

## Фрагментация ДНК сперматозоидов у млекопитающих: причины, методы детекции, диагностика фертильности в условиях радиационного воздействия

Н. Н. Старобор, О. В. Раскоша

Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН,  
г. Сыктывкар  
starobor@ib.komisc.ru  
raskosha@ib.komisc.ru

### Аннотация

Факторы окружающей среды, в том числе радиационной природы, могут оказывать неблагоприятное воздействие на мужское репродуктивное здоровье, поэтому необходимо своевременно оценивать состояние мужских половых клеток. В настоящее время существует настоятельная необходимость в поиске адекватных показателей и методов для оценки качества мужских гамет. Одним из таких надежных показателей мужской фертильности и качества спермы, который отражает целостность генетического материала, является уровень фрагментации ДНК сперматозоидов. В статье с использованием данных литературы рассмотрены причины, последствия и возможные механизмы, приводящие к фрагментации ДНК сперматозоидов у млекопитающих, а также проанализированы основные методы их детекции. Показана диагностическая значимость определения нарушений структуры хроматина при анализе мужского бесплодия и приведены результаты, полученные авторами, которые свидетельствуют о высокой чувствительности SCD-теста (анализ дисперсии хроматина сперматозоидов) при изучении фрагментации ДНК сперматозоидов у полевков-экономок (*Alexandromys oeconomus* Pall.) в условиях хронического воздействия ионизирующего излучения (доза 40 сГр). Таким образом, данные литературы и полученные нами результаты показали, что уровень фрагментации ДНК сперматозоидов является надежным биомаркером мужской фертильности, а SCD-тест может быть рекомендован в качестве чувствительного метода для оценки состояния мужских половых клеток в радиобиологических исследованиях.

### Ключевые слова:

сперматозоиды, фрагментация ДНК, методы детекции, SCD-тест, полевки-экономки, ионизирующее излучение

### Введение

Воздействие неблагоприятных факторов окружающей среды на мужскую репродуктивную систему обуславливает необходимость своевременной оценки качества

## Sperm DNA fragmentation in mammals: etiology, detection, fertility assessment under radiation exposure

N. N. Starobor, O. V. Raskosha

Institute of Biology, Komi Science Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,  
Syktyvkar  
starobor@ib.komisc.ru  
raskosha@ib.komisc.ru

### Abstract

Environmental factors, including radiation-related factors, can adversely affect the male reproductive health, so it is necessary to promptly assess the condition of male germ cells. Currently, there is an urgent need to identify adequate indicators and methods for assessing the quality of male gametes. One such reliable indicator of male fertility and sperm quality, which reflects the integrity of the genetic material, is the level of sperm DNA fragmentation. This article, using literature data, reviews the causes, consequences, and potential mechanisms leading to sperm DNA fragmentation in mammals, as well as analyses the main methods for its detection. The diagnostic significance of assessing chromatin structure abnormalities in the analysis of male infertility is demonstrated. The authors present results indicating the high sensitivity of the SCD test (Sperm Chromatin Dispersion test) in evaluating sperm DNA fragmentation in tundra voles (*Alexandromys oeconomus* Pall.) under conditions of chronic exposure to ionizing radiation (a dose of 40 cGy). Thus, both the literature data and our own findings have demonstrated that sperm DNA fragmentation levels are a reliable biomarker of male fertility. Furthermore, the Sperm Chromatin Dispersion (SCD) test can be recommended as a sensitive method for assessing the condition of male germ cells in radiobiological research.

### Keywords:

spermatozoa, DNA fragmentation, detection methods, SCD test, tundra voles, ionising radiation

половых клеток для предотвращения негативных последствий. Важным параметром качества гамет у млекопитающих является целостность ДНК сперматозоидов [1-6].

В рамках этих исследований большое внимание уделено изучению связи между нарушениями ДНК сперматозоидов и фертильностью особи [5–8], так как для передачи здорового генетического материала необходима интактная ДНК [1–5]. Кроме того, нарушение целостности ДНК сперматозоидов у самцов считается одной из причин трансгенерационных дефектов у их потомства [9, 10]. Следует отметить, что при изучении мужской фертильности нужно оценивать как строение сперматозоидов [11–13], так и их содержимое, поскольку от состояния хроматина мужских половых клеток зависят жизнеспособность и развитие зародыша [5, 8, 14]. Даже при нормальных показателях спермограммы особи могут быть бесплодными, что обуславливает потребность в поиске адекватных критериев и методов оценки качества мужских гамет после действия неблагоприятных факторов окружающей среды, в том числе радиационной природы. Таким критерием является уровень фрагментации ДНК сперматозоидов, который, в отличие от стандартных показателей спермограммы [11], дает более глубокую информацию о фертильности гамет, причем при использовании разных методов детекции [4, 13, 15–20]. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) признала оценку фрагментации ДНК сперматозоидов необходимым элементом скрининга для диагностики причин мужского бесплодия [11].

Целью работы – с использованием данных литературы рассмотреть причины, последствия и основные методы детекции фрагментации ДНК сперматозоидов у млекопитающих, а также апробировать SCD-тест (анализ дисперсии хроматина сперматозоидов) для оценки влияния хронического радиационного воздействия.

#### **Фрагментация ДНК сперматозоидов и ее последствия.**

Термин «фрагментация ДНК сперматозоидов» подразумевает множество дефектов в структуре ДНК, таких как одно- и двухцепочечные разрывы ДНК, микроделеции, анеуплоидию хромосом, модификацию оснований, меж- или внутрицепочечные поперечные связи и ДНК-белковую перекрестную связь, а также нарушения упаковки хроматина [21–23]. В некоторых работах указано, что важное значение имеет вид дефекта ДНК сперматозоидов. Так, одноцепочечные разрывы ДНК, обусловленные окислительным стрессом, приводят к нарушению оплодотворения [4, 16, 24, 25], тогда как двуцепочечные разрывы ДНК, появляющиеся в результате нарушения репарации ДНК в мейозе [25], оказывают более сильное негативное влияние на репродуктивные исходы, препятствуя эмбриональному развитию, имплантации, а также провоцируют элиминацию эмбриона на ранних этапах эмбриогенеза [5, 8, 16, 26–28]. Несмотря на такой широкий перечень генетических нарушений, существуют многочисленные исследования, свидетельствующие о способности к оплодотворению некоторых сперматозоидов с нарушением целостности ДНК [6, 7, 22, 29–31]. При оплодотворении яйцеклетки сперматозоидами с дефектами ДНК аномалии развития эмбрионов могут проявляться на стадии 4–8 бластомеров, поскольку именно с этого момента начинается экспрессия мужского генома в эмбрионах человека [21]. Ряд исследователей считают, что, зная уровень фрагмен-

тации ДНК в сперматозоидах, можно предположить долю эмбрионов с нарушениями в развитии [32]. Так, по данным М. Н. Коршунова с соавторами [33], при уровне фрагментации ДНК сперматозоидов мужчин свыше 30 % доля ранних потерь беременности наблюдается в 28 % случаев. В исследовании [34] выявлено, что при уровне фрагментации ДНК в сперматозоидах мужчин около 20 % значительно увеличивается количество эмбрионов с нарушениями в развитии, уменьшается частота оплодотворений. В работе [35] установлено, что у мужчин при уровне фрагментации ДНК сперматозоидов свыше 15 % частота эмбрионов с нормальным кариотипом составляла 48 %, тогда как при оплодотворении сперматозоидами с низко фрагментированной ДНК – 66 %. Результаты исследования, проведенного *in vitro* [27], показали, что при увеличении уровня фрагментации ДНК в сперматозоидах подопытных самцов мышей линии C57BL/6 на 14 %, по сравнению с контрольными животными, количество нормально развивающихся эмбрионов снизилось на 38 %. В экспериментах на мышах линии C57BL/6N [31] была подтверждена положительная корреляция между повышенным уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов и фертильностью особей. В обзоре [17] приведены значения порогов уровня фрагментации ДНК, проанализированные по структуре хроматина сперматозоидов (метод SCSA), для разных видов животных (свиньи: 6 %, быки: 10–20, лошади: ~28, люди: 25–30 %), превышения которых оказывают негативное влияние на фертильность самцов.

Фрагментация ДНК является важным показателем для оценки качества сперматозоидов [6, 36–39] и считается одним из основных факторов, приводящим к морфологическим дефектам сперматозоидов [2, 13, 14, 19, 38, 40–44]. Так, в работе [38] авторы установили положительную корреляцию между числом сперматозоидов с морфологическими нарушениями (неподвижные сперматозоиды, дефекты головки, дефекты средней части и дефекты хвоста) с уровнем аномальной дисперсии ядерной ДНК сперматозоидов. Показана взаимосвязь высокого процента сперматозоидов с аномалиями головки с повышенной степенью фрагментации ДНК [19, 42], а также между некоторыми параметрами сперматогенеза и уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов [13]. Однако существуют и исследования, в которых корреляция между числом атипичных форм сперматозоидов и уровнем фрагментации ДНК не выявлена [2].

**Причины фрагментации ДНК сперматозоидов.** Сперматозоиды не способны восстанавливать поврежденную ДНК [9, 37, 45], нарушение целостности которой может произойти на любом этапе развития мужских гамет – во время сперматогенеза, спермиогенеза и эпидидимального транзита [23, 37, 46]. К причинам, вызывающим фрагментацию ДНК мужских гамет, относят нарушение созревания хроматина сперматозоидов, нерепарированные повреждения ДНК, дефекты ремоделинга, апоптоз и др. [45, 47–49]. Многие исследователи [4, 9, 33, 39, 50–52] основным фактором, способствующим повреждению ДНК сперматозоидов, считают окислительный стресс, вызванный избыточной продукцией активных форм кислорода (АФК),

в результате наличия низкого уровня ферментативных антиоксидантов [53]. Гиперпродукцию АФК в мужских половых клетках инициирует большое количество различных повреждающих факторов, среди которых основными являются возраст, радиационное воздействие, неблагоприятные факторы окружающей среды [9, 39, 45, 49], что в последующем может привести к апоптозу сперматозоидов [54, 55] либо негативно отразится на их подвижности и акросомальной реакции [9, 52], а также к повышению уровня фрагментации ДНК сперматозоидов [4]. Однако в небольшом количестве АФК продуцируются самими сперматозоидами, поскольку необходимы для регуляции их созревания, усиления клеточных сигнальных путей, а также проникновения в яйцеклетку [52].

Наличие разрывов ДНК сперматозоидов также может быть следствием незавершенного abortивного апоптоза – генетически запрограммированной клеточной гибели, в результате которой происходит сокращение числа сперматогенных клеток на 75 %, а также гибель аномальных сперматозоидов [56–58]. В процессе апоптоза ДНК сперматогенных клеток частично фрагментируется, но при этом они еще сохраняют свою способность дифференцироваться в зрелые и селективно функциональные сперматозоиды, которые будут иметь высокий уровень фрагментированной ДНК даже при нормальной морфологии. Если сперматогенные клетки с нарушением ДНК по каким-то причинам не элиминировались, то в последующем это отражается на увеличении количества зрелых сперматозоидов с поврежденной ДНК [58], поскольку зрелые сперматозоиды не способны завершить апоптоз [5, 59]. В работе [36] авторы высказали интересное предположение, что у мертвых эякулированных сперматозоидов к разрывам ДНК приводят апоптоз и дефекты созревания хроматина, тогда как у жизнеспособных сперматозоидов наличие разрывов ДНК обусловлено окислительным стрессом при их прохождении через мужские половые пути.

Еще одной причиной нарушения целостности ДНК сперматозоидов является переход от нуклеосомной организации хроматина к протаминовой (ремоделинг хроматина), необходимый для уплотнения хроматина и инактивации транскрипции ДНК [5, 59]. Высокая плотность упаковки хроматина обеспечивает защиту ДНК от потенциальных повреждающих воздействий [49, 60]. Однако 85–90 % гистонов в сперматозоидах человека замещаются на протамины, тогда как остальные 10–15 % незамещенных гистонов необходимы для запуска транскрипции сразу после оплодотворения сперматозоидом яйцеклетки [61–63]. В процессе ремоделинга хроматина индукция одно- и двуцепочечных разрывов ДНК сперматозоида происходит в период раскручивания ДНК для удаления гистонов и их замены на протамины. В дальнейшем образовавшиеся разрывы частично репарируются [64–66]. Нерепарированные разрывы ДНК, образовавшиеся во время ремоделинга хроматина, являются одним из источников разрывов ДНК в зрелых сперматозоидах, а их наличие свидетельствует о незавершенном процессе созревания мужской гаметы.

Зрелые сперматозоиды не способны к репарации собственной ДНК, поэтому в норме функция биологического

«ремонта» мужского генома принадлежит яйцеклетке, которая, в отличие от сперматозоида, обладает потенциалом репарации [5, 39, 67] и способна восстановить до 8 % поврежденной ДНК сперматозоида [5, 68, 69]. В случае, если репарация ДНК не произошла (например, наличие двуцепочечных разрывов, превышающих способность яйцеклетки к восстановлению [58, 70], либо физиологическая неполноценность самой яйцеклетки [68, 71]), тогда это приводит к появлению мутаций и делеций, которые обуславливают нарушения в развитии эмбриона либо его элиминацию на разных этапах эмбриогенеза, а также могут являться причиной врожденных патологических состояний [5, 8–10].

**Методы оценки уровня фрагментации ДНК сперматозоидов.** В настоящее время применяют несколько методов оценки уровня фрагментации ДНК сперматозоидов. В шестом издании ВОЗ [11] все тесты на фрагментацию ДНК сперматозоидов внесены в список расширенных методов для установления причин нарушения мужской фертильности и детально описаны. Наиболее распространенными методами являются гель-электрофорез одиночных клеток (анализ ДНК-комет), метод ник-конца dUTP, опосредованный терминальной дезоксирибонуклеотидтрансферазой (TUNEL), анализ структуры хроматина сперматозоидов (SCSA) и анализ дисперсии хроматина сперматозоидов (SCD или Halo тест). Эти методы различаются по уровню сложности в их проведении, стоимости и типу измеряемого разрыва цепи ДНК. Анализы TUNEL и ДНК-комет непосредственно оценивают наличие одно- и/или двуцепочечных разрывов в ДНК, тогда как методы SCSA и SCD определяют восприимчивость хроматина к обработке кислотой. Пороговые значения этих методов будут специфичны для каждого анализа [там же].

**Метод TUNEL** (*terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick end labeling*) на сегодняшний день самый популярный анализ для оценки фрагментации ДНК, который относится к прямым способам, т. е. определяет одно- и двуцепочечные разрывы ДНК [72]. Он позволяет количественно оценить включение дезоксирибонуклеотидтрифосфата (dUTP) в 3'-ОН концевые фрагменты одно- и двуцепочечных разрывов ДНК, которые в последующем регистрируются при помощи флуоресцентной и световой микроскопии [19, 72, 73]. Для регистрации участков с разрывами ДНК используют флуорохромный краситель – флуоресцеин. Для расчетов применяют процент TUNEL-позитивно окрашенных клеток [37]. Число разрывов ДНК прямо пропорционально числу встроенных dUTP. Метод TUNEL широко используется для оценки фрагментации ДНК сперматозоидов как индикатора при клинических исследованиях мужской фертильности [74]. Данный метод позволяет оценить очень большое количество клеток, тем самым повышая воспроизводимость и точность анализа, обладает низкой вариабельностью полученных результатов, а также может применяться при малом числе сперматозоидов [37]. Однако основными недостатками метода являются необходимость специального оборудования, сложность выполнения, а также высокая стоимость [19, 37]. Кроме того, анализ TUNEL не позволяет количественно оценить степень фрагментации ДНК внутри данной клет-

ки, поскольку он подсчитывает только количество клеток в популяции с фрагментацией ДНК как TUNEL-положительных клеток [46]. Популярность данного метода оправдана хорошими параметрами контроля качества [37].

**Метод ДНК-комет (Comet Assay)** применяется для определения уровня фрагментации (одно- и двуцепочечных разрывов) ДНК и является стандартизованным на международном уровне. Данный метод позволяет определить содержание высоко- и низкомолекулярной ДНК при электрофорезе отдельных клеток (*single cell gel electrophoresis*), иммобилизованных в агарозный гель [75]. После окрашивания флуоресцентным красителем полученное изображение напоминает комету с головой, включающую неповрежденную ДНК, и хвостом, состоящим из одно- и двуцепочечных фрагментов ДНК [76], при этом длина хвоста зависит от степени фрагментации ДНК. Анализ ДНК-комет проводят в нейтральной или щелочной среде. В нейтральной версии метода измеряются только ДНК с двуцепочечными разрывами, тогда как в щелочной версии обнаруживаются одно- и двуцепочечные разрывы, а также щелочно-лабильные участки [72]. Степень повреждений ДНК в сперматозоидах определяют при расчете значений длины и интенсивности флуоресценции «хвоста кометы» [16, 77]. Анализ ДНК-комет относительно недорог и является одним из наиболее чувствительных методов измерения фрагментации ДНК. Однако он имеет высокий уровень межлабораторных вариаций и, следовательно, не рекомендуется для рутинного клинического скрининга, но показал свою ценность в исследовательских целях [19, 78]. Клиническое значение этого анализа для оценки мужского бесплодия было продемонстрировано рядом авторов [17, 29, 79].

**Метод SCSA (sperm chromatin structure assay, анализ структуры хроматина сперматозоидов)**, предложенный D. P. Evenson с коллегами [80], является наиболее часто используемым тестом для характеристики степени фрагментации ДНК (%) сперматозоидов. После окрашивания полученной суспензии сперматозоидов акридиновым оранжевым одноцепочечная ДНК (фрагментированная) флуоресцирует красным цветом, а двуцепочечная (интактная) ДНК – зеленым [81–83]. Оценка уровня фрагментации ДНК сперматозоидов, измеряемая с помощью данного метода, в исследованиях по мужской репродукции применяется в течение более длительного периода времени по сравнению с традиционными параметрами оценки сперматозоидов [84, 85]. Основными преимуществами метода являются его высокая чувствительность и специфичность, возможность подсчета большого количества сперматозоидов с помощью проточной цитометрии, объективность количественного анализа ДНК. К недостаткам относят необходимость специального оборудования и высокую стоимость, а также влияние лабораторных факторов на результаты, которые вызывают большие различия между повторами [19, 86]. SCSA-анализ, как и TUNEL-метод, не дает информации о степени фрагментации ДНК в отдельных сперматозоидах [87], а определяет только процент сперматозоидов с фрагментацией ДНК. Так, уровень фрагментации ДНК сперматозоидов, установленный

методом SCSA у самцов трех видов мышей: *Mus musculus*, *M. spretus* и *M. spicilegus*, варьировал от 0,35 до 1,38 % [88]. По данным [18], метод SCSA является более чувствительным, чем тест TUNEL.

**SCD-тест (Sperm chromatin dispersion test, анализ дисперсии хроматина сперматозоидов)** основан на том, что сперматозоиды, погруженные в агарозную матрицу на предметном стекле, после проведения кислотной денатурации и удаления ядерных протеинов в лизирующем растворе, с фрагментированной ДНК не образуют ореолы из рассеянных петель ДНК, который наблюдается у сперматозоидов с нативной ДНК [89, 90]. Образовавшиеся ореолы соответствуют расслабленным петлям ДНК, прикрепленным к остаточной ядерной структуре, и высвобождаются после удаления ядерных белков. Разрывы ДНК чувствительны к денатурации, вследствие чего образование ореолов у сперматозоидов с поврежденной ДНК не происходит [11]. Эти результаты были подтверждены методом обнаружения разрывов ДНК и флуоресцентной гибридизацией *in situ*, при которой ограниченные одноцепочечные мотивы ДНК, образующиеся в результате разрывов ДНК, могут быть обнаружены и оценены количественно [91]. Особенностью SCD-теста является возможность разделения клеток на категории по степени ФДС в зависимости от размера ореола [11, 90, 92]. В классе сперматозоидов с фрагментированной ДНК выделяют подкласс сперматозоидов, называемых деградированными, с неравномерно и/или слабо окрашенным ядром. В работе [93] при помощи двумерного кометного анализа установлено, что деградировавшие сперматозоиды содержат массивные как дву-, так и одноцепочечные разрывы ДНК и представляют собой субпопуляцию гамет с более сильным ядерным повреждением, затрагивающим как ДНК, так и белковые фракции. Предложенная обработка клеток позволяет сохранять хвосты сперматозоидов, что дает возможность отличить их от других клеток-загрязнителей [94, 95]. Тест не требует использования сложного оборудования. Анализировать клетки можно как на флуоресцентном, так на световом микроскопах после окрашивания сперматозоидов соответствующими красителями [93, 96]. Несмотря на простоту использования, известны некоторые ограничения данного метода, например, в работе [37] сообщается, что при этом анализе могут быть обнаружены нуклеотиды низкой плотности, которые более тусклые и менее контрастные по изображению, вследствие чего периферическую границу гало сложнее отличить от фона.

**Применение SCD-теста для диагностика мужской фертильности в условиях радиационного воздействия.** Мы апробировали SCD-тест в наших исследованиях при оценке уровня фрагментации ДНК сперматозоидов у полевок-экономок (*Alexandromys oeconomus* Pall.), подвергнутых хроническому воздействию ионизирующего излучения. Следует отметить, что результаты по уровню фрагментации ДНК мужских гамет у полевок-экономок, в том числе после радиационного воздействия, в мировой литературе отсутствуют. Выбор нами SCD-теста для диагностики мужской фертильности в условиях радиационного воздействия был обусловлен тем, что в клиниче-

ских исследованиях данный метод успешно применяется в качестве экспресс-теста для повышения результативности традиционных методов исследований при выявлении причин мужского бесплодия, в тех случаях, когда большинство данных спермограммы соответствует нормальным показателям [19, 97]. Кроме того, ряд исследователей считают его самым чувствительным методом. Так, например, в работе [22] при анализе доли сперматозоидов с повреждением ДНК у бесплодных мужчин установлена более высокая (в два раза) чувствительность SCD-теста по сравнению с TUNEL. Авторы объясняют полученные результаты особенностями применяемых методов; обнаружение разрывов ДНК при помощи TUNEL-метода ограничено из-за высокого уплотнения хроматина, тогда как стадия лизиса в SCD-методе облегчает нахождение поврежденных ДНК. В работах [4, 28, 38, 43, 98] также имеются указания на то, что результаты по определению уровня фрагментации ДНК сперматозоидов, полученные с помощью SCD-метода, сопоставимы с наиболее стандартизированным тестом – SCSA, применяемым в различных исследовательских центрах [99]. В работах [15, 16, 91, 100, 101] была установлена корреляция значений уровня фрагментации ДНК сперматозоидов, полученными с помощью SCD-теста с двумя цитометрическими методами анализа (TUNEL и SCSA). В работе [98] показано, что SCD-тест является высокоточным методом для оценки корреляции между клиническими результатами ЭКО и мужским бесплодием.

Самцов полевок-экономок (n=12) опытной и контрольной групп содержали в виварии в Научной коллекции экспериментальных животных Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН (<http://www.ckr-rf.ru/usu/471933/>) с соблюдением санитарных норм и правил. Все манипуляции с животными проводили в соответствии с требованиями Директивы Европейского сообщества 86/609 ЕЕС. Самцов опытной группы подвергали хроническому низкоинтенсивному гамма-излучению в течение 75 дней с мощностью дозы 225 мкЗв/ч от источника <sup>137</sup>Cs на установке хронического облучения биологических объектов «Фотон» (Россия), накопленная доза составила 40 сГр (рисунок). Животные контрольной группы находились в идентичных условиях при нормальном радиационном фоне. SCD-тест проводили по методикам [94, 95]. Предложенная авторами обработка клеток позволяет сохранять хвосты сперматозоидов (на рисунке указан стрелкой), отличающие их от других клеток. В программе AxioVision LE (ув. 10 × 40) с каждого препарата при помощи микроскопа (Axio Scope. A1) и фотокамеры AxioCam ERs 5s фотографировали по 500 клеток, согласно рекомендации [90, 91]. Измерения размеров ореола и ядра сперматозоида проводили в программе ImageJ с открытым исходным кодом (<http://imagej.nih.gov/ij/download.html>, США) (рисунок). Результаты, полученные с помощью SCD-теста, показали, что уровень фрагментации ДНК сперматозоидов у самцов полевок-экономок после гамма-излучения в дозе в 40 сГр статистически значимо превышал контрольное значение (контроль – 0,4±0,2 %, опыт – 9,7 ± 0,9 %; p ≤ 0,001 (критерий Манна-Уитни)).

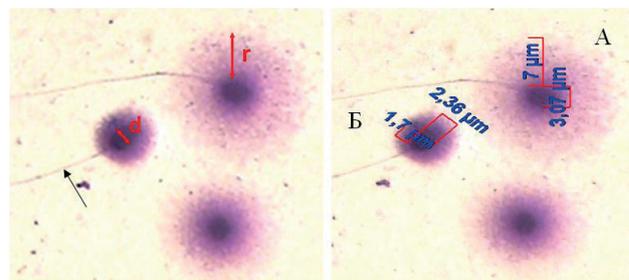


Рисунок. Сперматозоиды полевок-экономок после гамма-облучения в дозе 40 сГр (SCD-тест) (увеличение ок. 10 × об. 40; окраска – по Романовскому-Гимза).

Условные обозначения. r – ширина ореола; d – наименьший диаметр ядра; А – сперматозоид с большим ореолом (с нефрагментированной ДНК); Б – сперматозоид с маленьким ореолом (с фрагментированной ДНК).

Figure. Spermatozoa of tundra voles after gamma irradiation at a dose of 40 cGy (SCD test) (magnification 400x; Romanowsky-Giemsa staining).

Keys. r – halo width; d – smallest nucleus diameter; А – spermatozoon with a large halo (non-fragmented DNA); Б – spermatozoon with a small halo (fragmented DNA).

## Заключение

Таким образом, обзор данных литературы и полученные нами результаты показали, что уровень фрагментации ДНК сперматозоидов является надежным биомаркером мужской фертильности. Однако к настоящему времени не существует единых подходов при выборе метода для диагностики фрагментации ДНК сперматозоидов, что приводит к противоречивости результатов исследований и сложностям при их сопоставлении между собой. Тем не менее в научном сообществе укрепляется позиция о том, что анализ фрагментации ДНК сперматозоидов следует проводить в качестве эффективного шага в исследовании мужской фертильности, что позволяет выявлять возможную причину бесплодия, в том числе при нормальных показателях спермограммы. Этот подход нашел официальное подтверждение в шестом руководстве ВОЗ, которое включило данные тесты в число расширенных методов диагностики, рекомендовав устанавливать референсные значения на основе собственной практики лабораторий и наличия контрольных групп. Результаты нашего исследования напрямую подтверждают целесообразность этого подхода: SCD-тест продемонстрировал высокую чувствительность при изучении фрагментации ДНК сперматозоидов у животных в условиях хронического низкоинтенсивного действия ионизирующего излучения, что позволяет рекомендовать его в качестве стандартного метода оценки мужской фертильности в радиобиологических исследованиях.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Литература

1. Paternal influence of sperm DNA integrity on early embryonic development / L. Simon, K. Murphy, M. B. Shamsi [et al.] // *Human Reproduction*. – 2014. – Vol. 29, № 11. – P. 2402–2412. – DOI: 10.1093/humrep/deu228
2. Investigation on the origin of sperm morphological defects: oxidative attacks, chromatin immaturity, and DNA

- fragmentation / A. Oumaima, A. Tesnim, H. Zohra [et al.] // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2018. – Vol. 25. – P. 13775–13786. – DOI: 10.1007/s11356-018-1417-4
3. ДНК фрагментация сперматозоидов при бесплодии. Обзор литературы / Л. К. Айткожина, Т. К. Кудайбергенов, Х. М. Бикташева [и др.] // *Проблемы репродукции*. – 2019. – Т. 1, № 38. – С. 25–29.
  4. Javed, A. Evaluation of sperm DNA fragmentation using multiple methods: a comparison of their predictive power for male infertility / A. Javed, M. S. Talkad, M. K. Ramaiah // *Clinical and Experimental Reproductive Medicine*. – 2019. – Vol. 46, № 1. – P. 14–21. – DOI: 10.5653/cerm.2019.46.1.14
  5. Структурные нарушения хроматина сперматозоидов. Патологические аспекты. Клиническая значимость / М. Н. Коршунов, Е. С. Коршунова, П. С. Кызласов [и др.] // *Вестник урологии*. – 2021. – № 9. – С. 95–104. – DOI: 10.21886/2308-6424-2021-9-1-95-104
  6. Sperm DNA fragmentation: unraveling its imperative impact on male infertility based on recent evidence / S. Stavros, A. Potiris, E. Molopodi [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2024. – Vol. 25. – P. 1–13. – DOI: 10.3390/ijms251810167
  7. Авадиева, Н. Э. Применение ДНК фрагментации спермы в андрологической практике / Н. Э. Авадиева // *Вестник урологии*. – 2019. – Т. 7, № 1. – С. 7–11. – DOI: 10.21886/2308-6424-2019-7-1-7-11
  8. Sperm DNA fragmentation: a new guideline for clinicians / A. Agarwal, A. Majzoub, S. Baskaran [et al.] // *World Journal in Mens Health*. – 2020. – Vol. 38. – P. 412–471. – DOI: 10.5534/wjmh.200128
  9. Oxidative stress and male reproductive health / R. J. Aitken, T. B. Smith, M. S. Jobling [et al.] // *Asian Journal of Andrology*. – 2014. – Vol. 16, № 1. – P. 31–38. – DOI: 10.4103/1008-682X.122203
  10. Measuring sperm DNA fragmentation and clinical outcomes of medically assisted reproduction: a systematic review and meta-analysis / M. Cissen, M. van Wely, I. Scholten [et al.] // *PLoS One*. – 2016. – Vol. 11, № 11. – P. e0165125. – DOI: 10.1371/journal.pone.0165125
  11. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen // *World Health Organization*: [website]. – 2021. – 27 July. – URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240030787>
  12. Makhlof, A. A. DNA integrity tests in clinical practice: it is not a simple matter of black and white (or red and green) / A. A. Makhlof, C. Niederberger // *Journal of Andrology*. – 2006. – Vol. 27. – P. 316–323. – DOI: 10.2164/jandrol.05217
  13. Фрагментация ДНК сперматозоидов: связь с параметрами сперматогенеза у молодых мужчин / Л. В. Осадчук, Д. А. Татару, Н. Н. Кузнецова [и др.] // *Урология*. – 2016. – № 6. – С. 118–123.
  14. Cho, C. L. Role of sperm DNA fragmentation in male factor infertility: a systematic review / C. L. Cho, A. Agarwal // *Arab Journal of Urology*. – 2017. – Vol. 16, № 1. – P. 21–34. – DOI: 10.1016/j.aju.2017.11.002
  15. Comparison of chromatin assays for DNA fragmentation evaluation in human sperm / K. R. Chohan, J. T. Griffin, M. Lafromboise [et al.] // *Journal of Andrology*. – 2006. – Vol. 27. – P. 53–59. – DOI: 10.2164/jandrol.05068
  16. Comprehensive analysis of sperm DNA fragmentation by five different assays: TUNEL assay, SCSA, SCD test and alkaline and neutral Comet assay / J. Ribas-Maynou, A. García-Peiro, A. Fernandez-Encinas [et al.] // *Andrology*. – 2013. – Vol. 1, № 5. – P. 715–722. – DOI: 10.1111/j.2047-2927.2013.00111.x
  17. Evenson, D. P. The Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA®) and other sperm DNA fragmentation tests for evaluation of sperm nuclear DNA integrity as related to fertility / D. P. Evenson // *Animal Reproduction Science*. – 2016. – Vol. 169. – P. 56–75. – P. 1–20. – DOI: 10.1016/j.anireprosc
  18. Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA®) and flow cytometry-assisted TUNEL assay provide a concordant assessment of sperm DNA fragmentation as a function of age in a large cohort of approximately 10,000 patients / P. Behdarvandian, A. Nasr-Esfahani, M. Tavalaee [et al.] // *Basic and Clinical Andrology*. – 2023. – Vol. 33, № 33. – P. 1–11. – DOI: 10.1186/s12610-023-00208-9
  19. Нарушения структуры хроматина сперматозоидов: клиническое значение, причины, диагностика, лечение (обзор литературы) / В. А. Божедомов, И. В. Виноградов, Н. А. Липатова [и др.] // *Проблемы репродукции*. – 2012. – № 5. – С. 76–84.
  20. Evenson, D. P. Evaluation of sperm chromatin structure and DNA strand breaks is an important part of clinical male fertility assessment / D. P. Evenson // *Translational Andrology and Urology*. – 2017. – Vol. 6, № 4. – P. 495–500. – DOI: 10.21037/tau.2017.07.20
  21. Мужское бесплодие и нарушение структурной организации хроматина сперматозоидов. Существует ли связь? / О. А. Воробьева, А. В. Воскресенская, А. А. Одинцов [и др.] // *Проблемы репродукции*. – 2005. – № 6. – С. 56–62.
  22. Feijó, C. M. Diagnostic accuracy of sperm chromatin dispersion test to evaluate sperm deoxyribonucleic acid damage in men with unexplained infertility / C. M. Feijó, S. C. Esteves // *Fertility and Sterility*. – 2014. – Vol. 101, № 1. – P. 58–63. – DOI: 10.1016/j.fertnstert.2013.09.002
  23. Фрагментация ДНК сперматозоидов: клиническая значимость, причины, методы оценки и коррекции / С. Ю. Боровец, В. А. Егорова, А. М. Гзгзян [и др.] // *Урологические ведомости*. – 2020. – Т. 10, № 2. – С. 173–180. – DOI: 10.17816/uroved102173-180
  24. Relationship between varicocele and sperm DNA damage and the effect of varicocele repair: a meta-analysis / Y. J. Wang, R. Q. Zhang, Y. J. Lin [et al.] // *Reproductive BioMedicine Online*. – 2012. – Vol. 25, № 3. – P. 307–314. – DOI: 10.1016/j.rbmo.2012.05.002
  25. Application of the comet assay for the evaluation of DNA damage in mature sperm / G. Gajski, S. Ravlić, R. Godschalk [et al.] // *Mutation Research*. – 2021. – Vol. 788. – P. 1–20. – DOI: 10.1016/j.mrrrev.2021.108398

26. The spectrum of DNA damage in human sperms assessed by single cell gel electrophoresis (Comet assay) and its relationship to fertilization and embryo development / I. D. Morris, S. Iltott, L. Dixon [et al.] // *Human Reproduction*. – 2002. – № 17. – P. 990–998. – DOI:10.1093/humrep/17.4.990
27. Effects of cryopreservation on sperm quality, nuclear DNA integrity, in vitro fertilization, and in vitro embryo development in the mouse / C. Yildiz, P. Ottaviani, N. Law [et al.] // *Reproduction*. – 2007. – Vol. 133. – P. 585–595. – DOI:10.1530/REP-06-0256
28. Gosalvez, J. Sperm chromatin dispersion (SCD) test: technical aspects and clinical applications / J. Gosalvez, C. Lopez-Fernandez, J. L. Fernandez // In: A. Zini, A. Agarwal, editors. *Sperm DNA damage: biological and clinical applications in male infertility and assisted reproduction*. – New York : Springer US, 2011. – P. 151–170.
29. Sperm DNA damage output parameters measured by the alkaline Comet assay and their importance / L. Simon, K. I. Aston, B. R. Emery [et al.] // *Andrologia*. – 2016. – Vol. 49, № 2. – P. 1–12. – DOI: 10.1111/and.12608
30. Hamilton, T. R. S. Sperm DNA fragmentation: causes and identification / T. R. S. Hamilton, M. E. O. D. Assumpção // *Zygote*. – 2019. – Vol. 28, Iss. 1. – P. 1–8. – DOI: 10.1017/S0967199419000595
31. Li, Ming-Wen. DNA fragmentation index (DFI) as a measure of sperm quality and fertility in mice / Ming-Wen Li, K. C. K. Lloyd // *Scientific Reports*. – 2020. – Vol. 10, № 3833. – P. 1–11. – DOI: 10.1038/s41598-020-60876-9
32. Pregnancy prediction by free sperm DNA and sperm DNA fragmentation in semen specimens of IVF/ICSI-ET patients / T. Bounartzi, K. Dafopoulos, G. Anifantis [et al.] // *Human Fertility*. – 2016. – Vol. 19, № 1. – P. 56–62. – DOI: 10.3109/14647273.2016.115762919
33. Коршунов, М. Н. Прогностическая ценность показателя ДНК-фрагментации сперматозоидов в успехе программ вспомогательных репродуктивных технологий / М. Н. Коршунов, Е. С. Коршунова, С. П. Даренков. – *Экспериментальная и клиническая урология*. – 2017. – № 3. – С. 70–76.
34. DNA fragmentation of normal spermatozoa negatively impacts embryo quality and intracytoplasmic sperm injection outcome / C. Avendano, A. Franchi, H. Duran [et al.] // *Fertility and Sterility*. – 2010. – Vol. 94, № 2. – P. 549–557. – DOI: 10.1016/j.fertnstert.2009.02.050
35. Результаты преимплантационного генетического скрининга эмбрионов у супружеских пар с фрагментацией ДНК сперматозоидов / Ю. Ю. Киселева, М. М. Азова, Т. А. Кодылева [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 2017. – № 8. – С. 104–108. – DOI: 10.18565/aig.2017.8.104-8
36. Sperm DNA fragmentation: mechanisms of origin / M. Muratori, S. Marchiani, L. Tamburrino [et al.] // *Genetic Damage in Human Spermatozoa. Advances in Experimental Medicine and Biology*. – 2019. – Vol. 1166. – P. 78–85. – DOI: 10.1007/978-3-030-21664-1\_5
37. Simon, L. Sperm DNA fragmentation: consequences for reproduction / L. Simon, B. Emery, D. T. Carrell // *Advances in Experimental Medicine and Biology*. – 2019. – Vol. 1166. – P. 87–105. – DOI: 10.1007/978-3-030-21664-1\_6
38. Relationship between sperm morphology and sperm DNA dispersion / J. Jakubik-Uljasz, K. Gill, A. Rosiak-Gill [et al.] // *Translational Andrology and Urology*. – 2020. – Vol. 9, № 2. – P. 405–415. – DOI: 10.21037/tau.2020.01.31
39. Епанчинцева, Е. А. Индекс фрагментации ДНК сперматозоидов – необходимость для современной клинической практики / Е. А. Епанчинцева, В. Г. Селятицкая, В. А. Божедомов // *Андрология и генитальная хирургия*. – 2020. – Т. 21, № 1. – С. 14–21. – DOI: 10.17650/2070-9781-2020-21-1-14-21
40. Does sperm DNA fragmentation correlate with semen parameters? / M. T. Le, T. A. T. Nguyen, H. T. T. Nguyen [et al.] // *Reproductive Medicine and Biology*. – 2019. – Vol. 18. – P. 390–396. – DOI: 10.1002/rmb2.12297
41. The relationship between isolated teratozoospermia, sperm DNA fragmentation and inflammatory biomarkers: findings from a cross-sectional study / L. Boeri, P. Capogrosso, W. Cazzaniga [et al.] // *The Journal of Urology*. – 2020. – Vol. 203. – P. e400–e401. – DOI: 10.1097/JU.0000000000000865.03
42. Das, S. K. Effect of sperm DNA fragmentation on blastocyst formation rate and subsequent IVF outcome / S. K. Das, K. Kalita // *International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology*. – 2022. – Vol. 11, № 2. – P. 385–390. – DOI: <https://doi.org/10.18203/2320-1770.ijrcog20220054>
43. Значение индекса ДНК-фрагментации в диагностике мужской инфертильности / Л. В. Батуревич, И. Д. Шилейко, Л. И. Алехнович [и др.] // *Лабораторная диагностика. Восточная Европа*. – 2022. – Т. 11, № 1. – С. 30–37. – DOI: 10.34883/PI.2022.11.1.013
44. Relationship between spermatogenesis, DNA fragmentation index, and teratozoospermia index / J. M. Budiharto, R. Margiana, W. William [et al.] // *International Journal of Health Sciences*. – 2022. – Vol. 6, № 3. – P. 1827–1837. – DOI: 10.53730/ijhs.v6n3.5808
45. Saghaei, H. Sperm DNA damage in mice irradiated with various doses of X-rays alone or in combination with actinomycin D or bleomycin sulfate: an in vivo study / H. Saghaei, H. Mozdarani, A. Mahmoudzadeh // *International Journal of Radiation Research*. – 2019. – Vol. 17, № 2. – P. 317–323. – DOI: 10.18869/acadpub.ijrr.17.2.317
46. Shamsi, M. B. Evaluation of nuclear DNA damage in human spermatozoa in men opting for assisted reproduction / M. B. Shamsi, R. Kumar, R. Dada // *Indian Journal of Medical Research*. – 2008. – Vol. 127, № 2. – P. 115–123.
47. Zeng, F. Transcript profiling during preimplantation mouse development / F. Zeng, D. A. Baldwin, R. M. Schultz // *Developmental Biology*. – 2004. – Vol. – 272, № 2. – P. 483–496. – DOI: 10.1016/j.ydbio.2004.05.018
48. Impact of radio frequency electromagnetic radiation on DNA integrity in the male germline / R. J. Aitken, L. E. Bennetts, D. Sawyer [et al.] // *International Journal of Andrology*. – 2005. – Vol. 28, № 3. – P. 171–179. – DOI: 10.1111/j.1365-2605.2005.00531.x

49. Effect of ionizing radiation on the male reproductive system / A. Wdowiak, M. Skrzypek, M. Stec [et al.] // *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. – 2019. – Vol. 26, № 2. – P. 210–216. – DOI: 10.26444/aaem/106085
50. Cho, C. L. Novel insights into the pathophysiology of varicocele and its association with reactive oxygen species and sperm DNA fragmentation / C. L. Cho, S. C. Esteves, A. Agarwal // *Asian Journal of Andrology*. – 2016. – Vol. 8. – P. 186–193. – DOI: 10.4103/1008-682X.170441
51. Oxidative stress status and sperm DNA fragmentation in fertile and infertile men / M. Dorostghoal, S. R. Kazeminejad, N. Shahbazian [et al.] // *Andrologia*. – 2017. – Vol. 49, № 10. – DOI: 10.1111/and.12762
52. Role of oxidative stress, infection and inflammation in male infertility / A. Agarwal, M. Rana, E. Qiu [et al.] // *Andrologia*. – 2018. – Vol. 50, № 11. – e13126. – DOI: 10.1111/and.13126
53. Barazani, Y. Functional sperm testing and the role of proteomics in the evaluation of male infertility / Y. Barazani, A. Agrawal, E. S. Jr. Sabanegh // *Urology*. – 2014. – Vol. 84, № 2. – P. 255–261. – DOI: 10.1016/j.urolgy.2014.04.043
54. Agarwal, A. Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility / A. Agarwal, T. M. Said // *Human Reproduction Update*. – 2003. – Vol. 9. – P. 331–345. – DOI: /10.1093/humupd/dmg027
55. Aitken, R. J. On the possible origins of DNA damage in human spermatozoa / R. J. Aitken, G. N. De Iuliis // *Molecular Human Reproduction*. – 2010. – Vol. 16, № 1. – P. 3–13. – DOI: 10.1093/molehr/gap059
56. Expression of Bcl-2 family proteins and spontaneous apoptosis in normal human testis / N. B. Oldereid, P. D. Angelis, R. Wiger [et al.] // *Molecular Human Reproduction*. – 2001. – Vol. 7, № 5. – P. 403–408. – DOI: 10.1093/molehr/7.5.403
57. DNA damage and repair in human reproductive cells / A. García-Rodríguez, J. Gosálvez, A. Agarwal [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2018. – Vol. 20, № 1. – P. 1–22. – DOI: 10.3390/ijms20010031
58. Society for translational medicine: clinical practice guidelines for sperm DNA fragmentation testing in male infertility / A. Agarwal, C. L. Cho, A. Majzoub [et al.] // *Translational Andrology and Urology*. – 2017. – Vol. 6. – P. 720–733. – DOI: 10.21037/tau.2017.08.06
59. Фрагментация ДНК в сперматозоидах и ее взаимосвязь с нарушением сперматогенеза / С. А. Руднева, Е. Е. Брагина, Е. А. Арифулин [и др.] // *Андрология и генитальная хирургия*. – 2014. – Т. 15, № 4. – С. 26–33. – DOI: 10.17650/2070-9781-2014-4
60. Direct and delayed X-ray-induced DNA damage in male mouse germ cells / E. Cordelli, P. Eleuteri, M. G. Grollino [et al.] // *Environmental and Molecular Mutagenesis*. – 2012. – Vol. 53, № 6. – P. 429–439. – DOI:10.1002/em.21703
61. DNA and total protamine masses in individual sperm from fertile mammalian subjects / G. S. Bench, A. M. Friz, M. H. Corzett [et al.] // *Cytometry*. – 1996. – Vol. 23. – № 4. – P. 263–271. – DOI: 10.1002/(SICI)1097-0320(19960401)23:4<263::AID-CYTO1>3.0.CO;2-I
62. Oliva, R. Proteomics and the genetics of sperm chromatin condensation / R. Oliva, J. Castillo // *Asian Journal of Andrology*. – 2011. – Vol. 13, № 1. – P. 24–30. – DOI: 10.1038/aja.2010.65
63. Human sperm chromatin epigenetic potential: genomics, proteomics, and male infertility / J. Castillo, J. M. Estanyol, J. L. Ballescá [et al.] // *Asian Journal of Andrology*. – 2015. – Vol. 17, № 4. – P. 601–609. – DOI:10.4103/1008-682X.153302
64. Boissonneault, G. Chromatin remodeling during spermiogenesis: a possible role for the transition proteins in DNA strand break repair / G. Boissonneault // *FEBS Letters*. – 2002. – Vol. 514, № 2–3. – P. 111–114. – DOI: 10.1016/s0014-5793(02)02380-3
65. Gunes, S. Spermatogenesis, DNA damage and DNA repair mechanisms in male infertility / S. Gunes, M. Al-Sadaan, A. Agarwal // *Reprod Biomed Online*. – 2015. – Vol. 31, № 3. – P. 309–319. – DOI: 10.1016/j.rbmo.2015.06.010
66. Santi, D. Sperm DNA fragmentation index as a promising predictive tool for male infertility diagnosis and treatment management – meta-analyses / D. Santi, G. Spaggiari, M. Simoni // *Reproductive Biomedicine Online*. – 2018. – Vol. 37, № 3. – P. 315–326. – DOI: 10.1016/j.rbmo.2018.06.023
67. Leem, J. The capacity to repair sperm DNA damage in zygotes is enhanced by inhibiting WIP1 activity / J. Leem, G-Y. Bai, J. S. Oh // *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. – 2022. – Vol. 10. – P. 841327. – DOI: 10.3389/fcell.2022.841327
68. Setti, A. S. Oocyte ability to repair sperm DNA fragmentation: the impact of maternal age on intracytoplasmic sperm injection outcomes / A. S. Setti, D. P. de A. F. Braga [et al.] // *Fertility and Sterility*. – 2021. – Vol. 116, № 1. – P. 123–129. – DOI: 10.1016/j.fertnstert.2020.10.045
69. Perspective in the mechanisms for repairing sperm DNA damage / N. Li, H. Wang, S. Zou [et al.] // *Reproductive Sciences*. – 2025. – Vol. 32. – P. 41–51. – DOI: 10.1007/s43032-024-01714-5
70. A systematic review and meta-analysis to determine the effect of sperm DNA damage on in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection outcome / L. Simon, A. Zini, A. Dyachenko [et al.] // *Asian Journal of Andrology*. – 2017. – Vol. 19, № 1. – P. 80–90. – DOI: 10.4103/1008-682X.182822
71. Ye, D. Effects of sperm DNA fragmentation on embryo morphokinetic parameters and laboratory outcomes in women of different ages during intracytoplasmic sperm treatment cycles / D. Ye, Z. Ye, H. Zhang // *Archives of Gynecology and Obstetrics*. – 2025. – Vol. 312, № 1. – P. 191–196. – DOI: 10.1007/s00404-025-07949-0
72. Clinical relevance of sperm DNA damage in assisted reproduction / N. Tarozzi, D. Bizzaro, C. Flamigni [et al.] // *Reproductive Biomedicine Online*. – 2007. – Vol. 14, № 6. – P. 746–757. – DOI: 10.1016/s1472-6483(10)60678-5
73. TUNEL assay and SCSA determine different aspects of sperm DNA damage / R. Henkel, C. F. Hoogendijk, P.

- J. Bouic [et al.] // *Andrologia*. – 2010. – Vol. 42, № 5. – P. 305–313. – DOI: 10.1111/j.1439-0272.2009.01002.x
74. Sperm DNA fragmentation: threshold value in male fertility / M. Sergerie, G. Laforest, L. Bujan [et al.] // *Human Reproduction*. – 2005. – Vol. 20, № 12. – P. 3446–3451. – DOI: 10.1093/humrep/dei231
  75. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells / N. P. Singh, M. T. McCoy, R. R. Tice [et al.] // *Experimental Cell Research*. – 1988. – Vol. 175, № 1. – P. 184–191. – DOI: 10.1016/0014-4827(88)90265-0
  76. Ostling, O. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells / O. Ostling, K. J. Johanson // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 1984. – Vol. 123, № 1. – P. 291–298. – DOI: 10.1016/0006-291X(84)90411-X
  77. Simon, L. Sperm DNA damage measured by comet assay / L. Simon, D. T. Carrell // *Spermatogenesis. Methods in Molecular Biology*. – 2013. – Vol. 927. – P. 137–146. – DOI: 10.1007/978-1-62703-038-0\_13
  78. Analysis of DNA damage in individual cells / P. L. Olive, R. E. Durand, J. P. Banáth [et al.] // *Methods in Cell Biology*. – 2001. – Vol. 64. – P. 235–249. – DOI: 10.1016/s0091-679x(01)64016-0
  79. Lewis, S. E. Sperm DNA tests as useful adjuncts to semen analysis / S. E. Lewis, I. Agbaje, J. Alvarez // *Systems Biology in Reproductive Medicine*. – 2008. – Vol. 54, № 3. – P. 111–125. – DOI: 10.1080/19396360801957739
  80. Evenson, D. P. Sperm chromatin structure assay: its clinical use for detecting sperm DNA fragmentation in male infertility and comparisons with other techniques / D. P. Evenson, K. L. Larson, L. K. Jost // *Journal of Andrology*. – 2002. – Vol. 23. – P. 25–43. – DOI: 10.1002/j.1939-4640.2002.tb02599.x
  81. Evenson, D. P. Sperm chromatin structure assay is useful for fertility assessment / D. P. Evenson, L. Jost // *Methods in Cell Science*. – 2000. – Vol. 22, № 2–3. – P. 169–189. – DOI: 10.1023/a:1009844109023
  82. Schlegel, P. N. Yet another test of sperm chromatin structure / P. N. Schlegel, D. A. Paduch // *Fertility and Sterility*. – 2005. – Vol. 84, № 4. – P. 854–859. – DOI: 10.1016/j.fertnstert.2005.04.050
  83. Sperm DNA fragmentation decreases the pregnancy rate in an assisted reproductive technique / M. Benchaib, V. Braun, J. Lornage [et al.] // *Human Reproduction*. – 2003. – Vol. 18, № 5. – P. 1023–1028. – DOI: 10.1093/humrep/deg228
  84. Evenson, D. P. Sperm Chromatin Structure Assay (SCSAR) for fertility assessment / D. P. Evenson // *Current Protocols*. – 2022. – Vol. 2. – P. 1–16. – DOI: 10.1002/cpz1.508
  85. Sperm DNA damage is associated with an increased risk of pregnancy loss after IVF and ICSI: systematic review and meta-analysis / A. Zini, J. M. Boman, E. Belzile [et al.] // *Human Reproduction*. – 2008. – Vol. 23. – P. 2663–2668. – DOI: /10.1093/humrep/den321
  86. The sperm chromatin structure assay as a diagnostic tool in the human fertility clinic / G. B. Boe-Hansen, J. Fedder, A. K. Ersbøll [et al.] // *Human Reproduction*. – 2006. – Vol. 21, № 6. – P. 1576–1582. – DOI: 10.1093/humrep/del019
  87. Fraser, L. Structural damage to nuclear DNA in mammalian spermatozoa: its evaluation techniques and relationship with male infertility / L. Fraser // *Polish Journal of Veterinary Sciences*. – 2004. – Vol. 7, № 4. – P. 311–321.
  88. Sperm chromatin status and DNA fragmentation in mouse species with divergent mating systems / C. Agudo-Rios, A. Sanchez-Rodriguez, II. D. Idrovo [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24, № 21. – P. 15954. – DOI: 10.3390/ijms242115954
  89. The sperm chromatin dispersion test: a simple method for the determination of sperm DNA fragmentation / J. L. Fernández, L. Muriel, M. T. Rivero [et al.] // *Journal of Andrology*. – 2003. – Vol. 24, № 1. – P. 59–66. – DOI: 10.1002/j.1939-4640.2003.tb02641.x
  90. Simple determination of human sperm DNA fragmentation with an improved sperm chromatin dispersion test / J. L. Fernandez, L. Muriel, V. Goyanes [et al.] // *Fertility and Sterility*. – 2005. – Vol. 84. – P. 833–842. – DOI: 10.1016/j.fertnstert.2004.11.089
  91. Single sperm selection and DNA fragmentation analysis: The case of MSOME/IMSI / J. Gosálvez, B. Migueles, C. López-Fernández [et al.] // *Natural Science*. – 2013. – Vol. 5, № 7A. – P. 7–14. – DOI: 10.4236/ns.2013.57A002
  92. Carretero, M. I. Evaluación de la calidad del ADN espermático en camélidos sudamericanos y otras especies domésticas / M. I. Carretero, M. S. Giuliano, D. M. Neild // *Spermova*. – 2017. – Vol. 1, № 7. – P. 18–26. – DOI:10.18548/asp/0005.04
  93. Characterisation of a subpopulation of sperm with massive nuclear damage, as recognised with the sperm chromatin dispersion test / J. Gosálvez, M. Rodríguez-Predeira, A. Mosquera [et al.] // *Andrologia*. – 2014. – Vol. 46, № 6. – P. 602–609. – DOI: 10.1111/and.12118
  94. Baumgartner, A. The comet assay in male reproductive toxicology / A. Baumgartner, E. Cemeli, D. Anderson // *Cell Biology and Toxicology*. – 2009. – Vol. 25, № 1. – P. 81–98. – DOI: 10.1007/s10565-007-9041-y
  95. Assessment of sperm deoxyribose nucleic acid fragmentation using sperm chromatin dispersion assay / H. Pratap, S. Y. Hottigoudar, K. S. Nichanahalli [et al.] // *Journal of Pharmacol Pharmacother*. – 2017. – Vol. 8, № 2. – P. 45–49. – DOI: 10.4103/jpp.JPP\_187\_16
  96. Sperm chromatin dispersion test in the assessment of DNA fragmentation and aneuploidy in human spermatozoa / A. Balasuriya, B. Speyera, P. Serhalb [et al.] // *Reproductive BioMedicine Online*. – 2011. – Vol. 22, № 5. – P. 428–436. – DOI: 10.1016/j.rbmo.2011.01.012
  97. Esteves, S. C. An update on clinical and surgical interventions to reduce sperm DNA fragmentation in infertile men / S. C. Esteves, D. Santi, M. Simoni // *Andrology*. – 2020. – Vol. 8, № 1. – P. 53–81. – DOI: 10.1111/andr.12724
  98. Performing a sperm DNA fragmentation test in addition to semen examination based on the WHO criteria can be a more accurate diagnosis of IVF outcomes /

- T. Okubo, N. Onda, T. Hayashi [et al.] // *BMC Urology*. – 2023. – Vol. 23, № 78. – P. 1–7. – DOI:10.1186/s12894-023-01257-y
99. Evenson, D. P. Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA®): evolution from origin to clinical utility / D. P. Evenson // *A clinician's guide to Sperm DNA and chromatin damage*. – New York: Springer Science, 2018. – P. 65–89. – DOI: 10.1007/978-3-319-71815-6\_4
  100. Sperm DNA fragmentation induced by DNase I and hydrogen peroxide: an in vitro comparative study among different mammalian species / P. Villani, P. Eleuteri, M. G. Grollino [et al.] // *Reproduction*. – 2010. – Vol. 140. – P. 445–452. – DOI: 10.1530/REP-10-0176
  101. Dynamics of sperm DNA fragmentation in patients carrying structurally rearranged chromosomes / A. Garcia-Peiro, M. Oliver-Bonet, J. Navarro [et al.] // *International Journal of Andrology*. – 2011. – Vol. 34. – P. 546–553. – DOI: 10.1111/j.1365-2605.2011.01153.x
- ## References
1. Paternal influence of sperm DNA integrity on early embryonic development / L. Simon, K. Murphy, M. B. Shamsi [et al.] // *Human Reproduction*. – 2014. – Vol. 29, № 11. – P. 2402–2412. – DOI: 10.1093/humrep/deu228
  2. Investigation on the origin of sperm morphological defects: oxidative attacks, chromatin immaturity, and DNA fragmentation / A. Oumaima, A. Tesnim, H. Zohra [et al.] // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2018. – Vol. 25. – P. 13775–13786. – DOI: 10.1007/s11356-018-1417-4
  3. DNK fragmentaciya spermatozoidov pri besplodii. Obzor literatury [DNA fragmentation of spermatozoa in infertility. Literature review] / L. K. Ajtkozhina, T. K. Kudajbergenov, H. M. Biktasheva [et al.] // *Problemy reprodukcii* [Reproduction Issues]. – 2019. – Vol. 1, № 38. – P. 25–29.
  4. Javed, A. Evaluation of sperm DNA fragmentation using multiple methods: a comparison of their predictive power for male infertility / A. Javed, M. S. Talkad, M. K. Ramaiah // *Clinical and Experimental Reproductive Medicine*. – 2019. – Vol. 46, № 1. – P. 14–21. – DOI: 10.5653/cerm.2019.46.1.14
  5. Strukturnye narusheniya hromatina spermatozoidov. Patofiziologicheskie aspekty. Klinicheskaya znachimost' [Structural disorders of sperm chromatin. Pathophysiological aspects. Clinical significance] / M. N. Korshunov, E. S. Korshunova, P. S. Kyzlasov [et al.] // *Vestnik urologii* [Bulletin of Urology]. – 2021. – № 9. – P. 95–104. – DOI: 10.21886/2308-6424-2021-9-1-95-104
  6. Sperm DNA fragmentation: unraveling its imperative impact on male infertility based on recent evidence / S. Stavros, A. Potiris, E. Molopodi [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2024. – Vol. 25. – P. 1–13. – DOI: 10.3390/ijms251810167
  7. Avadieva, N. E. Primenenie DNK fragmentacii spermy v andrologicheskoy praktike [The use of DNA fragmentation of sperm in andrological practice] / N. E. Avadieva // *Vestnik urologii* [Bulletin of Urology]. – 2019. – Vol. 7, № 1. – P. 7–11. – DOI: 10.21886/2308-6424-2019-7-1-7-11
  8. Sperm DNA fragmentation: a new guideline for clinicians / A. Agarwal, A. Majzoub, S. Baskaran [et al.] // *World Journal in Mens Health*. – 2020. – Vol. 38. – P. 412–471. – DOI: 10.5534/wjmh.200128
  9. Oxidative stress and male reproductive health / R. J. Aitken, T. B. Smith, M. S. Jobling [et al.] // *Asian Journal of Andrology*. – 2014. – Vol. 16, № 1. – P. 31–38. – DOI: 10.4103/1008-682X.122203
  10. Measuring sperm DNA fragmentation and clinical outcomes of medically assisted reproduction: a systematic review and meta-analysis / M. Cissen, M. van Wely, I. Scholten [et al.] // *PLoS One*. – 2016. – Vol. 11, № 11. – P. e0165125. – DOI: 10.1371/journal.pone.0165125
  11. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen // *World Health Organization*: [website]. – 2021. – 27 July. – URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240030787>
  12. Makhlouf, A. A. DNA integrity tests in clinical practice: it is not a simple matter of black and white (or red and green) / A. A. Makhlouf, C. Niederberger // *Journal of Andrology*. – 2006. – Vol. 27. – P. 316–323. – DOI: 10.2164/jandrol.05217
  13. Fragmentaciya DNK spermatozoidov: svyaz s parametrami spermatogeneza u molodyh muzhchin [Fragmentation of sperm DNA: relation to the parameters of spermatogenesis in young men] / L. V. Osadchuk, D. A. Tataru, N. N. Kuznecova [et al.] // *Urologiya* [Urology]. – 2016. – № 6. – P. 118–123.
  14. Cho, C. L. Role of sperm DNA fragmentation in male factor infertility: a systematic review / C. L. Cho, A. Agarwal // *Arab Journal of Urology*. – 2017. – Vol. 16, № 1. – P. 21–34. – DOI: 10.1016/j.aju.2017.11.002
  15. Comparison of chromatin assays for DNA fragmentation evaluation in human sperm / K. R. Chohan, J. T. Griffin, M. Lafromboise [et al.] // *Journal of Andrology*. – 2006. – Vol. 27. – P. 53–59. – DOI: 10.2164/jandrol.05068
  16. Comprehensive analysis of sperm DNA fragmentation by five different assays: TUNEL assay, SCSA, SCD test and alkaline and neutral Comet assay / J. Ribas-Maynou, A. Garcia-Peiro, A. Fernandez-Encinas [et al.] // *Andrology*. – 2013. – Vol. 1, № 5. – P. 715–722. – DOI: 10.1111/j.2047-2927.2013.00111.x
  17. Evenson, D. P. The Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA®) and other sperm DNA fragmentation tests for evaluation of sperm nuclear DNA integrity as related to fertility / D. P. Evenson // *Animal Reproduction Science*. – 2016. – Vol. 169. – P. 56–75. – P. 1–20. – DOI: 10.1016/j.anireprosc
  18. Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA®) and flow cytometry-assisted TUNEL assay provide a concordant assessment of sperm DNA fragmentation as a function of age in a large cohort of approximately 10,000 patients / P. Behdarvandian, A. Nasr-Esfahani, M. Tavalae [et al.] // *Basic and Clinical Andrology*. – 2023. – Vol. 33, № 33. – P. 1–11. – DOI: 10.1186/s12610-023-00208-9

19. Narusheniya struktury hromatina spermatozoidov: klinicheskoe znachenie, prichiny, diagnostika, lechenie (obzor literatury) [Disorders of the sperm chromatin structure: clinical significance, causes, diagnosis, treatment (literature review)] / V. A. Bozhedomov, I. V. Vinogradov, N. A. Lipatova [et al.] // Problemy reprodukcii [Reproduction Issues]. – 2012. – № 5. – P. 76–84.
20. Evenson, D. P. Evaluation of sperm chromatin structure and DNA strand breaks is an important part of clinical male fertility assessment / D. P. Evenson // Translational Andrology and Urology. – 2017. – Vol. 6, № 4. – P. 495–500. – DOI: 10.21037/tau.2017.07.20
21. Muzhskoe besplodie i narushenie strukturnoj organizacii hromatina spermatozoidov. Sushchestvuet li svyaz? [Male infertility and disruption of the structural organization of sperm chromatin. Is there a connection?] / O. A. Vorob'eva, A. V. Voskresenskaya, A. A. Odincov [et al.] // Problemy reprodukcii [Reproduction Issues]. – 2005. – № 6. – P. 56–62.
22. Feijó, C. M. Diagnostic accuracy of sperm chromatin dispersion test to evaluate sperm deoxyribonucleic acid damage in men with unexplained infertility / C. M. Feijó, S. C. Esteves // Fertility and Sterility. – 2014. – Vol. 101, № 1. – P. 58–63. – DOI: 10.1016/j.fertnstert.2013.09.002
23. Fragmentaciya DNK spermatozoidov: klinicheskaya znachimost, prichiny, metody ocenki i korrekcii [Fragmentation of sperm DNA: clinical significance, causes, assessment and correction methods] / S. Yu. Borovec, V. A. Egorova, A. M. Gzgyan [et al.] // Urologicheskie vedomosti [Urological bulletin]. – 2020. – Vol. 10, № 2. – P. 173–180. – DOI: 10.17816/uroved102173-18095
24. Relationship between varicocele and sperm DNA damage and the effect of varicocele repair: a meta-analysis / Y. J. Wang, R. Q. Zhang, Y. J. Lin [et al.] // Reproductive BioMedicine Online. – 2012. – Vol. 25, № 3. – P. 307–314. – DOI: 10.1016/j.rbmo.2012.05.002
25. Application of the comet assay for the evaluation of DNA damage in mature sperm / G. Gajski, S. Ravlić, R. Godschalk [et al.] // Mutation Research. – 2021. – Vol. 788. – P. 1–20. – DOI: 10.1016/j.mrrev.2021.108398
26. The spectrum of DNA damage in human sperms assessed by single cell gel electrophoresis (Comet assay) and its relationship to fertilization and embryo development / I. D. Morris, S. Iltott, L. Dixon [et al.] // Human Reproduction. – 2002. – № 17. – P. 990–998. – DOI: 10.1093/humrep/17.4.990
27. Effects of cryopreservation on sperm quality, nuclear DNA integrity, in vitro fertilization, and in vitro embryo development in the mouse / C. Yildiz, P. Ottaviani, N. Law [et al.] // Reproduction. – 2007. – Vol. 133. – P. 585–595. – DOI: 10.1530/REP-06-0256
28. Gosalvez, J. Sperm chromatin dispersion (SCD) test: technical aspects and clinical applications / J. Gosalvez, C. Lopez-Fernandez, J. L. Fernandez // In: A. Zini, A. Agarwal, editors. Sperm DNA damage: biological and clinical applications in male infertility and assisted reproduction. – New York : Springer US, 2011. – P. 151–170.
29. Sperm DNA damage output parameters measured by the alkaline Comet assay and their importance / L. Simon, K. I. Aston, B. R. Emery [et al.] // Andrologia. – 2016. – Vol. 49, № 2. – P. 1–12. – DOI: 10.1111/and.12608
30. Hamilton, T. R. S. Sperm DNA fragmentation: causes and identification / T. R. S. Hamilton, M. E. O. D. Assumpção // Zygote. – 2019. – Vol. 28, Iss. 1. – P. 1–8. – DOI: 10.1017/S0967199419000595
31. Li, Ming-Wen. DNA fragmentation index (DFI) as a measure of sperm quality and fertility in mice / Ming-Wen Li, K. C. K. Lloyd // Scientific Reports. – 2020. – Vol. 10, № 3833. – P. 1–11. – DOI: 10.1038/s41598-020-60876-9
32. Pregnancy prediction by free sperm DNA and sperm DNA fragmentation in semen specimens of IVF/IC-SI-ET patients / T. Bounartzi, K. Dafopoulos, G. Anifandis [et al.] // Human Fertility. – 2016. – Vol. 19, № 1. – P. 56–62. – DOI: 10.3109/14647273.2016.115762919
33. Korshunov, M. N. Prognosticheskaya cennost' pokazatelya DNK-fragmentacii spermatozoidov v uspekhke programm vspomogatel'nyh reproductivnyh tekhnologij [The predictive value of the indicator of DNA fragmentation of spermatozoa in the success of assisted reproductive technology programs] / M. N. Korshunov, E. S. Korshunova, S. P. Darenkov // Eksperimental'naya i klinicheskaya urologiya [Experimental and Clinical Urology]. – 2017. – № 3. – P. 70–76.
34. DNA fragmentation of normal spermatozoa negatively impacts embryo quality and intracytoplasmic sperm injection outcome / C. Avendano, A. Franchi, H. Duran [et al.] // Fertility and Sterility. – 2010. – Vol. 94, № 2. – P. 549–557. – DOI: 10.1016/j.fertnstert.2009.02.050
35. Rezultaty preimplatacionnogo geneticheskogo skrininga embrionov u supruzheskih par s fragmentaciej DNK spermatozoidov [Results of preimplantation genetic screening of embryos in married couples with sperm DNA fragmentation] / Yu. Yu. Kiseleva, M. M. Azova, T. A. Kodyleva [et al.] // Akusherstvo i ginekologiya [Obstetrics and Gynecology]. – 2017. – № 8. – P. 104–108. – DOI: 10.18565/aig.2017.8.104-8
36. Sperm DNA fragmentation: mechanisms of origin / M. Muratori, S. Marchiani, L. Tamburrino [et al.] // Genetic Damage in Human Spermatozoa. Advances in Experimental Medicine and Biology. – 2019. – Vol. 1166. – P. 78–85. – DOI: 10.1007/978-3-030-21664-1\_5
37. Simon, L. Sperm DNA fragmentation: consequences for reproduction / L. Simon, B. Emery, D. T. Carrell // Advances in Experimental Medicine and Biology. – 2019. – Vol. 1166. – P. 87–105. – DOI: 10.1007/978-3-030-21664-1\_6
38. Relationship between sperm morphology and sperm DNA dispersion / J. Jakubik-Uljasz, K. Gill, A. Rosiak-Gill [et al.] // Translational Andrology and Urology. – 2020. – Vol. 9, № 2. – P. 405–415. – DOI: 10.21037/tau.2020.01.31
39. Epanchineva, E. A. Indeks fragmentacii DNK spermatozoidov – neobhodimost' dlya sovremennoj klinicheskoy praktiki [Sperm DNA Fragmentation Index – a necessity for modern clinical practice] / E. A. Epanchineva, V. G. Selyatickaya, V. A. Bozhedomov // Andrologiya i genital'naya hirurgiya [Andrology and Genital Surgery].

- 2020. – Vol. 21, № 1. – P. 14–21. – DOI: 10.17650 / 2070-9781-2020-21-1-14-21
40. Does sperm DNA fragmentation correlate with semen parameters? / M. T. Le, T. A. T. Nguyen, H. T. T. Nguyen [et al.] // *Reproductive Medicine and Biology*. – 2019. – Vol. 18. – P. 390–396. – DOI: 10.1002/rmb2.12297
  41. The relationship between isolated teratozoospermia, sperm DNA fragmentation and inflammatory biomarkers: findings from a cross-sectional study / L. Boeri, P. Capogrosso, W. Cazzaniga [et al.] // *The Journal of Urology*. – 2020. – Vol. 203. – P. e400–e401. – DOI: 10.1097/JU.0000000000000865.03
  42. Das, S. K. Effect of sperm DNA fragmentation on blastocyst formation rate and subsequent IVF outcome / S. K. Das, K. Kalita // *International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology*. – 2022. – Vol. 11, № 2. – P. 385–390. – DOI: <https://doi.org/10.18203/2320-1770.ijrcog20220054>
  43. Znachenie indeksa DNK-fragmentacii v diagnostike muzhskoj infertilnosti [The value of the DNA fragmentation index in the diagnosis of male infertility] / L. V. Baturevich, I. D. Shilejko, L. I. Alekhovich [et al.] // *Laboratornaya diagnostika. Vostochnaya Evropa [Laboratory diagnostics. Eastern Europe]*. – 2022. – Vol. 11, № 1. – P. 30–37. – DOI: 10.34883/PI.2022.11.1.013
  44. Relationship between spermatogenesis, DNA fragmentation index, and teratozoospermia index / J. M. Budiharto, R. Margiana, W. William [et al.] // *International Journal of Health Sciences*. – 2022. – Vol. 6, № 3. – P. 1827–1837. – DOI: 10.53730/ijhs.v6n3.5808
  45. Saghaei, H. Sperm DNA damage in mice irradiated with various doses of X-rays alone or in combination with actinomycin D or bleomycin sulfate: an in vivo study / H. Saghaei, H. Mozdarani, A. Mahmoudzadeh // *International Journal of Radiation Research*. – 2019. – Vol. 17, № 2. – P. 317–323. – DOI: 10.18869/acadpub.ijrr.17.2.317
  46. Shamsi, M. B. Evaluation of nuclear DNA damage in human spermatozoa in men opting for assisted reproduction / M. B. Shamsi, R. Kumar, R. Dada // *Indian Journal of Medical Research*. – 2008. – Vol. 127, № 2. – P. 115–123.
  47. Zeng, F. Transcript profiling during preimplantation mouse development / F. Zeng, D. A. Baldwin, R. M. Schultz // *Developmental Biology*. – 2004. – Vol. – 272, № 2. – P. 483–496. – DOI: 10.1016/j.ydbio.2004.05.018
  48. Impact of radio frequency electromagnetic radiation on DNA integrity in the male germline / R. J. Aitken, L. E. Bennetts, D. Sawyer [et al.] // *International Journal of Andrology*. – 2005. – Vol. 28, № 3. – P. 171–179. – DOI: 10.1111/j.1365-2605.2005.00531.x
  49. Effect of ionizing radiation on the male reproductive system / A. Wdowiak, M. Skrzypek, M. Stec [et al.] // *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. – 2019. – Vol. 26, № 2. – P. 210–216. – DOI: 10.26444/aaem/106085
  50. Cho, C. L. Novel insights into the pathophysiology of varicocele and its association with reactive oxygen species and sperm DNA fragmentation / C. L. Cho, S. C. Esteves, A. Agarwal // *Asian Journal of Andrology*. – 2016. – Vol. 8. – P. 186–193. – DOI: 10.4103/1008-682X.170441
  51. Oxidative stress status and sperm DNA fragmentation in fertile and infertile men / M. Dorostghoal, S. R. Kazeminejad, N. Shahbazian [et al.] // *Andrologia*. – 2017. – Vol. 49, № 10. – DOI: 10.1111/and.12762
  52. Role of oxidative stress, infection and inflammation in male infertility / A. Agarwal, M. Rana, E. Qiu [et al.] // *Andrologia*. – 2018. – Vol. 50, № 11. – e13126. – DOI: 10.1111/and.13126
  53. Barazani, Y. Functional sperm testing and the role of proteomics in the evaluation of male infertility / Y. Barazani, A. Agrawal, E. S. Jr. Sabanegh // *Urology*. – 2014. – Vol. 84, № 2. – P. 255–261. – DOI: 10.1016/j.urolgy.2014.04.043
  54. Agarwal, A. Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility / A. Agarwal, T. M. Said // *Human Reproduction Update*. – 2003. – Vol. 9. – P. 331–345. – DOI: /10.1093/humupd/dmg027
  55. Aitken, R. J. On the possible origins of DNA damage in human spermatozoa / R. J. Aitken, G. N. De Lullis // *Molecular Human Reproduction*. – 2010. – Vol. 16, № 1. – P. 3–13. – DOI: 10.1093/molehr/gap059
  56. Expression of Bcl-2 family proteins and spontaneous apoptosis in normal human testis / N. B. Oldereid, P. D. Angelis, R. Wiger [et al.] // *Molecular Human Reproduction*. – 2001. – Vol. 7, № 5. – P. 403–408. – DOI: 10.1093/molehr/7.5.403
  57. DNA damage and repair in human reproductive cells / A. García-Rodríguez, J. Gosálvez, A. Agarwal [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2018. – Vol. 20, № 1. – P. 1–22. – DOI: 10.3390/ijms20010031
  58. Society for translational medicine: clinical practice guidelines for sperm DNA fragmentation testing in male infertility / A. Agarwal, C. L. Cho, A. Majzoub [et al.] // *Translational Andrology and Urology*. – 2017. – Vol. 6. – P. 720–733. – DOI: 10.21037/tau.2017.08.06
  59. Fragmentaciya DNK v spermatozoidah i ee vzaimosvyaz s narusheniem spermatogeneza [DNA fragmentation in spermatozoa and its relationship with impaired spermatogenesis] / S. A. Rudneva, E. E. Bragina, E. A. Arifulin [et al.] // *Andrologiya i genital'naya hirurgiya [Andrology and Genital Surgery]*. – 2014. – Vol. 15, № 4. – P. 26–33. – DOI: 10.17650/2070-9781-2014-4
  60. Direct and delayed X-ray-induced DNA damage in male mouse germ cells / E. Cordelli, P. Eleuteri, M. G. Grollino [et al.] // *Environmental and Molecular Mutagenesis*. – 2012. – Vol. 53, № 6. – P. 429–439. – DOI: 10.1002/em.21703
  61. DNA and total protamine masses in individual sperm from fertile mammalian subjects / G. S. Bench, A. M. Friz, M. H. Corzett [et al.] // *Cytometry*. – 1996. – Vol. 23. – № 4. – P. 263–271. – DOI: 10.1002/(SICI)1097-0320(19960401)23:4<263::AID-CYTO1>3.0.CO;2-I
  62. Oliva, R. Proteomics and the genetics of sperm chromatin condensation / R. Oliva, J. Castillo // *Asian Journal of Andrology*. – 2011. – Vol. 13, № 1. – P. 24–30. – DOI: 10.1038/aja.2010.65

63. Human sperm chromatin epigenetic potential: genomics, proteomics, and male infertility / J. Castillo, J. M. Estanyol, J. L. Ballescá [et al.] // *Asian Journal of Andrology*. – 2015. – Vol. 17, № 4. – P. 601–609. – DOI:10.4103/1008-682X.153302
64. Boissonneault, G. Chromatin remodeling during spermiogenesis: a possible role for the transition proteins in DNA strand break repair / G. Boissonneault // *FEBS Letters*. – 2002. – Vol. 514, № 2–3. – P. 111–114. – DOI: 10.1016/s0014-5793(02)02380-3
65. Gunes, S. Spermatogenesis, DNA damage and DNA repair mechanisms in male infertility / S. Gunes, M. Al-Sadaan, A. Agarwal // *Reprod Biomed Online*. – 2015. – Vol. 31, № 3. – P. 309–319. – DOI: 10.1016/j.rbmo.2015.06.010
66. Santi, D. Sperm DNA fragmentation index as a promising predictive tool for male infertility diagnosis and treatment management – meta-analyses / D. Santi, G. Spaggiari, M. Simoni // *Reproductive Biomedicine Online*. – 2018. – Vol. 37, № 3. – P. 315–326. – DOI: 10.1016/j.rbmo.2018.06.023
67. Leem, J. The capacity to repair sperm DNA damage in zygotes is enhanced by inhibiting WIP1 activity / J. Leem, G-Y. Bai, J. S. Oh // *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. – 2022. – Vol. 10. – P. 841327. – DOI:10.3389/fcell.2022.841327
68. Oocyte ability to repair sperm DNA fragmentation: the impact of maternal age on intracytoplasmic sperm injection outcomes / A. S. Setti, D. P. de A. F. Braga [et al.] // *Fertility and Sterility*. – 2021. – Vol. 116, № 1. – P. 123–129. – DOI: 10.1016/j.fertnstert.2020.10.045
69. Perspective in the mechanisms for repairing sperm DNA damage / N. Li, H. Wang, S. Zou [et al.] // *Reproductive Sciences*. – 2025. – Vol. 32. – P. 41–51. – DOI: 10.1007/s43032-024-01714-5
70. A systematic review and meta-analysis to determine the effect of sperm DNA damage on in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection outcome / L. Simon, A. Zini, A. Dyachenko [et al.] // *Asian Journal of Andrology*. – 2017. – Vol. 19, № 1. – P. 80–90. – DOI: 10.4103/1008-682X.182822
71. Ye, D. Effects of sperm DNA fragmentation on embryo morphokinetic parameters and laboratory outcomes in women of different ages during intracytoplasmic sperm treatment cycles / D. Ye, Z. Ye, H. Zhang // *Archives of Gynecology and Obstetrics*. – 2025. – Vol. 312, № 1. – P. 191–196. – DOI: 10.1007/s00404-025-07949-0
72. Clinical relevance of sperm DNA damage in assisted reproduction / N. Tarozzi, D. Bizzaro, C. Flamigni [et al.] // *Reproductive Biomedicine Online*. – 2007. – Vol. 14, № 6. – P. 746–757. – DOI: 10.1016/s1472-6483(10)60678-5
73. TUNEL assay and SCSA determine different aspects of sperm DNA damage / R. Henkel, C. F. Hoogendijk, P. J. Bouic [et al.] // *Andrologia*. – 2010. – Vol. 42, № 5. – P. 305–313. – DOI: 10.1111/j.1439-0272.2009.01002.x
74. Sperm DNA fragmentation: threshold value in male fertility / M. Sergerie, G. Laforest, L. Bujan [et al.] // *Human Reproduction*. – 2005. – Vol. 20, № 12. – P. 3446–3451. – DOI: 10.1093/humrep/dei231
75. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells / N. P. Singh, M. T. McCoy, R. R. Tice [et al.] // *Experimental Cell Research*. – 1988. – Vol. 175, № 1. – P. 184–191. – DOI: 10.1016/0014-4827(88)90265-0
76. Ostling, O. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells / O. Ostling, K. J. Johanson // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 1984. – Vol. 123, № 1. – P. 291–298. – DOI: 10.1016/0006-291X(84)90411-X
77. Simon, L. Sperm DNA damage measured by comet assay / L. Simon, D. T. Carrell // *Spermatogenesis. Methods in Molecular Biology*. – 2013. – Vol. 927. – P. 137–146. – DOI: 10.1007/978-1-62703-038-0\_13
78. Analysis of DNA damage in individual cells / P. L. Olive, R. E. Durand, J. P. Banáth [et al.] // *Methods in Cell Biology*. – 2001. – Vol. 64. – P. 235–249. – DOI: 10.1016/s0091-679x(01)64016-0
79. Lewis, S. E. Sperm DNA tests as useful adjuncts to semen analysis / S. E. Lewis, I. Agbaje, J. Alvarez // *Systems Biology in Reproductive Medicine*. – 2008. – Vol. 54, № 3. – P. 111–125. – DOI: 10.1080/19396360801957739
80. Evenson, D. P. Sperm chromatin structure assay: its clinical use for detecting sperm DNA fragmentation in male infertility and comparisons with other techniques / D. P. Evenson, K. L. Larson, L. K. Jost // *Journal of Andrology*. – 2002. – Vol. 23. – P. 25–43. – DOI: 10.1002/j.1939-4640.2002.tb02599.x
81. Evenson, D. P. Sperm chromatin structure assay is useful for fertility assessment / D. P. Evenson, L. Jost // *Methods in Cell Science*. – 2000. – Vol. 22, № 2–3. – P. 169–189. – DOI: 10.1023/a:1009844109023
82. Schlegel, P. N. Yet another test of sperm chromatin structure / P. N. Schlegel, D. A. Paduch // *Fertility and Sterility*. – 2005. – Vol. 84, № 4. – P. 854–859. – DOI: 10.1016/j.fertnstert.2005.04.050
83. Sperm DNA fragmentation decreases the pregnancy rate in an assisted reproductive technique / M. Benchaib, V. Braun, J. Lornage [et al.] // *Human Reproduction*. – 2003. – Vol. 18, № 5. – P. 1023–1028. – DOI: 10.1093/humrep/deg228
84. Evenson, D. P. Sperm Chromatin Structure Assay (SCSAR) for fertility assessment / D. P. Evenson // *Current Protocols*. – 2022. – Vol. 2. – P. 1–16. – DOI: 10.1002/cpz1.508
85. Sperm DNA damage is associated with an increased risk of pregnancy loss after IVF and ICSI: systematic review and meta-analysis / A. Zini, J. M. Boman, E. Belzile [et al.] // *Human Reproduction*. – 2008. – Vol. 23. – P. 2663–2668. – DOI: /10.1093/humrep/den321
86. The sperm chromatin structure assay as a diagnostic tool in the human fertility clinic / G. B. Boe-Hansen, J. Fedder, A. K. Ersbøll [et al.] // *Human Reproduction*. – 2006. – Vol. 21, № 6. – P. 1576–1582. – DOI: 10.1093/humrep/del019

87. Fraser, L. Structural damage to nuclear DNA in mammalian spermatozoa: its evaluation techniques and relationship with male infertility / L. Fraser // *Polish Journal of Veterinary Sciences*. – 2004. – Vol. 7, № 4. – P. 311–321.
88. Sperm chromatin status and DNA fragmentation in mouse species with divergent mating systems / C. Agudo-Rios, A. Sanchez-Rodriguez, Il. D. Idrovo [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24, № 21. – P. 15954. – DOI: 10.3390/ijms242115954
89. The sperm chromatin dispersion test: a simple method for the determination of sperm DNA fragmentation / J. L. Fernández, L. Muriel, M. T. Rivero [et al.] // *Journal of Andrology*. – 2003. – Vol. 24, № 1. – P. 59–66. – DOI: 10.1002/j.1939-4640.2003.tb02641.x
90. Simple determination of human sperm DNA fragmentation with an improved sperm chromatin dispersion test / J. L. Fernandez, L. Muriel, V. Goyanes [et al.] // *Fertility and Sterility*. – 2005. – Vol. 84. – P. 833–842. – DOI: 10.1016/j.fertnstert.2004.11.089
91. Single sperm selection and DNA fragmentation analysis: The case of MSOME/MSI / J. Gosálvez, B. Migueles, C. López-Fernández [et al.] // *Natural Science*. – 2013. – Vol. 5, № 7A. – P. 7–14. – DOI: 10.4236/ns.2013.57A002
92. Carretero, M. I. Evaluación de la calidad del ADN espermático en camélidos sudamericanos y otras especies domésticas / M. I. Carretero, M. S. Giuliano, D. M. Neild // *Spermova*. – 2017. – Vol. 1, № 7. – P. 18–26. – DOI:10.18548/asp/0005.04
93. Characterisation of a subpopulation of sperm with massive nuclear damage, as recognised with the sperm chromatin dispersion test / J. Gosálvez, M. Rodríguez-Predreira, A. Mosquera [et al.] // *Andrologia*. – 2014. – Vol. 46, № 6. – P. 602–609. – DOI: 10.1111/and.12118
94. Baumgartner, A. The comet assay in male reproductive toxicology / A. Baumgartner, E. Cemeli, D. Anderson // *Cell Biology and Toxicology*. – 2009. – Vol. 25, № 1. – P. 81–98. – DOI: 10.1007/s10565-007-9041-y
95. Assessment of sperm deoxyribose nucleic acid fragmentation using sperm chromatin dispersion assay / H. Pratap, S. Y. Hottigoudar, K. S. Nichanahalli [et al.] // *Journal of Pharmacol Pharmacother*. – 2017. – Vol. 8, № 2. – P. 45–49. – DOI: 10.4103/jpp.JPP\_187\_16
96. Sperm chromatin dispersion test in the assessment of DNA fragmentation and aneuploidy in human spermatozoa / A. Balasuriya, B. Speyera, P. Serhalb [et al.] // *Reproductive BioMedicine Online*. – 2011. – Vol. 22, № 5. – P. 428–436. – DOI: 10.1016/j.rbmo.2011.01.012
97. Esteves, S. C. An update on clinical and surgical interventions to reduce sperm DNA fragmentation in infertile men / S. C. Esteves, D. Santi, M. Simoni // *Andrology*. – 2020. – Vol. 8, № 1. – P. 53–81. – DOI: 10.1111/andr.12724
98. Performing a sperm DNA fragmentation test in addition to semen examination based on the WHO criteria can be a more accurate diagnosis of IVF outcomes / T. Okubo, N. Onda, T. Hayashi [et al.] // *BMC Urology*. – 2023. – Vol. 23, № 78. – P. 1–7. – DOI:10.1186/s12894-023-01257-y
99. Evenson, D. P. Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA®): evolution from origin to clinical utility / D. P. Evenson // *A clinician's guide to Sperm DNA and chromatin damage*. – New York: Springer Science, 2018. – P. 65–89. – DOI:10.1007/978-3-319-71815-6\_4
100. Sperm DNA fragmentation induced by DNase I and hydrogen peroxide: an in vitro comparative study among different mammalian species / P. Villani, P. Eleuteri, M. G. Grollino [et al.] // *Reproduction*. – 2010. – Vol. 140. – P. 445–452. – DOI: 10.1530/REP-10-0176
101. Dynamics of sperm DNA fragmentation in patients carrying structurally rearranged chromosomes / A. Garcia-Peiro, M. Oliver-Bonet, J. Navarro [et al.] // *International Journal of Andrology*. – 2011. – Vol. 34. – P. 546–553. – DOI: 10.1111/j.1365-2605.2011.01153.x

### Благодарность (госзадание)

Работа выполнена в рамках государственного задания Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН по теме «Формирование ответных реакций на действие малых доз ионизирующего излучения и механизмы трансформации форм нахождения радионуклидов в биосистемах», номер государственной регистрации 125020501526-3.

В исследовании использованы полевки из Научной коллекции экспериментальных животных Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН (<http://www.ckp-rf.ru/usu/471933/>).

### Acknowledgements (state task)

The work was performed within the framework of the state task of the Institute of Biology, Komi Science Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences on the topic “Formirovanie otvetnykh reakcij na dejstvie malyh doz ioniziruyushchego izlucheniya i mekhanizmy transformacii form nahozhdeniya radionuklidov v biosistemah [Formation of response reactions to low doses of ionising radiation and transformation mechanisms of radionuclide forms in biosystems]”, state registration number 125020501526-3.

This study was done using tundra voles from the Scientific Collection of Experimental Animals at the Institute of Biology, Komi Science Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (<http://www.ckp-rf.ru/usu/471933/>).

#### Информация об авторах:

**Старобор Наталья Николаевна** – младший научный сотрудник Института биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук; Scopus Author ID: 57211402382, <http://orchid.org/0000-0002-3161-6137> (167982, Российская Федерация, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28; e-mail: [starobor@ib.komisc.ru](mailto:starobor@ib.komisc.ru)).

**Раскоша Оксана Вениаминовна** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Института биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук; Scopus Author ID: 8660975300, <http://orchid.org/0000-0003-4104-1717> (167982, Российская Федерация, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28; e-mail: [raskosha@ib.komisc.ru](mailto:raskosha@ib.komisc.ru)).

#### About the authors:

**Natalia N. Starobor** – Junior Researcher, Institute of Biology, Komi Science Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Science; Scopus Author ID: 57211402382, <http://orchid.org/0000-0002-3161-6137> (28 Kommunisticheskaya st., 167000 Syktyvkar, Komi Republic, Russian Federation; e-mail: [starobor@ib.komisc.ru](mailto:starobor@ib.komisc.ru)).

**Oksana V. Raskosha** – Candidate of Sciences (Biology), Senior Researcher, Institute of Biology, Komi Science Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Science; Scopus Author ID: 8660975300, <http://orchid.org/0000-0003-4104-1717> (28 Kommunisticheskaya st., 167000 Syktyvkar, Komi Republic, Russian Federation; e-mail: [raskosha@ib.komisc.ru](mailto:raskosha@ib.komisc.ru)).

#### Для цитирования:

Старобор, Н. Н. Фрагментация ДНК сперматозоидов у млекопитающих: причины, методы детекции, диагностика фертильности в условиях радиационного воздействия / Н. Н. Старобор, О. В. Раскоша // Известия Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук. Серия «Экспериментальная биология и экология». – 2025. – № 7 (83). – С. 35–49.

#### For citation:

Starobor, N. N. Fragmentaciya DNK spermatozoidov u mlekopitayushchih: prichiny, metody detekcii, diagnostika fertlnosti v usloviyah radiacionnogo vozdejstviya [Sperm DNA fragmentation in mammals: etiology, detection, fertility assessment under radiation exposure] / N. N. Starobor, O. V. Raskosha // Proceedings of the Komi Science Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. Series “Experimental Biology and Ecology”. – 2025. – № 7 (83). – P. 35–49.

Дата поступления статьи: 04.09.2025

Прошла рецензирование: 08.09.2025

Принято решение о публикации: 19.09.2025

Received: 04.09.2025

Reviewed: 08.09.2025

Accepted: 19.09.2025