DOI: 10.25557/0031-2991.2023.03.142-148

© Коллектив авторов, 2023
УДК 616-01/09:616-02

Громенко И.Д.[1], Галимова Э.Ф.[1], Громенко Р.И.[1], Галимов Ш.Н.[1], Громенко Д.Д.[1], Галимов К.Ш.[2], Литвицкий П.Ф.[2]

Фрагментация ДНК сперматозоидов: связь с мужским бесплодием и методы коррекции

[1]ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, 450008, Уфа, Россия, ул. Ленина, д. 3;
[2]ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), 119991, Москва, Россия, ул. Трубецкая, д. 8, с. 2

В 2021 г. оценка масштаба фрагментации ДНК сперматозоидов вошла в руководство Всемирной Организации Здравоохранения в качестве метода диагностики мужского бесплодия. Невозможность естественного зачатия, аномальное развитие эмбрионов, рост частоты выкидышей, уменьшение частоты живорождения, снижение эффективности экстракорпорального оплодотворения, интрацитоплазматической инъекции сперматозоидов и внутриматочной инсеминации – все это связывают с высоким уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов. К основным причинам, нарушающим целостность генетического материала гамет, относят ошибки при конденсации хроматина, незавершенный апоптоз и окислительный стресс. Среди методов преодоления бесплодия, связанного с высоким уровнем ДНК-фрагментации, выделяют: устранение модифицируемых факторов риска (курение, варикоцеле, ожирение), антиоксидантную терапию, короткий срок абстиненции, применение донорских ооцитов в программах ВРТ, а также методы селекции клеток в программах ИКСИ (ICSI – Intracytoplasmic sperm injection) и применение тестикулярных сперматозоидов, полученных при биопсии яичка.
Ключевые слова: мужское бесплодие; фрагментация ДНК сперматозоидов; невынашивание беременности

Для цитирования: Громенко И.Д., Галимова Э.Ф., Громенко Р.И., Галимов Ш.Н., Громенко Д.Д., Галимов К.Ш., Литвицкий П.Ф. Фрагментация ДНК сперматозоидов: связь с бесплодием и методы коррекции (обзор литературы). *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2023; 67(3): 142–148. DOI: 10.25557/0031-2991.2023.03.142-148

Участие авторов: концепция и дизайн работы – Галимова Э.Ф.; сбор данных – Громенко Д.Д., Громенко Р.И.; анализ и интерпретация данных – Галимов К.Ш.; написание статьи – Громенко И.Д., Галимова Э.Ф.; редактирование статьи – Галимов Ш.Н., Литвицкий П.Ф. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.
Для корреспонденции: ***Галимова Эльмира Фанисовна,*** e-mail: efgalimova@mail.ru
Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 23-25-00140.
Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 06.07.2023
Принята к печати 12.07.2023
Опубликована 20.09.2023

Gromenko I.D.[1], Galimova E.F.[1], Gromenko R.I.[1], Galimov Sh.N.[1], Gromenko D.D.[1], Galimov K.Sh.[2], Litvitskiy P.F.[2]

Sperm DNA fragmentation: association with infertility and methods of correction

[1]Bashkir State Medical University, Lenina St. 3, Ufa, 450008, Russian Federation;
[2]I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Trubetskaya St., Bldg. 2, Moscow, 119991, Russian Federation

In 2021, the assessment of sperm DNA fragmentation level was included in the World Health Organization guidelines as a diagnostic method for male infertility. The inability to conceive naturally, abnormal embryo development, increased miscarriage rates, decreased live birth rates, and decreased effectiveness of in vitro fertilization, intracytoplasmic sperm injection, and intrauterine insemination are all associated with high levels of sperm DNA fragmentation. The major causes that compromise the integrity of the genetic material of gametes include errors in chromatin condensation, incomplete apoptosis, and oxidative stress. Among the methods to overcome infertility associated with high levels of DNA fragmentation are: elimination of modifiable risk factors (smoking, varicocele, obesity), antioxidant therapy, short withdrawal period, use of donor oocytes in ART programs, as well as cell selection methods in ICSI programs and use of testicular spermatozoa obtained by testicular biopsy.
Keywords: male infertility; sperm DNA fragmentation; pregnancy failure

For citation: Gromenko I.D., Galimova E.F., Gromenko R.I., Galimov Sh.N., Gromenko D.D., Galimov K.Sh., Litvitskiy P.F. Sperm DNA fragmentation: association with infertility and methods of correction. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal*). 2023; 67(3): 142–148. (in Russian). DOI: 10.25557/0031-2991.2023.03.142-148

DOI: 10.25557/0031-2991.2023.03.142-148

Author's contribution: the concept and design of the work – Galimova E.F.; data collection – Gromenko D.D., Gromenko R.I.; analysis and interpretation of data – Galimov K.Sh.; article writing – Gromenko I.D., Galimova E.F.; article editing – Galimov Sh.N., Litvitskiy P.F. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.
For correspondence: ***Galimova Elmira Fanisovna,*** Doctor of medical sciences, associate professor; Bashkir State Medical University, e-mail: efgalimova@mail.ru

Information about the authors:
Gromenko I.D., https://orcid.org/ 0000-0001-8582-660X
Galimova E.F., https://orcid.org/0000-0002-3351-7669
Gromenko R.I., https://orcid.org/ 0000-0002-5355-4184
Galimov Sh.N., https://orcid.org/ 0000-0002-5871-5151
Gromenko D.D., https://orcid.org/ 0000-0001-5638-1779
Galimov K.Sh., https://orcid.org/0000–0002–0148–4380
Litvitskiy P.F., https://orcid.org/0000-0003-0151-9114
Financing. This work was supported by the Russian Science Foundation under grant no. 23-25-00140.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 06.07.2023
Accepted 12.07.2023
Published 20.09.2023

Введение

Каждая шестая семейная пара репродуктивного возраста в развитых странах страдает бесплодием. Мужской фактор является основополагающим в 50% случаев. Стандартом диагностики мужского бесплодия является анализ эякулята (спермограмма). Данный анализ позволяет оценить морфокинетические параметры сперматозоидов, но не дает представления о функциональном потенциале спермы и не всегда способен отразить состояние фертильности мужчин объективно. В связи с этим существует потребность в поиске и применении других методов его выявления [1]. Одним из таких методов стала оценка фрагментации ДНК сперматозоидов (Sperm DNA Fragmentation – SDF), позволяющая выявить долю сперматозоидов с поврежденной ДНК. Целостность генетического материала гамет необходима для эффективного оплодотворения и нормального течения эмбриогенеза [2, 3]. Ежегодно растет число исследований, демонстрирующих связь бесплодия с уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов. Учитывая растущую доказательную базу, Всемирная Организация Здравоохранения в 2021 г. внесла тест по оценке ДНК-фрагментации в шестое руководство ВОЗ по обработке и исследованию эякулята [4].

Механизмы фрагментации ДНК сперматозоидов. Фрагментация ДНК представляет собой разделение нитей ДНК на части из-за одноцепочечных и двуцепочечных разрывов [5]. Большинство современных исследователей сходятся во мнении, что существует три основных механизма SDF: нарушение конденсации хроматина, незавершенный апоптоз и окислительный стресс [1, 2, 6].

Во время созревания гамет происходит плотная конденсация генетического материала, суть которой заключается в замене гистоновых белков на протамины во время сперматогенеза [7]. Описанный процесс поддерживается благодаря действию ферментов топоизомераз, которые обеспечивают временные разрывы цепей ДНК, чтобы уменьшить торсионное сопротивление из-за суперспирализации нуклеиновых кислот [8]. Различные причины могут приводить к нарушению восстановления целостности цепей ДНК и персистенции двуцепочечных ДНК-фрагментов в созревающей клетке [2].

Другим механизмом, ответственным за фрагментацию ДНК, является незавершенный апоптоз. Связь незавершенного апоптоза с фрагментацией ДНК сперматозоидов подтверждается наличием в клетках, помимо разрывов цепей ДНК, признаков апоптоза: повышенной активности каспаз, инактивирования поли(АДФ-рибоза)-полимеразы (PARP), экспрессии на поверхности мембран Fas-рецепторов и неполного протаминирования [5, 8].

Эффект окислительного стресса на целостность ДНК обусловлен прямым повреждающим действием активных форм кислорода (АФК) на цепи нуклеиновых кислот или стимуляцией апоптоза через активацию каспаз и эндонуклеаз, а также стимуляцию сигнального MAPK (mitogen-activated protein kinase) пути [1]. Следует упомянуть, что АФК играют важную роль в физиологических процессах, таких как капацитация, акросомальная реакция, гиперактивация и оплодотворение, однако если их концентрация превосходит возможности антиоксидантной системы спермы, окислительный стресс становится чрезмерным [9].

DOI: 10.25557/0031-2991.2023.03.142-148

Сперматозоиды чаще всего претерпевают воздействие избытка АФК во время транзита через мужские половые пути, в то время как апоптоз и нарушение созревания гамет происходит в яичках.

В связи с тем, что сперматозоиды с фрагментированной ДНК не всегда утрачивают жизнеспособность, сохраняется вероятность переноса поврежденного генетического материала в яйцеклетку при оплодотворении, это может нарушить нормальное развития эмбриона и привести к клиническим последствиям в виде привычного невынашивания и бесплодия [10].

Факторы риска фрагментации ДНК сперматозоидов. Согласно последнему мета-анализу A. Szabo и соавт., к наиболее значимым факторам риска увеличения фрагментации ДНК сперматозоидов можно отнести: наличие варикоцеле (средняя разница с группой здоровых мужчин составила 13,62%), нарушение толерантности к глюкозе (средняя разница 13,75%), опухоли яичек (средняя разница 11,3%), курение (средняя разница 9,19%), возраст старше 50 (средняя разница 12,58%) и уровень загрязнения окружающей среды (средняя разница 9,68%) [2]. Некоторые факторы риска продемонстрировали дозозависимый характер влияния на уровень SDF. К ним относят курение, злоупотребление алкоголем и ожирение [11]. Применение некоторых лекарственных препаратов также может отразиться на повреждении ДНК сперматозоидов. Например, как высокие, так и низкие терапевтические дозы ципрофлоксацина повышают уровень ДНК-фрагментации [12].

Методы исследования фрагментации ДНК сперматозоидов. К общепризнанным методам лабораторного исследования, позволяющим оценить уровень фрагментации ДНК сперматозоидов, относят: TUNEL-тест (The terminal deoxynucleotidyl-transferase-mediated dUTP nick end labeling assay), анализ SCSA (Sperm Chromatin Structure Assay), метод SCD (sperm chromatin dispersion test) и метод ДНК-комет. В основу вышеперечисленных методов заложены различные принципы детекции ДНК-фрагментов, однако существует высокая корреляция между получаемыми с их помощью результатами [4, 5, 13].

Несмотря на то, что число исследований фрагментации ДНК сперматозоидов ежегодно растет, сохраняются трудности с интерпретацией полученных результатов. Нет четких границ или предельно допустимых значений для уровня SDF, чтобы отличить фертильных мужчин от бесплодных. Согласно экспертному мнению различных авторов, на уровень верхней границы нормы влияет тип исследования. Большинство исследователей сходится во мнении, что доля сперматозоидов с фрагментированной ДНК у фертильного мужчины должна составлять менее 15-20% [2, 8, 14]. Остаются неясными и показания для проведения исследования. Большинством экспертов недавнего глобального опроса рекомендовано оценивать уровень ДНК-фрагментации при необъяснимом бесплодии с нормальными показателями эякулята (51,5%), при идиопатическом мужском бесплодии после неудачной программы ВРТ (43,7%), при повторных выкидышах (40%), при наличии факторов риска, особенно курения (62,2%), а также у супружеских пар, вступающих в программу ВРТ и имеющих в анамнезе невынашивание (75,6%) [15].

Связь фрагментации ДНК сперматозоидов с бесплодием. Современными исследованиями все чаще демонстрируется связь между повышенным уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов и репродуктивными исходами. Степень повреждения ДНК у бесплодных мужчин значительно выше, чем у фертильных. При этом около 20% мужчин с идиопатическим бесплодием имеют повышенный уровень SDF [5]. В настоящее время многочисленные исследования показали, что при уровне фрагментации ДНК более 30% вероятность естественного зачатия стремится к нулю [13, 16]. Результаты внутриматочной инсеминации так же, как и успех естественного зачатия, сильно зависят от степени повреждения генетического материала. Эффективность процедуры значительно снижается, если уровень SDF превосходит 12% и полностью отсутствует при его значениях более 30%.

В одном из современных и самых крупных мета-анализов, в который вошли 78 исследований, установлено статистически значимое влияние степени повреждения ДНК на показатели эффективности ЭКО: уменьшение частоты имплантации яйцеклетки (ОШ=0.68; ДИ 0.52-0.89) и снижение числа наступивших беременностей (ОШ=0.72; ДИ 0.55-0.95) [17]. Также продемонстрирована незначительная, но тревожная тенденция к снижению эффективности программ ИКСИ: снижение частоты имплантаций (ОШ=0.79; ДИ 0.60-1.04), наступления беременности (ОШ=0.89; ДИ 0.78-1.02) и живорождения (ОШ=0.92; ДИ 0.67-1.27).

Ряд исследований связывает повышенный уровень фрагментации ДНК сперматозоидов с развитием повторных выкидышей у семейных пар. Repalle D. et al. обнаружили двукратный рост частоты выкидышей в группе пациентов с высоким уровнем ДНК-фрагментации в программах ИКСИ [18]. В другой работе была продемонстрирована положительная корреляция привычного невынашивания с уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов [19].

DOI: 10.25557/0031-2991.2023.03.142-148

Лечение бесплодия, связанного с фрагментацией ДНК сперматозоидов. Оптимальной стартовой терапией мужского бесплодия является устранение модифицируемых факторов риска. К таким факторам можно отнести курение, высокий уровень загрязнения воздуха, воздействие ионизирующей радиации, бактериальные инфекции и инфекции, передающиеся половым путем [1, 2, 8]. Несмотря на отсутствие масштабных исследований по теме положительного влияния устранения факторов риска на долю фрагментации ДНК сперматозоидов, данные рекомендации остаются общепризнанными.

Одним из путей снижения уровня ДНК-фрагментации путем устранения факторов риска с наличием обширной доказательной базой является проведение операции варикоцелэктомии у пациентов с пальпаторно определяемым варикоцеле [16, 20]. Операция снижает уровень активных форм кислорода, воздействующих на сперму, тем самым уменьшает повреждение ДНК и способствует восстановлению фертильности [21]. Данное утверждение подтверждается рядом крупных исследований. P. Birowo и соавт. обнаружили значимое уменьшение SDF у пациентов, перенесших операцию варикоцелэктомию [22]. Два крупных мета-анализа, проведенных в 2021 г., показали сходные результаты [23, 24]. Многими исследователями предлагается использовать масштаб фрагментации ДНК сперматозоидов в качестве показания для проведения операции и как средство оценки полученных результатов [1, 6, 13].

В связи с тем, что окислительный стресс является одной из основных причин повреждения ДНК сперматозоида, возникла гипотеза, по которой применение антиоксидантов способно снизить уровень SDF. Несмотря на логичность этого предположения, данные исследований остаются противоречивыми. Так, например, в рандомизированном мультицентровом исследовании FAZST (Folic Acid and Zinc Supplementation Trial), в котором оценивалось влияние антиоксидантов на мужскую фертильность, было обнаружено значимое уменьшение уровня фрагментации ДНК (средняя разница 2,4%, 95% ДИ 0,5% до 4,4%), в то время как в другом двойном слепом рандомизированном исследовании MOXI (Males, Antioxidants and Infertility) не было продемонстрировано хоть сколь-либо значимых изменений SDF или параметров эякулята [25, 26]. Тем не менее, антиоксиданты применяются в современной терапии бесплодия, связанного с фрагментацией ДНК сперматозоидов, хотя доказательность данных назначений остается низкой [8].

Еще одним способом улучшения качества эякулята может стать сокращение длительности половой абстиненции. Согласно рекомендациям Всемирной Организации Здравоохранения, анализ эякулята берут после 2 и до 7 дней воздержания. Данные ограничения созданы для стандартизации анализов и не имеют большого клинического значения [1]. В мета-анализе P. Sokol и соавт. [27] выявлена корреляция между длительностью периода воздержания и уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов. F. Barbagallo и соавт. [28] продемонстрировали, что короткий срок воздержания (несколько часов) у мужчин с олигоастенозооспермией способствует снижению уровня SDF у пациентов с изначально повышенной степенью повреждения генетического материала. Таким образом, краткий срок полового воздержания может стать значимым дополнительным средством преодоления бесплодия, связанного с фрагментацией ДНК сперматозоидов.

Применение яйцеклеток молодых женщин также рассматривается современными учеными как способ преодоления мужского бесплодия, связанного с высоким уровнем ДНК-фрагментации [29]. Точный механизм этого феномена не известен, H. Newman и соавт. высказывают предположение о наличии материнских репаративных механизмов в ооците, способных к восстановлению генетического материала сперматозоида на этапе формирования зиготы и в период раннего эмбриогенеза [30]. В некоторых исследованиях демонстрируется значимое повышение эффективности процедуры ИКСИ у мужчин с высоким уровнем SDF [31, 32]. На основании вышеперечисленных данных ряд ученых предложил гипотезу, что при проведении ИКСИ и использовании высококачественных ооцитов возможно преодоление проблемы, связанной с фрагментацией ДНК сперматозоидов [1, 30].

Учитывая современный уровень развития ВРТ, лечение бесплодия, связанного с фрагментацией ДНК сперматозоидов, очень часто сводится к возможности отбора их в программах ИКСИ с целостной структурой генетического материала. Выделяется несколько методов селекции сперматозоидов, облегчающих эмбриологам отбор гамет с нужными характеристиками. К ним относят: центрифугирование в градиенте плотности, техника всплывания спермы, физиологическая ИКСИ – ПИКСИ (PICSI – Physiologic Intra Cytoplasmic Sperm Injection), применение микрофлюидных чипов, сортировка магнитно-активированных клеток (MACS – Magnetic-activated cell sorting).

Целая серия исследований посвящена оценке эффективности описанных выше методов как способа отбора сперматозоидов без повреждённой ДНК. Так, в ряде исследований продемонстрировано улучше-

DOI: 10.25557/0031-2991.2023.03.142-148

ние клинических результатов у пациентов с высоким уровнем фрагментации ДНК при применении современных методов PICSI и MACS по сравнению со стандартными процедурами центрифугирования в градиенте плотности и техникой всплывания спермы [33-35]. Стандартные методы показывают значимую эффективность в качестве техники отбора сперматозоида лишь при отсутствии повреждений генетического материала.

Применение микрофлюидных чипов стало новым перспективным направлением селекции сперматозоидов в программах ВРТ. Такая технология позволяет отбирать сперматозоиды с максимально высоким уровнем прогрессивной подвижности [4, 33]. Недавние работы демонстрируют обнадеживающие результаты применения данной технологии. Так, F. Anbari и соавт. отмечали значительное снижение уровня фрагментации ДНК и улучшение клинических исходов в группе, в которой была использована новая технология селекции сперматозоидов [36]. При применении микрофлюидных чипов у пациентов с уровнем SDF более 60% обнаружено снижение его уровня до 34,9% и высокая эффективность программ ИКСИ [37].

Результаты современных исследований показали, что масштаб повреждения ДНК в гаметах, полученных при биопсии яичка, значительно ниже, чем в эякуляте [38]. Учитывая, что тестикулярные сперматозоиды не проходили по мужским половым путям, они в меньшей степени подвергались действию окислительного стресса. При оценке эффективности применения тестикулярных сперматозоидов в программах ИКСИ у мужчин с высоким уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов было показано значительное улучшение клинических результатов [2, 37]. Несмотря на высокую эффективность, продемонстрированную в этих исследованиях, применение тестикулярных гамет в лечении бесплодия, связанного с фрагментацией ДНК, остается дискутабельным методом, что связано с его инвазивностью [1, 8].

Новым аспектом рассматриваемой проблемы является поиск взаимосвязи фрагментации ДНК сперматозоидов и уровней некоторых микроРНК в эякуляте у мужчин в парах, проходящих процедуры ВРТ, для оценки корреляций с вероятностью оплодотворения, качеством и развитием эмбрионов, а также исходами беременности [39]. Так, обнаружена положительная корреляция между фрагментацией ДНК и процентом некачественных эмбрионов и отрицательная корреляция с жизнеспособностью эмбрионов. При превышении доли мужских гамет с SDF>2,9% увеличивается риск получения нежизнеспособного эмбриона почти в 4 раза. При анализе молекулярного профиля miR-34c-5p и miR-449b-5p сперматозоидов установлена связь как с SDF, так и с концентрацией сперматозоидов. Более высокие уровни miR-34c-5p по сравнению с miR-449b-5p увеличивают в 14 раз вероятность получения жизнеспособных эмбрионов. Это исследование показывает, что SDF, miR-34c-5p и miR-449b-5p сперматозоидов играют многообещающую роль в качестве биомаркеров качества спермы и результатов ВРТ.

В настоящее время продолжается активный поиск новых предикторов мужской инфертильности, в частности, в ряду представителей т.н. некодирующих РНК, прежде всего, микроРНК (miRNA), малых интерферирующих РНК (siRNA), piРНК (piwiRNA, piRNA) и длинных некодирующих РНК (lncRNA), имеющих прямое отношение к регуляции активности и сохранению нативной структуры ДНК сперматозоидов и семенников [40, 41].

Заключение

Таким образом, оценка масштаба фрагментации ДНК сперматозоидов дает возможность характеризовать репродуктивную способность мужчины. Это позволяет корректировать тактику ведения пациента с бесплодием, уменьшая степень повреждения генетического материала гамет и/или способствуя отбору клеток без генетических дефектов.

Вместе с тем, в настоящее время отсутствуют надежные согласованные клинические показания для оценки масштаба фрагментации ДНК сперматозоидов. Еще не разработан метод, позволяющий гарантированно исключить участие сперматозоидов с поврежденной ДНК в оплодотворении. Нет также единого мнения о том, как дифференцировать фертильных и бесплодных мужчин на основе значений этого показателя [42]. В связи с этим необходимы дополнительные тщательные исследования клинической значимости результатов оценки степени фрагментации ДНК сперматозоидов и их ассоциаций с экспрессией различных классов РНК.

Литература (п.п. 1–2; 4-5; 7–40; 42 см. References)

3. Галимов Ш.Н., Божедомов В.А., Галимова Э.Ф., Павлов В.Н., Сухих Г.Т. *Мужское бесплодие: молекулярные и иммунологические аспекты.* М.: ГЭОТАР-Медиа. 2020.

6. Епанчинцева Е.А., Селятицкая В.Г., Божедомов В.А. Индекс фрагментации ДНК сперматозоидов – необходимость для современной клинической практики. *Андрология и генитальная хирургия*. 2020; 21(1): 14-21.

41. Галимов Ш.Н., Громенко Ю.Ю., Галимов К.Ш. и др. Молекулярные механизмы мужского бесплодия: основные направления научного поиска. *Урология*. 2022; 4: 114-7. DOI 10.18565/urology.2022.4.114-117

DOI: 10.25557/0031-2991.2023.03.142-148

References

1. Marinaro J., Schlegel P. Sperm DNA Damage and Its Relevance in Fertility Treatment: A Review of Recent Literature and Current Practice Guidelines. *Int J Mol Sci*. 2023; 24(2): 1446.
2. Szabo A., Váncsa S., Hegyi P., Váradi A., Forintos A., Filipov T., et al. Lifestyle-, environmental-, and additional health factors associated with an increased sperm DNA fragmentation: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biol Endocrinol*. 2023; 21(1): 5.
3. Galimov Sh.N., Bozhedomov V.A., Galimova E.F., Pavlov V.N., Suhih G.T. *Male Infertility: Molecular and Immunological Aspects. [Muzhskoe besplodie: molekulyarnye i immunologicheskie aspekty]*. Moscow: GEOTAR-Media, 2020. (in Russian)
4. *WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen*. 6th ed. World Health Organization, Geneva. 2021.
5. Qiu Y., Yang H., Li C., Xu C. Progress in Research on Sperm DNA Fragmentation. *Med Sci Monit*. 2020; 26: e918746.
6. Epanchintseva E., Selyatitskaya V., Bozhedomov V. Sperm DNA Fragmentation Is A Necessity For Modern Clinical Practice. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya*. 2020; 21(1): 14-21. (in Russian)
7. Farkouh A., Salvio G., Kuroda S., Saleh R., Vogiatzi P., Agarwal A. Sperm DNA integrity and male infertility: a narrative review and guide for the reproductive physicians. *Transl Androl Urol*. 2022; 11(7): 1023-44.
8. Agarwal A., Majzoub A., Baskaran S., Panner Selvam M., Cho C., Henkel R., et al. Sperm DNA Fragmentation: A New Guideline for Clinicians. *World J Mens Health*. 2020; 38(4): 412-71.
9. Panner Selvam M., Baskaran S., O'Connell S., Almajed W., Hellstrom W., Sikka S. Association between Seminal Oxidation-Reduction Potential and Sperm DNA Fragmentation-A Meta-Analysis. *Antioxidants* (Basel). 2022; 11(8): 1563.
10. Muratori M., Marchiani S., Tamburrino L., Baldi E. Sperm DNA Fragmentation: Mechanisms of Origin. *Adv Exp Med Biol*. 2019; 1166: 75-85.
11. Mir J., Franken D., Andrabi S., Ashraf M., Rao K. Impact of weight loss on sperm DNA integrity in obese men. *Andrologia*. 2018; 50: e12957. doi: 10.1111/and.12957
12. Tímermans A., Vázquez R., Otero F., Gosálvez J., Johnston S., Fernández J. Antibiotic toxicity on human spermatozoa assessed using the sperm DNA fragmentation dynamic assay. *Andrologia*. 2022; 54(2): e14328.
13. Agarwal A., Farkouh A., Parekh N., Zini A., Arafa M., Kandil H. et al. Sperm DNA Fragmentation: A Critical Assessment of Clinical Practice Guidelines. *World J Mens Health*. 2022; 40(1): 30-7.
14. 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.
15. Agarwal A., Farkouh A., Saleh R. Controversy and Consensus on Indications for Sperm DNA Fragmentation Testing in Male Infertility: A Global Survey, Current Guidelines, and Expert Recommendations. *World J Mens Health*. 2023;10.5534/wjmh.220282.
16. Kim G. What should be done for men with sperm DNA fragmentation? *Clin Exp Reprod Med*. 2018; 45(3): 101-9.
17. Ribas-Maynou J., Yeste M., Becerra-Tomás N., Aston K., James E., Salas-Huetos A. Clinical implications of sperm DNA damage in IVF and ICSI: updated systematic review and meta-analysis. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 2021; 96(4): 1284-300.
18. Repalle D., Saritha K., Bhandari S. Sperm DNA fragmentation negatively influences the cumulative live birth rate in the intracytoplasmic sperm injection cycles of couples with unexplained infertility. *Clin Exp Reprod Med*. 2022; 49(3): 185-95.
19. Dai Y., Liu J., Yuan E., Li Y., Shi Y., Zhang L. Relationship Among Traditional Semen Parameters, Sperm DNA Fragmentation, and Unexplained Recurrent Miscarriage: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Endocrinol* (Lausanne). 2022; 12: 802632.
20. Alahmar A., Singh R., Palani A. Sperm DNA Fragmentation in Reproductive Medicine: A Review. *J Hum Reprod Sci*. 2022; 15(3): 206-18. doi: 10.4103/jhrs.jhrs_82_22.
21. Roque M., Esteves S. Effect of varicocele repair on sperm DNA fragmentation: a review. *Int Urol Nephrol*. 2018; 50: 583-603.
22. Birowo P., Rahendra Wijaya J., Atmoko W., Rasyid N. The effects of varicocelectomy on the DNA fragmentation index and other sperm parameters: A meta-analysis. *Basic Clin. Androl*. 2020; 30: 15.
23. Qiu D., Shi Q., Pan L. Efficacy of varicocelectomy for sperm DNA integrity improvement: A meta-analysis. *Andrologia*. 2021; 53: e13885.
24. Lira Neto F., Roque M., Esteves S. Effect of varicocelectomy on sperm deoxyribonucleic acid fragmentation rates in infertile men with clinical varicocele: A systematic review and meta-analysis. *Fertil. Steril*. 2021; 116: 696–712.
25. Schisterman E., Sjaarda L., Clemons T., Carrell D.T., Perkins N.J., Johnstone E. et al. Effect of folic acid and zinc supplementation in men on semen quality and live birth among couples undergoing infertility treatment: A randomized clinical trial. *JAMA*. 2020; 323: 35–48.
26. Steiner A., Hansen K., Barnhart K., Cedars M.I., Legro R.S., Diamond M.P., et al. The effect of antioxidants on male factor infertility: The Males, Antioxidants, and Infertility (MOXI) randomized clinical trial. *Fertil. Steril*. 2020; 113: 552–560.e553.
27. Sokol P., Drakopoulos P., Polyzos N.P. The effect of ejaculatory abstinence interval on sperm parameters and clinical outcome of ART. A systematic review of the literature. *J. Clin. Med*. 2021; 10: 3213.
28. Barbagallo F., Cannarella R., Crafa A., Manna C., La Vignera S., Condorelli R., et al. The Impact of a Very Short Abstinence Period on Conventional Sperm Parameters and Sperm DNA Fragmentation: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Med*. 2022; 11(24): 7303.
29. Esteves S., Zini A., Coward R., Evenson D., Gosálvez J., Lewis S., et al. Sperm DNA fragmentation testing: Summary evidence and clinical practice recommendations. *Andrologia*. 2021; 53: e13874.
30. Newman H., Catt S., Vining B., Vollenhoven B., Horta F. DNA repair and response to sperm DNA damage in oocytes and embryos, and the potential consequences in ART: A systematic review. *Mol. Hum. Reprod*. 2022; 28:gaab071.
31. Antonouli S., Papatheodorou A., Panagiotidis Y., Petousis S., Prapas N., Nottola S.A. et al. The impact of sperm DNA fragmentation on ICSI outcome in cases of donated oocytes. *Arch. Gynecol. Obstet*. 2019; 300: 207–15.
32. Hervás I., Pacheco A., Gil Julia M., Rivera-Egea R., Navarro-Gomezlechon A., Garrido N. Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation (by terminal deoxynucleotidyl transferase biotin dUTP nick end labeling assay) does not impair reproductive success measured as cumulative live birth rates per donor metaphase II oocyte used. *Fertil. Steril*. 2022; 118: 79–89.
33. Keskin M., Pabuçcu E., Arslanca T. Does Microfluidic Sperm Sorting Affect Embryo Euploidy Rates in Couples with High Sperm DNA Fragmentation? *Reprod. Sci*. 2022; 29: 1801–8.

DOI: 10.25557/0031-2991.2023.03.142-148

34. Ahmadi A., Sobhani A., Khalili M., Agha-Rahimi A., Nabi A., Findikli N. Comparison of the Efficiency of Magnetic-Activated Cell Sorting (MACS) and Physiological Intracytoplasmic Sperm Injection (PICSI) for Sperm Selection in Cases with Unexplained Infertility. *J Reprod Infertil*. 2022; 23(3): 184-91.
35. Pacheco A., Blanco A., Bronet F. Magnetic-Activated Cell Sorting (MACS): A Useful Sperm-Selection Technique in Cases of High Levels of Sperm DNA Fragmentation. *J Clin Med*. 2020; 9: 3976. 10.3390/jcm9123976.
36. Anbari F., Khalili M.A., Sultan Ahamed A., Mangoli E., Nabi A., Dehghanpour F. et al. Microfluidic sperm selection yields higher sperm quality compared to conventional method in ICSI program: A pilot study. *Syst. Biol. Reprod. Med*. 2021; 67: 137–43.
37. Pujol A., García-Peiró A., Ribas-Maynou J., Lafuente R., Mataró D., Vassena R. A microfluidic sperm-sorting device reduces the proportion of sperm with double-stranded DNA fragmentation. *Zygote*. 2022; 30(2): 200-5.
38. Esteves S., Roque M., Bradley C., Garrido N. Reproductive outcomes of testicular versus ejaculated sperm for intracytoplasmic sperm injection among men with high levels of DNA fragmentation in semen: Systematic review and meta-analysis. *Fertil. Steril*. 2017; 108: 456–467. e451.
39. Conflitti A., Cicolani G., Buonacquisto A., Pallotti F., Faja F., Bianchini S., et al. Sperm DNA Fragmentation and Sperm-Borne miRNAs: Molecular Biomarkers of Embryo Development? *Int. J. Mol. Sci*. 2023; 24(2): 1007. doi: 10.3390/ijms24021007
40. Joshi M., Rajender S. Long non-coding RNAs (lncRNAs) in spermatogenesis and male infertility. *Reprod Biol Endocrinol*. 2020; 18:103 doi: 10.1186/s12958-020-00660-6
41. Galimov Sh., Gromenko Y., Galimova E., Galimov K., Bulygin K., Litvitsky P. Molecular Mechanisms of Male Infertility: Main Directions of Scientific Research. *Urologiya*. 2022; 4: 114-7.
42. Björndahl L., Barratt C., Mortimer D., et al. *Hum. Reprod*. 2022; 37(11): 2497-502. doi: 10.1093/humrep/deac189

Сведения об авторах
Громенко Иван Дмитриевич, ассистент каф. биологической химии, ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, e-mail: z28ivan@mail.ru;
Галимова Эльмира Фанисовна, доктор мед. наук, проф., каф. патологической физиологии, ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, e-mail: efgalimova@mail.ru;
Громенко Регина Ильдаровна, ассистент каф. акушерства и гинекологии № 1, ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, e-mail: z28ivan@mail.ru;
Галимов Шамиль Нариманович, доктор мед. наук, проф., зав. каф. биологической химии, ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, e-mail: sngalim@mail.ru;
Громенко Дарья Дмитриевна, студент лечебного факультета, ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, e-mail: dasha.gromenko@mail.ru;
Галимов Камиль Шамилевич, ординатор 2-го года обучения, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), e-mail: kamil 9819@mail.ru;
Литвицкий Петр Францевич, чл.-корр. РАН, доктор мед. наук, проф., зав. каф. патофизиологии, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), e-mail: litvicki@mma.ru.