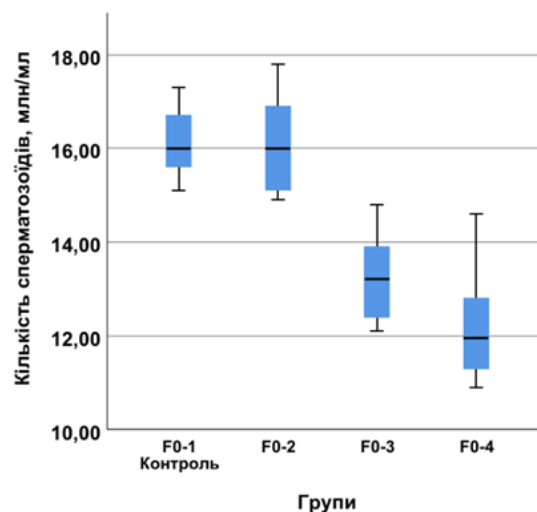


Рис. 1. Кількість сперматозоїдів в еякуляті на 120 добу після початку введення ВРА, МЛН/МЛ

При аналізі рухової активності сперматозоїдів з'ясовано, що з 60 доби відзначалась тенденція до зниження частки прогресивно рухливих сперматозоїдів в групах щурів F0-3 і F0-4 на 13,9% та 17,0%, $p < 0,05$, порівняно з контрольною групою F0-1. На кінець експерименту (120 доба) зниження цього показника склало 22,7% та 37,4%, $p < 0,05$, порівняно з контрольною групою.

Слід відзначити, що при зменшенні частки прогресивно рухливих сперматозоїдів спостерігалось зростання показників обох фракцій сперматозоїдів, як непрогресивно рухливих так і нерухливих сперматозоїдів.

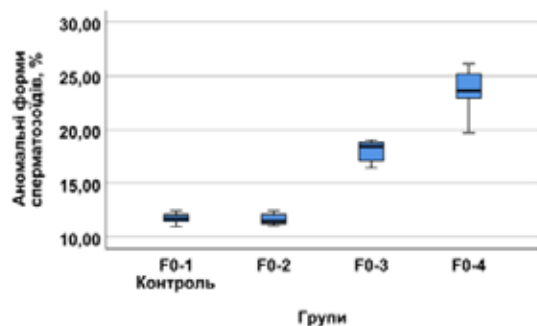


Рис. 2. Кількість морфологічно аномальних форм сперматозоїдів щурів в еякуляті на 120 добу після початку введення ВРА, %

На 60 добу в групах F0-2 та F0-3 відзначено збільшення частки непрогресивно-рухливих сперматозоїдів на 8,0% та 10,1 %, $p < 0,05$, порівняно з контрольною групою, причому в групах, які зазнали впливу ВРА міжгрупова різниця була мінімальною. Найбільше зростання кількості нерухомих сперматозоїдів відзначено наприкінці експерименту. Так, в експериментальних групах F0-3 та F0-4 цей показник зріс відповідно на 16,1% та 43,6%, $p < 0,05$, порівняно з контрольною групою. Зауважимо, що тривалий вплив ВРА призвів до статистично значущого зростання більше ніж у 2,7 рази ($p < 0,05$), нерухомих сперматозоїдів у тварин груп F0-3 та більше ніж у 5,7 рази, ($p < 0,05$), у групі F0-4, порівняно з групою контролю (рис. 3).

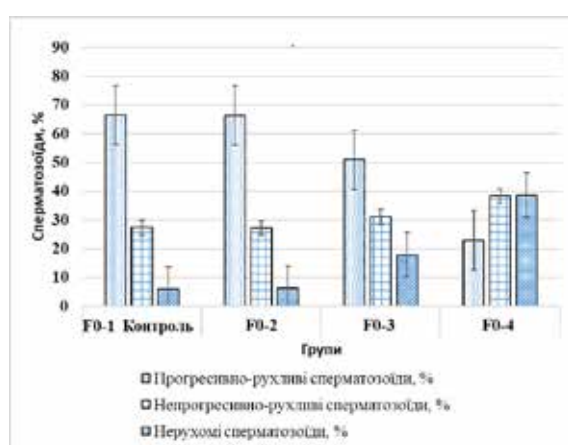


Рис. 3. Вплив ВРА на співвідношення фракцій сперматозоїдів за показником рухливості, %

Таким чином, аналіз рухової активності сперматозоїдів щурів, які зазнали впливу бісфенолу А показав статистично значуще зменшення кількості сперматозоїдів в фракціях прогресивно-рухливих і непрогресивно-рухливих та зростання показників фракції нерухомих сперматозоїдів, що вказує на зниження показників фертильності щурів експериментальних груп F0-3 і F0-4, порівняно з контрольною групою F0-1 ($p < 0,05$). При дослідженні фертильності щурів-самців з'ясовано, що, ймовірно, основна деструктивна дія ксеноестрогена ВРА була спрямована, власне, на сперматогенез, оскільки отримані результати дослідження свідчать про те, що тривала дія ВРА призводила до системних змін сперматогенезу. Наслідком впливу досліджуваної речовини стало значне зменшення кількості клітин фертильної фракції і збільшення клітин нефертильної фракції.

Обговорення. Погіршення параметрів якості сперми прямо впливає на показники чоловічого безпліддя [10]. Базовими показниками якості сперми є концентрація сперматозоїдів, їх рухливість та морфологія. Дослідження показали, що порушення функціональної здатності ендокринної та репродуктивної системи чоловіків є основними причинами погіршення сперми [5]. Справедливість гіпотези про можливий деструктивний вплив ВРА на процеси сперматогенезу і, як наслідок, на фертильність доводиться численними дослідженнями з використанням тваринних моделей. Ендокринний дисраптор негативно впливає на рухливість сперматозоїдів, викликає окислювальний стрес та змінює синтез стероїдів [7; 9].

Наші дослідження виявили комплекс негативних змін параметрів якості еякуляту при тривалому застосуванні ВРА, так тільки після 61 доби експерименту відзначалось статистично значиме зниження кількості сперматозоїдів, їх рухливість та збільшення фракції аномальних форм.

Можливо, що за експозиції менше 60 діб руйнівна дія ВРА компенсується антистресовими механізмами ендокринної та репродуктивної системи чоловіків. Однак, комплексний аналіз причин дисфункціональних змін сперматогенезу і можливість реалізації функцій сперматозоїдами в довгостроковій перспективі показав, що ВРА є тестикулярним токсикантом. Наше дослідження спрямоване на визначення причин дисфункціональних змін сперматогенезу, має особливе значення для прогнозування порушень фертильності під впливом ксеноестрогену ВРА.

Висновки. Оцінюючи отримані результати експериментальних досліджень, можна зробити наступні підсумки.

Деструктивна дія ксеноестрогена ВРА спрямована на складні гормонозалежні процеси сперматогенезу. Під впливом ВРА поступово сформувалися комплекси порушень, які змінили якісні і кількісні характеристики сперми щурів: прогресуюче зниження кількості сперматозоїдів в аліквоті еякуляту, зменшилась кількість статевих клітин фертильної фракції і збільшилась кількість клітин нефертильної фракції, а також зменшення рухливості статевих клітин.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження будуть спрямовані на встановлення складних механізмів впливу ВРА на фертильність потомства при реалізації репродуктивної функції.

Список використаних джерел:

1. Agarwal A, Baskaran S, Parekh N. Male infertility. *The Lancet*. 2021. Vol. 23. P. 319–333. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32667-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32667-2).
2. Benavides F, Sutovsky P, López V, Kennedy C. Semen Parameters of Fertile Guinea Pigs (*Cavia porcellus*) Collected by Transrectal Electroejaculation. *Animals*. 2020. Vol. 10. P. 767. <https://doi.org/10.3390/ani10050767>.
3. Castellini C, Totaro M, Parisi A. Bisphenol A and Male Fertility: Myths and Realities. *Frontiers in Endocrinology*. 2020. Vol. 12. P. 353. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00353>.
4. Cimmino I, Fiory F, Perruolo C, et al. Potential Mechanisms of Bisphenol A (BPA). Contributing to Human Disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. Vol. 21. P. 5761. <https://doi.org/10.3390/ijms21165761>.
5. Eisenberg M.L., Esteves S.C., Lamb D.J., Hotaling J.M., Giwercman A., Hwang K., Cheng Y. Male infertility. *Nat Rev Dis Primers*. 2023. Vol. 14. P. 49. <https://doi.org/10.1038/s41572-023-00459-w>.
6. George D., Mallery P. IBM SPSS Statistics 27 Step by Step: A Simple Guide and Reference 17th Edition. Taylor & Francis Ltd. 2022. 404 p.
7. Liu X., Wang Z., Liu F. Chronic exposure of BPA impairs male germ cell proliferation and induces lower sperm quality in male mice. *Chemosphere*. 2021. Vol. 262. 127880. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127880>.
8. Minhas S., Bettocchi C., Boeri L., Capogrosso P., Carvalho J. European Association of Urology Guidelines on Male Sexual and Reproductive Health: 2021 Update on Male Infertility. *Eur Urol*. 2021. Vol. 80 P. 603–620. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2021.08.014>.
9. Mostari M.H., Rahaman M.M., Akhter M.A., Ali M.H., Sasanami T., Tokumoto T. Transgenerational effects of bisphenol A on zebrafish reproductive tissues and sperm motility. *Reprod. Toxicol*. 2022. Vol. 109. P. 31–38. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2022.02.005>.
10. Pathak U.I., Gabrielsen J.S., Lipshultz L.I. Cutting-Edge Evaluation of Male Infertility. *Urol Clin North Am* 2020. Vol. 4. P. 129–138. <https://doi.org/10.1016/j.ucl.2019.12.001>.
11. WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen - 6th ed. World Health Organization. Geneva. Switzerland. 2021. 276 p. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240030787>.
12. Меленевський О.Д., Чайка О.М., Третякова О.В. Дослідження показників про- та антиоксидантної системи в спермоплазмі при порушенні фертильності у чоловіків. *Урологія*. 2021. Том. 25. №. 2. С. 107–113. <https://doi.org/10.26641/2307-5279.25.2.2021.238228>.
13. Сухонос О.С., Нікіфоров О.А., Авраменко Н.В. Генетичні аспекти порушення репродуктивної функції у чоловіків. *Вісник проблем біології і медицини*. 2019. Вип. 2. Том 1 (150). С. 65–71. <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2019-2-1-150-65-71>.
14. Хміль С.В., Майорова О.Ю., Дудчук І.В. Вплив екологічних факторів на якісні та кількісні параметри еякуляту чоловіків (літературний огляд). *Вісник Вінницького національного медичного університету*. 2019. Т. 23. №3. С. 530–534. [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2019-23\(3\)-32](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2019-23(3)-32).

References:

1. Agarwal, A., Baskaran, S., Parekh, N. (2021). Male infertility. *The Lancet*, 23, 319–333. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32667-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32667-2).
2. Benavides, F., Sutovsky, P., López, V., Kennedy, C. (2020). Semen Parameters of Fertile Guinea Pigs (*Cavia porcellus*) Collected by Transrectal Electroejaculation. *Animals*, 10, 767. <https://doi.org/10.3390/ani10050767>.
3. Castellini, C., Totaro, M., Parisi, A. (2020). Bisphenol A and Male Fertility: Myths and Realities. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 353. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00353>.
4. Cimmino, I., Fiory, F., Perruolo, C., et al. (2020). Potential Mechanisms of Bisphenol A (BPA). Contributing to Human Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 5761. <https://doi.org/10.3390/ijms21165761>.
5. Eisenberg, M.L., Esteves, S.C., Lamb, D.J., Hotaling, J.M., Giwercman, A., Hwang, K., Cheng, Y. (2023). Male infertility. *Nat Rev Dis Primers*, 14, 49. <https://doi.org/10.1038/s41572-023-00459-w>.
6. George, D., Mallery, P. (2022). IBM SPSS Statistics 27 Step by Step: A Simple Guide and Reference (17th Ed.). *Taylor & Francis Ltd*.
7. Liu, X., Wang, Z., Liu, F. (2021). Chronic exposure of BPA impairs male germ cell proliferation and induces lower sperm quality in male mice. *Chemosphere*, 262, 127880. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127880>.
8. Minhas, S., Bettocchi, C., Boeri, L., Capogrosso, P., Carvalho, J. (2021). Association of Urology Guidelines on Male Sexual and Reproductive Health: 2021 Update on Male Infertility. *Eur Urol*, 80, 603–620. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2021.08.014>.
9. Mostari, M.H., Rahaman, M.M., Akhter, M.A., Ali, M.H., Sasanami, T., Tokumoto, T. (2022). Transgenerational effects of bisphenol A on zebrafish reproductive tissues and sperm motility. *Reprod. Toxicol*, 109, 31–38. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2022.02.005>.
10. Pathak, U.I., Gabrielsen, J.S., Lipshultz, L.I. (2020). Cutting-Edge Evaluation of Male Infertility. *Urol Clin North Am*, 4, 129–138. <https://doi.org/10.1016/j.ucl.2019.12.001>.
11. WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen (6th ed.). (2021). World Health Organization. Geneva: Switzerland. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240030787>.
12. Melenevskiy, O.D., Chajka, O.M., Tretyakova, O.V. (2021). Doslidzhennya pokaznykiv pro- ta antyoksydantnoyi systemy v spermoplazmi pry porushenni fertylnosti u cholovikiv. [Study of indicators of the pro- and antioxidant system in spermatozoa in case of impaired fertility in men]. *Urologiya*. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.26641/2307-5279.25.2.2021.238228>.

13. Suxonos, O.S., Nikiforov, O.A., Avramenko, N.V. Genetychni aspekty porushennya reproduktyvnoyi funkciyi u cholovikiv. [Genetic aspects of reproductive function disorders in men]. *Visnyk problem biologiyi i medycyny*. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2019-2-1-150-65-71>.

14. Xmil, S.V., Majorova, O.Y., Dudchuk, I.V. (2019). Vplyv ekologichnyx faktoriv na yakisni ta kilkisni parametry eyakulyatu cholovikiv (literaturnyj oglyad). [The influence of environmental factors on the qualitative and quantitative parameters of men's ejaculate (literature review)]. *Visnyk Vinnyczkogo nacionalnogo medychnogo universytetu*. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2019-2-1-150-65-71>