

© Коллектив авторов, 2023

УДК 616-01/616-07

Громенко И.Д.<sup>1</sup>, Галимова Э.Ф.<sup>1</sup>, Салимгареева М.Х.<sup>2</sup>, Громенко Р.И.<sup>1</sup>, Галимов Ш.Н.<sup>1</sup>, Громенко Д.Д.<sup>1</sup>,  
Галимов К.Ш.<sup>3</sup>, Литвицкий П.Ф.<sup>3</sup>

## Ассоциация фрагментации ДНК с кинетическими параметрами сперматозоидов у мужчин с идиопатическим бесплодием

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, 450008, Уфа, Россия, ул. Ленина, д. 3;

<sup>2</sup>ГБУЗ «Республиканский медико-генетический центр», 450076, Республика Башкортостан, Уфа, ул. Гафури, д. 74;

<sup>3</sup>ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), 119991, Москва, Россия, ул. Трубецкая, д. 8, с. 2

**Введение.** Несмотря на увеличение частоты использования анализа ДНК-фрагментации сперматозоидов в последние годы, сохраняются ограничения, связанные со стоимостью и трудоемкостью метода. Это не позволяет применять указанный метод как для изучения патогенеза заболевания, так и внедрения метода в практику диагностики мужского бесплодия. Одним из путей решения этой проблемы стал поиск параметров эякулята, тесно связанных с уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов. К числу таких параметров относят кинетические показатели сперматозоидов, получаемые с помощью компьютерного анализа эякулята (CASA).

**Цель исследования** -- выявление корреляции изменений параметров CASA с уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов у мужчин с идиопатическим бесплодием.

**Методика.** В ретроспективном исследовании приняли участие 96 мужчин в возрасте от 25 до 49 лет с верифицированным диагнозом идиопатического бесплодия. Компьютерный анализ эякулята проведен с использованием программного обеспечения MMS Sperm. Оценка фрагментации ДНК осуществлялась методом TUNEL (The terminal deoxynucleotidyl-transferase-mediated dUTP nick end labeling assay). Для подсчета доли клеток с поврежденной ДНК (в %) использована проточная цитометрия на аппарате «Beckman Coulter Navios Flow Cytometer».

**Результаты.** Среди параметров, определяемых CASA, статистически значимую корреляцию с уровнем ДНК фрагментации имели: прямолинейная скорость движения (VSL) ( $r=-0,522726$ ;  $p<0,01$ ) сперматозоидов, скорость их криволинейного движения (VCL) ( $r=-0,499096$ ;  $p<0,01$ ); скорость движения по среднему пути (VAP) ( $r=-0,429533$ ;  $p<0,01$ ); амплитуда бокового смещения головки (ALH) ( $r=-0,294779$ ;  $p<0,01$ ); линейность криволинейного пути (LIN) ( $r=-0,385796$ ;  $p<0,01$ ); степень прямолинейно направленных движений сперматозоидов (STR) ( $r=-0,268248$ ;  $p<0,05$ ), прогрессивная подвижность ( $r=-0,411547$ ;  $p<0,01$ ).

**Заключение.** Полученные в работе фактические данные продемонстрировали обоснованность использования CASA с целью отбора пациентов для проведения оценки фрагментации ДНК сперматозоидов. Необходимы также дополнительные исследования для установления референсных значений кинетических показателей.

**Ключевые слова:** идиопатическое мужское бесплодие; фрагментация ДНК сперматозоидов; компьютерный анализ эякулята

**Для цитирования:** Громенко И.Д., Галимова Э.Ф., Салимгареева М.Х., Громенко Р.И., Галимов Ш.Н., Громенко Д.Д., Галимов К.Ш., Литвицкий П.Ф. Ассоциация фрагментации ДНК с кинетическими параметрами сперматозоидов у мужчин с идиопатическим бесплодием. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2023; 67(4): 22-28.

DOI: 10.25557/0031-2991.2023.04.22-28

**Участие авторов:** концепция и дизайн работы – Галимова Э.Ф.; сбор данных – Громенко Д.Д., Громенко Р.И.; анализ и интерпретация данных – Салимгареева М.Х., 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 Э.Ф., 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 10.10.2023

Принята к печати 19.10.2023

Опубликована 27.12.2023

Gromenko I.D.<sup>1</sup>, Galimova E.F.<sup>1</sup>, Salimgareeva M.Kh.<sup>2</sup>, Gromenko R.I.<sup>1</sup>, Galimov Sh.N.<sup>1</sup>, Gromenko D.D.<sup>1</sup>, Galimov K.Sh.<sup>3</sup>, Litvitskiy P.F.<sup>3</sup>

## Association of DNA fragmentation with kinetic parameters of spermatozoa in men with idiopathic infertility

<sup>1</sup>Bashkir State Medical University, Lenina St. 3, Ufa, 450008, Russian Federation;

<sup>2</sup>Bashkortostan Republic Medical Genetics Center, Gafuri St. 74, Ufa, 450076, Republic of Bashkortostan;

<sup>3</sup>Sechenov First Moscow State Medical University, Trubetskaya St. 8, Bldg. 2, Moscow, 119991, Russian Federation

**Introduction.** Despite the recent increase in the use of the analysis of sperm DNA fragmentation, the high cost and complexity of the method prevent it from being used for studying the disease pathogenesis and routine diagnostics of male infertility. A solution to this problem was the search for ejaculate parameters associated with the level of sperm DNA fragmentation. These parameters include the kinetic properties of spermatozoa obtained using computer-assisted analysis of the ejaculate (CASA).

**Aim of the study:** To examine correlations between kinetic properties of spermatozoa determined by CASA and the degree of sperm DNA fragmentation in men with idiopathic infertility.

**Methods.** This retrospective study involved 96 men aged 25 to 49 yrs with documented idiopathic infertility. CASA was performed using MMC Sperm software. DNA fragmentation was assessed with the terminal deoxynucleotidyl-transferase-mediated dUTP nick end labelling assay (TUNEL) using an Invitrogen Apo-Direct™ kit. Flow cytometry (Beckman Coulter Navios Flow Cytometer) was used to calculate the percentage of cells with damaged DNA.

**Results.** The following CASA parameters had significant correlations with the degree of DNA fragmentation: 1) velocity along the straight-line path (VSL) ( $r=-0.522726, p<0.01$ ); 2) velocity along the curvilinear path (VCL) ( $r=-0.499096, p<0.01$ ); 3) velocity along the average path (VAP) ( $r=-0.429533, p<0.01$ ); 4) the amplitude of the lateral displacement of the head (ALH) ( $r=-0.294779, p<0.01$ ); 5) linearity (LIN) ( $r=-0.385796, p<0.01$ ); 6) straightness (STR) ( $r=-0.268248, p<0.05$ ); and 7) progressive motility ( $r=-0.411547, p<0.01$ ).

**Conclusion.** The data support the use of CASA-determined kinetic properties of spermatozoa to select patients for evaluation of DNA fragmentation. However, additional studies are needed to establish reference values for changes in the kinetic properties.

**Keywords:** idiopathic male infertility; sperm DNA fragmentation; computer-assisted sperm analysis

**For citation:** Gromenko I.D., Galimova E.F., Salimgareeva M.Kh., Gromenko R.I., Galimov Sh.N., Gromenko D.D., Galimov K.Sh., Litvitskiy P.F. Association of DNA fragmentation with kinetic parameters of spermatozoa in men with idiopathic infertility. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2023; 67(4): 22-28. (in Russian)

DOI: 10.25557/0031-2991.2023.04.22-28

**Author's contribution:** concept and design of the work – Galimova E.F.; data collection – Gromenko D.D., Gromenko R.I.; analysis and interpretation of data – Salimgareeva M.Kh., Galimov K.Sh.; writing of the article – Gromenko I.D., Galimova E.F.; editing of the article – 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:** *Elmira F. Galimova*, Doctor of medical sciences, associate professor; FSBEI HE «Bashkir State Medical University», 3 Lenina str., 450008, Ufa, Russian Federation, 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>

Salimgareeva M.H., <https://orcid.org/0009-0009-0231-9828>

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.** The study was supported by the Russian Science Foundation grant # 23-25-00140.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received 10.10.2023

Accepted 19.10.2023

Published 27.12.2023

## Введение

Тенденцией последних лет в андрологии стало внедрение анализа фрагментации ДНК сперматозоидов (Sperm DNA Fragmentation – SDF) с целью расшифровки звеньев патогенеза и повышения эффективности диа-

гностики мужского бесплодия [1]. Этот вид исследования позволяет оценить степень повреждения генетического материала сперматозоидов и выявить патогенетическую основу развития идиопатического бесплодия [2, 3].

Фрагментация ДНК представляет собой нарушение ее целостности, которое может появляться в одной или в обеих ее цепях. Разрывы цепей ДНК гамет происходят вследствие нарушения конденсации хроматина, незавершенного апоптоза, активации окислительного стресса и, возможно, иных еще не установленных причин [4]. С увеличением SDF снижается фертильность мужчин, нарушается нормальное развитие эмбриона, растет число случаев невынашивания плода.

В 2021 г. Всемирная Организация Здравоохранения включила метод оценки фрагментации ДНК сперматозоидов в 6-ю редакцию «Руководства по лабораторному исследованию и обработке эякулята человека». В Руководстве дана подробная характеристика метода, видов лабораторного исследования и представлены существующие ограничения. Так, одной из основных проблем при внедрении метода в практику является отсутствие четких критериев целесообразности проведения исследования [5]. Общеизвестными показаниями к оценке SDF остаются необъяснимое бесплодие при нормальных показателях спермограммы, идиопатическое мужское бесплодие при неудачных попытках вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), повторные выкидыши и невынашивания плода [6]. В связи с дороговизной и трудоемкостью исследования выполнение теста в рутинном порядке становится затруднительным и требует поиска альтернативных критериев отбора пациентов [4, 7]. Решение указанной проблемы может быть достигнуто на основе выявления дополнительных параметров эякулята, связанных с уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов.

Одним из таких направлений является установление связи между морфокинетическими показателями спермы и степенью SDF [8, 9]. Для оценки состояния структуры и подвижности сперматозоидов используются такие методы, как стандартный анализ эякулята, оцениваемый специалистом в «ручном режиме», а также компьютерный анализ, позволяющий применять современные информационно-технические возможности для отслеживания и характеристики одновременно сотен и тысяч клеток.

В ряде работ с помощью анализа стандартной спермограммы продемонстрирована ассоциация между степенью ДНК-фрагментации и прогрессивной подвижностью сперматозоидов, а также отсутствие значимой корреляции с их концентрацией и морфологическими показателями, за исключением аномалий головки гамет [10, 11]. Тем не менее, более значимыми и перспективными представляются исследования, характеризующие зависимость отдельных паттернов подвижности сперматозоидов от степени повреждения их

ДНК. В этих целях применяется метод компьютерного анализа эякулята (computer-assisted ejaculate analysis – CASA), который позволяет дать детальную оценку различных параметров прямолинейного и криволинейного движения гамет, включая его амплитуду, скорость, траекторию и другие характеристики. Однако в настоящее время количество работ, посвященных этой теме крайне мало [12–14].

**Цель исследования** – выявление патогенетически значимой корреляции между изменениями параметров CASA и уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов у мужчин с идиопатическим бесплодием.

### Методика

В ретроспективном исследовании приняли участие 96 мужчин в возрасте 25–49 лет, которые наблюдались в медицинском центре «Семья» с диагнозом «Идиопатическое мужское бесплодие». Критериями исключения являлись: наличие установленных причин бесплодия, полное отсутствие подвижных сперматозоидов в анализе (криптозооспермия), азооспермия, невозможность сдать анализ (анэякуляция). Пациентами было подписано информированное добровольное согласие на участие в исследовании. Обследуемые сдавали эякулят после двухдневного полового воздержания. Далее 1 мл эякулята использовали для проведения компьютерного анализа, оставшийся объем – для определения степени фрагментации ДНК сперматозоидов.

В анализе CASA применялось программное обеспечение MMC Sperm. Оценивались следующие кинетические характеристики сперматозоидов: скорость криволинейного движения (VCL) сперматозоидов; скорость их прямолинейного движения (VSL); скорость движения по среднему пути (VAP); амплитуда бокового смещения головки (ALH); линейность криволинейного пути (LIN); степень отклонения фактической траектории относительно усредненной (WOB); частота, с которой криволинейная траектория пересекает средний путь движения сперматозоида (BCF); степень прямолинейно направленных движений сперматозоидов (STR).

Оценка фрагментации ДНК осуществлялась методом TUNEL (The terminal deoxynucleotidyl-transferase-mediated dUTP nick end labeling assay) с применением набора Invitrogen Apo-Direct™ Kit. Для подсчета числа клеток с поврежденной ДНК использована проточная цитометрия на аппарате «Beckman Coulter Navios Flow Cytometer».

Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение Pandas – Python Data Analysis Library, для визуализации результатов – Plotly

Python Open Source. После проверки на нормальность распределения показателей по Шапиро–Уилка, был использован метод ранговой корреляции Спирмена для выявления взаимосвязанных величин. Сила корреляционных связей оценивалась по шкале Чеддока [15].

### Результаты и обсуждение

Результаты корреляционного анализа взаимосвязи уровня фрагментации ДНК с кинетическими характеристиками сперматозоидов представлены в **таблице**.

Нами выявлена группа параметров, имеющих значимую корреляционную связь с ДНК-фрагментацией. Так, прогрессивная подвижность сперматозоидов оказалась обратно пропорциональной степени повреждения генетического материала ( $r=-0,411547$ ;  $p<0,01$ ) (**рис. 1**), что находит подтверждение в исследованиях других авторов [10–13]. Сила обратной связи по шкале Чеддока оценивается как умеренная.

Из параметров, определяемых при компьютерном анализе эякулята, статистически значимую ассо-

циацию с уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов, имели также VCL, VSL, VAP, ALH, LIN и STR. Наиболее сильная корреляционная связь выявлена с показателем прямолинейной скорости движения ( $r=-0,522726$ ;  $p<0,01$ ). Согласно шкале Чеддока, сила ассоциации оценивалась как умеренная. К другим параметрам, с наличием умеренной корреляционной связи, относились: скорость криволинейного пути ( $r=-0,499096$ ;  $p<0,01$ ) и скорость движения по среднему пути ( $r=-0,429533$ ;  $p<0,01$ ), а среди производных параметров – линейность криволинейного пути ( $r=-0,385796$ ;  $p<0,01$ ) (**рис. 2**).

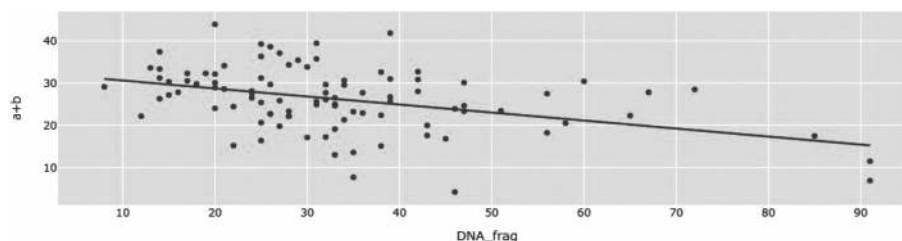
В то же время, такие параметры, как ALH и STR, хотя и обладали значимой корреляционной связью ( $r=-0,294779$ ;  $p<0,01$  и  $r=-0,268248$ ;  $p<0,05$  соответственно), характеризовались взаимосвязью слабой силы (**рис. 3**).

Таким образом, полученные результаты, в целом, не противоречат данным других авторов. Однако они содержат некоторые характерные отличия, связанные с различной специфичностью использованных ме-

**Взаимосвязь уровня фрагментации ДНК с кинетическими характеристиками сперматозоидов, рассчитанных с помощью компьютерного анализа эякулята CASA**

**The relationship between the level of DNA fragmentation and the kinetic characteristics of sperm calculated using computer analysis of ejaculate CASA**

Кинетические характеристики сперматозоидов / sperm kinetic characteristics	Коэффициент корреляции Спирмена, $r$ / Spearman correlation coefficient, $r$	Статистическая значимость, $p$ / $P$ -value
Прогрессивная подвижность сперматозоидов / Progressive sperm motility	-0,411547	<0.01
VCL	-0,499096	<0.01
VSL	-0,522726	<0.01
VAP	-0,429533	<0.01
ALH	-0,294779	<0.01
BCF	-0,025033	>0.05
LIN	-0,385796	<0.01
STR	-0,268248	<0.05
WOB	-0,128926	>0.05



**Рис. 1.** Взаимосвязь фрагментации ДНК и прогрессивной подвижности сперматозоидов.  $a+b$  – совокупная фракция прогрессивно подвижных сперматозоидов.

**Fig. 1.** Relationship between DNA fragmentation and progressive sperm motility.  $a+b$  – total fraction of progressively motile spermatozoa.



тодических подходов, особенностями формирования выборки пациентов и др.

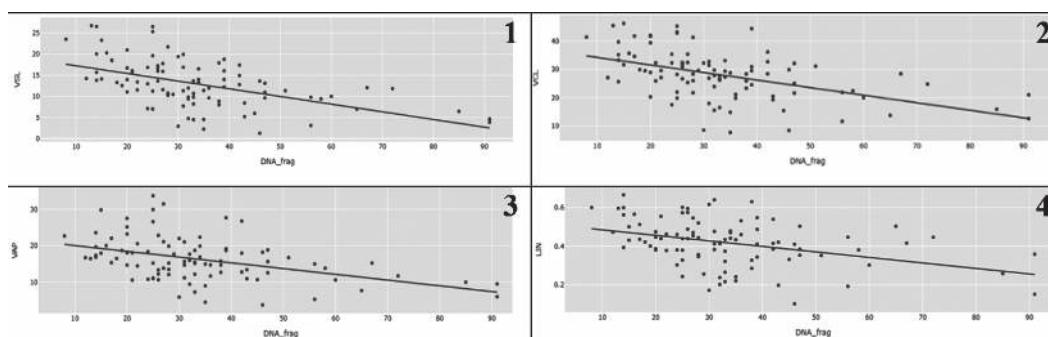
Как упоминалось, многими авторами продемонстрирована обратная связь прогрессивной подвижности сперматозоидов с уровнем SDF, что совпадает с результатами нашей работы. В исследовании S. Chua и соавт. [16], опубликованном в марте 2023 г., при ретроспективной оценке 2567 случаев была установлена значимая отрицательная корреляция для параметра прогрессивной подвижности ( $r=-0,257$ ;  $p<0,0001$ ) по отношению к степени повреждения генетического материала. Однако в этой работе для оценки ДНК-фрагментации применялся не наиболее часто используемый TUNEL-тест, а тест дисперсии хроматина (sperm chromatin dispersion, SCD) и SCSA-анализ (Sperm Chromatin Structure Assay), что ограничивает возможность экстраполяции этих данных на все исследования [17].

Huang W. et al. оценили возможность применения такого показателя как относительное содержание не-прогрессивно подвижных и неподвижных сперматозоидов в качестве показателя уровня повреждения их ДНК [18]. Согласно полученным результатам, доля таких сперматозоидов прямо пропорциональна степени ДНК-фрагментации ( $r=0,50$ ,  $p<0,001$ ). Прогностиче-

ская ценность параметра достигала 77-78%. Помимо этого, в ходе исследования установлена отрицательная корреляция между фрагментацией ДНК и такими параметрами как VCL, VSL, VAP, ALH, LIN и STR.

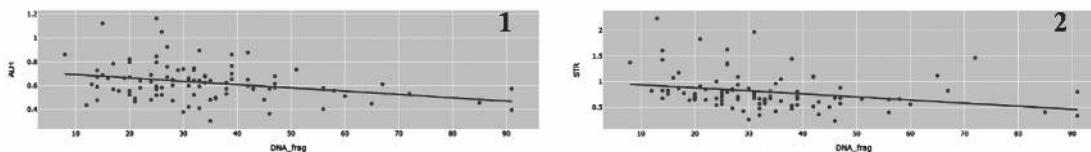
Оригинальные результаты были получены группой Н. Lin и соавт. [12]. В работе установлена значимая обратная связь показателя фрагментации ДНК сперматозоидов с базовыми параметрами CASA – VCL, VSL, VAP и ALH, но не выявлено корреляции с производными величинами – LIN и STR. Авторами также было показано, что совместное использование морфокинетических параметров CASA, рутинного анализа морфологии клеток и оценки уровня фрагментации ДНК значительно повышает прогностическую способность исследования и в большинстве случаев является оптимальным индикатором мужской фертильности.

Низкий (физиологический) уровень ДНК-фрагментации по данным большинства исследований сочетается, как правило, с высокими значениями кинетических показателей компьютерного мониторинга – VAP, VCL, VSL и STR, что согласуется с нашими результатами. Вместе с тем, в работе А. Aghazarian и соавт. [13] была продемонстрирована связь между степенью повреждения генетического материала гамет и частотой пересечения криволинейной траекторией



**Рис. 2.** Зависимость кинетических параметров CASA от фрагментации ДНК сперматозоидов с умеренной силой корреляционных связей по шкале Чеддока. 1 – VSL от ДНК фрагментации; 2 – VCL от ДНК фрагментации; 3 – VAP от ДНК фрагментации; 4 – LIN от ДНК фрагментации.

**Fig. 2.** The dependences of the kinetic parameters of CASA on the DNA of sperm fragmentation with moderate strength of correlations according to the Chaddock scale. 1 – VSL on DNA fragmentation; 2 – VCL on DNA fragmentation; 3 – VAP on DNA fragmentation; 4 – LIN on DNA fragmentation.



**Рис. 3.** Зависимость кинетических параметров CASA от ДНК фрагментации сперматозоидов со слабой силой корреляционных связей по шкале Чеддока. 1 – ALH от ДНК фрагментации; 2 – STR от ДНК фрагментации.

**Fig. 3.** The dependences of the kinetic parameters of CASA on the DNA fragmentation of spermatozoa with a weak strength of correlations according to the Chaddock scale. 1 – ALH on DNA fragmentation; 2 – STR on DNA fragmentation.

среднего пути движения сперматозоида (BCF), а также отсутствие статистически значимой корреляции с параметрами криволинейного пути (LIN) и амплитудой смещения головки гамет (ALH), что существенно отличается от результатов, полученных в ходе нашего исследования.

Еще одной находкой последнего времени, подтверждающей связь кинетических параметров и повреждения генетического материала сперматозоидов, стал феномен снижения уровня SDF при их прохождении через микрофлюидные чипы. В основе метода лежит способность прогрессивно подвижных сперматозоидов преодолевать прямолинейный микрофлюидный канал и появляться в камере выхода, в то время как клетки с аномальными паттернами движения остаются в камере входа. С помощью микрофлюидной сортировки обнаружено практически полное отсутствие ДНК-фрагментации у сперматозоидов (межквартильный размах составил 0–2.4%) [19]. Указанная методика позволяет также изолировать высококачественные гаметы для их интрацитоплазматической инъекции. Благодаря этому были достигнуты более высокие показатели формирования качественного эмбриона ( $p < 0,001$ ), процесса имплантации ( $p = 0,04$ ) и наступления беременности ( $p = 0,05$ ) по сравнению с классическими способами селекции мужских половых клеток [20, 21].

Таким образом, существует большое количество прямых или косвенных доказательств связи изменений кинетических характеристик эякулята и выраженностью повреждения генетического материала при идиопатическом мужском бесплодии.

### Заключение

Имеется статистически значимая корреляция между степенью фрагментацией ДНК сперматозоидов и кинетическими параметрами, такими как прогрессивная подвижность, прямолинейная скорость движения, скорость движения по среднему пути и скорость криволинейного движения. Это подтверждается результатами исследования указанных показателей у мужчин с идиопатическим бесплодием как в нашей работе, так и других авторов [9–14]. Наряду с этим, корреляционные зависимости для некоторых иных параметров отсутствовали или существенно различались, что требует проведения дополнительных исследований.

С учетом полученных нами данных можно рекомендовать использование морфокинетических параметров CASA в качестве прогностических критериев фрагментации ДНК сперматозоидов и их оплодотворяющей способности. Уточнение паттернов движения гамет, а также их связи с повреждением генетического

материала будет способствовать оптимизации методов селекции сперматозоидов в программах ВРТ, основанных на применении искусственного интеллекта, что является предметом наших дальнейших исследований.

Вместе с тем, остаются практически неизвестными различные аспекты регуляции SDF, ассоциированные, прежде всего, с молекулярными механизмами репарации ДНК и контроля её экспрессии. Они, в свою очередь, зависят от профиля микроРНК различных отделов репродуктивной системы, окислительно-восстановительного статуса гамет, их микроокружения и других, ещё неизвестных факторов [22, 23]. В настоящее время список известных модуляторов фрагментации ДНК сперматозоидов ограничен miR-34c-5p, miR-449b-5p, редокс-отношением  $NAD^+/NADH$  и рядом других соединений. С этих позиций, представляется перспективным дополнение и расширение круга эффекторов с помощью анализа микроРНК различных семейств, продемонстрировавших значимое изменение уровня экспрессии при скрининге пациентов с идиопатическим бесплодием [24], а также оценка дифференциальной экспрессии циркулярных РНК (circRNA), которые могут служить новыми биомаркерами мужского бесплодия [25].

### Литература

#### (п.п. 1; 4–14; 16–25 см. References)

2. 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.
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.
15. Баврина А.П., Борисов И.Б. Современные правила применения корреляционного анализа. *Медицинский альманах*. 2021; 3(68).

### References

1. 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.
2. 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)
3. Galimov Sh.N., Bozhedomov V.A., Galimova E.F., Pavlov V.N., Suhikh G.T. *Male Infertility: Molecular and Immunological Aspects [Muzhskoe besplodie: molekulyarnye i immunologicheskie aspekty]*. Moscow: GEOTAR-Media, 2020. (in Russian)
4. 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.
5. World Health Organization WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 6<sup>th</sup> ed. World Health Organization, Geneva 2021.

6. 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.
7. Sharma R., Iovine C., Agarwal A., Henkel R. TUNEL assay-Standardized method for testing sperm DNA fragmentation. *Andrologia*. 2021; 53(2): e13738.
8. 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.
9. Zhang F., Li J., Liang Z., Wu J., Li L., Chen C., et al. Sperm DNA fragmentation and male fertility: a retrospective study of 5114 men attending a reproductive center. *J Assist Reprod Genet*. 2021 May; 38(5): 1133-41.
10. Le M., Nguyen T., Nguyen H., Nguyen T., Nguyen V., Le D. et al. Does sperm DNA fragmentation correlate with semen parameters? *Reprod Med Biol*. 2019; 18(4): 390-6.
11. Vinnakota C., Cree L., Peek J., Morbeck D. Incidence of high sperm DNA fragmentation in a targeted population of subfertile men. *Syst Biol Reprod Med*. 2019; 65(6): 451-7.
12. Lin H., Wu M., Wu W., Tsai L., Chen Y., Hung K., et al. Incorporating sperm DNA fragmentation index with computer-assisted semen morphokinematic parameters as a better window to male fertility. *Chin J Physiol*. 2022; 65(3): 143-50.
13. Aghazarian A., Huf W., Pflüger H., Klatte T. Standard Semen Parameters vs. Sperm Kinematics to Predict Sperm DNA Damage. *World J Mens Health*. 2021; 39(1): 116-22.
14. Naknam W., Salang L., Sothornwit J., Amnatbuddee S., Seejorn K., Pongsritasana T., et al. Effect of sperm selection method by cumulus oophorus complexes and conventional sperm preparation method on sperm quality and DNA fragmentation for assisted reproduction technology. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2019; 243: 46-50.
15. Bavrina A.P., Borisov I.B. Modern rules for using correlation analysis. *Meditsinskiy almanakh*. 2021; 3: 68.
16. Chua S., Yovich S., Hinchliffe P., Yovich J. How Well Do Semen Analysis Parameters Correlate with Sperm DNA Fragmentation? A Retrospective Study from 2567 Semen Samples Analyzed by the Halosperm Test. *J Pers Med*. 2023; 13(3): 518.
17. Agarwal A., Farkouh A., Saleh R., Hamoda T., Salvio G., Boitrelle F., et al. Technical Aspects and Clinical Limitations of Sperm DNA Fragmentation Testing in Male Infertility: A Global Survey, Current Guidelines, and Expert Recommendations. *World J Mens Health*. 2023; 41: e67. <https://doi.org/10.5534/wjmh.230076>
18. Huang W., Chang Y.K., Tung S.Y., Peng B.H., Chang H.C. Sperm motility is the best semen parameter to predict sperm DNA fragmentation. *Urol Sci*. 2021; 32: 157-63.
19. Anbari F., Khalili M.A., Sultan Ahamed A.M., 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.
20. 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.
21. Quinn M.M., Jalalian L., Ribeiro S., Ona K., Demirci U., Cedars M.I., et al. Microfluidic sorting selects sperm for clinical use with reduced DNA damage compared to density gradient centrifugation with swim-up in split semen samples. *Hum. Reprod*. 2018; 33: 1388-93.
22. Galimov Sh.N., Gromenko J.Y., Bulygin K.V., Galimov K.Sh., Galimova E.F., Sinelnikov M.Y. The level of secondary messengers and the redox state of NAD<sup>+</sup>/NADH are associated with sperm quality in infertility. *J. Reprod. Immunol*. 2021; 148: 103383. DOI: 10.1016/j.jri.2021.103383
23. 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
24. Li H., Wan X., Zhao J., Liang X., Dai Y., Li H. Promising novel biomarkers and therapy targets: The application of cell-free seminal nucleotides in male reproduction research. *Transl Res*. 2023; 256: 73-86. doi: 10.1016/j.trsl.2022.12.006
25. Kyrgiagini M., Mamuris Z. Circular RNAs and Their Role in Male Infertility: A Systematic Review. *Biomolecules*. 2023; 13(7): 1046. doi: 10.3390/biom13071046

**Сведения об авторах:**

**Громенко И.Д.**, ассистент каф. биологической химии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России;

**Галимова Э.Ф.**, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, проф. каф. патологической физиологии, доцент

**Салимгареева М.Х.**, зав. отд-нием, ГБУЗ Республиканский медико-генетический центр, Уфа;

**Громенко Р.И.**, ассистент каф. акушерства и гинекологии № 1, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России;

**Галимов Ш.Н.**, зав. каф. биологической химии, проф., ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России;

**Громенко Д.Д.**, ординатор каф. акушерства и гинекологии № 2, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России;

**Галимов К.Ш.**, ассистент каф. патофизиологии, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет).

**Литвицкий П.Ф.**, проф., ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, зав. каф. патофизиологии, член-корр. РАН.