

## Влияние комплекса Фертиловит М плюс на частоту формирования бластоцист высокого качества у пар, которые проходят IVF/IMSI

Йоханнес Вогацки<sup>1</sup>, Дитмар Шпитцер<sup>2</sup>, Максимилиан Шуфф<sup>1</sup>, Биргит Шехингер<sup>1</sup> и Николас Х.Цех<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Центр ЭКО Проф. Цеха в Брегенце, Австрия

<sup>2</sup> Центр ЭКО Проф. Цеха в Зальцбурге, Австрия

<sup>3</sup> Ответственный автор. Йоханнес Вогацки, Центр ЭКО Проф. Цеха в Брегенце, Рёмерштрассе 2, 6900 Брегенц, Австрия, тел.: +43 5574 44836; E-mail: dr.wogatzky@gmail.com

Дата подачи: 26 июня 2014г., дата принятия: 18 сентября 2014 г, дата публикации 22 сентября 2014 г.

**АННОТАЦИЯ:** На протяжении последних лет установлено, что оксидативный стресс (ОС) является важным фактором развития бесплодия у мужчин. Таким образом, широко обсуждается прием антиоксидантов для улучшения качества спермы (у субфертильных мужчин). Отмечено улучшение качества спермы после приема антиоксидантов. Однако, данный вопрос все еще недооценивается. Критики жалуются на недостаток данных касательно, во-первых, применения антиоксидантов из-за гетерогенности между группами пациентов, пищевыми добавками и эффектом лечения и, во-вторых, малораспространенными данными относительно влияния антиоксидантов на результаты вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). В данном исследовании оценивалось влияние антиоксидантных комплексов (АОК) на показатели спермограммы и результаты терапии 92 пар, которые проходили лечение бесплодия. Во время первого цикла лечения был сделан анализ эякулята и зафиксированы данные, которые относятся к результатам лечения. Их сравнили с данными, относящимися ко второму циклу лечения тех же самых пар, из которых мужчины получали АОК (Фертиловит М плюс на протяжении 3 - 6 месяцев). Образцы спермы оценивались в соответствии с критериями ВОЗ и MSOME (исследования морфологии внутренних структур сперматозоида). Для оценки результатов лечения были выбраны такие параметры как успешность оплодотворения яйцеклеток, частота формирования бластоцист высокого качества, частота наступления беременности и клинической беременности. После приема АОК мы обнаружили незначительное улучшение качества спермы в соответствии с критериями ВОЗ – и значительное улучшение в соответствии с критериями MSOME ( $p < 0.01$ ). Несмотря на то, что во втором цикле возраст жен-

щин увеличился, нами наблюдалось повышение частоты формирования бластоцист после приема АОК. Частота формирования бластоцист высокого качества даже значительно улучшилась ( $p < 0.05$ ). В дополнение к этому, отмечалось повышение частоты наступления беременности и клинической беременности. В заключении, использовать АОК можно не только для мужчин с плохими показателями спермограммы, но и также для мужчин с нормозооспермией, проходящих ВРТ, поскольку это может способствовать улучшению параметров спермы и повышению успешности лечения.

**Ключевые слова:** ВРТ; спермограмма; MSOME; частота формирования бластоцист; антиоксидант; пищевая добавка

**СОКРАЩЕНИЯ:** АОК - антиоксидантный комплекс; ВРТ - вспомогательные репродуктивные технологии; ЧФБ - частота формирования бластоцистов; ЧНКБ - частота наступления клинической беременности; ЧФ - частота фертильности; ИКСИ - интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида; IMSI - интрацитоплазматическая инъекция морфологически нормального сперматозоида; IVF – in vitro fertilisation; MSOME - исследования морфологии внутренних структур сперматозоида; ФАО - фактор активации ооцитов; ОС - оксидативный стресс; ЧНБ - частота наступления беременности; АФК - активные формы кислорода; ЧФБВК - частота формирования бластоцистов высокого качества; TUNEL - метод исследования, позволяющий обнаружить разрывы ДНК в сперматозоидах; ВОЗ - Всемирная организация здравоохранения.

<p><b>Вогацки и др., Андрол Гинекол: Тек иссл 2014,2:4</b></p>	
<p><b>Научная статья</b></p>	
<p><b>ВВЕДЕНИЕ</b></p> <p>По имеющимся оценкам в промышленно развитых странах в среднем одна из каждой 10 пары имеет проблемы с бесплодием и так и не имеет детей без соответствующего лечения. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) этиологическим фактором в развитии бесплодия в 46% является мужской фактор.</p> <p>Качество спермы, как правило, считается показателем мужской фертильности. Предварительный анализ спермы для оценки количества сперматозоидов, подвижности и морфологии, главным образом, выполняется в соответствии с действующими критериями ВОЗ [1]. Дополнительно к этому, существует множество других анализов, в то же время, для того, чтобы детально проанализировать качество спермы, к примеру, оценка фрагментации ДНК сперматозоидов (методы TUNEL и Comet, использование акридинового оранжевого), селекция сперматозоидов по степени связывания с гиалуроновой кислотой, и самое важное, исследование морфологии внутренних структур сперматозоида (MSOME) [2]. MSOME позволяет проводить исследование морфологии сперматозоидов <i>in vivo</i>. Он позволяет в частности изучить ядерные вакуоли, которые не могут быть обнаружены при меньшем увеличении. Под вопросом остается происхождение данных вакуолей и их влияния на фертильность. Однако, большинство исследований доказывают, что вакуолизация головки сперматозоида – это патология [3-5]. Согласно этому, сочетание MSOME и ИМСИ – интрацитоплазматическая инъекция морфологически нормального сперматозоида - приводит к статистически значимому сокращению частоты выкидышей [4-10].</p> <p>Существует множество причин мужского бесплодия, и наряду с чисто медицинскими причинами, такими как инфекции, генетические или хромосомные нарушения, важным по влиянию на фертильность является употребление медицинских препаратов, химиотерапия, воздействия радиации и загрязнения окружающей среды. Обнаружено, что вдоба-</p>	<p>вок к этому, на качество спермы также влияет возраст мужчины и его образ жизни [11-16]. Интересно заметить, что согласно различным публикациям наличие оксидативного стресса (ОС) играет ключевую роль в мужском бесплодии. Как правило, контролируемая генерация активных форм кислорода (АФК) связана с нормальными физиологическими функциями. Однако, неконтролируемые и излишние АФК могут стать важным фактором в патофизиологии бесплодия. Более того, доказано, что при увеличении уровня АФК в семенной плазме и сперматозоидах, уменьшается антиоксидантная способность организма и увеличивается количество мутаций митохондриальных ДНК или фрагментаций ядерной ДНК [17-19]. Возникает вопрос, может ли оказать положительное влияние пероральный прием АОК на качество спермы. В соответствии с значительным количеством исследований АОК в большинстве случаев рассматривается в качестве полезного инструмента для ослабления АФК и, таким образом, улучшения качества спермы у людей или лабораторных животных [20-23], но здесь не обойтись без разногласий. Предположительно причиной тому могут быть все еще недостаточное количество данных, эффективность различных антиоксидантов и вводимые дозы, изначальные показатели спермограммы, которые анализируются, типы бесплодия и, возможно, гетерогенность исследуемых субпопуляций.</p>

Ссылка: Вогацки Й, Шпицер Д, Шуфф М, Шехингер Б, Зех НХ (2014) Влияние комплекса Фертиловит М плюс на частоту формирования бластоцист высокого качества у пар, кото-рые проходят IVF/IMSI. Андрол Гинекол: Тек Иссл 2:4

doi: <http://dx.doi.org/10.4172/2327-4360.1000129>

Кроме того, критики особо подчеркнули тот факт, что всего лишь несколько клинических исследований, представленных к настоящему времени, оценили влияние АК на результаты лечения бесплодия [24]. Например, к настоящему времени существуют лишь ограниченные данные о влиянии антиоксидантной терапии на вакуолизацию головки сперматозоидов. Однако, опубликованы данные о том, что ядерная вакуолизация имеет, в свою очередь, отрицательную связь с общей частотой формирования бластоцист и частотой формирования бластоцист высокого качества [25,26,8]. На данный момент – насколько нам известно – не существует доступных данных, непосредственно оценивающих связь между приемом антиоксидантов, частотой вакуолизации и результатами лечения бесплодия.

В данном исследовании представлены текущие данные о результатах лечения IVF пациентов, которые проходят IVF/IMSI. Во время первого цикла лечения проведен отбор проб эякулята без АОК (контроль). Второй отбор проводился во время второго цикла после того, как мужчины принимали АОК в течение длительного периода времени. Образцы эякулята оценивались согласно критериям ВОЗ и MSOME. Кроме того, зафиксированы частота фертилизации (ЧФ) частота формирования бластоцист (ЧФБ), частота формирования бластоцист высокого качества (ЧФБВК), а также частота наступления беременности (ЧНБ) и клинической беременности (ЧНКБ) и проведено сравнение результатов обоих циклов.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В период с января 2008 г. и по июль 2011 г. в данное исследование было включено общее количество 92 пациентов из нашей IVF клиники к Брегенц (Австрия). К участию привлекались пары согласно нижеуказанным критериям: пациенты мужского пола давали согласие на прием антиоксидантных комплексов. Исключались пациенты с азооспермией и с известными генетическими патологиями,

которые могли ухудшить сперматогенез (такие как хромосомная абберация или иные генетические нарушения). К тому же, дальнейшими критериями для исключения являлись подверженность воздействию радиации или химиотерапии. Включены были лишь женщины в возрасте  $\leq 43$  лет на начальном этапе 1 го цикла. В опросном листе уточнялся рост, вес, вредные привычки. В начале первого цикла оценивался индекс массы тела женщины.

Перед началом второго цикла мужчины принимали пероральный антиоксидантный комплекс (Фертиловит М плюс) на протяжении 3 месяцев (одна капсула два раза в день ежедневно, в таблице 1 приведен состав).

Состав	Суточная доза / 2 капсулы
Витамин С	100 мг
Витамин Е	100 мг
Фолиевая кислота	500 мкг
Цинк	25 мг
Селен	100 мкг
N-ацетил-L-цистеин	50 мг
L-карнитин	300 мг
Цитруллин	300 мг
L-глутатион	50 мг
Ликопен	4 мг
Коэнзим Q10	15 мг

Таблица 1: Дополнительная информация про Фертиловит М плюс. Дозировка представлена в микро- или миллиграммах соответственно.

Различные компоненты препарата описаны в качестве полезных для защиты сперматозоидов от окислительного повреждения или в качестве таковых, которые имеют иное поддерживающее влияние, соответственно. Образцы эякулята были снова исследованы MSOME после 2-12 месячного курса антиоксидативной терапии. Никаких нежелательных побочных эффектов от приема комплексов не было обнаружено.

Анализ образцов эякулята состоял из нескольких параметров сперматозоидов, таких как объем семяизвержения, концентрация и подвижность сперматозоидов, согласно критериям ВОЗ [1]. К тому же, проведен анализ качества спермы в соответствии с критериями MSOME (изменено с Вандерцвалмен и др., 2008) [8]. Отбор сперматозоидов проводился при увеличении 6000x под инвертационным микроскопом Nomarski interferential Leica AM 6000 (Лейка, Германия). Под спермой степени I определены сперматозоиды нормальной формы и размера, без вакуолей или с небольшой(ыми) вакуолей(ями) <4% головки сперматозоида, под степенью II: сперматозоиды нормальной формы и размера, но с большими вакуолями >4% головки, под степенью III: большие вакуоли >4% головки сперматозоида, и к тому же, неправильной формы и/или размера сперматозоиды. Применялся ГнВГ длинный протокол для всех циклов с ежедневными инъекциями трипторелина (Декапептил, Ферринг Арцнаимиттель, Вена, Австрия) по 0,1 мг/день, начиная с середины лютеиновой фазы предыдущего цикла для понижающей регуляции гипофиза. Для стимуляции фолликул использовался НМГ (Мерионал, ИБСА, Лугано, Швейцария) 2-4x 75 международных единиц/день.

Для того, чтобы оценить результаты лечения, были собраны данные по нижеуказанным параметрам: определено количество оплодотворенных ооцитов (у которых были выявлены 2 пронуклеуса), количество бластоцист, частота формирования бластоцист высокого качества (ЧФБВК), частота наступления беременности (ЧНБ) и клинической беременности (ЧНКБ). Бластоцисты из категории 2, 3, 4 и 5, с внутриклеточной массой класса А и трофэктодермой класса А или В классифицировали как бластоцисты высокого качества.

Частота формирования бластоцист (высокого качества) рассчитывается с помощью деления количества бластоцист (высокого качества) на количество нормально оплодотворенных яйцеклеток. Частота наступления беременности (ЧНБ) определяется с помощью мочевого бета-ХГЧ уровня через 14 дней после переноса, частота наступления клинической беременности (ЧНКБ) определялась как наблюдение за сердцебиением плода с помощью ультразвука через 6-8 недель после ЕТ.

Данные были выражены в качестве среднего  $\pm$  стандартного отклонения для изменяемых значений параметров и проанализированы с помощью параметрического t-критерия Стьюдента и критерия хи-квадрата с целью проведения оценки значимости данных.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ

Средний возраст мужчин в начале первого IVF цикла составил 39,2 года. Группа пациентов мужского пола показала умеренный избыток веса (индекс массы тела: 26,0 на первом и ИМТ 26,1 на втором цикле). Двадцать пациентов указали, что курят редко или часто (19 пациентов на 2м цикле). Согласно критериям ВОЗ было обнаружено, что 32 пациента имеют нормозооспермию, 29 мужчин - ОАТ, в то время как 31 имели либо астенозооспермию или олигозооспермию. Период перехода между попытками IVF составлял 1,4 года (в среднем  $\pm$  1,5).

С помощью сравнения параметров спермы до и после приема комплекса Фертиловит М плюс можно было наблюдать значительное увеличение сперматозоидов класса I после комплекса (6,0  $\pm$  5,8 по сравнению с 3,8  $\pm$  4,9,  $p < 0,01$ , смотрите Таблицу 2). Обнаружено значительное высокое увеличение сперматозоидов класса II в соответствии с критериями MSOME (6,0  $\pm$  5,8 по сравнению с 3,8  $\pm$  4,9 до комплексов,  $p < 0,01$ , смотрите Таблицу 2). Однако, значительное улучшение параметров спермы в отношении количества и подвижности сперматозоидов не наблюдалось.

Ссылка: Вогацки Й, Шпицер Д, Шуфф М, Шехингер Б, Зех НХ (2014) Влияние комплекса Фертиловит М плюс на частоту формирования бластоцист высокого качества у пар, кото-рые проходят ЭКО/ИМСИ.. Андрол Гинекол: Тек Иссл 2:4

doi: <http://dx.doi.org/10.4172/2327-4360.1000129>

Наш последующий шаг заключался в оценке и сравнении результатов IVF обоих циклов (Таблица 3). С возрастом у женщин уменьшается количество и качество ооцитов и в последующее качество эмбриона. Средний возраст женщин в начале первого цикла составил 36,8 лет. Средняя ИМТ составляла 23,0. Несмотря на то, что средний возраст пациенток возрос ко второму циклу (38,1 лет,  $p=0,03$ ) и количество извлеченных ооцитов было немного меньшим, наблюдалось увеличение частоты формирования бластоцист во втором цикле IVF после перорального приема мужчинами антиоксидантных препаратов. Несмотря на то, что данное увеличение было незначительным, количество бластоцист высокого качества значительно увеличилось ( $p<0,05$ ). Также обнаружен рост ЧНБ и ЧНКБ, однако, данный рост был незначительным из-за того, что общее количество пациентов, вовлеченных в данное исследование, было небольшим.

#### ОБСУЖДЕНИЕ

Общеизвестно, что сперматозоиды являются весьма склонными к ОС. Значительный ОС ослабляет подвижность и развитие нормальных клеток сперматозоидов. Он ускоряет апоптоз, таким образом, уменьшая их количество, и, к тому же, активные формы кислорода (АФК) атакуют целостность ДНК сперматозоидов с помощью изменения основы и деформационных нарушений. Кроме того, АФК могут изменять эпигенетические варианты. Данный аспект является наиболее важным, поскольку модифицированные генетические свойства могут привести к заболеваниям у потомков [27].

Между тем, существует предположение, что повышенные уровни АФК могут быть главной причиной идиопатических факторов мужского бесплодия, что является очень актуальной проблемой на сегодняшний день.

	Первый цикл без приема комплексов	Второй цикл с приемом комплексов	р-значение
<b>Мужские характеристики</b>			
Возраст мужчин	39,2±8,5	40,6±8,5	н.о.
ИМТ мужчин (кг/м <sup>2</sup> )	26,0±3,0	26,1±3,1	н.о.
<b>Оценка спермы</b>			
Объем образца (мл)	2,9±1,5	2,3±1,4	<0,01
Общее количество сперматозоидов (ОКС)	44,3±49,5	49,4±41,5	н.о.
Концентрация (млн./мл)	16,7±17,6	20,8±22,5	н.о.
<b>Подвижность сперматозоидов (%)</b>			
Класс А	3,9±6,3	4,0±6,5	н.о.
Класс В	30,6±18,7	29,0±19,6	н.о.
Класс С	14,9±14,7	21,4±18,1	<0,05
Класс D	50,6±24,2	45,6±22,1	н.о.
Поступательная подвижность сперматозоидов (%)	34,5±21,6	32,6±21,3	н.о.
<b>Критерии MSOME (%)</b>			
Класс I	3,8±4,9	6,0±5,8	<0,01
Класс II	38,9±16,7	41,9±14,5	н.о.
Класс III	57,3±19,3	52,1±18,0	н.о.

Таблица 2: Характеристики пациентов и результаты анализов спермы перед и после приема комплекса Фертиловит М.

Значительное количество исследований продемонстрировало, что уменьшение ФК в мужском репродуктивном тракте с помощью применения пероральных антиоксидантов на самом деле может предоставить возможность для улучшения качества и увеличения количества спермы согласно оцениванию по стандартным критериям ВОЗ [22].

Неферментативные антиоксиданты состоят из витаминов А,Е,С и В комплекса, глутатиона и коэнзимов или кофакторов антиоксидантных ферментов, таких как коэнзим Q10, цинк или селен. Согласно различным исследованиям отмечено позитивное влияние подобных микронутриентов и антиоксидантных комплексов для улучшения качества спермы. Однако, всего лишь в результате нескольких исследований установлено текущее медицинское свидетельство в пользу влияния пероральных антиоксидантов на качество сперматозоидов, согласно критериям MSOME [25].

В множестве исследованиях было изучено разнообразные параметры спермы, однако, недостаточно исследований, которые занимались бы оценкой главного результата любого исследования, связанного с фертильностью, а именно – беременность [22].

Таким образом, после подтверждения положительного влияния антиоксидантных препаратов на показатели спермограммы [25,26], нами исследовано влияние одного и того же препарата на результаты лечения 92 пар, которые проходили IMSI.

Женские характеристики	Первый цикл без приема комплексов	Второй цикл с приемом комплексов	р-значения
Возраст женщин	36,8+/-4,2	38,1+/-3,9	н.о.
ИМТ женщин (кг/м <sup>2</sup> ) (средний)	23,0+/-3,5	н.о.	
Доза стимуляции (международная единица)	2451 +/- 745	2647 +/- 764	н.о.
Количество извлеченных ооцитов (всего)	1127	1092	н.о.
Ооциты (среднее)	12,4+/-5,9	12,1+/-5,7	
Количество 2PN (общее)	672	659	
2PN (среднее)	7,3+/-3,9	7,3+/-4,3	
FR (%)	59,6	60,4	н.о.
Количество blastocysts (общее)	267	288	
Blastocysts (среднее)	2,9+/-2,4	3,1+/-2,7	
Частота формирования blastocysts (%)	39,7	43,7	н.о.
Blastocysts высокого качества (среднее)	0,4+/-1,1	0,6+/-1,0	
ЧФБВК (кол-во blastocysts высокого качества, %)	5,5 (n=37)	8,5 (n=56)	<0,05
Количество перенесенных эмбрионов	1,9+/-0,4	1,9+/-0,3	н.о.
ЧНБ	34,8	44,5	н.о.
ЧНКБ	32,8	39,1	н.о.

Таблица 3: Характеристики пациентов и сравнение результатов лечения одних и тех же пар. Первый цикл без приема Фертиловит М плюс (слева) и во втором цикле после приема Фертиловит М плюс (справа).

Ссылка: Вогацки Й, Шпицер Д, Шуфф М, Шехингер Б, Зех НХ (2014) Влияние комплекса Фертиловит М плюс на частоту формирования бластоцист высокого качества у пар, кото-рые проходят IVF/IMSI. Андрол Гинекол: Тек Иссл 2:4

doi: <http://dx.doi.org/10.4172/2327-4360.1000129>

В ходе исследования мы сравнили результаты терапии данных пар, которые в первом цикле прошли репродуктивное лечение без каких - либо комплексов для партнера мужского пола с результатами лечения во втором цикле, где использовался Фертиловит М плюс в качестве антиоксидантной терапии. Путем анализа одной и той же группы пациентов мы обходим проблему сравнения популяции с гетерогенной историей заболевания. Несмотря на то, что возраст женщин был выше во время второго цикла, нам удалось найти важное благотворное влияние на частоту формирования бластоцист высокого качества, а также заметное улучшение ЧНБ и ЧНКБ. Улучшение, которое наблюдается, несмотря на увеличение возраста женщины, указывает значительным образом на влияние мужчины.

Исторически изначально предполагалось, что показатели эффективности ICSI не связаны даже с главными показателями спермограммы [28-30]. Сперматозоиды считались «простыми векторами, переносящими отцовский генетический компонент к ооциту» [31]. Однако, негативные результаты IVF/ICSI, которые повторяются у одних и тех же пар предполагают, что влияние ДНК сперматозоида на ранний эмбриогенезис может быть причиной этих неудач [32-34].

На сегодняшний день общеизвестно, что различные компоненты сперматозоидов активно принимают участие в раннем развитии эмбриона [35-37]. Так называемое раннее влияние отцовской составляющей наблюдается с 1 по 3 день развития и заключается в переносе фактора активации ооцита (ФАО), который является решающим для успешного оплодотворения, центросомы, которая является ключевой для деления клеток [38], а также популяции важных для развития РНК [35, 39].

Позднее влияния отцовской составляющей проявляется с 3 дня дальнейшего развития эмбриона. Аномалия развития на данной стадии обычно связана с дефектами генетического материала сперматозоида. К ним относятся хромосомные аномалии, фрагментация ДНК а также неправильные эпигенетические модификации ДНК (такие как ДНК-метилирование, модификации гистонов, сокращение теломер, фиксация гистонов и встраивание протамины в хроматин) [31].

Тот фактор, что мы не обнаружили значительные изменения в ЧФ, а в следствии и в частоте формирования бластоцист высокого качества, таким образом, может рассматриваться в качестве

указания на то, что АОК является наиболее эффективной в улучшении аспектов поздних отцовских эффектов, то есть, ядерных факторов. Это согласуется с предыдущими открытиями, подтверждающими, что АОК может снизить уровень фрагментации ДНК сперматозоидов [40]. Считается, что нарушение ДНК сперматозоидов может быть спровоцировано несколькими механизмами, включая апоптоз во время спермиогенеза, разрывами нитей ДНК во время ремоделирования хроматина спермы, фрагментацией ДНК, вызванной эндогенными каспазами и эндонуклеазами, радиотерапией, химиотерапией, токсинами окружающей среды и ксенобиотиками, нарушениями ДНК, вызванными оксидативным стрессом [31].

Элементы генома сперматозоида, которые являются особо чувствительными к ОС, это - теломеры, а также периферийные сайты ДНК, содержащие гистонсвязанную ДНК (5-15%) [31]. Восприимчивость к оксидативному нарушению является особо высокой у сперматозоидов по сравнению с другими клетками, поскольку сперма теряет большинство цитозольных антиоксидантов во время спермиогенеза и в то же время имеет низкие уровни ферментов восстановления ДНК [31].

Таким образом, мы утверждаем, что прием АОК субфертильными мужчинами может помочь ослабить влияние АФК на сперматозоидов, защитив их при этом от ОС. Это благотворно влияет на успех репродуктивного лечения, поддерживая целостность ДНК и позднее влияние отцовского материала на развитие эмбриона. Корреляция между снижением уровня вакуолизации и частотой формирования бластоцист, указывает на то, что вакуолизация, хотя еще не полностью понятна, может быть неразрывно связанной с ядерными нарушениями. Для клиницистов приведенные в данном исследовании данные не только подтверждают предыдущие исследования [22,41], но и непосредственно подчеркивают корреляцию между вакуолизацией головки сперматозоида и успехом репродуктивного лечения, и дает возможность уменьшить степень вакуолизации и улучшить результаты IVF с помощью антиоксидантных комплексов. Таким образом, мы рекомендуем обращаться к вопросу достаточного приема АОК при консультации и лечении ВРТ-пациентов, преимущественно, если в соответствии с критериями MSOME морфология является нарушенной. То же самое относится к тому случаю, если пациент чувствует, что им не удастся соблюдать рекомендации приема фруктов

и овощей или, если показатели спермограммы не соответствуют критериями ВОЗ, можно обратиться к приему антиоксидантных комплексов.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. WHO (2010) Laboratory manual for the examination and processing of human semen, Fifth Edition.
2. Bartoov B, Berkovitz A, Eltes F (2001) Selection of spermatozoa with normal nuclei to improve the pregnancy rate with intracytoplasmic sperm injection. *N Engl J Med* 345: 1067-1068.
3. Falagario D, Brucculeri AM, Depalo R, Trerotoli P, Cittadini E, et al. (2012) Sperm head vacuolization affects clinical outcome in ICSI cycle. A proposal of a cut-off value. *J Assist Reprod Genet* 29: 1281-1287.
4. Bartoov B, Berkovitz A, Eltes F, Kogosowski A, Menezo Y, et al. (2002) Real time fine morphology of motile human sperm cells is associated with IVF-ICSI outcome. *J Androl* 23: 1-8.
5. Berkovitz A, Eltes F, Ellenbogen A, Peer S, Feldberg D, et al. (2006) Does the presence of nuclear vacuoles in human sperm selected for ICSI affect pregnancy outcome? *Hum Reprod* 21: 1787-1790.
6. Hazout A, Dumont-Hassan M, Junca AM, Cohen Bacrie P, and Tesarik J (2006) High-magnification ICSI overcomes paternal effect resistant to conventional ICSI. *Reprod Biomed Online* 12: 19-25.
7. Antinori M, Licata E, Dani G, Cerusico F, Versaci C, et al. (2008) Intracytoplasmic morphologically selected sperm injection: a prospective randomized trial. *Reprod BioMed Online* 16: 835-841.
8. Vanderzwalmen P, Hiemer A, Rubner P, Bach M, Neyer A, et al. (2008) Blastocyst development after sperm selection at high magnification is associated with size and number of nuclear vacuoles. *Reprod BioMed Online* 17: 617-627.
9. Nadalini M, Tarozzi N, Distratis V, Scaravelli G, Borini A (2009) Impact of intracytoplasmic morphologically selected sperm injection on assisted reproduction outcome: a review. *Reprod Biomed Online* 19: 45-55.
10. Souza Setti A, Ferreira RC, Iaconelli AJ, et al. (2010) Intracytoplasmic sperm injection outcome versus intracytoplasmic morphologically selected sperm injection outcome: a metaanalysis. *Reprod Biomed Online* 21: 450-455.
11. Wogatzky J, Wirleitner B, Stecher A, Vanderzwalmen P, Neyer A, et al. (2012) The combination matters—distinct impact of lifestyle factors on sperm quality: a study on semen analysis of 1683 patients according to MSOME criteria. *Reprod Biol Endocrinol* 10:115.
12. Gaskins AJ, Colaci DS, Mendiola J, Swan SH, Chavarro JE (2012) Dietary patterns and semen quality in young men. *Hum Reprod* 27: 2899-2907.
13. Mínguez-Alarcón L, Mendiola J, López-Espín JJ, Sarabia-Cos L, Vivero-Salmerón G, et al. (2012) Dietary intake of antioxidant nutrients is associated with semen quality in young university students. *Hum Reprod* 27: 2807-2814.
14. Afeiche M, Williams PL, Mendiola J, Gaskins AJ, Jørgensen N, et al. (2013) Dairy food intake in relation to semen quality and reproductive hormone levels among physically active young men. *Hum Reprod* 28: 2265-2275.
15. Chavarro JE, Mínguez-Alarcón L, Mendiola J, Cutillas-Tolin A, López-Espín JJ, et al. (2014) Trans fatty acid intake is inversely related to total sperm count in young healthy men. *Hum Reprod* 29: 429-440.
16. Eisenberg ML, Kim S, Chen Z, Sundaram R, Schisterman EF, et al. (2014) The relationship between male BMI and waist circumference on semen quality: data from the LIFE study. *Hum Reprod* 29: 193-200.
17. Zini A, de Lamirande E, Gagnon C (1993) Reactive oxygen species in semen of infertile patients: levels of superoxide dismutase- and catalase-like activities in seminal plasma and spermatozoa. *Int J Androl* 16: 183-188.
18. Mahfouz R, Sharma R, Thiyagarajan A, Kale V, Gupta S, et al. (2010) Semen characteristics and sperm DNA fragmentation in infertile men with low and high levels of seminal reactive oxygen species. *Fertil Steril* 94: 2141-2146.
19. Kumar R, Venkatesh S, Kumar M, Tanwar M, Shamsi MB, et al. (2009) Oxidative stress and sperm mitochondrial DNA mutation in idiopathic oligoasthenozoospermic men. *Indian J Biochem Biophys* 46: 172-177.
20. Omu AE, Al-Azemi MK, Kehinde EO, Anim JT, Oriowo MA, et al. (2008) Indications of the mechanisms involved in improved sperm parameters by zinc therapy. *Med Princ Pract* 17: 108-116.
21. Balercia G, Buldreggini E, Vignini A, Tiano L, Paggi F et al. (2009) Coenzyme Q10 treatment in infertile men with idiopathic asthenozoospermia: a placebo-controlled, double-blind randomized trial. *Fertil Steril* 91: 1785-1792.
22. Showell MG, Brown J, Yazdani A, Stankiewicz MT, Hart RJ (2011) Antioxidants for male subfertility. *Cochrane Database Syst Rev* (1): CD007411.
23. Ciftci O, Aydin M, Ozdemir I, Vardi N (2012) Quercetin prevents 2,3,7,8 tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced testicular damage in rats. *Andrologia* 3: 164-173.
24. Zini A, Al-Hathal N (2011) Antioxidant therapy in male infertility: fact or fiction? *Asian J Androl* 13: 374-381.
25. Wirleitner B, Vanderzwalmen P, Stecher A, Spitzer D, Schuff M, et al. (2012) Dietary supplementation of antioxidants improves semen quality of IVF patients in terms of motility, sperm count, and nuclear vacuolization. *Int J Vitam Nutr Res* 82: 391-398.
26. Ajayi R, Okhowat J, Spitzer D, Schechinger B, Zech NH (2013) Impact of antioxidative supplementation on semen quality according to MSOME criteria. Improvement of semen parameters by dietary supplement. *JBRA Assist Reprod* 17: 27-31.
27. DelCurto H, Wu G, Satterfield MC (2013) Nutrition and reproduction: links to epigenetics and metabolic syndrome in offspring. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 16: 385-391.
28. Mansour RT, Aboulghar MA, Serour GI, Amin YM, Ramzi AM (1995) The effect of sperm parameters on the outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 64: 982-986.
29. Nagy ZP, Liu J, Joris H, Verheyen G, Tournaye H, et al. (1995) The result of intracytoplasmic sperm injection is not related to any of the three basic sperm parameters. *Hum Reprod* 10: 1123-1129.
30. Svalander P, Jakobsson AH, Forsberg AS, Bengtsson AC, Wikland M (1996) The outcome of intracytoplasmic sperm injection is unrelated to 'strict criteria' sperm morphology. *Hum Reprod* 11: 1019-1022.
31. Kumar M, Kumar K, Jain S, Hassan T, Dada R (2013) Novel insights into the genetic and epigenetic paternal contribution to the human embryo. *Clinics* 68: 5-14.
32. Parinaud J, Mieuisset R, Vieitez G, Labal B, Richoille G (1993) Influence of sperm parameters on embryo quality. *Fertil Steril* 60: 888-892.
33. Shoukir Y, Chardonens D, Campana A, Sakkas D (1998) Blastocyst development from supernumerary embryos after intracytoplasmic sperm injection: a paternal influence? *Hum Reprod* 13: 1632-1637.
34. Tesarik J, Greco E, Mendoza C (2004) Late, but not early, paternal effect on human embryo development is related to sperm DNA fragmentation. *Hum Reprod* 19: 611-615.
35. Krawetz SA (2005) Paternal contribution: new insights and future challenges. *Nat Rev Genet* 6: 633-642.
36. Carrell DT (2008) Contributions of spermatozoa to embryogenesis: assays to evaluate their genetic and epigenetic fitness. *Reprod Biomed Online* 16: 474-84.
37. Matzuk MM, Lamb DJ (2008) The biology of infertility: research advances and clinical challenges. *Nat Med* 14: 1197 - 1213.
38. Sutovsky P, Schatten G (2000) Paternal contributions to the mammalian zygote: fertilization after sperm-egg fusion. *Int Rev Cytol* 195: 1-65.
39. Ostermeier GC, Goodrich RJ, Moldenhauer JS, Diamond MP, Krawetz SA (2005) A suite of novel human spermatozoal RNAs. *J Androl* 26: 70-74.
40. Tunc O, Thompson J, Tremellen K (2009) Improvement in sperm DNA quality using an oral antioxidant therapy. *Reprod Biomed Online* 18: 761-768.
41. Ross C, Morriss A, Khairy M, Khalaf Y, Braude P, et al. (2010) A systematic review of the effect of oral antioxidants on male infertility. *Reprod Biomed Online* 20: 711-723.