

Что следует знать урологу о фрагментации ДНК сперматозоидов

Ю.В. Олефир¹, Е.А. Ефремов², М.А. Родионов³, А.Р. Живулько⁴, Д.М. Попов⁵, Д.М. Монаков⁶

¹ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет); Россия, 119991 Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2;

²ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России; Россия, Москва 117997, ул. Островитянова, 1;

³ООО «Медицинский Центр ВРТ»; Россия, 127018 Москва, ул. Советской Армии, 7;

⁴ООО «Центр иммунологии и репродукции»; Россия, 115035 Москва, Овчинниковская наб., 22/24, стр. 2;

⁵ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина» им. Н.А. Семашко»; Россия, 109386 Москва, ул. Ставропольская, домовл. 23, корп. 8;

⁶кафедра урологии и оперативной нефрологии с курсом онкоурологии Российского университета дружбы народов (РУДН); Россия, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

Контакты: Андрей Романович Живулько a.zhivulko@yandex.ru

Введение. Спермограмма – один из основных методов лабораторной диагностики мужского бесплодия, но нормальные ее показатели не гарантируют, что пациент фертилен, а в 10–30 % случаев данное исследование не позволяет выявить причину бесплодия. Исследование уровня фрагментации ДНК сперматозоидов (ФДС) – возможное решение данной проблемы.

Цель работы – систематизировать имеющуюся на сегодняшний день информацию о клиническом значении, причинах, методах диагностики и лечения ФДС для ее использования урологом в процессе повседневной практики.

Материалы и методы. Проведен поиск публикаций в базах данных eLIBRARY и PubMed с использованием ключевых слов: мужское бесплодие (male infertility), фрагментация ДНК сперматозоидов (sperm DNA fragmentation), этиология (causes), варикоцеле (varicocele), окислительный стресс (oxidative stress), диагностика (diagnostics), лечение (treatment). Отобрано 111 исследований, которые включены в настоящий обзор.

Результаты. Алкоголь, курение, наркотические вещества, психоэмоциональный стресс, неблагоприятные факторы окружающей среды и профессиональные вредности, инфекции и воспалительный процесс в органах репродуктивной системы, варикоцеле и старший отцовский возраст могут приводить к повышению уровня ФДС и неблагоприятным репродуктивным исходам, в том числе при использовании вспомогательных репродуктивных технологий. Данные о роли метаболического синдрома в генезе ФДС неоднозначны. Основной механизм развития повреждения ДНК сперматозоидов – окислительный стресс. Уровень ФДС может быть оценен с помощью прямых (Comet, TUNEL) и непрямых (SDS, SCSA) методов. Лечение при ФДС предполагает устранение факторов, приводящих к ее развитию, борьбу с окислительным стрессом и назначение рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона.

Заключение. Уровень ФДС – важный показатель для оценки мужского репродуктивного потенциала и прогнозирования успеха применения различных методов преодоления бесплодия. В последнее время отмечается расширение показаний для использования методов оценки целостности генетического материала сперматозоидов в клинической практике специалистов в области репродуктивной медицины.

Ключевые слова: фрагментация ДНК сперматозоидов, мужское бесплодие, лечение, экстракорпоральное оплодотворение, интрацитоплазматическая инъекция сперматозоидов

Для цитирования: Олефир Ю.В., Ефремов Е.А., Родионов М.А. и др. Что следует знать урологу о фрагментации ДНК сперматозоидов. Андрология и генитальная хирургия 2023;24(1):24–35. DOI: 10.17650/2070-9781-2023-24-1-24-35

What should urologist know about sperm DNA fragmentation

Yu. V. Olefir¹, E. A. Efremov², M. A. Rodionov³, A. R. Zhuvilko⁴, D. M. Popov⁵, D. M. Monakov⁶

¹I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University); Bld. 8, 2 Trubetskaya St., Moscow 119991, Russia;

²N. I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 1 Ostrovityanova St., Moscow 117437, Russia;

³IVF Medical Centre; 7 Sovetskoy Armii St., Moscow 127018, Russia;



⁴Center of Immunology and Reproduction; Bld. 2, 22/24 Ovchinnikovskaya Naberezhnaya, Moscow 115035, Russia;

⁵Clinical hospital "RZD-Medicine" n. a. N.A. Semashko"; Bld. 8, 23 Stavropolskaya St., Moscow 109386, Russia;

⁶Department of Urology and Surgery Nephrology with Course of Oncourology, Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University); 6 Miklukho-Maklaya St., Moscow 117198, Russia

Contacts: Andrey Romanovich Zivulko a.zhivulko@yandex.ru

Background. Spermogram remains one of the main laboratory methods of male infertility diagnosis, but normal spermogram do not guarantee the patient's fertility. More over, it does not allow us to find out the cause of infertility in 10–30 % cases. The sperm DNA fragmentation (SDF) studying is a possible solution to this problem.

Aim. To systematize the currently available information about of clinical significance, causes, methods of diagnosis and treatment of SDF to be used by an urologist in routine practice.

Materials and methods. The search of publications in databases was carried out eLIBRARY and PubMed using the keywords: male infertility, sperm DNA fragmentation, etiology, causes, varicocele, oxidative stress, diagnostics, treatment. 111 studies were selected, which are included in this review.

Results. Alcohol, tobacco smoking, narcotic substances, psychoemotional stress, adverse environmental factors and occupational intoxications, reproductive system infections and inflammation, varicocele and older paternal age can lead to SDF increasing and unfavorable reproductive outcomes, for natural pregnancy and while use an assisted reproductive technologies. The data on the role of metabolic syndrome in the genesis of SDF are equivocal. The oxidative stress is the main mechanism of sperm DNA damage. The SDF level can be estimated using direct (Comet, TUNEL) and indirect (SDS, SCSA) methods. Treatment of SDF is aimed at eliminating the detrimental factors, combating oxidative stress and recombinant follicle-stimulating hormone use.

Conclusion. The level of SDF is an important indicator for assessing male reproductive potential and predicting the success of various methods of overcoming infertility. Recently, there has been an expansion of indications for the use of methods for assessing the integrity of sperm genetic material in the clinical practice of specialists in the field of reproductive medicine.

Keywords: sperm DNA fragmentation, male infertility, treatment, in vitro fertilization, intracytoplasmic sperm injection

For citation: Olefir Yu.V., Efremov E.A., Rodionov M.A. et al. What should urologist know about sperm DNA fragmentation. Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery 2023;24(1):24–35. (In Russ.). DOI: 10.17650/2070-9781-2023-24-1-24-35

Введение

В последние годы до 25 % пар во всем мире сталкиваются с трудностями при зачатии ребенка, в связи с чем проблема бесплодия приобретает не только медицинское, но и социальное значение [1]. Количество бесплодных мужчин составляет до 12 % [2, 3], и данный показатель имеет стойкую тенденцию к росту. Так, в Российской Федерации в период с 2000 по 2018 г. число мужчин с бесплодием выросло в 2,1 раза [4].

Спермограмма остается одним из основных методов лабораторной диагностики мужского бесплодия [5], но нормальные ее показатели не гарантируют наличия у пациента фертильности, и в 10–30 % случаев данное исследование не позволяет выяснить причину бесплодия [6].

В последние годы все большее внимание репродуктологов привлекает исследование уровня фрагментации ДНК сперматозоидов (ФДС) как возможного показателя репродуктивного потенциала мужчины и способа оценки вероятности различных репродуктивных исходов в паре [7, 8].

Исследование уровня ФДС — более точный метод диагностики мужского бесплодия, который значительно расширяет возможности спермограммы, позволяя выявлять патологию, лежащую в основе данного

состояния, не только на клеточном, но и на ультраструктурном уровне [8–10].

У 18 % пациентов с повышенным уровнем ФДС отмечаются значимо худшие параметры спермы [11], но особую ценность данное исследование приобретает у мужчин с идиопатическим бесплодием и лиц старшей возрастной группы [12–13], особенно при наличии у них нормальных показателей спермограммы и кариотипа [14]. При этом повышенный уровень ФДС выявляют у 80 % мужчин с бесплодием [15].

Все это делает исследование уровня ФДС важным методом обследования в парах с привычным невынашиванием беременности, необъяснимым бесплодием и неудачами при использовании вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) [16].

Цель обзора — представить систематизированную информацию о роли ФДС в генезе мужского бесплодия и значении оценки уровня ФДС в процессе обследования для консультирования пациентов в повседневной практике.

Материалы и методы

Проведены поиск, анализ и систематизация публикаций из баз данных eLIBRARY и PubMed с использованием ключевых слов: мужское бесплодие

(male infertility), фрагментация ДНК сперматозоидов (sperm DNA fragmentation), этиология (causes), варикоцеле (varicocele), оксидативный стресс (oxidative stress), диагностика (diagnostics), лечение (treatment). В работу включены исследования, опубликованные до ноября 2021 г. После исключения дублирующих работ, тезисов конференций, диссертаций и их рефератов отобрано 111 исследований, на основании анализа которых подготовлен данный обзор литературы, в котором рассмотрены этиология ФДС, влияние данного патологического состояния на фертильность и потомство, а также методы ее диагностики и лечения.

Результаты

Причины повреждения генетического материала сперматозоидов

Причины возникновения ФДС разнообразны. Это старение, образ жизни пациента, производственные вредности и факторы окружающей среды, лекарственные препараты, ионизирующее и неионизирующее излучение, тепловое воздействие, а также варикоцеле и инфекционно-воспалительные заболевания добавочных половых желез. Большинство из этих факторов относятся к потенциально устранимым, в связи с чем обоснованно их раннее выявление и максимально возможная коррекция [17].

Вредные привычки. Доказано, что табакокурение достоверно ухудшает параметры спермы [18–20] и обладает выраженным повреждающим эффектом на генетический материал сперматозоидов [21–23], в основе которого лежит оксидативный стресс и снижение уровня антиоксидантов в сперме [24, 25]. Данные изменения в геноме сперматозоидов не только снижают репродуктивный потенциал мужчины, но и могут оказывать неблагоприятное воздействие на его потомство [26, 27].

Логично предположить, что отказ от курения может способствовать снижению уровня ФДС, однако на сегодняшний день отсутствуют клинические исследования, которые бы подтверждали данную гипотезу.

Также имеются данные от том, что алкоголь и употребление каннабиноидов могут оказывать негативное влияние на генетический аппарат мужских половых клеток, повышая уровень ФДС [25, 28].

Психосоциальный стресс и факторы образа жизни. М. Radwan и соавт. в исследовании, включившем 286 пациентов, было доказано, что средний и высокий уровень психосоциального стресса (профессиональное выгорание) были достоверно связаны с повышенным индексом ФДС. Авторами были выявлены и другие факторы, способствующие повышению уровня ФДС, такие как возраст старше 40 лет, ожирение (но не избыточный вес), а также использование мобильного телефона более 10 лет. Повышение уровня ФДС у этой категории пациентов может быть обусловлено снижением уровня антиоксидантов в сперме [29].

Употребление более 3 чашек кофе в день ассоциировалось с повышенным уровнем ФДС [30].

Неблагоприятные факторы внешней среды и профессиональные интоксикации. Неблагоприятное воздействие загрязнения окружающей среды на качество спермы подтверждено в различных эпидемиологических исследованиях [31].

В систематическом обзоре R. Lafuente и соавт. отмечена связь параметров спермы и уровня ФДС с загрязнением воздуха [32].

М. Radwan и соавт. при обследовании 327 мужчин в г. Лодзь (Польша) выявили неблагоприятное воздействие на генетический аппарат сперматозоидов тонкодисперсных частиц PM2.5 и PM10 [33].

J. Rubes и соавт. выявлено повышение уровня ФДС при воздействии продуктов сгорания угля, используемого в промышленности и быту, у мужчин в г. Теплице (Чехия) [34].

Н.А. Jeng и соавт. обнаружили нарушение генетического аппарата сперматозоидов у рабочих коксовых печей и административного персонала данных предприятий [35].

В нескольких исследованиях была показана роль профессионального воздействия пестицидов в повышении уровня ФДС, если работники, применяющие эти вещества не использовали средства индивидуальной защиты органов дыхания [36–40].

Воздействие свинца, ионизирующего излучения, бисфенола А и фталатов также может вызывать повреждение генетического материала сперматозоидов [41–44].

Онкологические заболевания, химио- и лучевая терапия. Данные о влиянии онкологической патологии, а также химио- и лучевой терапии на уровень ФДС неоднозначны.

В мультицентровом проспективном исследовании L. Viñan и соавт. отмечено повреждение генетического аппарата сперматозоидов у пациентов с неходжкинской лимфомой, а также его дальнейшее усугубление после проведенной химиолучевой терапии [45].

С. O'Flaherty с соавт. у 37 % пациентов с тестикулярным раком и 81 % больных неходжкинской лимфомой выявили повышенный уровень ФДС при нормальной спермограмме [46].

М. Smit и соавт. на основании исследования, включившего 127 пациентов с герминогенными новообразованиями яичек, ходжкинской и неходжкинской лимфомами, пришли к выводу, что само злокачественное новообразование не способствует повышению уровня ФДС (за исключением пациентов с неходжкинской лимфомой). На фоне проводимой химиотерапии отмечается снижение, а после лучевой терапии — повышение уровня ФДС [47].

О. Ståhl и соавт. при анализе результатов обследования 97 пациентов с новообразованиями яичек также

не отметили влияния новообразования на уровень ФДС. Данный показатель повышался после лучевой терапии и снижался после 3 и более курсов химиотерапии [48].

Метаболический синдром. Метаболический синдром и ожирение могут оказывать негативное влияние на состояние мужской репродуктивной функции. Предполагаемыми механизмами такого воздействия могут быть избыточная конверсия тестостерона в эстрадиол, гипогонадизм, а также вызванное увеличением жировой ткани повышение внутритестикулярной температуры [49].

В когортном исследовании, проведенном С. Faure и соавт., диета и физические упражнения способствовали снижению уровня ФДС у пациентов, страдавших ожирением и бесплодием неясного генеза [50].

Низкокалорийная диета с употреблением овощей, фруктов, рыбы и орехов была ассоциирована с более низкими показателями повреждения генетического материала сперматозоидов по сравнению с рационом, состоящим из большого количества красного мяса, насыщенных жиров и высококалорийных продуктов [51].

Тем не менее, по мнению ряда авторов, количество исследований по данной проблеме на сегодняшний день недостаточно для окончательных выводов о роли коррекции питания и массы тела для профилактики и лечения бесплодия, связанного с высоким уровнем ФДС [52, 53].

Варикоцеле. Варикоцеле является наиболее распространенной среди потенциально устранимых причин мужского бесплодия [5]. Клинически выраженное варикоцеле ассоциируется с окислительным стрессом в ткани яичек и высоким уровнем ФДС [54–57].

Оценка уровня ФДС может подтвердить негативное влияние варикоцеле на качество эякулята и фертильность и, таким образом, стать аргументом в пользу оперативного лечения варикоцеле. Эта информация может укрепить уверенность клинициста и пациента в необходимости хирургического лечения при выявлении варикоцеле I стадии и пограничных показателей качества эякулята [58].

По данным опубликованного в 2018 г. систематического обзора 21 исследования, включавшего 1270 пациентов с бесплодием, хирургическая коррекция варикоцеле приводила к снижению уровня ФДС [59].

После лечения варикоцеле оценка уровня ФДС может быть полезна для контроля его эффективности. Сохраняющиеся аномальные значения уровня ФДС после оперативного лечения являются плохим прогностическим маркером наступления беременности как естественным путем, так и посредством ВРТ [60].

Необходимость хирургического лечения субклинического варикоцеле у пациентов с высоким ФДС остается предметом дискуссии.

Так, U. Cantoro и соавт. в исследовании, включившем 337 пациентов, выявили значительное улучшение показателей качества эякулята и увеличение частоты беременности после хирургической коррекции субклинического варикоцеле [61]. В то же время H.J. Kim и соавт. опубликовали в 2016 г. метаанализ, включавший 7 рандомизированных исследований, в котором сообщили об отсутствии увеличения частоты беременности после лечения субклинического варикоцеле [62]. Тем не менее следует отметить, что в этих исследованиях не оценивалось влияние варикоцелеэктомии на показатели целостности генетического материала сперматозоидов.

Нами обнаружено лишь 2 исследования, в которых оценивалось влияние оперативного лечения варикоцеле на ФДС у пациентов с субклиническим варикоцеле. A. García-Peiró и соавт. в исследовании, которое включало 60 пациентов, сравнивали взаимосвязь лечения варикоцеле и уровня ФДС у пациентов с клиническим и субклиническим варикоцеле. Улучшение показателей целостности генетического материала сперматозоидов наблюдалось лишь в группе пациентов с клинически выраженным варикоцеле [63]. В другом исследовании, K. Ni и соавт., было выявлено, что стандартные показатели спермограммы у пациентов с субклиническим варикоцеле были хуже, чем у фертильных мужчин без варикоцеле, однако уровень ФДС статистически значимо не различался между группами [64].

Таким образом, необходимы дальнейшие исследования для определения влияния субклинического варикоцеле на уровень ФДС и целесообразности его оценки при обследовании таких пациентов.

Воспалительный процесс в органах репродуктивной системы. Инфекции и воспаление также считаются одним из факторов, повышающих уровень окислительного стресса в тканях, а поэтому они могут быть одной из причин развития ФДС [65, 66]. Лечение воспалительных процессов в органах репродуктивной системы способствует снижению уровня ФДС [66].

Старший отцовский возраст. Роль возраста отца в развитии ФДС остается предметом дискуссий [67].

Так, G.M. Buck Louis и соавт. установлено, что возраст мужчины ассоциировался с более длительным сроком до наступления беременности [68]. A.T. Carlini и соавт. выявили связь возраста с большей частотой выкидышей [69].

Для объяснения этих явлений была предложена гипотеза о повышенном уровне ФДС у мужчин старшей возрастной группы. Однако подтвердить наличие связи повышенного уровня ФДС со старшим отцовским возрастом в настоящее время не удалось — такая связь отсутствовала или была слабой [30, 70, 71].

Механизмы развития фрагментации ДНК сперматозоидов

Все вышеперечисленные факторы могут приводить к повреждению генетического материала сперматозоидов посредством повышения уровня оксидативного стресса и индукции «абортного» апоптоза сперматозоидов [72].

Оксидативный стресс является следствием продукции активных форм кислорода (АФК). Он рассматривается как ведущий фактор повреждения генетического материала сперматозоидов [73]. АФК разрушают фосфолипидные мембраны сперматозоидов. Сперматозоид обладает крайне ограниченным запасом антиоксидантов, а репаративные механизмы, которые бы позволили восстановить структуры ДНК, в нем отсутствуют [74]. АФК повреждают не только мембраны сперматозоидов, но также ядерную и митохондриальную ДНК. Кроме того, АФК активируют эндогенные каспазы и эндонуклеазы, которые являются внутренними факторами, повреждающими ДНК [75, 76].

Несмотря на то что роль производственных вредностей, неблагоприятных факторов окружающей среды и образа жизни, инфекций, гипертермии, а также лучевой и химиотерапии в развитии ФДС доказана, степень восприимчивости людей к ним неодинакова и зависит от генетической предрасположенности и некоторых других факторов, в том числе степени конденсации хроматина [77–79]. В процессе сперматогенеза происходит замена 85 % гистонов на протамины, что увеличивает степень конденсации хроматина. Сильно конденсированный хроматин наиболее защищен в процессе продвижения сперматозоида через мужской и женский репродуктивный тракт. Любой процесс, нарушающий протаминирование, может приводить к нарушению конденсации хроматина и повышать его уязвимость для воздействия АФК [80].

Влияние фрагментации ДНК сперматозоидов на фертильность

Естественная беременность. К. Oleszczuk и соавт., обследовав по поводу бесплодия 212 супружеских пар, установили, что повышенный уровень ФДС связан с низкой частотой беременности, которая наступала в 17,7 % случаев при уровне ФДС более 20 % и в 8,4 % случаев при значениях этого показателя более 30 % [81].

Рецидивирующий спонтанный аборт. Рецидивирующий спонтанный аборт — состояние, характеризующееся двумя и более эпизодами самопроизвольного прерывания беременности до срока 24 нед [82].

В проведенном L. Robinson и соавт. метаанализе 16 когортных исследований (14 из которых проспективные), включивших 2969 пар, продемонстрирована большая частота спонтанных абортов в парах, где у мужчин имелся высокий уровень ФДС [83].

В метаанализе 13 проспективных исследований, включивших 579 мужчин, было показано, что уровень ФДС был значительно выше у мужчин, супруги которых имели в анамнезе рецидивирующие спонтанные аборты, по сравнению с фертильными мужчинами [84]. К таким же выводам пришли J. Tan и соавт., оценившие данные 14 работ, в которых исследовалась взаимосвязь уровня ФДС и частоты спонтанных абортов [85].

В связи с этим рекомендуется обязательное исследование уровня ФДС у половых партнеров женщин с привычным невынашиванием беременности [86].

На сегодняшний день механизмы влияния высокого уровня ФДС на развитие спонтанного аборта и привычного невынашивания беременности достоверно неизвестны. Предполагается, что повреждение генетического материала сперматозоидов, которое не было устранено яйцеклеткой, приводит к нарушению развития бластоцисты, ее имплантации и гибели эмбриона [85].

Большое значение имеет характер нарушения целостности генетического материала: преобладают ли одноцепочечные или двуцепочечные разрывы молекулы ДНК. Результаты последних исследований говорят о том, что двуцепочечные разрывы обладают значительно большим негативным влиянием и в большей степени ассоциированы с невынашиванием и другими неблагоприятными репродуктивными исходами при лечении бесплодия с использованием ВРТ, в то время как одноцепочечные разрывы в большей степени ассоциированы с увеличением времени до наступления беременности [87].

Таким образом, оценка уровня ФДС может дать представление о причине возникновения рецидивирующих спонтанных абортов.

Влияние на результаты внутриматочной инсеминации (ВМИ). Повышенный уровень ФДС — одна из основных причин неудач ВМИ [88]. Уровни ФДС, превышающие 20–30 %, были ассоциированы с резким снижением частоты беременности при использовании данного метода [89], а исследование этого показателя имеет самостоятельное прогностическое значение, и определение степени повреждения генетического материала сперматозоидов может быть полезно при планировании проведения ВМИ [90].

В случае выявления высокого уровня ФДС выполнение процедуры следует отложить до момента нормализации этого показателя. Следует отметить, что, по мнению некоторых авторов [91], исследование уровня ФДС не всегда позволяет на основании этого анализа выявить те пары, которые в наибольшей мере выиграют от ВМИ.

В случае неэффективности ВМИ может быть рассмотрена возможность выполнения интрацитоплазматической инъекции сперматозоидов (ИКСИ), в том

числе с использованием тестикулярных сперматозоидов, так как было показано, что ФДС оказывает менее выраженное влияние на репродуктивные исходы этого метода ВРТ.

Влияние на результаты экстракорпорального оплодотворения (ЭКО)/ИКСИ. Высокий уровень ФДС ухудшает репродуктивные исходы ЭКО. Степень негативного влияния данного показателя на результаты ИКСИ была меньше по сравнению с негативным эффектом на успех ЭКО. По этой причине ИКСИ считают более предпочтительным методом ВРТ в лечении мужского бесплодия, ассоциированного с высоким уровнем ФДС. Спонтанный аборт после ИКСИ у партнерш пациентов с высоким уровнем ФДС — распространенное явление [92].

Уровень ФДС прогрессирует по мере продвижения сперматозоида по семявыносящим путям, достигая максимума в эякуляте [93, 94]. В тестикулярной ткани данный показатель существенно меньше по сравнению со сперматозоидами в эякуляте, в связи с чем использование тестикулярных сперматозоидов повышает вероятность успеха ИКСИ у пациентов с высоким уровнем ФДС [95].

Поэтому в случае наличия в анамнезе неудачных попыток ИКСИ у пар с бесплодием, ассоциированным с высоким уровнем ФДС, может быть рекомендовано использование данной методики [96].

Влияние ФДС на потомство. Существует вероятность негативного влияния ФДС на здоровье потомства. Известно, что с возрастом уровень ФДС увеличивается, что может приводить к возникновению ряда заболеваний. Хондроплазия, аутизм, биполярное расстройство и шизофрения ассоциированы с поздним отцовством и возрастным нарушением целостности генетического материала сперматозоидов [97].

Также отмечена связь повреждения генетического материала сперматозоидов, вызванного оксидативным стрессом у курильщиков, с риском возникновения онкологических заболеваний у потомства [26, 27].

Обнадешивает то, что у детей, рожденных в результате использования ВРТ в парах с высоким уровнем ФДС, соматических отклонений не наблюдалось [98].

Методы оценки уровня фрагментации ДНК сперматозоидов

Методы оценки уровня фрагментации ДНК сперматозоидов разделяют на прямые и непрямые. Прямые методы непосредственно выявляют физические разрывы ДНК, в то время как непрямые позволяют оценить подверженность ее молекулы денатурации, которая в большей степени характерна для фрагментированной ДНК. Наиболее распространенными методами определения фрагментации ДНК сперматозоидов являются Comet, SCD, SCSA, TUNEL [87].

Метод Comet (Single-cell gel electrophoresis assay, Comet assay) относится к прямым методам определения

ФДС. При выполнении этого метода проводится электрофорез ДНК сперматозоидов в агарозном микрогеле. Движение молекулы ДНК в геле оставляет флуоресцентный след, напоминающий комету. Данный метод имеет щелочную и нейтральную модификации. Щелочная модификация более чувствительная и позволяет выявить как одно-, так и двухпочечные разрывы. Достоинствами этого метода являются высокая точность и возможность применения у пациентов с тяжелой олигозооспермией [99].

TUNEL (Transferase mediated dUTP Nick End Labeling) относится к прямым методам определения фрагментации ДНК сперматозоидов и является одним из наиболее распространенных. Методика заключается в маркировке концов разорванной молекулы ДНК флуоресцентным красителем, после чего степень люминесценции оценивается при помощи флуоресцентной микроскопии или проточной цитометрии. TUNEL характеризуется высокой чувствительностью и специфичностью, позволяет идентифицировать как одно-, так и двухпочечные разрывы. Недостатком является трудоемкость, необходимость высокой квалификации лаборантов и наличия специализированного оборудования [100].

Метод SCD (Sperm Chromatin Dispersion) — метод дисперсии хроматина в агарозном геле — относится к непрямым методам определения фрагментации ДНК. В основе метода SCD лежит неспособность фрагментированной цепи ДНК образовывать характерный ореол, который наблюдается при распределении неповрежденной молекулы ДНК. К достоинствам этого метода можно отнести простоту, быстроту обучения специалистов выполнению данного теста, а также отсутствие необходимости в использовании дорогостоящего оборудования. Однако SCD является оператор-зависимым методом, поэтому он подвержен высокой степени межлабораторной вариативности [101].

SCSA (Sperm Chromatin Structure Assay) — непрямой метод оценки ФДС, основанный на денатурации ДНК в области одно- и двухпочечных разрывов под действием кислотного раствора. Для окраски используется флуоресцентный краситель акридиновый оранжевый, который соединяется с концевыми участками разорванной молекулы ДНК и дает свечение. По его интенсивности судят о степени повреждения генетического материала. Это один из первых методов, разработанных для оценки ФДС. К достоинствам этого метода относится быстрота выполнения исследования, однако существенным недостатком является высокая цена используемого оборудования [102, 103].

Множество различных методик определения целостности генетического материала сперматозоидов усугубляет проблему определения референсных значений для каждой из них [104].

Большинством авторов предлагались референсные значения в диапазоне от 15 до 20 %. Метод Comet, как

правило, показывает более высокий уровень по сравнению с другими тестами [87].

Несмотря на то что результаты оценки ФДС различными методами показывают хорошую корреляцию, вопросы определения минимальных референсных значений для дифференциации бесплодных и фертильных мужчин, а также принятия решения относительно тактики лечения в различных клинических ситуациях остаются нерешенными.

Лечение пациентов с высоким уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов

В настоящий момент в арсенале клинициста довольно мало средств для лечения мужского бесплодия, ассоциированного с высоким уровнем ФДС, при этом большая часть подходов имеет низкий уровень доказательности.

Модификация факторов образа жизни и диета могут способствовать снижению уровня ФДС [50].

Уменьшение времени абстиненции также может способствовать снижению уровня ФДС, так как чем дольше находится сперматозоид в семявыносящих путях, тем больше время экспозиции на него факторов, которые могут вызывать повреждение генетического аппарата сперматозоида [105].

Было показано, что хирургическая коррекция клинически выраженного варикоцеле приводит к снижению уровня ФДС [59, 60]. Это нашло отражение в рекомендациях Европейской ассоциации урологов [5].

Если варикоцелэктомия у пациентов с клинически значимым варикоцеле является одной из наиболее перспективных методик, позволяющих снизить степень повреждения генетического материала сперматозоидов, то вопрос хирургического лечения субклинического варикоцеле на фоне высокого уровня ФДС остается предметом дискуссии [61–63].

Так как основным механизмом повреждения генетического материала сперматозоидов является оксидативный стресс, назначение антиоксидантной терапии может способствовать восстановлению целостности генетического материала сперматозоидов [106–108], в том числе после оперативного лечения варикоцеле [109, 110].

Применение рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона также давало положительный эффект при лечении пациентов с высоким уровнем ФДС [111]. Безусловно, применение гормональной терапии при лечении пациентов с высоким уровнем ФДС заслуживает большего внимания.

Нельзя не отметить недостаток крупных, хорошо организованных исследований, оценивающих эффективность различных подходов к лечению мужского бесплодия, ассоциированного с высоким уровнем ФДС.

Обсуждение

Цель обследования мужчины с бесплодием — получение информации, необходимой для выбора дальнейшей лечебной тактики. На сегодняшний день оценка уровня ФДС может быть использована для решения целого ряда задач при лечении таких пациентов.

Данное исследование может быть полезно для диагностики причины бесплодия у пациентов с нормальными показателями спермограммы, при отборе пациентов для варикоцелэктомии, а также для контроля эффективности его лечения (хирургического или консервативного).

Оценка уровня ФДС может помочь выбрать подходящий метод ВРТ и оценить вероятность успеха той или иной его методики, а также дать представление о возможной причине неудачи при его применении.

Прогностическая значимость лишь одного этого показателя в оценке вероятности наступления беременности при использовании ВРТ может быть недостаточной, так как существует множество других факторов, также оказывающих влияние на репродуктивные исходы ВРТ. Тем не менее существующие данные подтверждают, что вероятность наступления беременности зависит от уровня ФДС, а ее высокий уровень является фактором риска спонтанного аборта и других неблагоприятных исходов применения ВРТ.

Недостаточное понимание проблемы и отсутствие методов, способных снизить уровень ФДС, длительное время препятствовали широкому применению тестов оценки целостности генетического материала сперматозоидов. В настоящее время тесты для оценки уровня ФДС активно применяются в клиниках репродуктивного профиля, однако для их внедрения в рутинную практику (наряду со спермограммой) все еще недостаточно данных. Актуальным остается определение наиболее информативного теста для оценки ФДС в различных клинических ситуациях, а также установление случаев, в которых целесообразна комбинация тестов.

Необходимо дальнейшее изучение механизмов повреждения генетического аппарата сперматозоидов при оксидативном стрессе, а также его влияния на фертильность мужчины.

Безусловно, требуются дополнительные эпидемиологические исследования для уточнения распространенности высокого уровня ФДС в популяции мужчин с бесплодием неясного генеза, а также в парах с рецидивирующими спонтанными абортами и безуспешными попытками использования ВРТ.

Также необходимо продолжить исследования связи нарушения имплантации и невынашивания беременности с повреждением генетического материала сперматозоидов, а также роли ооцита в устранении ФДС.

Остаются не до конца выясненными роль варикоцеле (прежде всего субклинического) в развитии ФДС,

а также влияние его оперативного лечения на восстановление целостности генетического материала сперматозоидов. Нет данных о времени, которое необходимо для завершения репаративных процессов в ДНК сперматозоидов в послеоперационном периоде.

Сохраняется потребность в дальнейшей оценке влияния модификации факторов образа жизни на восстановление целостности генетического материала сперматозоидов, а также роли антиоксидантной терапии в снижении уровня ФДС.

Эффективность использования тестикулярных сперматозоидов при ИКСИ остается на сегодняшний день предметом обсервационных исследований, в то время как для достоверной оценки эффективности этой методики необходимы рандомизированные контролируемые исследования. Для повышения эффективности применения тестов ФДС в клинических условиях требуются дополнительные данные для уточнения минимальных референсных значений для разных методик.

Заключение

Нарушение генетического аппарата сперматозоидов считается одним из патофизиологических механизмов развития мужского бесплодия, а определение уровня ФДС — перспективным тестом для оценки мужской фертильности, особенно у бесплодных мужчин с нормальной спермограммой. На сегодняшний день остается ряд вопросов относительно показаний к выполнению этого исследования, его значения в различных клинических ситуациях, влияния высокого уровня ФДС на репродуктивные исходы лечения бесплодия с применением ВРТ, а также эффективности хирургических и терапевтических методов в восстановлении целостности генетического материала сперматозоидов. Таким образом, в настоящий момент необходимы дальнейшие крупные рандомизированные исследования для устранения недостатка данных и полноценной интеграции теста определения ФДС в повседневную клиническую практику.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Ефремов Е.А., Касатонова Е.В. Актуальные и перспективные методы лечения идиопатического мужского бесплодия. Андрология и генитальная хирургия 2022;23(3):48–53. DOI: 10.17650/2070-9781-2022-23-3-48-53
Efremov E.A., Kasatonova E.V. Current and promising methods of idiopathic male infertility treatment. Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery 2022;23(3):48–53. (In Russ.). DOI: 10.17650/2070-9781-2022-23-3-48-53
- Ефремов Е.А., Касатонова Е.В., Красняк С.С. и др. Роль антиоксидантов в улучшении параметров эякулята и клинических исходов у бесплодных пар. Экспериментальная и клиническая урология 2017;2:61–5.
Efremov E.A., Kasatonova E.V., Krasnyak S.S. et al. The role of antioxidants in improving the parameters of ejaculate and clinical outcomes in infertile couples. Eksperimentalnaya i klinicheskaya urologiya = Experimental and Clinical Urology 2017;2:61–5. (In Russ.).
- Louis J.F., Thoma M.E., Sørensen D.N. et al. The prevalence of couple infertility in the United States from a male perspective: evidence from a nationally representative sample. Andrology 2013;1(5):741–8. DOI: 10.1111/j.2047-2927.2013.00110.x
- 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;4:4–12. DOI: 10.29188/2222-8543-2019-11-4-4-12
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 and Clinical Urology 2019;(4):4–12. (In Russ.). DOI: 10.29188/2222-8543-2019-11-4-4-12
- Jungwirth A., Diemer T., Kopa Z. et al. Male infertility. EAU Guideline. 2020. Available at: <https://uroweb.org/guideline/male-infertility/#8>.
- Hamada A., Esteves S.C., Nizza M., Agarwal A. Unexplained male infertility: diagnosis and management. Int Braz J Urol 2012;38(5):576–94. DOI: 10.1590/s1677-55382012000500002
- Esteves S.C., Agarwal A. Novel concepts in male infertility. Int Braz J Urol 2011;37(1):5–15. DOI: 10.1590/s1677-55382011000100002
- Esteves S.C., Agarwal A., Cho C.L., Majzoub A. A Strengths-Weaknesses-Opportunities-Threats (SWOT) analysis on the clinical utility of sperm DNA fragmentation testing in specific male infertility scenarios. Trans Androl Urol 2017;6(Suppl 4):S734–S60. DOI: 10.21037/tau.2017.08.20
- Santi D., Spaggiari G., Simoni M. Sperm DNA fragmentation index as a promising predictive tool for male infertility diagnosis and treatment management — meta-analyses. Reprod Biomed Online 2018;37(3):315–26. DOI: 10.1016/j.rbmo.2018.06.023
- Коршунов М.Н., Коршунова Е.С., Кызласов П.С. и др. Структурные нарушения хроматина сперматозоидов. Патофизиологические аспекты. Клиническая значимость. Вестник урологии 2021;9(1):95–104. DOI: 10.21886/2308-6424-2021-9-1-95-104
Korshunov M.N., Korshunova E.S., Kyzlasov P.S. et al. Structural disorders of the sperm chromatin. Pathophysiological aspects. Clinical relevance. Vestnik urologii = Urology Herald 2021;9(1):95–104. (In Russ.). DOI: 10.21886/2308-6424-2021-9-1-95-104
- Gill K., Jakubik J., Rosiak-Gill A. et al. Utility and predictive value of human standard semen parameters and sperm DNA dispersion for fertility potential. Int J Environ Res Public Health 2019;16(11):2004. DOI: 10.3390/ijerph16112004
- Dada R. Sperm DNA damage diagnostics: when and why. Transl Androl Urol 2017;6(Suppl 4):S691–S4. DOI: 10.21037/tau.2017.05.26
- Esteves S.C., Zini A., Coward R.M. et al. Sperm DNA fragmentation testing: summary evidence and clinical practice recommendations. Andrologia 2021;53(2):e13874. DOI: 10.1111/and.13874
- Руднева С.А., Брагина Е.Е., Арифалин Е.А. и др. Фрагментация ДНК в сперматозоидах и ее взаимосвязь с нарушением сперматогенеза. Андрология и генитальная хирургия 2014;15(4):26–33. DOI: 10.17650/2070-9781-2014-4-26-33
Rudneva S.A., Bragina E.E., Arifulin E.A. et al. DNA fragmentation in spermatozoa and its relationship with impaired spermatogenesis. Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery 2014;15(4):26–33. (In Russ.). DOI: 10.17650/2070-9781-2014-4-26-33

15. Авадиева Н.Э. Применение ДНК фрагментации спермы в андрологической практике. Вестник урологии 2019;7(1):7–11. DOI: 10.21886/2308-6424-2019-7-1-7-11
Avadieva N.E. The use of DNA semen fragmentation in andrological practice. Vestnik urologii = Urology Herald 2019;7(1):7–11. (In Russ.). DOI:10.21886/2308-6424-2019-7-1-7-11
16. Cho C.L., Agarwal A., Majzoub A., Esteves S.C. Clinical utility of sperm DNA fragmentation testing: concise practice recommendations. Transl Androl Urol 2017;6(Suppl 4):S366–S73. DOI: 10.21037/tau.2017.07.28
17. Esteves S.C., Santi D., Simoni M. An update on clinical and surgical interventions to reduce sperm DNA fragmentation in infertile men. Andrology 2020;8(1):53–81. DOI: 10.1111/andr.12724
18. Boeri L., Capogrosso P., Ventimiglia E. et al. Heavy cigarette smoking and alcohol consumption are associated with impaired sperm parameters in primary infertile men. Asian J Androl 2019;21(5):478–85. DOI: 10.4103/aja.aja_110_18
19. Sharma R., Harlev A., Agarwal A., Esteves S.C. Cigarette smoking and semen quality: a new meta-analysis examining the effect of the 2010 World Health Organization laboratory methods for the examination of human semen. Eur Urol 2016;70(4):635–45. DOI: 10.1016/j.eururo.2016.04.010
20. Mostafa R.M., Nasrallah Y.S., Hassan M.M. et al. The effect of cigarette smoking on human seminal parameters, sperm chromatin structure and condensation. Andrologia 2018;50(3):e12910. DOI: 10.1111/and.12910
21. Fraga C.G., Motchnik P.A., Wyrobek A.J. et al. Smoking and low antioxidant levels increase oxidative damage to sperm DNA. Mutat Res 1996;351(2):199–203. DOI: 10.1016/0027-5107(95)00251-0
22. Gunes S., Metin Mahmutoglu A., Arslan M.A., Henkel R. Smoking-induced genetic and epigenetic alterations in infertile men. Andrologia 2018;50(9):e13124. DOI: 10.1111/and.13124
23. Ranganathan P., Rao K.A., Thalaivarasai Balasundaram S. Deterioration of semen quality and sperm-DNA integrity as influenced by cigarette smoking in fertile and infertile human male smokers – a prospective study. J Cell Biochem 2019;120(7):11784–93. DOI: 10.1002/jcb.28458
24. Vande Loock K., Ciardelli R., Decordier I. et al. Preterm newborns show slower repair of oxidative damage and paternal smoking associated DNA damage. Mutagenesis 2012;27(5):573–80. DOI: 10.1093/mutage/ges022
25. Aboulmaouhib S., Madkour A., Kaarouch I. et al. Impact of alcohol and cigarette smoking consumption in male fertility potential: looks at lipid peroxidation, enzymatic antioxidant activities and sperm DNA damage. Andrologia 2018;50(3):e12926. DOI: 10.1111/and.12926
26. Lee K.M., Ward M.H., Han S. et al. Paternal smoking, genetic polymorphisms in CYP1A1 and childhood leukemia risk. Leuk Res 2009;33(2):250–58. DOI: 10.1016/j.leukres.2008.06.031
27. Kumar S.B., Chawla B., Bisht S. et al. Tobacco use increases oxidative DNA damage in sperm – possible etiology of childhood cancer. Asian Pac J Cancer Prev 2015;16(16):6967–72. DOI: 10.7314/apjcp.2015.16.16.6967
28. Verhaeghe F., Di Pizio P., Bichara C. et al. Cannabis consumption might exert deleterious effects on sperm nuclear quality in infertile men. Reprod Biomed Online 2020;40(2):270–80. DOI: 10.1016/j.rbmo.2019.11.002
29. Radwan M., Jurewicz J., Merez-Kot D. et al. Sperm DNA damage-the effect of stress and everyday life factors. Int J Impot Res 2016;28(4):148–54. DOI: 10.1038/ijir.2016.15
30. Schmid T.E., Eskenazi B., Baumgartner A. et al. The effects of male age on sperm DNA damage in healthy non-smokers. Hum Reprod 2007;22(1):180–7. DOI: 10.1093/humrep/del338
31. Jurewicz J., Hanke W., Radwan M., Bonde J.P. Environmental factors and semen quality. Int J Occup Med Environ Health 2009;22(4):305–29. DOI: 10.2478/v10001-009-0036-1
32. Lafuente R., García-Blázquez N., Jacquemin B., Checa M.A. Outdoor air pollution and sperm quality. Fertil Steril 2016;106(4):880–96. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2016.08.022
33. Radwan M., Jurewicz J., Polańska K. et al. Exposure to ambient air pollution – does it affect semen quality and the level of reproductive hormones? Ann Hum Biol 2016;43(1):50–6. DOI: 10.3109/03014460.2015.1013986
34. Rubes J., Selevan S.G., Evenson D.P. et al. Episodic air pollution is associated with increased DNA fragmentation in human sperm without other changes in semen quality. Hum Reprod 2005;20(10):2776–83. DOI: 10.1093/humrep/dei122
35. Jeng H.A., Pan C.H., Chao M.R. et al. Sperm quality and DNA integrity of coke oven workers exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons. Int J Occup Med Environ Health 2016;29(6):915–26. DOI: 10.13075/ijomh.1896.00598
36. Rubes J., Selevan S.G., Sram R.J. et al. *GSTM1* genotype influences the susceptibility of men to sperm DNA damage associated with exposure to air pollution. Mutat Res 2007;625(1–2):20–8. DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2007.05.012
37. Evenson D.P., Wixon R.L. Environmental toxicants cause sperm DNA fragmentation as detected by the Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA®). Toxicol Appl Pharmacol 2005;207(2 Suppl):532–7. DOI: 10.1016/j.taap.2005.03.021
38. Jamal F., Haque Q.S., Singh S., Rastogi S.K. The influence of organophosphate and carbamate on sperm chromatin and reproductive hormones among pesticide sprayers. Toxicol Ind Health 2016;32(8):1527–36. DOI: 10.1177/0748233714568175
39. Miranda-Contreras L., Cruz I., Osuna J.A. et al. [Effects of occupational exposure to pesticides on semen quality of workers in an agricultural community of Merida state, Venezuela (In Spanish)]. Invest Clin 2015;56(2):123–36.
40. Sánchez-Peña L.C., Reyes B.E., López-Carrillo L. et al. Organophosphorous pesticide exposure alters sperm chromatin structure in Mexican agricultural workers. Toxicol Appl Pharmacol 2004;196(1):108–13. DOI: 10.1016/j.taap.2003.11.023
41. Gandhi J., Hernandez R.J., Chen A. et al. Impaired hypothalamic-pituitary-testicular axis activity, spermatogenesis, and sperm function promote infertility in males with lead poisoning. Zygote 2017;25(2):103–10. DOI: 10.1017/S0967199417000028
42. Zhou D.D., Hao J.L., Guo K.M. et al. Sperm quality and DNA damage in men from Jilin Province, China, who are occupationally exposed to ionizing radiation. Genet Mol Res 2016;15(1):gmr.15018078. DOI: 10.4238/gmr.15018078
43. Zhu W.J., Qiao J. [Male reproductive toxicity of bisphenol A (In Chinese)]. Zhonghua Nan Ke Xue 2015;21(11):1026–30.
44. Jurewicz J., Hanke W. Exposure to phthalates: reproductive outcome and children health. A review of epidemiological studies. Int J Occup Med Environ Health 2011;24(2):115–41. DOI: 10.2478/s13382-011-0022-2
45. Bujan L., Walschaerts M., Brugnion F. et al. Impact of lymphoma treatments on spermatogenesis and sperm deoxyribonucleic acid: a multicenter prospective study from the CECOS network. Fertil Steril 2014;102(3):667–74.e.3. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2014.06.008
46. O'Flaherty C., Vaisheva F., Hales B.F. et al. Characterization of sperm chromatin quality in testicular cancer and Hodgkin's lymphoma patients prior to chemotherapy. Hum Reprod 2008;23(5):1044–52. DOI: 10.1093/humrep/den081
47. Smit M., van Casteren N.J., Wildhagen M.F. et al. Sperm DNA integrity in cancer patients before and after cytotoxic treatment. Hum Reprod 2010;18(8):77–83. DOI: 10.1093/humrep/deq104
48. Ståhl O., Eberhard J., Jepson K. et al. Sperm DNA integrity in testicular cancer patients. Hum Reprod 2006;21(12):3199–205. DOI: 10.1093/humrep/del292
49. Корнеев И.А., Мацуева И.А. Мужское бесплодие, метаболический синдром и ожирение. Урологические ведомости 2021;11(2):153–62. DOI: 10.17816/uroved61509
Korneyev I.A., Matsueva I.A. Male infertility, metabolic syndrome and obesity. Urologicheskiye vedomosti = Urology Reports (St. Petersburg) 2021;11(2):153–62. (In Russ.). DOI: 10.17816/uroved61509

50. Faure C., Dupont C., Baraibar M.A. et al. In subfertile couple, abdominal fat loss in men is associated with improvement of sperm quality and pregnancy: a case-series. *PLoS One* 2014;9(2):e86300. DOI: 10.1371/journal.pone.0086300
51. Jurewicz J., Radwan M., Sobala W. et al. Dietary patterns and their relationship with semen quality. *Am J Mens Health* 2018;12(3):575–83. DOI: 10.1177/1557988315627139
52. Morrison C.D., Brannigan R.E. Metabolic syndrome and infertility in men. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2015;29(4):507–15. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2014.10.006
53. Sharma R., Agarwal A., Harlev A., Esteves S.C. A meta-analysis to study the effects of body mass index on sperm DNA fragmentation index in reproductive age men. *Fertil Steril* 2017;108(3):e138–e9. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2017.07.417
54. Cho C.L., Esteves S.C., Agarwal A. Novel insights into the pathophysiology of varicocele and its association with reactive oxygen species and sperm DNA fragmentation. *Asian J Androl* 2016;18(2):186–93. DOI: 10.4103/1008-682X.170441
55. Agarwal A., Hamada A., Esteves S.C. Insight into oxidative stress in varicocele-associated male infertility: part 1. *Nat Rev Urol* 2012;9(12):678–90. DOI: 10.1038/nrurol.2012.197
56. Hamada A., Esteves S.C., Agarwal A. Insight into oxidative stress in varicocele associated male infertility: part 2. *Nat Rev Urol* 2013;10(1):26–37. DOI: 10.1038/nrurol.2012.198
57. Zini A., Dohle G. Are varicoceles associated with increased deoxyribonucleic acid fragmentation? *Fertil Steril* 2011;96(6):1283–7. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2011.10.016
58. Esteves S.C., Gosálvez J., López-Fernández C. et al. Diagnostic accuracy of sperm DNA degradation index (DDSi) as a potential noninvasive biomarker to identify men with varicocele-associated infertility. *Int Urol Nephrol* 2015;47(9):1471–7. DOI: 10.1007/s11255-015-1053-6
59. Lira Neto F.T., Roque M., Esteves S.C. Effect of varicocelectomy on sperm DNA degradation index fragmentation rates in infertile men with clinical varicocele: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 2021;116(3): 696–712. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2021.04.003
60. Roque M., Esteves S.C. Effect of varicocele repair on sperm DNA fragmentation: a review. *Int Urol Nephrol* 2018;50(4):583–603. DOI: 10.1007/s11255-018-1839-4
61. Cantoro U., Polito M., Muzzonigro G. Reassessing the role of subclinical varicocele in infertile men with impaired semen quality: a prospective study. *Urology* 2015;85(4):826–30. DOI: 10.1016/j.urology.2015.01.015
62. Kim H.J., Seo J.T., Kim K.J. et al. Clinical significance of subclinical varicocelectomy in male infertility: systematic review and meta-analysis. *Andrologia* 2016;48(6):654–61. DOI: 10.1111/and.12495
63. García-Peiró A., Ribas-Maynou J., Oliver-Bonet M. et al. Multiple determinations of sperm DNA fragmentation show that varicocelectomy is not indicated for infertile patients with subclinical varicocele. *BioMed Res Int* 2014;2014:181396. DOI: 10.1155/2014/181396
64. Ni K., Steger K., Yang H. et al. A comprehensive investigation of sperm DNA damage and oxidative stress injury in infertile patients with subclinical, normozoospermic, and astheno/oligozoospermic clinical varicocele. *Andrology* 2016;4(5):816–24. DOI: 10.1111/andr.12210
65. Agarwal A., Rana M., Qiu E. et al. Role of oxidative stress, infection and inflammation in male infertility. *Andrologia* 2018;50(11):e13126. DOI: 10.1111/and.13126
66. Боровец С.Ю., Рыбалов М.А., Горбачев А.Г., Аль-Шукри С.Х. Влияние препарата «Простатилен® АЦ» на фрагментацию ДНК сперматозоидов при лечении пациентов с хроническим абактериальным простатитом и сопутствующими нарушениями репродуктивной функции. *Андрология и генитальная хирургия* 2017;18(3):54–8. DOI: 10.17650/2070-9781-2017-18-3-54-58
- Боровец С.Ю., Рыбалов М.А., Горбачев А.Г., Аль-Шукри С.К. Effect of Prostatilen® AC on sperm DNA fragmentation during treatment of patients with chronic nonbacterial prostatitis and concomitant disorders of the reproductive function. *Andrologia i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2017;18(3):54–8. (In Russ.). DOI: 10.17650/2070-9781-2017-18-3-54-58
67. Рогозин Д.С. Мужская фертильность: обзор литературы января – марта 2021 года. *Вестник урологии* 2021;9(2):142–9. DOI: 10.21886/2308-6424-2021-9-2-142-149
- Rogozin D.S. Male fertility: a review of the publications from January – March 2021. *Vestnik urologii = Urology Herald* 2021;9(2):142–9. (In Russ.). DOI: 10.21886/2308-6424-2021-9-2-142-149
68. Buck Louis G.M., Sundaram R., Schisterman E.F. et al. Semen quality and time to pregnancy: the longitudinal investigation of fertility and the environment study. *Fertil Steril* 2014;101(2):453–62. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2013.10.022
69. Carlini T., Paoli D., Pelloni M. et al. Sperm DNA fragmentation in Italian couples with recurrent pregnancy loss. *Reprod Biomed Online* 2017;34(1):58–65. DOI: 10.1016/j.rbmo.2016.09.014
70. Рыжков А.И., Шорманов И.С., Соколова С.Ю. Фрагментация ДНК сперматозоидов. Есть ли связь с основными параметрами спермы и возрастом? *Экспериментальная и клиническая урология* 2020;4:58–64. DOI: 10.29188/2222-8543-2020-13-4-58-64
- Ryzhkov A.I., Shormanov I.S., Sokolova S.Yu. Fragmentation of sperm DNA. Is there a connection with basic sperm parameters and age? *Eksperimentalnaya i klinicheskaya urologiya = Experimental and Clinical Urology* 2020(4):58–64. (In Russ.). DOI: 10.29188/2222-8543-2020-13-4-58-64
71. Evenson D.P., Djira G., Kaspersen K., Christianson J. Relationships between the age of 25,445 men attending infertility clinics and sperm chromatin structure assay (SCSA®) defined sperm DNA and chromatin integrity. *Fertil Steril* 2020;114(2):311–20. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2020.03.028
72. Sakkas D., Alvarez J.G. Sperm DNA fragmentation: mechanisms of origin, impact on reproductive outcome, and analysis. *Fertil Steril* 2010;93(4):1027–36. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2009.10.046
73. Rima D., Shiv B.K., Bhavna C. et al. Oxidative stress induced damage to paternal genome and impact of meditation and yoga – can it reduce incidence of childhood cancer? *Asian Pac J Cancer Prev* 2016;17(9):4517–25.
74. De Iuliis G.N., Thomson L.K., Mitchell L.A. et al. DNA damage in human spermatozoa is highly correlated with the efficiency of chromatin remodeling and the formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, a marker of oxidative stress. *Biol Reprod* 2009;81(3): 517–24. DOI: 10.1095/biolreprod.109.076836
75. Muratori M., Tamburrino L., Marchiani S. et al. Investigation on the origin of sperm DNA fragmentation: role of apoptosis, immaturity and oxidative stress. *Mol Med* 2015;21(1):109–22. DOI: 10.2119/molmed.2014.00158
76. Agarwal A., Parekh N., Panner Selvam M.K. et al. Male Oxidative Stress Infertility (MOSI): proposed terminology and clinical practice guidelines for management of idiopathic male infertility. *World J Mens Health* 2019;37(3):296–312. DOI: 10.5534/wjmh.190055
77. Chengyong W., Man Y., Mei L. et al. GSTM1 null genotype contributes to increased risk of male infertility: a meta-analysis. *J Assist Reprod Genet* 2012;29(8):837–45. DOI: 10.1093/humrep/del338
78. Majzoub A., Agarwal A., Esteves S.C. Understanding sperm DNA fragmentation. *Trans Androl Urol* 2017;6(Suppl 4):S535–S8. DOI: 10.21037/tau.2017.04.27
79. Champroux A., Torres-Carreira J., Gharagozloo P. et al. Mammalian sperm nuclear organization: resiliencies and vulnerabilities. *Basic Clin Androl* 2016;26:17. DOI: 10.1186/s12610-016-0044-5
80. Gosálvez J., López-Fernández C., Fernández J.L. et al. Unpacking the mysteries of sperm DNA fragmentation: ten frequently asked questions. *J Rep Biotech Fertil* 2015;4. DOI: 10.1177/2058915815594454
81. Oleszczuk K., Augustinsson L., Bayat N. et al. Prevalence of high DNA fragmentation index in male partners of unexplained

- infertile couples. *Andrology* 2013;1(3):357–60. DOI: 10.1111/j.2047-2927.2012.00041.x
82. ESHRE Guideline Group on RPL, Bender Atik R., Christiansen O.B., Elson J. et al. ESHRE guideline: recurrent pregnancy loss. *Hum Reprod Open* 2018;2018(2):hoy004. DOI: 10.1093/hropen/hoy004
 83. Robinson L., Gallos I.D., Conner S.J. et al. The effect of sperm DNA fragmentation on miscarriage rates: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Open* 2012;27(10):2908–17. DOI: 10.1093/humrep/des261
 84. McQueen D.B., Zhang J., Robins J.C. Sperm DNA fragmentation and recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 2019;112(1):54–60.e3. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2019.03.003
 85. Tan J., Taskin O., Albert A., Bedaiwy M.A. Association between sperm DNA fragmentation and idiopathic recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online* 2019;38(6):951–60. DOI: 10.1016/j.rbmo.2018.12.029
 86. Zidi-Jrah I., Hajlaoui A., Mougou-Zerelli S. et al. Relationship between sperm aneuploidy, sperm DNA integrity, chromatin packaging, traditional semen parameters, and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 2016;105(1):58–64. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2015.09.041
 87. Ribas-Maynou J., Benet J. Single and double strand sperm DNA damage: different reproductive effects on male fertility. *Genes (Basel)* 2019;10(2):105. DOI: 10.3390/genes10020105
 88. Vandekerckhove F.W., De Croo I., Gerris J. et al. Sperm chromatin dispersion test before sperm preparation is predictive of clinical pregnancy in cases of unexplained infertility treated with intrauterine insemination and induction with clomiphene citrate. *Front Med* 2016;3:63. DOI: 10.3389/fmed.2016.00063
 89. Chen Q., Zhao J.Y., Xue X., Zhu G.X. The association between sperm DNA fragmentation and reproductive outcomes following intrauterine insemination, a meta-analysis. *Reprod Toxicol* 2019;86:50–5. DOI: 10.1016/j.reprotox.2019.03.004
 90. Боровец С.Ю., Аль-Шукри С.Х., Белоусов В.Я. Прогностическая значимость фрагментации ДНК сперматозоидов в отношении исходов вспомогательных репродуктивных технологий. *Урологические ведомости* 2015;5(1):39. DOI: 10.17816/uroved5139-39
Borovets S.Y., Al-Shukri S.K., Belousov V.Y. Prognostic significance of sperm DNA fragmentation in relation to outcomes of assisted reproductive technologies. *Urologicheskiye vedomosti = Urology reports (St. Petersburg)* 2015;5(1):39. (In Russ.). DOI: 10.17816/uroved5139-39
 91. Sugihara A., Van Avermaete F., Roelant E. et al. The role of sperm DNA fragmentation testing in predicting intra-uterine insemination outcome: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2020;244:8–15. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2019.10.005
 92. Zhao J., Zhang Q., Wang Y., Li Y. Whether sperm deoxyribonucleic acid fragmentation has an effect on pregnancy and miscarriage after *in vitro* fertilization/intracytoplasmic sperm injection: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 2014;102:998–1005. e1008 DOI: 10.1016/j.fertnstert.2014.06.033
 93. Xie P., Keating D., Parrella A. et al. Sperm genomic integrity by TUNEL varies throughout the male genital tract. *J Urol* 2020;203(4):802–8. DOI: 10.1097/JU.0000000000000659
 94. Gawecka J.E., Boaz S., Kasperon K. et al. Luminal fluid of epididymis and vas deferens contributes to sperm chromatin fragmentation. *Hum Reprod* 2015;30(12):2725–36. DOI: 10.1093/humrep/dev245
 95. Ambar R.F., Agarwal A., Majzoub A. et al. The use of testicular sperm for intracytoplasmic sperm injection in patients with high sperm DNA damage: a systematic review. *World J Mens Health* 2020;39(3):391–8. DOI: 10.5534/wjmh.200084
 96. Коршунов М.Н., Коршунова Е.С., Даренков С.П. Способ лечения мужского бесплодия при высоком показателе ДНК-фрагментации эякуляторных сперматозоидов. Патент RU 2685797C1 от 23.04.2019.
Korshunov M.N., Korshunova E.S., Darenkov S.P. Method of treating male infertility with high DNA fragmentation of ejaculatory sperm cell. Patent RU 2685797C1, dated 23.04.2019.
 97. Aitken R.J. DNA damage in human spermatozoa; important contributor to mutagenesis in the offspring. *Trans Androl Urol* 2017;6(Suppl 4):S761–S4. DOI: 10.21037/tau.2017.09.13
 98. Bungum M., Bungum L., Lynch K.F. et al. Spermatozoa DNA damage measured by sperm chromatin structure assay (SCSA) and birth characteristics in children conceived by IVF and ICSI. *Int J Androl* 2012;35(4):485–90. DOI: 10.1111/j.1365-2605.2011.01222.x
 99. Koppen G., Azqueta A., Pourrut B. et al. The next three decades of the comet assay: a report of the 11th International Comet Assay Workshop. *Mutagenesis* 2017;32(3):397–408. DOI: 10.1093/mutage/gex002
 100. Sharma R.K., Sabanegh E., Mahfouz R. et al. TUNEL as a test for sperm DNA damage in the evaluation of male infertility. *Urology* 2010;76(6):1380–6. DOI: 10.1016/j.urology.2010.04.036
 101. Feijó C.M., Esteves S.C. Diagnostic accuracy of sperm chromatin dispersion test to evaluate sperm deoxyribonucleic acid damage in men with unexplained infertility. *Fertil Steril* 2014;101(1):58–63.e3. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2013.09.002
 102. Pratap H., Hottigoudar S.Y., Nichanahalli K.S., Chand P. Assessment of sperm deoxyribose nucleic acid fragmentation using sperm chromatin dispersion assay. *J Pharmacol Pharmacother* 2017;8(2):45–9. DOI: 10.4103/jpp.JPP_187_16
 103. Evenson D.P. Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA®) and other sperm DNA fragmentation tests for evaluation of sperm nuclear DNA integrity as related to fertility. *Anim Reprod Sci* 2016;169:56–75. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2016.01.017
 104. Majzoub A., Agarwal A., Cho C.L., Esteves S.C. Sperm DNA fragmentation testing: a cross sectional survey on current practices of fertility specialists. *Transl Androl Urol* 2017;6(Suppl 4):S710–S9. DOI: 10.21037/tau.2017.06.21
 105. Dahan M.H., Mills G., Khoudja R. et al. Three hour abstinence as a treatment for high sperm DNA fragmentation: a prospective cohort study. *J Assist Reprod Genet* 2021;38(1):227–33. DOI: 10.1007/s10815-020-01999-w
 106. Esteves S.C. Interventions to prevent sperm DNA damage effects on reproduction. *Adv Exp Med Biol* 2019;1166:119–48. DOI: 10.1007/978-3-030-21664-1_8
 107. Pini T., Makloski R., Maruniak K. et al. Mitigating the effects of oxidative sperm DNA damage. *Antioxidants (Basel)* 2020;9(7):589. DOI: 10.3390/antiox9070589
 108. Kopa Z., Keszthelyi M., Sofikitis N. Administration of antioxidants in the infertile male: when it may have a beneficial effect? *Curr Pharm Des* 2020;27(23):2665–8. DOI: 10.2174/1381612826666200303115552
 109. Гамидов С.И., Овчинников Р.И., Попова А.Ю. и др. Адьювантная антиоксидантная терапия у больных бесплодием при варикоцеле. *Урология* 2017;2(Suppl):64–72. DOI: 10.18565/urol.2017.2-supplement.64-72
Gamidov S.I., Ovchinnikov R.I., Popova A.Yu. et al. Adjuvant antioxidant therapy in varicocele infertility. *Urologiya = Urology* 2017;2(Suppl):64–72. (In Russ.). DOI: 10.18565/urol.2017.2-supplement.64-72
 110. 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
 111. Colacurci N., De Leo V., Ruvolo G. et al. Recombinant FSH improves sperm DNA damage in male infertility: a phase II clinical trial. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2018;9:383. DOI: 10.3389/fendo.2018.00383



Вклад авторов

Ю.В. Олефир: разработка дизайна исследования, поиск и анализ публикаций по теме исследования;

Е.А. Ефремов, А.В. Живулько: разработка дизайна исследования, поиск и анализ публикаций по теме исследования, написание текста статьи;

М.А. Родионов, Д.М. Попов: поиск и анализ публикаций по теме исследования;

Д.М. Монаков: анализ релевантных научных публикаций по теме, написание текста статьи.

Authors' contributions

Yu.V. Olefir: research design development, relevant literature search and analysis;

E.A. Efremov, A.R. Zhivulko: research design development, relevant literature search and analysis, article writing;

M.A. Rodionov, D.M. Popov: relevant literature search and analysis;

D.M. Monakov: analysis of relevant literature, article writing.

ORCID авторов / ORCID of authors

Ю.В. Олефир / Yu.V. Olefir: <https://orcid.org/0000-0001-7652-4642>

Е.А. Ефремов / E.A. Efremov: <https://orcid.org/0000-0001-8078-4535>

М.А. Родионов / M.A. Rodionov: <https://orcid.org/0000-0002-4145-0185>

А.Р. Живулько / A.R. Zhuvilko: <https://orcid.ru/0000-0002-1651-4343>

Д.М. Монаков / D.M. Monakov: <https://orcid.org/0000-0002-9676-1802>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Funding. Research was performed without external funding