

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ЭНДОКРИНОЛОГИИ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

АЛТАШИНА МАРИНА ВИКТОРОВНА

**ФЕРТИЛЬНОСТЬ МУЖЧИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА С
ИЗБЫТОЧНОЙ МАССОЙ ТЕЛА И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОГРАММ
ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ У ДАННОЙ
КАТЕГОРИИ ПАЦИЕНТОВ**

14.01.02 – эндокринология

Диссертация

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор,
член-корреспондент РАН Трошина Е.А.

Научный консультант: кандидат медицинских наук
Витязева И.И.

Москва – 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	10
1.1 Эпидемиология избыточной массы тела, ожирения и бесплодия у мужчин	10
1.2 Избыточная масса тела, ожирение и изменение уровня гормонов в крови	11
1.3 Адипокины и бесплодие	14
1.3.1 Инсулинорезистентность и гипергликемия	17
1.3.2 Дислипидемия	18
1.4 Патофизиологические факторы, влияющие на сперматогенез у мужчин с ожирением.....	19
1.5 Ожирение и макроскопические параметры эякулята.....	21
1.5.1 Патоморфология сперматозоидов.....	23
1.5.1.1 Патология головки сперматозоида.....	23
1.5.1.2 Патология шейки и средней части сперматозоида.....	26
1.5.1.3 Патология жгутика сперматозоида	28
1.6 Ожирение и патология микроструктуры сперматозоидов	30
1.6.1 Метилирование дезоксирибонуклеиновой кислоты	33
1.6.2 Ацетилирование дезоксирибонуклеиновой кислоты.....	34
1.6.3 Рибонуклеиновые кислоты и малые некодирующие рибонуклеиновые кислоты	35
1.6.4 Ожирение и анеуплоидия сперматозоидов	37
1.6.5 Методы исследования структуры дезоксирибонуклеиновой кислоты.	38
1.7 Ожирение у мужчины и вспомогательные репродуктивные технологии	40
1.8 Заключение по обзору литературы.....	44
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	45
2.1 Дизайн исследования.....	45

2.2	Общее клиническое исследование	47
2.3	Специальные методы исследования	48
2.3.1	Семиологический анализ	48
2.3.2	Определение индекса фрагментации дезоксирибонуклеиновой кислоты сперматозоидов	50
2.4	Стимуляция суперовуляции и пункция фолликулов	51
2.5	Оплодотворение и культивирование эмбрионов	53
2.6	Расчетные показатели, измеряемые в протоколах экстракорпорального оплодотворения и экстракорпорального оплодотворения с использованием техники интрацитоплазматической инъекции единичного сперматозоида в цитоплазму ооцита	55
2.7	Статистический анализ	57
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ		58
3.1	Клиническая характеристика обследованных пациентов	58
3.2	Связь между индексом массы тела, показателями липидного профиля и уровнями гормонов в крови	61
3.3	Связь между индексом массы тела, объемом, вязкостью, рН и сроком разжижения эякулята	63
3.4	Связь между индексом массы тела, количеством сперматозоидов в 1 мл эякулята, числом живых сперматозоидов и гаметами с нормальной морфологией	64
3.5	Связь между индексом массы тела и подвижностью сперматозоидов	65
3.6	Связь между индексом массы тела и патологией головки сперматозоидов	66
3.7	Связь между индексом массы тела, патологией шейки, средней части и жгутика сперматозоидов	68
3.8	Связь между индексом массы тела и индексом тератозооспермии	69
3.9	Связь между индексом массы тела и индексом фрагментации дезоксирибонуклеиновой кислоты сперматозоидов	70
3.10	Связь между метаболическими показателями, индексом тератозооспермии и индексом фрагментации дезоксирибонуклеиновой кислоты сперматозоидов	71
3.11	Связь между индексом массы тела мужчины и результатами лечения бесплодия методами экстракорпорального оплодотворения и	

экстракорпорального оплодотворения с использованием техники интрацитоплазматической инъекции единичного сперматозоида в цитоплазму ооцита	72
3.11.1 Связь между индексом массы тела пациентов и эмбриологическими показателями	76
3.11.2 Связь между индексом массы тела пациентов и исходами программ экстракорпорального оплодотворения	78
ГЛАВА 4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ	96
Выводы	102
Практические рекомендации	105
Список сокращений и условных обозначений	106
Список литературы	109

Введение

Актуальность темы исследования

Снижение рождаемости в развитых странах является важнейшей социально-экономической проблемой [1]. По данным российских исследователей, 8–17,8% супружеских пар репродуктивного возраста бесплодны [2; 3]. Мужской фактор как причина бесплодия в браке составляет не менее 50%; в 20–30% случаев имеется сочетание мужского и женского факторов [4].

Мужское бесплодие может быть следствием различных эндокринных, генетических, иммунологических, инфекционных, психологических и некоторых других факторов. Основными причинами эндокринного бесплодия у мужчин считаются заболевания гипоталамо-гипофизарной области, которые сопровождаются нарушением секреции гонадотропных гормонов, в результате чего происходит угнетение сперматогенеза. Возможно, и избыточная масса тела (ИзбМТ), и ожирение негативно влияют на мужскую репродуктивную систему и приводят к инфертильности [5; 6].

За последние 30 лет число мужчин репродуктивного возраста, страдающих ожирением, увеличилось в три раза. По мнению ряда авторов, это является причиной ухудшения как стандартных макроскопических показателей эякулята, так и увеличения повреждений структуры дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) сперматозоидов, что приводит к возрастанию частоты мужского фактора бесплодия. Согласно исследованиям, ожирение у мужчины является неблагоприятным прогностическим фактором при использовании методов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) [7; 8]. Учитывая, что использование этих методов приобретает широкое распространение, изучение данной проблемы крайне актуально.

До настоящего времени в Российской Федерации не проводилось исследования взаимосвязи между ИзбМТ и ожирением у мужчин и макроскопическими

показателями эякулята, фрагментацией ДНК сперматозоидов и исходами лечения бесплодного брака методами экстракорпорального оплодотворения (ЭКО).

Степень разработанности темы исследования

Количество исследований, посвященных выявлению взаимосвязи между избытком жировой ткани в организме мужчин репродуктивного возраста и их фертильностью, несмотря на большое число пациентов и крайнюю актуальность проблемы, невелико. Механизмы влияния ИзбМТ и ожирения на мужскую репродуктивную систему изучены недостаточно. Существование связи между исходами программ ЭКО и индексом массы тела (ИМТ) партнера также не доказано, ввиду ограниченного числа работ, посвященных данной теме. Отсутствуют алгоритмы обследования и лечения этой категории пациентов.

Цель исследования

Исследовать связь между ИзбМТ и ожирением, фертильностью и эффективностью программ ВРТ у мужчин и разработать алгоритм их обследования и лечения.

Задачи исследования

1. Оценить метаболический статус, уровни ряда гормонов в крови и результаты семиологического исследования у пациентов с ИзбМТ и ожирением.
2. Оценить связь между ИзбМТ и ожирением у мужчины и стандартными макроскопическими параметрами эякулята.
3. Выявить взаимосвязь между ИзбМТ и ожирением у мужчины и специфическими нарушениями структуры сперматозоидов: патологиями головки, шейки и средней части, жгутика.
4. Оценить связь между ИзбМТ и ожирением у мужчины и ультраструктурными нарушениями сперматозоидов и определить индекс фрагментации (ИФ) ДНК.

5. Оценить связь между ИзбМТ и ожирением у мужчины и результатами лечения бесплодия методами ВРТ (ЭКО и ЭКО с использованием техники интрацитоплазматической инъекции единичного сперматозоида в цитоплазму ооцита (ЭКО-ИКСИ)).

Научная новизна

В ходе работы впервые в России проведена комплексная оценка влияния ИзбМТ и ожирения у мужчины на метаболический статус, уровни ряда гормонов в крови, стандартные макро- и микроскопические параметры эякулята, специфические структурные изменения сперматозоидов и повреждения ДНК (ИФ) гамет.

Впервые в отечественной практике установлена взаимосвязь между ИзбМТ и ожирением у мужчины и результатами программ ЭКО и ЭКО-ИКСИ.

Теоретическая и практическая значимость работы

Основываясь на полученных данных, сформулированы рекомендации по ведению мужчин с ИзбМТ, ожирением и бесплодием, в том числе схема обследования и подготовки пациентов перед вступлением в программы ВРТ. Полученный алгоритм внедрен в практику и активно используется в отделении ВРТ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

Положения, выносимые на защиту

1. Изменения уровней липидов и гормонов в крови у пациентов с ИзбМТ и ожирением, вероятно, сопровождаются снижением их фертильности и могут быть одними из причин бесплодия.
2. Выявлено, что для пациентов с ИзбМТ и ожирением характерно ухудшение макроскопических показателей эякулята.

3. У пациентов с ИзбМТ и ожирением доля сперматозоидов с нарушениями структуры головки и шейки выше, чем у лиц с нормальным ИМТ.
4. ИзбМТ и ожирение у мужчин сопровождаются увеличением числа гамет с фрагментированной ДНК, что приводит к повышению ИФ.
5. ИзбМТ и ожирение у мужчин являются факторами, снижающими эффективность программ ВРТ за счет снижения частоты родов; при наличии у партнера ожирения также отмечается уменьшение числа оплодотворившихся ооцитов и наступления беременности.

Апробация результатов

Официальная апробация диссертационной работы состоялась 2 ноября 2017 г. на расширенной межотделенческой научной конференции ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

Работа выполнена на базе отделений Вспомогательных репродуктивных технологий Института репродуктивной эндокринологии (директор — д.м.н. Андреева Е.Н.) и Терапевтической эндокринологии Института клинической эндокринологии (директор — академик РАН Мельниченко Г.А.) ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (директор — академик РАН Дедов И.И.).

Результаты работы были представлены на II Всероссийском конгрессе с участием стран СНГ «Инновационные технологии в эндокринологии» (Москва, 2014 г.), VII Всероссийском конгрессе эндокринологов (Москва, 2016 г.), I Всероссийской конференции «Репродуктивное здоровье женщин и мужчин» (Москва, 2016 г.), XXVI международной конференции РАРЧ «Репродуктивные технологии сегодня и завтра» (Москва, 2016 г.), II Всероссийской конференции «Репродуктивное здоровье женщин и мужчин» (Москва, 2017 г.).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, в том числе 2 статьи в отечественных рецензируемых журналах, входящих в перечень ВАК.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 126 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследования, главы результатов собственных исследований и обсуждения результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений. Список использованной литературы включает 142 источника литературы (из них 14 отечественные и 128 зарубежные). Работа иллюстрирована 19 таблицами и 4 рисунками.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Эпидемиология избыточной массы тела, ожирения и бесплодия у мужчин

На протяжении последних десятилетий число людей с ИзбМТ и ожирением стремительно растет. Согласно Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в настоящее время ИзбМТ (индекс массы тела, $ИМТ \geq 25,0 \text{ кг/м}^2$) диагностируют у 39%, а ожирение ($ИМТ \geq 30,0 \text{ кг/м}^2$) – у 13% всего взрослого населения планеты; по сравнению с 1980-ми гг. этот показатель почти удвоился. Самый значительный прирост пациентов с ИзбМТ и ожирением отмечается среди мужчин: более 200 млн мужчин старше 20 лет имеют ожирение [9; 10; 11]. Вместе с тем, за последние десятилетия отмечается прогрессивное ухудшение семиологических показателей. Известно, что количество сперматозоидов в эякуляте у американских мужчин репродуктивного возраста уменьшается на 1,5% каждый год. Подобная тенденция также наблюдается в Европе и Австралии [12].

Снижение рождаемости в развитых странах является важнейшей социально-экономической проблемой [13]. По данным исследователей, одна из семи супружеских пар бесплодна [14]. Мужской фактор как причина бесплодия в браке составляет не менее 50% [13]. Эпидемиологические исследования показывают, что супружеские пары, в которых партнер имеет высокий ИМТ, чаще страдают бесплодием и обращаются для лечения методом ЭКО из-за мужского фактора [7; 8].

Механизмы, посредством которых избыток жировой ткани в организме негативно влияет на мужскую репродуктивную систему и приводит к инфертильности, до конца не ясны. Доказано, что жировая ткань является эндокринным органом, который не только конвертирует андрогены в эстрогены за счет фермента ароматазы, но и самостоятельно секретирует множество биологически активных веществ — адипоцитокинов (адипокинов), которые регулируют работу гипоталамо-гипофизарно-яичковой оси (ГГЯО). Возникающие вследствие этого изменения уровней гормонов, а также инсулинорезистентность,

состояние хронического воспаления и оксидативного стресса, предположительно, негативно влияют и на репродуктивную систему мужчины [15].

Ряд авторов отмечают, что ожирение у мужчины является фактором, снижающим вероятность наступления беременности и родов у партнерш при использовании методов ВРТ [16; 17]. В числе возможных причин называют повреждение ДНК сперматозоидов и ослабление акросомальной реакции, выявляемые, по данным исследованиям, у лиц с ИзбМТ и ожирением [3; 18].

1.2 Избыточная масса тела, ожирение и изменение уровня гормонов в крови

Сниженные уровни тестостерона (Т) и глобулина, связывающие половые гормоны (ГСПГ) в крови на фоне гиперэстрогемии — характерные изменения, выявляемые у пациентов с ИзбМТ и ожирением [19; 20; 21]. В ходе Европейского исследования мужского старения с участием 3219 мужчин показано, что у мужчин с ИзбМТ и ожирением риск развития нормогонадотропного гипогонадизма (концентрация общего Т в крови $< 12,1$ нмоль/л на фоне нормального уровня лютеинизирующего гормона (ЛГ)) соответственно в 3,3 и 8,7 раз выше, чем у мужчин с нормальным ИМТ. Плазменные концентрации общего и свободного Т у пациентов с ИзбМТ и ожирением были статистически значимо ниже по сравнению с группой пациентов с нормальным ИМТ [22]. Аналогичные результаты получили Dhindsa S. и соавт.: при обследовании 1849 мужчин с ожирением у 40% пациентов был выявлен сниженный уровень Т в плазме крови [23]. Замечено, что выраженность дефицита Т положительно коррелирует с ИМТ: по данным Allan C.A. и соавт., у мужчин с ИМТ $> 35\text{--}40$ кг/м² концентрации общего и свободного Т более чем на 50% ниже, чем у мужчин с нормальным ИМТ [24].

Одним из возможных механизмов, изменяющих уровни гормонов в крови у мужчин с ИзбМТ и ожирением, является повышение ароматизации андрогенов за счет фермента ароматазы белой жировой ткани, что приводит к возрастанию в крови концентрации эстрадиола (Е2) [22]. Инсулинорезистентность и

гиперинсулинемия, характерные для лиц с ожирением, сопровождаются уменьшением синтеза ГСПГ в печени, что также увеличивает свободную фракцию E2, высокий уровень которого, предположительно, за счет отрицательной обратной связи, подавляет выработку гонадотропинов [25].

В настоящее время данные о влиянии ожирения у мужчины на работу ГГЯО противоречивы. Pauli E.M. и соавт. при обследовании 87 мужчин с ожирением не выявили снижения уровня ЛГ [26]. Другие исследователи, напротив, считают, что избыток жировой ткани у мужчин оказывает негативный эффект на выработку гонадотропинов. Hammoud A.O. и соавт. выявили уменьшение амплитуды секреции ЛГ, снижение суммарной секреции ЛГ и фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) в течение суток у мужчин с морбидным ожирением [27]. Chavarro J.E. и соавт. в исследовании с участием 362 пациентов с ожирением также отметили статически значимые снижения концентраций ЛГ и ФСГ у лиц с ИМТ ≥ 35 кг/м² [28]. Согласно Fui M.N.T. и соавт. у мужчин с ИзбМТ и ожирением, несмотря на дефицит Т, как правило, концентрации ЛГ и ФСГ нормальные или несколько ниже нормы, что позволяет предположить наличие супрессии на гипоталамо-гипофизарном уровне [22].

Влияния ИМТ на уровень пролактина (ПРЛ) по данным нескольких исследований отмечено не было [29].

Гиперэстрогемия на фоне нормальных или пониженных концентраций гонадотропинов подавляет выработку Т клетками Лейдига, что было подтверждено результатами ряда исследований. Так, Gregoriou O. и соавт. изучили влияние препаратов ингибиторов ароматазы (I группа пациентов получала по 2,5 мг Летрозола, II — 1,0 мг Анастрозола 1 раз в день) на гормональный статус и семиологические показатели у бесплодных мужчин с ИзбМТ и ожирением (ИМТ $30 \pm 2,82$ кг/м²). У всех пациентов до начала лечения уровень E2 был повышен, общего Т — снижен; соотношение Т/E2 также было низким. После 6 месяцев приема препаратов в обеих группах пациентов было выявлено статистически значимое возрастание концентраций Т и соотношение Т/E2, на фоне снижения уровня E2 в крови. Также было отмечено увеличение

объема эякулята, общего количества сперматозоидов в эякуляте и числа подвижных гамет [30].

Эти данные могут свидетельствовать в пользу того, что причина вышеперечисленных изменений – избыток жировой ткани. Еще одним доказательством является увеличение уровня Т в крови при снижении массы тела, что было показано многими авторами. Niskanen L. и соавт. в течение 9 недель наблюдали 58 мужчин с ожирением, находившихся на низкокалорийной диете. Было выявлено статистически значимое повышение концентраций ГСПГ, общего и свободного Т на фоне снижения ИМТ [31]. Corona G. и соавт. получили аналогичные результаты, наблюдая за пациентами, которым было проведено хирургическое лечение ожирения. После снижения ИМТ выявлено повышение уровня общего Т, ГСПГ и гонадотропинов [32].

Согласно исследованиям, у мужчин с ИзбМТ и ожирением отмечается снижение уровня ингибина В, который отражает число клеток Сертоли в яичках и является маркером эффективности сперматогенеза [28; 33]. Показано, что у пациентов с ожирением концентрация ингибина В на 26% ниже, чем у мужчин с нормальным ИМТ [5]. Предположительно, это свидетельствует о снижении числа клеток Сертоли, что может быть одной из причин уменьшения числа сперматозоидов в эякуляте у данной категории пациентов.

Известно, что в норме интратестикулярная концентрация Т более чем в 100 раз выше плазменной [26]. С увеличением ИМТ происходит уменьшение не только уровня Т в крови, но и снижение его концентрации локально в ткани яичек. Адгезия клеток Сертоли со сперматидами зависит от уровня интратестикулярного Т: при его снижении происходит задержка развития и фагоцитоз ранних клеток сперматогенеза, что приводит к олигозооспермии. Этот механизм, вероятно, лежит в основе ухудшения показателей эякулята, выявляемых у мужчин с ИзбМТ и ожирением [34].

Не менее важное влияние на репродуктивную систему мужчин с ИзбМТ и ожирением, возможно, оказывают вырабатываемые в жировой ткани адипокины,

цитокины и хемокины, концентрации которых с увеличением жировой ткани в организме изменяются.

1.3 Адипокины и бесплодие

На сегодняшний день известно более 100 биологически активных веществ, вырабатываемых белой жировой тканью, которые обобщенно называют адипоцитокинами (адипокинами). Адипокины оказывают как системное влияние на организм (участвуют в терморегуляции и пищевом поведении; развитии атеросклероза; метаболизме глюкозы, жирных кислот, инсулина; стимулируют ангиогенез и иммунные процессы), так и воздействуют локально в тканях [35]. С увеличением количества жировой ткани в организме происходит изменение концентраций адипокинов: уровень лептина, резистина, С-реактивного белка (С-РБ), фактора некроза опухоли α (ФНО- α) и интерлейкина 6 (ИЛ-6) возрастает, адипонектина — снижается [36]. Обнаружение рецепторов к лептину, грелину и адипонектину на всех уровнях ГГЯО предполагает важную роль адипокинов в регуляции репродуктивной функции [35; 37; 38]. Однако влияние адипокинов на функционирование репродуктивной системы изучено мало.

Основными биологическими эффектами лептина являются регуляция аппетита, контроль массы тела и стимулирование гипоталамо-гипофизарной оси [35; 36]. В опытах на самцах мышей, которые имели мутацию в гене лептина (*ob/ob*-мыши), было отмечено развитие ожирения, гипогонадотропного гипогонадизма и бесплодия. На фоне приема лептина у животных происходило развитие семенников и восстановление фертильности, что доказывает факт наступления беременности у самок после спаривания с *ob/ob*-самцами и рождение здорового потомства [39]. Подобный эффект объясняют стимулирующим влиянием лептина на гипоталамус, что индуцирует продукцию гонадотропин релизинг гормона и значительно повышает выработку ЛГ [35].

Не менее важное воздействие лептин оказывает на периферические звенья ГГЯО. Согласно Zorn В. и соавт., гиперлептинемия у мужчин ассоциирована с

нарушением функции клеток Лейдига и снижением выработки Т [39]. Лептин присутствует в семенной плазме; рецепторы к лептину обнаружены на сперматозоидах [18]. Было выявлено, что лептин участвует в регуляции обмена холестерина (ХС) и фосфорилировании тирозина, таким образом, играя важную роль в капацитации сперматозоидов (приобретение способности проникать через оболочку яйцеклетки), модуляции их метаболизма и подвижности [40]. Jahan S. и соавт. выявили, что повышенная концентрация лептина в семенной плазме отрицательно коррелирует с прогрессивной подвижностью сперматозоидов [41]. В то же время другие исследователи не обнаруживают подобного влияния лептина на метаболизм и подвижность сперматозоидов [42].

У мужчин с ИзбМТ и ожирением уровни лептина в крови и семенной плазме повышены, однако, в связи с развитием лептинорезистентности, биологические эффекты лептина ослаблены [36]. Возможно, это является одной из причин снижения уровня гонадотропинов и Т, выявляемое, согласно результатам исследований, у пациентов с ожирением и ИзбМТ [22-25]. Высокий уровень лептина в семенной плазме, предположительно, ухудшает макро- и микроскопические параметры эякулята [36].

Известно, что резистин оказывает провоспалительный эффект, стимулируя выработку ФНО- α и ИЛ-6. Кроме того, резистин играет важную роль в развитии инсулинорезистентности, таким образом, вероятно, оказывая подавляющее влияние на репродуктивную систему [43]. На сегодняшний день не ясно, способен ли резистин напрямую воздействовать на мужскую репродуктивную систему: в экспериментах на животных была выявлена способность к синтезу резистина гипоталамусом, гипофизом и яичками, однако, неизвестно, присутствуют ли подобные рецепторы у людей [44].

Грелин преимущественно вырабатывается клетками слизистой оболочки желудка [45]. Информация о том, как избыточный вес влияет на концентрацию грелина, противоречива: Alvarez-Castro P. и соавт. выявили, что с увеличением ИМТ уровень грелина в крови снижается, в то время как Wadden D. и соавт. подобной информации не подтверждают [46; 47]. Согласно результатам

исследований, грелин способен подавлять выработку ЛГ и ФСГ в гипофизе; по некоторым данным, грелин также оказывает ингибирующий эффект на пролиферацию клеток Лейдига, синтез Т и сперматогенез [45].

Для мужчин с ИзбМТ и ожирением характерно состояние хронического воспаления, сопровождающееся повышением уровней провоспалительных адипокинов, как системно, так и локально, в ткани яичек. В эксперименте на мышах с диет-индуцированным ожирением и сахарным диабетом (СД) 2 типа было отмечено значительное увеличение тестикулярных уровней интерлейкинов и ФНО- α по сравнению с группой животных с нормальным ИМТ. Известно, что ФНО- α ингибирует синтез Т в клетках Лейдига, а также, совместно с ИЛ-6, приводит к повышению концентрации активных форм кислорода (АФК), что, в свою очередь, снижает число и подвижность сперматозоидов, стимулирует выработку антиспермальных антител, негативно влияет на морфологию гамет и повреждает их ДНК [48; 49]. Кроме того, ФНО- α снижает проницаемость мембран для ионов Ca^{2+} , что нарушает процесс капацитации сперматозоидов [36; 50].

В отличие от большинства адипокинов, концентрация адипонектина с увеличением ИМТ снижается [35]. Известно, что адипонектин повышает чувствительность печени к инсулину и ингибирует глюконеогенез, тем самым снижая уровень глюкозы в крови [43]. Снижение уровня адипонектина у мужчин с ИзбМТ и ожирением способствует развитию инсулинорезистентности и повышает риск развития СД 2 типа [31]. Рецепторы к адипонектину были обнаружены в гипоталамусе и гипофизе. Согласно результатам Psilopanagioti A. и соавт., адипонектин стимулирует выработку ЛГ [51]. Кроме того, адипонектин оказывает противовоспалительное действие, подавляя выработку провоспалительных адипокинов, таких как ФНО- α и ИЛ-6, и стимулируя образование противовоспалительных интерлейкинов — ИЛ-10, ИЛ-1RA. Таким образом, адипонектин защищает клетки Лейдига и сперматозоиды от повреждающего действия ФНО- α и АФК [35].

Дисбаланс адипокинов, характерный для мужчин с ИзбМТ и ожирением, оказывает влияние на репродуктивную систему как непосредственно, так и за счет

развития метаболического синдрома (МС) — комплекса патогенетически связанных между собой метаболических, гемодинамических и гормональных нарушений, ускоряющих развитие и прогрессирование атеросклероза, сердечно-сосудистых заболеваний и СД 2 типа [52]. Согласно критериями Международной федерации диабета от 2009 г. диагноз МС у мужчины может быть выставлен при наличии у пациента 3 из 5 симптомов: окружность талии (ОТ) более 93 см (для европеоидной расы); уровень триглицеридов (ТГ) ≥ 150 мг/дл (1,7 ммоль/л) или нормальный уровень ТГ при приеме соответствующей терапии; снижение уровня липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) < 40 мг/дл (1,03 ммоль/л) или нормальный уровень ЛПВП при приеме соответствующей терапии; артериальная гипертензия ($\geq 130/80$ мм рт.ст.) или нормальное артериальное давление (АД), контролируемое гипотензивными препаратами; повышение уровня глюкозы плазмы натощак ≥ 100 мг/дл (5,6 ммоль/л) или наличие ранее диагностированного СД [53]. По данным исследований почти у 50% пациентов с ожирением выявляют МС [46]. У пациентов с МС наиболее сильное негативное влияние на фертильность оказывают инсулинорезистентность, гипергликемия, дислипидемия.

1.3.1 Инсулинорезистентность и гипергликемия

Гиперинсулинемия и инсулинорезистентность — характерные нарушения, выявляемые у мужчин с ИзбМТ и ожирением [54-56]. Для выявления у пациента инсулинорезистентности предложено несколько расчетных показателей, наиболее известным является индекса НОМА. В формировании инсулинорезистентности важную роль играют лептин, адипонектин и резистин [36; 46]. Было показано, что гиперинсулинемия и гипергликемия сопровождаются уменьшением как общего числа сперматозоидов в эякуляте, так и морфологически нормальных гамет; увеличением в семенной плазме АФК, усилением оксидативного стресса и, в результате, повреждением ДНК сперматозоидов [57]. Высокие уровни инсулина в плазме крови и семенной плазме у мужчин с ожирением, вероятно, приводят к

митохондриальной дисфункции сперматозоидов и нарушению капацитации [40; 58]. Кроме того, гиперинсулинемия снижает продукцию ГСПГ в печени, тем самым увеличивая количество свободного E2 [25].

Гипергликемия также является одним из компонентов МС. В опытах на овцах было показано, что гипергликемия подавляет выработку ЛГ передней долей гипофиза, тем самым приводя к снижению синтеза Т и ухудшению параметров эякулята [18]. Кроме того, у пациентов с СД 1 типа высокий уровень циркулирующей глюкозы, независимо от наличия ожирения, сопровождается увеличением оксидативного стресса в эякуляте и повреждением ДНК сперматозоидов [59]. Подобные изменения, вероятно, характерны и для мужчин с избыточным весом и МС.

Низкая концентрация Т — фактор риска развития МС, таким образом, ожирение может быть не причиной, а следствием гипоандрогенемии, в связи с чем можно говорить о наличии порочного круга, возникающего при избытке жировой ткани в организме [53].

1.3.2 Дислипидемия

Нарушение обмена липидов, часто выявляемое у пациентов с ИзбМТ и ожирением, согласно исследованиям также негативно влияет на мужскую фертильность. Липиды составляют 1,9% ткани яичек: 26,5% приходится на ХС, 28,5% — на ТГ и 45% на фосфолипиды (ФЛ) [60]. Мембрана сперматозоидов содержит большое количество ХС, ФЛ и полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), что напрямую связано с функциональной активностью гамет [61; 62]. Процентное соотношение липидов в мембране сперматозоида изменяется на различных этапах сперматогенеза, капацитации и акросомной реакции, в связи с чем сделано предположение, что между сперматозоидами и семенной плазмой происходит транспорт ХС, ФЛ и ПНЖК [63; 64]. Изменения концентрации липидов в плазме крови, а также увеличение жирового компонента в яичках и

мошонке, выявляемые у пациентов с ожирением, возможно, влияют на уровень липидов в семенной плазме и подвижность гамет.

Так, воздействие повышенных уровней ХС и свободных жирных кислот на сперматозоиды, как животных, так и человека, *in vitro* сопровождается увеличением оксидативного стресса, что может повреждать ДНК гамет, ухудшает качество эмбрионов и, как следствие, снижает частоту наступления беременности (ЧНБ) при использовании ВРТ [65]. В эксперименте на кроликах Saez Lancellotti Т.Е. и соавт. показали, что повышение уровня ХС в крови без заметного увеличения массы тела приводило к ухудшению всех параметров эякулята: уменьшался объем эякулята, общее количество и число сперматозоидов с нормальной морфологией, ухудшалась подвижность гамет, а также отмечалось нарушение процесса капацитации [66]. При добавлении в пищу животных оливкового масла происходило улучшение подвижности сперматозоидов, восстановление целостности мембраны гамет и нормализация реакции капацитации. В исследовании Schisterman E.F. и соавт. с участием 501 пациента также выявлено негативное влияние дислипидемии на параметры эякулята. Авторы показали, что повышенные уровни общего ХС, свободного ХС и ФЛ были ассоциированы со значительно меньшей долей сперматозоидов с интактной акросомой; кроме того отмечался рост числа гамет с микроголовками [67]. Эти данные подчеркивают необходимость нормальных уровней липидов в плазме крови для регуляции мужской фертильности [68].

1.4 Патофизиологические факторы, влияющие на сперматогенез у мужчин с ожирением

Известно, что оптимальная температура для течения сперматогенеза составляет 34-35° С [7; 69]. Перегревание яичек приводит к снижению подвижности сперматозоидов, ухудшению их морфологии, а также увеличению уровней АФК и оксидативному стрессу в семенной плазме, повышению плазменной концентрации ФСГ. Одним из факторов, ухудшающим сперматогенез

у мужчин с ИзбМТ и ожирением, возможно, является гипертермия яичек за счет увеличения прослойки жировой ткани в мошонке, и, по данным некоторых авторов, более частого развития варикоцеле у данной категории пациентов. Garolla A. и соавт. провели сравнительную оценку результатов 24-х часового измерения температуры мошонки, а также уровней половых гормонов, тестикулярного кровотока и параметров спермограммы у пациентов с варикоцеле и ожирением и группой контроля. Было выявлено статистически значимое превышение средних показателей температуры мошонки, уровня ФСГ, уменьшения общего количества сперматозоидов в эякуляте, ухудшение подвижности гамет и снижение числа гамет с нормальной морфологией у пациентов с ожирением и варикоцеле по сравнению со здоровыми добровольцами [70].

Celiktas M. и соавт. изучили взаимосвязь между толщиной забрюшинной клетчатки и диаметром вен гроздьевидного сплетения. В исследование было включено 132 фертильных мужчины, разделенных на 3 группы в зависимости от ИМТ. Согласно результатам, диаметр вен положительно коррелировал с толщиной забрюшинной клетчатки и у пациентов с ожирением был значимо больше, по сравнению с мужчинами с нормальной и ИзбМТ [71].

Najari B.B. и соавт. в своем исследовании с участием 114 пациентов с варикоцеле, среди которых 46 имели нормальный ИМТ, 54 — ИзбМТ и 14 — ожирение, показали, что повышенный ИМТ ассоциирован с меньшим объемом левого яичка и большим диаметром тестикулярных вен как в покое, так и на фоне пробы Вальсальвы. Предположительной причиной авторы называют повышенное внутрибрюшное давление [72].

Другие исследователи, напротив, взаимосвязи между ИзбМТ, ожирением и развитием варикоцеле не подтверждают [73-75].

Гипертермия сопровождается ухудшением не только макроскопических параметров эякулята, но и увеличением одно- и двучепочечных разрывов хроматина в головке сперматозоида, ослаблением акросомальной реакции, что, в свою очередь, снижает частоту оплодотворения, вероятность имплантации

эмбрионов и наступления беременности [70]. При хирургическом удалении жира из мошонки и варикоцелэктомии отмечается улучшение показателей спермограммы [33].

1.5 Ожирение и макроскопические параметры эякулята

Результаты исследований, в которых изучалась взаимосвязь между ИМТ мужчины и стандартными макроскопическими параметрами эякулята, противоречивы. Некоторые авторы сообщают об отсутствии влияния ИМТ на показатели спермограммы, в то время как другие выявляют отрицательную связь между избыточным весом, концентрацией и общим количеством сперматозоидов в эякуляте (концентрация сперматозоидов в 1 мл \times объем эякулята), подвижностью гамет и числом сперматозоидов с нормальной морфологией.

Andersen J.M. и соавт. обследовали 166 мужчин, 45 из которых имели нормальный ИМТ, 52 — ИзбМТ, у 31 диагностировали ожирение I степени (ИМТ = 30,0-34,9 кг/м²), у 38 — ожирение II степени и морбидное ожирение (ИМТ \geq 35,0 кг/м² и ИМТ \geq 40,0 кг/м² соответственно). Авторы выявили статистически значимую отрицательную зависимость между ИМТ, концентрацией и общим количеством сперматозоидов в эякуляте, числом живых сперматозоидов, подвижностью гамет и числом морфологически нормальных сперматозоидов [10].

Bellos S. и соавт. оценили влияние ИМТ на показатели спермограммы у 10665 мужчин. С увеличением ИМТ с нормального до уровня морбидного ожирения происходило уменьшение объема эякулята ($3,3 \pm 1,6$ мл и $2,7 \pm 1,6$ мл соответственно), концентрации сперматозоидов ($56,4 \pm 54,9$ и $39,4 \pm 51,0$ млн./мл соответственно), их общего количества в эякуляте (171 ± 170 и 92 ± 95 млн. соответственно) и числа прогрессивно подвижных гамет с $36,9 \pm 16,8\%$ до $34,7 \pm 17,1\%$ [76].

Согласно результатам Tang W.H. и соавт. у мужчин с ИзбМТ и ожирением отмечается ухудшение лишь подвижности сперматозоидов [77].

Nakonsen L.B. и соавт. в своем исследовании провели оценку параметров эякулята (концентрация, общее количество, подвижность и число сперматозоидов с нормальной морфологией) у мужчин с ожирением (ИМТ 33,0-61,0 кг/м²) исходно и через 14 недель проведения программы по снижению массы тела. Была выявлена отрицательная связь между ИМТ и параметрами эякулята. При снижении ИМТ отмечалось улучшение показателей спермограммы [78].

В то же время другие авторы связи между ожирением и ухудшением показателей сперматогенеза не выявляют. Lu J.C. и соавт. в своей работе с участием 1231 мужчин, обратившихся с жалобами на бесплодие в браке, исследовали влияние возраста, ИМТ, ОТ, соотношений ОТ/окружность бедер (ОТ/ОБ), ОТ/рост на параметры эякулята и не выявили статистически значимой зависимости между вышеперечисленными параметрами и показателями спермограммы [79]. Christofolini J. и соавт. и Pauli E.M. и соавт. также сообщили об отсутствии взаимосвязи между ИМТ и показателями спермограммы [7; 80].

По мнению Teerds K.J. и соавт. ожирение приводит к снижению концентрации сперматозоидов лишь у небольшой группы мужчин с ожирением, у которых есть и другие факторы риска нарушения сперматогенеза, такие как, например, полиморфизм *TTTA* в интроне 4 гена ароматазы за счет повышения уровня E2 [26; 34].

Таким образом, данные о влиянии ожирения на стандартные показатели эякулята по параметрам ВОЗ несколько противоречивы. Еще меньше исследований о взаимосвязи между избытком жировой ткани в организме мужчины и отдельными структурными изменениями сперматозоидов в строении головки, шейки и средней части, жгутика. Программы ВРТ помогают преодолеть большинство патологических изменений макроскопических параметров эякулята, в частности таких, как снижение количества (олигозооспермия) и подвижности (астенозооспермия) сперматозоидов, наличие антиспермальных антител, повышение вязкости эякулята. Но нарушение морфологии сперматозоидов — тератозооспермия, зачастую становится «камнем преткновения».

1.5.1 Патоморфология сперматозоидов

В 2010 г. ВОЗ внесла новые изменения в референсные значения показателей эякулята. В последнем, пятом издании «Руководства по лабораторному исследованию эякулята человека», морфологически нормальному сперматозоиду присваиваются следующие характеристики: головка овальная с ровным контуром, имеющая в среднем длину 4,1 мкм и ширину — 2,8 мкм; центр средней части сперматозоида является продолжением центральной оси головки, длина средней части около 4,0 мкм и шириной 0,6 мкм; главная часть жгутика примерно в 10 раз больше длины головки, её длина — 45 мкм. При наличии в эякуляте свыше 4% морфологически нормальных сперматозоидов образец оценивается как фертильный [81]. Сперматозоиды, несоответствующие описанным характеристикам, расцениваются как гаметы с патологической структурой.

Выделяют три основные группы нарушений структуры сперматозоида: патология головки, шейки и средней части, жгутика.

1.5.1.1 Патология головки сперматозоида

Вариантами нарушений строения головки сперматозоида являются: изменения размера (микро- и макроголовки) и формы (коническая, грушевидная, круглая, аморфная) головки, вакуолизированная головка (содержащая более чем 2 вакуоли, или вакуоль, занимающую более 20% объема), головка с уменьшенной (занимает менее 40% объема головки) или увеличенной (занимает более 70% объема головки) акросомой, двухголовый сперматозоид или различные сочетания перечисленных патологий [81] (Рисунок 1).

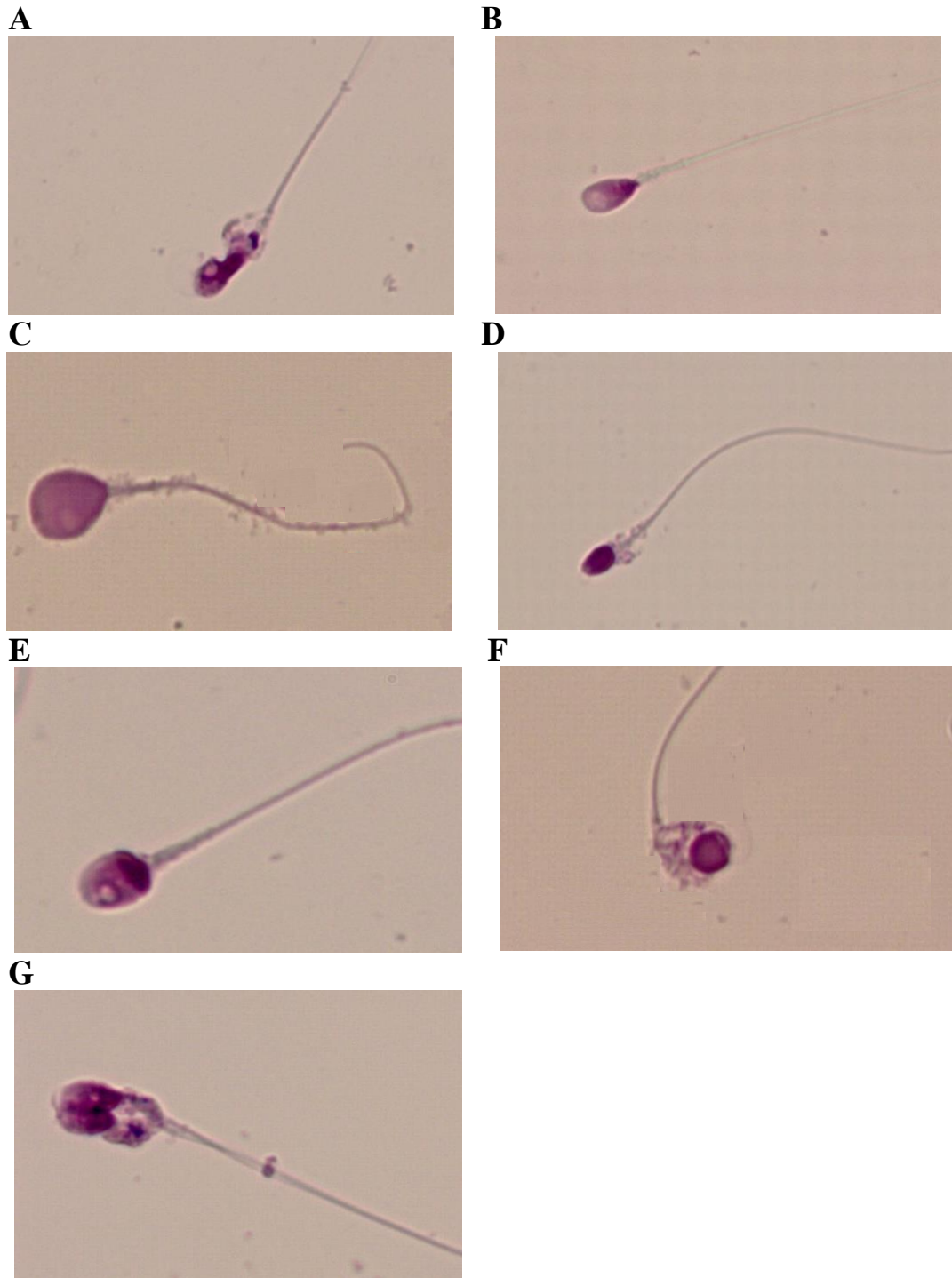


Рисунок 1 — Фотографии основных форм патологии головки сперматозоида, сделанные при помощи светового микроскопа Olympus CX 31 при 100-кратном увеличении (отделение ВРТ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России)

Примечание: А – аморфная головка. В – головка с увеличенной акросомой. С – макроголовка. D – микроголовка. Е – головка с вакуолью. F – круглая головка. G – двухголовый сперматозоид.

Согласно исследованиям, патология головки сперматозоида сопровождается различными нарушениями кариотипа. Так, у 99% сперматозоидов с макроцефалией (длина головки более 5 мкм, ширина — более 3,5 мкм) выявляют анеуплоидии (уменьшение или увеличение числа хромосом) [82; 83].

Среди сперматозоидов с круглыми головками (практически равная длина и ширина головки сперматозоида) также велик процент анеуплоидных гамет. Использование эякулята с большим количеством сперматозоидов с круглыми головками (глобулозооспермия) сопровождается низкой частотой оплодотворения как при классическом ЭКО, так и при ИКСИ из-за потери факторов, вызывающих активацию ооцита, в связи с сильным редуцированием или полной утратой акросомы (органоида, расположенного в передней части головки сперматозоида и содержащего ферменты, растворяющие оболочку яйцеклетки и активирующие ооцит). Не менее значительное ухудшение показателей при проведении оплодотворения отмечается и при высоком содержании в эякуляте микроцефалических сперматозоидов (длина головки менее 3,5 мкм, ширина — менее 2,5 мкм), что объясняют повреждением акросомы и высоким ИФ ДНК [84; 85].

В числе возможных причин формирования сперматозоидов с круглыми и микроголовками называют нарушения различных этапов сперматогенеза: гипоплазия аппарата Гольджи сперматид; отсутствие слияния акросомальных пузырьков — предшественников акросомы — с ядерной оболочкой формирующегося сперматозоида; дефекты связующего цитоскелетного комплекса между ядерной оболочкой и акросомальным пузырьком. В итоге предшественник акросомы не контактирует и не расплывается над ядром сперматиды, а элиминируется в составе остаточного тельца в ходе спермиогенеза [84; 85]. В некоторых случаях микроцефалия и глобулозооспермия являются генетически детерминированной патологией [86; 87]. Согласно Koscinski I. и соавт. и Harbuz R. и соавт. при глобулозооспермии у 4 из 5 бесплодных братьев и у 15 из 20 мужчин, не имеющих родства, отмечалась гомозиготная делеция гена *DPY12L2*,

расположенного на 12 хромосоме, что сопровождается отсутствием удлинения головки сперматозоида и образования акросомы [88; 89].

Элонгация головки сперматозоида (длина головки более 5 мкм, ширина — менее 3 мкм) сопровождается фрагментацией ДНК и нарушениями в шейке, что приводит к низким показателям оплодотворения в программах ЭКО. Увеличение числа сперматозоидов с удлинёнными головками отмечают у мужчин с инфекциями урогенитального тракта, при варикоцеле. Вероятными причинами образования гамет с данной патологией являются гипертермия яичек и оксидативный стресс [90]. Утолщение прослойки жировой ткани в мошонке, наблюдающееся у мужчин с ИзбМТ и ожирением, приводит к постоянной гипертермии яичек, увеличению количества свободных радикалов и оксидативному стрессу, что, вероятно, сопровождается возрастанием числа сперматозоидов с удлинёнными головками [91].

ИзбМТ и ожирение у мужчины, возможно, приводят к увеличению числа сперматозоидов и с другими специфическими изменениями головки. Schisterman E.F. и соавт. выявили, что у мужчин с гиперлипидемией, часто сопутствующей ИзбМТ и ожирению, число сперматозоидов с микроголовками увеличивается, а количество гамет с интактной акросомой снижается [67]. Samavat J. и соавт. также сообщили, что у мужчин с избыточным весом отмечается уменьшение числа сперматозоидов с интактной акросомой [92].

1.5.1.2 Патология шейки и средней части сперматозоида

К основным структурным нарушениям шейки и средней части сперматозоида относятся: ассиметричное прикрепление шейки к головке сперматозоида, гетероаксиальная шейка (угол между головкой и жгутиком превышает 180^0), ацефалический сперматозоид, утолщенная, истонченная, укороченная и средняя часть с неровным контуром. Кроме того, выделяют сперматозоиды с так называемой избыточной остаточной цитоплазмой, объем которой превышает 1/3 головки [81] (Рисунок 2).

A**B****C****D**

Рисунок 2 — Фотографии основных форм патологии шейки и средней части сперматозоида, сделанные при помощи светового микроскопа Olympus CX 31 при 100-кратном увеличении (отделение ВРТ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России).

Примечание: А – асимметричное прикрепление шейки к головке сперматозоида. В – гетероаксиальная шейка. С – ацефалический сперматозоид. D – избыточная остаточная цитоплазма.

В шейке и средней части находятся две центриоли — структуры, необходимые для движения сперматозоида и дробления образующегося эмбриона, и митохондрии, обеспечивающие сперматозоид энергией. Таким образом, нарушения в данном отделе ухудшают подвижность гамет и, несмотря на имплантацию эмбриона, являются одной из причин остановки его развития на ранних этапах. Показано, что ИКСИ, выполненное гетероаксиальными сперматозоидами, приводит к оплодотворению ооцитов и формированию пронуклеусов, однако, дальнейшего развития зиготы (эмбриона) не происходит. Вероятной причиной может быть недостаточность функции протеасом, которые

ассоциированы с центриолями в шейке сперматозоида. Именно протеасомные ферменты обеспечивают высвобождение центриолей, что делает возможным формирование веретена деления в зиготе и запускает механизм дробления [87].

Одним из проявлений структурной патологии шейки считают присутствие в эякуляте ацефалических сперматозоидов. Предполагаемыми причинами аномальной хрупкости соединения головка-шейка, по мнению Chemes Н.Е. и соавт., являются нарушения в строении центриоли [87].

Избыток жировой ткани в организме мужчины, вероятно, сопровождается повреждениями в шейке и средней части сперматозоида. Согласно исследованиям, у мужчин с ИзбМТ и ожирением отмечается ухудшение подвижности гамет, что может быть следствием структурной или функциональной патологии митохондрий [10; 76; 77].

1.5.1.3 Патология жгутика сперматозоида

К структурным патологиям жгутика сперматозоида относятся: укорочение, искривление, утолщение, истончение, множественные и загнутые жгутики, или сочетанная патология [81] (Рисунок 3).

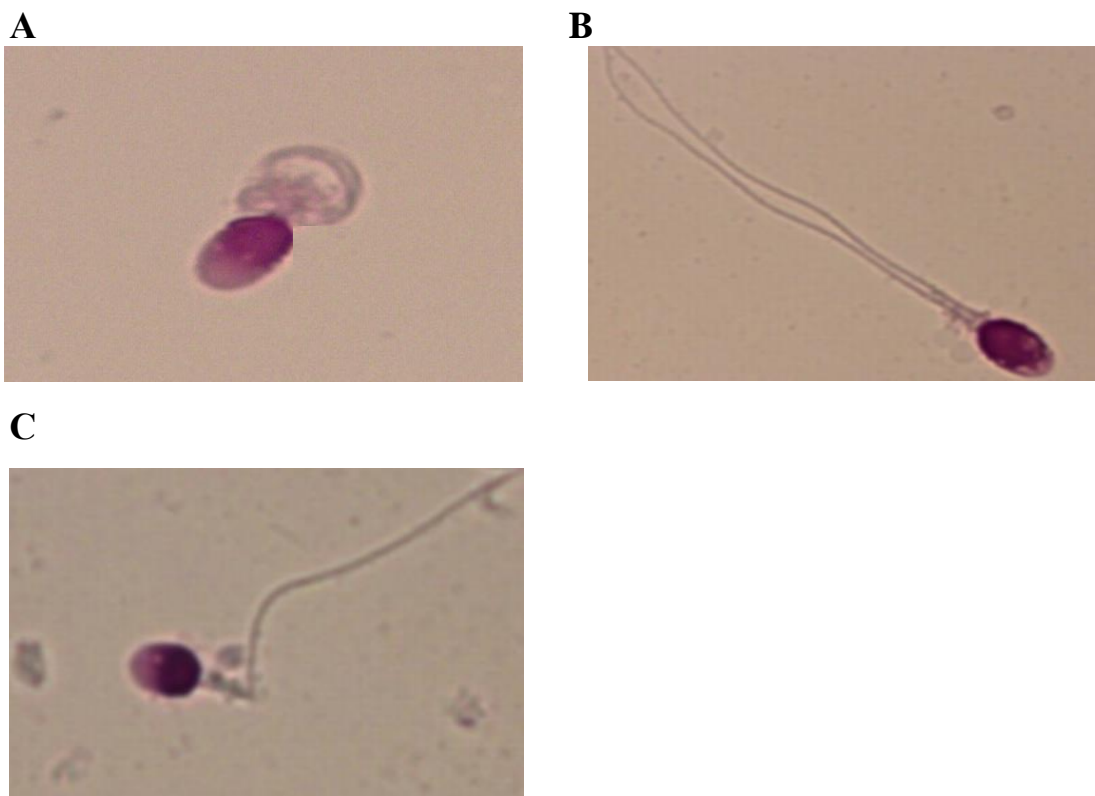


Рисунок 3 — Фотографии основных форм патологии жгутика сперматозоида, сделанные при помощи светового микроскопа Olympus CX 31 при 100-кратном увеличении (отделение ВРТ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России)

Примечание: А – закрученный жгутик. В – двойной жгутик. С – загнутый жгутик.

Основная функция жгутика очевидна — направленное прогрессивное движение гаметы. Любая патология приводит к ухудшению подвижности сперматозоида и, как следствие, снижению его способности к оплодотворению яйцеклетки. Не менее важна роль жгутика и в контроле акросомальной реакции — необходимого условия оплодотворения [93]. Кроме того, имеются данные о связи между патологией жгутика и изменении кариотипа: 99% сперматозоидов с множественными жгутиками являются анеуплоидными [83].

Выделяют две основные группы патологий жгутика: неспецифические и специфические. Последние связаны с различными генетическими нарушениями. Так, согласно Jimenez T. и соавт., наличие угловой изломанности свидетельствует о повреждении генов ионных каналов жгутика и сопровождается отсутствием

полноценного движения и капацитации [94]. Еще один пример специфической патологии — первичная цилиарная дискинезия, которая характеризуется повреждением всего цитоскелета жгутика, что приводит к появлению сперматозоидов с короткими толстыми жгутиками с неровным контуром. Изменения в спермограмме у таких пациентов стабильны и не реагируют ни на какую терапию [87].

Неспецифическая патология возникает в результате негативного воздействия каких-либо факторов, например гипертермии или оксидативного стресса. Так, у пациентов с варикоцеле и инфекционными заболеваниями урогенитального тракта часто выявляют астенозооспермию, возникающую в результате множественных структурных нарушений в цитоскелете жгутика. После проведения лечения подвижность сперматозоидов восстанавливается.

Астенозооспермия, по мнению многочисленных авторов, частая патология и у мужчин с ожирением. Можно предположить, что причинами этого являются гипертермия и оксидативный стресс, возникающие в результате увеличения прослойки жировой ткани в мошонке. Снижение массы тела сопровождается улучшением подвижности гамет [10; 11; 76; 78; 91].

Согласно вышесказанному, на сегодняшний день нет однозначного ответа о наличии влияния ИзбМТ и ожирения на макроскопические показатели эякулята.

1.6 Ожирение и патология микроструктуры сперматозоидов

Молекулярная структура ДНК сперматозоидов также важна для процесса оплодотворения и эмбриогенеза, как и концентрация, подвижность и доля гамет с нормальной морфологией [95].

Фрагментация ДНК мужских гамет может быть самостоятельной причиной бесплодия супружеской пары [10]. Среди пациентов с бесплодием у 25,6% выявляют высокие показатели фрагментации ДНК сперматозоидов [96; 97]. Степень повреждения ДНК — ИФ — оценивается как отношение числа сперматозоидов с поврежденной ДНК на 100 исследуемых гамет. При ИФ менее

15% потенциал наступления спонтанной беременности считается высоким, при ИФ 15-24% — хорошим, при 25-30% — удовлетворительным. Супружеские пары, в которых ИФ ДНК сперматозоидов партнера составляет более 30%, имеют очень низкий потенциал наступления беременности, как спонтанной, так и в результате применения ВРТ [97]. В программах ЭКО высокий ИФ сопровождается низкими показателями оплодотворения, образованием меньшего числа эмбрионов и замедлением темпов их развития, повышением репродуктивных потерь и снижением живорождений [3; 98].

Патофизиологические механизмы, ведущие к фрагментации ДНК мужских гамет, не достаточно ясны. Согласно гипотезе Aitken R.J. и соавт., повреждение ДНК сперматозоидов происходит в два этапа. Первый этап характеризуется появлением дефектов структуры хроматина у предшественника сперматозоида во время сперматогенеза. В результате образующийся сперматозоид оказывается более уязвим к воздействию различных повреждающих факторов [99; 100]. Повреждения ДНК подразделяют на две группы. К первой группе относятся нарушения, которые изменяют структуру ДНК: разрывы одной или двух цепей, несовпадение и модификация оснований, присоединение лишних оснований или участки без оснований, димеризация пиримидина, окисление [95]. Эпигенетические нарушения, напротив, не отражаются на последовательности ДНК и затрагивают процессы метилирования и ацетилирования ДНК, модификацию гистонов, влияют на качественный и количественный состав микроРНК (микроРНК) [101; 102]. Эпигенетические изменения регулируют экспрессию генов путем влияния на темпы транскрипции (перенос генетической информации с ДНК на рибонуклеиновую кислоту (РНК)) и трансляции (синтез белка из аминокислот), и, таким образом, участвуют в формировании фенотипа потомства [103].

Способность к репарации — исправление повреждений и разрывов в наследственном материале клетки — теряется на стадии спермиогенеза, конечной стадии сперматогенеза, в ходе которой сперматиды превращаются в зрелые сперматозоиды. Таким образом, мужские гаметы не способны исправлять

дефекты, которые они получают за время пребывания в эпидидимисе и после эякуляции. При возникновении повреждений ДНК, в зависимости от стадии сперматогенеза, могут происходить: репарация ДНК, остановка клеточного цикла, апоптоз, мутации *de novo* или нарушение ответа на стресс. Некоторые дефекты ДНК зрелых сперматозоидов устраняются репаративными системами ооцита и эмбриона, однако часть повреждений остается в неизменном виде и может приводить к остановке развития эмбриона, прерыванию беременности, метаболическим и репродуктивным нарушениям у потомства [18; 85].

Факторы, приводящие к повреждению структуры ДНК, подразделяют на внешние и внутренние. К внешним условиям, особенно актуальным при использовании ВРТ, относятся время, прошедшее после эякуляции, температура хранения, методика обработки эякулята, постэкуляторный оксидативный стресс. Менее изучены эндогенные факторы, которые воздействуют на мужские половые клетки на протяжении сперматогенеза. Одним из наиболее важных внутренних факторов является оксидативный стресс [85]. Согласно некоторым авторам, избыток жировой ткани в организме также приводит к повышению ИФ ДНК сперматозоидов [3; 18]. Другие исследователи эти данные не подтверждают [10; 104].

Dupont С. и соавт. в исследовании с участием 3030 бесплодных мужчин провели анализ повреждений ДНК сперматозоидов методом TUNEL. Было выявлено, что у пациентов с ожирением ИФ был статистически значимо выше, чем у мужчин с ИзбМТ и нормальным ИМТ. Chavarro J.E. и соавт. и Fariello R.M. и соавт. в своих работах использовали метод COMET и также обнаружили, что увеличение ИМТ мужчины сопровождается ростом числа сперматозоидов с поврежденной ДНК [3].

В других работах наличие связи между ожирением у мужчины и увеличением повреждений ДНК сперматозоидов не подтверждается. Так, Bandel I. и соавт. исследовали ИФ ДНК сперматозоидов методом SCSA у 1503 мужчин. Все пациенты были разделены на группы в зависимости от ИМТ. Авторы не выявили

взаимосвязи между ИМТ и ИФ ДНК гамет [104]. Jorunn M.A. и соавт. также не обнаружили влияние ИМТ мужчины на структуру ДНК сперматозоидов [10].

По мнению McPherson N.O. и соавт. у мужчин с ИзбМТ и ожирением повреждающее действие на ДНК сперматозоидов оказывают адипокины, гиперинсулинемия, АФК, гипертермия яичек, которые приводят к структурным и эпигенетическим нарушениям [18].

1.6.1 Метилирование дезоксирибонуклеиновой кислоты

Известно, что уровень метилированности определяет активность гена: гиперметилирование ДНК ингибирует экспрессию генов путем препятствования связывания факторов транскрипции; недостаточное метилирование, напротив, приводит к избыточной активизации процесса транскрипции. Метилирование ДНК и гистонов в норме протекает во время сперматогенеза и необходимо для компактизации и сохранения генетического материала сперматозоидов, инактивации X-хромосомы и процесса оплодотворения [7]. Подсчитано, что порядка 96% ДНК головки сперматозоидов, как правило, метилировано [105].

Согласно исследованиям, воздействие повышенных уровней ХС, свободных жирных кислот, инсулина, глюкозы и провоспалительных цитокинов, характерное для мужчин с ИзбМТ и ожирением, изменяет метаболизм сперматозоидов и приводит к увеличению АФК. В связи с содержанием большого количества ПНЖК, сперматозоиды очень чувствительны к оксидативному стрессу [100]. Повышение уровней АФК является причиной гипометилирования импринтинговых генов (гены, экспрессия которых в организме пробанда зависит, от какого из родителей они были унаследованы), что сопровождается снижением процента наступления беременностей [106-108]. Кроме того, оксидативный стресс усиливает образование 5-гидроксиметилцитозина, что является причиной деконденсации хроматина и повышения чувствительности ДНК к повреждающим факторам [109]. Согласно исследованиям, 5-гидроксиметилцитозин играет

важную роль в формировании пронуклеусов, в связи с чем изменение его уровня может влиять на процесс оплодотворения и ранние этапы эмбриогенеза [110-112].

1.6.2 Ацетилирование дезоксирибонуклеиновой кислоты

Ацетилирование гистонов делает возможным их удаление и замену на протамины в процессе сперматогенеза, а также ослабляет структуру ДНК, что необходимо для репарации одно- и двуцепочечных разрывов [113]. Протамины представляют собой основные, богатые аргинином, белки с небольшой молекулярной массой, которые обеспечивают сверхкомпактизацию ДНК. Протаминирование ДНК сперматозоидов является особенностью, которая отличает геном мужской половой клетки от генома соматических клеток. Выделяют 4 основные функции протаминов: конденсирование хроматина сперматозоида с целью получения максимально компактного и гидродинамически выгодного ядра; защита генетического материала от ферментов, мутагенов, свободных радикалов и других повреждающих агентов; эпигенетическая модификация хроматина во время спермиогенеза; удаление белков, несущих эпигенетическую информацию родителя [114]. При этом в зрелых сперматозоидах человека в норме остается до 15% гистонов, которые связаны с ключевыми плюрипотентными генами, необходимыми для раннего развития эмбриона [7; 18].

Согласно результатам исследований, ацетилирование и деацетилирование гистонов зависят от метаболического статуса. По данным Palmer N.O. и соавт. у самцов мышей, диета которых содержала повышенное количество жиров, на фоне гиперхолестерин- и гипертриглицеридемии отмечалось нарушение ацетилирования гистонов уже на уровне сперматид, что приводило к патологиям протаминирования ДНК и положительно коррелировало с повреждениями ДНК в зрелых сперматозоидах. Saez Lancellotti T.E. и соавт. в эксперименте на кроликах также отметили повреждающий эффект гиперхолестеринемии на сперматозоиды. При снижении уровня ХС за счет добавления в пищу оливкового масла происходило улучшение показателей [68].

Подобные изменения, возможно, происходят и у мужчин с ИзбМТ и ожирением [18].

1.6.3 Рибонуклеиновые кислоты и малые некодирующие рибонуклеиновые кислоты

Долгое время считалось, что транскрипция и трансляция в сперматозоидах практически отсутствуют, а обнаруживаемые малые последовательности РНК являются артефактами сперматогенеза. В настоящее время известно, что эти процессы активно происходят в митохондриях сперматозоидов [7]. Также выявлено, что в зрелых сперматозоидах находится целый ряд матричных РНК (мРНК) и некодирующих РНК, что, вероятно, необходимо для нормального осуществления оплодотворения и ранних этапов развития эмбрионов [115; 116]. Точная роль данных РНК пока еще не определена, однако экспериментально доказано, что они могут вызывать фенотипические изменения потомства при введении их в яйцеклетку (в опыте концентрации данных РНК существенно превышали физиологические).

В настоящее время мало известно о том, как ожирение у мужчины влияет на мРНК сперматозоидов. В ходе нескольких исследований была проведена оценка влияния ИзбМТ и ожирения у мужчины на функцию спермальных митохондрий. Было выявлено, что у пациентов с ИзбМТ и ожирением отмечаются снижение митохондриальной активности и мембранного потенциала митохондрий по сравнению с пациентами с нормальным ИМТ [21; 58; 117]. Эти изменения, вероятно, отражаются на качественном и количественном составе мРНК. Согласно результатам Ghanayem B.I. и соавт., у мышей с диет-индуцированным ожирением и СД2 отмечаются изменения структуры нескольких мРНК сперматозоидов, по сравнению с животными, у которых ИМТ был в норме [7].

Зрелые сперматозоиды также содержат значительное количество малых некодирующих РНК, таких как, микроРНК, длиной обычно не превышающих 20-22 нуклеотида [118]. Они регулируют транскрипцию и трансляцию, организацию

хроматина, поддерживают стабильность мРНК и синтез протеинов [7]. Согласно исследованиям, малые некодирующие РНК играют важную роль во время оплодотворения, развития эмбриона и плода, в формировании фенотипа потомства [119]. Fernández-Hernando С. и соавт. и He Р.Р. и соавт. показали, что микроРНК участвуют в регуляции липидного и углеводного обменов, секреции цитокинов, и, таким образом, могут влиять на развитие МС и СД2 типа [120; 121]. Состав микроРНК сперматозоидов варьирует под воздействием различных факторов, в том числе при ИзбМТ и ожирении [122].

De Castro Barbosa Т. и соавт. в эксперименте на крысах с диет-индуцированных ожирением отметили изменения экспрессии трех малых РНК, в том числе микроРНК let-7с, в сперматозоидах самцов. МикроРНК let-7с относится к семейству микроРНК let-7, которые участвуют в регуляции углеводного обмена, чувствительности к инсулину и, таким образом, влияют на предрасположенность к СД 2 типа. У пробандов мужского пола были выявлены те же изменения в составе микроРНК сперматозоидов, кроме того, экспрессия let-7с была повышена в жировой ткани. У пробандов женского пола отмечалось увеличение уровней let-7с в жировой и мышечной тканях. Для потомства обоих полов были характерны различные нарушения углеводного обмена, самки также были склонны к ожирению [103]. Аналогичные результаты получили McPherson N.O. и соавт. в опытах на мышах. Авторы показали, что на фоне снижения ИМТ самцов происходила нормализация состава микроРНК сперматозоидов. Кроме того, у пробандов женского пола, которые рождались от самцов после уменьшения массы тела, отмечались нормальная чувствительность к инсулину и ИМТ [123]. Таким образом, авторы продемонстрировали эпигенетический механизм наследования метаболических нарушений и возможность их коррекции за счет снижения массы тела.

Известно, что у детей, отцы которых страдают ожирением, чаще развивается ожирение, чем у детей без семейного анамнеза заболевания. Возможной причиной может быть изменение качественного и количественного состава микроРНК сперматозоидов. Кроме того, предполагается, что патология спермальных РНК

является одним из факторов, снижающих фертильность у пациентов с ИзбМТ и ожирением [124].

1.6.4 Ожирение и анеуплоидия сперматозоидов

Возможно, при ИзбМТ и ожирении происходят не только структурные и эпигенетические нарушения ДНК сперматозоидов, но и увеличение в эякуляте числа гамет с анеуплоидными наборами хромосом (содержащими больше или меньше 23 хромосом). При оплодотворении яйцеклетки сперматозоидом с анеуплоидным набором хромосом происходит либо гибель зародыша на ранних стадиях, либо развитие тяжелых аномалий (хромосомных болезней), таких как синдром Дауна (трисомия 21 пары), синдром Эдвардса (трисомия 18 пары) и др. [125]. Согласно Jugewicz J. и соавт., у пациентов с ожирением (ИМТ = 30-40 кг/м²) было выявлено повышенное содержание сперматозоидов с добавочной 21 хромосомой по сравнению с мужчинами с нормальным ИМТ [126].

Возможной причиной анеуплоидий является патология синаптонемного комплекса (СК) сперматоцитов I порядка. СК представляет собой субмикроскопическую структуру, которая формируется в профазе мейоза I и удерживает параллельно расположенные гомологичные хромосомы во время обмена участками ДНК (кроссинговера). В случаях, когда образования СК не происходит, наблюдается «арест» процесса мейоза на стадии сперматоцитов I порядка и остановка всего сперматогенеза, что приводит к стерильности мужчины. Если СК содержит какие-либо «поломки», возможно нарушение процесса расхождения пар гомологичных хромосом между половыми клетками, что приводит к анеуплоидии — избытку или нехватке хромосом в сперматозоидах. Исследование СК в сочетании с другими методами анализа повышает процент выявления причин бесплодия у мужчин с 17 до 30%. Так, при анализе СК клеток семенных канальцев 1000 бесплодных мужчин у 15% пациентов с не выявленной ранее причиной бесплодия обнаружили отсутствие

СК [125]. Изучение структуры СК в сперматоцитах I порядка у мужчин с ИзбМТ и ожирении не проводилось.

1.6.5 Методы исследования структуры дезоксибонуклеиновой кислоты

В настоящее время для выявления нарушения структуры ДНК сперматозоидов применяются различные методы, которые подразделяются на прямые и непрямые. Прямые методы выявляют уже имеющиеся поломки ДНК; непрямые позволяют оценить подверженность ДНК сперматозоидов повреждениям после какого-либо внешнего воздействия, например, добавления уксусной кислоты.

К наиболее известным прямым методам относятся: TUNEL, NT, COMET [134].

При проведении теста TUNEL (Terminal Deoxynucleotidyl Transferase-mediated Nick End Labeling) к 3'-гидроксильному концу фрагмента разрушенной ДНК при помощи фермента концевой дезоксинуклеотидилтрансферазы присоединяется меченый флюоресцентной меткой нуклеотид дезоксиуридин. Визуализация и подсчет числа TUNEL-позитивных клеток осуществляется при помощи люминисцентного микроскопа или проточного цитофотометра. Отличие NT (ник-трансляции, In-Situ Nick Translation assay) от метода TUNEL состоит в том, что к 3'-гидроксильному концу ДНК присоединяются радиоактивные нуклеотидные остатки [114].

В ходе исследования структуры ДНК методом COMET (Single-cell gel electrophoresis assay) сперматозоиды помещаются в агарозный микрогель на предметном стекле и обрабатываются лизирующими растворами для экстракции мембран и белков. Полученные депротеинизированные ядра — нуклеоиды — подвергаются электрофорезу, в ходе которого нити ДНК мигрируют к аноду. Получаемая картина напоминает комету с головой и хвостом, направленным в сторону движения ДНК при электрофорезе. Голова «кометы» состоит из высокомолекулярной ДНК, хвост — из низкомолекулярной, образовавшейся в результате разрывов ДНК. Такие «кометы» окрашиваются люминесцентным красителем для последующего анализа с помощью люминесцентного микроскопа.

Чем выше уровень фрагментации, тем большее количество ДНК располагается в зоне хвоста кометы [114; 127].

Наиболее широко используемыми непрямыми методами диагностики разрывов ДНК являются: SCD, АО, SCSA.

Методы SCD (Sperm Chromatin Dispersion test, Halo Sperm), окраски акридин оранжевым (АО, Acridine Orange test) и SCSA (Sperm Chromatin Structure Assay) основаны на различной чувствительности фрагментированной и интактной ДНК к кислотной денатурации. Сперматозоиды, не имеющие разрывов ДНК, устойчивы к воздействию кислоты, в них сохраняется двухцепочечная структура ДНК. В гаметах с фрагментированной ДНК в участках разрывов ДНК денатурирует и становится одноцепочечной. При проведении теста SCD сперматозоиды помещают в агарозный гель на предметном стекле и обрабатывают вначале кислым денатурирующим раствором, затем лизирующим раствором для экстракции ядерных белков. В результате происходит деспирализация ДНК, при этом цельные неповрежденные нити ДНК демонстрирует массивный, хорошо визуализирующийся ореол дисперсии («halo-эффект»), в отличие от фрагментированных цепочек, образующих минимальный ореол. При использовании АО теста высушенные на воздухе мазки эякулята фиксируют в растворе метанол-уксусной кислоты и окрашивают акридин оранжевым красителем. Подсчет ИФ производят при помощи флуоресцентного микроскопа. Под воздействием ультрафиолетового излучения акридин оранжевый флуоресцирует зеленым светом, когда он связан с двухцепочечной ДНК и испускает красную флуоресценцию в сперматозоидах с денатурированной (одноцепочечной) ДНК. Отличие метода SCSA от АО теста заключается в использовании для подсчета числа гамет с денатурированной ДНК проточной цитометрии [114; 127; 128].

1.7 Ожирение у мужчины и вспомогательные репродуктивные технологии

Использование программ ВРТ приобретает все более широкое распространение, поэтому большой интерес представляет влияние ИзбМТ и ожирения у мужчины на исходы программ ЭКО. Согласно некоторым исследованиям, ожирение является неблагоприятным прогностическим фактором при использовании методов ВРТ: в частности при лечении пар, в которых супруг имеет высокий ИМТ, чаще возникает необходимость в проведении ИКСИ, отмечается статистически значимое ухудшение показателей эмбриогенеза (образование меньшего количества эмбрионов, замедление темпов их развития), снижение наступления беременностей и родов у партнерш [129-131]. В то же время другие авторы взаимосвязи между ИМТ партнера и вышеперечисленными показателями не выявляют [132].

Bakos H.W. и соавт. оценили влияние ожирения мужчин на качество эмбрионов и наступление беременности у 305 пар, проходивших лечение методом ЭКО. Концентрация сперматозоидов в эякуляте у мужчин с нормальным ИМТ была статистически значимо выше, чем у пациентов с ИзбМТ и ожирением. Чем выше был ИМТ, тем чаще возникала необходимость в применении ИКСИ в связи с неудовлетворительными параметрами эякулята; ни одному из 32 пациентов с $\text{ИМТ} \geq 35 \text{ кг/м}^2$ не проводили оплодотворение методом классического ЭКО (инсеминация яйцеклетки сперматозоидами из расчета 50000 сперматозоидов на 1 яйцеклетку). Не было выявлено достоверных различий показателей развития эмбрионов до трех суток в зависимости от ИМТ партнера. Однако число эмбрионов, достигающих стадии бластоцисты, независимо от способа оплодотворения, у пациентов с нормальным ИМТ было больше, чем от мужчин с ожирением. Кроме того, авторы выявили статистически значимое снижение частоты наступления клинической беременности и коэффициента живорождений (КЖ,%) от мужчин с ожирением. Так, КЖ в группе пациентов с нормальным ИМТ составил 41,3%, с ИзбМТ — 26,4%, с ожирением — 22,6%, с морбидным ожирением — 12,1% [17].

Zhengmu W. и соавт. в своей работе с участием 683 супружеских пар проанализировали влияние ИМТ у мужчины на показатели оплодотворения и развития эмбрионов, а также исходы программ ЭКО. Пациенты были разделены на 3 группы в зависимости от ИМТ: пациенты I группы имели нормальный ИМТ, II группы — ИзбМТ, у пациентов III группы диагностировали ожирение. Всем пациентам было проведено лечение методом классического ЭКО. Согласно результатам, с увеличением ИМТ партнера отмечалось статистически значимое снижение коэффициента оплодотворения (КО): средний показатель в группе пациентов с нормальным ИМТ составил 79%, с ИзбМТ — 76,9%, среди пациентов с ожирением — 76,5% ($p < 0,05$). Влияние ИМТ партнера на дробление эмбрионов, число образующихся эмбрионов хорошего качества, частоту наступления клинической беременности (ЧНКБ) выявлено не было. Также отсутствовала взаимосвязь между наличием ИзбМТ или ожирения у супруга и частотой репродуктивных потерь (ЧРП) в течение первого триместра беременности.

По мнению авторов исследования, отсутствие влияния ИМТ на показатели эмбриогенеза и исходы программ ЭКО может быть связано с обработкой эякулята перед инсеминацией *in vitro*, в ходе которой большая часть сперматозоидов с тяжелыми патологиями элиминируется. Кроме того, возможно, что после оплодотворения нарушения некоторых структур сперматозоида, например ДНК, могут быть восстановлены репаративными системами ооцита. Снижение КО в группах пациентов с ИзбМТ и ожирением, предположительно, возникает из-за нарушений капацитации и акросомной реакции [133].

На сегодняшний день вопрос о необходимости использования ИКСИ в качестве метода оплодотворения при повышенном ИМТ партнера остается открытым. Согласно Thomsen L. и соавт. и Petersen G.L. и соавт. метод ИКСИ позволяет улучшить показатели эмбриогенеза и исходы программ ЭКО у супружеских пар, в которых партнер имеет ИзбМТ или ожирение [132; 134]. Colaci D.S. и соавт., напротив, сообщили о значительном снижении частоты

живорождений от пациентов с ожирением при оплодотворении этим методом [135].

На моделях животных также изучено влияние ожирения у самцов на качество эмбрионов. Было показано, что эмбрионы мышей, полученные от самцов с ожирением, чаще останавливаются в развитии на стадии пронуклеусов, отмечается снижение скорости деления клеток, меньше эмбрионов достигает стадии бластоцисты, а число клеток в трофэктодерме и внутриклеточной массе бластоцист снижено. Частота наступления беременностей от самцов с повышенным ИМТ также снижена [136; 137].

Интересным представляются результаты исследования Binder N.K. и соавт., в ходе которого изучалось развитие эмбрионов мышей, полученных в результате ЭКО. В рамках эксперимента животные были разделены на две группы: первой группе давали пищу с нормальным содержанием жиров, второй — с повышенным, в результате чего у животных развивалось ожирение. Впоследствии проводили оплодотворение ооцитов *in vitro* предварительно замороженными сперматозоидами и перенос эмбрионов в матку самок. Было выявлено, что эмбрионы, полученные от самцов с ожирением, демонстрировали значительное замедление темпов деления и снижение потенциалов мембран митохондрий на ранних сроках развития, кроме того процент образования бластоцист во второй группе был существенно меньше, чем в первой (41,03% и 58,92% соответственно). ЧНБ, а также вес плодов и плацент во второй группе был ниже, чем в первой. Любопытен тот факт, что частота оплодотворения сперматозоидами мышей с ожирением был выше, чем у самцов с нормальным ИМТ. В данном исследовании использовались предварительно замороженные сперматозоиды; это может указывать на лучшую переносимость криоконсервации сперматозоидами от самцов мышей с ожирением. Потребление пищи с повышенным содержанием жира приводит к гиперхолестерин- и гипертриглицеридемии, что сопровождается увеличением концентрации холестерина в сперматозоидах и, вероятно, повышает их устойчивость к низким температурам [138].

Не менее важное влияние ИзбМТ и ожирение у мужчины, возможно, оказывают на здоровье детей. Известно, что нарушение парадигмы питания в течение беременности (в том числе ожирение у матери), приводит к повышению частоты хронических заболеваний у детей — в частности ожирения и СД2. Менее изучено влияние ожирения отца на здоровье ребенка. Согласно эпидемиологическим исследованиям, дети отцов с ожирением в 1,5 раза чаще страдают ожирением.

Значительные трудности в проведении подобных исследований представляет разграничение влияния генетических, эпигенетических и факторов окружающей среды на здоровье отцов и их детей. Опыты на моделях животных лишены подобных недостатков, и позволяют изолированно изучить влияние ожирения отцов на метаболическое и репродуктивное здоровье потомства.

Fullston T. и соавт. в эксперименте на мышах с диет-индуцированным ожирением показали, что у потомства мужского пола, которые также получали пищу с повышенным содержанием жиров, развитие ожирения и МС происходило гораздо быстрее и в значительно более тяжелых формах, чем у отцов. У пробандов мужского пола отмечалось нарушение толерантности к глюкозе за счет дисфункции островковых клеток поджелудочной железы. Кроме того, было отмечено ухудшение параметров эякулята: уменьшение общего количества сперматозоидов и гамет с нормальной морфологией, снижение подвижности гамет, а также возрастание числа сперматозоидов с повреждением ДНК за счет увеличения в семенной плазме АФК [124].

Согласно результатам Ornellas F. и соавт., у потомства обоих полов от самцов с ожирением на фоне приема пищи с нормальным содержанием жиров, независимо от ИМТ, отмечались инсулинорезистентность и нарушение толерантности к глюкозе, дислипидемия и развитие жирового гепатоза. Эти изменения были более выражены в случае наличия ожирения у обоих родителей [139].

Механизмы, посредством которых ИзбМТ и ожирение у отца воздействуют на здоровье потомства, изучены мало, одним из возможных путей являются структурные и функциональные изменения ДНК сперматозоидов [124]. Не менее

важную роль, предположительно, играет эпигенетический механизм наследования [103].

1.8 Заключение по обзору литературы

Анализ литературы, посвященной влиянию ИзбМТ и ожирения на репродуктивную систему мужчин и исходы программ ЭКО, выявил ряд спорных вопросов.

Согласно вышеперечисленному, на сегодняшний день нет однозначного ответа о взаимосвязи между ИзбМТ и ожирением и изменениями в гормональном статусе, развитием варикоцеле и макроскопическими показателями эякулята у мужчин репродуктивного возраста. Отсутствуют данные о наличии влияния ИзбМТ и ожирения у мужчин на специфические патологии головки, шейки и средней части, жгутика сперматозоидов. Нет единого мнения о том, является ли избыток жировой ткани в организме фактором, повышающим ИФ ДНК гамет.

Вместе с тем вопрос о влиянии ИзбМТ и ожирения у мужчины на исходы программ ЭКО и ЭКО-ИКСИ также является спорным и требует детального изучения.

Разработка этих вопросов имеет принципиальное значение для понимания механизмов взаимосвязи между избытком жировой ткани в организме и состоянием мужской репродуктивной системы, а также для оптимизации алгоритмов обследования и лечения данной категории пациентов.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Дизайн исследования

Диссертационная работа представляет собой одномоментное неконтролируемое исследование, проводившееся с апреля 2013 г. по февраль 2015 г. в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

Критерии включения в исследование:

- пациенты, обратившиеся в отдел ВРТ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России с жалобами на бесплодие в браке.

Критерии исключения из исследования:

- наличие СД или гликемия натощак $\geq 5,6$ ммоль/л [140];
- гипотиреоз;
- некомпенсированная артериальная гипертензия (АД $\geq 140/90$ мм рт.ст. при офисном определении, согласно критериям диагностики от 2013 г.) [141];
- наличие онкологического заболевания любой локализации в анамнезе;
- лейкоспермия, гематоспермия;
- тяжелые формы патозооспермии (азооспермия, криптозооспермия);
- повышение температуры тела выше 38^0 С в течение последнего месяца;
- посещение бани/сауны в течение последнего месяца;
- получение какой-либо терапии, влияющей на сперматогенез, в течение последних трех месяцев;
- прием анаболических гормонов.

Всего за этот период времени в отделение ВРТ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России обратилось 684 мужчины с жалобами на отсутствие наступления беременности в браке при регулярной половой жизни без

использования методов контрацепции в течение 1 года. 77 (11,3%) из общего числа обратившихся не соответствовали критериям включения. Таким образом, в исследовании участвовали 607 (88,7%) пациентов. На первом этапе все мужчины были разделены на 3 группы в зависимости от ИМТ (согласно классификации ВОЗ 1997 г.): пациенты I группы имели нормальный ИМТ (18-24,9 кг/м²) (n = 186), II группы — ИзбМТ (ИМТ = 25-29,9 кг/м²) (n = 293), в III группу были включены лица с ожирением (ИМТ \geq 30 кг/м²) (n = 128). Всем 607 пациентам было проведено общее клиническое обследование, консультация уролога, с выполнением трансректального ультразвукового исследования (ТРУЗИ), биохимический, гормональный анализы крови, обычная спермограмма, спермограмма по строгим критериям Крюгера, определен ИФ ДНК сперматозоидов. 390 (64,3%) мужчин были обследованы лишь в рамках первого этапа. Остальным 217 (35,7%) пациентам вместе с супругами проведено лечение бесплодия методами ЭКО и ЭКО-ИКСИ. Учитывая, что данная группа была гетерогенна по причинам бесплодия в браке, создать сопоставимые подгруппы в зависимости только от ИМТ партнера не представлялось возможным. Поэтому на втором этапе исследования проанализирована взаимосвязь между некоторыми параметрами спермограммы и эмбриологическими показателями у всех пациентов, которым было проведено лечение методами ВРТ. На третьем этапе исследования из 217 супружеских пар было выделено 114 (52,5%), у которых причиной бесплодия в браке был мужской фактор; супруги по результатам обследования признаны условно фертильными. Эти пациенты подразделены на 3 группы в зависимости от ИМТ мужчины и у них проведена подробная оценка взаимосвязи между эмбриологическими показателями и результатами лечения и ИМТ партнера (Рисунок 4).

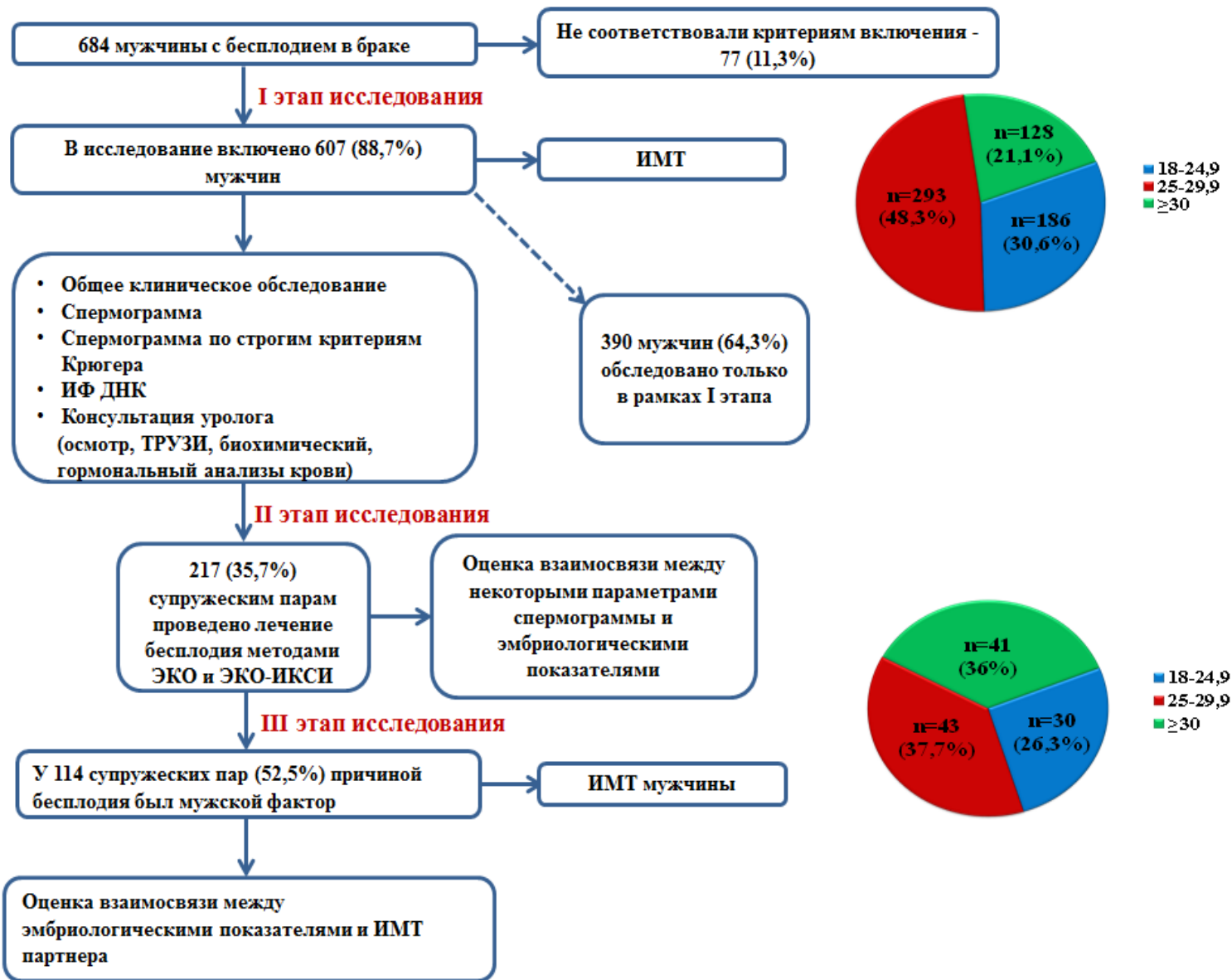


Рисунок 4 — Дизайн исследования

2.2 Общее клиническое исследование

Общее клиническое обследование включало сбор жалоб по основной и сопутствующей патологии, данные анамнеза (факторы, способные негативно влиять на сперматогенез: инфекции, передаваемые половым путем (ИППП), эпидемический паротит, черепно-мозговые травмы (ЧМТ)), наличие вредных привычек (курение, злоупотребление алкоголем), профессиональных вредностей, варикоцеле в анамнезе, оценку антропометрических данных (масса тела, рост, расчет ИМТ по формуле $\text{ИМТ (кг/м}^2\text{)} = \frac{\text{масса (кг)}}{\text{рост}^2 \text{ (м}^2\text{)}}$, измерение ОТ.

Измерение АД проводилось аппаратом CS-105 Medica (Китай) по методу Короткова.

ТРУЗИ органов мошонки проводилось на ультразвуковом аппарате Logic 3 General Electric (США).

Биохимические и гормональные исследования проводились на базе клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (заведующий лабораторией – Ильин А.В.). Биохимическое исследование крови (определение в сыворотке крови уровней глюкозы, общего ХС, ХС ЛПНП, ХС ЛПВП, ТГ) проводили на автоматическом биохимическом анализаторе Architect 8000 (Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL, США) стандартными наборами фирмы.

Гормональные исследования: определение уровней ФСГ, ЛГ, Е2, Т, иммунореактивного инсулина (ИРИ), проводились методом иммуноферментного анализа (Elisa) на анализаторе Victor (PerkinElmer) (США).

Референсные значения в таблицах представлены в соответствии с данными клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

На основании результатов обследования части пациентов был диагностирован МС согласно критериям Международной федерации диабета от 2009 г. [53].

2.3 Специальные методы исследования

2.3.1. Семиологический анализ

Эякулят был получен путем мастурбации в специально оборудованном помещении после воздержания сроком от двух до пяти дней и собран в стерильный пластиковый контейнер Sarstedt (Австралия). Перед сдачей анализа пациентам были даны четкие инструкции по технике сбора эякулята. Все пациенты заполняли сопроводительный бланк с указанием ФИО, года рождения, срока полового воздержания, даты и времени сдачи анализа, веса и роста, потери

части эякулята при сборе, контактной информации. После сдачи эякулят разжижался в течение 30 минут при комнатной температуре на шейкере Thermo Scientific MAXQ 2500 (США). Оценка параметров эякулята проводилась по критериям ВОЗ (2010) [81].

Объем эякулята измерялся путем взвешивания на весах AND EK-300i (Япония) с точностью до 0,1 г. Плотность эякулята принималась равной 1,0 г/мл. Вязкость определялась при выпускании эякулята из пластиковой пипетки (FALCON Transfer Pipet 3 ml, Мексика) и измерении длины выпускаемой нити. pH оценивался сразу после разжижения эякулята путем нанесения 1 капли на pH-бумагу фирмы SIEMENS Multistix 10sg (США); через 60 секунд экспозиции цвет сравнивали с калибровочной шкалой.

Подсчет количества сперматозоидов проводился с использованием камеры Маклера (Makler Counting Chamber SEFI MEDICAL INSTRUMENTS LTD, США). После разжижения 10 мкл эякулята наносилось пипеткой (Biohit SafetySpace Filter Tip 5 – 200 mkl, Финляндия) на предметное стекло камеры и накрывалось покровным стеклом с сеткой. Подсчёт концентрации сперматозоидов производился в 10 ячейках камеры, что численно соответствует млн/мл. В случае низких концентрациях количество обследуемых ячеек увеличивалось до 100. Исследование проводилось на микроскопе Olympus CX 31 (Япония); объектив – 40; окуляры – 10/20.

Общее количество сперматозоидов в эякуляте вычислялось по формуле: объем эякулята \times концентрация в 1 мл.

Подвижность сперматозоидов оценивалась по 4 категориям на 100 гамет: быстрая прогрессивная подвижность, медленная прогрессивная подвижность (сперматозоиды двигаются активно, прямолинейно или по кругу с большим диаметром, быстро или более медленно), непрогрессивная подвижность (все остальные подвижные сперматозоиды), неподвижные гаметы. Значения подвижности выражались в процентах.

Оценка жизнеспособности проводилась методом смешивания 1:1 эякулята и 0,5%-го раствора эозина. Мертвые сперматозоиды после обработки раствором

красителя приобретают розовый цвет, живые гаметы не окрашиваются. Процент живых сперматозоидов рассчитывался по формуле: количество неокрашенных сперматозоидов/100 гамет.

Оценка морфологии сперматозоидов проводилась по строгим критериям Крюгера на предокрашенных стеклах Prestained Morphology Slides фирмы Cell-vu (США). После разжижения эякулята готовился мазок, который накрывался покровным стеклом. Оценивалось строение 100 сперматозоидов под иммерсионным объективом со 100-кратным увеличением на микроскопе Olympus CX 31 (Япония). Подсчет патологий головки, шейки и средней части и жгутика рассчитывался по формуле: число сперматозоидов с конкретной патологией/100 гамет.

Поскольку сперматозоиды могут иметь множественные дефекты структуры, для каждого пациента был определен индекс тератозооспермии (ИТ, %), который отражает среднее число патологий на один сперматозоид и рассчитывается по формуле: сумма дефектов головки, шейки и средней части и жгутика/число сперматозоидов с патологической структурой на 100 гамет. Значение ИТ находится в пределах от 1,0 (каждый сперматозоид с патологией структуры имеет всего 1 дефект) до 3,0 (каждый сперматозоид с патологией структуры имеет нарушения в головке, шейке и средней части, жгутике).

2.3.2 Определение индекса фрагментации дезоксирибонуклеиновой кислоты сперматозоидов

Для определения фрагментации ДНК был использован АО метод, благодаря его низкой себестоимости, простой технике исполнения, наличия доступного лабораторного оборудования и высокой степени информативности. Исследованию подвергался эякулят, сданный пациентом после полового воздержания от двух до пяти дней. После разжижения при комнатной температуре на шейкере Thermo Scientific MAXQ 2500 (США), 1,0 мл эякулята пипеткой FALCON Transfer Pipet 3 ml (Мексика) переносился в 11-ти

миллилитровые пробирки Nunc ART (Дания) и центрифугировался с 9,0 мл физиологического раствора в течение 10 минут в центрифуге ScanFuge midi ORIGIO (Дания) при скорости 300 g. Надосадочная жидкость удалялась, из суспендированного осадка делался мазок на лабораторное стекло. После высушивания на воздухе в течение 10 мин при комнатной температуре мазок погружался в раствор метанол-уксусной кислоты в соотношении 3:1 на 5 мин. Высушенный фиксированный мазок окрашивался АО в течение 3 мин. Затем препарат промывался дистиллированной водой и обезвоживался в течение 1 мин в 70%-й растворе этанола. После высушивания препарата производилась оценка ИФ ДНК. Под воздействием ультрафиолетового излучения АО флуоресцирует зеленым светом, когда он связан с двухцепочечной ДНК, и испускает красную флуоресценцию в сперматозоидах с денатурированной, одноцепочечной ДНК. Для визуализации сперматозоидов использовался флуоресцентный микроскоп Olympus BX51 (Япония) с 600-кратным увеличением. Подсчет ИФ ДНК проводился по формуле: число сперматозоидов с фрагментированной ДНК/ 100 проанализированных гамет.

Пациенты, которые впоследствии вступали в протокол ЭКО, вместе с супругами проходили обследование согласно приказу №107н от 12.02.2013 г. Министерства здравоохранения России.

2.4 Стимуляция суперовуляции и пункция фолликулов

Контролируемая овариальная стимуляция проводилась препаратами рекомбинантного ФСГ (р-ФСГ) (Фоллитропин- α , Фоллитропин- β), менопаузного гонадотропина человека или комбинированным препаратом рекомбинантных ФСГ и ЛГ (Фоллитропин- α и Лутропин- α) в коротком или длинном протоколах. Короткий протокол начинался со 2-го или 3-го дня менструального цикла (м.ц.) на фоне агониста гонадотропин-рилизинг гормона (а-ГРГ) (инъекции Декапептила 0,1 мг (Ipsen Farma, Франция) п/к x 1 раз в день ежедневно до дня введения триггера овуляции включительно) или антагониста гонадотропин-рилизинг

гормона (анта-ГРГ) (инъекции Цетрореликса 0,25 мг (Мерк Сероно, Швейцария) п/к x 1 раз в день при достижении фолликулами диаметра 14,0 мм ежедневно до дня введения триггера овуляции включительно) или длинном протоколе с 21 дня м.ц. на фоне а-ГРГ (инъекции Декапептила 0,1 мг п/к x 1 раз в день ежедневно до дня введения триггера овуляции включительно или Декапептил депо 3,75 мг (Ipsen Farma, Франция) п/к однократно).

Мониторинг роста фолликулов проводился трансвагинальным датчиком на УЗ-аппаратах Voluson 730 Expert (Германия) и Aloka 5000 (Япония).

В качестве триггера овуляции использовались человеческий хорионический гонадотропин (Organon, Нидерланды) в дозе 10000 МЕ в/м, рекомбинантный хориогонадотропин-α (Merk Serono, Швейцария) в дозе 6500 МЕ п/к или агонист-ГРГ — Декапептил (Ipsen Farma, Франция) п/к в дозе 0,2 мг. Через 35-36 часов после введения триггера проводилась трансвагинальная пункция фолликулов и аспирация преовуляторных ооцитов. Процедура осуществлялась под в/в наркозом при помощи трансвагинального датчика УЗ-аппарата ALOKA 5000 LTD SSD— α5 (Япония), на который устанавливался прицел ALOKA MP-2748 (Япония). Пункция фолликулов проводилась иглой 17G SWEMED Vitrolife (Швеция). После прокалывания стенки яичника и входа в полость фолликула при помощи вакуумотсоса genX internation PPD (США) под давлением 180-200 мм рт. ст. фолликулярная жидкость аспирировалась в стерильные пробирки 14 ml Thermo Scientific nunk (Китай). Полученную фолликулярную жидкость передавали в эмбриологическую лабораторию. Идентификация ооцит-кумулюсных комплексов (ОКК) проводилась в чашках Nunc ART (Дания) диаметром 60,0 мм под микроскопом Olympus SZX 10 (Япония) при увеличении 8 (x1,25-объектив, x0,63 вставка, 10/22 - окуляр). ОКК при помощи пипетки Assistant micro-classic (Германия) с микропипеткой Biomedical LTD (РФ) помещали в среду с хеписом (специальная среда, сохраняющая стабильный pH на воздухе) (COOK/SAGE) (США/Дания) в чашу Nunc ART (Дания) диаметром 30,0 мм. После сбора ОКК отмывались в межлуночном пространстве и переносились в лунки 4х-луночного планшета Nunc ART (Дания) в одну из сред для оплодотворения

(COOK/ORIGIO/SAGE) (США/Дания/Дания) под минеральное масло (ORIGIO) (Дания) по 3 – 5 ОКК на лунку. Все манипуляции с ооцитами проводились в ламинаре IVF Tech (Дания) на подогреваемой до 39,0° С поверхности.

2.5 Оплодотворение и культивирование эмбрионов

В день пункции фолликулов супруг сдавал эякулят после полового воздержания от двух до пяти дней.

После разжижения при комнатной температуре на шейкере Thermo Scientific MAXQ 2500 (США), 1,0 – 2,0 мл эякулята пипеткой FALCON Transfer Pipet 3 мл (Мексика) наслаивалось в 11 мл пробирки Nunc ART (Дания) на двойной градиент (COOK/SAGE) (США/Дания) и центрифугировалось в течение 15 минут в центрифуге ScanFuge midi ORIGIO (Дания) при 300 g. Полученный осадок аспирировался и дважды отмывался в хепесной среде (COOK/SAGE) (США/Дания) в течение 7 минут при 300 g.

Оплодотворение проводилось методом классического ЭКО или ИКСИ.

При проведении классического ЭКО сперматозоиды помещались к яйцеклеткам при помощи самплера Hamelton 100-10 (США) с наконечником Biohit (Финляндия), из расчета 50 000 сперматозоидов на 1 ОКК и инкубировались в инкубаторе New Brunswick Galaxy 170R (Великобритания) при температуре 37°С, CO₂ – 6%, O₂ – 5%, N₂ – 89%. Оценка оплодотворения — наличие 2 пронуклеусов (2pn) через 16-18 часов инкубации — осуществлялась после предварительной очистки ооцитов от кумулюсных клеток при помощи стриппера ORIGIO (Дания) (флексипеты 150 – 130 мкм (COOK/ORIGIO)) (США/Дания) под микроскопом Olympus SZX 10 (Япония). После чего эмбрионы пересаживались в чашки с центральной лункой Nunc ART диаметром 30,0 мм с каплями среды для дробления (COOK/ORIGIO/SAGE) (США/Дания/Дания) под минеральным маслом (ORIGIO) (Дания).

При проведении ИКСИ на первом этапе после 2х часов нахождения ОКК в инкубаторе проводилось очищение ооцитов от кумулюсных клеток (денудация).

Для этого в лунку с ооцитами добавляли 0,3 мл раствора гиалуронидазы/кумулазы (COOK/ORIGIO) (США/Дания) и спустя 40 – 60 секунд ооциты очищались от клеток кумулюса при помощи стриппера (COOK/ORIGIO) (США/Дания) и флексипетов диаметрами 150–130 мкм. На чашку для ИКСИ IVF ICSI Dish Thermo Scientific nunk (США) диаметром 30,0 мм наносилась капля раствора PVP (среда для замедления движения сперматозоидов) (COOK/SAGE) (США/Дания). Рядом с каплей PVP наносились 5 капель хепесной среды объемом 15 мкл, после чего наслаивалось минеральное масло (ORIGIO) (Дания). В PVP добавлялись сперматозоиды.

В каждую каплю хепесного буфера помещалось по 1 ооциту. Инъекция единичного сперматозоида в яйцеклетку проводилась под микроскопом Olympus IX 71 (Япония), микроманипулятором Narishige (Япония) при 400-кратном увеличении — отбор сперматозоидов, 200 кратном — инъекция. Микроинструменты: холдинг и игла для ИКСИ (ORIGIO) (Дания).

После процедуры ИКСИ ооциты переносились в среды для дробления (COOK/ORIGIO/SAGE) (США/Дания/Дания) и инкубировались в инкубаторе New Brunswick Galaxy 170R (Великобритания) при температуре 37⁰С и содержании 6% углекислого газа, 5% кислорода, 89% азота в течение 16-18 часов, после чего проводилась оценка оплодотворения.

В последующем ежедневно проводилась оценка развития эмбрионов. Качество эмбрионов оценивалось согласно Стамбульскому консенсусу [142]. В средах для дробления (COOK/ORIGIO/SAGE) (США/Дания/Дания) эмбрионы культивировались до третьего дня включительно, после чего переносились в среды для культивирования до стадии бластоцист (COOK/ORIGIO/SAGE) (США/Дания/Дания).

Перенос эмбрионов в полость матки пациентки осуществлялся под УЗ-контролем при помощи катетеров Labotect (Embryo Transfer Catheter Set, Германия); TDT (Laboratoire C.C.D, Франция). Максимальное количество переносимых эмбрионов составляло 2 штуки. При наличии большего количества эмбрионов хорошего качества при согласии пациентов проводилась

криоконсервация эмбрионов на открытом носителе для витрификации при использовании наборов Cryotech (KITAZATO BioPharma Co., Ltd, Япония).

2.6 Расчетные показатели, измеряемые в протоколах экстракорпорального оплодотворения и экстракорпорального оплодотворения с использованием техники интрацитоплазматической инъекции единичного сперматозоида в цитоплазму ооцита

Всем пациентам, проходившим лечение бесплодия методом ЭКО и ЭКО-ИКСИ, определялись следующие показатели:

1. ЧОО — среднее число нормально оплодотворившихся ооцитов 2 рп.
2. Коэффициент оплодотворения (КО, %) — число оплодотворившихся ооцитов (2pn)/число зрелых ооцитов МП (для ИКСИ) и число оплодотворившихся ооцитов (2pn)/общее число ОКК (для классического ЭКО).
3. Коэффициент дробления (КД, %) — число дробящихся эмбрионов /число зрелых ооцитов МП (для ИКСИ) и число дробящихся эмбрионов /общее число ОКК (для классического ЭКО).
4. Эмбрионы высокого качества (ЭВК, %) — число четырехклеточных эмбрионов категории «а» на 2е сутки и восьмиклеточных эмбрионов категории «а» на 3и сутки развития/ число оплодотворившихся ооцитов (2pn).
5. Коэффициент образования бластоцист (КОБ, %) — число бластоцист на 5е сутки развития/число оплодотворившихся ооцитов (2pn).
6. Бластоцисты высокого качества (БВК, %) — число бластоцист на 5е сутки развития отличного качества/число оплодотворившихся ооцитов (2pn).

Также для каждой группы пациентов были определены следующие показатели:

1. Средний возраст и ИМТ пациенток.
2. Средняя продолжительность бесплодия в браке.
3. Среднее число полученных ооцитов.

4. Среднее число нормально оплодотворившихся ооцитов 2 рп.
5. Средний показатель оплодотворения в группе.
6. Средний показатель дробления в группе.
7. Среднее число эмбрионов высокого качества на 2е и 3и сутки развития (ЭВК на 2 и 3 сутки развития).
8. Среднее число образовавшихся бластоцист.
9. Среднее число бластоцист высокого качества.

10. Частота наступления биохимической беременности (Б/хБ, %) — положительный результат анализа крови на β -субъединицу хорионического гонадотропина человека (β ХГч) на 15й или 12й день после переноса эмбрионов в полость матки (если перенос эмбрионов производился на 2е или 3и сутки развития и 4е или 5е сутки развития соответственно) без визуализации плодного яйца в полости матки по данным УЗИ из расчета на перенос эмбрионов:

$$\text{Б/хБ (\%)} = \frac{\text{Число Б/хБ}}{\text{Число переносов эмбрионов}}$$

11. Частота репродуктивных потерь (ЧРП, %) — частота репродуктивных потерь, включающая в себя внематочные беременности, самопроизвольное прерывание и замершие беременности из расчета на перенос эмбрионов, которая рассчитывалась по формуле:

$$\text{ЧРП (\%)} = \frac{\Sigma (\text{внематочные беременности, самопроизвольное прерывание и замершие беременности})}{\text{Число переносов эмбрионов}}$$

12. Коэффициент живорождения (КЖ, %) — показатель, который рассчитывался, как соотношение числа беременностей, закончившихся рождением живых детей, к числу переносов эмбрионов:

$$\text{КЖ (\%)} = \frac{\text{Число беременностей, закончившихся рождением живых детей}}{\text{Число переносов эмбрионов}}$$

2.7 Статистический анализ

Статистическая обработка полученных данных была проведена с использованием пакета программ STATISTICA (StatSoft Inc. США, версия 13.0). Учитывая небольшие объемы выборок и распределения, отличающиеся от нормального, были использованы непараметрические методы анализа данных. Сравнение независимых групп по количественным признакам осуществлялось непараметрическим методом с использованием U-критерия Манна-Уитни. Сравнение независимых групп по качественным признакам осуществлялось непараметрическим методом путем анализа таблиц сопряженности с использованием двухстороннего точного критерия Фишера для несвязанных групп. Анализ связи (корреляции) двух количественных признаков осуществлялся непараметрическим методом ранговой корреляции по Спирмену. Статистически значимыми считали результаты при $p < 0,05$.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Клиническая характеристика обследованных пациентов

Для оценки взаимосвязи между ИзбМТ, ожирением и метаболическими, гормональными показателями, макроскопическими параметрами эякулята, ИТ и ИФ ДНК сперматозоидов пациенты были разделены на группы по ИМТ. В I группу с нормальным ИМТ было включено 186 мужчин, что составило 30,6% от общего числа пациентов, во II группу с ИзбМТ — 293, в III группу с ожирением — 128, что составило соответственно, 48,3% и 21,1%. Исследуемые группы были сопоставимы по возрасту. При оценке частоты курения, как признанного фактора, способного влиять на сперматогенез, статистически значимых различий между группами выявлено не было. Из анамнеза известно, что число пациентов, перенесших ИППП, эпидемический паротит, ЧМТ и имеющих профессиональные вредности во всех группах статистически значимо не отличалось.

Наибольшая медиана длительности бесплодия по сравнению с I группой была выявлена у лиц с ожирением ($p = 0,003$, непараметрический U-тест Манна-Уитни) (Таблица 1).

Таблица 1 — Клиническая характеристика обследованных пациентов с нормальным ИМТ, ИзбМТ и ожирением

Показатели	Группа I (нормальный ИМТ) n = 186 (30,6%)	Группа II (ИзбМТ) n = 293 (48,3%)	Группа III (ожирение) n = 128 (21,1%)	p I-II	p I-III
Возраст (лет)	35,0 [32,0; 39,0]	34,0 [30,0; 38,0]	35,0 [32,0; 40,0]	0,065 ¹	0,200 ¹
ИМТ (кг/м ²)	23,4 [21,6; 24,4]	27,0 [25,9; 28,4]*	32,0 [30,8; 34,3]*	< 0,001 ¹	< 0,001 ¹
Курение n, %	24 (13%)	38 (13%)	18 (14,1%)	0,519 ²	0,761 ²
ИППП в анамнезе n, %	97 (52,1%)	143 (48,8%)	69 (53,9%)	0,510 ²	0,810 ²
Эпид. паротит в анамнезе n, %	12 (6,5%)	22 (7,5%)	14 (10,9%)	0,720 ²	0,210 ²
ЧМТ в анамнезе n, %	21 (11,3%)	21 (7,2%)	10 (7,8%)	0,131 ²	0,340 ²
Проф. вредности n, %	5 (2,7%)	5 (1,7%)	2 (1,6%)	0,520 ²	0,701 ²
Длительность бесплодия (лет)	3,0 [2,0; 5,0]	4,0 [2,0; 7,0]	5,0 [3,0; 8,0]*	0,106 ¹	0,003 ¹

Указывались Ме и интерквартильный интервал [Q₁;Q₃]

* — статистически значимые различия

¹Непараметрический U-тест Манна-Уитни

²Двусторонний точный критерий Фишера для несвязанных групп

Как показано в Таблице 2, варикоцелэктомия ранее была выполнена 12 пациентам из I группы, 12 — из II и 4 из III, что составило 6,5%, 4,1% и 3,1% соответственно. Статистически значимых различий между группами не отмечено.

Объемы яичек и предстательной железы, а также число мужчин с признаками хронического простатита по данным ТРУЗИ были сопоставимы во всех группах пациентов.

Одностороннее варикоцеле было диагностировано у 25 (13,4%) пациентов с нормальным ИМТ, 36 (12,3%) — с ИзбМТ и 15 (11,7%) с ожирением. Двустороннее варикоцеле выявлено у 2х (1,1%) пациентов с нормальным ИМТ, у 8 (2,7%) с ИзбМТ и у 3х (2,3%) мужчин с ожирением. Разница между группами статистически не значима.

Таблица 2 — Связь между ИМТ и объемом яичек, предстательной железы, частотой встречаемости хронического простатита и варикоцеле

Показатели	Группа I (нормальный ИМТ) n = 186 (30,6%)	Группа II (ИзбМТ) n = 293 (48,3%)	Группа III (ожирение) n = 128 (21,1%)	p I-II	p I-III
Объем правого яичка (см ³)	17,5 [14,9; 20,9]	17,3 [14,5; 20,6]	18,2 [15,7; 21,1]	0,304 ¹	0,226 ¹
Объем левого яичка (см ³)	17,3 [14,5; 20,5]	17,1 [15,2; 20,1]	17,9 [15,4; 20,8]	0,829 ¹	0,285 ¹
Объем предстательной железы (см ³)	19,8 [17,0; 23,1]	19,9 [17,6; 22,6]	19,9 [17,3; 22,9]	0,423 ¹	0,649 ¹
Хронический простатит n, %	11 (5,9%)	17 (5,8%)	7 (5,5%)	1,001 ²	1,002 ²
Одностороннее варикоцеле n, %	25 (13,4%)	36 (12,3%)	15 (11,7%)	0,781 ²	0,730 ²
Двустороннее варикоцеле n, %	2 (1,1%)	8 (2,7%)	3 (2,3%)	0,330 ²	0,401 ²
Оперативное лечение варикоцеле в анамнезе n, %	12 (6,5%)	12 (4,1%)	4 (3,1%)	0,280 ²	0,301 ²

Указывались Me и интерквартильный интервал [Q₁;Q₃]

* — статистически значимые различия

¹Непараметрический U-тест Манна-Уитни

²Двусторонний точный критерий Фишера для несвязанных групп

Не выявлено взаимосвязи между ИМТ мужчины и наличием варикоцеле. Результаты ранее проведенных исследований противоречивы. Так, Najari В.В. и соавт. у мужчин с ИзбМТ и ожирением отмечается более частое развитие варикоцеле по сравнению с лицами с нормальным ИМТ [72]. Другие авторы, напротив, взаимосвязи между ИзбМТ, ожирением и развитием варикоцеле не подтверждают [73-75].

3.2 Связь между индексом массы тела, показателями липидного профиля и уровнями гормонов в крови

Из Таблицы 3 видно, что при лабораторном исследовании крови у лиц с ИзбМТ и ожирением медианы концентраций ХС, ХС ЛПНП и ТГ статистически значимо превышали показатели у пациентов с нормальным ИМТ ($p < 0,001$, непараметрический U-тест Манна-Уитни). Уровень ХС ЛПВП, напротив, у пациентов II и III групп был ниже по сравнению с I группой.

На основании результатов осмотра ($ОТ \geq 93$ см) и показателей липидного профиля (уровень ТГ $\geq 1,7$ ммоль/л, уровень ЛПВП $< 1,03$ ммоль/л) у 88 (30%) пациентов с ИзбМТ и у 111 (86,7%) — с ожирением был диагностирован МС.

Таблица 3 — Связь между ИМТ пациента и показателями липидного профиля

Показатели	Группа I (нормальный ИМТ) n = 186 (30,6%)	Группа II (ИзбМТ) n = 293 (48,3%)	Группа III (ожирение) n = 128 (21,1%)	p I-II	p I-III
ХС (ммоль/л)	4,4 [4,0; 5,0]	5,5 [5,1; 6,0]*	5,8 [4,9; 6,7]*	$< 0,001^1$	$< 0,001^1$
ХС ЛПНП (ммоль/л)	2,3 [1,9; 2,6]	3,4 [3,1; 3,7]*	4,6 [4,1; 5,0]*	$< 0,001^1$	$< 0,001^1$
ХС ЛПВП (ммоль/л)	1,7 [1,5; 2,0]	1,1 [1,0; 1,2]*	0,9 [0,8; 1,0]*	$< 0,001^1$	$< 0,001^1$
ТГ (ммоль/л)	1,0 [0,9; 1,1]	1,7 [1,4; 2,0]*	2,3 [1,9; 2,7]*	$< 0,001^1$	$< 0,001^1$
МС, %	0 (0%)	88 (30%)*	111 (86,7%)*	$< 0,001^2$	$< 0,001^2$

Указывались Ме и интерквартильный интервал [$Q_1; Q_3$]

* — статистически значимые различия

¹Непараметрический U-тест Манна-Уитни

²Двусторонний точный критерий Фишера для несвязанных групп

В Таблице 4 показано, что с увеличением ИМТ отмечалась тенденция к повышению уровня ФСГ. Наибольшая медиана показателя выявлена в группе пациентов с ожирением (4,9 Ед/л [3,5; 6,3]), наименьшая — у лиц с нормальным

ИМТ (3,6 Ед/л [2,6; 5,1]), разница статистически значима ($p < 0,001$, непараметрический U-тест Манна-Уитни). Уровень ЛГ во всех группах пациентов был примерно одинаковым. Полученные нами данные отличаются от результатов ранее проведенных исследований, в ходе которых было выявлено снижение уровней гонадотропинов у пациентов с ожирением [27; 28]. Однако в указанных работах пониженные концентрации ЛГ и ФСГ были отмечены лишь у пациентов с $\text{ИМТ} \geq 35 \text{ кг/м}^2$. В нашем исследовании мы не подразделяли пациентов по степени ожирения и средний ИМТ у мужчин с ожирением составил $32,0 \text{ кг/м}^2$ [30,8; 34,3]. Возможно, различия в дизайне являются причиной расхождения полученных результатов.

Медиана концентрации Е2 у пациентов II и III групп превышала показатель у лиц с нормальным ИМТ (91,0 пмоль/л [76,6; 108,1] и 138,9 пмоль/л [112,9; 178,1] соответственно против 58,2 пмоль/л [45,4; 87,3]); разница статистически значима ($p < 0,001$, непараметрический U-тест Манна-Уитни). Выявленная нами тенденция согласуется с результатами, полученными другими авторами, в работах которых также было показано повышение уровня Е2 у лиц с ИзбМТ и ожирением [19; 20; 21].

Уровень Т у пациентов с ИзбМТ и ожирением были значимо ниже, чем у пациентов I группы (14,3 нмоль/л [11,7; 17,3] и 10,7 нмоль/л [8,5; 12,7] против 21,6 нмоль/л [17,2; 26,2] в группах с ИзбМТ, ожирением и нормальным ИМТ соответственно, $p < 0,001$, непараметрический U-тест Манна-Уитни). Наши данные подтверждают результаты ранее проведенных исследований [19; 20; 21].

Таблица 4 — Связь между ИМТ пациента и уровнями гормонов в крови

Показатели	Группа I (нормальный ИМТ) n = 186 (30,6%)	Группа II (ИзбМТ) n = 293 (48,3%)	Группа III (ожирение) n = 128 (21,1%)	p I-II	p I-III
ФСГ (Ед/л)	3,6 [2,6; 5,1]	4,3 [3,2; 5,1]*	4,9 [3,5; 6,3]*	0,015 ¹	< 0,001 ¹
ЛГ (Ед/л)	3,9 [3,0; 4,6]	4,0 [3,1; 4,7]	3,7 [2,9; 4,8]	0,186 ¹	0,822 ¹
Е2 (пмоль/л)	58,2 [45,4; 87,3]	91,0 [76,6; 108,1]*	138,9 [112,9; 178,1]*	< 0,001 ¹	< 0,001 ¹
Т (нмоль/л)	21,6 [17,2; 26,2]	14,3 [11,7; 17,3]*	10,7 [8,5; 12,7]*	< 0,001 ¹	< 0,001 ¹

Указывались Ме и интерквартильный интервал [Q₁;Q₃]

* — статистически значимые различия

¹Непараметрический U-тест Манна-Уитни

3.3 Связь между индексом массы тела, объемом, вязкостью, рН и сроком разжижения эякулята

В Таблице 5 показано, что объем эякулята соответствовал норме ВОЗ (2010 г.) во всех группах. Наибольшая медиана показателя выявлена у мужчин с нормальным ИМТ — 3,7 мл [3,0; 4,5]; у пациентов с ИзбМТ и ожирением объем эякулята был статистически значимо меньше (3,0 мл [2,5; 4,5] и 3,0 мл [2,6; 4,2] соответственно, $p = 0,011$ и $p = 0,022$, непараметрический U-тест Манна-Уитни).

Вязкость эякулята у пациентов I и II групп соответствовала референсным значениям. У мужчин с ожирением медиана показателя была наибольшей и превышала норму — 20,0 мм [3,0; 20,0]. Различия между группами статистически не значимы.

Значения рН и срок разжижения эякулята были в пределах нормы у всех пациентов, независимо от ИМТ. Отмечалась тенденция к уменьшению рН у пациентов с ИзбМТ и ожирением по сравнению с мужчинами с нормальным ИМТ, однако статистической достоверности эти различия не достигали.

Таблица 5 — Объем, вязкость, pH и срок разжижения эякулята у пациентов с нормальным ИМТ, ИзбМТ и ожирением

Показатели	Норма ВОЗ (2010 г.)	Группа I (нормальный ИМТ) n = 186 (30,6%)	Группа II (ИзбМТ) n = 293 (48,3%)	Группа III (ожирение) n = 128 (21,1%)	p I-II	p I-III
Объем эякулята	$\geq 1,5$ мл	3,7 [3,0; 4,5]	3,0 [2,5; 4,5]*	3,0 [2,6; 4,2]*	0,011 ¹	0,022 ¹
Вязкость	< 15 мм	15,0 [3,0; 20,0]	15,0 [3,0; 20,0]	20,0 [3,0; 20,0]	0,452 ¹	0,315 ¹
pH	$\geq 7,2$	7,7 [7,6; 7,8]	7,8 [7,6; 7,8]	7,8 [7,7; 7,8]	0,087 ¹	0,211 ¹
Срок разжижения	< 60 мин	20,0 [20,0; 20,0]	20,0 [20,0; 20,0]	20,0 [20,0; 20,0]	0,382 ¹	0,296 ¹

Указывались Ме и интерквартильный интервал [Q₁; Q₃]

* — статистически значимые различия

¹Непараметрический U-тест Манна-Уитни

3.4 Связь между индексом массы тела, количеством сперматозоидов в 1 мл эякулята, числом живых сперматозоидов и гаметами с нормальной морфологией

Из Таблицы 6 видно, что количество сперматозоидов в 1 мл эякулята соответствовало нормативным показателям ВОЗ (2010 г.) во всех группах пациентов; отмечена отрицательная взаимосвязь показателя с ИМТ. У пациентов с ожирением число гамет в 1 мл эякулята было статистически значимо меньше, чем у лиц с нормальным ИМТ (45,0 млн. [15,0; 78,5] против 56,0 млн [31,0; 89,0], $p = 0,021$, непараметрический U-тест Манна-Уитни). Полученные нами данные подтверждают результаты ранее проведенных исследований [10; 76].

Число живых сперматозоидов в эякуляте было в норме (согласно показателям ВОЗ, 2010 г.) у всех пациентов и не зависело от ИМТ.

Доля гамет с нормальной морфологией соответствовала референсным значениям ВОЗ (2010 г.) во всех группах: наибольшее значение медианы выявлено у пациентов с нормальным ИМТ 6,0% [3,0; 11,0], наименьшее — у лиц с

ожирением 6,0% [2,5; 10,0], различие между группами не значимо. Аналогичные результаты были получены Andersen J.M. и соавт. [10].

Таблица 6 — Количество сперматозоидов в 1 мл эякулята, число живых сперматозоидов и гамет с нормальной морфологией у пациентов с нормальным ИМТ, ИзбМТ и ожирением

Показатели	Норма ВОЗ (2010 г.)	Группа I (нормальный ИМТ) n = 186 (30,6%)	Группа II (ИзбМТ) n = 293 (48,3%)	Группа III (ожирение) n = 128 (21,1%)	p I-II	p I-III
Кол-во в 1 мл	≥ 15 млн	56,0 [31,0; 89,0]	48,0 [21,0; 85,0]	45,0 [15,0; 78,5]*	0,112 ¹	0,021 ¹
Живые сперм-ды	$\geq 58\%$	90,0 [85,0; 94,0]	90,0 [85,0; 93,0]	89,0 [81,5; 93,0]	0,860 ¹	0,061 ¹
N формы	$\geq 4\%$	6,0 [3,0; 11,0]	6,0 [3,0; 10,0]	6,0 [2,5; 10,0]	0,353 ¹	0,243 ¹

Указывались Ме и интерквартильный интервал [Q₁; Q₃]

* — статистически значимые различия

¹Непараметрический U-тест Манна-Уитни

3.5 Связь между индексом массы тела и подвижностью сперматозоидов

Как показано в Таблице 7, во всех трех группах пациентов суммарный показатель быстрой и медленной прогрессивной подвижности сперматозоидов (a+b) был в норме, с тенденцией к уменьшению при ИзбМТ и ожирении. Наибольшее значение медианы числа гамет с быстрой прогрессивной подвижностью («a») отмечалось у лиц с нормальным ИМТ (16,0% [5,0; 25,0]), наименьшее — у пациентов с ожирением (14,0% [0,0; 21,0]). Различия между группами не значимы. У мужчин III группы число неподвижных гамет в эякуляте было статистически значимо больше, чем в I группе (37,5% [25,5; 55,0] против 33,0% [22,0; 49,0] соответственно, $p = 0,04$, непараметрический U-тест Манна-Уитни). Полученные нами результаты подтверждают данные Belloc S. и соавт. и Andersen J.M. и соавт. [10; 76].

Таблица 7 — Число сперматозоидов с быстрой (а) и медленной (b) прогрессивной подвижностью, непрогрессивной подвижностью (с) и число неподвижных гамет (d) у пациентов с нормальным ИМТ, ИзбМТ и ожирением

Показатели	Норма ВОЗ (2010 г.)	Группа I (нормальный ИМТ) n = 186 (30,6%)	Группа II (ИзбМТ) n = 293 (48,3%)	Группа III (ожирение) n = 128 (21,1% ¹)	p I-II	p I-III
Сумма (a + b)	≥ 40%	56,5 [38,0; 70,0]	52,0 [35,0; 66,0]	52,0 [34,5; 65,0]	0,105 ¹	0,139 ¹
a	≥ 32%	16,0 [5,0; 25,0]	15,0 [5,0; 24,0]	14,0 [0,0; 21,0]	0,318 ¹	0,095 ¹
b	—	37,0 [26,0; 46,0]	33,0 [22,0; 46,0]	34,0 [22,0; 44,5]	0,248 ¹	0,421 ¹
c	—	8,0 [5,0; 11,0]	9,0 [6,0; 14,0]	8,0 [5,0; 12,0]	0,062 ¹	0,515 ¹
d	c + d = 50% и менее	33,0 [22,0; 49,0]	36,0 [23,0; 49,0]	37,5 [25,5; 55,0]*	0,278 ¹	0,049 ¹

Указывались Ме и интерквартильный интервал [Q₁; Q₃]

* — статистически значимые различия

¹Непараметрический U-тест Манна-Уитни

3.6 Связь между индексом массы тела и патологией головки сперматозоидов

По данным литературы одной из наиболее тяжелых патологий структуры сперматозоидов является элонгация головки. Согласно исследованиям, у гамет с удлинёнными головками отмечаются повреждения акросомы и нарушения в шейке, высокий ИФ ДНК [87; 90; 91]. Мы выявили, что у пациентов с ИзбМТ и ожирением медиана сперматозоидов с удлинёнными головками статистически значимо превышала количество гамет с данной патологией у лиц с нормальным ИМТ (5,0% [0,0; 8,0] и 5,0% [0,0; 9,0] против 3,0% [0,0; 7,0] соответственно, p = 0,024 и p = 0,025, непараметрический U-тест Манна-Уитни). (Таблица 8).

Таблица 8 — Число сперматозоидов с различными патологиями головки у пациентов с нормальным ИМТ, ИзбМТ и ожирением

Показатели	Группа I (нормальный ИМТ) n = 186 (30,6%)	Группа II (ИзбМТ) n = 293 (48,3%)	Группа III (ожирение) n = 128 (21,1%)	p I-II	p I-III
Аморфные головки, %	26,0 [22,0; 31,0]	25,0 [20,0; 30,0]	23,0 [19,0; 29,0]*	0,176 ¹	0,004 ¹
Вакуоли в головке, %	6,0 [4,0; 9,0]	6,0 [3,0; 8,0]	6,0 [2,0; 9,0]	0,200 ¹	0,694 ¹
Нарушения в акросоме, %	8,0 [6,0; 10,0]	8,0 [5,0; 10,0]	7,0 [5,0; 10,0]	0,136 ¹	0,088 ¹
Капля на головке, %	0,0 [0,0; 4,0]	0,0 [0,0; 4,0]	0,0 [0,0; 3,0]	0,692 ¹	0,270 ¹
Удлиненные головки, %	3,0 [0,0; 7,0]	5,0 [0,0; 8,0]*	5,0 [0,0; 9,0]*	0,024 ¹	0,025 ¹
Круглые головки, %	4,0 [0,0; 6,0]	3,0 [0,0; 5,0]	2,0 [0,0; 6,0]	0,276 ¹	0,658 ¹
Двухголовые, %	0,0 [0,0; 2,0]	0,0 [0,0; 1,0]	0,0 [0,0; 2,0]	0,112 ¹	0,605 ¹
Микроголовки, %	3,0 [0,0; 6,0]	3,0 [0,0; 7,0]	3,5 [0,0; 8,0]	0,219 ¹	0,221 ¹

Указывались Ме и интерквартильный интервал [Q₁;Q₃]

* — статистически значимые различия

¹Непараметрический U-тест Манна-Уитни

Полученные нами результаты можно объяснить предполагаемыми причинами образования гамет с удлиненными головками. В числе возможных факторов, приводящих к формированию гамет с удлиненными головками, называют гипертермию яичек из-за увеличения прослойки жировой ткани в мошонке, что часто наблюдают у мужчин с ИзбМТ и ожирением [91].

Как видно из Таблицы 8, с увеличением ИМТ отмечалось уменьшение числа сперматозоидов с некоторыми другими формами нарушений головки. У пациентов с ожирением медиана доли гамет с аморфными головками была статистически значимо меньше, чем у лиц с нормальным ИМТ (23,0% [19,0; 29,0] против 26,0% [22,0; 31,0] соответственно, $p = 0,004$, непараметрический U-тест Манна-Уитни). Среди мужчин II и III групп отмечалась тенденция к уменьшению

числа сперматозоидов с нарушениями в акросоме, вакуолями в головке и круглыми головками, однако статистической значимости эти различия не достигали. Возможной причиной, на наш взгляд, является увеличение в эякуляте доли гамет со специфическими, характерными для ИзбМТ и ожирения, нарушениями головки, что, закономерно сопровождается уменьшением числа сперматозоидов с прочими патологиями.

3.7 Связь между индексом массы тела, патологией шейки, средней части и жгутика сперматозоидов

Согласно нашим результатам (Таблица 9), у мужчин с ИзбМТ и ожирением число сперматозоидов с нарушениями в шейке статистически значимо превышало количество гамет с данной патологией у лиц с нормальным ИМТ (17,0% [15,0; 20,0] и 18,0% [15,0; 20,0] против 16,0% [14,0; 19,0] соответственно, $p = 0,041$ и $p = 0,009$, непараметрический U-тест Манна-Уитни). Связи между ИМТ и числом ацефалических сперматозоидов, гамет с каплей на шейке и атипией жгутика выявлено не было.

Таблица 9 — Число сперматозоидов с патологиями шейки и средней части и жгутика у пациентов с нормальным ИМТ, ИзбМТ и ожирением

Показатели	Группа I (нормальный ИМТ) n = 186 (30,6%)	Группа II (ИзбМТ) n = 293 (48,3%)	Группа III (ожирение) n = 128 (21,1%)	p I-II	p I-III
Капля на шейке, %	13,0 [10,0; 17,0]	13,0 [10,0; 16,0]	14,0 [10,0; 17,0]	0,626 ¹	0,467 ¹
Нарушения в шейке, %	16,0 [14,0; 19,0]	17,0 [15,0; 20,0]*	18,0 [15,0; 20,0]*	0,041 ¹	0,009 ¹
Ацефалические сперм-ды, %	2,0 [0,0; 4,0]	2,0 [0,0; 3,0]	1,0 [0,0; 3,0]	0,929 ¹	0,166 ¹
Атипия жгутика, %	5,0 [3,0; 8,0]	5,0 [3,0; 8,0]	5,0 [3,0; 8,0]	0,337 ¹	0,698 ¹

Указывались Me и интерквартильный интервал [Q₁;Q₃]

* — статистически значимые различия

¹Непараметрический U-тест Манна-Уитни

Известно, что в шейке и средней части сперматозоидов находятся две центриоли и митохондрии, необходимые для движения и обеспечения сперматозоида энергией [10; 83; 84]. Согласно нашим результатам, у пациентов с ожирением доля неподвижных гамет значительно превышает показатель у лиц с нормальной и ИзбМТ, что может быть следствием возрастания числа сперматозоидов с нарушениями в шейке. По данным Menkveld R. и соавт. и Shiraishi K. и соавт. элонгация головки сперматозоида также сопровождается ухудшением его подвижности [90; 91]. В нашем исследовании мы показали, что у пациентов ИзбМТ и ожирением доля гамет с удлинёнными головками значительно превышала показатель у лиц с нормальным ИМТ, что также может обуславливать более высокий процент неподвижных сперматозоидов в группе мужчин с ожирением.

3.8 Связь между индексом массы тела и индексом тератозооспермии

Медиана ИТ в группах с ИзбМТ и ожирением превышала показатель у лиц с нормальным ИМТ: 1,4 [1,4; 1,5] и 1,6 [1,5; 1,7] против 1,3 [1,2; 1,4] соответственно ($p < 0,001$, непараметрический U-тест Манна-Уитни). Различия между группами статистически значимы (Таблица 10).

Таблица 10 — ИТ у пациентов с нормальным ИМТ, ИзбМТ и ожирением

Показатели	Группа I (нормальный ИМТ) n = 186 (30,6%)	Группа II (ИзбМТ) n = 293 (48,3%)	Группа III (ожирение) n = 128 (21,1%)	p I-II	p I-III
ИТ	1,3 [1,2; 1,4]	1,4 [1,4; 1,5]*	1,6 [1,5; 1,7]*	< 0,001 ¹	< 0,001 ¹

Указывались Ме и интерквартильный интервал [Q₁; Q₃]

* — статистически значимые различия

¹Непараметрический U-тест Манна-Уитни

Таким образом, несмотря на то, что значимых различий в доле морфологически нормальных гамет у пациентов с ИзбМТ и ожирением и

нормальным ИМТ нами не выявлено, среднее число патологий на один сперматозоид с увеличением ИМТ возрастает и у пациентов с ожирением превышает референсные значения ($< 1,6$).

3.9 Связь между индексом массы тела и индексом фрагментации дезоксирибонуклеиновой кислоты сперматозоидов

После изучения макроскопических параметров эякулята, всем пациентам было выполнено исследование ИФ ДНК сперматозоидов. (Таблица 11).

Таблица 11 — ИФ у пациентов с нормальным ИМТ, ИзбМТ и ожирением

Показатели	Группа I (нормальный ИМТ) n = 186 (30,6%)	Группа II (ИзбМТ) n = 293 (48,3%)	Группа III (ожирение) n = 128 (21,1%)	p I-II	p I-III
ИФ, %	21 [12; 35]	35 [25; 45]*	46 [37; 57]*	$< 0,001^1$	$< 0,001^1$

Указывались Ме и интерквартильный интервал [Q₁; Q₃]

* — статистически значимые различия

¹Непараметрический U-тест Манна-Уитни

При анализе результатов теста ИФ ДНК сперматозоидов в I группе соответствовал референсным значениям — 21% [12; 35] (норма $\leq 30\%$). В группах пациентов с ИзбМТ и ожирением медиана показателя превышала норму и у лиц с ожирением была наибольшей: 35% [25; 45] и 46% [37; 57] соответственно. Сравнение результатов АО теста у пациентов I и II, а также I и III групп показало статистически значимое увеличение числа сперматозоидов с фрагментированной ДНК ($p < 0,001$, непараметрический U-тест Манна-Уитни). Таким образом, мы выявили, что повышение ИМТ у мужчины сопровождается повреждением структуры ДНК гамет.

Согласно ранее проведенным исследованиям одним из наиболее частых макроскопических дефектов, сочетающихся с фрагментацией ДНК, является элонгация головки сперматозоида [3]. В ходе нашей работы мы выявили значимое увеличение доли гамет с удлинёнными головками в группах пациентов с ИзбМТ и

ожирением, что, вероятно, указывает на взаимосвязь между этим структурным нарушением и повреждением ДНК сперматозоидов.

После проведения сравнительной характеристики трех групп, мы проанализировали, какой ИМТ в среднем имеют лица с нормальными параметрами эякулята, ИТ и ИФ ($n = 173$). Было выявлено, что у мужчин с ИМТ = $24,7 \text{ кг/м}^2$ [22,7; 26,5] макро- и микроскопические показатели спермограммы соответствовали референсным значениям (здесь и далее в скобках указаны 25 и 75 процентиля соответственно). У 354 пациентов с ИМТ = $26,3 \text{ кг/м}^2$ [24,2; 29,0] показатели эякулята были в норме, при этом ИТ и ИФ превышали целевые уровни. Медиана ИМТ для мужчин лишь с нормальным ИТ ($n = 368$) составила $25,1 \text{ кг/м}^2$ [23,4; 27,1]; для лиц с ИФ < 30% – $24,9 \text{ кг/м}^2$ [23,0; 26,6]. Таким образом, у подавляющего большинства пациентов (> 75%), у которых отсутствовали нарушения сперматогенеза, ИМТ был или нормальным, или отмечался небольшой избыток массы тела.

3.10 Связь между метаболическими показателями, индексом тератозооспермии и индексом фрагментации дезоксирибонуклеиновой кислоты сперматозоидов

Мы выявили, что ИзбМТ и ожирение у мужчин сопровождается ухудшением как макроскопических параметров сперматозоидов, о чем свидетельствует возрастание ИТ у лиц с избыточным весом, так и повреждением ДНК гамет. Вместе с тем, у 30% пациентов с ИзбМТ и у 86,7% с ожирением был выявлен МС. По данным Vignera S. с соавт. наиболее сильное негативное влияние на сперматогенез у мужчин с ИзбМТ и ожирением оказывает гиперинсулинемия [57]. Кроме того, предположительно, дислипидемия является фактором, повреждающим хроматин гамет [65; 67].

Согласно нашим данным, ИТ статистически значимо положительно коррелировал с уровнями ИРИ и ТГ ($r = 0,462$, $p < 0,001$ и $r = 0,544$, $p < 0,001$ соответственно, непараметрический метод ранговой корреляции по Спирмену,), и

отрицательно — с концентрацией ЛПВП ($r = -0,531$, $p < 0,001$, непараметрический метод ранговой корреляции по Спирмену) в крови пациентов. Аналогичные результаты были получены при исследовании взаимосвязи ИФ с перечисленными показателями: положительные корреляции с уровнями ИРИ и ТГ ($r = 0,401$, $p < 0,001$ и $r = 0,363$, $p < 0,001$ соответственно, непараметрический метод ранговой корреляции по Спирмену), и отрицательная — с концентрацией ЛПВП ($r = -0,404$, $p < 0,001$, непараметрический метод ранговой корреляции по Спирмену) в крови пациентов.

Таким образом, мы не только показали взаимосвязь между метаболическим статусом мужчины и сперматогенезом, но и выявили основные факторы, которые, вероятно, оказывают повреждающее действие на сперматогенез. Характерные симптомы МС — дислипидемия (гипертриглицеридемия на фоне снижения уровня ЛПВП в крови), и гиперинсулинемия — способствуют ухудшению морфологии сперматозоидов и увеличению ИФ. В связи с этим пациентам с бесплодием и ИзбМТ и ожирением необходимо проведение общеклинического обследования с обязательной коррекцией выявленных нарушений.

3.11 Связь между индексом массы тела мужчины и результатами лечения бесплодия методами экстракорпорального оплодотворения и экстракорпорального оплодотворения с использованием техники интрацитоплазматической инъекции единичного сперматозоида в цитоплазму ооцита

После обследования, мы определили пациентов, которым было показано лечение бесплодия методами ВРТ: 41 (22%) в I, 99 (33,8%) во II и 50 (39,1%) в III группах. Число пациентов с ИзбМТ и ожирением статистически значимо превышало долю лиц с нормальным ИМТ. При этом у 29 (15,6%) супружеских пар, в которых партнер имел нормальный ИМТ, у 56 (19,1%) — ИзбМТ и у 32 (25%) — ожирение, по результатам семиологического исследования имелись показания к проведению ЭКО-ИКСИ (низкая концентрация гамет, небольшой процент прогрессивно подвижных сперматозоидов, доля морфологически

нормальных гамет менее 4%, высокий ИТ). Кроме того, учитывались результаты предыдущих протоколов ЭКО (КО при стандартном ЭКО 50% и менее был показанием к ИКСИ). Разница между I и III группами значима, $p = 0,041$. В остальных случаях возможно было оплодотворение методом «классического» ЭКО. (Таблица 12).

Таблица 12 — Группы пациентов в зависимости от способа оплодотворения

Параметр (показания)	Группа I (нормальный ИМТ)	Группа II (ИзбМТ)	Группа III (ожирение)	p I-II	p I-III
ЭКО n, %	12 (6,5%)	43 (14,7%)*	18 (14,1%)*	0,008 ²	0,033 ²
ИКСИ n, %	29 (15,6%)	56 (19,1%)	32 (25%)*	0,390 ²	0,041 ²
Всего ВРТ n, %	41 (22,1%)	99 (33,8%)*	50 (39,1%)*	0,007 ²	0,001 ²

Указывались Ме и интерквартильный интервал [$Q_1; Q_3$]

* — статистически значимые различия

²Двусторонний точный критерий Фишера для несвязанных групп

Остальным супружеским парам мы рекомендовали лечение с целью коррекции выявленных нарушений, что, возможно, способствовало бы наступлению спонтанной беременности. Однако, часть пациентов отказалась от предложенной терапии в пользу быстрого проведения протокола ЭКО. Поскольку желание пациентов вступить в программу не противоречило критериям включения в наше исследование, данную группу лиц мы также учитывали при обработке данных.

Всего лечение бесплодия методами ВРТ было проведено 217 супружеским парам. В 47,5% случаев (103 пары) ненаступление беременности в браке было обусловлено как мужскими, так и женскими факторами. У 52,5% пациентов (114 пар) основной причиной бесплодия был мужской фактор; супруги по результатам обследования признаны условно фертильными. В связи с чем создать группы пациентов, которые вступили в программы ЭКО, в зависимости только от ИМТ партнера было бы неправильно, поскольку получившиеся группы не были бы сопоставимы. Кроме того, провести оценку взаимосвязи между ИМТ мужчины и результатами программ ВРТ у всех пар — числом наступивших беременностей и родов — также не представлялось возможным, так как основное значение в

описываемых исходах имеет женский организм. Вместе с тем, мы выявили, что с увеличением ИМТ у мужчины наиболее значимые изменения происходят в морфологии сперматозоидов и в структуре их ДНК. Поэтому на первом этапе мы проанализировали взаимосвязь между ИТ, ИФ ДНК гамет и эмбриологическими показателями у всех пациентов, которым было проведено лечение методами ВРТ. На наш взгляд, эти показатели наиболее сильно зависят от макро- и микроскопических параметров сперматозоидов.

Как видно из Таблицы 13, была выявлена слабая, но статистически значимая отрицательная корреляция ИТ с ЧОО ($r = -0,109$, $p = 0,042$, непараметрический метод ранговой корреляции по Спирмену). Связи между ИТ, КД, ЭВК на 2е и 3и сутки развития, КОБ, БВК отмечено не было. Таким образом, чем выше ИТ, то есть, чем больше структурных нарушений имеют сперматозоиды, тем хуже, вероятнее всего, показатель оплодотворения. ИФ ДНК гамет также отрицательно коррелировал с ЧОО ($r = -0,185$, $p = 0,008$, непараметрический метод ранговой корреляции по Спирмену). Кроме того, была выявлена статистически значимая отрицательная корреляция ИФ с КОБ и БВК ($r = -0,140$, $p = 0,038$ и $r = -0,172$, $p = 0,010$ соответственно, непараметрический метод ранговой корреляции по Спирмену).

Таблица 13 — Связь между эмбриологическими показателями, ИТ и ИФ ДНК

Параметр	Показатели	r	p
ИТ	Число оплодотворившихся ооцитов (2pn)	-0,109 ³	0,042
ИФ	Число оплодотворившихся ооцитов (2pn)	-0,185 ³	0,008
	Общее число бластоцист	-0,140 ³	0,038
	Число бластоцист высокого качества	-0,172 ³	0,001

³Непараметрический метод ранговой корреляции по Спирмену

На сегодняшний день не существует методов, которые позволяют определить наличие повреждений ДНК у живого сперматозоида в связи, с чем недостаточно

данных об оплодотворяющих способностях гамет с фрагментированной ДНК. Согласно нашим результатам, увеличение ИФ ДНК сопровождается снижением числа зигот. Таким образом, на процесс оплодотворения влияет не только макроскопическая структура сперматозоида, но и целостность его генетического материала. Кроме того, высокий ИФ ДНК отрицательно коррелирует с показателями развития эмбрионов: уменьшается общее число бластоцист и бластоцист отличного качества

114 супружеских пар с мужским фактором бесплодия были разделены на 3 группы в зависимости от ИМТ партнера: в первую группу было включено 30 (26,3%), во вторую — 43 (37,7%) и в третью — 41 (36%) пара. Для каждой группы были определены средние возраст и ИМТ супругов, средняя продолжительность бесплодия, эмбриологические показатели и результаты лечения. Доля лиц, которым проводилось «классическое» ЭКО и ЭКО-ИКСИ во всех группах была одинаковой. Значимых различий в возрасте женщин и их ИМТ не выявлено. Наибольший возраст у мужчин был отмечен у лиц с ожирением — 35 лет [33; 39]. Однако, учитывая, что все пациенты находились в одной возрастной группе — от 30 до 40 лет — данное различие мы не учитывали, как оказывающее какое либо влияние. Статистически значимых различий между средней продолжительностью бесплодия в браке выявлено не было. Клиническая характеристика пациентов представлена в Таблице 14.

Таблица 14 — Клиническая характеристика пациентов

Параметр	Группа I (нормальный ИМТ) n = 30 (26,3%)	Группа II (ИзбМТ) n = 43 (37,7%)	Группа III (ожирение) n = 41 (36%)	p I-II	p I-III
ЭКО n, %	11 (37%)	16 (37%)	15 (37%)	1,000 ²	1,000 ²
ИКСИ n, %	19 (63%)	27 (63%)	26 (63%)	1,000 ²	1,000 ²
Возраст супруги	33 [31; 34]	32 [29; 36]	34 [32; 37]	0,762 ¹	0,163 ¹
ИМТ супруги	22,0 [19,7; 25,4]	22,0 [20,0; 26,4]	24,1 [21,9; 25,4]	0,587 ¹	0,122 ¹
Возраст супруга	32 [31; 35]	34 [31; 40]*	35 [33; 39]*	0,202 ¹	0,026 ¹
ИМТ супруга	23,7 [22,6; 24,5]	27,7 [25,8; 28,4]*	32,2 [30,8; 34,4]*	< 0,001 ¹	< 0,001 ¹
Длительность бесплодия	5 [4; 8]	5 [3; 9]	6 [3; 10]	0,934 ¹	0,657 ¹

Указывались Ме и интерквартильный интервал [Q₁; Q₃]

* — статистически значимые различия

¹Непараметрический U-тест Манна-Уитни

²Двусторонний точный критерий Фишера для несвязанных групп

3.11.1 Связь между индексом массы тела пациентов и эмбриологическими показателями

Общее число полученных ооцитов у супругов пациентов в среднем было примерно одинаковым во всех группах. Наименьшие ЧОО (2pn) отмечено в группе лиц с ожирением (5 [2; 7]), разница между I группой значима (p = 0,029, непараметрический U-тест Манна-Уитни).

При проведении оценки развития эмбрионов учитывалось число эмбрионов наилучшего качества на 2-е и 3-и сутки развития, общее количество образовавшихся бластоцист и число бластоцист отличного качества.

Показатели ЭВК, % на 2-е сутки развития были примерно одинаковыми во всех группах пациентов. Показатели ЭВК, % на 3 сутки развития были наибольшими в группе пациентов с нормальным ИМТ (20,8 [0,0; 35,7]); при сравнении со II и III группами пациентов статистически значимой разницы в показателях получено не было.

Как видно из Таблицы 15, отмечалась отрицательная корреляция КОБ,% с ИМТ: наибольшее общее число бластоцист получали у пациентов с нормальным ИМТ (12,0 [0,0; 60,0]). У лиц с ИзбМТ и ожирением показатели были ниже (0,0 [0,0; 57,1] и 0,0 [0,0; 37,5] соответственно), при сравнении с I группой разница не значима ($p = 0,580$ и $p = 0,160$ соответственно).

Таблица 15 — Связь между ИМТ пациента и эмбриологическими показателями

Параметр	Группа I (нормальный ИМТ) n = 30 (26,3%)	Группа II (ИзбМТ) n = 43 (37,7%)	Группа III (ожирение) n = 41 (36%)	p I-II	p I-III
Зрелые ооциты	7 [3; 12]	6 [4; 11]	5 [3; 8]	0,720 ¹	0,120 ¹
Число оплодотворившихся ооцитов	6 [4; 9]	5 [3; 8]	5 [2; 7]*	0,260 ¹	0,029 ¹
Коэффициент оплодотворения, %	68 [50; 86]	73 [60; 93]	67 [50; 83]	0,720 ¹	0,830 ¹
Коэффициент дробления, %	100 [100; 100]	100 [100; 100]	100 [100; 100]	0,511 ¹	0,550 ¹
Эмбрионы высокого качества на 2е сутки развития, %	40 [10; 50]	33,3 [16,7; 50,0]	42,9 [20,0; 50,0]	0,890 ¹	0,569 ¹
Эмбрионы высокого качества на 3 сутки развития, %	20,8 [0,0; 35,7]	16,7 [0,0; 33,3]	16,7 [0,0; 40,0]	0,500 ¹	0,694 ¹
Коэффициент образования бластоцист	12,0 [0,0; 60,0]	0,0 [0,0; 57,1]	0,0 [0,0; 37,5]	0,580 ¹	0,160 ¹
Коэффициент образования бластоцист высокого качества	0,0 [0,0; 27,3]	0,0 [0,0; 0,0]	0,0 [0,0; 0,0]	0,491 ¹	0,440 ¹

Указывались Ме и интерквартильный интервал [Q₁;Q₃]

* — статистически значимые различия

¹Непараметрический U-тест Манна-Уитни

Таким образом, значимой взаимосвязи между ИМТ партнера, числом дробящихся эмбрионов, эмбрионов отличного качества на 2-е и 3-и сутки развития и числом образующихся бластоцист не выявлено.

3.11.2 Связь между индексом массы тела пациентов и исходами программ экстракорпорального оплодотворения

В ходе проведенного лечения Б/хБ наступила у 17 пациенток (56,7%) из группы лиц с нормальным ИМТ ($n = 30$). Беременность закончилась родами у 15 пациенток (КЖ = 50%). У одной пациентки была диагностирована замершая беременность на сроке 7 недель, еще у одной — внематочная беременность, таким образом, КРП составил 6,7%. У 13 (43,3%) пациенток в ходе проведенного лечения беременность не наступила.

В парах, где партнер имел ИзбМТ ($n = 43$), Б/хБ наступила у 21 пациентки (48,8%). Роды произошли у 10 (КЖ = 23,3%) пациенток. У 4-х пациенток была выявлена замершая беременность, у 2х — внематочная беременность, таким образом, КРП составил 13,9%. У 5 пациенток ультразвуковой визуализации плодного яйца не отмечалось, то есть была диагностирована Б/хБ. Лечение было неэффективным у 22 пациенток (51,2%).

В группе пациентов с ожирением ($n = 41$) Б/хБ была диагностирована у 12 (29,3%), пациенток. У 4 пациенток произошли роды (КЖ = 9,8%). Замершую беременность выявили у 4-х пациентки, у одной — внематочную беременность (КРП = 12,2%). У 3х пациенток развитие беременности остановилось на биохимическом этапе. (Таблица 16).

Таблица 16 — Связь между ИМТ пациента и исходами программ ЭКО

Параметр	Группа I (нормальный ИМТ) n = 30 (26,3%)	Группа II (ИзбМТ) n = 43 (37,7%)	Группа III (ожирение) n = 41 (36%)	p I-II	p I-III
Беременность биохимическая, n, %	17 (56,7%)	21 (48,8%)	12 (29,3%)*	0,630 ²	0,028 ²
Беременность не наступила, n, %	13 (43,3%)	22 (51,2%)	29 (70,7%)*	0,635 ²	0,028 ²
Коэффициент живорождений, n, %	15 (50%)	10 (23,3%)*	4 (9,8%)*	0,024 ²	<0,001 ²
Репродуктивные потери (внематочные и замершие беременности, самопроизвольные аборты), n, %	2 (6,7%)	6 (13,9%)	5 (12,2%)	0,280 ²	0,691 ²

* — статистически значимые различия

²Двусторонний точный критерий Фишера для несвязанных групп

При проведении сравнительной оценки исходов лечения бесплодия между тремя группами было выявлено статистически значимо большее число Б/хБ у пациентов I группы по сравнению с III ($p = 0,028$, двусторонний точный критерий Фишера для несвязанных групп). КЖ,% также был максимальным среди пациентов с нормальным ИМТ (50%), разница между II и III группами значима ($p = 0,024$ и $p < 0,001$ соответственно, двусторонний точный критерий Фишера для несвязанных групп). Доля неэффективных протоколов ЭКО была наибольшей среди лиц с ожирением (70,7%), и статистически значимо превышала показатель I группы ($p = 0,028$, двусторонний точный критерий Фишера для несвязанных групп).

Ниже приводятся клинические случаи, в которых супруг имел ожирение, и бесплодие супружеской пары было обусловлено мужским фактором.

Клинический случай №1

Пациент А., 32 лет, обратился в отдел ВРТ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России в январе 2014 г. с жалобами на отсутствие наступления беременности в 1м браке в течение 9 лет.

При осмотре: рост 185 см, вес 112 кг, ИМТ = 32,7 кг/м², ОТ = 133 см, ОБ = 124 см, соотношение ОТ/ОБ = 1,07. АД 125/80 мм рт. ст. Из анамнеза известно, что избыточная масса тела отмечалась с детства. Наследственность отягощена по ожирению, СД2 типа (у матери, бабушки). С 25 лет стал набирать вес за счет жировой ткани, что связывает с малоподвижным образом жизни (работает программистом, автомобилист, спортом не занимается). К врачам с жалобами на избыточный вес не обращался. Самостоятельных попыток снижения массы не предпринимал. Со слов пациента, прием пищи регулярный, потребляет избыточное количество жиров и легкоусвояемых углеводов. Из напитков предпочитает пакетированные соки, сладкие газированные напитки. Вредные привычки отрицает. Эпидемическим паротитом не болел. Тяжелые травмы и сотрясения головного мозга отрицает. Профессиональных вредностей не имеет, контакт с радиацией и химическими веществами отрицает. Сексуальный дебют в 17 лет.

Объективно: телосложение по мужскому типу. Оволосение по мужскому типу, по Таннеру 5 баллов. По передней брюшной стенке бледные стрии. Кожные покровы нормальной окраски и влажности. Половое развитие правильное. Оба яичка определяются в мошонке, по ~18 см³. Придатки яичка не увеличены с обеих сторон. Варикозное расширение вен семенного канатика не выражено.

При ультразвуковом исследовании (УЗИ) органов мошонки с доплерографическим исследованием: левое яичко размерами 2,8 × 4,3 × 3,3 см, объем 17,8 см³. Структура однородная. Головка придатка не увеличена (0,5 × 0,6 см), контуры четкие, ровные. Объемные образования не выявлены. В оболочках яичка свободная жидкость не определяется. Экстратестикулярная венозная сеть в проекции семенного канатика не расширена. При пробе Вальсальвы вены

семенного канатика не дилатируют, в режиме цветного доплеровского картирования (ЦДК) рефлюкс крови не определяется. Кровоток в тестикулярной артерии $V_{\max} = 7,4$ см/сек., $V_{\min} = 3,2$ см/сек., индекс резистентности (ИР) — 0,52. Правое яичко размерами $2,5 \times 4,4 \times 3,5$ см, объем 17,3 см³. Структура однородная. Головка придатка не увеличена ($0,6 \times 0,7$ см), контуры четкие, ровные. Объемные образования не выявлены. В оболочках яичка свободная жидкость не определяется. Экстратестикулярная венозная сеть в проекции семенного канатика не расширена. При пробе Вальсальвы вены семенного канатика не дилатируют, в режиме ЦДК и доплерографии рефлюкс крови не определяется. Кровоток в тестикулярной артерии $V_{\max} = 7,5$ см/сек., $V_{\min} = 3,3$ см/сек., ИР — 0,55. Заключение: патологии не выявлено.

При ТРУЗИ предстательная железа размерами $4,9 \times 3,6 \times 2,8$ см, $V = 22,2$ см³. Контуры ровные, четкие, структура и эхогенность не изменены. Семенные пузырьки не расширены, структурно не изменены, размерами: левый $4,4 \times 1,2$ см, правый $4,3 \times 1,3$ см. Заключение: патологии не выявлено.

Результаты сперматологического исследования представлены в Таблице 17.

Таблица 17 — Результаты сперматологического исследования

Показатель	Нормативные значения показателей эякулята ВОЗ (2010 г)	Результат
Срок воздержания	2-7 дней	3 дня
Объем эякулята	1,5 мл и более	3,2 мл
Потеря эякулята	-	Нет
Цвет	бело-серый	Бело-серый
Запах	специфический	Специфический
Вязкость	менее 15 мм	10 мм
рН	7,2 и более	7,6
Срок разжижения	до 60 мин	30 мин
Количество в 1 мл	15 млн и более	18 млн
Живые сперматозоиды	58% и более	64%
Мертвые сперматозоиды	-	36%
Подвижность сперматозоидов		
Подвижность (a + b)	40% и более	16 %
Поступательное быстрое (a)	32% и более	2%
Поступательное медленное (b)		14%
Непоступательное движение (c)		13 %
Неподвижные (d)		71%
Морфология сперматозоидов		
Морфологически нормальные	4% и более	1 %
Патологические формы		99 %
Количество лейкоцитов в 1 мл	1 млн и менее	1 млн

Патологические формы

Капля на шейке	8 %	Нарушения в шейке	15 %	Атипия жгутика	5 %
Аморфные головки	31 %	Нарушения в акросоме	3%	Ацефалические	3 %
Вакуоли в головке	7 %	Удлиненные головки	18 %	Двухголовые	0 %
Круглые головки	1 %	Капля на головке	0 %	Микроголовки	8 %

Согласно полученным данным, у пациента была диагностирована астенотератозооспермия. ИТ равнялся 1,6. Результат MAR-теста составил 0% (норма). При исследовании ИФ ДНК сперматозоидов методом окраски АО 48% гамет имели разрывы ДНК. По результатам бактериального посева и ПЦР эякулята данных за наличие инфекционного процесса не получено.

В гормональном анализе крови: ФСТГ – 6,2 Ед/л (норма: 1,6–9,7 Ед/л); ЛГ – 5,6 Ед/л (норма: 2,5–11,0 Ед/л); ГСПГ – 35,0 нмоль/л (норма: 14,5–65,4 нмоль/л); пролактин – 315,0 мЕд/л (норма: 60,0-510,0 мЕд/л); тиреотропный гормон (ТТГ) –

1,5 мМЕ/л (норма: 0,25–3,5 мМЕ/л), Т4 св. – 14,3 пмоль/л (норма: 9,0–20,0 пмоль/л), Т общий – 11,98 нмоль/л (норма: 11,0–33,5 нмоль/л); Е2 – 218,4 пмоль/л (норма: 19,7–242,0 пг/мл).

В биохимическом анализе крови выявлено повышение уровня общего ХС до 5,8 ммоль/л (3,3–5,2), ЛПНП до 4,3 ммоль/л (1,1–3,0). Остальные показатели (мочевая кислота, билирубин общий, билирубин прямой, аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), ТГ, ЛПВП) в пределах референсных значений. Оральный глюкозотолерантный тест (ОГТТ): глюкоза исходно 5,3 ммоль/л, через 120 минут после приема 75 г глюкозы — 6,4 ммоль/л (норма).

Супруге 29 лет. Рост 159 см, вес 66 кг, ИМТ 26,4 кг/м². Менархе с 15 лет, установлено сразу; менструации регулярные, через 26–28 дней, по 5 дней, умеренные, безболезненные. Беременностей не было. Гинекологические заболевания: эктопия шейки матки в 2010 г., пролечена. Хирургические вмешательства отрицает. По данным гистеросальпингографии (ГСГ) от 2012 г. маточные трубы проходимы с обеих сторон. При проведении УЗИ органов малого таза на 16й день м.ц.: признаки эндоцервицита, в остальном УЗ-картина соответствует дню м.ц. В крови уровни ФСГ, ЛГ, ПРЛ, Т, 17(ОН)прогестерона, ГСПГ, ТТГ, Т4 св., антимюллерова гормона (АМГ) в пределах референсных значений. Таким образом, причин ненаступления беременности со стороны женщины не выявлено.

После обследования супружеской пары был верифицирован диагноз: бесплодие первичное. Мужской фактор. Астенотератозооспермия. ИФ ДНК сперматозоидов 48%. Ожирение 1 ст. (ИМТ = 32,7).

Пациенту назначен Ксеникал по 1 капсуле х 3 раза в сутки, даны рекомендации по коррекции питания и образа жизни (прием пищи каждые 2–3 часа небольшими порциями, суточный калораж не более 1500 ккал, не менее 1 часа аэробных физических нагрузок ежедневно).

Назначенные рекомендации по коррекции питания и образа жизни выполнялись эпизодически. Через 3 месяца вес пациента составлял 110 кг, ИМТ =

32,1 кг/м² (снижение массы тела на 2 кг). По результатам повторной спермограммы — показатели без существенной динамики: концентрация гамет в 1 мл составила 20 млн., сперматозоиды с быстрой прогрессивной подвижностью в эякуляте отсутствовали, нормальную морфологию имели 2% гамет. При повторном исследовании ИФ ДНК сперматозоидов разрывы ДНК были выявлены у 45% гамет.

Учитывая низкую комплаентность пациента, его нежелание изменять образ жизни, отказ от дальнейшего лечения по настоятельной просьбе супругов принято решение о вступлении пары в протокол ЭКО.

В апреле 2014 г. был начат короткий протокол: контролируемая овариальная стимуляция проводилась препаратом р-ФСГ (Гонал-Ф) на фоне анта-ГРГ (Цетротид 0,25 мг) в течение 8 дней в суммарной дозе 1125 МЕ. Триггер овуляции — Овитрель 6500 МЕ. Получено 11 ооцитов (9МП, 2МІ). По результатам спермограммы на день оплодотворения — концентрация 18 млн. в 1 мл, сперматозоиды с быстрой прогрессивной подвижностью составили 5%, гаметы с медленной прогрессивной подвижностью — 18%, неподвижны были 68%, морфологически нормальных гамет 2% — принято решение о проведении оплодотворения методом ЭКО-ИКСИ.

Ежедневно проводилась оценка развития эмбрионов. КО составил 33,3% (3 x 2 рп, 6 x 0 рп), КД — 100%, ЭВК, % на 2е сутки развития был равен 66,7%. Был произведен перенос 2х эмбрионов на 3и сутки развития категории 4а, 4а в полость матки пациентки. В результате лечения беременность не наступила.

Через 2 месяца пациент пришел на повторную консультацию с целью продолжить снижение массы тела. После 6 месяцев соблюдения рекомендаций по питанию и изменению образа жизни, вес пациента составлял 92 кг (снижение массы тела на 18 кг), ИМТ = 27,7 кг/м². По результатам повторной спермограммы отмечалось увеличение концентрации гамет в 1 мл до 43 млн., сперматозоиды с быстрой прогрессивной подвижностью составляли 24%, нормальную морфологию имели 5% гамет. ИФ ДНК сперматозоидов уменьшился до 29%. Учитывая положительную динамику в результатах обследования супруга, было

рекомендовано вступление в протокол ЭКО. Однако, на этапе планирования у пациентки наступила самостоятельная беременность, которая завершилась срочными родами в 39 недель; родился здоровый мальчик весом 3560 г и ростом 53 см.

В данном клиническом случае изначальный отказ пациента от рекомендованного лечения существенно снизил шансы на наступление беременности у супруги в результате программы ЭКО. Обращал на себя внимание низкий показатель оплодотворения: из 9 зрелых ооцитов образовалось лишь 3 эмбриона. Вероятной причиной явились неудовлетворительные макро- и микроскопические параметры спермограммы: значительное ухудшение подвижности сперматозоидов, низкий процент морфологически нормальных гамет, высокие показатели ИФ и ИТ. В последующем, у пациента отмечалось значительное улучшение показателей спермограммы и нормализация ИФ ДНК сперматозоидов лишь на фоне снижения массы тела, в результате чего наступила спонтанная беременность.

Клинический случай №2

Пациент Л., 37 лет, обратился в отдел ВРТ ФГБУ НМИЦ эндокринологии Минздрава России в апреле 2014 г. с жалобами на отсутствие наступления беременности во 2-м браке в течение 2-х лет.

При осмотре: рост 185 см, вес 130 кг, ИМТ = 37,9 кг/м², ОТ = 133 см, ОБ = 124 см, соотношение ОТ/ОБ = 1,07. АД 125/80 мм рт. ст. Из анамнеза известно, что избыточная масса тела отмечалась с детства, наследственность отягощена по ожирению (у отца и матери), СД2 типа (у отца, бабушки по отцовской линии). До 25 лет пациент занимался спортом (борьба), максимальная масса тела составляла 98 кг (ИМТ 28,6). После прекращения активных физических нагрузок стал набирать вес за счет жировой ткани. В 30 лет диагностировано ожирение — вес 110 кг, ИМТ = 32,1. К врачам с жалобами на избыточный вес не обращался.

Неоднократно самостоятельно предпринимал попытки снижения массы тела путем коррекции питания и расширения физической активности с положительным эффектом — происходило уменьшение веса на 5-10 кг, однако, после возвращения к привычному образу жизни, масса тела снова увеличивалась. Со слов пациента, прием пищи нерегулярный, потребляет избыточное количество жиров и легкоусвояемых углеводов: не завтракает, обедает фастфудом, ужин поздний, с большим содержанием жиров. Из напитков предпочитает кофе и чай с сахаром, пакетированные соки. Вредные привычки отрицает. Эпидемическим паротитом не болел. Тяжелые травмы и сотрясения головного мозга отрицает. Профессиональных вредностей не имеет, контакт с радиацией и химическими веществами отрицает. Сексуальный дебют в 16 лет.

Объективно: телосложение по мужскому типу. Оволосение по мужскому типу, по Таннеру 5 баллов. По передней брюшной стенке, ягодицам отметаются бледные стрии. Кожные покровы нормальной окраски и влажности. Половое развитие правильное. Оба яичка определяются в мошонке, по $\sim 20 \text{ см}^3$. Придатки яичка не увеличены с обеих сторон. Варикозное расширение вен семенного канатика не выражено с обеих сторон.

При УЗИ органов мошонки с доплерографическим исследованием: левое яичко размерами $2,7 \times 4,7 \times 3,3 \text{ см}$, объем $20,9 \text{ см}^3$. Структура однородная. Головка придатка не увеличена ($0,7 \times 0,8 \text{ см}$), контуры четкие, ровные. Объемные образования не выявлены. В оболочках яичка свободная жидкость не определяется. Экстратестикулярная венозная сеть в проекции семенного канатика не расширена. При пробе Вальсальвы вены семенного канатика не дилатируются, в режиме ЦДК рефлюкс крови не определяется. Кровоток в тестикулярной артерии $V_{\text{max}} = 7,9 \text{ см/сек.}$, $V_{\text{min}} = 3,4 \text{ см/сек.}$, ИР – 0,54. Правое яичко размерами $2,6 \times 5,0 \times 3,5 \text{ см}$, объем $22,8 \text{ см}^3$. Структура однородная. Головка придатка не увеличена ($0,9 \times 0,8 \text{ см}$), контуры четкие, ровные. Объемные образования не выявлены. В оболочках яичка свободная жидкость не определяется. Экстратестикулярная венозная сеть в проекции семенного канатика не расширена. При пробе Вальсальвы вены семенного канатика не дилатируются, в режиме ЦДК и

доплерографии рефлюкс крови не определяется. Кровоток в тестикулярной артерии $V_{\max} = 8,1$ см/сек., $V_{\min} = 3,6$ см/сек., ИР – 0,55. Заключение: патологии не выявлено.

При ТРУЗИ предстательная железа размерами $4,8 \times 3,0 \times 2,5$ см, $V = 18,7$ см³. Контуры ровные, четкие, структура не изменена, эхогенность в норме. Семенные пузырьки не расширены, структурно не изменены, размерами: левый $4,5 \times 1,2$ см, правый $4,3 \times 1,1$ см. Заключение: патологии не выявлено.

Результаты сперматологического исследования представлены в Таблице 18.

Таблица 18 — Результаты сперматологического исследования

Показатель	Нормативные значения показателей эякулята ВОЗ (2010 г)	Результат
Срок воздержания	2-7 дней	2 дней
Объем эякулята	1,5 мл и более	3,4 мл
Потеря эякулята	-	Нет
Цвет	бело-серый	Бело-серый
Запах	специфический	Специфический
Вязкость	менее 15 мм	3 мм
pH	7,2 и более	7,8
Срок разжижения	до 60 мин	30 мин
Количество в 1 мл	15 млн и более	23 млн
Живые сперматозоиды	58% и более	60 %
Мертвые сперматозоиды	-	40 %
Подвижность сперматозоидов		
Подвижность (a + b)	40% и более	44 %
Поступательное быстрое (a)	32% и более	11%
Поступательное медленное (b)		33 %
Непоступательное движение (c)		16 %
Неподвижные (d)		40%
Морфология сперматозоидов		
Морфологически нормальные	4% и более	4 %
Патологические формы		96 %
Количество лейкоцитов в 1 мл	1 млн и менее	0,5 млн

Патологические формы

Капля на шейке	11 %	Нарушения в шейке	14 %	Атипия жгутика	9 %
Аморфные головки	28 %	Нарушения в акросоме	6 %	Ацефалические	0 %
Вакуоли в головке	8 %	Удлиненные головки	8 %	Двухголовые	0 %
Круглые головки	6 %	Капля на головке	0 %	Микроголовки	6%

Согласно полученным данным, была диагностирована нормозооспермия (по критериям ВОЗ 2010 г.). ИТ равнялся 1,8. Результат MAR-теста составил 0%. При исследовании ИФ ДНК сперматозоидов методом окраски АО 49% гамет имели разрывы ДНК. По результатам бактериального посева и ПЦР эякулята данных за наличие инфекционного процесса не получено.

В гормональном анализе крови: ФСГ – 4,1 Ед/л (норма: 1,6–9,7 Ед/л); ЛГ – 4,2 Ед/л (норма: 2,5–11,0 Ед/л); пролактин – 294,0 мЕд/л (норма: 60,0–510,0 мЕд/л); ТТГ – 2,8 мМЕ/л (норма: 0,25–3,5 мМЕ/л), Т₄св – 12,4 пмоль / л (норма: 9,0–20,0 пмоль/л), Т общий – 14,9 нмоль/л (норма: 11,0–33,5 нмоль/л); Е₂ – 88,4 пмоль/л (норма: 19,7–242,0 пмоль/мл); ГСПГ – 29,4 нмоль/л (норма: 14,5–65,4 нмоль/л).

В биохимическом анализе крови выявлено повышение уровня общего ХС до 7,0 ммоль/л (3,3–5,2), ЛПНП до 4,0 ммоль/л (1,1–3,0). Остальные показатели (мочевая кислота, билирубин общий, билирубин прямой, АЛТ, АСТ, ТГ) в пределах референсных значений. ОГТТ: глюкоза исходно 5,5 ммоль/л, через 120 минут после приема 75 г глюкозы — 6,8 ммоль/л (норма).

Супруге 30 лет. Рост 168 см, вес 58 кг, ИМТ = 20,5. Менархе с 14 лет, установлено в 15 лет; менструации регулярные, через 28–32 дня, с задержками до 5 дней, по 5 дней, умеренные, безболезненные. В анамнезе 1 беременность (от другого полового партнера, в 2000 г., прервана на сроке 5–6 недель, abrasion cavi uteri, без осложнений). Гинекологические заболевания: уреаплазмоз в 2010 г., пролечена. Хирургические вмешательства отрицает. При проведении УЗИ органов малого таза на 2й день м.ц.: УЗ-картина соответствует дню м.ц. В гормональном анализе крови пациентки уровни ФСГ, ЛГ, ТТГ, Т₄ св., ПРЛ, Т, 17(ОН)прогестерона, ГСПГ в норме. АМГ 2,5 нг/мл (0,1–10,6). Таким образом, причин ненаступления беременности со стороны женщины не выявлено.

Ранее лечение бесплодия методом ЭКО не проводилось.

После обследования супружеской пары был верифицирован диагноз: бесплодие первичное. Мужской фактор. ИФ ДНК сперматозоидов 49%. Ожирение 2 ст. (ИМТ = 37,9 кг/м²).

Учитывая отказ пациента от дальнейшего лечения, принято решение о проведении лечения бесплодия супружеской пары методом ЭКО. Пациентам были объяснены риски вступления в протокол без предварительных дообследования и подготовки супруга к ЭКО.

В декабре 2014 г. был начат короткий протокол: контролируемая овариальная стимуляция проводилась препаратом р-ФСГ (Пурегон) на фоне анта-ГРГ (Цетротид 0,25 мг) в течение 8 дней в суммарной дозе 1400 МЕ. Триггер овуляции — Прегнил 10000 МЕ. Получено 8 ооцитов (8 МП). По результатам спермограммы на день оплодотворения — концентрация 28 млн. в 1 мл, сперматозоиды с быстрой прогрессивной подвижностью в эякуляте не выявлены, доля гамет с медленной прогрессивной подвижностью составила 31%, неподвижны были 58%, морфологически нормальных гамет 2% — принято решение о проведении оплодотворения методом ЭКО-ИКСИ.

Ежедневно проводилась оценка развития эмбрионов. КО составил 62,5% (5 x 2 рп, 1 x 1 рп и 2 x 0 рп), КД — 62,5%, ЭВК, % на 2е сутки развития был равен 60%, на 3и сутки — 40%, КОБ — 40%, БВК — 20%. Был произведен перенос 2х эмбрионов на 5е сутки развития категории 5АА, 1АВ в полость матки пациентки. В результате лечения наступила маточная одноплодная беременность, которая замерла на сроке 8 недель. Было проведено инструментальное удаление плодного яйца с последующим гистологическим исследованием тканей абортуса. По результатам гистологического исследования: неразвивающаяся беременность.

В данном клиническом случае в числе возможных причин замершей беременности могут быть хромосомные аномалии эмбрионов: анеуплоидии и более «мелкие» хромосомные повреждения — делеции и дупликации (недостаточное или избыточное количество генетической информации), транслокации (обмен генетической информацией между отдельными хромосомами) и др. Результаты обследования супруга — биохимический и гормональный анализы крови, данные ТРУЗИ, простая спермограмма соответствовали референсным значениям. И лишь специальные методы исследования — анализ морфологии сперматозоидов по

строгим критериям Крюгера, определение ИФ ДНК гамет — позволили выявить мужской фактор, как основную причину бесплодия супружеской пары. Безопасных способов определения структуры ДНК у живых гамет для селекции сперматозоидов с неповрежденным генетическим материалом и последующего использования их для оплодотворения в программах ВРТ не существует. Способность сперматозоидов с фрагментированной ДНК к оплодотворению ооцита также неизвестна. Показатели оплодотворения и развития эмбрионов у данной супружеской пары были в пределах референсных значений; пациентке был произведен перенос 2х бластоцист отличного и хорошего качества. Однако визуальная оценка параметров эмбрионов не отображает количественный и качественный набор хромосом. Предположительной причиной прерывания беременности у нашей пациентки могли быть хромосомные нарушения у эмбриона, возникшие вследствие фрагментации ДНК сперматозоида [126].

Клинический случай №3

Пациент В., 36 лет, обратился в отдел ВРТ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России в августе 2013 г. с жалобами на отсутствие наступления беременности в браке в течение 5 лет.

При осмотре: рост 183 см, вес 113 кг, ИМТ = 33,7 кг/м², ОТ = 123 см, ОБ = 116 см, соотношение ОТ/ОБ = 1,06. АД 135/90 мм рт. ст. Из анамнеза известно, что ИзбМТ отмечалась с детства, наследственность отягощена по ожирению, СД2 типа (у отца, бабушки по отцовской линии), сердечно-сосудистым заболеваниям (инсульт у бабушки по отцовской линии в 76 лет). До 28 лет максимальная масса тела пациента составляла 95 кг (ИМТ = 28,4 кг/м²). После изменения образа жизни (смена места жительства) вес стал увеличиваться за счет жировой ткани. К врачам с жалобами на избыточный вес не обращался, самостоятельных попыток снижения массы тела не предпринимал. Со слов пациента, прием пищи нерегулярный, потребляет избыточное количество жиров и углеводов: не завтракает, в течение дня делает 2-3 перекуса (сдобные булочки, шоколад,

конфеты), ужин поздний, с избыточным содержанием жиров. Из напитков предпочитает чай с сахаром, сахаросодержащие газированные напитки. Курение отрицает. Прием слабых алкогольных напитков (пиво) до 1 раза в неделю в объеме до 1,0 л. Эпидемическим паротитом не болел. В 10 лет перенес сотрясения головного мозга легкой степени (получал амбулаторное лечение). Профессиональных вредностей не имеет, контакт с радиацией и химическими веществами отрицает. Сексуальный дебют в 15 лет.

Объективно: телосложение по мужскому типу. Оволосение по мужскому типу, по Таннеру 5 баллов. По передней брюшной стенке и боковым стенкам туловища отметаются бледные стрии, возникшие при наборе массы тела. Кожные покровы нормальной окраски и влажности. Половое развитие правильное. Оба яичка определяются в мошонке, по ~ 20 см³. Придатки яичка не увеличены с обеих сторон. Варикозное расширение вен семенного канатика не выражено с обеих сторон.

При УЗИ органов мошонки с доплерографическим исследованием: левое яичко размерами $2,8 \times 4,9 \times 3,8$ см, объем 23,5 см³. Структура однородная. Головка придатка не увеличена ($0,6 \times 0,7$ см), контуры четкие, ровные. Объемные образования не выявлены. В оболочках яичка свободная жидкость не определяется. Экстратестикулярная венозная сеть в проекции семенного канатика не расширена. При пробе Вальсальвы вены семенного канатика не дилатируют, в режиме ЦДК рефлюкс крови не определяется. Кровоток в тестикулярной артерии $V_{\max} = 7,8$ см/сек., $V_{\min} = 3,7$ см/сек., ИР – 0,57. Правое яичко размерами $2,6 \times 5,1 \times 3,7$ см, объем 21,1 см³. Структура однородная. Головка придатка не увеличена ($0,8 \times 0,7$ см), контуры четкие, ровные. Объемные образования не выявлены. В оболочках яичка свободная жидкость не определяется. Экстратестикулярная венозная сеть в проекции семенного канатика не расширена. При пробе Вальсальвы вены семенного канатика не дилатируют, в режиме ЦДК и доплерографии рефлюкс крови не определяется. Кровоток в тестикулярной артерии $V_{\max} = 7,7$ см/сек., $V_{\min} = 3,4$ см/сек., ИР – 0,54. Заключение: патологии не выявлено.

При ТРУЗИ предстательная железа размерами $5,1 \times 3,5 \times 2,6$ см, $V = 20,9$ см³. Контуры ровные, четкие, структура не изменена, эхогенность несколько повышена. Семенные пузырьки не расширены, структурно не изменены, размерами: левый $4,2 \times 1,4$ см, правый $4,4 \times 1,2$ см. Заключение: эхографические признаки диффузных изменений ткани предстательной железы.

Результаты сперматологического исследования представлены в Таблице 19.

Таблица 19 — Результаты сперматологического исследования

Показатель	Нормативные значения показателей эякулята ВОЗ (2010 г)	Результат
Срок воздержания	2-7 дней	3 дня
Объем эякулята	1,5 мл и более	2,0 мл
Потеря эякулята	-	Нет
Цвет	бело-серый	Бело-серый
Запах	специфический	Специфический
Вязкость	менее 15 мм	10 мм
рН	7,2 и более	7,6
Срок разжижения	до 60 мин	20 мин
Количество в 1 мл	15 млн и более	75 млн
Живые сперматозоиды	58% и более	95 %
Мертвые сперматозоиды	-	5 %
Подвижность сперматозоидов		
Подвижность (a + b)	40% и более	27 %
Поступательное быстрое (a)	32% и более	12 %
Поступательное медленное (b)		15 %
Непоступательное движение (c)		17 %
Неподвижные (d)		56 %
Морфология сперматозоидов		
Морфологически нормальные	4% и более	1 %
Патологические формы		99 %
Количество лейкоцитов в 1 мл	1 млн и менее	0,5 млн

Патологические формы

Капля на шейке	14 %	Нарушения в шейке	21 %	Атипия жгутика	4 %
Аморфные головки	15 %	Нарушения в акросоме	7 %	Ацефалические	1 %
Вакуоли в головке	6 %	Удлиненные головки	19 %	Двухголовые	0 %
Круглые головки	0 %	Капля на головке	0 %	Микроголовки	12 %

Согласно полученным данным, у пациента была диагностирована астенотератозооспермия. ИТ равнялся 1,7. Результат MAR-теста составил 11% (норма). При исследовании ИФ ДНК сперматозоидов методом окраски АО 58% гамет имели разрывы ДНК. По результатам бактериального посева и ПЦР эякулята данных за наличие инфекционного процесса не получено.

В гормональном анализе крови: ФСГ – 5,3 Ед л (норма: 1,6–9,7 Ед/л); ЛГ – 6,4 Ед/л (норма: 2,5–11,0 Ед/л); ГСПГ – 29,5 нмоль/л (норма: 14,5–65,4 нмоль / л); пролактин – 337,0 мЕд/л (норма: 60,0-510,0 мЕд л); ТТГ – 1,3 мМЕ/л (норма: 0,25–3,5 мМЕ/л), Т4 св. – 16,1 пмоль/л (норма: 9,0-20,0 пмоль/л), Т общий – 12,7 нмоль/л (норма: 11,0–33,5 нмоль/л); Е2 – 192,7 пмоль/л (норма: 19,7–242,0 пг/мл).

В биохимическом анализе крови выявлено повышение уровня общего ХС до 6,2 ммоль/л (3,3-5,2), ЛПНП до 3,7 ммоль/л (1,1-3,0), ТГ до 2,0 (0,1-1,7). Остальные показатели (мочевая кислота, билирубин общий, билирубин прямой, АЛТ, АСТ, ЛПВП) в пределах референсных значений. ОГТТ: глюкоза исходно 4,6 ммоль/л, через 120 минут после приема 75 г глюкозы — 6,2 ммоль/л (норма).

Супруге 29 лет. Рост 169 см, вес 61 кг, ИМТ = 21,4 кг/м². Менархе с 13 лет, установлено сразу; менструации регулярные, через 27-28 дней, по 5 дней, обильные и болезненные в 1й день. Клинических беременностей не было. В 2011 г. выполнена диагностическая лапароскопия, при хромосальпингоскопии маточные трубы проходимы с обеих сторон. В период 2012-13 гг. пациентам проводилось лечение бесплодия: 1 протокол ЭКО, 1 протокол ЭКО-ИКСИ и 2 – ЭКО-КРИО (в другом лечебном учреждении). В результате дважды наступала Б/хБ. При проведении УЗИ органов малого таза на 18й день менструального цикла (м.ц.): УЗ-картина соответствует дню м.ц. В гормональном анализе крови уровни ФСГ, ЛГ, ПРЛ, Т, 17(ОН)прогестерона, ДГА-С, ГСПГ, ТТГ, Т4 св., в пределах референсных значений. АМГ 2,2 нг/мл.

После обследования супружеской пары был верифицирован диагноз: бесплодие первичное. Мужской фактор. Астенотератозооспермия. ИФ ДНК сперматозоидов 58%. Ожирение 1 ст. (ИМТ = 33,7).

Пациенту назначен Ксеникал по 1 капсуле х 3 раза в сутки, даны рекомендации по коррекции питания и образа жизни (прием пищи каждые 2-3 часа небольшими порциями, суточный калораж не более 1500 ккал, не менее 1 часа аэробных физических нагрузок ежедневно).

Через 3 месяца вес пациента составлял 106 кг (снижение массы тела на 7 кг), ИМТ = 31,7 кг/м². По результатам спермограммы отмечалось увеличение морфологически нормальных гамет до 3%, доля гамет с удлинёнными головками уменьшилась до 8%, имеющих нарушения в шейке — до 15%. Отмечалось улучшение подвижности гамет — прогрессивно подвижные составляли 20%. При исследовании ИФ ДНК сперматозоидов методом окраски АО разрывы ДНК были выявлены у 45% гамет. ИТ равен 1,5. Пациенту рекомендовано продолжить выполнение данных ранее назначений.

К марту 2014 г. вес пациента снизился до 98 кг (ИМТ = 29,3 кг/м²). По результатам повторной спермограммы отмечалось увеличение числа сперматозоидов в 1 мл эякулята до 90 млн., морфологически нормальных гамет до 5%. Сперматозоиды с удлинёнными головками составляли 5%, нарушения в шейке имели 9% гамет. Доля прогрессивно подвижных увеличилась до 25%. ИФ ДНК сперматозоидов равнялся 32%, ИТ — 1,3. В гормональном анализе крови отмечалось повышение уровня общего Т до 19,5 нмоль/л (норма: 11,0–33,5 нмоль/л), снижение Е2 до 145,2 пмоль/л (норма: 19,7–242,0 пг/мл).

Таким образом, на фоне снижения массы тела у пациента отмечалось увеличение общего числа и доли морфологически нормальных сперматозоидов, улучшение их подвижности, снижение ИФ ДНК гамет практически до нормального значения. Кроме того, произошло увеличение уровня Т. Было принято решение о проведении лечения бесплодия супружеской пары методом ЭКО.

В марте 2014 г. начат короткий протокол: контролируемая овариальная стимуляция проводилась препаратом р-ФСГ (Гонал-Ф) на фоне анта-ГРГ (Цетротид 0,25 мг) в течение 10 дней в суммарной дозе 1500 МЕ. Триггер овуляции — Прегнил 10000 МЕ. Получено 11 ооцитов. Результаты спермограммы

на день оплодотворения — концентрация 84 млн. в 1 мл, сперматозоиды с быстрой прогрессивной подвижностью составляли 25%, с медленной прогрессивной подвижностью — 34%, неподвижны были 15%, морфологически нормальных гамет — 5%. Оплодотворение проводилось методом «классического» ЭКО.

Ежедневно оценивалось развитие эмбрионов. КО составил 90,9% (10 x 2 pn, 1 x 0 pn); КД — 100%. ЭВК на 2е сутки развития был равен 50% (5 эмбрионов категории 4a) на 3и сутки — 20% (2 эмбриона категории 8a). Был произведен перенос 2х эмбрионов на 3и сутки развития категории 10a, 10a в полость матки пациентки. Оставшиеся эмбрионы культивированы до пятых суток развития, КОБ составил 60%, БВК — 40%. Криоконсервировано 6 эмбрионов. В результате лечения наступила маточная беременность бихориальной биамниотической двойней, которая завершилась плановым кесаревым сечением на 38 недели беременности. У супругов родилось двое здоровых детей: мальчик (вес 2650 г, рост 49 см) и девочка (вес 2670 г, рост 40 см).

Клинический случай демонстрирует важность предварительной подготовки пациентов с ожирением перед вступлением в программы ВРТ. Неэффективность предыдущих протоколов ЭКО подтверждает необходимость проведения более тщательного обследования у лиц с ИзбМТ и ожирением. Специальные методы исследования — определение ИФ ДНК сперматозоидов и подсчет ИТ — позволяют выявить причину бесплодия супружеской пары. Совместная работа уролога и эндокринолога с данной категорией пациентов делает лечение более эффективным. Одно лишь снижение массы тела у нашего пациента без назначения лекарственной терапии способствовало повышению уровня тестостерона; значительно улучшило не только макроскопические показатели эякулята, но и привело к уменьшению ИФ ДНК сперматозоидов и ИТ. Все это способствовало наступлению беременности и рождению двух здоровых детей.

ГЛАВА 4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Не вызывает сомнений, что избыточная масса тела и ожирение негативно отражаются на соматическом здоровье за счет развития метаболического синдрома, повышения риска сахарного диабета второго типа, сердечно-сосудистых, онкологических заболеваний. Гораздо меньше данных о взаимосвязи между избытком жировой ткани и репродуктивным здоровьем, особенно мужским. В последние годы ведутся интенсивные исследования, направленные на изучение состояния репродуктивной системы мужчин с избыточным весом. Несмотря на это, многие аспекты влияния жировой ткани на мужскую фертильность недостаточно ясны, а результаты работ, посвященных этой проблеме, противоречивы. Одними из немногочисленных доказанных нарушений у данной категории пациентов являются изменения гормонального профиля: снижение уровней тестостерона в крови на фоне гиперэстрогемии [19-21]. При этом факторы, приводящие к характерным изменениям, до конца не определены: в числе возможных причин называют усиленную ароматизацию андрогенов ароматазой в избыточно развитой жировой ткани; инсулинорезистентность и гиперинсулинемию, сопровождающиеся уменьшением синтеза глобулина, связывающего половые гормоны, в печени, а также эффекты, оказываемые адипокинами и дислипидемией. Нарушения в работе гипоталамо-гипофизарной оси у пациентов с избыточной массой тела и ожирением на сегодняшний день признают не все исследователи [22; 27].

Влияние избытка жировой ткани на сперматогенез активно изучается. На сегодняшний день однозначного мнения о том, как изменяются стандартные макроскопические параметры эякулята у мужчин с повышенным индексом массы тела, и существует ли взаимосвязь между избытком жировой ткани и повреждением микроструктуры сперматозоидов, нет. В связи с чем, нет единого мнения о том, является ли ожирение у партнера фактором, ухудшающим прогноз при лечении бесплодия супружеской пары методами вспомогательных репродуктивных технологий.

Главной целью настоящего исследования было определение взаимосвязи между избыточной массой тела, ожирением и фертильностью мужчин. При планировании работы мы задавали вопрос, является ли избыток жировой ткани самостоятельным фактором риска мужского бесплодия и, в случае положительного ответа, какие методы обследования необходимы для этой категории пациентов. Одной из задач работы была оценка связи между индексом массы тела партнера и исходами программ экстракорпорального оплодотворения.

В ходе исследования была проведена комплексная оценка состояния репродуктивной системы у мужчин с различными индексами массы тела. Включение большого числа пациентов без сопутствующих заболеваний и предшествующей гормональной терапии, способных изменять исследуемые показатели, позволяет нам с большой долей вероятности предполагать, что обнаруженные нарушения у лиц с избыточной массой тела и ожирением, вероятнее всего, являются следствием влияния именно избытка жировой ткани.

Было установлено, что у пациентов с избыточной массой тела и ожирением происходит ухудшение макроскопических параметров эякулята: уменьшается объем и число сперматозоидов в 1 мл эякулята, увеличивается доля неподвижных гамет. У мужчин с ожирением эти изменения выражены в большей степени. Следует отметить, что вышеперечисленные показатели соответствовали нормам ВОЗ от 2010 г. во всех группах пациентов и ухудшение параметров эякулята у мужчин с избыточным весом относительно и выявляется лишь при сравнении с группой пациентов с нормальным индексом массы тела.

Учитывая практически полное отсутствие литературных данных о взаимосвязи между избыточной массой тела, ожирением и отдельными изменениями структуры сперматозоидов, особый интерес для нас представляла сравнительная оценка морфологии гамет по строгим критериям Крюгера у пациентов с различным индексом массы тела. Референсных значений по проценту гамет с нарушениями головки, шейки, средней части и жгутика не существует. Согласно результатам, у мужчин с избыточной массой тела и ожирением доля сперматозоидов с одними из наиболее тяжелых патологий головки —

удлиненными, — а также нарушениями в шейке, значительно превышали число гамет с данными нарушениями у лиц с нормальным индексом массы тела. По мнению ряда авторов, элонгация головки сперматозоида снижает его оплодотворяющую способность и сопровождается повреждением ДНК, в то время как нарушения в шейке могут быть причиной ухудшения качества эмбрионов и остановки их в развитии [84, 85]. Кроме того, возрастает число структурных нарушений у отдельного сперматозоида, что отражается в увеличении индекса тератозооспермии.

При исследовании уровня фрагментации ДНК мы выявили, что для лиц с избыточной массой тела и ожирением характерно значимое увеличение в эякуляте числа гамет с поврежденной ДНК. Таким образом, данной категории пациентов на этапе обследования необходимо выполнение не только обычной спермограммы, но и исследование морфологии сперматозоидов по строгим критериям Крюгера, а также обязательное определения индекса фрагментации ДНК гамет.

Следует отметить, что лица с нормальными параметрами эякулята, индексами тератозооспермии и фрагментации ДНК, согласно нашим данным, в среднем имели индекс массы тела, равный $24,7 \text{ кг/м}^2$ [22,7; 26,5]. У мужчин с индексом массы тела $26,3 \text{ кг/м}^2$ [24,2; 29,0] показатели эякулята были в норме, однако индексы тератозооспермии и фрагментации превышали целевые уровни. Таким образом, у подавляющего большинства пациентов (>75%), у которых отсутствовали нарушения сперматогенеза, индекс массы тела был или нормальным, или отмечался небольшой избыток массы тела.

Осмотр и биохимический анализ крови выявили наличие у пациентов с повышенным индексом массы тела висцерального ожирения и дислипидемии, и соответствовали критериям метаболического синдрома. Уровень тестостерона у мужчин с избыточной массой тела и ожирением был значимо ниже, а концентрация эстрадиола, напротив, превышала показатель у лиц с нормальным ИМТ. При сравнении уровней гонадотропинов в группах лиц с избыточным весом было выявлено значимое превышение уровня ФСГ.

Варикоцеле по данным УЗИ органов мошонки было диагностировано у небольшой доли обследованных и значимо не различалось между группами. Объем яичек соответствовал референсным значениям ($> 15 \text{ см}^3$) у всех пациентов, и не зависел от индексом массы тела.

Таким образом, наши данные подтверждают результаты ранее проведенных исследований. Можно заключить, что соматическое здоровье мужчин с избыточной массой тела и ожирением хуже, чем у лиц с нормальным индексом массы тела в связи с наличием метаболического синдрома, и, следовательно, повышенными рисками развития осложнений, в первую очередь сахарного диабета 2 типа, сердечно-сосудистых заболеваний. Кроме того, дислипидемия, и гиперинсулинемия, предположительно, могут быть причиной ухудшения параметров эякулята и повреждения ДНК сперматозоидов.

Учитывая, что лечение бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий с каждым годом приобретает все большее распространение, выявление взаимосвязи между избыточным весом у партнера и результатами программ экстракорпорального оплодотворения крайне актуально. Дизайн нашей работы предполагал формирование групп пациентов только по индексу массы тела мужчины. На этапе сравнения метаболических, гормональных показателей и параметров сперматогенеза такое разделение было допустимо и позволило сформировать сопоставимые группы. Однако, подобный подход у пациентов, которым было проведено лечение методом экстракорпорального оплодотворения, не представляется возможным, так как в этом случае мы не учитываем влияния со стороны организма женщины и полученные группы будут несопоставимы. Оценивать взаимосвязь между индексом массы тела партнера и числом наступивших беременностей и родов у всех пациентов, на наш взгляд, недопустимо по этим же причинам.

Предположительно, основное значение сперматозоид играет на начальных этапах эмбриогенеза: его макро- и микроскопические параметры определяют способность к оплодотворению ооцита, а также обеспечивают дробление эмбриона. Поэтому у всех пациентов, которым было проведено лечение методом

экстракорпорального оплодотворения, была проанализирована взаимосвязь между показателями эмбриогенеза и параметрами, наиболее сильно изменявшимися у лиц с избыточной массой тела и ожирением — индексами тератозооспермии и фрагментации ДНК сперматозоидов.

Было выявлено, что индекс тератозооспермии статистически значимо отрицательно коррелировал с числом оплодотворившихся ооцитов. Эта зависимость ожидаема, так как чем больше нарушений в структуре головке, шейки, средней части и жгутика имеет сперматозоид, тем меньше вероятность, что он будет способен оплодотворить ооцит. При этом на последующие этапы развития эмбриона индекс тератозооспермии влияния не оказывает.

Возрастание индекса фрагментации ДНК сперматозоидов также сопровождалось уменьшением числа образующихся зигот, кроме того отмечалось снижение как общего числа blastocyst, так и blastocyst высокого качества. Таким образом, мы показали, что в процессе оплодотворения важную роль играет не только макроскопическая структура гамет, но и целостность их ДНК. Можно предположить, что сперматозоид с фрагментированной ДНК способен к взаимодействию с ооцитом и образованию зиготы, однако вероятность, что такой эмбрион превратится в blastocyst, низка.

Следующим этапом проанализирована зависимость между индексом массы тела мужчины и результатами лечения бесплодия методом экстракорпорального оплодотворения у 114 пар, основной причиной бесплодия в браке у которых был мужской фактор; супруги после обследования признаны условно фертильными.

Выявлено, что наибольшее число оплодотворившихся ооцитов (2pn) получают от пациентов с нормальным индексом массы тела. Значимых различий в показателях развития эмбрионов в группах с нормальным и избыточным весом нами не отмечено. Сравнительная оценка исходов лечения выявила статистически значимо большее число беременностей и родов у партнерш пациентов с нормальным индексом массы тела. У мужчин с избыточной массой тела и ожирением доля неэффективных протоколов экстракорпорального

оплодотворения значительно превышала показатель в группе лиц с нормальным индексом массы тела.

Таким образом, в результате исследования мы смогли определить, что избыток жировой ткани у мужчин является самостоятельным фактором риска мужского бесплодия и снижает эффективность лечения супружеской пары методами вспомогательных репродуктивных технологий. На сегодняшний день известно, что доля мужского фактора бесплодия в браке составляет до 50%. Несмотря на это, обследованию и лечению партнеров в парах с жалобами на бесплодие, по-прежнему уделяется недостаточно внимания. Мы показали, что такие распространенные заболевания, как избыточная масса тела и ожирение у мужчины, могут быть причиной бесплодия супружеской пары. В связи с чем при обращении пациентов с жалобами на бесплодие необходим комплексный подход с обязательным определением индекса массы тела партнера, и, в случае наличия избыточной массы тела или ожирения, проведение дополнительных методов обследования с последующей коррекцией выявленных нарушений.

Ограничения данного исследования

В исследовании приняло участие сравнительно небольшое число мужчин (607), которые не могут считаться в достаточной степени репрезентативной выборкой по отношению к российской и другим популяциям, поскольку в федеральных медицинских центрах накапливаются смещенные относительно других уровней оказания медицинской помощи группы пациентов, что, в свою очередь, может приводить к ограничению внешней валидности (обобщаемости) полученных результатов. Кроме того, в нашем исследовании участвовали лица с избыточной массой тела, ожирением и бесплодием, в связи с чем выявленные изменения могут быть характерны лишь для данной категории пациентов, и не должны экстраполироваться на всю популяцию мужчин с избыточным весом. Целью исследования было определение взаимосвязи между избыточной массой тела, ожирением, фертильностью и эффективностью программ вспомогательных репродуктивных технологий у мужчин, поэтому изучение механизмов, посредством которых избыток жировой ткани оказывает влияние на мужскую репродуктивную систему, не проводилось. Вследствие чего, причины выявленных нарушений — дислипидемия, изменения уровней гормонов в крови у пациентов с избыточной массой тела и ожирением — носят лишь предполагаемый характер. Таким образом, полученные в ходе работы данные являются предварительными, необходимы дальнейшие исследования на больших выборках пациентов для подтверждения наших результатов.

Перспективные исследования

Учитывая полученные данные о наличии взаимосвязи между избыточной массой тела, ожирением, снижением фертильности и эффективностью программ вспомогательных репродуктивных технологий у мужчин, интересным представляется поиск механизмов, посредством которых избыток жировой ткани влияет на мужскую репродуктивную систему. Вероятно, информативной была бы сравнительная характеристика групп пациентов, имеющих нормальную, избыточную массу тела и ожирение, с и без сопутствующего бесплодия. Не менее интересным направлением, на наш взгляд, является изучение соотношения уровней липидов в крови и семенной плазме, а также липидного состава мембран сперматозоидов у лиц с нормальным индексом массы тела, избыточной массой тела и ожирением. Электронно-микроскопическое исследование ультраструктурных нарушений сперматозоидов у мужчин с различными индексами массы тела, как с, так и без сопутствующего бесплодия, возможно, позволит выявить дополнительные механизмы негативного влияния избытка жировой ткани на мужскую фертильность. Принимая во внимание снижение эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий у пациентов с избыточным весом, перспективным является проведение преимплантационной генетической диагностики эмбрионов, полученных от пациентов с нормальной массой тела, избыточной массой тела и ожирением. Кроме того, на наш взгляд, целесообразным было бы исследование взаимосвязи между снижением массы тела и коррекцией выявленных нарушений, а также повышением эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий.

Выводы

1. Для мужчин с избыточной массой тела, ожирением и бесплодием характерны изменения уровней липидов (повышенные уровни общего холестерина, липопротеидов низкой плотности и триглицеридов на фоне снижения уровня липопротеидов высокой плотности) и гормонов (повышенный уровень эстрадиола и фолликулостимулирующего гормона на фоне снижения тестостерона) в крови.
2. Для мужчин с избыточной массой тела и ожирением характерно уменьшение объема эякулята; у лиц с ожирением отмечается снижение числа сперматозоидов в 1 мл и возрастание доли неподвижных гамет.
3. Для пациентов с избыточной массой тела и ожирением характерно увеличение числа сперматозоидов со специфическими структурными нарушениями: удлинёнными головками и нарушениями в шейке.
4. Доля морфологически нормальных гамет не зависит от индекса массы тела мужчины, однако для пациентов с избыточной массой тела и ожирением характерно увеличение среднего числа патологий на один сперматозоид, что отражается в повышении индекса тератозооспермии.
5. Избыточная масса тела и ожирение у мужчины сопровождаются увеличением числа сперматозоидов с фрагментированной ДНК.
6. Для супружеских пар, в которых партнерша имеет избыточную массу тела или ожирение, характерно снижение эффективности лечения бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий: отмечается уменьшение частоты родов у партнерш; при наличии у партнера ожирения также характерно снижение показателей оплодотворения и частоты наступления беременности.

Практические рекомендации

1. Пациентам с бесплодием, у которых имеются избыточная масса тела или ожирение, необходимо проведение комплексного обследования с консультацией уролога и эндокринолога, выполнением биохимического, гормонального анализов крови.
2. Всем пациентам с избыточной массой тела или ожирением и бесплодием при обследовании обязательно выполнение не только обычной спермограммы, но также оценки морфологии сперматозоидов по строгим критериям Крюгера, расчета индекса тератозооспермии и исследование индекса фрагментации ДНК сперматозоидов.
3. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что в случае наличия избыточной массы тела или ожирения у партнера и ухудшения показателей сперматогенеза на этапе подготовки к проведению вспомогательных репродуктивных технологий целесообразно рекомендовать снижение массы тела для возможного повышения эффективности лечения.

Список сокращений и условных обозначений

- а-ГРГ — агонист гонадотропин-рилизинг гормона
- анта-ГРГ — антагонист гонадотропин-рилизинг гормона
- АД — артериальное давление
- АЛТ — аланинаминотрансфераза
- АМГ — антимюллеров гормон
- АО — акридин оранжевый
- АСТ — аспартатаминотрансфераза
- АФК — активные формы кислорода
- БВК (%) — коэффициент образования бластоцист высокого качества
- Б/хБ, % — частота наступления биохимической беременности
- β -ХГч — β -субъединица хорионического гонадотропина человека
- ВОЗ — Всемирная организация здравоохранения
- ВРТ — вспомогательные репродуктивные технологии
- ГГЯО — гипоталамо-гипофизарно-яичковая ось
- ГСГ — гистеросальпингография
- ГСПГ — глобулин, связывающий половые гормоны
- ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота
- Е2 — эстрадиол
- ИзбМТ — избыточная масса тела
- ИКСИ — интрацитоплазматическая инъекция единичного сперматозоида в цитоплазму ооцита
- ИЛ — интерлейкин
- ИМТ — индекс массы тела
- ИППП – инфекции передаваемые половым путем
- ИР — инсулинорезистентность
- ИРИ — иммунореактивный инсулин
- ИТ — индекс тератозооспермии
- ИФ — индекс фрагментации

КОБ (%) — коэффициент образования бластоцист
КД (%) — коэффициент дробления
КЖ (%) — коэффициент живорождений
КО (%) — коэффициент оплодотворения
ЛГ — лютеинизирующий гормон
ЛПВП — липопротеиды высокой плотности
микроРНК — микроРибонуклеиновая кислота
мРНК — матричная РНК
МС — метаболический синдром
ОГТТ — оральный глюкозотолерантный тест
ОКК — ооцит-кумулюсный комплекс
ОТ — окружность талии
ОТ/ОБ — окружность талии/окружность бедер
ПНЖК — полиненасыщенных жирных кислот
ПРЛ — пролактин
РНК — рибонуклеиновая кислота
p-ФСГ — рекомбинантный ФСГ
СД — сахарный диабет
СК — синаптонемный комплекс
С-РБ — С-реактивный белок
Т — тестостерон
Т4 св. — свободный тироксин
ТГ — триглицериды
ТРУЗИ — трансректальное ультразвуковое исследование
ТТГ — тиреотропный гормон
УЗИ — ультразвуковое исследование
ФЛ — фосфолипиды
ФНО- α — фактор некроза опухоли α
ФСГ — фолликулостимулирующий гормон
ХС — холестерин

ЦДК — цветное доплеровское картирование

ЧМТ — черепно-мозговая травма

ЧНКБ — частота наступления клинической беременности

ЧОО — число оплодотворившихся ооцитов

ЧРП — частота репродуктивных потерь

ЭВК (%) — эмбрионы высокого качества

ЭКО — экстракорпоральное оплодотворение

COMET — Single-cell gel electrophoresis assay

NT — ник-трансляции, In-Situ Nick Translation assay

SCD — Sperm Chromatin Dispersion test, Halo Sperm

SCSA — Sperm Chromatin Structure Assay

TUNEL — Terminal Deoxynucleotidyl Transferase-mediated Nick End Labeling

Q₁;Q₃ — 1-й и 3-й квартили

Список литературы

1. Miyamoto, T., Tsujimura, A., Miyagawa, Y., Koh, E., Namiki, M., Sengoku, K. Male infertility and its causes in human [Электронный ресурс] // Advances in urology. – 2011. – Vol. 2012. – Режим доступа: <https://www.hindawi.com/journals/au/2012/384520/>.
2. Кулаков, В. И., Овсянникова, Т. В., Шилова, М. Н., Волков, Н. И. Восстановление репродуктивной функции после комбинированного лечения с использованием золадекса у больных бесплодием и миомой матки // Проблемы репродукции. – 1997. – №. 3. – С. 34-37.
3. Dupont, C., Faure, C., Sermondade, N., Boubaya, M., Eustache, F., Clément, P., Briot P., Berthaut I., Levy, V., Cedrin-Durnerin, I., Benzacken, B., Chavatte-Palmer, P., Levy, R. Obesity leads to higher risk of sperm DNA damage in infertile patients // Asian journal of andrology. – 2013. – Vol. 15. – №. 5. – P. 622.
4. Singh, K., Jaiswal, D. Human male infertility a complex multifactorial phenotype // Reproductive sciences. – 2011. – Vol. 18. – №. 5. – P. 418-425.
5. Cabler, S., Agarwal, A., Flint, M., Du Plessis, S. S. Obesity: modern man's fertility nemesis //Asian journal of andrology. – 2010. – Vol. 12. – №. 4. – P. 480.
6. Sallmén, M., Sandler, D. P., Hoppin, J. A., Blair, A., Baird, D. D. Reduced fertility among overweight and obese men // Epidemiology. – 2006. – Vol. 17. – №. 5. – P. 520-523.
7. Palmer, N. O., Bakos, H. W., Fullston, T., Lane, M. Impact of obesity on male fertility, sperm function and molecular composition // Spermatogenesis. – 2012. – Vol. 2. – №. 4. – P. 253-263.
8. Sunderam, S., Chang, J., Flowers, L., Kulkarni, A., Sentelle, G., Jeng, G., Macaluso, M. Assisted reproductive technology surveillance--United States, 2006 // Morbidity and mortality weekly report MWR Surveillance Summaries – 2009. – Vol. 58. – №.1. – P. 25.

9. World Health Organization Technical Report: Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Disease [Электронный ресурс]. // – 2013. Режим доступа: <http://www.who.int/en/>.
10. Andersen, J. M., Herning, H., Aschim, E. L., Hjelmæsæth, J., Mala, T., Hanevik, H. I., Bungum, M., Haugen, T. B., Witczak, O. Body mass index is associated with impaired semen characteristics and reduced levels of anti-Müllerian hormone across a wide weight range [Электронный ресурс] // PloS one. – 2015. – Vol. 10. – №. 6. – Режим доступа: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/summary?doi=10.1.1.805.2381>.
11. Davidson, L. M., Millar, K., Jones, C., Fatum, M., Coward, K. Deleterious effects of obesity upon the hormonal and molecular mechanisms controlling spermatogenesis and male fertility // Human Fertility. – 2015. – Vol. 18. – №. 3. – P. 184-193.
12. Swan, S. H., Elkin, E. P., Fenster, L. The question of declining sperm density revisited: an analysis of 101 studies published 1934-1996 // Environmental health perspectives. – 2000. – Vol. 108. – №. 10. – P. 961.
13. Витязева, И. И., Алташина, М. В., Мун, Т. В., Трошина, Е. А. Влияние ожирения на индекс фрагментации ДНК сперматозоидов и исходы программа ЭКО. // Проблемы эндокринологии. – 2015. – №. 5. – С. 48-55.
14. Best, D., Bhattacharya, S. Obesity and fertility // Hormone molecular biology and clinical investigation. – 2015. – Vol. 24. – №. 1. – P. 5-10.
15. Michalakis, K., Mintziori, G., Kaprara, A., Tarlatzis, B. C., Goulis, D. G. The complex interaction between obesity, metabolic syndrome and reproductive axis: a narrative review // Metabolism. – 2013. – Vol. 62. – №. 4. – P. 457-478.
16. Keltz, J., Zapantis, A., Jindal, S. K., Lieman, H. J., Santoro, N., Polotsky, A. J. Overweight men: clinical pregnancy after ART is decreased in IVF but not in ICSI cycles // Journal of assisted reproduction and genetics. – 2010. – Vol. 27. – №. 9-10. – P. 539-544.
17. Bakos, H. W., Henshaw, R. C., Mitchell, M., Lane, M. Paternal body mass index is associated with decreased blastocyst development and reduced live birth rates

- following assisted reproductive technology // *Fertility and sterility*. – 2011. – Vol. 95. – №. 5. – P. 1700-1704.
18. McPherson, N. O., Lane, M. Male obesity and subfertility, is it really about increased adiposity? // *Asian journal of andrology*. – 2015. – Vol. 17. – №. 3. – P. 450-458.
 19. Paasch, U., Grunewald, S., Kratzsch, J., Glander, H. J. Obesity and age affect male fertility potential // *Fertility and sterility*. – 2010. – Vol. 94. – №. 7. – P. 2898-2901.
 20. Tunc, O., Bakos, H. W., Tremellen, K. Impact of body mass index on seminal oxidative stress // *Andrologia*. – 2011. – Vol. 43. – №. 2. – P. 121-128.
 21. Vignera, S., Condorelli, R. A., Vicari, E., Calogero, A. E. Negative effect of increased body weight on sperm conventional and nonconventional flow cytometric sperm parameters // *Journal of andrology*. – 2012. – Vol. 33. – №. 1. – P. 53-58.
 22. Fui, M. N. T., Dupuis, P., Grossmann, M. Lowered testosterone in male obesity: mechanisms, morbidity and management // *Asian journal of andrology*. – 2014. – Vol. 16. – №. 2. – P. 223-231.
 23. Dhindsa, S., Miller, M. G., McWhirter, C. L., Mage, D. E., Ghanim, H., Chaudhuri, A., Dandona, P. Testosterone concentrations in diabetic and nondiabetic obese men // *Diabetes care*. – 2010. – Vol. 33. – №. 6. – P. 1186-1192.
 24. Allan, C. A., McLachlan, R. I. Androgens and obesity // *Current opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*. – 2010. – Vol. 17. – №. 3. – P. 224-232.
 25. Bhasin, S., Cunningham, G. R., Hayes, F. J., Matsumoto, A. M., Snyder, P. J., Swerdloff, R. S., Montori, V. M. Testosterone therapy in men with androgen deficiency syndromes: an Endocrine Society clinical practice guideline // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. – 2010. – Vol. 95. – №. 6. – P. 2536-2559.

26. Pauli, E. M., Legro, R. S., Demers, L. M., Kunselman, A. R., Dodson, W. C., Lee, P. A. Diminished paternity and gonadal function with increasing obesity in men // *Fertility and sterility*. – 2008. – Vol. 90. – №. 2. – P. 346-351.
27. Hammoud, A. O., Gibson, M., Peterson, C. M., Hamilton, B. D., Carrell, D. T. Obesity and male reproductive potential // *Journal of andrology*. – 2006. – Vol. 27. – №. 5. – P. 619-626.
28. Chavarro, J. E., Toth, T. L., Wright, D. L., Meeker, J. D., Hauser, R. Body mass index in relation to semen quality, sperm DNA integrity, and serum reproductive hormone levels among men attending an infertility clinic // *Fertility and sterility*. – 2010. – Vol. 93. – №. 7. – P. 2222-2231.
29. Hajshafiha, M., Ghareaghaji, R., Salemi, S., Sadegh-Asadi, N., Sadeghi-Bazargani, H. Association of body mass index with some fertility markers among male partners of infertile couples // *International journal of general medicine*. – 2013. – Vol. 6. – P. 447-451.
30. Gregoriou, O., Bakas, P., Grigoriadis, C., Creatsa, M., Hassiakos, D., Creatsas, G. Changes in hormonal profile and seminal parameters with use of aromatase inhibitors in management of infertile men with low testosterone to estradiol ratios // *Fertility and sterility*. – 2012. – Vol. 98. – №. 1. – P. 48-51.
31. Mihalca, R., Fica, S. The impact of obesity on the male reproductive axis // *Journal of medicine and life*. – 2014. – Vol. 7. – №. 2. – P. 296-300.
32. Corona, G., Rastrelli, G., Monami, M., Saad, F., Luconi, M., Lucchese, M., Facchiano E., Sforza A., Forti G., Mannucci E., Maggi, M. Body weight loss reverts obesity-associated hypogonadotropic hypogonadism: a systematic review and meta-analysis // *European Journal of Endocrinology*. – 2013. – Vol. 168. – №. 6. – P. 829-843.
33. Katib, A. Mechanisms linking obesity to male infertility // *Central European journal of urology*. – 2015. – Vol. 68. – №. 1. – P. 79-85.
34. Teerds, K., De Rooij, D. G., Keijer, J. Functional relationship between obesity and male reproduction: from humans to animal models // *Human reproduction update*. – 2011. – Vol. 17. – №. 5. – P. 667-683.

35. Tsatsanis, C. Dermitzaki, E., Avgoustinaki, P., Malliaraki, N., Mytaras, V., Margioris, A. N. The impact of adipose tissue-derived factors on the hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis // *Hormones*. – 2015. – Vol. 14. – P. 549-562.
36. Kaur, J. A comprehensive review on metabolic syndrome [Электронный ресурс] // *Cardiology research and practice*. – 2014. – Режим доступа: <https://www.hindawi.com/journals/crp/2014/943162>.
37. Michalakis, K. G., Segars, J. H. The role of adiponectin in reproduction: from polycystic ovary syndrome to assisted reproduction // *Fertility and sterility*. – 2010. – Vol. 94. – №. 6. – P. 1949-1957.
38. Donato Jr, J., Cravo, R. M., Frazão, R., Elias, C. F. Hypothalamic sites of leptin action linking metabolism and reproduction // *Neuroendocrinology*. – 2010. – Vol. 93. – №. 1. – P. 9-18.
39. Zorn, B., Osredkar, J., Meden-Vrtovec, H., Majdic, G. Leptin levels in infertile male patients are correlated with inhibin B, testosterone and SHBG but not with sperm characteristics // *International journal of andrology*. – 2007. – Vol. 30. – №. 5. – P. 439-444.
40. Lampiao, F., Du Plessis, S. S. Insulin and leptin enhance human sperm motility, acrosome reaction and nitric oxide production // *Asian journal of andrology*. – 2008. – Vol. 10. – №. 5. – P. 799-807.
41. Jahan, S., Bibi, R., Ahmed, S., Kafeel, S. Leptin levels in infertile males // *Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan* – 2011. – Vol. 21. – P. 393-397.
42. Li H., W. R., Chiu, P. C. N., Cheung, M. P. L., Yeung, W. S. B. Effect of leptin on motility, capacitation and acrosome reaction of human spermatozoa // *International journal of andrology*. – 2009. – Vol. 32. – №. 6. – P. 687-694.
43. Singla, P., Bardoloi, A., Parkash, A. A. Metabolic effects of obesity: a review // *World Journal of Diabetes*. – 2010. – Vol. 1. – №. 3. – P. 76-88.
44. Kasturi, S. S., Tannir, J., Brannigan, R. E. The metabolic syndrome and male infertility // *Journal of andrology*. – 2008. – Vol. 29. – №. 3. – P. 251-259.

45. Dupont, J., Maillard, V., Coyral-Castel, S., Ramé, C., Froment, P. Ghrelin in female and male reproduction [Электронный ресурс] // International journal of peptides. – 2010. – Режим доступа: hindawi.com/journals/ijpep/2010/158102.
46. Wadden, D., Cahill, F., Amini, P., Randell, E., Vasdev, S., Yi, Y., Zhang, W., Sun, G. Serum acylated ghrelin concentrations in response to short-term overfeeding in normal weight, overweight, and obese men [Электронный ресурс] // PLoS One. – 2012. – Vol. 7. – Режим доступа: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0045748>
47. Hammoud, A. O., Wilde, N., Gibson, M., Parks, A., Carrell, D. T., Meikle, A. W. Male obesity and alteration in sperm parameters // Fertility and sterility. – 2008. – Vol. 90. – №. 6. – P. 2222-2225.
48. Bachir B. G., Jarvi K. Infectious, inflammatory, and immunologic conditions resulting in male infertility // Urologic Clinics of North America. – 2014. – Vol. 41. – №. 1. – P. 67-81.
49. Liu, G. L., Zhang, Y. M., Dai, D. Z., Ding, M. J., Cong, X. D., Dai, Y. Male hypogonadism induced by high fat diet and low dose streptozotocin is mediated by activated endoplasmic reticulum stress and I κ B β and attenuated by argirein and valsartan // European journal of pharmacology. – 2013. – Vol. 713. – №. 1. – P. 78-88.
50. Carrasquel, G., Camejo, M. I., Michelangeli, F., Ruiz, M. C. Effect of tumor necrosis factor- α on the intracellular Ca²⁺ homeostasis in human sperm // American Journal of Reproductive Immunology. – 2013. – Vol. 70. – №. 2. – P. 153-161.
51. Psilopanagioti, A. Papadaki, H., Kranioti, E. F., Alexandrides, T. K., Varakis, J. N. Expression of adiponectin and adiponectin receptors in human pituitary gland and brain // Neuroendocrinology. – 2008. – Vol. 89. – №. 1. – P. 38-47.
52. Эндокринология: национальное руководство / Дедов, И. И., Мельниченко, Г. А. – М: Гэотар-Медиа, 2008. – 1071 С.

53. Ожирение и метаболический синдром у мужчин / Калинин, С. Ю., Тишова, Ю. А., Тюзиков, И. А., Ворслов, Л. – М.: Практическая медицина, 2014. – 128 С.
54. Ghanayem, B. I., Bai, R., Kissling, G. E., Travlos, G., Hoffler, U.O. Diet-induced obesity in male mice is associated with reduced fertility and potentiation of acrylamide-induced reproductive toxicity 1 // *Biology of reproduction*. – 2009. – Vol. 82. – №. 1. – P. 96-104.
55. Palmer, N. O., Bakos, H. W., Owens, J. A., Setchell, B. P., Lane, M. Diet and exercise in an obese mouse fed a high-fat diet improve metabolic health and reverse perturbed sperm function // *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. – 2012. – Vol. 302. – №. 7. – P. 768-780.
56. Ng, S. F., Lin, R. C., Laybutt, D. R., Barres, R., Owens, J. A., Morris, M. J. Chronic high-fat diet in fathers programs [bgr]-cell dysfunction in female rat offspring // *Nature*. – 2010. – Vol. 467. – №. 7318. – P. 963-966.
57. Vignera, S., Condorelli, R., Vicari, E., D'Agata, R., Calogero, A. E. Diabetes mellitus and sperm parameters // *Journal of andrology*. – 2012. – Vol. 33. – №. 2. – P. 145-153.
58. Leisegang, K., Bouic, P. J., Menkveld, R., Henkel, R. R. Obesity is associated with increased seminal insulin and leptin alongside reduced fertility parameters in a controlled male cohort [Электронный ресурс] // *Reproductive Biology and Endocrinology*. – 2014. – Vol. 12. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4019561/>.
59. Mallidis, C., Agbaje, I., O'Neill, J., McClure, N. The influence of type 1 diabetes mellitus on spermatogenic gene expression // *Fertility and sterility*. – 2009. – Vol. 92. – №. 6. – P. 2085-2087.
60. Lu, J. C., Jing, J., Yao, Q., Fan, K., Wang, G. H., Feng R. X., Liang, Y. J., Chen L., Ge Y. F., Yao, B. Relationship between lipids levels of serum and seminal plasma and semen parameters in 631 chinese subfertile men [Электронный ресурс] // *PloS one*. – 2016. – Vol. 11. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26726884>.

61. Argov-Argaman, N., Mahgrefthe, K., Zeron, Y., Roth, Z. Variation in lipid profiles within semen compartments—the bovine model of aging // *Theriogenology*. – 2013. – Vol. 80. – №. 7. – P. 712-721.
62. Casado, M. E., Pastor, O., Mariscal, P., Canfran-Duque, A., Martínez-Botas, J., Kraemer, F. B., Lasuncion M.A., Martin-Hidalgo A., Busto, R. Hormone-sensitive lipase deficiency disturbs the fatty acid composition of mouse testis // *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. – 2013. – Vol. 88. – №. 3. – P. 227-233.
63. Rozman, D., Horvat, S. Sterols in spermatogenesis and sperm maturation // *Journal of lipid research*. – 2013. – Vol. 54. – №. 1. – P. 20-33.
64. Scolari, S., Müller, K., Bittman, R. Herrmann, A., Müller, P. Interaction of mammalian seminal plasma protein PDC-109 with cholesterol: implications for a putative CRAC domain // *Biochemistry*. – 2010 – №49 – P. 9027–9031.
65. Koppers, A. J., Garg, M. L., Aitken, R. J. Stimulation of mitochondrial reactive oxygen species production by unesterified, unsaturated fatty acids in defective human spermatozoa // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2010. – Vol. 48. – №. 1. – P. 112-119.
66. Lancellotti, T. E. S., Boarelli, P. V., Monclus, M. A., Cabrillana, M. E., Clementi, M. A., Espínola, L. S., Cid Barría J. L., Vincenti A. E., Santi A. G., Fornés, M. W. Hypercholesterolemia impaired sperm functionality in rabbits [Электронный ресурс] // *PLoS One*. – 2010. – Vol. 5. – Режим доступа: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0013457>.
67. Schisterman, E. F., Mumford, S. L., Chen, Z., Browne, R. W., Boyd Barr, D., Kim, S., & Buck Louis, G. M. Lipid concentrations and semen quality: the LIFE study // *Andrology*. – 2014. – Vol. 2. – №. 3. – P. 408-415.
68. Lancellotti, T. E. S., Boarelli, P. V., Romero, A. A., Funes, A. K., Cid-Barria, M., Cabrillana, M. E., Simón L., Vicenti A. E., Fornés, M. W. Semen quality and sperm function loss by hypercholesterolemic diet was recovered by addition of olive oil to diet in rabbit [Электронный ресурс] // *PloS one*. – 2013. – Vol. 8. –

Режимдоступа:<https://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0052386&type=printable>.

69. Jo J., Kim H. The relationship between body mass index and scrotal temperature among male partners of subfertile couples // *Journal of thermal biology*. – 2016. – Vol. 56. – P. 55-58.
70. Garolla, A., Torino, M., Miola, P., Caretta, N., Pizzol, D., Menegazzo, M., Bertoldo A., Foresta, C. Twenty-four-hour monitoring of scrotal temperature in obese men and men with a varicocele as a mirror of spermatogenic function // *Human Reproduction*. – 2015. – Vol. 30. – №. 5. – P. 1006-1013.
71. Shafi, H., Agajani Delavar, M. Differences in body mass index and height factors between men with and without varicocele// *Medicinski glasnik* – 2015. – Vol. 12. – №. 2. – P. 212-215.
72. Najari, B. B., Katz, M. J., Schulster, M. L., Lee, D. J., Li, P. S., Goldstein, M. Increased Body Mass Index in Men With Varicocele Is Associated With Larger Spermatic Vein Diameters When Supine // *Urology*. – 2016. – Vol. 89. – P. 40-44.
73. Hadjkacem Loukil, L., Hadjkacem, H., Bahloul, A., Ayadi, H. Relation between male obesity and male infertility in a Tunisian population // *Andrologia*. – 2015. – Vol. 47. – №. 3. – P. 282-285.
74. Soylemez, H., Atar, M., Sancaktutar, A. A., Bozkurt, Y., Penbegul, N. Varicocele among healthy young men in Turkey; prevalence and relationship with body mass index // *International Brazilian Journal of Urology*. – 2012. – Vol. 38. – №. 1. – P. 116-121.
75. Walters, R. C., Marguet, C. G., Crain, D. S. Lower prevalence of varicoceles in obese patients found on routine scrotal ultrasound // *The Journal of urology*. – 2012. – Vol. 187. – №. 2. – P. 599-601.
76. Belloc, S., Amar, E., Cohen-Bacrie, M., De Mouzon, J. High body mass index has a deleterious effect on semen parameters except morphology: results from a large cohort study // *Fertility and sterility*. – 2014. – Vol. 102. – №. 5. – P. 1268-1273.

77. Tang, W-H., Zhuang, X.J., Ma, L.L., Qiao, J., Hong, K., Zhao, L.M., Liu, D.F., Mao, J.M., Zhang, H.L., Zhou, S.J., Jiang, H. Correlation between body mass index and semen quality in male infertility patients // Turkish journal of medical sciences. – 2015. – Vol. 45. – №. 6. – P. 1300-1305.
78. Håkonsen, L. B., Thulstrup, A. M., Aggerholm, A. S., Olsen, J., Bonde, J. P., Andersen, C. Y., Bungum, M., Ernst, E.H., Hansen, M.L., Ernst, E.H., Ramlau-Hansen, C. H. Does weight loss improve semen quality and reproductive hormones? Results from a cohort of severely obese men [Электронный ресурс] // Reproductive health. – 2011. – Vol. 8. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21849026>.
79. Lu, J. C., Jing, J., Dai, J. Y., Zhao, A. Z., Yao, Q., Fan, K., Wang, G.H., Liang, Y.-J., Chen, L., Ge, Y.-F., Yao, B. Body mass index, waist-to-hip ratio, waist circumference and waist-to-height ratio cannot predict male semen quality: a report of 1231 subfertile Chinese men // Andrologia. – 2015. – Vol. 47. – №. 9. – P. 1047-1054.
80. Витязева, И. И., Алташина, М. В., Трошина, Е. А. Влияние нарушений жирового обмена на фертильность мужчин репродуктивного возраста и эффективность программ ЭКО // Проблемы эндокринологии. – 2014. – №. 5. – С. 34-42.
81. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen – 5th edition. – WHO Press – Geneva-2010. [Электронный ресурс] Режим доступа: http://www.mmccatalog.com/en/sperm/WHO_laboratory_manual_for_the%20examination_and_processing_of_human_semen_5_2010.pdf.
82. Perrin, A., Louanjli, N., Ziane, Y., Louanjli, T., Le Roy, C., Gueganic, N., Amice, V., de Braekeleer, M., Morel, F. Study of aneuploidy and DNA fragmentation in gametes of patients with severe teratozoospermia // Reproductive biomedicine online. – 2011. – Vol. 22. – №. 2. – P. 148-154.
83. Molinari, E., Mirabelli, M., Raimondo, S., Brussino, A., Gennarelli, G., Bongioanni, F., Revelli, A. Sperm macrocephaly syndrome in a patient without

- AURKC mutations and with a history of recurrent miscarriage // Reproductive biomedicine online. – 2013. – Vol. 26. – №. 2. – P. 148-156.
84. Dam, A. H. D. M., Feenstra, I., Westphal, J. R., Ramos, L., Van Golde, R. J. T., Kremer, J. A. M. Globozoospermia revisited // Human reproduction update. – 2007. – Vol. 13. – №. 1. – P. 63-75.
 85. Kierszenbaum, A. L., Tres, L. L. The acrosome-acroplaxome-manchette complex and the shaping of the spermatid head // Archives of histology and cytology. – 2004. – Vol. 67. – №. 4. – P. 271-284.
 86. Evgeni, E., Charalabopoulos, K., Asimakopoulos, B. Human sperm DNA fragmentation and its correlation with conventional semen parameters // Journal of reproduction & infertility. – 2014. – Vol. 15. – №. 1. – P. 2-14.
 87. Chemes, H. E., Sedo, C. A. Tales of the tail and sperm head aches changing concepts on the prognostic significance of sperm pathologies affecting the head, neck and tail // Asian journal of andrology. – 2012. – Vol. 14. – №. 1. – P. 14-23.
 88. Koscinski, I., ElInati, E., Fossard, C., Redin, C., Muller, J., de la Calle, J. V., Schmitt, F., Khelifa, M.B., Ray, P., Kilani, Z., Barratt, C. L., Viville, S. DPY19L2 deletion as a major cause of globozoospermia // The American Journal of Human Genetics. – 2011. – Vol. 88. – №. 3. – P. 344-350.
 89. Harbuz, R., Zouari, R., Pierre, V., Khelifa, M. B., Kharouf, M., Coutton, C., Merdassi, G., Abada, F., Escoffier, J., Nikas, J., Vialard, F., Koscinski, I., Triki, C., Sermondade, N., Schweitzer, T., Zhioua, A., Zhioua, F., Latrous, H., Halouani, L., Ouafi, M., Makni, M., Jouk, P.S., Sele, B., Hennebicq, S., Satre, V., Viville, S.A. recurrent deletion of DPY19L2 causes infertility in man by blocking sperm head elongation and acrosome formation // The American Journal of Human Genetics. – 2011. – Vol. 88. – №. 3. – P. 351-361.
 90. Menkveld, R., Holleboom, C. A. G., Rhemrev, J. P. T. Measurement and significance of sperm morphology // Asian journal of andrology. – 2011. – Vol. 13. – №. 1. – P. 59-68.

91. Shiraishi, K., Takihara, H., Matsuyama, H. Elevated scrotal temperature, but not varicocele grade, reflects testicular oxidative stress-mediated apoptosis // *World journal of urology*. – 2010. – Vol. 28. – №. 3. – P. 359-364.
92. Samavat, J., Natali, I., Degl'Innocenti, S., Filimberti, E., Cantini, G., Di Franco, A., Danza, G., Seghieri, G., Lucchese, M., Baldi, E., Forti, G., Luconi, M. Acrosome reaction is impaired in spermatozoa of obese men: a preliminary study // *Fertility and sterility*. – 2014. – Vol. 102. – №. 5. – P. 1274-1281.
93. Buffone, M. G., Ijiri, T. W., Cao, W., Merdiushev, T., Aghajanian, H. K., Gerton, G. L. Heads or tails? Structural events and molecular mechanisms that promote mammalian sperm acrosomal exocytosis and motility // *Molecular reproduction and development*. – 2012. – Vol. 79. – №. 1. – P. 4-18.
94. Jimenez, T., Sanchez, G., McDermott, J. P., Nguyen, A. N., Kumar, T. R., & Blanco, G. Increased expression of the Na, K-ATPase alpha4 isoform enhances sperm motility in transgenic mice // *Biology of reproduction*. – 2011. – Vol. 84. – №. 1. – P. 153-161.
95. González-Marín, C., Gosálvez, J., Roy, R. Types, causes, detection and repair of DNA fragmentation in animal and human sperm cells // *International journal of molecular sciences*. – 2012. – Vol. 13. – №. 11. – P. 14026-14052.
96. Айзенштадт, А. А., Хрупина, А. С., Смирнова, С. А., Смолянинов, А. Б., & Самойлович, М. П. Анализ фрагментации ДНК сперматозоидов, как независимый критерий качества эякулята в практике Красноярского центра репродуктивной медицины // *Андрология и генитальная хирургия*. – 2011. – № 2. – С. 126.
97. Овчинников, Р. И. Гамидов, С.И., Попова, А., Ижбаев, С., Ушакова, И., Голубева, О. Причины репродуктивных потерь у мужчин-фрагментация ДНК сперматозоидов // *Русский медицинский журнал*. – 2015. – №. 11. – С. 634.
98. Lewis, S. E. M., Aitken, R. J., Conner, S. J., De Iuliis, G., Evenson, D. P., Henkel, R., Giwercman, A., Gharagozloo, P. The impact of sperm DNA damage

- in assisted conception and beyond: recent advances in diagnosis and treatment // Reproductive biomedicine online. – 2013. – Vol. 27. – №. 4. – P. 325-337.
99. Aitken, R. J., Curry, B. J. Redox regulation of human sperm function: from the physiological control of sperm capacitation to the etiology of infertility and DNA damage in the germ line // Antioxidants & redox signaling. – 2011. – Vol. 14. – №. 3. – P. 367-381.
 100. Aitken, R. J., De Iuliis, G. N. On the possible origins of DNA damage in human spermatozoa // Molecular human reproduction. – 2010. – Vol. 16. – №. 1. – P. 3-13.
 101. Gapp, K., Jawaid, A., Sarkies, P., Bohacek, J., Pelczar, P., Prados, J., Farinelli, L., Miskis, E., Mansuy, I. M. Implication of sperm RNAs in transgenerational inheritance of the effects of early trauma in mice // Nature neuroscience. – 2014. – Vol. 17. – №. 5. – P. 667-669.
 102. Ghildiyal, M., Zamore, P. D. Small silencing RNAs: an expanding universe // Nature Reviews Genetics. – 2009. – Vol. 10. – №. 2. – P. 94-108.
 103. De Castro Barbosa, T., Ingerslev, L. R., Alm, P. S., Versteyhe, S., Massart, J., Rasmussen, M., Mudry, J.M., Vetterli, L., Gupta, S., Krook, A., Zierath, J.R., Barres, R. High-fat diet reprograms the epigenome of rat spermatozoa and transgenerationally affects metabolism of the offspring // Molecular metabolism. – 2016. – Vol. 5. – №. 3. – P. 184-197.
 104. Bandel, I., Bungum, M., Richtoff, J., Malm, J., Axelsson, J., Pedersen, H. S., Ludwicki, J.K., Crazaja, K., Hernik, A., Toft, G., Bonde, J. P., Spano, M., Malm, G., Haugen, T.B., Giwercman, A. No association between body mass index and sperm DNA integrity // Human Reproduction. – 2015. – Vol. 30. – №. 7. – P. 1704-1713.
 105. Molaro, A., Hodges, E., Fang, F., Song, Q., McCombie, W. R., Hannon, G. J., & Smith, A. D. Sperm methylation profiles reveal features of epigenetic inheritance and evolution in primates // Cell. – 2011. – Vol. 146. – №. 6. – P. 1029-1041.
 106. Нуклеиновые кислоты: от А до Я / С. Мюллер — М.: Бином: Лаборатория знаний, 2013. – 413 с.

107. Nanassy, L., Carrell, D. T. Analysis of the methylation pattern of six gene promoters in sperm of men with abnormal protamination // *Asian journal of andrology*. – 2011. – Vol. 13. – №. 2. – P. 342.
108. El Hajj, N., Zechner, U., Schneider, E., Tresch, A., Gromoll, J., Hahn, T., Shorsch, M., Haaf, T. Methylation status of imprinted genes and repetitive elements in sperm DNA from infertile males // *Sexual Development*. – 2011. – Vol. 5. – №. 2. – P. 60-69.
109. Шильникова, Е. М. Генетические и эпигенетические особенности генома сперматозоида и их влияние на раннее эмбриональное развитие человека: дис. ... канд. биол. наук: 03.02.07 / Шильникова Евгения Михайловна- СПб, 2015.- 144 с.
110. Thomson, L. K., Zieschang, J. A., Clark, A. M. Oxidative deoxyribonucleic acid damage in sperm has a negative impact on clinical pregnancy rate in intrauterine insemination but not intracytoplasmic sperm injection cycles // *Fertility and sterility*. – 2011. – Vol. 96. – №. 4. – P. 843-847.
111. Jenkins, T. G., Aston, K. I., Cairns, B. R., Carrell, D. T. Paternal aging and associated intraindividual alterations of global sperm 5-methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine levels // *Fertility and sterility*. – 2013. – Vol. 100. – №. 4. – P. 945-951.
112. Salvaing, J., Aguirre-Lavin, T., Boulesteix, C., Lehmann, G., Debey, P., Beaujean, N. 5-Methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine spatiotemporal profiles in the mouse zygote [Электронный ресурс] // *PloS one*. – 2012. – Vol. 7. – Режим доступа: <http://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0038156&type=printable>.
113. Gaucher, J., Reynoird, N., Montellier, E., Boussouar, F., Rousseaux, S., & Khochbin, S. From meiosis to postmeiotic events: the secrets of histone disappearance // *FEBS journal*. – 2010. – Vol. 277. – №. 3. – P. 599-604.
114. Брагина, Е.Е., Арифалин, Е.М., Хафизова, П.М., Харчилава, П.М. Структура хроматина сперматозоидов человека и фрагментация ДНК в норме и при нарушениях фертильности. // *Врач*. – 2013. – №2. – С. 81-85.

- 115.Dadoune, J. P. Spermatozoal RNAs: what about their functions? // *Microscopy research and technique*. – 2009. – Vol. 72. – №. 8. – P. 536-551.
- 116.Lalancette, C., Platts, A. E., Johnson, G. D., Emery, B. R., Carrell, D. T., Krawetz, S. A. Identification of human sperm transcripts as candidate markers of male fertility // *Journal of molecular medicine*. – 2009. – Vol. 87. – №. 7. – P. 735-748.
- 117.Fariello, R. M., Pariz, J. R., Spaine, D. M., Cedenho, A. P., Bertolla, R. P., & Fraietta, R. Association between obesity and alteration of sperm DNA integrity and mitochondrial activity // *BJU international*. – 2012. – Vol. 110. – №. 6. – P. 863-867.
118. Krawetz, S. A., Kruger, A., Lalancette, C., Tagett, R., Anton, E., Draghici, S., Diamond, M. P. A survey of small RNAs in human sperm // *Human reproduction*. – 2011. – Vol. 26. – №. 12. – P. 3401-3412.
- 119.Ostermeier, G. C., Miller, D., Huntriss, J. D., Diamond, M. P., & Krawetz, S. A. Reproductive biology: delivering spermatozoan RNA to the oocyte // *Nature*. – 2004. – Vol. 429. – №. 6988. – P. 154-154.
- 120.Pric,e N. L., Ramírez, C. M., Fernández-Hernando, C. Relevance of microRNA in metabolic diseases // *Critical reviews in clinical laboratory sciences*. – 2014. – Vol. 51. – №. 6. – P. 305-320.
- 121.He, P. P., Ouyang, X. P., Tang, Y. Y., Liao, L., Wang, Z. B., Lv, Y. C., Tian, G.J., Huang, L., Yao, F., Xie, W., Xie, W. Tang, Y.L., Chen, W.J., Zhang, M., Li, Y., Wu, J.F., Peng, J., Liu, X.Y., Zheng, X.L., Yin, W.D., Tang, C.K. MicroRNA-590 attenuates lipid accumulation and pro-inflammatory cytokine secretion by targeting lipoprotein lipase gene in human THP-1 macrophages // *Biochimie*. – 2014. – Vol. 106. – P. 81-90.
- 122.Gapp, K., Jawaid, A., Sarkies, P., Bohacek, J., Pelczar, P., Prados, J., Farinelli, L., Miska, E., Mansuy, I. M. Implication of sperm RNAs in transgenerational inheritance of the effects of early trauma in mice // *Nature neuroscience*. – 2014. – Vol. 17. – №. 5. – P. 667-669.

123. McPherson, N. O., Owens, J. A., Fullston, T., Lane, M. Preconception diet or exercise intervention in obese fathers normalizes sperm microRNA profile and metabolic syndrome in female offspring // *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. – 2015. – Vol. 308. – №. 9. – P. 805-821.
124. Fullston, T., McPherson, N. O., Owens, J. A., Kang, W. X., Sandeman, L. Y., Lane, M. Paternal obesity induces metabolic and sperm disturbances in male offspring that are exacerbated by their exposure to an “obesogenic” diet [Электронный ресурс] // *Physiological reports*. – 2015. – Vol. 3. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4393169/>
125. Богданов Ю. Ф. Белковые механизмы мейоза // *Природа*. – 2008. – № 3.- С. 3-9.
126. Jurewicz, J., Radwan, M., Sobala, W., Radwan, P., Jakubowski, L., Hawula, W., Hawula, W., Ulanska, A., Hanke, W. Lifestyle factors and sperm aneuploidy // *Reproductive biology*. – 2014. – Vol. 14. – №. 3. – P. 190-199.
127. Agarwal, A., Said, T. M. Sperm chromatin assessment // *Textbook of Assisted Reproductive Techniques Fourth Edition: Volume 1: Laboratory Perspectives*. – CRC Press, 2012. – P. 75-95.
128. Некрасова, И. Л., Шестакова, В.Г., Иванов, А.Г., Артамонов, А.А. Исследование фрагментации ДНК сперматозоидов в диагностике мужского бесплодия // *Верхневолжский медицинский журнал*. – 2015. – №. 3. – С. 42-44.
129. Merhi, Z. O., Keltz, J., Zapantis, A., Younger, J., Berger, D., Lieman, H. J., Sangita, K.J., Polotsky, A. J. Male adiposity impairs clinical pregnancy rate by in vitro fertilization without affecting day 3 embryo quality // *Obesity*. – 2013. – Vol. 21. – №. 8. – P. 1608-1612.
130. Ramasamy, R., Bryson, C., Reifsnyder, J. E., Neri, Q., Palermo, G. D., Schlegel, P. N. Overweight men with nonobstructive azoospermia have worse pregnancy outcomes after microdissection testicular sperm extraction // *Fertility and sterility*. – 2013. – Vol. 99. – №. 2. – P. 372-376.

131. Anifandis, G., Dafopoulos, K., Messini, C. I., Polyzos, N., Messinis, I. E. The BMI of men and not sperm parameters impact on embryo quality and the IVF outcome // *Andrology*. – 2013. – Vol. 1. – №. 1. – P. 85-89.
132. Thomsen, L., Humaidan, P., Bungum, L., Bungum, M. The impact of male overweight on semen quality and outcome of assisted reproduction // *Asian journal of andrology*. – 2014. – Vol. 16. – №. 5. – P. 749-754.
133. Wu, Z., Lu, X., Wang, M., Cheng, H. Correlation between body mass index of Chinese males and assisted reproductive technology outcome // *International journal of clinical and experimental medicine*. – 2015. – Vol. 8. – №. 11. – P. 21472-21476.
134. Petersen, G. L., Schmidt, L., Pinborg, A., Kamper-Jørgensen, M. The influence of female and male body mass index on live births after assisted reproductive technology treatment: a nationwide register-based cohort study // *Fertility and sterility*. – 2013. – Vol. 99. – №. 6. – P. 1654-1662.
135. Colaci, D. S., Afeiche, M., Gaskins, A. J., Wright, D. L., Toth, T. L., Tanrikut, C., Hauser, S., Chavarro, J. E. Men's body mass index in relation to embryo quality and clinical outcomes in couples undergoing in vitro fertilization // *Fertility and sterility*. – 2012. – Vol. 98. – №. 5. – P. 1193-1199.
136. Mitchell, M., Bakos, H. W., Lane, M. Paternal diet-induced obesity impairs embryo development and implantation in the mouse // *Fertility and sterility*. – 2011. – Vol. 95. – №. 4. – P. 1349-1353.
137. McPherson, N. O., Bakos, H. W., Owens, J. A., Setchell, B. P., Lane, M. Improving metabolic health in obese male mice via diet and exercise restores embryo development and fetal growth [Электронный ресурс] // *PloS one*. – 2013. – Vol. 8. Режим доступа: <http://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0071459&type=printable>.
138. Binder, N. K., Hannan, N. J., Gardner, D. K. Paternal diet-induced obesity retards early mouse embryo development, mitochondrial activity and pregnancy health [Электронный ресурс] // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7. Режим доступа: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0052304>.

139. Ornellas, F., Souza-Mello, V., Mandarim-de-Lacerda, C. A., Aguilá, M. B. Programming of obesity and comorbidities in the progeny: lessons from a model of diet-induced obese parents [Электронный ресурс] // PloS One. – 2015. – Vol. 10. Режим доступа: <http://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0124737&type=printable>.
140. Дедов, И. И., Шестакова, М. В., Галстян, Г. Р., Григорян, О. Р., Есаян, Р. М., Калашников, В. Ю., Кураева, Т. Л., Липатов, Д. В., Майоров, А. Ю., Петеркова, В. А., Смирнова, О. М., Старостина, Е. Г., Суркова, Е. В., Сухарева, О. Ю., Токмакова, А. Ю., Шамхалова, М. Ш., Ярек-Мартынова, И. Я. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом. / Под редакцией Дедова, И. И., Шестаковой М. В. (7-й выпуск) // Сахарный диабет. – 2015. – Т. 18. – №. 14.
141. Диагностика и лечение артериальной гипертензии. Клинические рекомендации / Чазов И. Е. Москва, 2013. – С. 64.
142. Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting // Human Reproduction – 2011 – Vol. 26. – №6 – P. 1270–1283.