

<https://doi.org/10.29188/2222-8543-2020-13-4-58-64>

# Фрагментация ДНК сперматозоидов. Есть ли связь с основными параметрами спермы и возрастом?

КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

**А.И. Рыжков<sup>1</sup>, И.С. Шорманов<sup>1</sup>, С.Ю. Соколова<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Ярославский государственный медицинский университет, ул. Революционная, д. 5, г. Ярославль, 150000, Россия

<sup>2</sup> Клиника «Мать и Дитя Ярославль», ул. 5-я Яковлевская, д. 17, г. Ярославль, 150062, Россия

**Контакт:** Рыжков Алексей Игоревич, 1129682@gmail.com

## Аннотация:

**Введение.** Стандартное спермиологическое исследование, выполняемое согласно руководству ВОЗ, остается на сегодняшний день основным методом оценки мужской фертильности. Вместе с тем, данный метод исследования имеет ряд существенных ограничений, в том числе низкую прогностическую ценность в отношении результатов программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) и исходов беременности, достигнутой естественным путем. Ограничения стандартного спермиологического исследования диктуют необходимость использования дополнительных методов оценки мужской фертильности. В качестве наиболее перспективного и широко используемого теста выступает оценка уровня фрагментации ДНК сперматозоидов.

**Цель.** Изучение связи уровня фрагментации ДНК сперматозоидов с возрастом пациентов и следующими параметрами стандартного спермиологического исследования: объем спермы, общее количество сперматозоидов, доля прогрессивно-подвижных, непрогрессивно-подвижных и неподвижных форм, процент морфологически нормальных форм и доля дефектов головки в структуре морфологических аномалий, количество лейкоцитов в сперме.

**Материалы и методы.** Материалом для исследования послужили результаты обследования 121 мужчины в возрасте от 21 года до 53 лет (средний возраст 32,7±4,5 года), прошедших обследование в клинике «Мать и Дитя Ярославль» в период с января 2019 по апрель 2020 года. Стандартное спермиологическое исследование выполнялось согласно последнему изданию Руководства ВОЗ 2010. Для определения уровня фрагментации ДНК сперматозоидов использовали метод TUNEL.

**Результаты.** Результаты анализа выявили слабую отрицательную связь между уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов (%) и долей прогрессивно-подвижных форм (%) –  $r = -0,26$  ( $p < 0,01$ ). Корреляция фрагментации ДНК сперматозоидов с возрастом и другими параметрами признана статистически незначимой. Вторым этапом анализа продемонстрировал, что повышенная фрагментация ДНК сперматозоидов в 1,8 раза чаще встречается среди пациентов с астенозооспермией (23,6%) по сравнению с пациентами с нормальной подвижностью сперматозоидов (13,1%), ( $p < 0,05$ ).

**Выводы.** Уровень фрагментации ДНК сперматозоидов слабо коррелирует с долей прогрессивно-подвижных форм сперматозоидов (отрицательная связь) и не коррелирует с другими параметрами спермы и возрастом. Частота повышенной фрагментации ДНК сперматозоидов в 1,8 раз чаще встречается у пациентов с астенозооспермией по сравнению с пациентами с нормальной подвижностью сперматозоидов.

**Ключевые слова:** фрагментация ДНК сперматозоидов, параметры спермы, возраст мужчин, мужское бесплодие.

**Для цитирования:** 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. <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2020-13-4-58-64>

<https://doi.org/10.29188/2222-8543-2020-13-4-58-64>

# Sperm DNA fragmentation. Is there a relationship with main semen parameters and age?

CLINICAL STUDY

**A.I. Ryzhkov<sup>1</sup>, I.S. Shormanov<sup>1</sup>, S.Y. Sokolova<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Department of Urology with Nephrology, Yaroslavl State Medical University, Revolutionsnaya Street 5, Yaroslavl, 15000, Russian Federation

<sup>2</sup> Mother and Child Clinic Yaroslavl, 17, 5-ya Yakovlevskaya Street, Yaroslavl, 150062, Russian Federation

**Contacts:** Aleksei I. Ryzhkov, 1129682@gmail.com

## Summary:

**Introduction.** TStandard sperm examination, performed according to WHO guidelines, remains the main method of assessment of male fertility. At the same time, this research method has a number of significant limitations, including a low predictive value regarding the outcomes of assisted reproductive technologies (ART) programs and the outcome of naturally occurring pregnancies. The limitations of standard sperm examination dictate the need for additional methods for assessing male fertility. The most promising and widely used test is the assessment of the level of sperm DNA fragmentation.

**Aim.** To evaluate the associations between the levels of sperm DNA fragmentation and the age of the patients along with the following parameters used as a part of standard sperm analysis: semen volume, total number of spermatozoa, percentages of progressively-mobile, non-progressively-mobile and immobile forms, percentages of morphologically normal forms and the forms bearing head defects within the structure of total number of morphological anomalies, as well as semen leukocyte count.

**Materials and methods.** Study materials were the examination results from 121 males aged from 21 to 53 years old (mean age 32.7±4.5 years old), undergoing an examination within the Clinical Institution «Mother and Child – Yaroslavl» during a time period from January 2019 until April 2020. Standard sperm analysis procedures were carried out according to latest edition of WHO Guidelines (2010). The determinations of germ cell DNA fragmentation levels were performed using the TUNEL method.

**Results.** The test results have revealed a weak negative relation between the sperm DNA fragmentation (%) and the percentage of progressively-mobile forms (%) –

$r = -0.26$  ( $p < 0.01$ ). The correlation of sperm DNA fragmentation with age and other parameters was considered statistically insignificant. The second stage of the analysis have demonstrated that the increased degree sperm DNA fragmentation is 1.8-fold more often found in the patients having signs of astenozoospermia (23.6%) comparing to the patients showing normal degree of spermatozoa mobility (13.1%), ( $p < 0.05$ ).

**Conclusions.** The level of sperm DNA fragmentation correlates with the percentage of progressively-mobile forms of spermatozoa (negative relation) and no correlations were found with other semen parameters and with the age. The rates of increased levels of sperm DNA fragmentation are 1.8-fold more often found in astenozoospermia patients comparing to the patients showing normal degrees of spermatozoa mobility.

**Key words:** sperm DNA fragmentation, sperm parameters, male age, male infertility.

**For citation:** Ryzhkov A.I., Shormanov I.S., Sokolova S.Yu. Fragmentation of sperm DNA. Is there a connection with basic sperm parameters and age? *Experimental and Clinical Urology* 2020(4):58-64. <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2020-13-4-58-64>

## ВВЕДЕНИЕ

Стандартное спермиологическое исследование, выполняемое согласно руководству ВОЗ, остается на сегодняшний день основным методом оценки мужской фертильности [1]. Вместе с тем, данный метод исследования имеет ряд существенных ограничений, в том числе низкую прогностическую ценность в отношении результатов программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) и исходов беременности, достигнутой естественным путем [2].

Ограничения стандартного спермиологического исследования диктуют необходимость использования дополнительных методов оценки мужской фертильности. В качестве наиболее перспективного и широко используемого теста выступает оценка уровня фрагментации ДНК сперматозоидов. Результаты недавних исследований демонстрируют связь уровня фрагментации ДНК сперматозоидов с нарушением развития эмбрионов в программах ВРТ, вероятностью наступления беременности в программах ВРТ и при естественном зачатии, а также с невынашиванием беременности [2-8].

Вопрос широкого внедрения исследования фрагментации ДНК сперматозоидов в клиническую практику и определение показаний к данному исследованию по-прежнему обсуждается. Важным фактором, ограничивающим его использование, является отсутствие стандартизации существующих методов оценки фрагментации ДНК [9]. Дополнительным фактором, ограничивающим широкое внедрение исследования фрагментации ДНК сперматозоидов (ФДС) в диагностику мужского бесплодия, является стоимость. По сравнению с другими тестами на фертильность мужчин, тест на фрагментацию ДНК является дорогостоящим, при этом расходы, как правило, ложатся на пациента. В связи с этим активно изучается корреляция между уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов и стандартными параметрами спермы, что потенциально может позволить отбирать пациентов, которым выполнять исследование фрагментации ДНК сперматозоидов нецелесообразно.

Целью настоящего исследования явилось изучение связи уровня фрагментации ДНК сперматозоидов с по-

казателями стандартного спермиологического исследования и возрастом мужчин.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили результаты обследования 121 мужчины в возрасте от 21 года до 53 лет (средний возраст  $32,7 \pm 4,5$  года), прошедших обследование в клинике «Мать и Дитя Ярославль» в период с января 2019 по апрель 2020 года. Исследование носило ретроспективный характер, в связи с чем, фертильный статус мужчин не уточнялся. Критериями исключения для настоящего исследования были тяжелые формы олигозооспермии (концентрация сперматозоидов менее 1 млн/мл) и азооспермия.

### Спермиологическое исследование

Образцы спермы были собраны в специально отведенном для этого помещении нашей лаборатории с помощью аудиовизуальной стимуляции после 2-5 дней сексуального воздержания. Стандартное спермиологическое исследование выполнялось согласно последнему изданию Руководства ВОЗ [1].

### Исследование уровня фрагментации ДНК сперматозоидов

Повреждение ДНК сперматозоидов оценивали с помощью анализа TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling) на основе проточной цитометрии и сообщали % фрагментации ДНК сперматозоидов, отражая процент сперматозоидов с поврежденной ДНК.

### Статистическая обработка

Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения SPSS 11.0 (SPSS Inc., Чикаго, Иллинойс). С целью выявления взаимосвязи уровня фрагментации ДНК сперматозоидов и стандартных параметров спермы, а также возраста мужчин, был применен метод корреляционного анализа с расчетом коэффициента параметрической корреляции Пирсона. Критерием статистической значимости корреляции считали  $p < 0,05$ . Для интерпретации зависимости силы между параметрами исследования предполагались следующие уровни корреляции:  $< 0,2$  – отсутствие связи,  $0,2-0,4$  – слабая связь,  $0,4-0,7$  – умеренная связь,  $> 0,7$  – сильная связь. Критерий Манна-Уитни использовали ■

для оценки значимости различий непараметрических непрерывных переменных, таких как параметры спермы. Результаты выражены как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследование уровня фрагментации ДНК сперматозоидов у 121 мужчины продемонстрировало значения в интервале от 1% до 45,7%, средний показатель  $11,4 \pm 7,8\%$ . У 30 пациентов уровень фрагментации ДНК был более 15% (среднее значение  $22,0 \pm 7,2\%$ ), а у 91 пациента уровень фрагментации ДНК был менее 15% (среднее значение  $7,9 \pm 3,9\%$ ). В таблице 1 представлены средние значения параметров стандартного спермиологического исследования в общей выборке и в подгруппах с уровнем ФДС <15% и ФДС  $\geq 15\%$ .

Сравнительный анализ групп пациентов с ФДС <15% (n = 91) и ФДС  $\geq 15\%$  (n = 30) не выявил достоверных различий по таким параметрам как возраст пациента, объем эякулята, концентрация сперматозоидов, общая подвижность, доля морфологически нормальных

форм, процент аномалий головки в структуре морфологических дефектов и концентрация лейкоцитов спермы. Достоверные отличия между группами наблюдались только по параметру прогрессивной подвижности и общей подвижности. Среднее значение доли прогрессивно подвижных форм сперматозоидов было значимо выше в группе пациентов ФДС <15% ( $55,07 \pm 18,1\%$ ) по сравнению с группой пациентов с ФДС  $\geq 15\%$  ( $46,2 \pm 19,8\%$ ).

Результаты корреляционного анализа (табл. 2) выявили слабую отрицательную связь между уровнем ФДС и долей прогрессивно-подвижных форм –  $r = -0,26$  ( $p < 0,01$ ). Корреляция ФДС с другими параметрами спермы (объем, концентрация, общая подвижность, нормальная морфология, дефекты головки, концентрация лейкоцитов) и возрастом пациентов признана очень слабой и статистически незначимой.

Дополнительно выполнено парное сравнение частоты встречаемости повышенной ФДС (>15%) в группах нормальный объем спермы/олигоспермия, нормальная концентрация сперматозоидов/олигозооспермия, нормальная морфология/тератозооспермия, нор-

**Таблица 1. Результаты стандартного спермиологического исследования**  
Table 1. Results of a standard sperm examination

Параметр Parameter	Общее среднее значение $\pm$ SD General mean $\pm$ SD	ФДС <15% (n = 91) FDS <15% (n = 91)	ФДС $\geq 15\%$ (n = 30) FDS $\geq 15\%$ (n = 30)	p
Возраст, лет Age, year	34,3 $\pm$ 5,54	34,5 $\pm$ 5,7	33,7 $\pm$ 4,8	0,45
Объем эякулята, мл Volume, ml	3,82 $\pm$ 2,00	3,9 $\pm$ 2,11	3,5 $\pm$ 1,6	0,44
Концентрация, млн/мл Concentration, mln/ml	46,00 $\pm$ 29,5	48,5 $\pm$ 29,7	38,2 $\pm$ 27,9	0,10
Прогрессивная подвижность, % Progressive mobility, %	52,8 $\pm$ 18,8	55,07 $\pm$ 18,1	46,2 $\pm$ 19,8	0,03
Общая подвижность, % Total mobility, %	60,9 $\pm$ 16,5	62,8 $\pm$ 16,0	55,06 $\pm$ 16,9	0,02
Нормальная морфология, % Normal morphology, %	2,0 $\pm$ 1,3	2,1 $\pm$ 1,2	1,8 $\pm$ 1,3	0,30
Доля аномалий головки, % Proportion of head anomalies, %	68,4 $\pm$ 9,1	69,2 $\pm$ 8,8	65,9 $\pm$ 9,6	0,08
Лейкоциты, млн/мл Leukocytes, mln/ml	0,125 $\pm$ 0,05	0,18 $\pm$ 0,15	0,22 $\pm$ 0,23	0,22

**Таблица 2. Корреляции Пирсона уровня фрагментации ДНК сперматозоидов с возрастом и параметрами стандартного спермиологического исследования**  
Table 2. Pearson correlations of the level of sperm DNA fragmentation with age and parameters of standard sperm examination

Параметр Parameter	Коэффициент корреляции Correlation coefficient	p
Возраст, лет Age, year	-0,021	0,820
Объем эякулята, мл Volume, ml	0,010	0,915
Концентрация Concentration	-0,171	0,061
Количество Number	-0,140	0,126
Прогрессивно-подвижных Progressively mobile	<b>-0,262</b>	<b>0,004</b>
Общая подвижность General mobility	-0,053	0,591
Непрогрессивно-подвижных Non-progressive-mobile	0,178	0,050
Неподвижных Non-progressive-mobile	0,130	0,156
Морфология Morphology	-0,157	0,086
Дефекты головки Head defects	-0,053	0,560
Лейкоциты Leukocytes	-0,192	0,013

мальная прогрессивная подвижность сперматозоидов /астенозооспермия (табл. 3).

Результаты анализа продемонстрировали, что повышенная ФДС в 1,8 раз чаще встречается среди пациентов с астенозооспермией (21,4%) по сравнению с пациентами с нормальной подвижностью сперматозоидов (11,8%) ( $p < 0,05$ ). Сравнительный анализ в группах нормальная морфология сперматозоидов/тератозооспермия и нормальное количество сперматозоидов/олигозооспермия, нормальный объем спермы/олигозооспермия не выявил достоверных различий.

**ОБСУЖДЕНИЕ**

Результаты проведенного нами ретроспективного исследования продемонстрировали связь между прогрессивной подвижностью и уровнем ФДС при отсутствии взаимосвязи между уровнем ФДС и возрастом, а также другими параметрами спермы (морфология, общее количество сперматозоидов). Выявленная корреляция между долей прогрессивно-подвижных форм и уровнем ФДС характеризуется как слабая ( $r = -0,26$ ), при этом повышенный уровень ФДС ( $\geq 15\%$ ) в 1,8 раза чаще встречается среди пациентов с астенозооспермией по сравнению с пациентами с нормальной подвижностью сперматозоидов.

Причина взаимосвязи уровня ФДС и прогрессивной подвижности сперматозоидов не совсем ясна. Ве-

роятно, это связано с тем, что упаковка хроматина (замена гистонов на протамины в ядре сперматозоида) и развитие жгутика сперматозоида происходят на одном и том же этапе сперматогенеза – спермиогенезе [10]. Экспериментальные исследования на животных моделях, в которых процесс упаковки хроматина искусственно нарушался за счет снижения экспрессии протамин или переходных белков, продемонстрировали связь нарушенной упаковки хроматина с уровнем аномалий жгутика и низкой подвижностью сперматозоидов [11, 12]. Так же предполагается роль оксидативного стресса, так как избыток активных форм кислорода может приводить к перекисному окислению липидов мембраны сперматозоидов и нарушению подвижности, а транслокация перекисей липидов в ядро может привести к повреждению ДНК сперматозоида [13, 14].

На сегодняшний день, связь между уровнем ФДС и параметрами стандартного спермиологического исследования остается противоречивой. В таблице 4 представлены результаты исследований, изучающих связь ФДС с результатами стандартного спермиологического исследования.

Ни одно из представленных исследований не выявило взаимосвязи между объемом эякулята и уровнем ФДС. Слабая отрицательная корреляция между концентрацией сперматозоидов и уровнем ФДС выявлена в двух из 11 представленных исследований [15, 16]. Значимая отрицательная корреляция доли прогрессивно

**Таблица 3. Частота встречаемости нормальной и повышенной фрагментации ДНК сперматозоидов в подгруппах нормальное значение параметров спермы/отклонение от нормы**

**Table 3. Frequency of occurrence of normal and increased sperm DNA fragmentation in subgroups of normal sperm parameter / deviation from the norm**

Параметр Parameter		Фрагментация ДНК сперматозоидов Sperm DNA fragmentation		Асимптотическая значимость (2-сторонняя) Asymptotic significance (2-sided)
		ФДС <15% FDS <15%	ФДС ≥15% FDS ≥15%	
Объем эякулята Volume	Нормальный объем, % (n) Normal volume, % (n)	95,7% (89)	100,0% (28)	0,641
	Олигозооспермия, % (n) Oligospermia, % (n)	4,3% (4)	0,0% (0)	
Концентрация Concentration	Нормальная концентрация, % (n) Normal concentration, % (n)	87,1% (81)	82,1% (23)	0,157
	Олигозооспермия, % (n) Oligospermia, % (n)	12,9% (12)	17,9% (5)	
Прогрессивная подвижность Progressive mobility	Нормальная прогрессивная подвижность, % (n) Normal progressive mobility, % (n)	88,2% (82)	78,6% (22)	0,036
	Астенозооспермия, % (n) Asthenozoospermia, % (n)	11,8% (11)	21,4% (6)	
Морфология Morphology	Нормальная морфология, % (n) Normal morphology, % (n)	13,2% (12)	10,0% (3)	0,296
	Тератозооспермия, % (n) Teratozoospermia, % (n)	86,8% (79)	90,0% (27)	

подвижных сперматозоидов с уровнем ФДС отмечена в 6 исследованиях, при этом уровень связи варьировал от слабой до умеренной [17-20, 21]. Умеренная отрицательная связь доли морфологически нормальных форм и уровня ФДС наблюдалась в 4 исследованиях, в одном исследовании имела место слабая отрицательная корреляция, а в 5 исследованиях связи между морфологией сперматозоидов и уровнем ФДС не выявлено [10, 15, 20, 22-24]. В одном из представленных исследований продемонстрирована слабая положительная корреляция уровня ФДС с долей аномалий головки в структуре морфологических дефектов [22], в то время как результаты проведенного нами исследования не выявили связи между этими параметрами.

Особого внимания заслуживает исследование P.J. Stahl и соавт., где одни и те же пробы спермы исследовались с использованием сразу двух методов оценки ФДС: SCSA (Sperm chromatin structure assay) и TUNEL [16]. Изучение корреляция уровня ФДС и стандартных параметров спермы показало разные результаты для

каждого из методов. Результаты SCSA демонстрировали достоверную умеренную корреляцию с концентрацией сперматозоидов и общей подвижностью сперматозоидов, в то время как результаты TUNEL коррелировали только с общей подвижностью сперматозоидов, и корреляция была очень слабой (табл. 4). Результаты данного исследования ставят под сомнение возможность сравнения результатов исследований, использующих разные методы оценки уровня ФДС.

В определенной степени использование различных методов оценки ФДС могло бы объяснить противоречивые данные исследований, оценивающих корреляцию уровня ФДС и параметров стандартного спермиологического исследования. Прямые (TUNEL) и непрямые (SCD (Sperm Chromatin Dispersion), SCSA) методы оценки ФДС имеют концептуальное различие. Непрямые методы, являются мерой «потенциального» повреждения ДНК сперматозоидов, в отличие от прямых методов, выявляющих «реальное» повреждение ДНК сперматозоидов [25]. Сопоставление результатов

**Таблица 4. Результаты исследований, изучавших связь фрагментации ДНК сперматозоидов с результатами стандартного спермиологического исследования**

**Table 4. Results of studies investigating the relationship of sperm DNA fragmentation with the results of standard sperm examination**

		Метод оценки ФДС FDS estimation method	Подгруппы Subgroups	Дни воздержания Days of abstinence	Объем Volume	Концентрация Concentration	Прогрессивно-подвижные формы Progressively mobile forms	Общая подвижность General mobility	Жизнеспособность Viability	Морфология Morphology	Аномалии головки Anomalies of the head penis
Keshteli S.H., 16 [10]	7	SCD				-0,05 <sup>NS</sup>		-0,15 <sup>NS</sup>		-0,60**	
Belloc. S., 2014 [17]	13	TUNEL	астенозооспермия			-0,002 <sup>NS</sup>	<b>0,18**</b>			-0,13 <sup>NS</sup>	
	53		Оолигозооспермия			0,14 <sup>NS</sup>	-0,08 <sup>NS</sup>			-0,1 <sup>NS</sup>	
	18		тератозооспермия			-0,13 <sup>NS</sup>	<b>-0,26**</b>			-0,12 <sup>NS</sup>	
Evgeni E., 2015 [18]	69	CD	пормоспермия		0,374 <sup>NS</sup>	-0,036 <sup>NS</sup>	-0,175 <sup>NS</sup>			-0,211 <sup>NS</sup>	
			патоспермия		-0,017 <sup>NS</sup>	-0,189 <sup>NS</sup>	<b>-0,536**</b>		-0,180 <sup>NS</sup>		
Le M.T., 2019 [22]	18	CD			-0,022 <sup>NS</sup>	-0,080 <sup>NS</sup>	-0,168 <sup>*</sup>		-0,85 <sup>NS</sup>	<b>0,55*□</b>	<b>0,202**</b>
Brahem S., 2012 [23]	0	UNEL						<b>0,646**</b>	<b>0,878**○</b>	<b>0,434**□</b>	
Samplaski M.K., 2015[31]	049	CD							<b>-0,83**</b>		
Al Omrani B., 2018 [19]	4	CD	ФДС < 15%		-0,06 <sup>NS</sup>	-0,02 <sup>NS</sup>	<b>-0,36*</b>			-0,096 <sup>NS</sup>	
			ФДС 15–30%		00,209 <sup>NS</sup>	-0,133 <sup>NS</sup>	-0,334 <sup>NS</sup>			-0,018 <sup>NS</sup>	
			ФДС > 30%		00,18 <sup>NS</sup>	-0,009 <sup>NS</sup>	-0,334 <sup>NS</sup>			0,198 <sup>NS</sup>	
Gill K., 2019 [15]	67	CD			-0,010 <sup>NS</sup>	<b>-0,289**</b>	<b>-0,524**</b>		<b>-0,524**</b>	<b>-0,457**</b>	
Stahl P.J., 2015 [16]	12	CSA			-0,06 <sup>NS</sup>	<b>-0,34**</b>		<b>-0,45**</b>		-0,1 <sup>NS</sup>	
		UNEL			-0,1 <sup>NS</sup>	-0,01 <sup>NS</sup>		<b>-0,15*</b>		0,06 <sup>NS</sup>	
Yuan M., 2019 [20]	39	CSA		<b>0,332*</b>		0,157 <sup>NS</sup>	<b>-0,266*</b>		<b>-0,194*</b>	<b>-0,248*</b>	<b>-0,191*</b>
Homa S.T., 2019 [21]	96	CSA			<b>-0,486**</b>	<b>0,539**</b>	<b>-0,572**</b>	<b>-0,19*</b>			

**Примечание.** Достоверность выявленной корреляции: NS – статистически недостоверна, \* $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,001$ ; ○ – корреляция с % нежизнеспособных форм; □ – корреляция с долей морфологически аномальных форм

**Note.** Significance of the revealed correlation: NS - statistically insignificant, \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,001$ ; ○ – correlation with % of non-viable forms; □ - correlation with the proportion of morphologically abnormal forms

методов противоречивы. В рассмотренном ранее исследовании P.J. Stahl и соавт. результаты SCSA слабо коррелировали с результатами TUNEL ( $r = 0,31$ ,  $p < 0,0001$ ), а вероятность того, что результаты анализа, выполненного одним методом, продемонстрируют нормальные значения, а при исследовании другим методом выявят повышенную ФДС – высокая (41%) [16]. В то же время ряд других исследований, со значительно меньшим объемом выборки, демонстрирует противоположный результат – высокую корреляцию результатов SCSA и TUNEL (коэффициент корреляции от 0,71 до 0,99) [25-27].

При этом, если мы обратимся к 3 исследованиям, использующим для оценки ФДС метод TUNEL, который применен в настоящем исследовании, то увидим, что их результаты так же не сопоставимы [16, 17, 23].

В наиболее крупном из представленных исследований S. Belloc и соавт. изучалась корреляция уровня ФДС и стандартных параметров спермы у 1084 мужчин с изолированными формами патозооспермии (астенозооспермия, тератозооспермия, олигозооспермия). Корреляция отмечена только между уровнем ФДС и прогрессивной подвижностью сперматозоидов в группах с изолированной астено- и тератозооспермией. Кроме этого, высокий уровень ФДС ( $> 30\%$ ) достоверно чаще ( $p < 0,00001$ ) наблюдался у мужчин с астенозооспермией (31%) по сравнению с пациентами с олигозооспермией (18%) и тератозооспермией (19%) [17].

Интересные данные получены в другом исследовании, где оценивалась связь между уровнем ФДС и жизнеспособностью сперматозоидов. Исходная выборка состояла из 50 пациентов с некрозооспермией и 20 пациентов с нормальным уровнем жизнеспособных сперматозоидов, что безусловно не позволяет экстраполировать результаты полученного исследования на мужскую популяцию в целом. Результаты исследования продемонстрировали сильную положительную связь доли нежизнеспособных сперматозоидов с уровнем ФДС ( $r = 0,878$ ;  $p = 0,001$ ). Кроме того, была выявлена

статистически значимая отрицательная корреляция между уровнем ФДС и подвижностью сперматозоидов ( $r = -0,646$ ;  $p = 0,001$ ), а также положительная корреляция ФДС с долей морфологически аномальных сперматозоидов ( $r = 0,434$ ;  $p = 0,001$ ) [23].

Определенный вклад в высокую вариабельность результатов исследований с использованием одного и того же метода оценки ФДС вносит отсутствие методологической стандартизации методов оценки ФДС [28]. Из трех исследований, использующих для оценки ФДС метод TUNEL, только в одном применяли проточную цитометрию [17], два других исследования использовали флюоресцентную микроскопию [16,23] для идентификации разрывов ДНК.

В нашем исследовании не выявлено взаимосвязи уровня ФДС с возрастом мужчин, в то время как большинство исследований демонстрирует повышение уровня ФДС с увеличением возраста [29,30]. Полученные результаты, вероятно, связаны с неоднородной возрастной структурой выборки – возраст 74% мужчин, находился в диапазоне от 30-40 лет, 14% в интервале от 20 до 30 лет, 9% в возрасте от 40 до 50 лет и лишь у 3% был возрасте старше 50 лет. Существенным ограничением нашего исследования является то, что мы не выявляли факторы образа жизни (курение, потребление алкоголя, тепловые процедуры) и сопутствующую патологию (варикоцеле, ожирение), которые потенциально могли повлиять на уровень ФДС и исказить результаты корреляционного анализа.

## ВЫВОДЫ

Результаты нашего исследования демонстрируют взаимосвязь между уровнем ФДС и долей прогрессивно-подвижных форм сперматозоидов. Тем не менее, слабый характер выявленной взаимосвязи диктует необходимость рассматривать исследование ФДС как самостоятельный тест в оценке мужской фертильности. ■

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Organization WH, Cooper TG. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. Book WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen; Editor, 2010.
2. Guzik DS, Overstreet JW, Factor-Litvak P, Brazil CK, Nakajima S. T., Coutifaris C, et al. Sperm morphology, motility, and concentration in fertile and infertile men. *N Engl J Med* 2001; 345(19):1388-93. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa003005>.
3. Tan J, Taskin O, Albert A, Bedaiwy MA. Association between sperm DNA fragmentation and idiopathic recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online* 2019;38(6):951-960. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2018.12.029>.
4. The clinical utility of sperm DNA integrity testing: a guideline. *Fertil Steril* 2013;99(3):673-7.
5. Spanò M, Bonde JP, Hjøllund HI, Kolstad HA, Cordelli E, Leter G. Sperm chromatin damage impairs human fertility. The Danish First Pregnancy Planner Study Team. *Fertil Steril* 2000;73(1):43-50. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(99\)00462-8](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(99)00462-8).
6. Evenson DP, Jost LK, Marshall D, Zinaman MJ, Clegg E, Purvis K, et al. Utility of the sperm chromatin structure assay as a diagnostic and prognostic tool in the human fertility clinic. *Hum Reprod* 1999;14(4):1039-49. <https://doi.org/10.1093/humrep/14.4.1039>.
7. Robinson L, Gallos ID, Conner SJ, Rajkhowa M, Miller D, Lewis S, et al. The effect of sperm DNA fragmentation on miscarriage rates: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod* 2012;27(10):2908-17. <https://doi.org/10.1093/humrep/des261>.
8. Zini A, Boman JM, Belzile E, Ciampi A. Sperm DNA damage is associated with an increased risk of pregnancy loss after IVF and ICSI: systematic review and meta-analysis.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- sis. *Hum Reprod* 2008;23(12):2663-8. <https://doi.org/10.1093/humrep/den321>.
9. Simon L, Emery B, Carrell DT. Sperm DNA Fragmentation: Consequences for Reproduction. *Adv Exp Med Biol* 2019; 1166:87-105. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-21664-1\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-030-21664-1_6).
10. Hasanzadeh Keshteli S, Farsi MM, Khafri S. Should We Perform Semen Analysis, DNA Fragmentation and Hypo-osmotic Swelling Tests together? *Int J Mol Cell Med* 2016;5(4):246-254.
11. Cho C, Willis WD, Goulding EH, Jung-Ha H, Choi YC, Hecht NB, et al. Haploinsufficiency of protamine-1 or -2 causes infertility in mice. *Nat Genet* 2001;28(1):82-6.
12. Yu YE, Zhang Y, Unni E, Shirley CR, Deng JM, Russell LD, et al. Abnormal spermatogenesis and reduced fertility in transition nuclear protein 1-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(9):4683-8. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.9.4683>.
13. Lewis SE, Aitken RJ. DNA damage to spermatozoa has impacts on fertilization and pregnancy. *Cell Tissue Res* 2005 Oct;322(1):33-41. <https://doi.org/10.1007/s00441-005-1097-5>.
14. Muratori M, Piomboni P, Baldi E, Filimberti E, Pecchioli P, Moretti E, et al. unctional and ultrastructural features of DNA-fragmented human sperm. *J Androl* 2000; 21(6):903-12.
15. Gill K, Jakubik J, Rosiak-Gill A, Kups M, Lukaszuk M, Kurpisz M, 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. <https://doi.org/10.3390/ijerph16112004>
16. Stahl PJ, Cogan C, Mehta A, Bolyakov A, Paduch DA, Goldstein M. Concordance among sperm deoxyribonucleic acid integrity assays and semen parameters. *Fertility and Sterility* 2015; 104(1):56-61.
17. Belloc S, Benkhalifa M, Cohen-Bacrie M, Dalleac A, Chahine H, Amar E, et al. Which isolated sperm abnormality is most related to sperm DNA damage in men presenting for infertility evaluation. *J Assist Reprod Genet* 2014;31(5):527-532. <https://doi.org/10.1007/s10815-014-0194-3>.
18. Evgeni E, Lymberopoulos G, Touloupidis S, Asimakopoulos B. Sperm nuclear DNA fragmentation and its association with semen quality in Greek men. *Andrologia* 2015;47(10):1166-74. <https://doi.org/10.1111/and.12398>.
19. Al Omrani B, Al Eisa N, Javed M, Al Ghedan M, Al Matrafi H, Al Sufyan H. Associations of sperm DNA fragmentation with lifestyle factors and semen parameters of Saudi men and its impact on ICSI outcome. *Reprod Biol Endocrinol* 2018;16(1):49. <https://doi.org/10.1186/s12958-018-0369-3>.
20. Yuan M, Huang L, Leung WT, Wang M, Meng Y, Huang Z, et al. Sperm DNA fragmentation valued by SCSA and its correlation with conventional sperm parameters in male partner of recurrent spontaneous abortion couple. *Biosci Trends* 2019;13(2):152-159. <https://doi.org/10.5582/bst.2018.01292>.
21. Homa ST, Vassiliou AM, Stone J, Killeen AP, Dawkins A, Xie J, et al. A Comparison Between Two Assays for Measuring Seminal Oxidative Stress and their Relationship with Sperm DNA Fragmentation and Semen Parameters. *Genes (Basel)* 2019;10(3):236. <https://doi.org/10.3390/genes10030236>.
22. Le MT, Nguyen TA T, Nguyen H TT, Nguyen T TT, Nguyen VT, Le DD, et al. Does sperm DNA fragmentation correlate with semen parameters? *Reproductive medicine and biology* 2019;18(4):390-396.
23. Brahm S, Jellad S, Ibala S, Saad A, Mehdi M. DNA fragmentation status in patients with necrozoospermia. *Syst Biol Reprod Med* 2012;58(6):319-23. <https://doi.org/10.3109/19396368.2012.710869>.
24. Cho C, Willis WD, Goulding EH, Jung-Ha H, Choi Y-C, Hecht NB., et al. Haploinsufficiency of protamine-1 or -2 causes infertility in mice. *Nature Genetics* 2001;28(1):82-86.
25. Henkel R, Hoogendijk CF, Bouic PJ, Kruger TF. TUNEL assay and SCSA determine different aspects of sperm DNA damage. *Andrologia* 2010;42(5):305-13. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.2009.01002.x>.
26. Chohan KR, Griffin JT, Lafromboise M, De Jonge CJ, Carrell DT. Comparison of Chromatin Assays for DNA Fragmentation Evaluation in Human Sperm. *J Androl* 2006;27(1):53-9. <https://doi.org/10.2164/jandrol.05068>.
27. Zini A, Bielecki R, Phang D, Zenzes MT. Correlations between two markers of sperm DNA integrity, DNA denaturation and DNA fragmentation, in fertile and infertile men. *Fertil Steril* 2001;75(4):674-7. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(00\)01796-9](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(00)01796-9).
28. Chi HJ, Chung DY, Choi SY, Kim JH, Kim GY, Lee JS, et al. Integrity of human sperm DNA assessed by the neutral comet assay and its relationship to semen parameters and clinical outcomes for the IVF-ET program. *Clin Exp Reprod Med* 2011;38(1):10-7. <https://doi.org/10.5653/cerm.2011.38.1.10>.
29. Johnson SL, Dunleavy J, Gemmel NJ, Nakagawa S. Consistent age-dependent declines in human semen quality: a systematic review and meta-analysis. *Ageing Res Rev* 2015;19:22-33. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2014.10.007>.
30. Paoli D, Pecora G, Pallotti F, Faja F, Pelloni M, Lenzi A, et al. Cytological and molecular aspects of the ageing sperm. *Hum Reprod* 2019;34(2):218-227.
31. Samplaski MK, Dimitromanolakis A, Lo KC, Grober ED, Mullen B, Garbens A, et al. The relationship between sperm viability and DNA fragmentation rates. *Reprod Biol Endocrinol* 2015;13:42. <https://doi.org/10.1186/s12958-015-0035-y>.

## Сведения об авторах:

Рыжков А.И. – к.м.н., доцент кафедры урологии с нефрологией ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России; Ярославль, Россия; 1129682@gmail.com, РИНЦ AuthorID 715193

Шорманов И.С. – д.м.н., заведующий кафедрой урологии с нефрологией ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России; Ярославль, Россия; i-s-shormanov@yandex.ru, РИНЦ AuthorID 584874

Соколова С.Ю. – врач-уролог клиники «Мать и Дитя Ярославль»; Ярославль, Россия; ntvbyfntnrf@mail.ru

## Вклад авторов:

Рыжков А.И. – концепция и дизайн исследования, статистическая обработка, написание текста, 40%  
Шорманов И.С. – концепция и дизайн исследования, 30%  
Соколова С.Ю. – сбор и обработка материала, 30%

**Конфликт интересов:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование:** Исследование проведено без спонсорской поддержки.

**Статья поступила:** 31.08.20

**Принята к публикации:** 01.10.20

## Information about authors:

Ryzhkov A.I. – PhD, docent of Department of Urology with Nephrology, Yaroslavl State Medical University, ; Yaroslavl, Russia; 1129682@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7919-9830>

Shormanov I.S. – Dr.Sc, head of Department of Urology with Nephrology, Yaroslavl State Medical University, i-s-shormanov@yandex.ru; Yaroslavl, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-2062-0421>

Sokolova S.Yu. – urologist of the «Mother and Child Clinic Yaroslavl», ntvbyfntnrf@mail.ru; Yaroslavl, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3673-0713>

## Authors' contributions:

Ryzhkov A.I. – developing and research design, analyzing statistical data, article writing, 40%  
Shormanov I.S. – developing and research design, 30%  
Sokolova S.Y. – obtaining and processing data, 30%

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

**Financing.** The study was performed without external funding.

**Received:** 31.08.20

**Accepted for publication:** 01.10.20



**МИРАКСАНТ®** – современный комплекс с уникальным составом необходимых натуральных компонентов, курсовой прием которого, эффективно и безопасно помогает решить проблему мужского (идиопатического) бесплодия.

✓ **ЕДИНСТВЕННЫЙ КОМПЛЕКС ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ МУЖСКОГО БЕСПЛОДИЯ, СОДЕРЖАЩИЙ В СВОЕМ СОСТАВЕ ИСТОЧНИК АСТАКСАНТИНА - САМОГО МОЩНОГО ПРИРОДНОГО АНТИОКСИДАНТА!**

На фоне приема «МИРАКСАНТА», к третьему месяцу лечения происходит:

- увеличение подвижности сперматозоидов на 22,8%
- увеличение жизнеспособности сперматозоидов на 11,9%
- увеличение средней концентрации сперматозоидов на 9,7%
- положительная динамика к улучшению морфологии сперматозоидов

В ходе лечения, у пациентов не было зарегистрировано каких-либо нежелательных или побочных эффектов.

**«Результаты проведенного исследования, позволяют рекомендовать биологически активный комплекс «МИРАКСАНТ»® в комплексной терапии пациентов с идиопатическим бесплодием, особенно с олигоастенозооспермией»**

Ефремов Е.А., Коршунов М.Н., Золотухин О.В., Мадыкин Ю.Ю., Красняк С.С.  
Экспериментальная и клиническая урология. 2018. №1. Опыт применения комплексного препарата «МИРАКСАНТ» у мужчин с идиопатическим бесплодием в условиях реальной клинической практики.

**SHPHARMA**  
source of healing

Свидетельство о государственной регистрации № RU.77.99.11.003.E.001614.04.19 от 24.04.2019

БАД НЕ ЯВЛЯЕТСЯ ЛЕКАРСТВЕННЫМ СРЕДСТВОМ