

## Докозагексаеновая кислота в лечении мужского бесплодия, вызванного высоким уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов

И.В. Виноградов, А.Р. Живулько

ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»; Россия, 117198 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

Контакты: Игорь Владимирович Виноградов [ivvinogradov@mail.ru](mailto:ivvinogradov@mail.ru)

**Введение.** Антиоксидантная терапия продолжает быть одним из основных методов лечения мужского бесплодия, ассоциированного с высоким уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов. Одним из перспективных компонентов антиоксидантной терапии является докозагексаеновая кислота (ДГК). Это вещество обладает не только антиоксидантными, но и противовоспалительными свойствами, что позволяет рассматривать его как перспективный компонент комплексного лечения пациентов с высоким уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов на фоне воспалительного процесса в добавочных половых железах.

**Материалы и методы.** У 117 пациентов с мужским бесплодием, ассоциированным с высоким уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов, изучены спермограмма, результат MAR-теста, индекс фрагментации ДНК сперматозоидов, степень криотолерантности. Пациенты были распределены по 2 группам: с высоким ( $>1$  млн/мл) и низким ( $<1$  млн/мл) содержанием лейкоцитов в эякуляте, а далее рандомизированы в 2 подгруппы активного лечения и 2 подгруппы плацебо. Пациенты из подгрупп активного лечения получали по 1470 мг ДГК в сутки в течение 3 мес, пациенты из подгрупп плацебо принимали плацебо по аналогичной схеме. По завершении курса лечения спермиологические исследования проведены повторно.

**Результаты.** После лечения в подгруппе с высоким содержанием лейкоцитов в эякуляте наблюдалось увеличение доли подвижных сперматозоидов (42 % (25–61 %) против 25 % (15–47 %),  $p < 0,05$ ), жизнеспособных сперматозоидов (73 % (63–81 %) против 41 % (35–64 %),  $p < 0,05$ ), снижение индекса фрагментации ДНК сперматозоидов (21 % (12–28 %) против 33 % (25–39 %),  $p < 0,05$ ) и концентрации лейкоцитов в семенной жидкости (1 млн/мл (0,7–1,7 млн/мл) против 1,5 млн/мл (1,1–2,1 млн/мл),  $p < 0,05$ ). Увеличение доли подвижных сперматозоидов (15 % (8–19 %) против 8 % (5–11 %),  $p < 0,05$ ) и жизнеспособных сперматозоидов (37 % (25–46 %) против 24 % (17–40 %),  $p < 0,05$ ) также зарегистрировано после теста на криотолерантность. В подгруппе с низким содержанием лейкоцитов в эякуляте отмечено увеличение доли подвижных сперматозоидов (43 % (27–63 %) против 34 % (21–54 %),  $p < 0,05$ ), жизнеспособных сперматозоидов (77 % (66–85 %) против 65 % (54,5–76,0 %),  $p < 0,05$ ) и снижение индекса фрагментации ДНК сперматозоидов (9 % (5,5–20,0 %) против 25 % (18–33 %),  $p < 0,05$ ). Наблюдалось увеличение доли подвижных сперматозоидов (17 % (10–23 %) против 6 % (5,0–10,5 %),  $p < 0,05$ ) и жизнеспособных сперматозоидов (41 % (32,5–53,0 %) против 37 % (30–49 %),  $p < 0,05$ ) после теста на криотолерантность.

**Заключение.** ДГК способствует повышению подвижности, жизнеспособности сперматозоидов, снижению уровня фрагментации ДНК сперматозоидов и увеличению их криотолерантности вне зависимости от наличия воспалительного процесса в добавочных половых железах.

**Ключевые слова:** докозагексаеновая кислота, мужское бесплодие, фрагментация ДНК сперматозоидов

**Для цитирования:** Виноградов И.В., Живулько А.Р. Докозагексаеновая кислота в лечении мужского бесплодия, вызванного высоким уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов. Андрология и генитальная хирургия 2020;21(4):89–97.

DOI: 10.17650/2070-9781-2020-21-4-89-97



### Docosahexaenoic acid in the treatment of male infertility caused by high sperm DNA fragmentation

I. V. Vinogradov, A. R. Zhivulko

RUDN University; 6 Miklukho-Maklaya St., Moscow 117198, Russia

**Introduction.** Antioxidant supplementation therapy continues to be the main treatment for male infertility associated with high level of sperm DNA damage. Docosahexaenoic acid (DHA) is one of the most promising components of antioxidant supplementation therapy. It also has anti-inflammatory properties that makes it interesting for treatment of patients with high level of sperm DNA damage and inflammation in male accessory glands.

**Materials and methods.** One hundred and seventeen (117) infertile patients with high level of sperm DNA damage were recruited for this randomized, double blind, placebo-controlled study. Semen analysis, MAR-test, SCD test and sperm cryotolerance test were performed to all patients. Subjects were divided into 2 groups with high ( $>1$  mln/ml) and low ( $<1$  mln/ml) semen leucocyte concertation and then randomized into 2 subgroups of active treatment and 2 placebo subgroups. The active treatment subgroups received 1470 mg/day of DHA for 3 months. The placebo group received placebo for the same period. Laboratory tests were repeated after the treatment course had been finished.

**Results.** Statistically significant increase in motility (42 % (25–61 %) vs 25 % (15–47 %),  $p < 0.05$ ), vitality (73 % (63–81 %) vs 41 % (35–64 %),  $p < 0.05$ ), decrease in sperm DNA fragmentation level (21 % (12–28 %) vs 33 % (25–39 %),  $p < 0.05$ ) and leucocyte concentration (1 million/ml (0.7–1.7 million/ml) vs 1.5 million/ml (1.1–2.1 million/ml),  $p < 0.05$ ) were observed in the subgroup with male accessory glands inflammation after treatment. Motility (15 % (8–19 %) vs 8 % (5–11 %),  $p < 0.05$ ) and vitality (37 % (25–46 %) vs 24 % (17–40 %),  $p < 0.05$ ) in this subgroup after a sperm cryotolerance test increased as well. In the subgroup with low semen leucocyte concentration statistically significant increase in motility (43 % (27–63 %) vs 34 % (21–54 %),  $p < 0.05$ ), vitality (77 % (66–85 %) vs 65 % (54.5–76.0 %),  $p < 0.05$ ) and decrease of sperm DNA fragmentation level (9 % (5.5–20.0 %) vs 25 % (18–33 %),  $p < 0.05$ ) were observed. DHA supplementation also resulted in statistically significant increase in motility (17 % (10–23 %) vs 6 % (5.0–10.5 %),  $p < 0.05$ ) and vitality (41 % (32.5–53.0 %) vs 37 % (30–49 %),  $p < 0.05$ ) after a sperm cryotolerance test in that subgroup.

**Conclusion.** DHA supplementation therapy increases motility, vitality, sperm cryotolerance and decreases sperm DNA fragmentation regardless of the presence of an inflammatory process in male accessory glands.

**Key words:** docosahexaenoic acid, male infertility, DNA fragmentation level

**For citation:** Vinogradov I. V., Zhivulko A. R. Docosahexaenoic acid in the treatment of male infertility caused by high sperm DNA fragmentation. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2020;21(4):89–97. (In Russ.).

## Введение

Мужское бесплодие — распространенное явление, а следовательно, важная проблема здравоохранения [1, 2]. За 2000–2018 гг. в Российской Федерации, по данным официальной статистики, общее число мужчин с бесплодием увеличилось в 2,1 раза (с 22 348 до 47 886) [3].

Мужское бесплодие может быть вызвано множеством причин, одной из которых считается повреждение генетического материала сперматозоидов [4–7]. Это также одна из причин неразвивающейся беременности, спонтанного аборта и неудачных попыток экстракорпорального оплодотворения [7–10]. Так как окислительный стресс является ведущим механизмом повреждения генетического материала сперматозоидов, антиоксидантная терапия была предложена в качестве одного из основных методов лечения мужского бесплодия, ассоциированного с высоким уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов [11–16]. В исследованиях оценена эффективность многих антиоксидантов, однако полученные результаты противоречивы [14, 16–20].

Полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) — один из перспективных компонентов антиоксидантной терапии. ПНЖК выполняют множество функций в клетках; в первую очередь, входят в состав фосфолипидных мембран [21–23]. От соотношения насыщенных и ненасыщенных жиров в фосфолипидных мембранах клеток зависят их свойства [24–28].

Наиболее распространенной ПНЖК, входящей в состав мембран сперматозоидов, является докозагексаеновая кислота (ДГК) [29, 30]. Содержание ДГК в мембранах сперматозоидов ассоциировано с фертильностью и параметрами спермограммы [30–33]. Эффективность применения ДГК в лечении мужского бесплодия оценена в клинических исследованиях [21, 22, 34, 35]. Прием ДГК приводил к улучшению стандартных параметров спермограммы и снижению уровня фрагментации ДНК сперматозоидов [21, 22, 34].

В ранее проведенном нами исследовании также отмечено положительное влияние ДГК на целостность генетического материала (по данным электронной микроскопии) и устойчивость сперматозоидов к криогенному повреждению [35]. От содержания ДГК в сперматозоидах во многом зависят такие свойства, как текучесть, гибкость и пластичность мембран, которые необходимы для успешного выполнения сперматозоидами их биологической функции [25, 30, 36].

Появляется все больше данных о противовоспалительных свойствах ПНЖК, в частности ДГК [36–39]. Применение ПНЖК в клинических исследованиях снижало интенсивность воспалительной симптоматики и улучшало состояние пациентов с болезнью Крона, ревматоидным артритом, кератоконъюнктивитом, периодонтитом и гингивитом [40–44]. Окислительный стресс считается основным механизмом повреждения генетического материала сперматозоидов, а главным источником активных форм кислорода в эякуляте являются лейкоциты [11–13, 45–47]. Воспалительный процесс в добавочных половых железах обуславливает повышение концентрации лейкоцитов в эякуляте и, таким образом, может становиться причиной повышения продукции АФК и развития окислительного стресса [45–47]. Антиоксидантная активность и противовоспалительные свойства ДГК делают это вещество перспективным компонентом комплексного лечения мужского бесплодия, ассоциированного с высоким уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов, и особенно у пациентов с воспалительным процессом в добавочных половых железах.

## Материалы и методы

В рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование были включены 117 мужчин с бесплодием, ассоциированным с высоким уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов.

На 1-м этапе выполнены лабораторные исследования: спермограмма, MAR-тест (mixed agglutination

reaction, количественное определение наличия антиспермальных антител), оценка уровня фрагментации ДНК сперматозоидов методом SCD (sperm chromatin dispersion, дисперсия хроматина в агарозном геле), тест на криотолерантность (рис. 1).

По окончании первичного обследования пациентов разделили на 2 группы в зависимости от концентрации лейкоцитов в семенной жидкости: в 1-ю группу были включены пациенты с концентрацией лейкоцитов  $>1$  млн/мл ( $n = 61$ ), во 2-ю группу — пациенты с концентрацией лейкоцитов в эякуляте  $<1$  млн/мл ( $n = 56$ ). Затем каждая группа была рандомизирована методом конвертов на 2 подгруппы — подгруппу активного лечения и подгруппу плацебо. Таким образом, в 1-ю под-

группу вошли пациенты с концентрацией лейкоцитов в эякуляте  $>1$  млн/мл, получавшие ДГК, во 2-ю подгруппу — пациенты с концентрацией лейкоцитов  $<1$  млн/мл, получавшие ДГК, в 3-ю подгруппу — пациенты с концентрацией лейкоцитов  $>1$  млн/мл, получавшие плацебо, в 4-ю подгруппу — пациенты с концентрацией лейкоцитов  $<1$  млн/мл, получавшие плацебо (см. рис. 1).

Пациенты 1-й и 3-й подгрупп получали по 1470 мг ДГК в сутки в течение 3 мес, пациенты 2-й и 4-й подгрупп получали плацебо по аналогичной схеме. По завершении курса лечения спермиологические исследования выполняли повторно. По причине потери связи с 7 пациентами они были исключены из исследования.

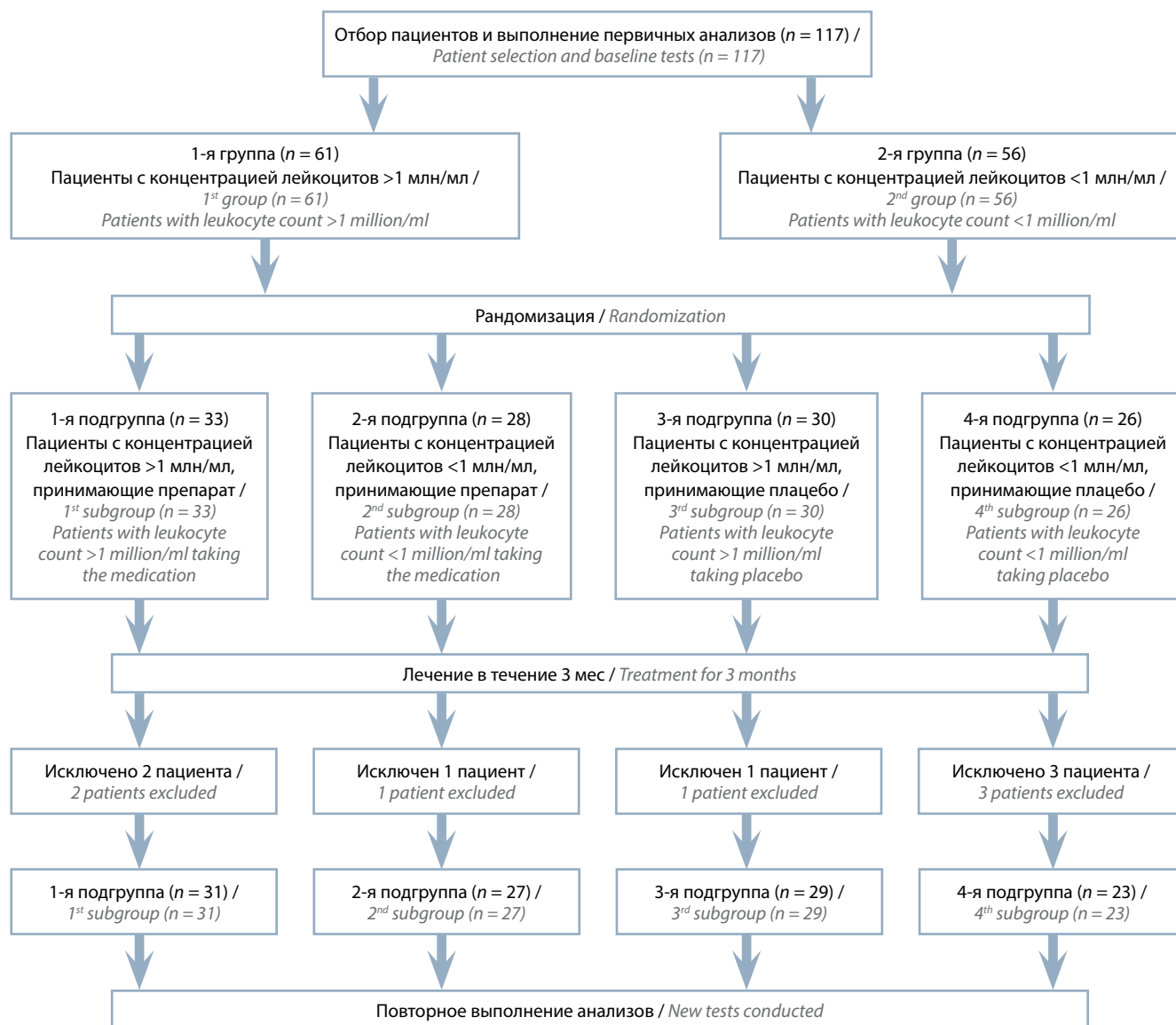


Рис. 1. Дизайн исследования

Fig. 1. Study design

Статистический анализ данных проводили с использованием пакета программ IBM SPSS Statistics 23. Статистическую значимость различий между группами и подгруппами оценивали с помощью теста Манна–Уитни. Для оценки статистической значимости различий показателей до и после лечения в одной и той же группе использован парный тест Уилкоксона. Различие между сравниваемыми величинами признавалось статистически значимым при  $p < 0,05$ . Корреляционный анализ выполнен с использованием критерия Спирмена.

### Результаты

До лечения стандартные параметры спермограммы были более высокими в группе пациентов с низкой концентрацией лейкоцитов в эякуляте, а индекс фрагментации ДНК сперматозоидов был ниже у этих пациентов (см. таблицу).

Концентрация сперматозоидов была значительно выше во 2-й группе, чем в 1-й (61 млн/мл (27–85 млн/мл) против 54 млн/мл (23–81 млн/мл),  $p < 0,05$ ). Более высокая концентрация сперматозоидов сохранялась в группе с низкой концентрацией лейкоцитов и после теста на криотолерантность (27 млн/мл (12–36 млн/мл) против 32 млн/мл (14–39 млн/мл),  $p < 0,05$ ).

Доля подвижных сперматозоидов в 1-й группе была ниже, чем во 2-й группе, до теста на криотолерантность (23 % (16–46 %) против 33 % (24–55 %),  $p < 0,05$ ) и после него (8 % (5–12 %) против 7 % (4–12 %),  $p < 0,05$ ). Доля жизнеспособных сперматозоидов в 1-й группе была значительно ниже, чем во 2-й группе, до теста на криотолерантность (43 % (32–61 %) против 65 % (53–77 %),  $p < 0,05$ ) и после него (24 % (15–39 %) против 37 % (29–48 %),  $p < 0,05$ ). Статистически значимых различий в доле сперматозоидов с нормальной морфологией и содержании антиспермальных антител в эякуляте между 1-й и 2-й группами не выявлено. Целостность генетического материала сперматозоидов была нарушена в значительно большей степени у пациентов 1-й группы (34 % (24–43 %) против 25 % (18–35 %),  $p < 0,05$ ).

При сравнении 1-й и 3-й подгрупп, а также при сравнении 1-й и 4-й подгрупп не обнаружено статистически значимых различий в значениях всех показателей.

Сравнение 1-й и 2-й подгрупп, а также 3-й и 4-й подгрупп позволило выявить различия, аналогичные различиям между 1-й и 2-й группами: в подгруппах с высокой концентрацией лейкоцитов в семенной жидкости стандартные параметры спермограммы были ниже, а индекс фрагментации ДНК сперматозоидов был выше.

В выборке исследования в целом установлена статистически значимая прямая корреляция концентрации лейкоцитов и индекса фрагментации ДНК

сперматозоидов (рис. 2а), а также обратная корреляция между подвижностью и жизнеспособностью сперматозоидов (рис. 2б, в).

После лечения стандартные параметры спермограммы у пациентов 1-й и 2-й подгрупп статистически значимо не различались, а индекс фрагментации ДНК сперматозоидов продолжал быть выше в 1-й подгруппе (21 % (12–28 %) против 9 % (6–20 %),  $p < 0,05$ ).

Различия между 3-й и 4-й подгруппами, выявленные до лечения, сохранялись и после него.

При сравнении 1-й и 3-й подгрупп установлено, что у пациентов, получавших ДГК, в большей степени улучшилось качество эякулята. Доля подвижных сперматозоидов была также значительно больше в 1-й подгруппе (42 % (25–61 %) против 25 % (19–46 %),  $p < 0,05$ ). После теста на криотолерантность этот показатель оставался несколько более высоким в 1-й подгруппе (15 % (8–19 %) против 9 % (8–13 %),  $p < 0,05$ ). Доля жизнеспособных сперматозоидов была больше в подгруппе пациентов, получавших ДГК, как до теста на криотолерантность (73 % (63–81 %) против 44 % (43 % (26–58 %),  $p < 0,05$ ), так и после него (37 % (25–46 %) против 25 % (15–38 %),  $p < 0,05$ ). Индекс фрагментации ДНК сперматозоидов был значительно ниже в 1-й подгруппе (21 % (12–28 %) против 35 % (10–44 %),  $p < 0,05$ ). В значениях таких показателей, как концентрация сперматозоидов, доля сперматозоидов с нормальной морфологией до и после теста на криотолерантность, а также количество сперматозоидов, покрытых антиспермальными антителами, статистически значимых различий между подгруппами не выявлено.

Похожая картина наблюдалась при сравнении показателей 2-й и 4-й подгрупп. Доля подвижных сперматозоидов в подгруппе пациентов, получавших ДГК, была значительно больше до теста на криотолерантность (43 % (27–63 %) против 35 % (23–60 %),  $p < 0,05$ ) и после него (17 % (10–23 %) против 8 % (5–13 %),  $p < 0,05$ ). Доля жизнеспособных сперматозоидов была больше во 2-й подгруппе как до теста на криотолерантность (77 % (66–85 %) против 65 % (51–75 %),  $p < 0,05$ ), так и после него (41 % (33–53 %) против 36 % (25–45 %)). Индекс фрагментации ДНК сперматозоидов был значительно ниже во 2-й подгруппе (9 % (6–20 %) против 24 % (16–40 %),  $p < 0,05$ ). Статистически значимых различий в концентрации сперматозоидов и доле сперматозоидов с нормальной морфологией как до, так и после теста на криотолерантность не выявлено.

При сравнении значений параметров после лечения со значениями до лечения в 1-й подгруппе было выявлено статистически значимое выраженное увеличение доли подвижных сперматозоидов до теста на криотолерантность (соответственно 42 % (25–61 %) против 25 % (15–47 %),  $p < 0,05$ ) и после него



Спермиологические показатели до и после лечения  
Baseline and post-treatment sperm characteristics

| Параметр<br>Parameter                                                                                                                     | 1-я группа<br>1 <sup>st</sup> group | 1-я подгруппа (n = 31)<br>1 <sup>st</sup> subgroup (n = 31) |                                  | 3-я подгруппа (n = 29)<br>3 <sup>rd</sup> subgroup (n = 29) |                                  | 2-я группа<br>2 <sup>nd</sup> group | 2-я подгруппа (n = 27)<br>2 <sup>nd</sup> subgroup (n = 27) |                                  | 4-я подгруппа (n = 23)<br>4 <sup>th</sup> subgroup (n = 23) |                                  |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------------------------------|----------------------------------|
|                                                                                                                                           |                                     | До лечения<br>Before treatment                              | После лечения<br>After treatment | До лечения<br>Before treatment                              | После лечения<br>After treatment |                                     | До лечения<br>Before treatment                              | После лечения<br>After treatment | До лечения<br>Before treatment                              | После лечения<br>After treatment |
| Концентрация сперматозоидов,<br>млн/мл<br>Sperm count, million/ml                                                                         | 54<br>(23–81)                       | 53<br>(21–80)                                               | 57<br>(28–83)                    | 58<br>(25–85)                                               | 53<br>(25–83)                    | 61<br>(27–85)                       | 59<br>(26–83)                                               | 57<br>(24–78)                    | 61<br>(29–87)                                               | 63<br>(34–91)                    |
| Концентрация сперматозоидов<br>после теста<br>на криотолерантность, млн/мл<br>Sperm count after cryotolerance test,<br>million/ml         | 27<br>(12–36)                       | 28<br>(15–38)                                               | 31<br>(16–40)                    | 26<br>(9–34)                                                | 27<br>(12–35)                    | 32<br>(14–39)                       | 33<br>(15–40)                                               | 34<br>(18–42)                    | 30<br>(13–40)                                               | 28<br>(15–39)                    |
| Доля подвижных сперматозоидов,<br>%<br>Percentage of motile sperm, %                                                                      | 23*<br>(16–46)                      | 25**<br>(15–47)                                             | 42†‡<br>(25–61)                  | 22***<br>(18–46)                                            | 25***<br>(19–46)                 | 33<br>(24–55)                       | 34<br>(21–54)                                               | 43††‡<br>(27–63)                 | 33<br>(26–58)                                               | 35<br>(23–60)                    |
| Доля подвижных сперматозоидов<br>после теста<br>на криотолерантность, %<br>Percentage of motile sperm after<br>cryotolerance test, %      | 8<br>(5–12)                         | 8<br>(5–11)                                                 | 15†‡<br>(8–9)                    | 9<br>(6–14)                                                 | 9<br>(8–13)                      | 7<br>(4–12)                         | 6<br>(5–11)                                                 | 17††‡<br>(10–23)                 | 9<br>(4–15)                                                 | 8<br>(5–13)                      |
| Доля жизнеспособных сперматозоидов,<br>%<br>Percentage of viable sperm, %                                                                 | 43*<br>(32–61)                      | 41**<br>(35–64)                                             | 73†‡<br>(63–81)                  | 44***<br>(28–60)                                            | 43***<br>(26–58)                 | 65<br>(53–77)                       | 65<br>(55–76)                                               | 77††‡<br>(66–85)                 | 64<br>(49–77)                                               | 65<br>(51–75)                    |
| Доля жизнеспособных<br>сперматозоидов после теста<br>на криотолерантность, %<br>Percentage of viable sperm after<br>cryotolerance test, % | 24*<br>(15–39)                      | 24**<br>(17–40)                                             | 37†‡<br>(25–46)                  | 23***<br>(14–36)                                            | 25***<br>(15–38)                 | 37<br>(29–48)                       | 37<br>(30–49)                                               | 41††‡<br>(33–53)                 | 38<br>(26–46)                                               | 36<br>(25–45)                    |
| Доля сперматозоидов с нормальной<br>морфологией, %<br>Percentage of normal morphology<br>sperm, %                                         | 3<br>(2–4)                          | 4<br>(3–5)                                                  | 4<br>(4–5)                       | 3<br>(2–4)                                                  | 4<br>(4–5)                       | 4<br>(2–6)                          | 5<br>(3–6)                                                  | 4<br>(3–5)                       | 4<br>(2–6)                                                  | 4<br>(2–5)                       |


 Окончание таблицы  
 The end of table

| Параметр<br>Parameter                                                                                            | 1-я группа<br>1 <sup>st</sup> group |  | 1-я подгруппа (n = 31)<br>1 <sup>st</sup> subgroup (n = 31) |                                  | 3-я подгруппа (n = 29)<br>3 <sup>rd</sup> subgroup (n = 29) |                                  | 2-я группа<br>2 <sup>nd</sup> group |  | 2-я подгруппа (n = 27)<br>2 <sup>nd</sup> subgroup (n = 27) |                                  | 4-я подгруппа (n = 23)<br>4 <sup>th</sup> subgroup (n = 23) |                                  |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|--|-------------------------------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|--|-------------------------------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------------------------------|----------------------------------|
|                                                                                                                  |                                     |  | До лечения<br>Before treatment                              | После лечения<br>After treatment | До лечения<br>Before treatment                              | После лечения<br>After treatment |                                     |  | До лечения<br>Before treatment                              | После лечения<br>After treatment | До лечения<br>Before treatment                              | После лечения<br>After treatment |
| Доля сперматозоидов с нормальной морфологией, %<br>Percentage of normal morphology sperm, %                      | 3<br>(1-4)                          |  | 3<br>(1-4)                                                  | 4<br>(4-5)                       | 2<br>(2-4)                                                  | 3<br>(2-5)                       | 2<br>(1-3)                          |  | 2<br>(1-3)                                                  | 4<br>(3-5)                       | 3<br>(2-4)                                                  | 4<br>(3-5)                       |
| Количество сперматозоидов, покрытых антителами класса IgA, %<br>Percentage of IgA antibody-coated spermatozoa, % | 7<br>(4-18)                         |  | 5<br>(2-14)                                                 | 5<br>(2-7)                       | 6<br>(1-10)                                                 | 4<br>(2-9)                       | 7<br>(3-15)                         |  | 7<br>(2-14)                                                 | 6<br>(2-8)                       | 5<br>(3-10)                                                 | 5<br>(2-6)                       |
| Количество сперматозоидов, покрытых антителами класса IgG, %<br>Percentage of IgG antibody-coated spermatozoa, % | 8<br>(5-11)                         |  | 7<br>(3-10)                                                 | 7<br>(4-10)                      | 7<br>(3-13)                                                 | 6<br>(3-9)                       | 7<br>(6-19)                         |  | 5<br>(3-18)                                                 | 8<br>(3-10)                      | 7<br>(3-10)                                                 | 4<br>(3-7)                       |
| Индекс фрагментации ДНК сперматозоидов, %<br>Sperm DNA fragmentation index, %                                    | 34*<br>(24-43)                      |  | 33**<br>(25-39)                                             | 21**†‡<br>(12-39)                | 35***<br>(21-45)                                            | 35***<br>(20-44)                 | 25<br>(18-35)                       |  | 25<br>(18-33)                                               | 9††‡<br>(6-20)                   | 24<br>(17-36)                                               | 24<br>(16-40)                    |
| Концентрация лейкоцитов, млн/мл<br>Leukocyte count, million/ml                                                   | 1,4*<br>(1,2-1,9)                   |  | 1,5**<br>(1,1-2,1)                                          | 1,0**†‡<br>(0,7-1,7)             | 1,6***<br>(1,1-2,3)                                         | 1,4***<br>(1,2-2,1)              | 0,5<br>(0,3-0,7)                    |  | 0,5<br>(0,3-0,7)                                            | 0,5<br>(0,2-0,7)                 | 0,5<br>(0,2-0,7)                                            | 0,4<br>(0,1-0,7)                 |

\*Различия между 1-й и 2-й группами статистически значимы ( $p < 0,05$ ). \*\*Различия между 1-й и 2-й подгруппами статистически значимы ( $p < 0,05$ ). \*\*\*Различия между 3-й и 4-й подгруппами статистически значимы ( $p < 0,05$ ). †Различия между 1-й и 3-й подгруппами статистически значимы ( $p < 0,05$ ). ‡Различия между 2-й и 4-й подгруппами статистически значимы ( $p < 0,05$ ).

\*Differences between the 1<sup>st</sup> and the 2<sup>nd</sup> group are significant ( $p < 0,05$ ). \*\*Differences between the 1<sup>st</sup> and the 2<sup>nd</sup> subgroup are significant ( $p < 0,05$ ). \*\*\*Differences between the 3<sup>rd</sup> and the 4<sup>th</sup> subgroup are significant ( $p < 0,05$ ). †Differences between the 1<sup>st</sup> and the 3<sup>rd</sup> subgroup are significant ( $p < 0,05$ ). ‡Differences between the 2<sup>nd</sup> and the 4<sup>th</sup> subgroup are significant ( $p < 0,05$ ).

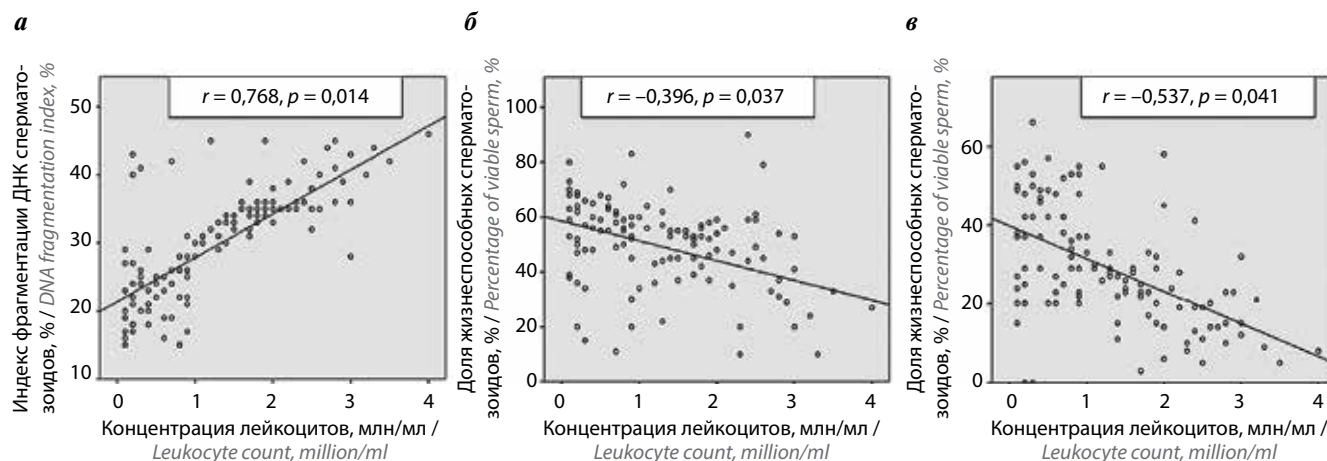


**Рис. 2.** Корреляционная связь концентрации лейкоцитов и индекса фрагментации ДНК сперматозоидов (а), доли жизнеспособных сперматозоидов (б), доли прогрессивно-подвижных сперматозоидов (в) в выборке исследования в целом

**Fig. 2.** Correlation between leukocyte count and sperm DNA fragmentation index (а), percentage of viable sperm (б), percentage of progressive motile sperm (в)

(15 % (8–19 %) против 8 % (5–11 %),  $p < 0,05$ ), доли жизнеспособных сперматозоидов до теста на криотолерантность (73 % (63–81 %) против 41 % (35–64 %),  $p < 0,05$ ) и после него (37 % (25–46 %) против 24 % (17–40 %),  $p < 0,05$ ). Значительно снизился индекс фрагментации ДНК сперматозоидов (21 % (12–28 %) против 33 % (25–39 %),  $p < 0,05$ ). Зарегистрировано снижение концентрации лейкоцитов в эякуляте после лечения (1,0 млн/мл (0,7–1,7 млн/мл) против 1,5 млн/мл (1,1–2,1 млн/мл),  $p < 0,05$ ). Статистически значимых различий в значениях таких показателей, как концентрация сперматозоидов, доля сперматозоидов с нормальной морфологией до и после теста на криотолерантность, а также количество сперматозоидов, покрытых антиспермальными антителами, не выявлено.

При сравнении значений параметров после лечения со значениями до лечения во 2-й подгруппе также установлено значительное улучшение стандартных параметров спермограммы: увеличилась доля подвижных сперматозоидов до теста на криотолерантность (соответственно 43 % (27–63 %) против 34 % (21–54 %;  $p < 0,05$ ) и после теста (17 % (10–23 %) против 6 % (5–11 %),  $p < 0,05$ ), доля жизнеспособных сперматозоидов до теста на криотолерантность (77 % (66–85 %) против 65 % (55–76 %),  $p < 0,05$ ) и после него (41 % (33–53 %) против 37 % (30–49 %),  $p < 0,05$ ). После лечения выявлено статистически значимое выраженное снижение индекса фрагментации ДНК сперматозоидов (9 % (6–20 %) против 25 % (18–33 %),  $p < 0,05$ ).

Количество сперматозоидов, покрытых антиспермальными антителами, доля сперматозоидов с нормальной морфологией как до, так и после теста на криотолерантность статистически значимо не различались.

При сравнении значений параметров после лечения со значениями до лечения в подгруппах пациен-

тов, принимавших плацебо, статистически значимых различий не наблюдалось.

### Обсуждение

Это первое исследование, в котором оценена эффективность ДГК в лечении мужского бесплодия, ассоциированного с высоким уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов на фоне воспалительного процесса в добавочных половых железах. Прием ДГК приводил к статистически значимому увеличению доли подвижных и жизнеспособных сперматозоидов, снижению индекса фрагментации ДНК сперматозоидов, а также увеличению криотолерантности сперматозоидов по сравнению с плацебо. Как стандартные параметры спермограммы, так и показатели, отражающие целостность генетического материала, до и после лечения были лучше в подгруппах пациентов с низким содержанием лейкоцитов в эякуляте. По всей видимости, это следствие негативного влияния высоких концентраций лейкоцитов, усиливающих окислительный стресс. В пользу этого предположения также свидетельствует прямая корреляция концентрации лейкоцитов в эякуляте и индекса фрагментации ДНК и обратная корреляция концентрации лейкоцитов и доли подвижных и жизнеспособных сперматозоидов. По-видимому, положительный эффект, оказываемый ДГК на качественные параметры эякулята, обусловлен не только антиоксидантными, но и противовоспалительными ее свойствами, так как в подгруппе пациентов с воспалительным процессом в добавочных половых железах, которые принимали ДГК, зарегистрировано снижение концентрации лейкоцитов после лечения. Полученные нами результаты согласуются с данными J.C. Martínez-Soto и соавт. [22].

Для лечения мужского бесплодия, ассоциированного с высоким индексом фрагментации ДНК

сперматозоидов, были предложены различные методы: хирургическое устранение варикоцеле, антибактериальная терапия (для пациентов с воспалительным процессом в добавочных половых железах), применение рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона, антиоксидантов и интрацитоплазматическая инъекция тестикулярного сперматозоида [5]. Большинство методик имеют существенные недостатки, среди которых инвазивность и высокая стоимость лечения. Длительная антибактериальная терапия по поводу воспалительного процесса в добавочных половых железах сопряжена также с рядом побочных эффектов. На фоне этого достаточно привлекательным методом лечения мужского бесплодия, ассоциированного с высоким индексом фрагмента-

ции ДНК сперматозоидов, представляется применение ДГК, особенно у пациентов с воспалительным процессом в добавочных половых железах.

### Заключение

Прием ДГК приводит к улучшению стандартных параметров спермограммы, снижению индекса фрагментации ДНК сперматозоидов и повышению криотолерантности сперматозоидов вне зависимости от наличия воспалительного процесса в добавочных половых железах. ДГК может быть рекомендована для применения в 1-й линии терапии мужского бесплодия, ассоциированного с высоким уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов. Прием ДГК целесообразен при подготовке мужчин к забору эякулята для криоконсервации.

## REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

- Jungwirth A., Diemer T., Kopa Z. et al. Male infertility. EAU Guideline 2018. Available at: <https://uroweb.org/guideline/male-infertility/#8>.
- Semet M., Paci M., Saïas-Magnan J. et al. The impact of drugs on male fertility: a review. *Andrology* 2017;5(4): 640–63. DOI: 10.1111/andr.12366.
- Лебедев Г.С., Голубев Н.А., Шадеркин И.А. и др. Мужское бесплодие в Российской Федерации: статистические данные за 2000–2018 годы. Экспериментальная и клиническая урология 2019;(4):4–13. [Lebedev G.S., Golubev N.A., Shaderkin I.A. et al. Male infertility in the Russian Federation: statistical data for 2000–2018. *Eksperimentalnaya i klinicheskaya urologiya = Experimental & Clinical Urology* 2019;(4):4–13. (In Russ.)].
- Hamilton T.R.D.S., Assumpção M.E.O.D. Sperm DNA fragmentation: causes and identification. *Zygote* 2020;28(1):1–8. DOI: 10.1017/S0967199419000595.
- Kim G.Y. What should be done for men with sperm DNA fragmentation? *Clin Exp Reprod Med* 2018;45(3):101–9. DOI: 10.5653/cerm.2018.45.3.101.
- Zequiraj A., Beadini S., Beadini N. et al. Male infertility and sperm DNA fragmentation. *Open Access Maced J Med Sci* 2018;6(8):1342–5. DOI: 10.3889/oamjms.2018.311.
- Qiu Y., Yang H., Li C., Xu C. Progress in research on sperm DNA fragmentation. *Med Sci Monit* 2020;26:e918746. DOI: 10.12659/MSM.918746.
- Niederberger C. Re: Sperm DNA fragmentation and recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis. *J Urol* 2020;203(4):649. DOI: 10.1097/JU.0000000000000722.02.
- Zheng W.W., Song G., Wang Q.L. et al. Sperm DNA damage has a negative effect on early embryonic development following *in vitro* fertilization. *Asian J Androl* 2018;20(1):75–9. DOI: 10.4103/aja.aja\_19\_17.
- Agarwal A., Barbăroșie C., Ambar R., Finelli R. The impact of single- and double-strand DNA breaks in human spermatozoa on assisted reproduction. *Int J Mol Sci* 2020;21(11):3882. DOI: 10.3390/ijms21113882.
- Bisht S., Faiq M., Tolahunase M., Dada R. Oxidative stress and male infertility. *Nat Rev Urol* 2017;14(8):470–85. DOI: 10.1038/nrurol.2017.69.
- Ribas-Maynou J., Yeste M. Oxidative stress in male infertility: causes, effects in assisted reproductive techniques, and protective support of antioxidants. *Biology (Basel)* 2020;9(4):77. DOI: 10.3390/biology9040077.
- Ritchie C., Ko E.Y. Oxidative stress in the pathophysiology of male infertility. *Andrologia* 2020;e13581. DOI: 10.1111/and.13581.
- Smits R.M., Mackenzie-Proctor R., Yazdani A. et al. Antioxidants for male subfertility. *Cochrane Database Syst Rev* 2019;3(3):CD007411. DOI: 10.1002/14651858.CD007411.pub4.
- Ménézo Y.J., Hazout A., Panteix G. et al. Antioxidants to reduce sperm DNA fragmentation: an unexpected adverse effect. *Reprod Biomed Online* 2007;14(4):418–21. DOI: 10.1016/s1472-6483(10)60887-5.
- Barati E., Nikzad H., Karimian M. Oxidative stress and male infertility: current knowledge of pathophysiology and role of antioxidant therapy in disease management. *Cell Mol Life Sci* 2020;77(1):93–113. DOI: 10.1007/s00018-019-03253-8.
- Thakur A.S., Littarru G.P., Funahashi I. Effect of ubiquinol therapy on sperm parameters and serum testosterone levels in oligoasthenozoospermic infertile men. *J Clin Diagn Res* 2015;9(9):BC01–3. DOI: 10.7860/JCDR/2015/13617.6424.
- Greco E., Romano S., Iacobelli M. et al. ICSI in cases of sperm DNA damage: beneficial effect of oral antioxidant treatment. *Hum Reprod* 2005;20(9): 2590–4. DOI: 10.1093/humrep/dei091.
- Haghighian H.K., Haidari F., Mohammadi-Asl J., Dadfar M. Randomized, triple-blind, placebo-controlled clinical trial examining the effects of alpha-lipoic acid supplement on the spermatogram and seminal oxidative stress in infertile men. *Fertil Steril* 2015;104(2):318–24. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2015.05.014.
- Gual-Frau J., Abad C., Amengual M.J. et al. Oral antioxidant treatment partly improves integrity of human sperm DNA in infertile grade I varicocele patients. *Hum Fertil (Camb)* 2015;18(3):225–9. DOI: 10.3109/14647273.2015.1050462.
- Comhaire F., Christophe A., Zalata A. et al. The effects of combined conventional treatment, oral antioxidants and essential fatty acids on sperm biology in subfertile men. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2000;63(3):159–65. DOI: 10.1054/plef.2000.0174.
- Martinez-Soto J.C., Domingo J.C., Cordobilla B. et al. Dietary supplementation with docosahexaenoic acid (DHA) improves seminal antioxidant status and decreases sperm DNA fragmentation. *Syst Biol Reprod Med* 2016;62(6):387–95. DOI: 10.1080/19396368.2016.1246623.
- Kim Y.J., Chung H.Y. Antioxidative and anti-inflammatory actions of docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid in renal epithelial cells and macrophages. *J Med Food* 2007;10(2):225–31. DOI: 10.1089/jmf.2006.092.
- Leahy T., Gadella B. New insights into the regulation of cholesterol efflux from the sperm membrane. *Asian J Clin Diagn Res* 2015;9(9):BC01–3. DOI: 10.7860/JCDR/2015/13617.6424.

- J Androl 2015;17(4):561–7.  
DOI: 10.4103/1008-682X.153309.
25. Lenzi A., Picardo M., Gandini L., Dondero F. Lipids of the sperm plasma membrane: from polyunsaturated fatty acids considered as markers of sperm function to possible scavenger therapy. *Hum Reprod Update* 1996;2(3):246–56. DOI: 10.1093/humupd/2.3.246.
  26. Holowka D., Baird B. Roles for lipid heterogeneity in immunoreceptor signaling. *Biochim Biophys Acta* 2016;1861(8 Pt B):830–6. DOI: 10.1016/j.bbalip.2016.03.019.
  27. Hou T.Y., McMurray D.N., Chapkin R.S. Omega-3 fatty acids, lipid rafts, and T cell signaling. *Eur J Pharmacol* 2016;15:2–9. DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.03.091.
  28. Rodríguez-Cruz M., Serna D.S. Nutrigenomics of  $\omega$ -3 fatty acids: regulators of the master transcription factors. *Nutrition* 2017;41:90–6. DOI: 10.1016/j.nut.2017.04.012.
  29. Hashimoto M., Hossain S., Mamun A. et al. Docosahexaenoic acid: one molecule diverse functions. *Crit Rev Biotechnol* 2017;37(5):579–97. DOI: 10.1080/07388551.2016.1207153.
  30. Stillwell W., Wassall S.R. Docosahexaenoic acid: membrane properties of a unique fatty acid. *Chem Phys Lipids* 2003;126(1):1–27. DOI: 10.1016/s0009-3084(03)00101-4.
  31. Hosseini B., Nourmohamadi M., Hajipour S. et al. The effect of omega-3 fatty acids, EPA, and/or DHA on male infertility: a systematic review and meta-analysis. *J Diet Suppl* 2018;16(2):245–56. DOI: 10.1080/19390211.2018.1431753.
  32. Aksoy Y., Aksoy H., Altinkaynak K. et al. Sperm fatty acid composition in subfertile men. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2006;75(2):75–9. DOI: 10.1016/j.plefa.2006.06.002.
  33. Martínez-Soto J.C., Landeras J., Gadea J. et al. Spermatozoa and seminal plasma fatty acids as predictors of cryopreservation success. *Andrology* 2013;1(3):365–75. DOI: 10.1111/j.2047-2927.2012.00040.x.
  34. Safarinejad M.R. Effect of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on semen profile and enzymatic anti-oxidant capacity of seminal plasma in infertile men with idiopathic oligoasthenoteratospermia: a double-blind, placebo-controlled, randomised study. *Andrologia* 2011;43(1):38–47. DOI: 10.1111/j.1439-0272.2009.01013.x.
  35. Виноградов И.В., Гамидов С.И., Габля М.Ю. и др. Докозагексаеновая кислота в лечении идиопатических форм мужского бесплодия. *Урология* 2019;(1):78–83. [Vinogradov I.V., Gamidov S.I., Gabliya M.Yu. Docosahexaenoic acid in the treatment of idiopathic male infertility. *Urologiya* = *Urology* 2019;(1):78–83. (In Russ.)]. DOI: 10.18565/urology.2019.16.78-83.
  36. Виноградов И.В., Живулько А.Р., Виноградова Л.М., Королев С.В. Докозагексаеновая кислота в лечении мужского бесплодия. *Андрология и генитальная хирургия* 2018;(4):21–7. [Vinogradov I.V., Zhivulko A.R., Vinogradova L.M., Korolev S.V. Docosahexaenoic acid in the treatment of male infertility. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya* = *Andrology and Genital Surgery* 2018;19(4):21–7. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/2070-9781-2018-19-4-21-27.
  37. Calder P.C. Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance. *Biochim Biophys Acta* 2015;1851(4):469–84. DOI: 10.1016/j.bbalip.2014.08.010.
  38. Calder P.C. Omega-3 fatty acids and inflammatory processes: from molecules to man. *Biochem Soc Trans* 2017;45(5):1105–15. DOI: 10.1042/BST20160474.
  39. Calder P.C. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Biochem Soc Trans* 2005;33(Pt 2):423–7. DOI: 10.1042/BST0330423.
  40. Naqvi A.Z., Hasturk H., Mu L. et al. Docosahexaenoic acid and periodontitis in adults: a randomized controlled trial. *J Dent Res* 2014;93(8):767–73. DOI: 10.1177/0022034514541125.
  41. Dawczynski C., Dittrich M., Neumann T. et al. Docosahexaenoic acid in the treatment of rheumatoid arthritis: a double-blind, placebo-controlled, randomized cross-over study with microalgae vs. sunflower oil. *Clin Nutr* 2018;37(2):494–504. DOI: 10.1016/j.clnu.2017.02.021.
  42. Belluzzi A., Brignola C., Campieri M. et al. Effect of an enteric-coated fish-oil preparation on relapses in Crohn's disease. *N Engl J Med* 1996;334(24):1557–60. DOI: 10.1056/NEJM199606133342401.
  43. Goldberg R.J., Katz J. A meta-analysis of the analgesic effects of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation for inflammatory joint pain. *Pain* 2007;129(1–2):210–23. DOI: 10.1016/j.pain.2007.01.020.
  44. Sheppard J.D. Jr, Singh R., McClellan A.J. et al. Long-term supplementation with  $\omega$ -6 and  $\omega$ -3 PUFAs improves moderate-to-severe keratoconjunctivitis sicca: a randomized double-blind clinical trial. *Cornea* 2013;32(10):1297–304. DOI: 10.1097/ICO.0b013e318299549c.
  45. Brunner R.J., Demeter J.H., Sindhwan P. Review of guidelines for the evaluation and treatment of leukocytospermia in male infertility. *World J Mens Health* 2019;37(2):128–37. DOI: 10.5534/wjmh.180078.
  46. Lobascio A.M., De Felici M., Anibaldi M. et al. Involvement of seminal leukocytes, reactive oxygen species, and sperm mitochondrial membrane potential in the DNA damage of the human spermatozoa. *Andrology* 2015;3(2):265–70. DOI: 10.1111/andr.302.
  47. Saleh R., Agarwal A., Kandirali E., Sharma R. Leukocytospermia is associated with increased reactive oxygen species production by human spermatozoa. *Fertil Steril* 2002;78(6):1215–24. DOI: 10.1016/s0015-0282(02)04237-1.

#### Вклад авторов

И.В. Виноградов: разработка дизайна исследования;  
А.Р. Живулько: набор и обследование пациентов; анализ полученных данных.

#### Authors' contributions

I.V. Vinogradov: developing the research design;  
A.R. Zhivulko: recruitment and examination of patients; analysis of the obtained data.

#### ORCID авторов / ORCID of authors

И.В. Виноградов / I.V. Vinogradov: <https://orcid.org/0000-0001-7469-3952>  
А.Р. Живулько / A.R. Zhivulko: <https://orcid.org/0000-0002-1651-4343>

#### Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The author declares no conflict of interest.

#### Соблюдение правил биоэтики

Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов».  
Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

#### Compliance with principles of bioethics

The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of RUDN University.  
All patients gave written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 23.11.2020. Принята к публикации: 28.12.2020.

Article submitted: 23.11.2020. Accepted for publication: 28.12.2020.