

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

На правах рукописи

БОБКОВ ДАНИИЛ НИКОЛАЕВИЧ

**ТЕСТИКУЛЯРНАЯ АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ У
МУЖЧИН С ВИСЦЕРАЛЬНЫМ ОЖИРЕНИЕМ**

3.1.19. – Эндокринология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук

Роживанов Роман Викторович

Москва - 2022 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	4
Актуальность темы исследования.....	4
Цель исследования.....	5
Задачи исследования.....	5
Научная новизна исследования.....	6
Практическая значимость.....	6
Положения, выносимые на защиту.....	7
Степень достоверности и апробация результатов работы.....	7
Публикации.....	8
Объем и структура диссертации.....	9
Глава I. Обзор литературы.....	10
1.1 Ассоциации между бесплодием и ожирением.....	10
1.2 Механизмы влияния ожирения на различные параметры мужской репродуктивной системы.....	13
1.3 Патозооспермия и антиоксидантная активность эякулята.....	20
1.4 Влияние коррекции ожирения на репродуктивную систему мужчин.....	23
1.5 Применения антиоксидантов при патозооспермии.....	26
Глава II. Материалы и методы.....	35
2.1 Дизайн исследования.....	35
2.2 Характеристики выборок больных.....	40
2.3 Методы исследования.....	46
2.4 Описание медицинского вмешательства.....	47
2.5 Статистические методы анализа данных.....	49
Глава III. Результаты собственных исследований.....	50
3.1 АОА эякулята при нормозооспермии, патозооспермии и ее ассоциации с патологическими факторами ожирения.....	50
3.2 Показатели качества эякулята, ассоциированные со снижением массы тела.....	54

3.3 Показатели качества эякулята на фоне лечения препаратом лираглутид и комплексом антиоксидантов.....	60
Глава IV. Обсуждение результатов собственных исследований.....	68
Выводы.....	78
Практические рекомендации	78
Список сокращений и условных обозначений	79
Список литературы.....	80

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

В последние годы неуклонно растет распространенность ожирения. Избыточное накопление жира в брюшной полости (висцеральное) является типичным для мужчин и может отмечаться в молодом, репродуктивно активном возрасте, а развитие этого заболевания негативно влияет на половую функцию [46]. Разными исследователями проводились работы, направленные на изучения влияния ожирения на сперматогенез и развитие бесплодия у мужчин [38, 137, 162]. Ряд работ демонстрируют некоторую противоречивость результатов [38, 104]. Это может объясняться тем, что большинство исследований основано на измерении индекса массы тела (ИМТ), не вполне отражающего висцеральное ожирение. Доподлинно установлено, что для пациентов с висцеральным ожирением характерно развитие гипогонадизма, являющегося патогенетическим фактором патозооспермии [18, 39]. Однако только наличием гипогонадизма объяснить снижение сперматогенеза не представляется возможным. При этом в некоторых работах указано, что нарушение жирового обмена может приводить к снижению антиоксидантной активности (АОА) эякулята и патозооспермии [4]. Однако в эти исследования включались мужчины с патогенетическими факторами развития патозооспермии, которые могли быть не связаны с ожирением как таковым. Кроме того, в большинстве работ использовалась лишь световая микроскопия, что снижает вероятность выявления ультраструктурных нарушений сперматозоидов. Таким образом, является актуальным исследование сперматогенеза и АОА эякулята у пациентов с постпубертатным висцеральным ожирением с учетом исключения возрастных, пубертатных и других рисков патозооспермии, не связанных с ожирением. Кроме того, поскольку ожирение само по себе требует лечения, вызывает интерес возможность оценки снижения массы тела на качество и АОА эякулята, включая воздействие препарата,

направленного именно на лечение ожирения – лираглутида, тем более, что установлено благоприятное влияние лечение ожирения на пациентов с гипогонадизмом [17]. Другим актуальным направлением работы является возможность оценки эффективности использования антиоксидантных препаратов для коррекции патозооспермии у пациентов с ожирением. Результаты работ ряда исследователей продемонстрировали эффективность токоферола, карнитина, коэнзима Q10, N-ацетилцистеина (N-АЦ), ликопина, и других в коррекции патозооспермии, связанной с оксидативным стрессом [15, 33, 81, 108]. Однако с одной стороны результаты этих работ частично противоречивы, с другой стороны не выделены специфические группы терапии, что могло исказить итоговые результаты. Таким образом, требуется проведение дальнейших исследований.

Цель исследования

Изучить особенности патозооспермии и АОА эякулята у молодых мужчин с постпубертатным висцеральным ожирением и неотягощенным андрологическим анамнезом, а также возможность коррекции нарушений.

Задачи исследования

Для реализации поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

- 1) Оценить характеристики патозооспермии и АОА эякулята у пациентов с постпубертатным висцеральным ожирением.
- 2) Выявить ассоциации между сниженной АОА эякулята с метаболическими нарушениями при ожирении.
- 3) Оценить влияние снижения массы тела на качество и АОА эякулята.

4) Оценить влияние терапии постпубертатного висцерального ожирения у мужчин с патозооспермией и неотягощенным андрологическим анамнезом на показатели АОА и качества эякулята инъекционным препаратом лираглутид, по сравнению с конкурентным вмешательством – пероральным применением комплекса антиоксидантов.

Научная новизна исследования

Впервые проведено исследование качества и АОА эякулята у мужчин с постпубертатным висцеральным ожирением с учетом исключения возрастных, пубертатных и других рисков патозооспермии, не связанных с ожирением. Впервые оценена эффективность снижения массы тела в отношении нарушений АОА эякулята и выработки активных форм кислорода (активных радикалов) при патозооспермии, в том числе за счет использования лираглутида. Впервые проведено исследование эффективности препарата с антиоксидантной активностью в отношении патозооспермии в обособленной терапевтической группе.

Практическая значимость

Установлено, что снижение АОА эякулята часто встречается при патозооспермии у мужчин с постпубертатным висцеральным ожирением и ассоциировано с дислипидемией, что обуславливает целесообразность оценки липидного спектра крови при обследовании мужчин с репродуктивной патологией, обусловленной оксидативным стрессом. Установлено, что клинически значимое снижение жировой массы тела (более чем на 10%) сопровождается улучшением качества и увеличением АОА эякулята. Установлено, что при использовании в лечении ожирения препарата лираглутид отмечается улучшение подвижности сперматозоидов, качества хроматина, АОА эякулята и уменьшается продукция активных форм кислорода (АФК) в нативном эякуляте, что позволяет рекомендовать его пациентам с ожирением и патозооспермией. Установлено, что терапия комплексом антиоксидантов улучшает АОА эякулята и подвижность сперматозоидов, что позволяет использовать эту терапию как

вспомогательный метод лечения при астенозооспермии. Установлено, что повышенная продукция АФК отмытыми сперматозоидами ассоциирована с худшим прогнозом в отношении улучшения качества эякулята при патозооспермии у мужчин с постпубертатным висцеральным ожирением.

Положения, выносимые на защиту

1. Снижение АОА эякулята часто встречается при патозооспермии у мужчин с постпубертатным висцеральным ожирением.
2. Снижение АОА эякулята ассоциировано с дислипидемией.
3. Клинически значимое снижение массы тела сопровождается улучшением качества и увеличением АОА эякулята.
4. При использовании лираглутида отмечается улучшение АОА, подвижности сперматозоидов, качества хроматина и уменьшение продукции АФК в нативном эякуляте.
5. При использовании комплекса антиоксидантов отмечается улучшение АОА эякулята и подвижности сперматозоидов.
6. Повышенная продукция АФК отмытыми сперматозоидами ассоциирована с отсутствием динамики в отношении улучшения качества эякулята.

Степень достоверности и апробация результатов работы

Работа выполнена на базе ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России. Основные результаты диссертации были доложены на следующих конференциях:

1. V Всероссийской онлайн-конференции с международным участием «Репродуктивное здоровье женщин и мужчин» (Москва, 2020 год).
2. XII Конференции молодых ученых с международным участием «Трансляционная медицина: возможное и реальное» (Москва, 2021 год).
3. IV (XXVII) Национальном конгрессе эндокринологов «Инновационные технологии в эндокринологии» (Москва, 2021 год).

4. IX (XXVIII) Национальном диабетологическом конгрессе с международным участием «Сахарный диабет и ожирение – неинфекционные междисциплинарные пандемии XXI века» (Москва, 2022 год).

Апробация диссертационной работы состоялась на Межотделенческой научной конференции ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (18 июля 2022 года, Москва, РФ).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ: 3 из них в рецензируемых научных изданиях, включенных в перечень российских рецензируемых научных изданий, рекомендуемых Высшей аттестационной комиссией (ВАК), в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук. Опубликованные работы:

1. Роживанов Р. В., Бобков Д. Н., Курбатов Д. Г. Патогенетические факторы патозооспермии и нарушения антиоксидантной активности эякулята у молодых мужчин с постпубертатным висцеральным ожирением и неотягощенным андрологическим анамнезом // Ожирение и метаболизм.- 2019.-№15(3). С. 76-80. <https://doi.org/10.14341/omet10054>.
2. Бобков Д. Н., Роживанов Р. В., Савельева Л. В. Показатели качества эякулята, ассоциированные со снижением массы тела у молодых бесплодных мужчин с патозооспермией, постпубертатным висцеральным ожирением и неотягощенным андрологическим анамнезом // Ожирение и метаболизм. — 2020. — Т. 17. — №4. — С. 340-345. <https://doi.org/10.14341/omet12679>
3. Бобков Д. Н., Роживанов Р. В. Структура патозооспермии у молодых бесплодных мужчин с постпубертатным висцеральным ожирением и неотягощенным андрологическим анамнезом // Сборник тезисов V Всероссийской онлайн-конференции с международным участием «Репродуктивное здоровье женщин и мужчин», 17-18 октября 2020. - М.: ООО «Типография «Печатных Дел Мастер»; 2020.- С. 12.

4. Бобков Д.Н., Роживанов Р.В., Витязева И.И. Показатели качества эякулята мужчин с астенозооспермией и астенотератозооспермией на фоне лечения ожирения лираглутидом. // Ожирение и метаболизм. 2021; 18(3), С. 263-267. <https://doi.org/10.14341/omet12734>
5. Бобков Д. Н. Динамика показателей качества эякулята на фоне снижения массы тела у молодых бесплодных мужчин с висцеральным ожирением. Эндокринология. Новости. Мнения. Обучение. 2021. Т. 10. № 2 (35). С. 158-160.
6. Бобков Д. Н., Роживанов Р. В. Состояние сперматогенеза и антиоксидантной активности эякулята у молодых бесплодных мужчин с постпубертатным висцеральным ожирением и неотягощенным андрологическим анамнезом. // IV (XXVII) Национальный конгресс эндокринологов «Инновационные технологии в эндокринологии». Сборник тезисов. – С. 334. Москва, 22.09.2021–25.09.2021.
7. Бобков Д. Н., Роживанов Р. В. Коррекция патозооспермии комплексом антиоксидантов в сравнении с применением лираглутида для снижения массы тела у мужчин с висцеральным ожирением. / Сборник тезисов IX (XXVIII) Национального диабетологического конгресса с международным участием «Сахарный диабет и ожирение – неинфекционные междисциплинарные пандемии XXI века», 5-8 сентября 2022 года – М.: 2022. – С. 37.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 104 страницах, состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, условных обозначений и списка литературы. Библиография включает 180 источников литературы (22 отечественных и 158 зарубежных). Диссертация иллюстрирована 18 таблицами и 2 рисунками.

ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Ассоциации между бесплодием и ожирением

Общемировая распространенность ожирения в период с 1975 по 2016 год выросла почти в три раза. В целом не менее 11% мужчин старше 18 лет страдает ожирением, а избыточный вес имеется у 39% мужского населения мира, и по прогнозам Всемирной Организации Здравоохранения, доля таких людей будет расти [173]. Доля мужского фактора бесплодия, по разным данным, колеблется от 20 до 70%, а процент бесплодных мужчин в общей выборке различных популяций колеблется от 2,5 до 12% [23]. Бесплодных пар к 2010 году насчитывалось не менее 48,5 миллионов, и эта цифра продолжает увеличиваться [115]. При этом коэффициент фертильности в США (рождений/1000 мужчин) снизился с 57 в 1980 году до 45,8 в 2013 [113]. А в Дании число детей на одного мужчину в возрасте 45 лет упало с 1,9 до 1,7 с 1990 до 2005 года, что лишь частично компенсируется помощью вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) [136].

Эпидемиологические исследования показывают, что супружеские пары, в которых партнер имеет высокий индекс массы тела (ИМТ), чаще страдают бесплодием и обращаются для лечения методом ЭКО из-за мужского фактора [1, 53]. В исследовании Punab et al. (2017), пытающихся выявить основные причины бесплодия на выборке в 1737 мужчин с бесплодием (из 8518 первично обследованных мужчин, что составляет 20,4% случаев бесплодия) было отмечено, что практически во всех подгруппах пациентов (гипогонадизм, обструкция семявыносящих путей и другие) значительно увеличено количество пациентов с избыточным весом по сравнению с общей популяцией [137]. Было установлено, что вероятность развития олигозооспермии повышается в 7 раз при окружности талии (ОТ) > 101,6 см по сравнению с мужчинами с нормальным показателем [60]. В исследовании Таһа et al. (2016) оценивали влияние ИМТ на 165 фертильных мужчин – ИМТ отрицательно коррелировал с концентрацией сперматозоидов, прогрессирующей подвижностью, нормальной морфологией и

жизнеспособностью сперматозоидов, но положительно с фрагментацией ДНК и активными формами кислорода (АФК) [161]. АФК — это нестабильные химические вещества, содержащие кислород, такие как пероксиды, супероксиды, гидроксильные радикалы и синглетный кислород [78]. У мужчин с ожирением все показатели были хуже по сравнению с мужчинами из групп с нормальной и избыточной массой тела [161]. Kort et al. (2006) обследовали 520 мужчин из бесплодных пар, с медианой возраста 34,6 лет – было выявлено повышение частоты фрагментации ДНК в сперматозоидах: 19,9% у мужчин с нормальным ИМТ, и 27% у мужчин с ИМТ > 30 кг/м². Также было выявлено снижение подвижных сперматозоидов с 18,6 x 10⁶ у мужчин с ИМТ менее 25 кг/м², до 3,6 x 10⁶ у мужчин с ИМТ 25–29,9 кг/м², и 0,7 x 10⁶ у мужчин с ИМТ более 30 кг/м² [95]. В работе Andersen J. et al. (2015) оценивалась репродуктивная система 166 мужчин без азооспермии, крипторхизма и химиотерапии в прошлом в зависимости от ИМТ, который отрицательно коррелировал с объемом эякулята, концентрацией, подвижностью, жизнеспособностью, процентом жизнеспособных сперматозоидов, а также уровнем тестостерона, глобулина, связывающего половые гормоны (ГСПГ), ингибина В и антимюллерова гормона [30]. В исследовании Belloc et al. (2014) проводилась оценка эякулята 10 665 мужчин. Объем эякулята снижался с 3,3 ± 1,6 до 2,7 ± 1,6 мл при увеличении ИМТ от 20–25 кг/м² до морбидного ожирения (> 40 кг/м²), и эта же тенденция наблюдалась для общего количества сперматозоидов (171 млн против 92 млн), концентрации, подвижности и жизнеспособности. Доля пациентов с азооспермией возрастала с 1,9% до 9,1%, а криптоспермии – с 4,7% до 15,2% [38]. В работе Jurewicz et al. (2014), направленной на выявление того, какие факторы образа жизни были связаны с анеуплоидией сперматозоидов (n=212), ожирение (ИМТ 30–40 кг/м²) было связано с увеличением числа дополнительной 21 хромосомы по сравнению с мужчинами с нормальным весом [88]. В исследовании Wen-Hao Tang et al. (2015) на 617 бесплодных мужчинах была выявлена отрицательная

корреляция подвижности сперматозоидов с ИМТ и возрастом [162]. В работе Oliveira et al. (2018) было показано, что повышение ИМТ отрицательно влияет на концентрацию сперматозоидов, количество жизнеспособных форм, подвижность и морфологию [130]. Аналогичные группы были получены в исследовании Yaprak et al. (2018) – выявлены статистически значимые различия в объеме спермы, подвижности, количестве сперматозоидов и морфологических критериях по Крюгеру среди групп пациентов с разным ИМТ [63]. В работе Bieniek et al., обследовавших 4400 мужчин с 2002 по 2014 год, были выявлены корреляции между ИМТ и объемом эякулята, концентрацией сперматозоидов, подвижностью и морфологией. Частота азооспермии и олигоспермии также была выше среди лиц с ожирением (12,7% и 31,7% соответственно) по сравнению с мужчинами с нормальным весом (9,8% и 24,5%) [40]. В исследовании Wang et al. (2017) оценивали эякулят 2384 мужчин из Северного Китая, разделенных на 4 группы в зависимости от ИМТ (дефицит массы тела, нормальный вес, избыток массы тела, ожирение). Результаты достоверно показали более низкое качество спермы (общее количество сперматозоидов, концентрация, подвижность, относительная подвижность сперматозоидов типа а и прогрессирующая подвижность типов а+b) у участников с избытком массы тела и ожирением, чем у участников с нормальным индексом массы тела [169]. В Тайваньском (Tsaο et al., 2015) исследовании на популяции 7630 мужчин концентрация сперматозоидов и нормальная морфология показала отрицательную ассоциацию с ИМТ [163]. В исследовании MacDonald et al. (2013) оценивался эякулят 330 мужчин, 72,8% из которых имели избыточный вес или ожирение. Была выявлена отрицательная корреляция между ИМТ и нормальной морфологией сперматозоидов [106]. В работе Ramaraju et al. (2018) была проведена оценка эякулята 1285 мужчин, и выявлена ассоциация между ожирением и такими нарушениями эякулята, как сниженный объем, концентрация, подвижность, дефекты головки [139]. Систематический обзор Campbell et al. (2015) включил работы с общим числом участников 115 158

мужчин. Было отмечено, что у мужчин с ожирением чаще встречалось бесплодие, доля живорождений на ВРТ снижалась, абсолютный риск внутриутробной гибели у детей этих мужчин повышался на 10%. Также у мужчин с ожирением был выше процент фрагментации ДНК, нарушений морфологии сперматозоидов и доли сперматозоидов с низким митохондриальными мембранным потенциалом [45]. В метаанализе Guo et al. (2017), включающих 25 исследований с общим числом участников 26814 было выявлено, что избыточный вес снижал общее количество сперматозоидов и объем эякулята, ожирение уменьшало еще и концентрацию, в то время как не отмечалось изменения подвижности сперматозоидов. При увеличении ИМТ на каждые 5 кг/м² в среднем снижается общее количество сперматозоидов на 2,4%, концентрация на 1,3% и объем на 2% [72]. Таким образом, большинство исследований демонстрируют наличие негативного влияния ожирения на репродуктивный потенциал мужчины.

1.2 Механизмы влияния ожирения на различные параметры мужской репродуктивной системы

Механизмы негативного влияния избытка жировой ткани на мужскую репродуктивную систему и их роль в бесплодии, крайне разнообразны. Жировая ткань является эндокринным органом, помимо ароматизации андрогенов способного к самостоятельной секреции большого количества биологически активных веществ — адипоцитокинов (адипокинов), которые регулируют работу гипоталамо-гипофизарно-яичковой оси [177]. Возникающие вследствие этого изменения уровней гормонов, а также инсулинорезистентность, состояние хронического воспаления и оксидативного стресса, предположительно, негативно влияют и на репродуктивную систему мужчины [137, 175]. Ряд авторов отмечают, что ожирение у мужчины является фактором, снижающим вероятность наступления беременности и родов у партнерш при использовании методов ВРТ. В числе возможных причин называют повреждение ДНК

сперматозоидов и ослабление акросомальной реакции, выявляемые, по данным исследованиям, у лиц с избытком массы тела и ожирением [175]. Также имеются работы о влиянии ожирения у мужчин на здоровье (в том числе и репродуктивное) у потомков [78].

Нельзя исключать влияние не только ожирения как такового, но и образа жизни, к нему приводящего, а именно гиперкалорийного питания с большим количеством животных жиров и легкоусвояемых углеводов [133, 146]. В работе Н. W. Vakos et al. (2011) оценивалось влияние высокожировой диеты (ВЖД) на мышей, приводящей к существенному набору массы тела за 9-недельный период. Было выявлено, что по сравнению с группой контроля мыши (по 18 в каждой группе), находящиеся на ВЖД, имели значимо более низкий уровень тестостерона, почти в 1,7 раз выше содержание АФК, в 9,6 раз больше был процент повреждений ДНК в сперматозоидах, реже происходило оплодотворение (25,9% против 43,9%). Авторы связывали худшие репродуктивные исходы с повреждением ДНК в результате окислительного стресса [35]. В исследовании Fullston et al. (2015) после приверженности высококалорийному питанию снижение подвижности сперматозоидов и повышение АФК эякулята отмечалось не только у самих мышей, но и у их потомков первого поколения, находившихся на рациональной диете [67]. Одна из возможных причин этого – метилирование ДНК, обусловленное ожирением [168]. В исследовании Whitfield et al. (2017) на мышах, находящихся на высокохолестериновой диете, также было продемонстрировано ухудшение созревания и способности к оплодотворению у сперматозоидов, а также состав липидов спермы [171]. Возможный механизм – стимуляция 5'АМФ-активируемой протеинкиназы, чувствительной к избытку энергии и играющей важную роль в стероидогенезе гонад, а также пролиферации репродуктивного эпителия и созревании сперматозоидов [62]. В исследовании Jensen et al. (2013), включившем 701 мужчину без азооспермии и с ИМТ от 18,8 до 28,9 кг/м², было выявлено, что у мужчин из группы с наибольшим приемом

насыщенных жиров отмечалось уменьшение количества сперматозоидов на 41% и концентрации на 38% по сравнению с группой самого низкого потребления, причем эти показатели не были связаны с более высоким общим потреблением энергии после проведения корректировки по этому показателю. Кроме того, процент сперматозоидов с нормальной морфологией был ниже у мужчин с высоким потреблением мононенасыщенных жиров, а объем спермы был выше у мужчин с высоким потреблением омега-3 жирных кислот. Все группы значимо не отличались по ИМТ, курению или его отсутствию, социальному и материальному положению, приему алкоголя и уровню физической активности [85]. А в одномоментном исследовании Chiu et al. (2014), изучавшем влияние потребления напитков с высоким содержанием сахара на репродуктивную функцию 189 мужчин в возрасте 18–22 лет, было выявлено, что потребление сладких напитков у мужчин с нормальной массой тела влияло на подвижность сперматозоидов, но значимого влияния на группу мужчин с избытком массы тела или ожирением не было. Влияние на остальные параметры эякулята также не было выявлено [52].

Основываясь на представленных исследованиях в работе Saez F. и Drevet J. (2019) было рекомендовано добавление в диету полиненасыщенных жирных кислот, особенно в сочетании с антиоксидантами, поскольку клетки сперматозоидов крайне богаты этим видом жиров и очень чувствительны к окислительному стрессу. При этом потребление насыщенных жиров отрицательно коррелировало с концентрацией сперматозоидов, а также было ассоциировано с ухудшением качественных показателей эякулята [145]. В исследовании FERTINUTS (2018) у здоровых мужчин в возрасте 18–35 лет проанализировало влияние добавления 60 г орехов в день (30 г грецкого ореха, 15 г миндаля и 15 г фундука) на фрагментацию ДНК сперматозоидов. После 14 недель добавления орехов авторы сообщили о нескольких улучшениях по сравнению с контрольной группой с точки зрения количества сперматозоидов, жизнеспособности, полной подвижности, прогрессирующей

подвижности и морфологии, а также снижение фрагментации ДНК [146]. В другом исследовании Robbins et al. (2012) сообщалось об улучшении количества жизнеспособных сперматозоидов, подвижности и морфологии при приеме 75 г грецких орехов в сутки в течение 12 недель [142].

Нарушение обмена липидов, часто выявляемое у пациентов с ожирением, согласно исследованиям, также негативно влияет на мужскую фертильность. Липиды составляют 1,9% ткани яичек: 26,5% приходится на холестерин (ХС), 28,5% на триглицериды, и 45% на фосфолипиды (ФЛ). Мембрана сперматозоидов содержит большое количество ХС, ФЛ и полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), что напрямую связано с функциональной активностью гамет [105]. 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 [150, 157]. Также ожирение вызывает снижение уровня некоторых жирных кислот в сперматозоидах (докозагексаеновая кислота, пальмитиновая кислота), связанное с увеличением индекса фрагментации ДНК и снижением общего количества, жизнеспособности и подвижности сперматозоидов [31]. 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, ухудшать качество эмбрионов и, как следствие, снижать частоту наступления беременности при использовании ВРТ [7]. В исследовании Nagiuda et al. (2014) на выборке 167 бесплодных мужчин от 22 до 46 лет оценивалась взаимосвязь между уровнем триглицеридов и репродуктивными нарушениями (39,5% с гипертриглицеридемией, остальные с нормальным уровнем триглицеридов). Не было выявлено зависимости между триглицеридами и подвижностью или количеством сперматозоидов, но была положительная корреляция с морфологическими нарушениями сперматозоидов и отрицательная с уровнем тестостерона [74]. Подобную

задачу поставили и Liu C. et al. (2017), оценивающие спермограмму 7601 мужчины. Была выявлена ассоциация между повышенными уровнями липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), триглицеридов и липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП) и нарушением морфологии сперматозоидов [102]. В 2014 году J. Samavat et al. отметили корреляцию между нарушениями акросомной реакции сперматозоидов и уровнем ХС в сперме у мужчин с ожирением, а также содержанием эстрадиола и гликированного гемоглобина в крови по сравнению с мужчинами без ожирения [149]. Как и в исследовании Schisterman et al. (2014), включавшем 501 мужчину, была выявлена достоверная отрицательная корреляция между уровнем ХС (аналогично для фосфолипидов) и количеством сперматозоидов с нормальной акросомой. Достоверная связь между фрагментацией ДНК или подвижностью сперматозоидов с нарушениями липидного спектра отсутствовала [150].

В обзоре McPherson et al. (2015) среди возможных механизмов влияния ожирения на репродуктивную функцию, помимо инсулина и уровня глюкозы крови, высокого уровня холестерина крови и активации процессов воспаления, также указывается влияние лептина через воздействие на рецепторы сперматозоидов [118]. Хотя в небольших количествах лептин необходим для нормального развития мужской репродуктивной функции, в избыточном количестве, продуцируемом жировой тканью, он может привести к нарушениям сперматогенеза (как на центральном уровне, так и на периферическом) [36]. Повышение уровня лептина может напрямую влиять на сперматогенез и, по-видимому, благоприятствует апоптозу сперматогоний [82]. В исследовании Leisegang K. et al. (2014) было выявлено повышение уровня лептина и инсулина в семенной жидкости в группе мужчин с ожирением (ИМТ > 30 кг/м²) без изменения уровня глюкозы по сравнению с группой контроля, и также было выявлено значимое снижение концентрации и жизнеспособности сперматозоидов, и увеличение фрагментаций ДНК [99].

Еще одним из факторов, ухудшающим сперматогенез у мужчин с избытком массы тела и ожирением, является гипертермия яичек за счет увеличения прослойки жировой ткани в мошонке [58]. Гипертермия сопровождается ухудшением не только макроскопических параметров эякулята, но и увеличением одно- и двухцепочечных разрывов хроматина в головке сперматозоида, ослаблением акросомальной реакции, что, в свою очередь, снижает частоту оплодотворения, вероятность имплантации эмбрионов и наступления беременности [1, 91]. Повышение температуры яичек связано с уменьшением подвижности и концентрации сперматозоидов [58]. Гипертермия может также воздействовать на другие интраскротальные структуры, такие как эпидидимис [62]. Оценка вклада гипертермии проведена в исследовании Garolla et al. (2015) при помощи 24-часового двустороннего мониторинга температуры в мошонке. Температура в мошонке у тучных мужчин значимо не отличалась в течение суток, но всегда была выше по сравнению со здоровыми мужчинами, а по сравнению с мужчинами с варикоцеле повышение температуры было симметричным с обеих сторон [69]. Влияние гипертермии подчеркивается и в исследовании Zhang et al. (2015) на 19 здоровых мужчинах, в течение 3 месяцев подвергавшихся температурному воздействию; было выявлено статистически значимое ухудшение таких показателей, как концентрация, подвижность и нормальная морфология сперматозоидов, а также фрагментация ДНК и целостность мембраны [179]. В исследовании Shafic et al. (1981) было показано, что хирургическое удаление жира из мошонки приводило к улучшению показателей спермограммы [152].

В ряде представленных работ, связанных с нарушением сперматогенеза при ожирении и бесплодии, указывается на роль оксидативного стресса [35, 56, 67, 78, 161]. В работе Hosen et al. (2015) оценивали антиоксидантную систему у 25 здоровых и 41 мужчины с бесплодием. Процент подвижных и морфологически нормальных сперматозоидов был значимо ниже у бесплодных мужчин. Параметры спермы отрицательно коррелировали с

малондиальдегидом, гидропероксидами фосфолипидов и 8-гидрокси-2-дезоксигуанозином и положительно с СОД (супероксиддисмутаза) и общим антиоксидантным статусом. Семенные уровни таких маркеров оксидативного стресса, как малондиальдегид, гидропероксиды фосфолипидов и 8-гидрокси-2-дезоксигуанозин, были значимо выше, в то время как СОД и общий антиоксидантный статус были ниже у бесплодных мужчин [77]. В исследовании Cui et al. (2016) проводилась оценка сперматогенеза 324 мужчин (73 с дефицитом массы тела, 82 с нормальным весом, 95 с избыточным весом и 74 с ожирением). Концентрация сперматозоидов, нормальная морфология, объем, фрагментация ДНК и уровень тестостерона у мужчин с избытком массы тела и ожирением были значимо ниже по сравнению с группой нормального ИМТ. Кроме того, прогрессирующая подвижность, концентрация цинка в семенной жидкости и активность акрозина сперматозоидов были снижены в группе с ожирением, что возможно было скорректировать при обработке эякулята антиоксидантом ресвератролом [56]. Как было представлено в обзоре Rato et al. (2014), при высокоэнергетической диете наступает своеобразная “перегрузка” энергией, в результате которой митохондрии начинают в большем количестве продуцировать АФК. Уязвимость сперматозоидов к АФК обусловлена тем, что их мембрана состоит преимущественно из докозагексаеновой кислоты, которая в свою очередь более склонна к атаке свободных радикалов из-за конъюгированной природы двойных связей, смежных с метиленовой группой [141]. Также на фоне гиперкалорийного питания нарушается протективная функция таких антиоксидантных систем, как коактиватор 1-альфа-рецептора, активируемого пролифераторами пероксисом, и сиртуинов, что также способствует увеличению концентрации АФК в эякуляте [141]. Это актуализирует проблему изучения оксидативного стресса при патозооспермии и ожирении.

1.3 Патозооспермия и антиоксидантная активность эякулята

Сперматозоиды получают энергию двумя основными метаболическими путями: гликолизом и окислительным фосфорилированием, происходящим на митохондриях [134]. Сперматозоиды содержат от 50 до 75 митохондрий и, как и любой другой тип клеток, которые осуществляют аэробный метаболизм, связаны с образованием свободных радикалов, названных АФК [50]. Свободные радикалы в виде активных форм кислорода обычно образуются во время промежуточных стадий клеточного метаболизма. Супероксидный анионный радикал (O_2^-) образуется при добавлении дополнительного электрона к молекулярному кислороду (O_2). Супероксидный анион может быть превращен в другие нерадикальные соединения, такие как пероксид водорода, которые являются относительно стабильными мощными окислителями [50]. Некоторые АФК содержат атомы азота, такие как NO , NO_3^- , NO^- , N_2O и HNO_3 . Свободные радикалы очень нестабильны из-за наличия одного или нескольких неспаренных электронов. Они очень реакционноспособны в присутствии аминокислот, липидов и нуклеиновых кислот. Увеличение маркеров оксидативного стресса было достоверно повышено в ряде исследований при различных урологических заболеваниях, таких как варикоцеле, крипторхизм, мочеполовые инфекции и перекрут яичка [15, 50, 69, 144].

По данным исследований в среднем 25% (не менее 20%, в некоторых работах до 40%) бесплодных мужчин обладают высоким уровнем АФК эякулята [15, 123, 180]. Roychoudhury et al. (2016) при сравнении 279 бесплодных и 46 здоровых мужчин подтвердили роль АФК эякулята в развитии бесплодия [143]. При ожирении есть несколько факторов, способствующих увеличению АФК [112, 97]. Помимо уже упомянутого усиления продукции АФК, имеет место и ослабление собственных антиоксидантных систем (таких как СОД, глутатионпероксидазы и каталаза) [175]. Это может быть обусловлено тем, что жировая ткань является депо таких естественных антиоксидантов, как витамины Е и А и бета-каротины

[109]. Также жировая ткань может модифицировать собственные АФК и затруднять их устранение [97]. Побочные продукты окислительного стресса, например, глутатионилированные липидные альдегиды, обнаруженные повышенными при избытке белой жировой ткани, являются сильнодействующими активаторами воспаления макрофагов, и соответственно поддерживают общее воспаление [97]. Кроме того, пищевое поведение, приводящее к ожирению, также может вызывать оксидативный стресс за счет диеты с высоким содержанием углеводов или жиров, что проявляется в повышенных продуктах перекисного окисления липидов, карбонилировании белков и снижении уровня антиоксидантной системы и уровня глутатиона [140]. Значимую роль антиоксидантной системы отмечают Dias et al. (2019), подтвердив на мужчинах с нормозооспермией и повышенным уровнем АФК эякулята сверхэкспрессию супероксиддисмутазы 1 и пероксиредоксина 4, а также сниженную активность НАДН-убихинон-оксидоредуктазы [59].

Плазменная мембрана сперматозоида содержит большое количество ПНЖК для текучести мембраны, что необходимо в процессе слияния при оплодотворении, и делает сперматозоиды особенно уязвимыми к перекисному окислению липидов [114]. Хотя зрелые сперматозоиды очень чувствительны к окислительному повреждению, как это ни парадоксально, сперматозоиды используют АФК для завершения своего посттестискулярного созревания, особенно для оптимальной конденсации ядра сперматозоидов – критического процесса, который определяет уровень целостности отцовской ДНК, а также для нормальной регуляции функции сперматозоидов, их гиперактивации и акросомальной реакции. Но избыточная продукция АФК приводит к оксидативному стрессу и повреждению мембраны сперматозоидов, снижению их подвижности и нарушению оплодотворяющей способности [27, 128]. В ответ на окислительный стресс в сперматозоидах дестабилизируется копирование ДНК и возникают разрывы цепи [25, 26].

Также представляет интерес такой показатель, как антиоксидантная активность (АОА) эякулята. В работе Giulini et al. (2009), включившей 60 бесплодных мужчин с варикоцеле и 10 здоровых мужчин, исследователи выявили положительную корреляцию между АОА эякулята и концентрацией, а также подвижностью сперматозоидов [70]. В работе Subramanian et al. (2018), включавшей 87 бесплодных и 23 фертильных мужчин были выявлены достоверно более низкий уровень АОА и более высокий уровень АФК в группе бесплодных мужчин, и оба эти показателя были связаны со снижением общей концентрации, снижением подвижности и нормальной морфологии сперматозоидов [156].

АОА эякулята противодействует оксидативному стрессу [12, 14]. К неферментативным антиоксидантам спермы относятся аскорбиновая кислота (витамин С), токоферол (витамин Е), глутатион, аминокислоты (таурин, гипотаурин), альбумин, карнитин, каротиноиды, флавоноиды, ураты, простагландины [91]. Эти вещества инактивируют свободные радикалы, вступая с ними непосредственно в реакцию нейтрализации. Антиоксиданты, входящие в состав семенной жидкости, играют важную роль в защите сперматозоидов от оксидативного влияния после эякуляции [127]. Антиокислительная емкость семенной плазмы в 10 раз больше, чем плазмы крови [125]. Но на протяжении сперматогенеза и в период нахождения сперматозоидов в придатках яичка они не контактируют с антиоксидантами семенной плазмы и функцию защиты сперматозоидов от свободных радикалов выполняют антиоксиданты яичка, придатка, а также их собственная антиокислительная способность [127]. Поэтому сперматозоиды достаточно уязвимы при прохождении через придатки яичек, особенно при наличии воспалительных заболеваний. В случае, когда образование свободных радикалов превышает содержание антиоксидантов, развивается оксидативный стресс, что приводит к повреждению сперматозоидов. Учитывая, что АФК производятся и сперматозоидами, и лейкоцитами, описано интересное наблюдение: отрицательное влияние на целостность

ДНК сперматозоидов оказывают как АФК, синтезированные сперматозоидами, так и лейкоцитами, но более выражено у АФК, продуцируемых сперматозоидами [127]. Предположительно, это объясняется тем, что, несмотря на то, что лейкоциты продуцируют большее количество АФК, чем сперматозоиды, непосредственная близость между сперматогенными свободными радикалами и ДНК сперматозоида обуславливает их большую роль в развитии нарушения фертильности [50].

1.4 Влияние коррекции ожирения на репродуктивную систему мужчин

Установлено положительное влияние коррекции ожирения в отношении улучшения работы мужской репродуктивной функции. Так, в исследовании Gutierrez L. et al. (2015) у 30 мужчин с ожирением было выявлено повышение маркеров оксидативного стресса (активные продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой; карбонильные производные; дитиозин) по сравнению с 30 здоровыми мужчинами. При назначении этим пациентам гипокалорийной диеты было отмечено значимое улучшение как антропометрических показателей, так и маркеров оксидативного стресса [73].

В работе Nakonsen et al. (2011), включившей 43 мужчин с ИМТ от 33 до 61 кг/м², было установлено, что снижение веса ассоциировано с увеличением общего количества сперматозоидов, объема спермы, тестостерона, ГСПГ и антимюллерова гормона. Группа с наибольшей потерей веса отличалась статистически значимым увеличением общего количества сперматозоидов и сперматозоидов с нормальной морфологией [75]. Исследование Mir et al. (2018) оценивало влияние снижения массы тела у мужчин с ожирением на параметры эякулята. Авторы предположили, что именно фрагментация ДНК и морфология сперматозоидов связаны с субфертильностью в популяции мужчин с ожирением. Было выявлено значимое снижение индекса фрагментации ДНК и улучшение морфологии сперматозоидов после снижения массы тела [121]. Схожие данные показаны и в серии клинических

случаев Faure et al. (2014), где уменьшение абдоминального жира улучшало целостность ДНК сперматозоидов и исходы беременности, а также снижалось количество поврежденных белков в результате оксидативного стресса и увеличивался уровень супероксиддисмутазы 2 [64]. Исследование Naitham El Bardisi et al. (2016) оценивало влияние бариатрической хирургии на 46 бесплодных мужчин с ожирением. Предоперационное исследование эякулята пациентов выявило азооспермию у 13 мужчин (28,3%), олигоспермию у 19 (41,3%) и нормальную концентрацию сперматозоидов у 14 (30,4%). Увеличение концентрации сперматозоидов было статистически значимым у мужчин с олигозооспермией [61]. Влияние бариатрической хирургии подробно рассматривается в метаанализе Wei et al. (2018), включавшего 6 крупных исследований [170]. Результаты показали, что у пациентов, которым было проведено шунтирование желудка, увеличивался объем спермы, однако концентрация и подвижность сперматозоидов значимо не менялись. В группе операций, уменьшающих объем желудочного содержимого (рукавная гастропластика, бандажирование желудка), отмечалось увеличение количества сперматозоидов с нормальной морфологией [170]. Однако в исследовании Carette et al. (2019), оценивающем 20 мужчин с шунтированием желудка и 26 мужчин после рукавной гастропластики, было выявлено снижение общего количество сперматозоидов через 6 месяцев с некоторым улучшением через 12 месяцев в группе шунтирования и значимым ухудшением в группе гастропластики. Тем не менее, авторы отмечают уменьшение фрагментации ДНК сперматозоидов в обеих группах после операции [49].

Отдельного внимания заслуживает влияние на качество эякулята препаратов, рекомендованных для снижения массы тела. В исследовании Bellentani et al. (2011) у крыс, которым давали сибутрамин в дозе 10 мг на килограмм веса в течение месяца, было выявлено снижение количества сперматозоидов и время прохождения в эпидидимисе, но суточная выработка сперматозоидов не была изменена, как и морфология, подвижность

сперматозоидов, гистопатология яичек и эпидидимиса, сексуальное поведение, фертильность и уровни сывороточных гормонов [37]. При аналогичном вмешательстве на крысах Borges et al. (2020) за 15 дней выявили снижение конечной массы тела и репродуктивных органов, уменьшение уровня тестостерона в сыворотке крови, а также концентрации и подвижности сперматозоидов [42]. Таким образом, согласно приведенным исследованиям, применение сибутрамина не исключает риски для сперматогенеза. В работе Suleiman et al. (2020) у крыс, которым давали орлистат в дозе 10 мг/кг в сутки в течение 12 недель, выявили снижение лептина и повышение адипонектина, улучшение параметров сперматогенеза и уменьшение фрагментации ДНК сперматозоидов [158]. В исследовании Alhashem et al. 40 крыс были разделены на группы с ВЖД, ВЖД с приемом орлистата, ВЖД с физической активностью и группу стандартной диеты [28]. Было отмечено снижение количества и подвижности сперматозоидов, увеличение сперматозоидов с нарушением морфологии, а также увеличение маркеров оксидативного стресса в группе только ВЖД, но в группе с физической активностью и с приемом орлистата было отмечено отсутствие негативного влияния рациона питания на показатели сперматогенеза [28]. Таким образом, это свидетельствует об отсутствии репродуктивных рисков при приеме орлистата.

Крупные работы, посвященные влиянию лираглутида на сперматогенез, отсутствуют, не считая клинического случая, в котором описывается ухудшение показателей эякулята, восстановившихся после отмены препарата [66]. При этом, у мужчин с ожирением и гипогонадизмом, у которых не было достигнуто снижение массы тела на фоне коррекции образа жизни, применение лираглутида может повышать уровень тестостерона при успешном снижении массы тела, значимо увеличивая уровни гонадотропинов [8, 87]. Потенциально такой эффект может оказать на сперматогенез положительное влияние, однако это требует уточнения в исследованиях.

1.5 Применения антиоксидантов при патозооспермии

Доказательная база в отношении сперматогенеза говорит о разнородности групп применяемых антиоксидантов [15, 107]. В последнее время появляется большое количество исследований, подтверждающих положительное влияние антиоксидантов на параметры спермы и вероятность наступления беременности от мужчин с патозооспермией [33]. В метаанализе Majzoub и Agarwal (2018), включающих 19 рандомизированных и 10 нерандомизированных исследований, в 26 исследованиях было выявлено положительное влияние антиоксидантов на основные параметры эякулята, исходы ВРТ и количество живорождений. Наиболее часто исследуемые соединения и их дозы были следующими: витамин Е (400 мг), витамин С (500–1000 мг), карнитины (500–1000 мг), N-АЦ (600 мг), кофермент Q10 (100–300 мг), цинк (25–400 мг), селен (200 мкг) и фолиевая кислота (0,5 мг) [108]. В метаанализе Imamovic Kumalic et al. (2014) оценивали 32 исследования [81]. Наиболее часто изучаемыми антиоксидантами были витамины Е и С, селен, N-АЦ, L-карнитин, цинк и кофермент Q10, и их благоприятный эффект был подтвержден. Благоприятные эффекты на идиопатическую олигоастенотератозооспермию были выявлены для кофермента Q10, витамина Е, селена, и в меньшей степени витамин С и N-АЦ. При олигозооспермии витамин Е и кофермент Q10 чаще всего оказывались эффективными. Благоприятное воздействие на астенозооспермию чаще оказывали витамин Е, кофермент Q10 и селен. При тератозооспермии чаще всего показывали эффективность лечение селеном и коферментом Q10. Кроме того, комбинация витамина С и Е показала наибольшее благоприятное влияние на фрагментацию ДНК; аналогичные эффекты определяли при совместном использовании цинка и селена [81]. В систематическом обзоре и метаанализе Salas-Huetos et al. (2018), в который были включены 28 статей, было установлено, что общая концентрация сперматозоидов увеличивалась при приеме селена, цинка, омега-3 жирных кислот и кофермента Q10 [148]. Количество сперматозоидов увеличивалось

на фоне приема омега-3 жирных кислот и кофермента Q10. Общая подвижность сперматозоидов увеличивалась при использовании селена, цинка, омега-3 жирных кислот, кофермента Q10 и карнитина, тогда как прогрессирующая подвижность сперматозоидов повышалась только после добавления карнитина. Наконец, морфология сперматозоидов улучшалась после приема селена, омега-3 жирных кислот, кофермента Q10 и карнитина [148].

Витамин E (α -токоферол) – антиоксидант, является органическим жирорастворимым соединением, расположенный в основном в клеточных мембранах. Он нейтрализует свободные гидроксильные радикалы и супероксидные анионы, тем самым уменьшая перекисное окисление липидов, инициированное АФК на уровне мембран [134]. Была обнаружена прямая зависимость между уровнем витамина E в семенной плазме и процентом подвижных сперматозоидов [93, 134]. Кроме того, более низкие уровни витамина E наблюдались в сперме бесплодных мужчин [131]. Дополнительным антиоксидантным эффектом витамина C и коэнзима Q10 является также влияние на рециркуляцию витамина E [134]. Применение витамина E с целью повышения фертильности исследовалось на животных: в исследовании Liu Q. et al. (2017) 40 кабанов разделялись на 4 группы с разным содержанием омега-3 и омега-6 полиненасыщенных жирных кислот и добавками витамина E (200 и 400 мг на кг веса). Питание диетой с 400 мг витамина E предотвращало перекисное окисление липидов сперматозоидов и приводило к повышению общей подвижности и прогрессирующей подвижности сперматозоидов [103]. В исследовании Sam et al. (2004) была продемонстрирована способность витамина E снижать концентрацию АФК у крыс с варикоцеле [47]. В исследовании Roushandeh et al. (2015) 48 крыс были разделены на 4 равные группы: контрольная, с высокожировым рационом питания, с низкожировой диетой, с низкожировой диетой и антиоксидантами (астаксантин + витамины E и C). Количество сперматозоидов у крыс с низкожировым рационом было ниже, чем в

остальных группах. Количество сперматогоний было наибольшим в группе низкожировой диеты с антиоксидантами, а подвижность сперматозоидов в этой группе была выше, чем у крыс только с низкожировой и с ВЖД [124]. В исследовании McPherson et al. (2019) на мышах, 10 недель находившихся на высокожировом рационе питания (n=24), после добавления микроэлементов (цинка, селена, ликопена, витаминов Е и С, фолиевой кислоты и экстракта зеленого чая) в течение 12 дней отмечалось снижение уровня АФК. Авторами делается предположение, что кратковременная добавка определенных микроэлементов может снизить оксидативный стресс, к которому наиболее чувствительны сперматозоиды в придатке яичка [119]. В более старой работе Suleiman et al. (1996) исследовали пероральное применение 300 мг витамина Е ежедневного у бесплодных мужчин, выявив значительное улучшение подвижности сперматозоидов, сопутствующее снижению показателей оксидативного стресса в группе лечения. Кроме того, они сообщили о 21% спонтанной беременности в группе лечения по сравнению с 0% в группе плацебо [157].

Витамин С (аскорбиновая кислота) – это природный водорастворимый антиоксидант, участвующий в ингибировании перекисного окисления липидов за счет восстановления окисленной формы витамина Е и поддержания необходимой концентрации этого антиоксиданта в мембранах, а также прямой инактивацией с водорастворимыми АФК [12]. В работе Namidian et al. (2020) 20 мужчинам из пар с привычным невынашиванием беременности давали по 250 мг витамина С в сутки в течение 3 месяцев, что улучшило морфологию сперматозоидов, уменьшился дефицит протамина и процент апоптоза [76]. В работе Mangoli et al. (2018) *in vitro* выявили, что витамин С может ослабить вредное влияние витрификации на параметры спермы, качество хроматина и скорость апоптоза [111].

Селен входит в активный центр ферментов системы антиоксидантно-антирадикальной защиты организма (в качестве кофермента глутатион-пероксидазы), метаболизма нуклеиновых кислот, липидов,

гормонов [12, 19, 37]. Селенопротеины помогают поддерживать нормальную целостность структуры сперматозоидов [24]. В исследовании Safarinejad et al. (2008), включившем 468 мужчин с идиопатической олигоастенотератоспермией, за 30-недельный период наблюдения было показано, что все параметры спермы значительно улучшились при применении селена и N-АЦ по отдельности, но более выражено при совместном использовании. В работе Moslemi et al. (2011), включившей 690 бесплодных мужчин, комбинация селена и витамина Е за не менее чем 100-дневный период наблюдения привела к улучшению подвижности сперматозоидов, морфологии или обоих параметров 52,6% исследуемых (362 случая), а также к 75 случаям спонтанной беременности [126].

Инозитол представляет собой многоатомный спирт, встречающийся в природе в виде девяти стереоизомеров, наиболее известным из которых является мио-инозитол, который играет значимую роль в морфогенезе и цитогенезе клеток, участвует в образовании клеточной мембраны, регуляции липидного обмена и в механизмах передачи сигнала в плазматической мембране [55]. Концентрация этого спирта значительно выше в семенных канальцах, чем в сыворотке крови [51]. В метаанализе Vazquez-Levin и Verón (2020) на фоне применения инозитола было отмечено увеличение подвижности сперматозоидов и частоты как естественных оплодотворений, так и при помощи ВРТ [165].

Кофермент Q10 является жирорастворимым эндогенным антиоксидантом и существенным компонентом энергетического метаболизма митохондрий [14, 155]. В восстановленной форме в виде убихинола ингибирует окисление белка и ДНК, а также перекисное окисление липидов [101]. Уровни кофермента Q10 в семенной жидкости значительно коррелируют с количеством сперматозоидов и подвижностью, за исключением мужчин с варикоцеле [110]. В метаанализе Vishvkarma et al. (2020), объединяющем три исследования, было показано, что кофермент Q10

оказывает выраженное влияние на подвижность сперматозоидов и слабое влияние на остальные параметры эякулята [167].

Фолиевая кислота – водорастворимая форма витамина В9, которая может выступать в качестве кофермента в важнейших биохимических процессах, связанных с синтезом РНК и ДНК и с репарацией ДНК, отвечает за перенос аминокислот цистеина и метионина, а также за ингибирование перекисного окисления липидов [116, 155]. Было выявлено, что дефицит фолиевой кислоты может ухудшать сперматогенез [176]. В работе *Boonyarangkul et al. (2015)* 68 бесплодных мужчин разделили на 4 группы: контрольную; группу, принимавшую только цитрат тамоксифена 20 мг/день; группу, принимавшую только фолиевую кислоту 5 мг/день и группу совместного приема [41]. За 3 месяца приема монотерапия фолиевой кислотой и ее комбинацией с тамоксифеном улучшила компактизацию ДНК, а также подвижность сперматозоидов, чего не было отмечено в группе только тамоксифена [41].

L-аргинин – аминокислота, необходимая для нормального сперматогенеза. Она непосредственно защищает от окислительного повреждения, являясь акцептором свободных радикалов [155]. Положительные эффекты L-аргинина на мужскую репродукцию могут быть опосредованы повышенным биосинтезом NO [45]. Была продемонстрирована способность L-аргинина улучшать подвижность сперматозоидов без каких-либо побочных эффектов [151].

L-карнитин и L-ацетилкарнитин – антиоксиданты и два важнейших изомера карнитина, природного вещества, родственного витаминам группы В, и являющегося кофактором метаболических процессов, обеспечивающих поддержание активности коэнзима А [155]. Ацетилированная форма карнитина, ацетилкарнитин, участвует в накоплении энергии [29]. В работе *Micic et al. (2019)* оценивалось влияние сочетания L-карнитина и L-ацетилкарнитина на выборке 175 мужчин от 19 до 44 лет с идиопатической олигоастенозооспермией и бесплодием. Объем спермы, прогрессирующая

подвижность и жизнеспособность значительно улучшились через 6 месяцев по сравнению с исходным уровнем. Индекс фрагментации ДНК спермы значительно снизился по сравнению с базовым [120].

N-ацетилцистеин – аминокислота, превращающаяся в тканях организма в L-цистеин, предшественник глутатиона [24]. Последний является важным природным антиоксидантом, способным нейтрализовать различные АФК, предотвращая их токсическое действие. Кроме того, N-АЦ также способен непосредственно восстанавливать различные формы кислорода посредством поглощения гипохлоридной кислоты и гидроксильных радикалов. Эти антиоксидантные свойства N-АЦ положительно влияют на выживание зародышевых клеток [24]. В исследовании Shittu et al. (2019) на крысах оценивали влияние N-АЦ по сравнению с группой контроля, группой с введением циклофосфида (препарат, негативно влияющий на сперматогенный эпителий) и совместным введением циклофосфида и N-АЦ. Количество сперматозоидов было значимо снижено в группе циклофосфида и комбинации препаратов, но возрастало в группе N-АЦ. Целостность хроматина, которая была плохой у крыс, обработанных циклофосфамидом, значительно улучшились в группе контроля и N-АЦ [153]. Сходное исследование провели Baetas et al. (2019) с этопозидом на людях. Было выявлено, что N-АЦ не влияет на целостность мембраны и подвижность сперматозоидов, но повышает уровень глутатиона в эякуляте. Тем не менее, эффект был положительным только в группе последующего назначения N-АЦ после обработки этопозидом, в то время как профилактическое назначение оказалось неэффективным [34]. В исследовании Jannatifar et al. (2016) участвовали 50 бесплодных мужчин с астенотератозооспермией, которые получали 600 мг/день N-АЦ перорально в течение 3 месяцев. После лечения количество сперматозоидов и подвижность значимо увеличились, тогда как аномальная морфология, фрагментация ДНК и дефицит протамина показали снижение по сравнению с уровнями до лечения. Общий антиоксидантный статус увеличился [84].

Если анализировать большинство работ, в основном исследователи предлагают комбинированную терапию антиоксидантами [43, 44, 57, 95, 159]. В исследовании Dattilo et al. (2014) 84 пациента получали смесь антиоксидантов (витамины группы В, N-АЦ, витамин Е, цинк) в течение 2–12 месяцев. В результате у 64,3% улучшилась конденсация хроматина, а у 71,4% уменьшилась фрагментация ДНК (у 47,6% улучшились оба показателя). 18 пар достигли спонтанной беременности (все закончились живорождениями), еще 22 пары забеременели при помощи ВРТ (15 живорождений) [57]. В исследовании Божедомова В. А. и соавт. (2018) 102 бесплодным мужчинам с идиопатической астено-, и/или тератозооспермией давался комплекс антиоксидантов (L-аргинин 720 мг, L-карнитин 240 мг, L-карнозин 92 мг, коэнзим Q10 10 мг, глицирризиновая кислота 6 мг, цинк 4,8 мг, витамин Е 3,2 мг, витамин А 0,36 мг, селен 0,034 мг, что составляет для данных веществ от 12 до 80% рекомендуемого уровня суточного потребления). Было отмечено увеличение доли подвижных сперматозоидов у большинства пациентов, а эффективность зависела от исходного уровня оксидативного стресса и была более выражена при умеренно повышенных уровнях АФК [2]. В рандомизированном двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании Busetto et al. (2018) оценивалось влияние 6-месячного добавления L-карнитина, ацетил-L-карнитина и других микроэлементов на качество сперматозоидов у 104 мужчин с олиго-, астено- и/или тератозооспермией с варикоцеле или без него. У 94 пациентов, завершивших исследование, концентрация сперматозоидов была значимо выше в группе добавления антиоксидантов по сравнению с плацебо. Также увеличилось общее количество сперматозоидов, прогрессивная и общая подвижность. Хотя количество беременностей не являлось конечной точкой исследования, из 12 беременностей 10 были в группе антиоксидантов [43]. В статье от 2020 года в качестве разбора того же исследования, было выявлено, что добавление вышеуказанных элементов оказалось наиболее эффективно для подгруппы моложе 35 лет с ИМТ < 25 кг/м² [44]. Lipovac et al. (2016) сравнивали влияние

на сперматогенез бесплодных мужчин монотерапии 1000 мг в сутки L-карнитина (n=156) с комбинацией L-карнитина (440 мг), L-аргинина (250 мг), цинка (40 мг), витамина E (120 мг), глутатиона (80 мг), селена (60 мкг), кофермента Q10 (15 мг) и 800 мкг фолиевой кислоты (n=143). Такие параметры спермы, как объем, плотность, общая прогрессивная подвижность и процент сперматозоидов с нормальной морфологией улучшились через 3 месяца в обеих группах по сравнению с исходным уровнем. Тем не менее было обнаружено, что относительное изменение концентрации и общей прогрессивной подвижности было выше при применении комбинации по сравнению с использованием только L-карнитина [100]. Польза применения комбинированных препаратов антиоксидантов также продемонстрирована в обзоре Saliga и Gluszek (2019), в котором были проанализированы 96 работ, опубликованные с 2008 по 2018 год, включая 12 рандомизированных контролируемых исследований и 23 систематических обзора и метаанализа. Увеличение случаев наступления беременности после антиоксидантной терапии варьировалось в различных исследованиях от 11% до 41%. По мнению авторов, важной проблемой может быть выбор правильной дозы или поиск подходящей комбинации антиоксидантов, которая может быть более эффективной, чем один антиоксидант [159]. В Кокрейновском обзоре 2019 года (Smits et al.) оценивали 61 рандомизированное исследование, сравнивающих комбинацию антиоксидантов с плацебо, отсутствием лечения или одним антиоксидантом с участием в общей сложности 6264 бесплодных мужчин от 18 до 65 лет. Основываясь на изученной популяции, на 100 бесплодных мужчин, не принимавших антиоксиданты, у 12 пар родился ребенок, в сравнении с 14 (один антиоксидант) и 26 (комбинация антиоксидантов) парами у мужчин, которые принимали антиоксиданты; частота наступления беременностей была 7% в группе мужчин без антиоксидантов и 12 и 26% в группе принимавших антиоксиданты в монотерапии и комбинации соответственно [155].

Таким образом, приведенные литературные сведения отечественных и

зарубежных исследователей по использованию препаратов, направленных на уменьшение оксидативного стресса в разных группах мужчин с бесплодием, свидетельствуют о значительном прогрессе в отношении изучения данной проблемы. Вместе с тем, данные по эффективности этой терапии при патозооспермии на фоне ожирения требуют уточнения. Кроме того, требует уточнения влияние препаратов, используемых для лечения ожирения как такового, на параметры сперматогенеза, что открывает для специалистов в изучении данной проблемы новые рубежи для научной деятельности.

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Дизайн исследования

Источником случаев для всех трех этапов исследования, как для пациентов с патозооспермией, так и нормозооспермией являлась рутинная клиническая практика врачей андрологов и специалистов сперматологических лабораторий, которым до начала исследований были предоставлены критерии включения и невключения с просьбой направлять соответствующих пациентов на дальнейшее обследование в ФГБУ “НМИЦ эндокринологии” Минздрава России. Поэтому указать общий объем скринированной популяции не представляется возможным. Учитывая, что пациентов направляли врачи из разных, не связанных между собой медицинских центров, из различных районов Москвы, Московской и Воронежской областей, предполагается, что выборка репрезентативна для общей популяции мужчин с оцениваемыми в исследовании параметрами. Однако, так как формирование выборки проводилось из мужчин, наблюдавшихся в крупных медицинских центрах, все же возможно искажение репрезентативности в отношении российской популяции по уровню образования, образу жизни и доходов пациентов.

Исследование предполагало 3 этапа:

Этап 1 – одномоментное сплошное сравнительное исследование мужчин с постпубертатным алиментарным висцеральным (окружность талии (ОТ) от 98 см) ожирением с патозооспермией и нормозооспермией с целью оценки роли АОА эякулята в снижении его качества и выявлении ассоциаций между снижением АОА эякулята и патогенетическими факторами, наблюдаемыми при ожирении. Исследование предусматривало сравнение как сопоставимых по возрасту групп пациентов с патозооспермией и нормозооспермией, так и межгрупповой анализ пациентов с патозооспермией с делением на 2 группы: мужчины со сниженной и нормальной АОА эякулята.

Объем выборок предварительно не рассчитывался, рандомизации не

проводилось, включались все пациенты соответствующие критериям включения и невключения. Данные собирались однократно.

Критерии включения для группы патозооспермии: патозооспермия (основной критерий включения), мужской пол, возраст от 18 до 30 лет, постпубертатное алиментарное висцеральное (окружность талии от 98 см) ожирение.

Критерии включения для группы нормозооспермии: нормозооспермия (основной критерий включения), мужской пол, возраст от 18 до 30 лет, постпубертатное алиментарное висцеральное (окружность талии от 98 см) ожирение.

Критерии невключения для группы патозооспермии: индекс массы тела $ИМТ > 35 \text{ кг/м}^2$, патологические изменения любого из яичек при осмотре, нарушения кариотипа, задержка полового развития, наличие в анамнезе крипторхизма, воспалительных заболеваний, опухолей, травм или хирургических вмешательств на половых органах и области головного мозга, включая гипофиз, вирусного паротита, бактериоспермия, лейкоспермия, урогенитальные инфекции, сахарный диабет, гипотиреоз, гиперкортицизм, курение, алкоголизм.

Критерии невключения для группы нормозооспермии: индекс массы тела $ИМТ > 35 \text{ кг/м}^2$, патологические изменения любого из яичек при осмотре, нарушения кариотипа, задержка полового развития, наличие в анамнезе крипторхизма, воспалительных заболеваний, опухолей, травм или хирургических вмешательств на половых органах и области головного мозга, включая гипофиз, вирусного паротита, урогенитальные инфекции, сахарный диабет, гипотиреоз, гиперкортицизм, курение, алкоголизм.

Критерии исключения: отказ от выполнения программы исследования (все проводимые исследования являлись рутинными, однако у пациентов было право отказаться от них полностью или частично, и такие пациенты в исследование не включались).

Этап 2 – ретроспективное исследование «случай-контроль» с целью оценки показателей качества эякулята, ассоциированных со снижением массы тела у пациентов с патозооспермией, постпубертатным висцеральным ожирением и неотягощенным андрологическим анамнезом.

Объем выборки предварительно не рассчитывался. Анализ в подгруппах проводился ретроспективно. Поскольку снижение массы тела являлось исходом медицинского вмешательства, подгруппы формировались по этому исходу: снизившие массу тела – 1-я группа, и не снизившие – 2-я группа. За снижение массы тела принималась величина, составляющая не менее 5% от исходной массы тела. Выбор данной величины был обусловлен тем, что по данным различных авторов, для того, чтобы обеспечить метаболические эффекты лечения ожирения, необходимо снизить массу тела не менее, чем на 5% (клинически значимое снижение массы тела) [11, 86, 92, 174]. Данные собирались двукратно.

Критерии включения: мужской пол, возраст от 18 до 30 лет, постпубертатное алиментарное висцеральное (ОТ от 98 см) ожирение, патозооспермия (астено-, тератозооспермия и любые их комбинации, а также нормозооспермия при выявлении недостаточно конденсированного хроматина), сниженная АОА эякулята. Критерий снижения АОА эякулята величина менее 1,5 мМ-экв [9, 10, 14].

Критерии невключения: ИМТ > 35 кг/м², патологические изменения любого из яичек при осмотре, нарушения кариотипа, задержка полового развития, наличие в анамнезе крипторхизма, воспалительных заболеваний, опухолей, травм или хирургических вмешательств на половых органах и области головного мозга, включая гипофиз, вирусного паротита, олигозооспермия, криптозооспермия, азооспермия, бактериоспермия, лейкоспермия, урогенитальные инфекции, варикоцеле, носительство антиспермальных антител, сахарный диабет, гипогонадизм (уровень тестостерона < 12 нмоль/л), гипотиреоз, гиперкортицизм, курение,

алкоголизм.

Этап 3 – проспективное сравнительное исследование с целью оценки влияния терапии постпубертатного висцерального ожирения у мужчин с патозооспермией и неотягощенным андрологическим анамнезом на показатели АОА и качества эякулята инъекционным препаратом лираглутид, по сравнению с конкурентным вмешательством – пероральным применением комплекса антиоксидантов.

Нулевая гипотеза – различия между группами двух разных вмешательств в отношении величины изменения АОА эякулята отсутствуют.

Альтернативная гипотеза – группы различаются по величине изменения АОА эякулята.

Для расчета объема выборки применялся двусторонний тест. Объем выборки рассчитывался следующим образом:

- Основная переменная исхода – АОА эякулята
- Размер клинически значимого эффекта = 1 мМ-экв (данная величина как клинически значимая представлена в ранее проведенных работах, в которых авторы, как и мы, использовали указанный в разделе «Методы исследований» метод оценки АОА эякулята [6, 54].

- Стандартное отклонение = 0,72 (величина получена при обработке данных первого этапа исследования; в ранее выполненных другими авторами работах, но с применением той же аналитической методики стандартное отклонение в выборке составило 0,42, что сопоставимо с нашими данными [6, 54].

- Уровень значимости = 5%
- Мощность = 90%
- Тест = двухсторонний

Формула для расчета размера выборки: $n = [A+B]^2 \times 2 \times SD^2 / DIFF^2$, где n – размер выборки для каждой группы, SD – стандартное отклонение, $DIFF$ – клинически значимый эффект, A – при уровне значимости 5% – 1,96, B – для мощности 90% – 1,28.

$$n = [1.96+1,28]^2 \times 2 \times 0,72^2 / 1^2 = 10,88$$

Таким образом, количество наблюдений, необходимое для включения в каждую из групп, составило не менее 11 человек.

Распределение по группам проводилось методом подбора пар, с использованием двух критериев – ОТ с допуском ± 2 см и АОА эякулята с допуском $\pm 0,2$ мМ-экв. Данные критерии выбраны потому, что влияние оказывалось на патогенетический фактор – висцеральное ожирение, основным маркером выраженности которого является величина ОТ. Разброс значений ± 2 см выбран потому, что такие отклонения в ОТ не могли оказать существенного влияния на сопоставимость групп и патогенез осложнений у пациентов [11]. АОА эякулята также являлась основным исследуемым фактором, влияющим на качество сперматогенеза, а допуск $\pm 0,2$ мМ-экв не является клинически значимым для этого влияния [6, 8, 9, 54].

Основной исход являлся суррогатным. Маскирование не применялось. Данные собирались двукратно. Оба изучаемых в исследовании метода являются разрешенными к использованию в рутинной клинической практике, препараты и методики «off-label» не применялись. Способ назначения вмешательства случайный. Выбор компаратора был основан на литературных данных, согласно которым данный комплекс показал хорошую эффективность при оксидативном эякуляторном стрессе [2, 21, 68, 97]. Финансовая поддержка исследования производителями препаратов не осуществлялась. Проспективно протокол исследования был рассмотрен ЛЭК ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава РФ – протокол №17 от 23.10.2019 г.

Критерии включения: мужской пол, возраст от 18 до 30 лет, постпубертатное алиментарное висцеральное (ОТ от 98 см) ожирение, патозооспермия (астено-, тератозооспермия и любые их комбинации, а также нормозооспермия при выявлении недостаточно конденсированного хроматина), сниженная АОА эякулята.

Критерии не включения: ИМТ > 35 кг/м², патологические изменения любого из яичек при осмотре, нарушения кариотипа, задержка полового развития, наличие в анамнезе крипторхизма, воспалительных заболеваний, опухолей, травм или хирургических вмешательств на половых органах и области головного мозга, включая гипофиз, вирусного паротита, олигозооспермия, криптозооспермия, азооспермия, бактериоспермия, лейкоспермия, урогенитальные инфекции, варикоцеле, носительство антиспермальных антител, сахарный диабет, гипогонадизм (уровень тестостерона < 12 нмоль/л), гипотиреоз, гиперкортицизм, перенесенная инфекция COVID-19, курение, алкоголизм, противопоказания к использованию препарата лираглутид или комплекса антиоксидантов в соответствии с официальными инструкциями [79, 80].

План обследования включал общеклинические и андрологические методы обследования, включая методы оценки качества эякулята проводимые исходно и в динамике.

2.2 Характеристики выборок больных

Было обследовано 190 мужчин, как самостоятельно обратившихся, так и направленных другими учреждениями в ФГБУ “НМИЦ эндокринологии” Минздрава РФ в период с 2019 по 2022 год по поводу патозооспермии, и прошедших клиническое обследование в отделении андрологии и урологии (зав. отд., проф., д. м. н. Курбатов Д. Г., далее к. м. н. Волков С. Н.); отделении стационарозамещающих технологий (зав. отд., к. м. н. Ульянова И. Н.); отделении вспомогательных репродуктивных технологий (зав. отд., д. м. н. Витязева И.И.) ФГБУ “НМИЦ эндокринологии” Минздрава РФ.

Все пациенты добровольно подписали информированное согласие на участие в исследовании. ЛЭК ФГБУ “НМИЦ эндокринологии” Минздрава РФ постановил, что рассматриваемая работа соответствует требованиям этических стандартов добросовестной клинической практики, протокол №17 от 23.10.2019 г. Конфликт интересов отсутствует.

Клинические характеристики выборок пациентов, включенных в 1-й этап исследования представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1. Характеристика выборки пациентов с патозооспермией, включенных в 1-й этап исследования (n = 100)

Показатель	Значение
Возраст, лет	29 [27;30]
ИМТ, кг/м²	27,9 [26,9;29,9]
Рост, см	176 [171;180]
Масса, кг	86 [82;93]
ОТ, см	100 [99;107]
ЛГ, Ед/л	4,1 [3,3;4,7]
ФСГ, Ед/л	3,5 [2,9;5]
Тестостерон, нмоль/л	13,1 [10,7;16,2]
ХС, ммоль/л	5,6 [5,1;6,0]
ЛПНП, ммоль/л	3,4 [3,1;4,2]
ЛПВП, ммоль/л	1,0 [0,9;1,2]
ТГ, ммоль/л	1,8 [1,5;2,1]
НОМА	2,6 [2,3;3,5]
Кол-во в 1 мл, млн	42 [21;83]
Живые сперм-ды, %	91 [86;95]
(a + b), %	49 [30; 67]
Нормальные формы, %	5 [3;5]
АОА эякулята, мМ-экв	1,2 [0,9;2,0]
Недостаточно конденсированный хроматин, %	29 [23;40]

Примечание: Ме[25%;75%]

Таблица 2. Характеристика выборки пациентов с нормозооспермией, включенных в 1-й этап исследования (n=30)

Показатель	Значение
Возраст, лет	28 [27;29]
ИМТ, кг/м²	27,1 [26,2;28,1]
Рост, см	175 [172;179]
Масса, кг	82 [79;87]
ОТ, см	99 [98;101]
Кол-во в 1 мл, млн	87 [48;113]
Живые сперм-ды, %	93 [91;95]
(a + b), %	67 [55;77]
Нормальные формы, %	9 [7;13]
АОА эякулята, мМ-экв	2,4 [2,1;2,8]
Недостаточно конденсированный хроматин, %	17 [12;23]

Примечание: Ме[25%;75%]

Клиническая характеристика выборки пациентов, включенных во 2-й этап исследования, представлена в таблице 3.

Таблица 3. Характеристика выборки пациентов с патозооспермией, включенных во 2-й этап исследования (n=33)

Показатель	Значение
Возраст, лет	29 [27;30]
ИМТ, кг/м²	28,7 [27,8;30,3]
Рост, см	178 [172;180]
Масса, кг	88 [85;94]
ОТ, см	101 [100;107]
ЛГ, Ед/л	4,0 [3,3;4,7]
ФСГ, Ед/л	4,0 [3,0;6,0]
Тестостерон, нмоль/л	14,2 [13,1;17,0]
ХС, ммоль/л	5,6 [5,4;6,4]
ЛПНП, ммоль/л	3,9 [3,4;4,6]
ЛПВП, ммоль/л	1,0 [0,9;1,1]
ТГ, ммоль/л	2,0 [1,8;2,3]
Кол-во в 1 мл, млн	27 [19;45]
Живые сперм-ды, %	90 [84;92]
(a + b), %	48 [25;62]
Нормальные формы, %	4 [2;8]
АОА эякулята, мМ-экв	0,9 [0,9;1,1]
Недостаточно конденсированный хроматин, %	44 [37;56]

Примечание: Ме[25%;75%]

Клиническая характеристика выборки пациентов, включенных в 3-й этап исследования, представлена в таблицах 4 и 5.

**Таблица 4. Характеристика выборки пациентов, получавших
лираглутид (n=30)**

Показатель	Значение
Возраст, лет	28 [27;29]
Рост, см	174 [170;178]
ИМТ, кг/м²	31,8 [30,1;33,4]
Вес, кг	97 [92;100]
ОТ, см	106 [101;116]
ЛГ, ЕД/л	3,7 [2,9;4,4]
ФСГ, ЕД/л	4,1 [3,6;4,5]
Тестостерон, нмоль/л	16,0 [14,0;17,8]
ХС, ммоль/л	5,7 [4,6;6,7]
ЛПНП, ммоль/л	4,0 [3,1;4,7]
ЛПВП, ммоль/л	1,4 [1,1;1,6]
ТГ, ммоль/л	2,2 [1,3;2,6]
Кол-во, млн в мл	55 [43;65]
Живые, %	92 [90;95]
Подвижность (a+b), %	25 [15;36]
Норм. формы, %	5 [3;6]
Недостаточно конденсированный хроматин, %	44 [36;48]
АОА, мМ-экв	1,2 [0,9;1,4]
Продукция АФК в нативном эякуляте, СРМ x 10⁵ на 10 млн клеток	6,7 [4,6;9,0]
Продукция АФК отмытыми сперматозоидами, СРМ x 10⁷ на 10 млн клеток	1,8 [1,3;4,8]

Примечание: Ме[25%;75%]

Таблица 5. Характеристика выборки пациентов, получавших комплекс антиоксидантов (n=30)

Показатель	Комплекс антиоксидантов (n=30)
Возраст, лет	28 [27;29]
Рост, см	177 [173;181]
ИМТ, кг/м²	31,8 [29,6;32,9]
Вес, кг	96 [90;104]
ОТ, см	106 [101;116]
ЛГ, ЕД/л	3,5 [3,0;3,9]
ФСГ, ЕД/л	4,2 [4,0;4,8]
Тестостерон, нмоль/л	16,0 [14,8;17,5]
ХС, ммоль/л	6,2 [5,6;6,9]
ЛПНП, ммоль/л	3,9 [3,1;4,5]
ЛПВП, ммоль/л	1,1 [1,0;1,7]
ТГ, ммоль/л	1,8 [1,2;2,9]
Кол-во, млн в мл	50 [33;86]
Живые, %	92 [90;95]
Подвижность (a+b), %	24 [17;28]
Норм. формы, %	4 [3;8]
Недостаточно конденсированный хроматин, %	38 [33;47]
АОА, мМ-экв	1,2 [0,9;1,4]
Продукция АФК в нативном эякуляте, СРМ x 10⁵ на 10 млн клеток	5,7 [4,6;8,4]
Продукция АФК отмытыми сперматозоидами, СРМ x 10⁷ на 10 млн клеток	2,1 [1,4;6,4]

Примечание: Ме[25%;75%]

2.3 Методы исследования

Все включенные в исследование пациенты были обследованы по стандартной единой схеме, включающей сбор жалоб, данных анамнеза, анализ медицинской документации, клиническое обследование.

Регистрировались следующие результаты обследования: рост, вес, ИМТ, ОТ, показатели уровней тестостерона и гонадотропинов (на 1-м и 3-м этапе исследования), показателей липидного спектра крови, инсулинорезистентности, спермограммы, АОА эякулята, АФК в нативном эякуляте и продуцируемых отмытыми сперматозоидами (на 3-м этапе).

Физикальное обследование включало общий осмотр с определением характеристик оволосения, в том числе и лобкового, типа телосложения, состояния грудных желез, а также оценку состояния и степени развития наружных половых органов.

Уровни ЛГ (референсный интервал 2,5–11,0 ЕД/л), ФСГ (референсный интервал 1,6–9,7 ЕД/л) и тестостерона (референсный интервал > 12,0 нмоль/л) определялись на автоматическом анализаторе Vitros 3600 (Johnson and Johnson, США) методом усиленной хемилюминесценции.

Концентрацию биохимических показателей сыворотки крови – холестерина (ХС), холестерина липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), холестерина липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), триглицеридов (ТГ), глюкозы определяли на биохимическом анализаторе Hitachi (Biohringer Mannheim, Япония). Уровни инсулина определяли на автоматическом хемилюминесцентном анализаторе Autodelfia (Wallac, Финляндия). На основании уровней глюкозы и инсулина рассчитывался индекс НОМА. Оценка спермограмм осуществлялась в соответствии с рекомендациями ВОЗ 2010 года путем световой микроскопии с помощью микроскопа Olimpus 41 СХ (Япония) и камеры Маклера того же производителя [172]. Учитывая, что на параметры спермограммы может влиять множество различных факторов, ее анализировали двукратно (ориентировались на лучший результат). Кроме того, с целью оценки содержания морфологически нормальных форм

сперматозоидов, сперматозоидов с недостаточно конденсированным хроматином проводилось исследование эякулята по точным критериям Крюгера с оценкой конденсации хроматина. Эякулят после разжижения фиксировали 2,5% раствором глутарового альдегида на 0,1М какодилатном буфере (рН 7,2–7,4) и 1% р-ром осмиевой кислоты и заливали в эпоксидную смолу. Ультратонкие срезы получали на ультрамикротоме Reichert III и просматривали в электронном микроскопе Hitachi 700. АОА эякулята (референсный интервал 1,5–3,2 мМ-экв) определялась с использованием многофункционального потенциометрического анализатора МПА-1 (НПВП «Ива», г. Екатеринбург) и медиаторной системы, содержащей $K_3[Fe(CN)_6]$ / $K_4[Fe(CN)_6]$ в соотношении 0,01М/0,0001М. Аликвота эякулята 0,2 мл, буферный раствор с медиаторной системой – 1 мл [5, 6, 8, 9, 13, 20, 54].

Продукция АФК (референсный интервал для нативного эякулята – менее 3 СРМ $\times 10^5$ на 10 млн клеток, для отмытых сперматозоидов – менее 2 СРМ $\times 10^7$ на 10 млн клеток) определялась методом люминолзависимой хемилюминисценции: при концентрации сперматозоидов не менее 10×10^6 на 1 мл, после отмывания в среде Кребса-Рингера, пипеткой бралось 400 мкл и добавлялось 4 мкл раствора люминола 25 ммоль/л и 8 мкл раствора пероксидазы хрена 1550 МЕ/мл. После этого оценивали хемилюминесцентные сигналы в люминометре при температуре 37°C в течение 5 мин до стабилизации [172].

2.4 Описание медицинского вмешательства

На всех этапах исследования осуществлялся забор крови в пробирки типа «вакутейнер» в утреннее время натощак из локтевой вены, а также эякулята в стерильные контейнеры путем мастурбации (половое воздержание 3–5 суток).

На 2-м этапе исследования всем мужчинам были даны рекомендации по снижению массы тела, включающие гипокалорийное питание, ежедневные аэробные физические нагрузки. Расчет калорийности суточного рациона в

ккал проводился по формуле, рекомендованной ВОЗ с учетом возраста, веса, уровня физической активности мужчин 18–30 лет: $(0,0630 \times \text{вес в кг} + 2,8957) \times 240$. Поскольку у всех исследуемых уровень физической активности был низкий, использовался коэффициент 1. Для снижения массы тела полученную величину уменьшали на 20%. Минимальная суточная калорийность рациона питания составила 1800 ккал. В случае исходного потребления больными 3000 ккал и более в сутки постепенно уменьшали калорийность суточного рациона на 300–500 ккал в неделю до достижения рассчитанной индивидуальной нормы калорий. Всем пациентам рекомендовали дробный прием пищи (не менее 4 раз в день), так чтобы ее основной объем приходился на первую половину дня, ужин калорийностью не более 15–20% от суточной и не позднее, чем за 4 часа до сна. Баланс макронутриентов распределяли следующим образом: потребление жиров сокращалось до 25–30% от нормы суточной калорийности, белков – 15–20%, углеводов – 55–60%. Пациентам с дислипидемией рекомендовали соблюдение гиполипидемической диеты. Для повышения уровня физической активности всем пациентам рекомендовалась ежедневная ходьба по 10 000 шагов и умеренные силовые нагрузки по 30–45 минут в день не менее 3 раз в неделю. Длительность вмешательства по снижению массы тела составила 6 месяцев.

На 3-м этапе исследования проводилось вмешательство идентичное 2-му этапу, но с фармакологическим дополнением: одна из групп получала терапию препаратом лираглутид в индивидуально подобранной дозе (доза лираглутида стартовала с 0,6 мг и наращивалась до выраженного снижения аппетита), которая в среднем составила 2,4 [2,4;3,0] мг подкожно, ежедневно, один раз в сутки, а другая группа комплекс антиоксидантов (токоферол 30 мг, фолиевая кислота 200 мкг, L-карнитин 200 мг, инозит 700 мг, аргинин 30 мг, ацетилцистеин 200 мг, цинк 20 мг, селен 55 мкг) ежедневно, перорально, однократно. Длительность вмешательства составила 6 месяцев.

2.5 Статистические методы анализа данных

Статистическая обработка полученных данных была проведена с использованием пакета прикладных программ STATISTICA (Stat Soft Inc., США, версия 8.0) [16]. Поскольку объемы выборок были небольшими, а распределения признаков не являлись нормальными, сравнение по количественным признакам осуществлялось непараметрическим методом с использованием U-критерия Манна-Уитни для 2-х независимых групп, а также теста Вилкоксона – для 2-х зависимых групп. Базовый пороговый уровень значимости $p < 0,05$. При множественных сравнениях проводился расчет уровня значимости p с применением поправки Бонферрони. Результаты исследований представлены в виде медиан параметров, интерквартильного отрезка для количественных признаков (возраст, ИМТ, ОТ, уровни тестостерона, ЛГ, ФСГ, количество сперматозоидов в мл эякулята, процентное содержание подвижных сперматозоидов $a+b$, процентное содержание морфологически нормальных форм сперматозоидов, сперматозоидов с недостаточно конденсированным хроматином, показатели липидного спектра крови, инсулинорезистентности, АОА эякулята, содержание свободных форм кислорода в нативном эякуляте и продуцируемых отмытыми сперматозоидами), а также величин изменения исследуемых параметров, абсолютных чисел и процентов.

ГЛАВА III. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 АОА эякулята при нормозооспермии, патозооспермии и ее ассоциации с патологическими факторами ожирения

При сравнении пациентов с нормозооспермией и патозооспермией были выявлены статистически значимые различия в величине ИМТ, массе тела, ОТ и АОА эякулята (таблица 6).

Таблица 6. Сравнение групп пациентов с патозооспермией и нормозооспермией

Показатель	Нормозооспермия (n=30)	Патозооспермия (n=100)	p
Возраст, лет	28 [27;29]	29 [27;30]	0,543
ИМТ, кг/м ²	27,1 [26,2;28,1]	27,9 [26,9;29,9]	0,002
Рост, см	175 [172;179]	176 [171;180]	0,764
Масса, кг	82 [79;87]	86 [82;93]	0,008
ОТ, см	99 [98;101]	100 [99;107]	0,009
АОА эякулята, мМ-экв	2,4 [2,1;2,8]	1,2 [0,9;2,0]	<0,001

Примечание: Me[25%;75%], U-критерий Манна-Уитни. Так как проведены множественные сравнения, применена поправка Бонферрони, уровень статистической значимости $p < 0,01$.

Структура патозооспермии, выявленной у обследованных пациентов, представлена на рисунке 1.



Рисунок 1. Структура патозооспермии (n=100)

Наиболее частыми проявлениями патозооспермии у пациентов были снижение подвижности сперматозоидов и уменьшение числа их морфологически нормальных форм, а также нарушения конденсации хроматина.

В качестве единственного патогенетического фактора патозооспермии снижение АОА выступало в 37% случаев, еще в 16% случаев оно сочеталось с гипогонадизмом, и еще в 4% – с гипогонадизмом и варикоцеле. Таким образом, частота снижения АОА эякулята составила 57% (95%ДИ 47,3–66,7). Гипогонадизм как единственный патогенетический фактор патозооспермии был отмечен у 16% мужчин, у 10% мужчин таким фактором являлось варикоцеле, у 6% – носительство антиспермальных антител, у 11% – патогенетических факторов патозооспермии выявить не удалось, рисунок 2.

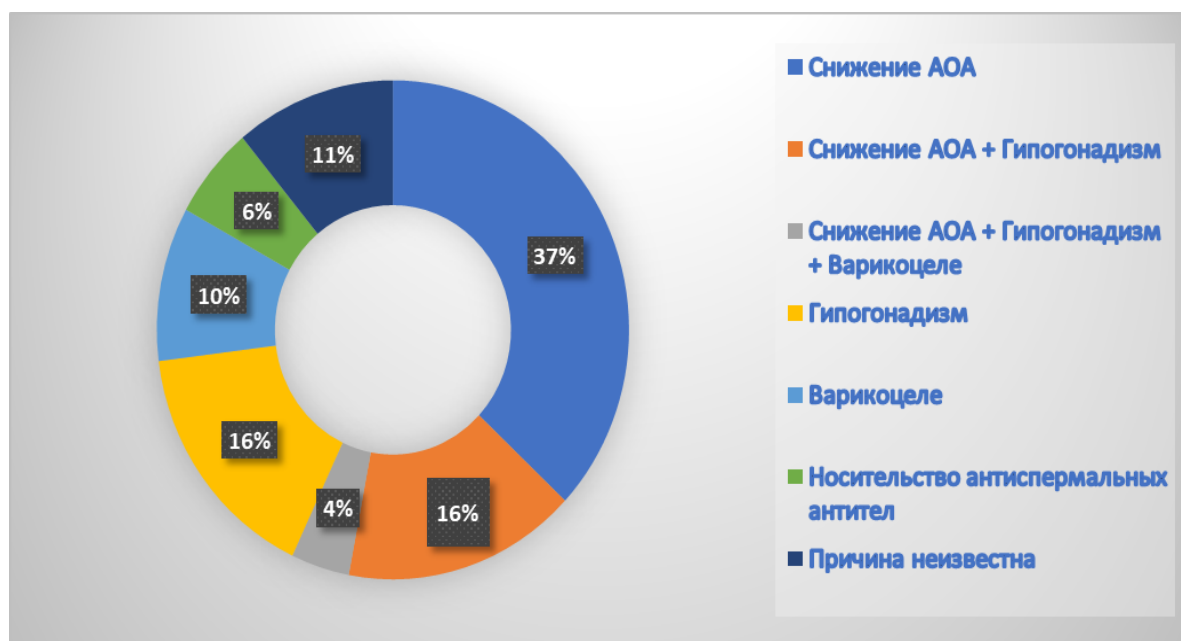


Рисунок 2. Патогенетические факторы патозооспермии (n=100)

При сравнении групп пациентов с патозооспермией со сниженной и нормальной АОА эякулята были выявлены статистически значимые различия в величине ИМТ, массе тела, ОТ, показателях липидного спектра крови и количественных показателях качества эякулята, кроме морфологически нормальных форм (таблица 7).

Таблица 7. Сравнение групп пациентов с патозооспермией и нормальной или сниженной АОА эякулята

Показатель	АОА норма (n=43)	АОА снижена (n=57)	p
Возраст, лет	28 [27;29]	29 [27;30]	0,016
ИМТ, кг/м²	26,9 [26,2;27,7]	29,3 [27,8;30,9]	<0,001
Рост, см	176 [169;180]	177 [172;180]	0,787
Масса, кг	83 [78;88]	89 [84;95]	<0,001
ОТ, см	99 [98;100]	103 [100;110]	<0,001
ЛГ, ЕД/л	4,2 [3,5;4,6]	4,0 [3,3;4,7]	0,618
ФСГ, ЕД/л	3,5 [2,8;4,9]	3,5 [2,9;5,1]	0,574
Тестостерон, нмоль/л	13,1 [11,0;15,7]	13,0 [10,7;16,2]	0,868
ХС, ммоль/л	5,2 [4,7;5,6]	5,7 [5,5;6,4]	<0,001
ЛПНП, ммоль/л	3,2 [3,0;3,4]	3,9 [3,4;4,7]	<0,001
ЛПВП, ммоль/л	1,2 [1,0;1,3]	1,0 [0,8;1,1]	<0,001
ТГ, ммоль/л	1,6 [1,3;1,8]	2,0 [1,8;2,4]	<0,001
НОМА	2,4 [2,2;3,0]	2,8 [2,3;3,9]	0,063
Кол-во в 1 мл, млн	68 [39;96]	32 [18;52]	<0,001
Живые сперм-ды, %	94 [90;95]	90 [83;92]	<0,001
(a + b), %	64 [31;76]	46 [25;54]	0,001
Нормальные формы, %	5 [3;10]	4 [2;8]	0,417
АОА эякулята, мМ-экв	2,1 [1,9;2,3]	0,9 [0,8;1,1]	<0,001
Недостаточно конденсированный хроматин, %	26 [21;31]	38 [26;48]	<0,001

Примечание: Me[25%;75%], U-критерий Манна-Уитни. Так как проведены множественные сравнения, применена поправка Бонферрони, уровень статистической значимости $p < 0,002$.

Пациенты с гипогонадизмом, варикоцеле, носительством антиспермальных антител и олигозооспермией в дальнейшее исследование не включались. Им была оказана помощь в соответствии действующими клиническими рекомендациями и Приказом Минздрава России №107н от 12 февраля 2013 года "О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению".

3.2 Показатели качества эякулята, ассоциированные со снижением массы тела

Из ранее обследованной группы пациентов снижение АОА эякулята как единственный патогенетический фактор патозооспермии было выявлено у 37 мужчин, однако 4 из них не смогли принять участие в дальнейшем исследовании из-за смены места жительства. Таким образом, в исследование было включено 33 пациента. Через 6 месяцев, после завершения программы снижения массы тела, пациенты были разделены на 2 группы: 1-я – 16 мужчин со снижением массы тела на 5% и более (12 [11;14]%) и 2-я – 17 мужчин со снижением массы тела менее чем на 5% (2 [1;4]%). Не было выявлено статистически значимых различий между группами по исходным показателям (таблица 8).

Таблица 8. Исходные показатели перед вмешательством

Показатель	Группа 1 (n=16)	Группа 2 (n=17)	p
Возраст, лет	29 [26;30]	29 [28;29]	0,682
Рост, см	178 [176;180]	175 [169;181]	0,260
ИМТ, кг/м ²	29,0 [28,1;30,4]	28,7 [26,8;30,3]	0,363
Масса, кг	93 [88;96]	85 [82;89]	0,010
ОТ, см	102 [100;109]	100 [99;107]	0,204
ЛГ, ЕД/л	4,0 [3,4;4,7]	4,0 [3,3;4,5]	0,901
ФСГ, ЕД/л	3,5 [2,8;5,0]	5,4 [3,0;6,5]	0,080
Тестостерон, нмоль/л	13,9 [13,0;16,2]	16,2 [13,1;17,5]	0,510
ХС, ммоль/л	5,6 [5,4;5,7]	6,0 [5,4;6,5]	0,465
ЛПНП, ммоль/л	3,8 [3,5;4,4]	4,0 [3,2;4,9]	0,901
ЛПВП, ммоль/л	0,9 [0,9;1,0]	1,0 [1,0;1,2]	0,109
ТГ, ммоль/л	2,0 [1,7;2,4]	2,0 [1,8;2,3]	0,986
Кол-во в 1 мл, млн	35 [24;57]	22 [17;37]	0,094
Живые сперм-ды, %	90 [86;92]	86 [82;90]	0,191
(a + b), %	53 [34;69]	32 [20;61]	0,217
Нормальные формы, %	5 [3;8]	3 [2;8]	0,167
АОА эякулята, мМ-экв	0,9 [0,7;1,0]	1,0 [0,9;1,2]	0,063
Недостаточно конденсированный хроматин, %	46 [43;65]	38 [36;46]	0,058

Примечание: Me[25%;75%], *U-критерий Манна-Уитни. Так как проведены множественные сравнения, применена поправка Бонферрони, уровень статистической значимости $p < 0,003$.

У пациентов первой группы была выявлена статистически значимая динамика ИМТ, массы тела, ОТ, ХС, ЛПНП, концентрации сперматозоидов, содержания живых сперматозоидов, их морфологически нормальных форм, АОА эякулята и конденсации хроматина, в то время как во второй группе были отмечены лишь изменения ИМТ, массы тела и ОТ (таблицы 9 и 10).

Таблица 9. Результаты динамического обследования мужчин в группе клинически значимого снижения массы тела

Показатель	Исходно (n=16)	6 мес. (n=16)	p
ИМТ, кг/м²	29,0 [28,1;30,4]	25,1 [24,8;26,6]	<0,001
Масса, кг	93 [88;96]	81 [78;84]	<0,001
ОТ, см	102 [100;109]	97 [94;102]	<0,001
ХС, ммоль/л	5,6 [5,4;5,7]	4,9 [4,7;5,2]	<0,001
ЛПНП, ммоль/л	3,8 [3,5;4,4]	3,5 [3,4;4,0]	0,001
ЛПВП, ммоль/л	0,9 [0,9;1,0]	0,9 [0,9;1,1]	1,0
ТГ, ммоль/л	2,0 [1,7;2,4]	1,7 [1,5;2,1]	0,006
Кол-во в 1 мл, млн	35 [24;57]	42 [29;66]	0,001
Живые сперм-ды, %	90 [86;92]	93 [90;97]	0,002
(a + b), %	53 [34;69]	57 [38;71]	0,006
Нормальные формы, %	5 [3;8]	7 [4;9]	0,001
АОА эякулята, мМ-экв	0,9 [0,7;1,0]	2,1 [2;2,2]	<0,001
Недостаточно конденсированный хроматин, %	46 [43;65]	27 [23;29]	<0,001

Примечание: Me[25%;75%], *тест Вилкоксона. Так как проведены множественные сравнения, применена поправка Бонферрони, уровень статистической значимости $p < 0,004$.

Таблица 10. Результаты динамического обследования мужчин в группе отсутствия клинически значимого снижения массы тела

Показатель	Исходно (n=17)	6 мес. (n=17)	p
ИМТ, кг/м²	28,7 [26,8;30,3]	28,1 [26,7;29,3]	0,002
Масса, кг	85 [82;89]	85 [80;89]	0,002
ОТ, см	100 [99;107]	98 [97;104]	<0,001
ХС, ммоль/л	6,0 [5,4;6,5]	5,6 [5,1;6,2]	0,004
ЛПНП, ммоль/л	4,0 [3,2;4,9]	3,9 [3,2;4,3]	0,041
ЛПВП, ммоль/л	1,0 [1,0;1,2]	1,2 [1,0;1,2]	0,551
ТГ, ммоль/л	2,0 [1,8;2,3]	2,0 [1,7;2,2]	0,706
Кол-во в 1 мл, млн	22 [17;37]	22 [16;29]	0,030
Живые сперм-ды, %	86 [82;90]	82 [80;93]	0,074
(a + b), %	32 [20;61]	30 [18;44]	0,115
Нормальные формы, %	3 [2;8]	4 [1;5]	0,071
АОА эякулята, мМ-экв	1,0 [0,9;1,2]	1,0 [0,8;1,1]	0,140
Недостаточно конденсированный хроматин, %	38 [36;46]	38 [35;49]	0,164

Примечание: Me[25%;75%], *тест Вилкоксона. Так как проведены множественные сравнения, применена поправка Бонферрони, уровень статистической значимости $p < 0,004$.

По окончании вмешательства, были выявлены статистические различия в достигнутых показателях ИМТ, ХС, концентрации сперматозоидов, АОА эякулята и конденсации хроматина, которые оказались лучше в первой группе (таблица 11).

Таблица 11. Сравнение достигнутых показателей через 6 месяцев

Показатель	Группа 1 (n=16)	Группа 2 (n=17)	p
ИМТ, кг/м ²	25,1 [24,8;26,6]	28,1 [26,7;29,3]	0,002
Масса, кг	81 [78;84]	85 [80;89]	0,101
ОТ, см	97 [94;102]	98 [97;104]	0,136
ХС, ммоль/л	4,9 [4,7;5,2]	5,6 [5,1;6,2]	0,001
ЛПНП, ммоль/л	3,5 [3,4;4,0]	3,9 [3,2;4,3]	0,762
ЛПВП, ммоль/л	0,9 [0,9;1,1]	1,2 [1,0;1,2]	0,058
ТГ, ммоль/л	1,7 [1,5;2,1]	2,0 [1,7;2,2]	0,260
Кол-во в 1 мл, млн	42 [29;66]	22 [16;29]	0,002
Живые сперм-ды, %	93 [90;97]	82 [80;93]	0,010
(a+b), %	57 [38;71]	30 [18;44]	0,012
Нормальные формы, %	7 [4;9]	4 [1;5]	0,002
АОА эякулята, мМ-экв	2,1 [2;2,2]	1,0 [0,8;1,1]	<0,001
Недостаточно конденсированный хроматин, %	27 [23;29]	38 [35;49]	<0,001

Примечание: Me[25%;75%], *U-критерий Манна-Уитни. Так как проведены множественные сравнения, применена поправка Бонферрони, уровень статистической значимости $p < 0,004$.

Учитывая полученный эффект было проведено сравнение изменений величин исследуемых показателей между группами (таблица 12).

Таблица 12. Сравнение изменения разности величин исследуемых показателей между группами клинически значимого снижения веса и отсутствия клинически значимого снижения веса

Показатель	Группа 1 (n=16)	Группа 2 (n=17)	p
ИМТ, кг/м²	-3,8 [-4,3;-3,1]	-0,6 [-1,1;-0,3]	<0,001
Масса тела, %	-12 [-14;-11]	-2 [-4;-1]	<0,001
ОТ, см	-6 [-7;-5]	-2 [-3;-1]	<0,001
ХС, ммоль/л	-0,7 [-1,0;-0,4]	-0,3 [-0,6;0,0]	0,007
ЛПНП, ммоль/л	-0,2 [-0,2;-0,1]	-0,1 [-0,3;0,1]	0,231
ЛПВП, ммоль/л	0,0 [0,0;0,1]	0,0 [-0,1;0,2]	0,845
ТГ, ммоль/л	-0,2 [-0,4;-0,0]	0,0 [-0,1;0,1]	0,006
Кол-во в 1 мл, млн	6 [3;10]	-1 [-6;0]	<0,001
Живые сперм-ды, %	2 [1;5]	-2 [-4;1]	<0,001
(a + b), %	3 [1;6]	-2 [-4;1]	0,001
Нормальные форм, %	1 [1;2]	0 [-2;0]	<0,001
АОА эякулята, мМ-экв	1,3 [1,2;1,4]	-0,1 [-0,2;0,1]	<0,001
Недостаточно конденсированный хроматин, %	-21 [-34;-15]	1 [-1;3]	<0,001

Примечание: Me[25%;75%], *U-критерий Манна-Уитни. Так как проведены множественные сравнения, применена поправка Бонферрони, уровень статистической значимости $p < 0,004$.

У пациентов сравниваемых групп за 6 месяцев вмешательства были выявлены статистически значимые различия в величинах изменений ИМТ, массы тела, ОТ, количественных показателей и АОА эякулята. Однако, изменения показателей качества эякулята были клинически значимы только в отношении количества сперматозоидов и их подвижности. Еще одной проблемой являлась низкая результативность снижения массы тела у мужчин сама по себе, клинически значимого снижения массы тела достигли лишь 48% пациентов. Нежелательные явления отсутствовали.

3.3 Показатели качества эякулята на фоне лечения препаратом лираглутид и комплексом антиоксидантов

Учитывая представленные результаты об эффективности снижения массы тела в отношении улучшения качества эякулята, на этом этапе исследования терапия висцерального ожирения была усилена использованием препарата лираглутид. В качестве конкурентного вмешательства был выбран комплекс антиоксидантов. Исходно сравниваемые в исследовании группы были сопоставимы по всем изучаемым параметрам (таблица 13).

Таблица 13. Исходные результаты обследования сравниваемых групп

Показатель	Лираглутид (n=30)	Комплекс антиоксидантов (n=30)	p
Возраст, лет	28 [27;29]	28 [27;29]	0,665
Рост, см	174 [170;178]	177 [173;181]	0,079
ИМТ, кг/м ²	31,8 [30,1;33,4]	31,8 [29,6;32,9]	0,467
Вес, кг	97 [92;100]	96 [90;104]	0,912
ОТ, см	106 [101;116]	106 [101;116]	0,982
ЛГ, ЕД/л	3,7 [2,9;4,4]	3,5 [3,0;3,9]	0,485
ФСГ, ЕД/л	4,1 [3,6;4,5]	4,2 [4,0;4,8]	0,112
Тестостерон, нмоль/л	16,0 [14,0;17,8]	16,0 [14,8;17,5]	0,889
ХС, ммоль/л	5,7 [4,6;6,7]	6,2 [5,6;6,9]	0,138
ЛПНП, ммоль/л	4,0 [3,1;4,7]	3,9 [3,1;4,5]	0,504
ЛПВП, ммоль/л	1,4 [1,1;1,6]	1,1 [1,0;1,7]	0,218
ТГ, ммоль/л	2,2 [1,3;2,6]	1,8 [1,2;2,9]	0,786
Кол-во, млн в мл	55 [43;65]	50 [33;86]	0,935
Живые, %	92 [90;95]	92 [90;95]	0,924
Подвижность a+b, %	25 [15;36]	24 [17;28]	0,485
Норм. формы, %	5 [3;6]	4 [3;8]	0,581
Недостаточно конденсированный хроматин, %	44 [36;48]	38 [33;47]	0,172
АОА, мМ-экв	1,2 [0,9;1,4]	1,2 [0,9;1,4]	0,786
Продукция АФК в нативном эякуляте, СРМ x 10 ⁵ на 10 млн клеток	6,7 [4,6;9,0]	5,7 [4,6;8,4]	0,643
Продукция АФК отмытыми сперматозоидами, СРМ x 10 ⁷ на 10 млн клеток	1,8 [1,3;4,8]	2,1 [1,4;6,4]	0,542

Примечание: Me[25%;75%], *U-критерий Манна-Уитни. Так как проведены множественные сравнения, применена поправка Бонферрони, уровень статистической значимости p<0,002.

Результаты динамического обследования мужчин на фоне терапии лираглутидом представлены в таблице 14.

Таблица 14. Результаты обследования мужчин на фоне терапии лираглутидом в динамике

Показатель	Исходно (n=30)	6 мес. (n=30)	p
ИМТ, кг/м ²	31,8 [30,1;33,4]	28,1 [26,5;29,7]	<0,001
Вес, кг	97 [92;100]	86 [80;89]	<0,001
ОТ, см	106 [101;116]	97 [93;101]	<0,001
ХС, ммоль/л	5,7 [4,6;6,7]	5,1 [4,6;5,6]	0,002
ЛПНП, ммоль/л	4,0 [3,1;4,7]	3,5 [3,2;3,8]	<0,001
ЛПВП, ммоль/л	1,4 [1,1;1,6]	1,4 [1,2;1,6]	0,323
ТГ, ммоль/л	2,2 [1,3;2,6]	1,6 [1,2;2,0]	<0,001
Кол-во, млн в мл	55 [43;65]	57 [43;69]	0,002
Живые, %	92 [90;95]	95 [92;98]	<0,001
Подвижность (a+b), %	25 [15;36]	35 [19;52]	<0,001
Норм. формы, %	5 [3;6]	6 [3;8]	<0,001
Недостаточно конденсированный хроматин, %	44 [36;48]	31 [24;39]	<0,001
АОА, мМ-экв	1,2 [0,9;1,4]	2,8 [2,0;3,1]	<0,001
Продукция АФК в нативном эякуляте, СРМ x 10 ⁵ на 10 млн клеток	6,7 [4,6;9,0]	4,7 [3,1;6,9]	<0,001
Продукция АФК отмытыми сперматозоидами, СРМ x 10 ⁷ на 10 млн клеток	1,8 [1,3;4,8]	1,8 [1,5;6,1]	0,678

Примечание: Me[25%;75%], * тест Вилкоксона. Так как проведены множественные сравнения, применена поправка Бонферрони, уровень статистической значимости p<0,003.

На фоне терапии лираглутидом статистически значимое снижение массы тела, уменьшение выраженности висцерального ожирения и снижение уровней холестерина, ЛПНП и ТГ сопровождалось статистически значимым увеличением АОА эякулята и снижением продукции АФК в нативном эякуляте, а также увеличением концентрации сперматозоидов, числа живых сперматозоидов, их подвижности, морфологически нормальных форм и конденсации хроматина. Изменений продукции АФК отмытыми сперматозоидами выявлено не было.

На фоне терапии комплексом антиоксидантов изменения были менее выраженные (таблица 15).

Таблица 15. Результаты обследования мужчин на фоне терапии комплексом антиоксидантов в динамике

Показатель	Исходно (n=30)	6 мес. (n=30)	p
ИМТ, кг/м²	31,8 [29,6;32,9]	31,6 [29,3;32,8]	0,147
Вес, кг	96 [90;104]	95 [91;105]	0,340
ОТ, см	106 [101;116]	105 [100;112]	0,133
ХС, ммоль/л	6,2 [5,6;6,9]	6,3 [5,9;6,7]	0,965
ЛПНП, ммоль/л	3,9 [3,1;4,5]	3,5 [3,2;4,2]	0,073
ЛПВП, ммоль/л	1,1 [1,0;1,7]	1,2 [1,0;1,9]	0,156
ТГ, ммоль/л	1,8 [1,2;2,9]	1,3 [1,1;2,2]	0,284
Кол-во, млн в мл	57 [43;69]	46 [35;85]	0,434
Живые, %	95 [92;98]	92 [90;94]	0,703
Подвижность (a+b), %	24 [17;28]	33 [25;47]	<0,001
Норм. формы, %	4 [3;8]	5 [2;8]	0,737
Недостаточно конденсированный хроматин, %	38 [33;47]	37 [32;49]	0,689
АОА, мМ-экв	1,2 [0,9;1,4]	2,8 [1,8;3,0]	<0,001
Продукция АФК в нативном эякуляте, СРМ x 10⁵ на 10 млн клеток	5,7 [4,6;8,4]	5,9 [4,6;8,3]	0,449
Продукция АФК отмытыми сперматозоидами, СРМ x 10⁷ на 10 млн клеток	2,1 [1,4;6,4]	2,8 [1,4;6,2]	0,314

Примечание: Me[25%;75%], *тест Вилкоксона. Так как проведены множественные сравнения, применена поправка Бонферрони, уровень статистической значимости $p < 0,003$.

Отмечалось только статистически значимое увеличение АОА эякулята и увеличение подвижности сперматозоидов. Другие исследуемые параметры не изменились.

Проведенная терапия привела к существенной разнице в достигнутых результатах к концу 6-го месяца лечения (таблица 16). Группы стали статистически значимо отличаться по массе тела, окружности талии и уровню общего холестерина, которые оказались ниже в группе мужчин, получавших лираглутид.

Таблица 16. Результаты конечного обследования мужчин сравниваемых групп

Показатель	Лираглутид (n=30)	Комплекс антиоксидантов (n=30)	p
ИМТ, кг/м ²	28,1 [26,5;29,7]	31,6 [29,3;32,8]	<0,001
Вес, кг	86 [80;89]	95 [91;105]	<0,001
ОТ, см	97 [93;101]	105 [100;112]	<0,001
ХС, ммоль/л	5,1 [4,6;5,6]	6,3 [5,9;6,7]	<0,001
ЛПНП, ммоль/л	3,5 [3,2;3,8]	3,5 [3,2;4,2]	0,752
ЛПВП, ммоль/л	1,4 [1,2;1,6]	1,2 [1,0;1,9]	0,224
ТГ, ммоль/л	1,6 [1,2;2,0]	1,3 [1,1;2,2]	0,935
Кол-во, млн в мл	57 [43;69]	46 [35;85]	0,708
Живые, %	95 [92;98]	92 [90;94]	0,019
Подвижность (a+b), %	35 [19;52]	33 [25;47]	0,900
Норм. формы, %	6 [3;8]	5 [2;8]	0,406
Недостаточно конденсированный хроматин, %	31 [24;39]	37 [32;49]	0,026
АОА, мМ-экв	2,8 [2,0;3,1]	2,8 [1,8;3,0]	0,272
Продукция АФК в нативном эякуляте, СРМ x 10 ⁵ на 10 млн клеток	4,7 [3,1;6,9]	5,9 [4,6;8,3]	0,055
Продукция АФК отмытыми сперматозоидами, СРМ x 10 ⁷ на 10 млн клеток	1,8 [1,5;6,1]	2,8 [1,4;6,2]	0,622

Примечание: Me[25%;75%], *U-критерий Манна-Уитни. Так как проведены множественные сравнения, применена поправка Бонферрони, уровень статистической значимости p<0,003.

При сравнении величин изменения исследуемых параметров в группах лираглутида и комплекса антиоксидантов также были установлены статистически значимые различия (таблица 17).

Таблица 17. Результаты сравнения изменения величин изучаемых параметров на фоне терапии

Показатель	Лираглутид (n=30)	Комплекс антиоксидантов (n=30)	p
ИМТ, кг/м²	-3,7 [-4,0;-3,3]	0,0 [-0,6;0,3]	<0,001
Масса тела, %	-12 [-12;-11]	0,0 [-2;1]	<0,001
ОТ, см	-8 [-12;-7]	-1 [-1;1]	<0,001
ХС, ммоль/л	-0,5 [-1,2;-0,1]	-0,1 [-0,4;0,5]	0,005
ЛПНП, ммоль/л	-0,4 [-0,9;-0,2]	-0,0 [-0,6;0,2]	0,065
ЛПВП, ммоль/л	0,1 [0,0;0,1]	0,0 [0,0;0,2]	0,947
ТГ, ммоль/л	-0,5 [-0,9;0,0]	0,0 [-0,7;0,2]	0,009
Кол-во, млн в мл	2 [0;4]	-2 [-4;3]	0,019
Живые, %	2 [0;4]	0 [-2;2]	0,023
Подвижность (a+b), %	10 [1;18]	14 [3;21]	0,286
Норм. формы, %	1 [0;2]	0 [-1;1]	0,018
Недостаточно конденсированный хроматин, %	-13 [-15;-3]	0 [-3;2]	<0,001
АОА, мМ-экв	1,6 [1,4;1,8]	1,4 [0,9;1,8]	0,218
Продукция АФК в нативном эякуляте, СРМ x 10⁵ на 10 млн клеток	-1,8 [-2,8;-0,7]	0,0 [-0,3;0,7]	<0,001
Продукция АФК отмытыми сперматозоидами, СРМ x 10⁷ на 10 млн клеток	0,0 [-0,2;0,2]	0,0 [-0,2;0,9]	0,592

Примечание: Me[25%;75%], *тест Вилкоксона. Так как проведены множественные сравнения, применена поправка Бонферрони, уровень статистической значимости $p < 0,003$.

Статистическая значимость была достигнута отмечалась в отношении величин изменений ИМТ, массы тела, ОТ, а также величин изменений недостаточно конденсированного хроматина и продукции АФК в нативном эякуляте, которые были лучше в группе лираглутида. Статистически значимых различий в изменении величин подвижности сперматозоидов и продукции АФК отмытыми сперматозоидами не отмечалось, при том, что изменение величины подвижности сперматозоидов было велико в обеих группах, а изменение величины продукции АФК отмытыми сперматозоидами

мало.

Еще одним наблюдением, выявленным в исследовании, является то, что пациенты, имеющие исходно повышенный уровень продукции АФК отмытыми сперматозоидами, не продемонстрировали никакой динамики в отношении показателей качества эякулята вне зависимости от типа лечения, которое они получали (8 пациентов из группы лираглутида и 6 пациентов из группа комплекса антиоксидантов, всего 14), таблица 18.

Таблица 18. Результаты обследования мужчин с патологическим повышением АФК отмытыми сперматозоидами в динамике.

Показатель	Исходно (n=14)	Динамика (n=14)	p
Кол-во, млн в мл	40 [29;49]	39 [34;47]	0,959
Живые, %	91 [90;96]	90 [90;94]	0,533
Подвижность a+b, %	16 [12;24]	15 [11;19]	0,248
Норм. формы, %	3 [2;3]	3 [2;3]	0,592
Недостаточно конденсированный хроматин, %	38 [33;44]	38 [30;46]	0,310

Примечание: Me[25%;75%], *тест Вилкоксона. Так как проведены множественные сравнения, применена поправка Бонферрони, уровень статистической значимости $p < 0,01$.

Нежелательные явления в группе пациентов, получавших комплекс антиоксидантов, отсутствовали, в группе лираглутида у 11 пациентов (37%) отмечалась тошнота. Из исследования никто не выбыл.

ГЛАВА IV. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Негативное влияние ожирения на мужское репродуктивное здоровье известно достаточно давно [38, 40, 48, 106, 161, 169]. Это влияние изучалось в том числе и отечественными авторами [8]. В некоторых работах указано, что нарушение жирового обмена может приводить к оксидативному стрессу сперматозоидов [4]. При этом ряд исследований демонстрируют некоторую противоречивость результатов [32, 170]. Это может объясняться тем, что большинство исследований основано на измерении ИМТ, не вполне отражающем висцеральное ожирение. Кроме того, в эти исследования включались мужчины с патогенетическими факторами развития патозооспермии, которые могли быть не связаны с ожирением как таковым. Дизайн нашей работы исключает таковые патогенетические факторы и дополняет полученные данные об оксидативном стрессе сперматозоидов при ожирении. Кроме того, поскольку ожирение само по себе требует лечения, вызывает интерес возможность оценки влияния на качество эякулята не только снижения массы тела, но и фармакотерапии ожирения препаратом лираглутид. Другим актуальным направлением работы является возможность оценки эффективности использования антиоксидантных препаратов для коррекции патозооспермии у пациентов с ожирением. В связи с этим нами было проведено три этапа исследований: одномоментное сплошное сравнительное исследование мужчин с постпубертатным алиментарным висцеральным ожирением с патозооспермией и нормозооспермией с целью оценки роли АОА эякулята в снижении его качества и выявлении ассоциаций между снижением АОА эякулята и патогенетическими факторами, наблюдаемыми при ожирении; ретроспективное исследование «случай-контроль» с целью оценки показателей качества эякулята, ассоциированных со снижением массы тела у пациентов с патозооспермией и постпубертатным висцеральным ожирением; и проспективное сравнительное исследование с целью оценки влияния терапии постпубертатного

висцерального ожирения у мужчин с патозооспермией и неотягощенным андрологическим анамнезом на показатели АОА и качества эякулята инъекционным препаратом лираглутид, по сравнению с конкурентным вмешательством – пероральным применением комплекса антиоксидантов. Дизайн исследований подробно описан в разделе «Материалы и методы исследования».

Наиболее частыми проявлениями патозооспермии у пациентов в нашем исследовании были снижение подвижности сперматозоидов и уменьшение числа их морфологически нормальных форм, а также нарушение конденсации хроматина. В качестве единственного патогенетического фактора патозооспермии снижение АОА выступало в 37% случаев, еще в 16% случаев оно сочеталось с гипогонадизмом, и еще в 4% – с гипогонадизмом и варикоцеле. Гипогонадизм как единственный патогенетический фактор патозооспермии был отмечен у 16% мужчин, у 10% мужчин таким фактором являлось варикоцеле, у 6% – носительство антиспермальных антител, у 11% – патогенетических факторов патозооспермии выявить не удалось.

Негативное влияние гипогонадизма, часто развивающегося у пациентов с ожирением [6], на сперматогенез давно доказано [17, 18, 39], и неудивительно, что в структуре патогенетических факторов патозооспермии 36% мужчин имели изолированный гипогонадизм или в сочетании со снижением АОА эякулята или варикоцеле. Поскольку в нашем исследовании исключались пациенты с поражениями яичек или гипофиза, уровень гонадотропинов был в норме, что, при выявлении низкого уровня тестостерона, характерно для нарушения отрицательной обратной связи гипофиз-гонады при ожирении [18]. В нашей работе мы старались исключить влияние этого фактора на показатели сперматогенеза, поэтому после изучения патогенетических факторов патозооспермии пациенты с гипогонадизмом исключались из дальнейших этапов исследований. Выявленные нами частоты встречаемости варикоцеле и носительства антиспермальных антител не отличались от таковых в общей популяции [47].

Поскольку варикоцеле само по себе может влиять на развитие оксидативного стресса сперматозоидов, вне зависимости от отсутствия или наличия ожирения [30, 70, 128], а улучшение показателей эякулята у мужчин с варикоцеле при помощи терапии антиоксидантами, продемонстрированное в других работах [43, 44, 110], также может свидетельствовать о выраженном компоненте оксидативного стресса, такие пациенты исключались из дальнейших этапов исследований. Так как носительство антиспермальных антител свидетельствует об органическом поражении гемато-тестикулярного барьера [22, 117], в дальнейшие этапы работы мужчины с наличием этого патогенетического фактора не включались.

При сравнении групп мужчин с патозооспермией и нормозооспермией была выявлена статистически значимая разница в показателях ИМТ, ОТ, массы тела и АОА эякулята, что предполагает ассоциацию между ожирением, оксидативным стрессом сперматозоидов и патозооспермией. Связь оксидативного стресса и снижения его основного протективного фактора АОА эякулята с развитием патозооспермии также подтверждается зарубежными работами [70, 143, 156].

При более подробном анализе подгруппы мужчин с патозооспермией со сниженной и нормальной АОА эякулята были выявлены статистически значимые различия в величине ИМТ, массе тела, ОТ, показателях липидного спектра крови и количественных показателях качества эякулята (кроме содержания морфологически нормальных форм сперматозоидов), которые были хуже у мужчин со сниженной АОА. Одномоментный ассоциативный межгрупповой анализ не позволяет говорить об однозначной причинно-следственной связи ожирение–дислипидемия–оксидативный стресс сперматозоидов, и не позволяет выделить первичный фактор патогенеза, тем не менее, данные ассоциации могут быть объяснены патогенетически и подтверждаются результатами других исследований [31, 74, 77, 102, 114, 150]. Установлено, что нарушение жирового обмена часто ассоциируется с нарушениями сперматогенеза [74, 102, 149], в том числе из-за связи липидов

крови с липидами эякулята, и их возможным перекисным окислением [150, 157]. Нарушение конденсации хроматина часто отмечалось в работах других исследователей в сочетании с ухудшением различных показателей оксидативного стресса (АОА эякулята и АФК, которые мы оценивали в последующих этапах) [132, 135]. Негативное влияние инсулинорезистентности на сперматогенез подтверждалось во многих работах [77, 99, 129], однако в нашем исследовании такой ассоциации выявлено не было; возможно, это было связано с молодым возрастом пациентов, и развития значимой инсулинорезистентности у них не наблюдалось. Также в нашей работе обращает на себя внимание отсутствие ассоциации в сплошном одномоментном исследовании между снижением АОА эякулята и количеством нормальных форм сперматозоидов, хотя в других работах снижение АОА эякулята было негативно связано с тератозооспермией [77, 156]. Возможно, на этом этапе исследования выявлению этой ассоциации препятствовало влияние варикоцеле, так как оно является одним из существенных патогенетических факторов тератозооспермии [50, 89] и наблюдалось у мужчин с патозооспермией как в группе снижения АОА эякулята, так и без таковой. Также невозможно исключить влияния некоторых аспектов самого ожирения на качество эякулята, вне зависимости от наличия оксидативного стресса, которые не исследовались в нашей работе (например, провоспалительные факторы, такие как интерлейкин 6 и/или фактор некроза опухоли α) [92, 154, 164]. Гипертермия яичек за счет жировой ткани, особенно висцеральной, является значимым фактором, способным влиять на качество эякулята [3, 58, 69, 179]. Кроме того, негативное воздействие на качество эякулята может оказывать повышенный уровень лептина [36, 82, 99, 118, 158]. Однако, несмотря на отсутствие исследований отдельных обсуждаемых негативных факторов ожирения, ассоциация между висцеральным ожирением, снижением АОА эякулята и патозооспермией в работе установлена и подтверждена дальнейшим ретроспективным анализом – снижение жировой массы тела за

счет гипокалорийной диеты и аэробной физической активности сопровождалось улучшением показателей качества эякулята, но только при условии, что снижение массы тела являлось клинически значимым – 12 [11;14] %.

Полученные результаты свидетельствуют о благоприятном влиянии снижения массы тела на качество эякулята. Сложно однозначно говорить о пользе только снижения массы тела пациентов, поскольку оно, как правило, сопряжено и с другими качественными изменениями образа жизни [147]. Тем не менее при клинически значимом снижении массы тела мы отметили улучшение большинства параметров спермограммы. Исходные данные пациентов вряд ли могли повлиять на результат лечения, так как по исходным исследуемым параметрам статистические различия между группами отсутствовали. Следует отметить, что поскольку проводились множественные сравнения, при оценке статистической значимости использовалась поправка Бонферрони. Однако, поскольку масса тела являлась критерием ретроспективного формирования групп, является целесообразным рассмотреть исходные различия групп (до применения поправки Бонферрони) в отношении этого первичного показателя. Без применения поправки Бонферрони различия между группами в исходной величине массы тела являются статистически значимыми, $p=0,010$. Но эти различия не могли исказить сделанных заключений, так как та группа, которая продемонстрировала наилучшие результаты как в отношении снижения массы тела, так и в отношении показателей качества эякулята, имела исходно большую величину массы тела, то есть ожирение было более выраженным, по сравнению с группой пациентов, которые продемонстрировали в динамике худшие результаты. Наличие более выраженного ожирения на момент начала лечения у пациентов с хорошим результатом дополнительно подтверждает положительное влияние снижения массы тела на показатели качества эякулята. Ожидаемо, что наряду с хорошим снижением массы тела, у пациентов этой группы улучшились

липидный спектр крови и АОА эякулята. При этом маловероятно, что улучшение липидов крови действует на сперматогенез напрямую, но возможна ассоциация между дислипидемией и оксидативным стрессом [94].

Полученные нами результаты согласуются с данными других исследователей [33, 40, 57, 75, 81, 121, 161]. Установлено, что мужчины с клинически значимым снижением массы тела при соблюдении гипокалорийной диеты имели статистически значимое увеличение сперматозоидов с нормальной морфологией и общего количества сперматозоидов, а также улучшение качества хроматина [75, 121]. В другом исследовании оценивали влияние на качество эякулята бариатрической хирургии — через год после проведения операции у мужчин с патозооспермией было отмечено увеличение концентрации сперматозоидов, которое являлось статистически значимым [61]. В некоторых работах при улучшении антропометрических показателей значимо уменьшались уровни маркеров оксидативного стресса: данные показаны в серии клинических случаев, где при уменьшении абдоминального жира улучшались целостность хроматина и исходы беременности, а также снижалось количество поврежденных белков в результате оксидативного стресса и увеличивался уровень супероксиддисмутазы 2 — одного из компонентов АОА эякулята [71, 73]. Однако необходимо учесть отсутствие среди этих работ примеров влияния на качество эякулята фармакотерапии ожирения, один из препаратов которой мы исследовали на третьем этапе нашей работы.

В последнее время было установлено наличие рецепторов ГПП-1 на сперматозоидах человека [138], что не исключает влияния на качество эякулята не только самого снижения массы тела, но и непосредственно молекул агонистов этих рецепторов. Так, в одной из работ уровень ГПП-1 в плазме крови показал прямую корреляцию с подвижностью сперматозоидов [32]. Положительное влияние на качество эякулята мышей, находящихся на ВЖД, было получено при использовании агониста ГПП-1 эксенатида [178]. Поскольку пациентам с ожирением эксенатид не показан, в нашем

исследовании оценивалось влияния препарата лираглутид в сравнении с конкурентным вмешательством – использованием комплекса антиоксидантов.

За 6 месяцев фармакологического вмешательства отмечалась положительная динамика показателей качества эякулята (количество сперматозоидов в 1 мл эякулята, содержание живых сперматозоидов, морфологически нормальных форм, сперматозоидов с недостаточно конденсированным хроматином, АОА эякулята, АФК в нативном эякуляте) на фоне терапии ожирения лираглутидом. Клинически значимым снижением массы тела в нашем исследовании считалось не менее 10% от исходного за 6 месяцев; эта величина была основана на результатах предшествующего ретроспективного исследования и согласуется с мнением других авторов [11]. Она была достигнута на фоне приема лираглутида всеми пациентами. Полученные результаты еще раз подтверждают благоприятное влияние снижения массы тела на качество эякулята и его АОА вне зависимости от метода достижения данного снижения. Достаточно интересным представляется сравнение результатов по достижению клинически значимого снижения массы тела на фоне только коррекции образа жизни и при использовании лираглутида. На втором этапе исследования включенные в работу пациенты снижали массу тела без фармакологической поддержки, при этом ее клинически значимого снижения достигли 48% мужчин. В то время как при фармакологической поддержке лираглутидом – 100%, $p < 0,001$. Это сравнение нельзя считать полностью корректным за счет разобщенности во времени и несопоставимости выборок, однако оно ориентирует на возможность использования лираглутида у пациентов с целью увеличения результативности похудения.

К сожалению, работы, посвященные влиянию лираглутида на сперматогенез, отсутствуют, и сравнить наши результаты с результатами других авторов не представляется возможным, однако существуют данные о том, что введение лираглутида не угнетает выработку половых гормонов, то есть оценивалась его безопасность, а не эффективность [83]. В нашем

исследовании также не отмечалось каких-либо проблем с безопасностью препарата – у 11 пациентов (37%) отмечалась тошнота, но из исследования никто не выбыл. Наличие тошноты на фоне приема лираглутида часто сопутствует снижению аппетита и способствует нормализации пищевого поведения, что отмечается в работах, посвященных терапии ожирения лираглутидом [90, 96, 98].

Учитывая комплексное влияние лираглутида, в том числе за счет изменения пищевого поведения, трудно выделить ведущую причину положительной динамики показателей спермограммы: это может быть коррекция образа жизни, уменьшение жировой массы или непосредственное влияние самой молекулы. Тем не менее мы отметили улучшение большинства параметров спермограммы. Наряду с хорошим снижением массы тела у пациентов, уменьшением дислипидемии, выросла АОА эякулята и уменьшилось содержание АФК в нативном эякуляте. По данным ряда работ, оценка этого показателя является информативной для выявления оксидативного стресса [122, 166], а оксидативный стресс является доказанным патогенетическим фактором нарушений сперматогенеза [70, 143, 156]. В связи с этим представляет интерес вторая группа пациентов, которые не лечили ожирение, но получали комплекс антиоксидантов. Ранее в различных исследованиях выявляли положительное влияние антиоксидантов и их комбинаций на количество сперматозоидов, их подвижность и морфологию, а также частоту наступлений беременности и количество живорождений [33, 81, 108, 148]. В нашей работе при оценке влияния комплекса антиоксидантов на показатели эякулята обратило на себя внимание улучшение только подвижности сперматозоидов и АОА эякулята при сохранении стабильными показателей массы тела, ИМТ, ОТ, липидного спектра крови (что логично, так как лечение ожирения не проводилось). Схожие результаты в отношении влияния комплекса антиоксидантов на качество эякулята представлены в других работах [43, 44, 57, 100, 108, 159]. Так, в исследовании Божедомова В. А. и соавт. (2018) 102 бесплодным

мужчинам с идиопатической астено- и/или тератозооспермией давался комплекс антиоксидантов, и было отмечено увеличение доли подвижных сперматозоидов у большинства пациентов, но эффективность зависела от исходного уровня оксидативного стресса и была более выражена при умеренно повышенных уровнях АФК [2]. В рандомизированном двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании Busetto et al. (2018), оценивающим влияние 6-месячного приема комплекса антиоксидантов, увеличилось общее количество сперматозоидов, прогрессивная и общая подвижность [43]. Интересно, что в статье от 2020 года в качестве разбора того же исследования, было отмечено, что добавление вышеуказанных элементов оказалось наиболее эффективно для подгруппы моложе 35 лет с ИМТ < 25 кг/м² [44]. Такое небольшое изменение может свидетельствовать о возможности применения комплекса антиоксидантов в качестве не основного, но дополнительного лечения к снижению массы тела (является более эффективным), тем более что нежелательные явления в группе пациентов, получавших комплекс антиоксидантов, отсутствовали.

Для подтверждения гипотезы о лучшем влиянии именно медикаментозного снижения веса мы сравнили результаты лечения в группах комплекса антиоксидантов и лираглутида по величине изменений исследуемых параметров. Достигнутый результат в отношении протективного фактора оксидативного стресса – АОА эякулята значимо не отличался, в обеих группах он был хорошим. При этом в группе лираглутида выявлено значимое положительное влияние лечения на такой фактор оксидативного стресса как АФК в нативном эякуляте, чего не отмечалось при сравнении с результатами в группе комплекса антиоксидантов. Изменение подвижности сперматозоидов оказалось одинаково хорошим в обеих группах. Величина изменений всех остальных показателей статистически значимо не различалась, за исключением качества хроматина, которое улучшилось в группе лираглутида. Не удалось найти исследования со сходным дизайном для сравнения результатов, поскольку в других работах авторы оценивали

влияние коррекции образа жизни вместе с комплексом антиоксидантов или отдельно эти два вмешательства (не считая некоторых работ на животных) [124], и сравнительных исследований со снижением массы тела на подобных группах пациентов не проводилось.

Еще одним наблюдением, выявленным в исследовании, является то, что пациенты, имеющие исходно повышенный уровень продукции АФК отмытыми сперматозоидами, не продемонстрировали никакой динамики в отношении показателей качества эякулята, вне зависимости от типа лечения, которое они получали. Это может быть обусловлено более чувствительным определением АФК именно в нативном эякуляте, поскольку в нем не удаляются значимые компоненты. Кроме того, не исключено, что продукция АФК отмытыми сперматозоидами меняется медленнее и наблюдается при более выраженных изменениях сперматозоидов, когда медикаментозная коррекция уже малоэффективна [65, 122, 160]. В этом случае повышенная продукция АФК отмытыми сперматозоидами является плохим прогностическим фактором.

ВЫВОДЫ

1. Снижение АОА эякулята часто (57% (95% ДИ 47,3–66,7)) встречается при патозооспермии у мужчин с постпубертатным висцеральным ожирением и ассоциировано с дислипидемией.

2. Снижение массы тела более чем на 10% сопровождается улучшением качества и увеличением АОА эякулята.

3. При снижении массы тела с использованием лираглутида отмечается улучшение АОА, подвижности сперматозоидов, качества хроматина и уменьшение продукции АФК в нативном эякуляте, в то время как терапия комплексом антиоксидантов улучшает только АОА эякулята и подвижность сперматозоидов.

4. Повышенная продукция АФК отмытыми сперматозоидами ассоциирована с отсутствием динамики в отношении улучшения качества эякулята при патозооспермии у мужчин с постпубертатным висцеральным ожирением.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При репродуктивной реабилитации мужчин с висцеральным ожирением и патозооспермией рекомендуется исследовать АОА эякулята, а также содержание в нем АФК.

2. С целью коррекции патозооспермии у мужчин с висцеральным ожирением рекомендуется достижение клинически значимого снижения массы тела, что с хорошим влиянием на качество эякулята достигается путем использования лираглутида.

3. Использование препаратов с антиоксидантным эффектом может быть рекомендовано как вспомогательный способ коррекции астенозооспермии при сниженной АОА эякулята.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АОА – антиоксидантная активность

АФК – активные формы кислорода

ВЖД – высокожировая диета

ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии

ДИ – доверительный интервал

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ГПП-1 – глюкагоноподобный пептид 1 типа

ГСПГ – глобулин, связывающий половые гормоны

ИМТ – индекс массы тела

ЛГ – лютеинизирующий гормон

ЛПВП – липопротеины высокой плотности

ЛПНП – липопротеины низкой плотности

ЛПОНП – липопротеины очень низкой плотности

ОТ – окружность талии

ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты

РНК – рибонуклеиновая кислота

СОД – супероксиддисмутаза

ТГ – триглицериды

ФЛ – фосфолипиды

ФСГ – фолликулостимулирующий гормон

ХС – холестерин

ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение

N-АЦ – N-ацетилцистеин

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1) Алхасов Г. М. Двустороннее варикоцеле. Эпидемиология и диагностика: дис. канд. мед. наук, М.,: 2004.
- 2) Божедомов В. А., Камалов А. А., Божедомова Г. Е., Козлова В. И., Камарина Р. А., Епанчинцева Е. А. Применение комплекса нутриентов при идиопатическом мужском бесплодии в форме астено- и/или тератозооспермии: поиск предикторов эффективности лечения (предварительные результаты). Урология 2018 №5 53-59 DOI:10.18565/urology.2018.5.53-59
- 3) Божедомов В. А., Липатова Н. А., Божедомова Г. Е. и др. Применение комплекса нутриентов для лечения мужского бесплодия. РМЖ. 2016;23:1546-1552.
- 4) Божедомов В. А., Торопцева М. В., Ушакова И. В., Спорш Е. А., Ловыгина Н. А., Липатова Н. А. Активные формы кислорода и репродуктивная функция мужчин: фундаментальные и клинические аспекты / и др. // Андрология и генитальная хирургия. — 2011. — № 3. — С. 26–33
- 5) Брагина Е. Е., Бочарова Е. Н. Количественное электронномикроскопическое исследование сперматозоидов при диагностике мужского бесплодия // Андрология и генитальная хирургия. - 2014. - Т.15. - №1. - С. 54-63.
- 6) Брайнина Х. З., Варзакова Д. П., Герасимова Е. Л., Судакова Л. А., Стожко Н. Ю., Балезин С. Л., Ходос М. Я. Оксидант/антиоксидантное состояние эякулята, как критерий оценки репродуктивной функции мужчин // Тезисы докладов IX Всероссийской конференции с молодёжной научной школой по органической химии. «Химия и медицина» Уфа-Абзаково – 2013. – С. 7.
- 7) Витязева И. И., Алташина М. В., Трошина Е. А. Влияние нарушений жирового обмена на фертильность мужчин репродуктивного возраста и

- эффективность программ ЭКО. Проблемы эндокринологии, 5, 2014 с. 34-42 doi: 10.14341/probl201460534-42
- 8) Гамидов С. И., Шатылко Т. В., Гасанов Н. Г. Мужское здоровье и ожирение – диагностика и терапевтические подходы. Ожирение и метаболизм. 2019;16(3):29-36. <https://doi.org/10.14341/omet10314>
- 9) Герасимова Е. Л. Потенциометрия в исследовании антиоксидантной активности биологических объектов. Дис.: канд. хим. наук. – Казань, 2010. [Gerasimova E.L. Potenciometriya v issledovanii antioksidantnoj aktivnosti biologicheskikh obyektov. [dissertation] Kazan; 2010. (In Russ).]
- 10) Герасимова Е. Л. Потенциометрия в исследовании антиоксидантной активности биологических объектов // Тезисы докладов Съезда аналитиков России. Москва.-2010.-С. 79.
- 11) Дедов И. И., Мельниченко Г. А., Шестакова М. В. и др. Национальные клинические рекомендации по лечению морбидного ожирения у взрослых. 3-ий пересмотр (лечение морбидного ожирения у взрослых) // Ожирение и метаболизм. - 2018. - Т. 15. - №1. - С. 53-70. doi: 10.14341/omet2018153-70
- 12) Лелевич В. В., Леднева И. О., Петушок Н. Э., Курбат М. Н., Воробьев В. В. Биологическая химия. – Гродно: ГрГМУ, 2015
- 13) Методика определения общей антиоксидант/оксидантной активности семенной жидкости мужчин методом потенциометрии. Свидетельство об аттестации № 222.0067/01.00258/2014 выдано ФГУП “УНИИМ”.
- 14) Николаев А. Я. Биологическая химия. – 3-е издание, перераб. и доп. – М.: Медицинское информационное агентство. – 2004 – 566с.: ил.
- 15) Овчинников Р. И., Попова А. Ю., Гамидов С. И., Квасов А.В. (2017). Антиоксидантная терапия – ключ к лечению идиопатического мужского бесплодия. Медицинский совет, (20), 177-181. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2017-20-177-181>

- 16) Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA.- М.: МедиаСфера, 2002. - 312 с. – в методы статистики.
- 17) Роживанов Р. В., Шурдумова Б. О., Парфенова Н. С., Савельева Л. В. Комплексный подход к лечению ожирения и метаболического синдрома у мужчин. Ожирение и метаболизм. 2009;4:38-41
- 18) Савельева Л. В., Роживанов Р. В., Шурдумова Б. О., Фадеев, В. В. (2009). Нормогонадотропный гипогонадизм у мужчин с ожирением. Ожирение и метаболизм, (3), 39-42. doi: 10.14341/2071-8713-5243
- 19) Струев И. В., Симахов Р. В. Селен, его влияние на организм и использование в медицине // Сб. научн. трудов «Естествознание и гуманизм»/ Под ред. проф., д.б.н. Н. Н. Ильинских. 3(2). — 2006. — с. 127—136.
- 20) Хаят Ш., Брагина Е. Е., Курило Л. Ф. Ультраструктурное исследование сперматозоидов у пациентов с астенозооспермией // Андрол. и генит. хирургия. — 2012— №4 — с. 54-61.
- 21) Шевырин А.А. Диагностика и лечение пациентов с инфертильностью, развившейся на фоне хронического простатита. РМЖ. 2020 — №1 — с. 1-5.
- 22) Шевырин А. А. Современный взгляд на лечение нарушений мужской фертильной функции // РМЖ. Медицинское обозрение, 2018. № 12. С. 30-36. [Shevyrin A.A. A modern view of the treatment of disorders of male fertile function. RMZh. Meditsinskoe obozrenie = Russian Medical Journal. Medical Review, 2018, no. 12, pp. 30-36. (In Russ.)]
- 23) Agarwal A., Mulgund A., Hamada A., Chyatte M. R. A unique view on male infertility around the globe // Reprod Biol Endocrinol.- 2015, Vol.26(4).- p.13-37 doi: 10.1186/s12958-015-0032-1

- 24) Ahmadi S., Bashiri R., Ghadiri-Anari A., Nadjarzadeh A. (2016). Antioxidant supplements and semen parameters: An evidence based review. *International journal of reproductive biomedicine*, 14(12), 729–736.
- 25) Aitken R. J. Oxidative stress and the etiology of male infertility. *J Assist Reprod Genet.* 2016 Dec;33(12):1691-1692. DOI 10.1007/s10815-016-0791-4
- 26) Aitken R. J., Gibb Z., Baker M. A., Drevet J., Gharagozloo P. Causes and consequences of oxidative stress in spermatozoa. *Reproduction, Fertility and Development*, 2016, 28(1-2) 1-10 doi: 10.1071/RD15325.
- 27) Aitken R. J., Smith T. B., Jobling M. S., Baker M. A., De Iulius G .N.. Oxidative stress and male reproductive health. *Asian J Androl.* 2014;16:31–8. doi: 10.4103/1008-682X.122203.
- 28) Alhashem F., Alkhateeb M., Sakr H., Alshahrani M., Alsunaidi M., Elrefaey H., Alessa R., Sarhan M., Eleawa S. M., Khalil M. A.. Exercise protects against obesity induced semen abnormalities via downregulating stem cell factor, upregulating Ghrelin and normalizing oxidative stress. *EXCLI J.* 2014 May 26;13:551-72. PMID: 26417283; PMCID: PMC4464503.
- 29) Almannai M., Alfadhel M., El-Hattab A. W. (2019). Carnitine Inborn Errors of Metabolism. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(18), 3251. <https://doi.org/10.3390/molecules24183251>
- 30) 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. *PloS one.* – 2015. – Vol. 10. – №. 6. DOI:10.1371/journal.pone.0130210
- 31) Andersen J. M., Rønning P. O., Herning H., Bekken S. D., Haugen T. B., Witczak O. Fatty acid composition of spermatozoa is associated with BMI and with semen quality. *Andrology.* 2016;4(5):857-865. doi:10.1111/andr.12227

- 32) Antinozzi C., Lista M., Caponecchia L., Salacone P., Minganti C., Battaglia F. A., Di Luigi L., Sgrò P. Exploratory Analysis in the Differences in Blood Serum and Seminal Plasma of Adipose-Tissue Related Peptides in Obese and Non-Obese Men and Their Correlations With Semen Parameters. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021 Jul 28;12:681939. doi: 10.3389/fendo.2021.681939. PMID: 34393997; PMCID: PMC8355985.
- 33) Arcaniolo D., Favilla V., Tiscione D., Pisano F., Bozzini G., Creta M., Gentile G., Menchini Fabris F., Pavan N., Veneziano I. A., Cai T. Is there a place for nutritional supplements in the treatment of idiopathic male infertility? *Arch Ital di Urol e Androl.*, 86 (3) (2014), p. 164, doi:10.4081/aiua.2014.3.164
- 34) Baetas J., Rabaça A., Gonçalves A., Barros A., Sousa M., Sá R. (2019). Protective role of N-acetylcysteine (NAC) on human sperm exposed to etoposide. *Basic and clinical andrology*, 29, 3. <https://doi.org/10.1186/s12610-018-0082-2>
- 35) Bakos H. W., Mitchell M., Setchellàand B. P., Lane M. The effect of paternal diet-induced obesity on sperm function and fertilization in a mouse model. *Int J Androl*. 2011 Oct;34(5 Pt1):402-410. doi: 10.1111/j.1365-2605.2010.01092.x
- 36) Bellastella G., Menafrà D., Puliani G., Colao A., Savastano S., Obesity Programs of nutrition, Education, Research and Assessment (OPERA) Group (2019). How much does obesity affect the male reproductive function?. *International journal of obesity supplements* vol. 9,1 (2019): 50-64. doi:10.1038/s41367-019-0008-2
- 37) Bellentani F. F., Fernandes G. S., Perobelli J. E., Pacini E. S., Kiguti L. R., Pupo A. S., Kempinas W. D. Acceleration of sperm transit time and reduction of sperm reserves in the epididymis of rats exposed to sibutramine. *J Androl*. 2011 Nov-Dec;32(6):718-24. doi: 10.2164/jandrol.111.013466. Epub 2011 Jul 15. PMID: 21764897.

- 38) 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. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.07.1212
- 39) Berglund L. H., Prytz H. S., Perski A., Svartberg J. Testosterone levels and psychological health status in men from a general population: the Tromsø study. *Aging Male*. 2011;14(1):37-41. doi:10.3109/13685538.2010.522276
- 40) Bieniek J. M., Kashanian J. A., Deibert C.M., Grober E. D., Lo K. C., Brannigan R. E., Sandlow J. I., Jarvi K. A. Influence of increasing body mass index on semen and reproductive hormonal parameters in a multi-institutional cohort of subfertile men. *Fertil. Steril.*, 106 (5) (2016), pp. 1070-1075, doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.06.041
- 41) Boonyarankul A., Vinayanuvattikhun N., Chiamchanya C., Visutakul P. Comparative study of the effects of tamoxifen citrate and folate on semen quality of the infertile male with semen abnormality. *Journal of the Medical Association of Thailand* 2015;98(11):1057-63.
- 42) Borges C. S., Silva P. V., Lozano A. F. Q., Missassi G., Silva R. F., Anselmo-Franci J. A., Kempinas W. G. Impact of timing of the anorexigen sibutramine administration on reproductive end-points of male rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2020 Dec;127(6):525-532. doi: 10.1111/bcpt.13467. Epub 2020 Jul 21. PMID: 32632976.
- 43) Busetto G. M., Agarwal A., Virmani A., Antonini G., Ragonesi G., Del Giudice F., Micic S., Gentile V., De Berardinis E. Effect of metabolic and antioxidant supplementation on sperm parameters in oligo-astheno-teratozoospermia, with and without varicocele: A double-blind placebo-controlled study. *Andrologia*. 2018;50(3):10.1111/and.12927. doi:10.1111/and.12927
- 44) Busetto G. M., Del Giudice F., Virmani A., Sciarra A., Maggi M., Ferro M., Porreca A., Chung B. I., Agarwal A., De Berardinis E. Body mass index

- and age correlate with antioxidant supplementation effects on sperm quality: Post hoc analyses from a double-blind placebo-controlled trial. *Andrologia*. 2020 Apr;52(3):e13523. doi: 10.1111/and.13523.
- 45) Buzadzic B., Vucetic M., Jankovic A., Stancic A., Korac A., Korac B., Otasevic V. (2015). New insights into male (in)fertility: the importance of NO. *British journal of pharmacology*, 172(6), 1455–1467. <https://doi.org/10.1111/bph.12675>
- 46) Cabler S., Agarwal A., Flint M., du Plessis S. S. Obesity: modern man's fertility nemesis. *Asian J Androl*. 2010;12(4):480-489. doi:10.1038/aja.2010.38
- 47) Cam K., Simsek F., Yuksel M., Turker L., Haklar G., Yalcin S., Akdas A. *Int J Androl*. 2004;27:228–33 doi: 10.1111/j.1365-2605.2004.00476.x
- 48) Campbell J. M., Lane M., Owens J. A., Bakos H. W. Paternal obesity negatively affects male fertility and assisted reproduction outcomes: a systematic review and meta-analysis *Reproductive BioMedicine Online* (2015) 31, 593–604, <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2015.07.012>
- 49) Carette C., Levy R., Eustache F., Baron G., Coupaye M., Msika S., Barrat C., Cohen R., Catheline J. M., Brugnon F., Slim K., Barsamian C., Chevallier J. M., Bretault M., Bouillot J. L., Antignac J. P., Rives-Lange C., Ravaud P., Czernichow S. Changes in total sperm count after gastric bypass and sleeve gastrectomy: the BARIASPERM prospective study. *Surg Obes Relat Dis*. 2019;15(8):1271–1279. doi: 10.1016/j.soard.2019.04.019
- 50) Cho C. L., Esteves S. C., Agarwal A.. Novel insights into the pathophysiology of varicocele and its association with reactive oxygen species and sperm DNA fragmentation. *Asian J Androl*. 2016 Mar-Apr; 18(2): 186–193. doi: 10.4103/1008-682X.170441
- 51) Chauvin T. R., Griswold M. D. Characterization of the expression and regulation of genes necessary for MYO biosynthesis and transport in the seminiferous epithelium. *Biol Reprod* 2004; 70: 744-751.

- 52) Chiu Y. H., Afeiche M. C., Gaskins A. J., Williams P. L., Mendiola J., Jørgensen N., Swan S. H., Chavarro J. E. Sugar-sweetened beverage intake in relation to semen quality and reproductive hormone levels in young men. *Hum Reprod.* 2014;29(7):1575–1584. doi:10.1093/humrep/deu102
- 53) Barratt C., Björndahl L., De Jonge C. J., Lamb D. J., Osorio Martini F., McLachlan R., Oates R. D., van der Poel S., St John B., Sigman M., Sokol R., Tournaye H. The diagnosis of male infertility: an analysis of the evidence to support the development of global WHO guidance—challenges and future research opportunities. *Human Reproduction Update*, Vol.23, No.6 pp. 660–680, 2017 doi:10.1093/humupd/dmx021
- 54) Brainina Kh. Z., Varzakova D. P., Gerasimova E. L., Balezin S. L., Portnov I. G., Makutina V. A., Tyrchaninova E. V. Potentiometric method for evaluating the oxidant/antioxidant activity of seminal and follicular fluids and clinical significance of this parameter for human reproductive function // *The Open Chemical and Biomedical Methods Journal*. – 2012. – № 5. – P. 1–7.
- 55) Condorelli R. A., La Vignera S., Mongioì L. M., Vitale S. G., Laganà A. S., Cimino L., Calogero A. E. Myo-inositol as a male fertility molecule: speed them up! *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2017 Jun;21(2 Suppl):30-35. PMID: 28724176.
- 56) Cui X., Jing X., Wu X., Yan M. Protective effect of resveratrol on spermatozoa function in male infertility induced by excess weight and obesity. *Mol Med Rep.* 2016;14(5):4659-4665. doi:10.3892/mmr.2016.5840
- 57) Dattilo M., Cornet D., Amar E., Cohen M., Menezo Y. The importance of the one carbon cycle nutritional support in human male fertility: a preliminary clinical report. *Reprod Biol Endocrinol.* 2014;12:71. Published 2014 Jul 29. doi:10.1186/1477-7827-12-71
- 58) 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. doi: <https://doi.org/10.3109/14647273.2015.1070438>
- 59) Dias T. R., Samanta L., Agarwal A., Pushparaj P. N., Panner Selvam M. K., Sharma R. Proteomic Signatures Reveal Differences in Stress Response, Antioxidant Defense and Proteasomal Activity in Fertile Men with High Seminal ROS Levels. *International journal of molecular sciences*, 2019, 20(1), 203. doi:10.3390/ijms20010203
- 60) Eisenberg M. L., Kim S., Chen Z., Sundaram R., Schisterman E. F., Buck Louis G. M. The relationship between male BMI and waist circumference on semen quality: data from the LIFE study. *Hum Reprod*. 2014 Feb;29(2):193-200 doi: 10.1093/humrep/det428
- 61) El Bardisi H., Majzoub A., Arafa M., Al Malki A., Al Said S., Khalafalla K., Jabbour G., Basha M., Al Ansari A., Sabanegh E. Jr. Effect of bariatric surgery on semen parameters and sex hormone concentrations: a prospective study. *Reprod Biomed Online*. 2016 Nov;33(5):606-611. doi: 10.1016/j.rbmo.2016.08.008
- 62) El Salam M. (2018). Obesity, An Enemy of Male Fertility: A Mini Review. *Oman medical journal*, 33(1), 3–6. <https://doi.org/10.5001/omj.2018.02>
- 63) Engin-Ustun Y., Yilmaz N., Akgun N., Aktulay A., Tuzluoğlu A. D., Bakırarar B. Body Mass Index Effects Kruger’s Criteria in Infertile Men. *Int J Fertil Steril*. 2018; 11(4): 258-262. doi: 10.22074/ijfs.2018.4888
- 64) Faure C., Dupont C., Baraibar M. A., Ladouce R., Cedrin-Durnerin I., Wolf J. P., Levy R. In subfertile couple, abdominal fat loss in men is associated with improvement of sperm quality and pregnancy: a case-series. *PLoS ONE*. 2014; 9; doi: 10.1371/journal.pone.0086300
- 65) Fingerova H., Oborna I., Novotny J., Svobodova M., Brezinova J., Radova L. The measurement of reactive oxygen species in human neat semen and in suspended spermatozoa: a comparison. *Reprod Biol Endocrinol* 7, 118 (2009). <https://doi.org/10.1186/1477-7827-7-118>

- 66) Fontoura P., Cardoso M. C., Erthal-Martins M. C., Werneck C., Sartorio C., Ramos C. F. The effects of liraglutide on male fertility: a case report. *Reprod Biomed Online*. 2014 Nov;29(5):644-6. doi: 10.1016/j.rbmo.2014.07.009. Epub 2014 Jul 29. PMID: 25246122.
- 67) 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. *Physiological reports*, 2015, 3(3). <https://doi.org/10.14814/phy2.12336>
- 68) Gamidov S.I., Shatylko T.V., Li K.I., Gasanov N.G. The Role of Antioxidant Molecules in the Treatment of Male Infertility and the Preparation of a Man for Conception. *Meditinskiy sovet = Medical Council*. 2020;(3):122–129. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2020-3-122-129>.
- 69) 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. doi:10.1093/humrep/dev057
- 70) Giulini S., Sblendorio V., Xella S., La Marca A., Palmieri B., Volpe A. Seminal plasma total antioxidant capacity and semen parameters in patients with varicocele. *Reprod Biomed Online*. 2009;18(5):617-621. doi: [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)60004-1](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)60004-1)
- 71) Grossmann M. Hypogonadism and male obesity: Focus on unresolved questions. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2018;89(1):11-21. doi: <https://doi.org/10.1111/cen.13723>
- 72) Guo D., Wu W., Tang Q., Qiao S., Chen Y., Chen M., Teng M., Lu C., Ding H., Xia Y., Hu L., Chen D., Sha J., Wang X. The impact of BMI on sperm parameters and the metabolite changes of seminal plasma concomitantly. *Oncotarget*, 2017, 8(30), 48619–48634. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.14950>

- 73) Gutiérrez L., García J. R., Rincón M., Ceballos G. M., Olivares I. M. Effect of a hypocaloric diet in the oxidative stress in obese subjects without prescription of exercise and antioxidants. *Med Clin (Barc)*. 2015 Jul 6;145(1):1-6. doi: 10.1016/j.medcli.2013.12.015
- 74) Hagiuda J., Ishikawa H., Furuuchi T., Hanawa Y., Marumo K. Relationship between dyslipidaemia and semen quality and serum sex hormone levels: an infertility study of 167 Japanese patients. *Andrologia*. 2014 Mar;46(2):131-5. doi: 10.1111/and.12057.
- 75) 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. *Reprod Health*. 2011; 8: 24. doi: 10.1186/1742-4755-8-24
- 76) Hamidian S., Talebi A. R., Fesahat F., Bayat M., Mirjalili A. M., Ashrafzadeh H. R., Rajabi M., Montazeri F., Babaei S. The effect of vitamin C on the gene expression profile of sperm protamines in the male partners of couples with recurrent pregnancy loss: A randomized clinical trial. *Clin Exp Reprod Med*. 2020 Mar;47(1):68-76. doi: 10.5653/cerm.2019.03188. Epub 2020 Mar 1. PMID: 32146776; PMCID: PMC7127905.
- 77) Hosen M. B., Islam M. R., Begum F., Kabir Y., Howlader M. Z. Oxidative stress induced sperm DNA damage, a possible reason for male infertility. *Iran J Reprod Med*. 2015;13(9):525-532.
- 78) Houfflyn S., C. Matthys, A. Soubry. Male obesity: epigenetic origin and effects in sperm and offspring. *Curr. Mol. Biol. Rep.*, 3 (4) (2017), pp. 288-296, doi:10.1007/s40610-017-0083-5
- 79) <http://www.vidal.ru/drugs/saxenda>
- 80) https://www.zaberemenet.com/assets/aktifert_andro-instruction.pdf
- 81) Imamovic Kumalic S., Pinter B. Review of clinical trials on effects of oral antioxidants on basic semen and other parameters in idiopathic

- oligoasthenoteratozoospermia. *Biomed Res Int.* 2014;2014:426951. doi:10.1155/2014/426951
- 82) Isidori A. M., Caprio M., Strollo F., Moretti C., Frajese G., Isidori A., Fabbri A. Leptin and androgens in male obesity: evidence for leptin contribution to reduced androgen levels. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(10):3673-3680. doi:10.1210/jcem.84.10.6082
- 83) Izzi-Engbeaya C., Jones S., Crustna Y., Machenahalli P. C., Papadopoulou D., Modi M., Panayi C., Starikova J., Eng P. C., Phylactou M., Mills E., Yang L., Ratnasabapathy R., Sykes M., Plumtre I., Coumbe B., Wing V. C., Pacuszka E., Bech P., Minnion J., Tharakan G., Tan T., Veldhuis J., Abbara A., Comminos A. N., Dhillon W. S. Effects of Glucagon-like Peptide-1 on the Reproductive Axis in Healthy Men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020 Apr 1;105(4):1119–25. doi: 10.1210/clinem/dgaa072. PMID: 32052032; PMCID: PMC7082082.
- 84) Jannatifar R., Parivar K., Roodbari N. H., Nasr-Esfahani M. H. Effects of N-acetyl-cysteine supplementation on sperm quality, chromatin integrity and level of oxidative stress in infertile men. *Reproductive biology and endocrinology: RB&E*, 2019, 17(1), 24. <https://doi.org/10.1186/s12958-019-0468-9>
- 85) Jensen T. K., Heitmann B. L., Blomberg Jensen M., Halldorsson T. I., Andersson A. M., Skakkebaek N. E., Joensen U. N., Lauritsen M. P., Christiansen P., Dalgård C., Lassen T. H., Jørgensen N. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 2013 Feb; 97(2):411-8. doi: 10.3945/ajcn.112.042432
- 86) Jensen M. D., Ryan D. H., Apovian C. M., Ard J. D., Comuzzie A. G., Donato K. A., Hu F. B., Hubbard V. S., Jakicic J. M., Kushner R. F., Loria C. M., Millen B. E., Nonas C. A., Pi-Sunyer F. X., Stevens J., Stevens V. J., Wadden T. A., Wolfe B. M., Yanovski S. Z., Jordan H. S. American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines; Obesity Society: 2013 AHA/ACC/TOS Guideline for the

- Management of Overweight and Obesity in Adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and The Obesity Society. *Circulation* 2014; 129(suppl 2): S102–S138
- 87) Jensterle M., Podbregar A., Goricar K., Gregoric N., Janez A. Effects of liraglutide on obesity-associated functional hypogonadism in men. *Endocr Connect.* 2019 Mar 1;8(3):195-202. doi: 10.1530/EC-18-0514. PMID: 30707677; PMCID: PMC6391904.
- 88) Jurewicz J., Radwan M., Sobala W., Radwan P., Jakubowski L., Hawuła W., Ułańska A., Hanke W. Lifestyle factors and sperm aneuploidy. *Reprod Biol.* 2014;14(3):190-199. doi:10.1016/j.repbio.2014.02.002
- 89) Kamischke A., Nieschlag E. Varicocele treatment in the light of evidence-based andrology, *Human Reproduction Update*, Volume 7, Issue 1, 1 January 2001, Pages 65–69, <https://doi.org/10.1093/humupd/7.1.65>
- 90) Kanoski S. E., Rupperecht L. E., Fortin S. M., De Jonghe B. C., Hayes M. R. The role of nausea in food intake and body weight suppression by peripheral GLP-1 receptor agonists, exendin-4 and liraglutide. *Neuropharmacology*, 2012, 62(5-6), 1916–1927. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.12.022>
- 91) Katib A. Mechanisms linking obesity to male infertility. *Cent European J Urol.* 2015; 68: 79-85 doi: 10.5173/ceju.2015.01.435
- 92) 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>.
- 93) Keskes-Ammar L., Feki-Chakroun N., Rebai T., Sahnoun Z., Ghazzi H., Hammami S., Zghal K., Fki H., Damak J., Bahloul A. Sperm oxidative stress and the effect of an oral vitamin E and selenium supplement on semen quality in infertile men. *Arch Androl.* 2003 Mar-Apr;49(2):83-94. doi: 10.1080/01485010390129269.

- 94) 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 Radic Biol Med.* 2010;48(1):112-119. doi: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.10.033>
- 95) Kort H. I., Massey J. B., Elsner C. W., Mitchell-Leef D., Shapiro D. B., Witt M. A., Roudebush W. E. Impact of body mass index values on sperm quantity and quality. *J Androl.* 2006 May-Jun;27(3):450-2 <https://doi.org/10.2164/jandrol.05124>
- 96) Ladenheim E. E. Liraglutide and obesity: a review of the data so far. *Drug design, development and therapy* vol. 9 1867-75. 30 Mar. 2015, doi:10.2147/DDDT.S58459
- 97) Le Lay S., Simard G., Martinez M. C., Andriantsitohaina R. Oxidative Stress and Metabolic Pathologies: From an Adipocentric Point of View. *Oxid Med Cell Longev.* 2014; 2014: 908539. doi: 10.1155/2014/908539
- 98) Lean M. E., Carraro R., Finer N., Hartvig H., Lindegaard M. L., Rössner S., Van Gaal L., Astrup A., NN8022-1807 Investigators (2014). Tolerability of nausea and vomiting and associations with weight loss in a randomized trial of liraglutide in obese, non-diabetic adults. *International journal of obesity* (2005), 38(5), 689–697. <https://doi.org/10.1038/ijo.2013.149>
- 99) 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. *Reprod Biol Endocrinol.* 2014;12(1):34. doi: <https://doi.org/10.1186/1477-7827-12-33>
- 100) Lipovac M., Bodner F., Imhof M., Chedraui P. Comparison of the effect of a combination of eight micronutrients versus a standard mono preparation on sperm parameters. *Reprod Biol Endocrinol.* 2016;14(1):84
- 101) Littarru G. P., Tiano L. Bioenergetic and antioxidant properties of coenzyme Q10: recent developments. *Molecular Biotechnology* 2007;37(1):31-7.

- 102) Liu C. Y., Chou Y. C., Lin S. H., Wu S. T., Cha T. L., Chen H. I., Tsao C. W. Serum lipid profiles are associated with semen quality. *Asian J Androl.* 2017;19(6):633–638. doi:10.4103/1008-682X.195240
- 103) Liu Q., Zhou Y. F., Duan R. J., Wei H. K., Peng J., Jiang S. W. Dietary n-6:n-3 ratio and Vitamin E improve motility characteristics in association with membrane properties of boar spermatozoa. *Asian J Androl.* 2017;19(2):223-229. doi:10.4103/1008-682X.170446
- 104) 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;47(9):1047-1054. doi:10.1111/and.12376
- 105) 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>.
- 106) MacDonald A. A., Stewart A. W., Farquhar C.M. Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones in New Zealand men: a cross-sectional study in fertility clinics, *Human Reproduction*, Volume 28, Issue 12, December 2013, Pages 3178–3187, <https://doi.org/10.1093/humrep/det379>
- 107) Majzoub A., Agarwal A. Antioxidant therapy in idiopathic oligoasthenoteratozoospermia. *Indian J Urol.* 2017;33(3):207-214. doi:10.4103/iju.IJU_15_17
- 108) Majzoub A., Agarwal A. Systematic review of antioxidant types and doses in male infertility: Benefits on semen parameters, advanced sperm function, assisted reproduction and live-birth rate. *Arab Journal of Urology.* Volume 16, Issue 1, March 2018, Pages 113-124 doi: 10.1016/j.aju.2017.11.013

- 109) Malik A., Ibrahim M., Roszaman R., Isa M., Alewi N., Rafa A., Anuar M. Male Infertility: The Effect of Natural Antioxidants and Phytocompounds on Seminal Oxidative Stress. *Diseases*. 2017 Mar; 5(1): 9 doi: 10.3390/diseases5010009
- 110) Mancini A., De Marinis L., Oradei A., Hallgass M. E., Conte G., Pozza D., Littarru G. P. Coenzyme Q10 concentrations in normal and pathological human seminal fluid. *J Androl*. 1994 Nov-Dec;15(6):591-4. PMID: 7721661.
- 111) Mangoli E., Talebi A. R., Anvari M., Taheri F., Vatanparast M., Rahiminia T., Hosseini A. Vitamin C attenuates negative effects of vitrification on sperm parameters, chromatin quality, apoptosis and acrosome reaction in neat and prepared normozoospermic samples. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2018 Apr;57(2):200-204. doi: 10.1016/j.tjog.2018.02.006. PMID: 29673661.
- 112) Marseglia L., Manti S., D'Angelo G., Nicotera A., Parisi E., Di Rosa G., Gitto E., Arrigo T. Oxidative Stress in Obesity: A Critical Component in Human Diseases. *Int J Mol Sci*. 2015 Jan; 16(1): 378–400. doi: 10.3390/ijms16010378
- 113) Martin J. A., Hamilton B. E., Osterman M. J., Curtin S. C., Matthews T. J. Births: final data for 2013. *Natl Vital Stat Rep*. 2015;64(1):1-65.
- 114) Martin-Hidalgo D., Bragado M. J., Batista A. R., Oliveira P. F., Alves M. G. Antioxidants and Male Fertility: from Molecular Studies to Clinical Evidence. *Antioxidants (Basel)*. 2019;8(4):89. Published 2019 Apr 5. doi:10.3390/antiox8040089re
- 115) Mascarenhas M. N., Flaxman S. R., Boerma T., Vanderpoel S., Stevens G. A. National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys. *PLoS medicine*, 2012, 9(12), e1001356. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001356>

- 116) McEneny J., Couston C., McKibben B., Young I. S., Woodside J. V. Folate: in vitro and in vivo effects on VLDL and LDL oxidation. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 2007, 77, 66–72.
- 117) McLachlan R. I. Basis, diagnosis and treatment of immunological infertility in men. *J. Reprod. Immunol.*, 2002, Vol. 1-2, no. 57, pp. 35-45.
- 118) McPherson N. O., Lane M. Male obesity and subfertility, is it really about increased adiposity? *Asian J Androl.* 2015 May-Jun; 17(3): 450–458. doi: 10.4103/1008-682X.148076
- 119) McPherson N. O., Shehadeh H., Fullston T., Zander-Fox D. L., Lane M. Dietary Micronutrient Supplementation for 12 Days in Obese Male Mice Restores Sperm Oxidative Stress. *Nutrients* vol. 11,9 2196. 12 Sep. 2019, doi:10.3390/nu11092196
- 120) Micic S., Lalic N., Djordjevic D., Bojanic N., Bogavac-Stanojevic N., Busetto G. M., Virmani A., Agarwal A. Double-blind, randomised, placebo-controlled trial on the effect of L-carnitine and L-acetylcarnitine on sperm parameters in men with idiopathic oligoasthenozoospermia. *Andrologia.* 2019 Jul;51(6):e13267. doi: 10.1111/and.13267
- 121) Mir J., Franken D., Andrabi S. W., Ashraf M., Rao K. Impact of weight loss on sperm DNA integrity in obese men. *Andrologia.* 2018 Feb 1. doi: 10.1111/and.12957.
- 122) Moein M. R., Vahidi S., Ghasemzadeh J., Tabibnejad N. Comparison of reactive oxygen species in neat and washed semen of infertile men. *Iran J Reprod Med.* 2014;12(5):301-306
- 123) Moazamian R., Polhemus A., Connaughton H., Fraser B., Whiting S., Gharagozloo P., Aitken, R. J. Oxidative stress and human spermatozoa: diagnostic and functional significance of aldehydes generated as a result of lipid peroxidation. *Mol. Hum. Reprod.* 2015, 21: 502-515. doi:10.1093/molehr/gav014

- 124) Mohammadi Roushandeh A., Salehi I., Mortazavi M. Protective effects of restricted diet and antioxidants on testis tissue in rats fed with high-fat diet. *Iran Biomed J.* 2015;19(2):96-101. DOI:10.6091/ibj.1398.2015
- 125) Mormandi E. A., Otero P., Bertone A. L., Calvo M., Astarita G., Kogovsek N., Levalle O. Body weight increase and quality of semen: a controversial association *Endocrinol Nutr.* 2013 Jun-Jul;60(6):303-7. doi: 10.1016/j.endonu.2013.01.006
- 126) Moslemi M. K., Tavanbakhsh S. Selenium-vitamin E supplementation in infertile men: effects on semen parameters and pregnancy rate. *Int J Gen Med.* 2011 Jan 23;4:99-104. doi: 10.2147/IJGM.S16275. PMID: 21403799; PMCID: PMC3048346.
- 127) Nassan F. L., Chavarro J. E., Tanrikut C. Diet and men's fertility: does diet affect sperm quality? *Fertil Steril.* 2018 Sep;110(4):570-577. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.05.025.
- 128) Ni K., Steger K., Yang H., Wang H., Hu K., Zhang T., Chen B. A comprehensive investigation of sperm DNA damage and oxidative stress injury in infertile patients with subclinical, normozoospermic, and astheno/oligozoospermic clinical varicocoele. *Andrology.* 2016 Sep;4(5):816-824. doi: 10.1111/andr.12210
- 129) Oghbaei H., Fattahi A., Hamidian G., Sadigh-Eteghad S., Ziaee M., Mahmoudi J. A closer look at the role of insulin for the regulation of male reproductive function. *Gen Comp Endocrinol.* 2021 Jan 1;300:113643. doi: 10.1016/j.ygcen.2020.113643.
- 130) Oliveira J., Petersen C. G., Mauri A. L., Vagnini L. D., Renzi A., Petersen B., Mattila M., Dieamant F., Baruffi R., Franco J.G. Jr. Association between body mass index and sperm quality and sperm DNA integrity. A large population study. *Andrologia.* 2018 Apr;50(3). doi: 10.1111/and.12889.
- 131) Omu A. E., Fatinikun T., Mannazhath N., Abraham S. Significance of simultaneous determination of serum and seminal plasma alpha-tocopherol

- and retinol in infertile men by high-performance liquid chromatography. *Andrologia*. 1999;31(6):347-354. doi:10.1046/j.1439-0272.1999.00296.x
- 132) Oumaima A., Tesnim A., Zohra H., Amira S., Ines Z., Sana C., Intissar G., Lobna E., Ali J., Meriem M. Investigation on the origin of sperm morphological defects: oxidative attacks, chromatin immaturity, and DNA fragmentation. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2018 May;25(14):13775-13786. doi: 10.1007/s11356-018-1417-4. Epub 2018 Mar 5. PMID: 29508198.
- 133) Pereira S. C., Crisóstomo L., Sousa M., Oliveira P. F., Alves M. G. Metabolic diseases affect male reproduction and induce signatures in gametes that may compromise the offspring health. *Environmental epigenetics*, 2020, 6(1), dvaa019. <https://doi.org/10.1093/eep/dvaa019>
- 134) Pereira R., Sá R., Barros A., Sousa M. Major regulatory mechanisms involved in sperm motility. *Asian J Androl*. 2017;19(1):5-14. doi: 10.4103/1008-682X.167716
- 135) Pourmasumi S., Sabeti P., Rahiminia T., Mangoli E., Tabibnejad N., Talebi A. R. The etiologies of DNA abnormalities in male infertility: An assessment and review. *Int J Reprod Biomed*. 2017 Jun;15(6):331-344. PMID: 29177237; PMCID: PMC5605854.
- 136) Priskorn L., Holmboe S. A., Jacobsen R., Jensen T. K., Lassen T. H., Skakkebaek N. E. Increasing trends in childlessness in recent birth cohorts - a registry-based study of the total Danish male population born from 1945 to 1980. *Int J Androl*, 2012, 35: 449-455
- 137) Punab M., Poolamets O., Paju P., Vihljajev V., Pomm K., Ladva R., Korrovits P., Laan M. Causes of male infertility: a 9-year prospective monocentre study on 1737 patients with reduced total sperm counts. *Hum Reprod*. 2017 Jan;32(1):18-31 doi:10.1093/humrep/dew284
- 138) Rago V., De Rose D., Santoro M., Panza S., Malivindi R., Andò S., D'Agata R., Aquila S. Human Sperm Express the Receptor for Glucagon-like Peptide-1 (GLP-1), Which Affects Sperm Function and Metabolism. *Endocrinology*. 2020 Apr 1;161(4):bqaa031. doi:

- 10.1210/endo/bqaa031
- 139) Ramaraju G. A., Teppala S., Prathigudupu K., Kalagara M., Thota S., Kota M., Cheemakurthi R. Association between obesity and sperm quality. *Andrologia*. 2018 Apr; 50(3). doi: 10.1111/and.12888.
- 140) Rani V., Deep G., Singh R. K., Palle K., Yadav U. C. Oxidative stress and metabolic disorders: Pathogenesis and therapeutic strategies. *Life Sciences*. 2016 Mar 1;148:183-93. doi: 10.1016/j.lfs.2016.02.002
- 141) Rato L., Alves M. G., Cavaco J. E., Oliveira P. F. High-energy diets: a threat for male fertility? *Obes Rev*. 2014;15(12):996–1007. doi: 10.1111/obr.12226.
- 142) Robbins W. A., Xun L., FitzGerald L. Z., Esguerra S., Henning S. M., Carpenter C. L. Walnuts improve semen quality in men consuming a Western-style diet: randomized control dietary intervention trial. *Biol Reprod*. 2012 Oct 25;87(4):101. doi: 10.1095/biolreprod.112.101634
- 143) Roychoudhury S., Sharma R., Sikka S., Agarwal A. Diagnostic application of total antioxidant capacity in seminal plasma to assess oxidative stress in male factor infertility. *J Assist Reprod Genet*. 2016;33(5):627-635. doi: <https://doi.org/10.1007/s10815-016-0677-5>
- 144) Sabeti P., Pourmasumi S., Rahiminia T., Akyash F., Talebi A. R. Etiologies of sperm oxidative stress. *Int J Reprod Biomed (Yazd)*. 2016;14(4):231–240. doi: 10.17650/2070-9781-2014-3-33-41.
- 145) Saez F., Drevet J. R. Dietary Cholesterol and Lipid Overload: Impact on Male Fertility. *Oxid Med Cell Longev*. 2019 Dec 6;2019:4521786. doi: 10.1155/2019/4521786.
- 146) Salas-Huetos A., Moraleda R., Giardina S., Anton E., Blanco J., Salas-Salvadó J., Bulló M. “Effect of nut consumption on semen quality and functionality in healthy men consuming a Western-style diet: a randomized controlled trial,” *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 108, no. 5, pp. 953–962, 2018. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqy181>
- 147) Salas-Huetos A., Muralidharan J., Galiè S., Salas-Salvadó J., Bulló M.

- Effect of Nut Consumption on Erectile and Sexual Function in Healthy Males: A Secondary Outcome Analysis of the FERTINUTS Randomized Controlled Trial. *Nutrients*. 2019;11(6):1372. doi: <https://doi.org/10.3390/nu11061372>
- 148) Salas-Huetos A., Rosique-Esteban N., Becerra-Tomás N., Vizmanos B., Bulló M., Salas-Salvadó J. The Effect of Nutrients and Dietary Supplements on Sperm Quality Parameters: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*, 2018, 9(6), 833–848.
- 149) 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. *Fertil Steril*. 2014;102(5):1274-1281.e2 doi:<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.07.1248>
- 150) 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. DOI: [10.1111/j.2047-2927.2014.00198.x](https://doi.org/10.1111/j.2047-2927.2014.00198.x)
- 151) Scibona M., Meschini P., Capparelli S., Pecori C., Rossi P., Menchini Fabris G. F. L-arginina e infertilità maschile [L-arginine and male infertility]. *Minerva Urol Nefrol*. 1994 Dec;46(4):251-3. Italian. PMID: 7701414.
- 152) Shafik A., Olfat S. Lipectomy in the treatment of scrotal lipomatosis. *Br J Urol*. 1981 Feb;53(1):55-61. DOI: [10.1111/j.1464-410x.1981.tb03129.x](https://doi.org/10.1111/j.1464-410x.1981.tb03129.x)
- 153) Shittu S. A., Shittu S. T., Akindele O. O., Kunle-Alabi O. T., Raji Y. Protective action of N-acetylcysteine on sperm quality in cyclophosphamide-induced testicular toxicity in male Wistar rats. *JBRA Assist Reprod*. 2019;23(2):83-90. doi:[10.5935/1518-0557.20180079](https://doi.org/10.5935/1518-0557.20180079)
- 154) Singla P., Bardoloi A., Parkash A. A. Metabolic effects of obesity: a review // *World Journal of Diabetes*. – 2010. – Vol. 1. – №. 3. – P. 76-88.

- 155) Smits R. M., Mackenzie-Proctor R., Yazdani A., Stankiewicz M. T., Jordan V., Showell M. G. Antioxidants for male subfertility. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019 Mar 14;3:CD007411. doi: 10.1002/14651858.CD007411.pub4.
- 156) Subramanian V., Ravichandran A., Thiagarajan N., Govindarajan M., Dhandayuthapani S., Suresh S. Seminal reactive oxygen species and total antioxidant capacity: Correlations with sperm parameters and impact on male infertility. *Clin Exp Reprod Med*. 2018;45(2):88-93. doi: <https://doi.org/10.5653/cerm.2018.45.2.88>
- 157) Suleiman S. A., Ali M. E., Zaki Z. M., el-Malik E. M., Nasr M. A. Lipid peroxidation and human sperm motility: protective role of vitamin E. *J Androl*. 1996;17(5):530-537 PMID: 8957697
- 158) Suleiman J. B., Nna V. U., Othman Z. A., Zakaria Z., Bakar A. B. A., Mohamed M. Orlistat attenuates obesity-induced decline in steroidogenesis and spermatogenesis by up-regulating steroidogenic genes. *Andrology*. 2020 Sep;8(5):1471-1485. doi: 10.1111/andr.12824. Epub 2020 Jun 22. PMID: 32438512.
- 159) Suliga E., Głuszek S. The relationship between diet, energy balance and fertility in men *Int J Vitam Nutr Res* (2019), 1–13 <https://doi.org/10.1024/0300-9831/a000577>
- 160) Svobodova M., Oborna I., Fingerova H., Novotny J., Brezinova J., Radova L., Vyslouzilova J., Horakova J., Grohmannova J. Porovnání produkce reaktivních kyslíkových částic v nativním ejakulátu a v suspenzi spermii [Comparison of reactive oxygen species production in neat semen and washed spermatozoa]. *Ceska gynekologie*, 2009, 74(6), 399–403.
- 161) Taha E. A., Sayed S. K., Gaber H. D., Abdel Hafez H. K., Ghandour N., Zahran A., Mostafa T. Does being overweight affect seminal variables in fertile men? *Reproductive Biomedicine Online*, 2016, 33, 703–708. doi: 10.1016/j.rbmo.2016.08.023

- 162) 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. DOI:10.3906/sag-1408-7
- 163) Tsao C. W., Liu C. Y., Chou Y. C., Cha T. L., Chen S. C., Hsu C. Y. Exploration of the Association between Obesity and Semen Quality in a 7630 Male Population. *PLoS One*. 2015; 10(3) doi: 10.1371/journal.pone.0119458
- 164) Tsatsanis C. Dermitzaki E., Avgoustinaki P., Malliaraki N., Mytaras V., Margioris A. N. The impact of adipose tissue-derived factors on the hypothalamicpituitary-gonadal (HPG) axis // *Hormones*. – 2015. – Vol. 14. – P. 549-562.
- 165) Vazquez-Levin M. H., Verón G. L. Myo-inositol in health and disease: its impact on semen parameters and male fertility. *Andrology*. 2020 Mar;8(2):277-298. doi: 10.1111/andr.12718. Epub 2019 Nov 17. PMID: 31637826.
- 166) Venkatesh S., Shamsi M. B., Dudeja S., Kumar R., Dada R. Reactive oxygen species measurement in neat and washed semen: comparative analysis and its significance in male infertility assessment. *Arch Gynecol Obstet*. 2011;283(1):121-126. doi: <https://doi.org/10.1007/s00404-010-1645-4>.
- 167) Vishvkarma R., Alahmar A. T., Gupta G., Rajender S. Coenzyme Q10 effect on semen parameters: Profound or meagre? *Andrologia*. 2020 Jul;52(6):e13570. doi: 10.1111/and.13570. Epub 2020 Apr 9. PMID: 32271472.
- 168) Wahl S., Drong A., Lehne B., Loh M., Scott W. R., Kunze S., Tsai P. C., Ried J. S., Zhang W., Yang Y., Tan S., Fiorito G., Franke L., Guarrera S., Kasela S., Kriebel J., Richmond R. C., Adamo M., Afzal U., Ala-Korpela M., Chambers J. C. Epigenome-wide association study of body mass index,

- and the adverse outcomes of adiposity. *Nature*. 2017;541(7635):81-86. doi:10.1038/nature20784
- 169) Wang E. Y., Huang Y., Du Q. Y., Yao G. D., Sun Y. P. Body mass index effects sperm quality: a retrospective study in Northern China. *Asian J Androl*. 2017;19(2):234–237. doi:10.4103/1008-682X.169996
- 170) Wei Y., Chen Q., Qian W. Effect of bariatric surgery on semen parameters: a systematic review and meta-analysis. *Med Sci Monit Basic Res*. 2018;24:188–197 doi: 10.12659/MSMBR.910862.
- 171) Whitfield M., Guiton R., Rispal J., Acar N., Kocer A., Drevet J. R., Saez F. Dyslipidemia alters sperm maturation and capacitation in LXR-null mice. *Reproduction*. 2017 Dec;154(6):827-842. doi: 10.1530/REP-17-0467.
- 172) WHO (World Health organization), 2010. WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen. Fifth edition, 2012.
- 173) WHO (World Health organization), 2016. Fact sheet: Obesity and overweight. Updated June 2016 Retrieved from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>
- 174) Williamson D. A., Bray G. A., Ryan D. H. Is 5% weight loss a satisfactory criterion to define clinically significant weight loss? *Obesity (Silver Spring)*. 2015 Dec;23(12):2319-20. doi: 10.1002/oby.21358. Epub 2015 Nov 2. PMID: 26523739.
- 175) Włodarczyk M., Nowicka G. Obesity, DNA Damage, and Development of Obesity-Related Diseases. *Int J Mol Sci*. 2019 Mar; 20(5): 1146. doi: 10.3390/ijms20051146
- 176) Yuan H. F., Zhao K., Zang Y., Liu C. Y., Hu Z. Y., Wei J. J., Zhou T., Li Y., Zhang H. P. Effect of folate deficiency on promoter methylation and gene expression of *Esr1*, *Cav1*, and *Elavl1*, and its influence on spermatogenesis. *Oncotarget*. 2017;8(15):24130-24141. doi:10.18632/oncotarget.15731

- 177) Liu Y., Ding Z. Obesity, a serious etiologic factor for male subfertility in modern society *Reproduction* (2017) 154 R123–R131 DOI: 10.1530/REP-17-0161
- 178) Zhang E., Xu F., Liang H., Yan J., Xu H., Li Z., Wen X., Weng J. GLP-1 Receptor Agonist Exenatide Attenuates the Detrimental Effects of Obesity on Inflammatory Profile in Testis and Sperm Quality in Mice. *Am J Reprod Immunol.* 2015 Nov;74(5):457-66. doi: 10.1111/aji.12420.
- 179) Zhang M. H., Shi Z. D., Yu J. C., Zhang Y. P., Wang L. G., Qiu Y. Scrotal heat stress causes sperm chromatin damage and cysteinyl aspartate-specific proteinases 3 changes in fertile men. *J Assist Reprod Genet.* 2015 May;32(5):747-55. doi: 10.1007/s10815-015-0451-0
- 180) Zini A., San Gabriel M., Baazeem A. Antioxidants and sperm DNA damage: a clinical perspective. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 2009, 26(8), 427–432. doi:10.1007/s10815-009-9343-5