

УДК 573.6:577.21-075

^{1,2}Жилкова Є. С., ¹Феськов В. О., ¹Сомова О. В., ¹Феськов О. М., ²Федота О. М.

ЕФЕКТ ФРАГМЕНТАЦІЇ ДНК У СПЕРМАТОЗОЇДАХ НА РОЗВИТОК ЕМБРІОНІВ ПРИ ВИКОРИСТАННІ ДОПОМІЖНИХ РЕПРОДУКТИВНИХ ТЕХНОЛОГІЙ

¹Центр репродукції людини «Клініка професора Феськова О. М.»
(ТОВ «Сана-Мед», ТОВ «Сана-Лайт»)

²Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

zhilkova@feskov.com.ua

Досліджено рівень фрагментації ДНК у сперматозоїдах та зв'язок даного порушення з особливостями розвитку ембріонів, отриманих у програмах екстракорпорального запліднення від чоловіків зі зниженою фертильністю зі Східної України та Іспанії. Доведено зворотній зв'язок між рівнем фрагментації ДНК у сперматозоїдах та частотою формування бластоцист для чоловіків України ($p < 0,01$). Виявлено позитивну кореляцію між рівнем фрагментації ДНК у сперматозоїдах та частотою анеуплоїдних бластоцист, отриманих від пацієнтів з Іспанії ($p < 0,01$). Рівень фрагментації ДНК у чоловіків зі зниженою фертильністю з Іспанії значуще не відрізняється від даного показника для неплідних чоловіків зі Східної України. Високий рівень фрагментації ДНК у сперматозоїдах може бути показанням для проведення передімплантаційної генетичної діагностики при отриманні ембріонів у програмах екстракорпорального запліднення.

Ключові слова: фрагментація ДНК; ПГД; чоловіче непліддя.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами. Робота виконана у рамках НДР медичного факультету ХНУ імені В. Н. Каразіна «Генетичні передумови розвитку та корекції спадкової патології на різних етапах онтогенезу людини та тварин», № держ. реєстрації 0116U005341, 2016–2017 рр..

Вступ. В останній час значна увага в області репродуктивної медицини приділяється вивченню помилок геному батька. Допоміжні репродуктивні технології (ДРТ), такі, як стандартне екстракорпорального запліднення, і, особливо, інтрацитоплазматична ін'єкція сперматозоїдів (ІКСІ), дозволяють парам зі значними порушенням показників класичної спермограми отримати вагітність, тоді як кілька років тому ці пари були б змушені використовувати донорство сперми для того, щоб отримати дитину [1–4]. Тим не менш, можна обговорювати здатність зразків сперми низької якості до генерації ембріонів з нормальним потенціалом розвитку.

Однією з причин порушень у розвитку ембріонів на преімплантаційному етапі або вагітності, що вже наступила, є генетичні аномалії у сперматозоїдах – підвищений рівень фрагментації ДНК та хромосомні зміни [3–7]. Важливим критерієм нормального розвитку ембріону є формування бластоцисти високої морфологічної якості на п'ятий день розвитку [8, 9]. У сучасній літературі наразі триває дискусія про можливий вплив рівня фрагментації ДНК сперматозоїдів на здатність сперми до запліднення і на процеси розвитку ембріона, зокрема, на процес формування бластоцисти. Так, Zini A. (2011) показав негативний вплив підвищеної фрагментації ДНК сперматозоїдів на результат лікування непліддя подружжя за допомогою екстракорпорального запліднення [10]. Натомість, Bronet F. (2012) із співавторами не виявили зв'язку між рівнем фрагментації ДНК сперматозоїдів і частотою настання вагітності у пацієнтів у програмах ДРТ [11].

Відомо, що фрагментація ДНК у чоловічих гаметах є мультифакторіальною ознакою, тому аналіз ефекту даного порушення на фертильність чоловіків необхідно проводити у кожній окремій популяції [12–14]. У той же час, застосування допоміжних репродуктивних технологій у окремих країнах має законодавчі або релігійні обмеження, та неплідні пацієнти, що належать до певних релігійних конфесій, мають можливість пройти лікування непліддя в Україні. Результати досліджень дають змогу провести порівняльний аналіз показників пацієнтів різного походження для подальшого визначення механізмів впливу генетичних порушень у спермі на фертильність чоловіків.

Метою даної роботи стало дослідження рівня фрагментації ДНК в сперматозоїдах у чоловіків зі зниженням фертильності України та Іспанії та вивчення зв'язку фрагментації ДНК у сперматозоїдах з процесами раннього ембріогенезу у програмах екстракорпорального запліднення.

Матеріали та методи дослідження. Дослідження впливу фрагментації ДНК на процеси раннього ембріогенезу проведено серед 45 неплідних

пацієнтів – 30 чоловіків Східної України (група 1) та 15 пацієнтів з Іспанії (група 2). Аналіз рівня фрагментації ДНК у сперматозоїдах виконано за допомогою методу SCD (sperm chromatin dispersion) (HaloSperm, Halotech, Іспанія). Для контрольованої стимуляції овуляції (КСВ) з метою отримання ооцитів застосовували протокол з агоністамигонадотропін-рилізінг-гормону (аГнРГ). Стимуляція овуляції займала не менш десяти днів. У день трансвагінальної пункції середній розмір фолікулів досягав 18 мм. Для підтримки лютеїнової фази були використані препарати прогестеронового ряду. Отримані зиготи і ембріони культивувалися в середовищі Global Total (Life Global Group, Бельгія) за температури 36,8–37,1°C, при рівні CO₂ 6,0–6,2%. Морфологію бластоцист оцінено за класифікацією Gardner D. K. [15]. Біопсію ембріонів для передімплантаційної генетичної діагностики (ПГД) проведено на стадії бластоцисти на 5-й та 6-й дні культивування. ПГД виконано з використанням методу секвенування нового покоління (Next Generation Sequencing, NGS) та флуоресцентної гібридизації *insitu* (FISH) з використанням ДНК-зондів CEP Y (DYZ3) Satellite III DNA Spectrum Orange, CEP X (DXZ1) Alpha Satellite DNA Spectrum Green, LSI 13 (RB-1 locus, 13q14) Spectrum Orange, CEP 16 (D16Z3) Alpha Satellite II DNA Spectrum Aqua, CEP 18(D18Z1) Alpha Satellite DNA Spectrum Aqua, LSI 21 (loci D21S259, D21S341, D21S342, region 21q22.13-q22.2) Spectrum Orange (Vysis-Abbott, США) [16, 17].

Аналіз зв'язку між рівнем фрагментації ДНК у сперматозоїдах і частотою формування бластоцист, морфологічними властивостями ембріонів та часткою анеуплоїдних бластоцист проведено за допомогою кореляційного аналізу за Спірменом. Різницю між середніми значеннями характеристик у досліджуваних групах перевірено з використанням критерія Стюдента [18].

Залежність частоти формування бластоцист від рівня фрагментації ДНК у сперматозоїдах

Група	Частота формування бластоцист, %		DFI, %	r _s	R _{кр.}	p	
Загальна, N=30	Загальна, ± s _x		46,0±13,4	19,0±6,0	-0,02	0,36	>0,05
	Високої морфологічної якості	N±s _N	31,1±10,2	19,0±6,0	-0,59	0,47	<0,01
		%±s _%	67,9±21,0	19,0±6,0	-0,70	0,47	<0,01
до 35 років, N=15	Загальна, ± s _x		42,2±15,9	21,9±8,0	-0,14	0,52	>0,05
	Високої морфологічної якості	N±s _N	26,6±11,9	21,9±8,0	-0,51	0,52	>0,05
		%±s _%	60,4±22,2	21,9±8,0	-0,72	0,66	<0,01
старше 35 років, N=15	Загальна, ± s _x		49,7±10,4	16,1±3,7	0,17	0,52	>0,05
	Високої морфологічної якості	N±s _N	35,6±8,7	16,1±3,7	-0,56	0,52	p<0,05
		%±s _%	75,4±16,6	16,1±3,7	-0,57	0,52	p<0,05

Примітки: ЧФБ – частота формування бластоцист, DFI – рівень фрагментації ДНК у сперматозоїдах, – середнє значення, s_x – відхилення від середнього, r_s – коефіцієнт кореляції за Спірменом, p – рівень значущості.

Результати дослідження та їх обговорення.

Середній вік чоловіків зі зниженою фертильністю у загальній групі склав 38,2±6,1 років, а саме – 35,4±4,8 років у групі 1, та 44,1±5,7 років серед пацієнтів групи 2. Середній рівень фрагментації ДНК у сперматозоїдах у загальній групі чоловіків склав (19,3±6,6)%: (19,0±6,0)% серед групи неплідних вітчизняних пацієнтів та (20,0±7,5)% у пацієнтів з Іспанії. Значущої різниці між рівнем фрагментації ДНК у гаметах серед чоловіків груп 1 і 2 не виявлено (f = 43; t_{ст.} = 0,41; t_{крит.} = 2,018; p>0,05). У попередніх проведених нами дослідженнях показано, що рівень фрагментації ДНК у сперматозоїдах підвищується у чоловіків після 35 років і не відрізняється у пацієнтів у віці 35–40, 41–50 та 51–55 років. У досліджених групах значущої кореляції між частотою формування бластоцист (ЧФБ) у програмах допоміжних репродуктивних технологій та віком пацієнтів також не знайдено (r_s=0,12; r_s= -0,343; p>0,05, відповідно). Однак, окремо було розглянуто підгрупу українських чоловіків у віці старше 35 років, з огляду на результати, отримані нами у попередніх дослідженнях [19]. Нами доведено існування зворотного зв'язку між рівнем фрагментації ДНК у сперматозоїдах та показником ЧФБ у чоловіків України (r_s= -0,59, p < 0,01). Продемонстровано також негативний вплив фрагментації ДНК у чоловічих гаметах на частоту формування бластоцист високої морфологічної якості серед пацієнтів групи 1 старше 35 років (r_s= -0,56, p<0,05) (табл.). Втім, зв'язок між рівнем фрагментації ДНК у сперматозоїдах та загальною частотою формування бластоцист і часткою бластоцист високої морфологічної якості серед неплідних чоловіків Іспанії не виявлено (r_s=0,138; r_s= -0,029; p>0,05, відповідно).

Проведено передімплантаційну генетичну діагностику 77 ембріонів, отриманих у програмах екстракорпорального запліднення від 10 українських

пацієнтів зі змінами у спермограмі та 15 чоловіків з порушеннями фертильності з Іспанії. При використанні ДРТ від зазначених вище пацієнтів всього було отримано 245 бластоцист – 87 бластоцист від українських чоловіків та 158 бластоцист від пацієнтів з Іспанії. Передімплантаційна генетична діагностика анеуплоїдів за хромосомами 13, 16, 18, 21, X та Y виконана мето-

дом FISH для 32 бластоцист високої морфологічної якості, отриманих від пацієнтів з України. Генетичний аналіз ембріонів на доімплантаційному етапі методом NGS проведено для 45 бластоцист високої морфологічної якості, отриманих від чоловіків з Іспанії. Біопсію проведено для бластоцист 5AA, 5AB, 5BB, 5BA за класифікацією Gardner D. K. [15]. Фото бластоцист наведено на **рис. 1**.

За результатами передімплантаційної генетичної діагностики, загальна частка анеуплоїдних бластоцист склала 49,31% ($n = 38$) – 50,0% бластоцист, отриманих від українських чоловіків ($n_1 = 16$) та 48,89% бластоцист від чоловіків з Іспанії ($n_2 = 22$). Отримані дані співставні для обох груп. Нами знайдено статистично значущу позитивну кореляцію між рівнем фрагментації ДНК у сперматозоїдах та часткою анеуплоїдних бластоцист від пацієнтів групи 2 ($r_s = 0,68$; $p < 0,01$). Значущого зв'язку між рівнем фрагментації ДНК у сперматозоїдах та часткою анеуплоїдних ембріонів для групи чоловіків зі Східної України не доведено, що, ймовірно, можна пояснити невеликою кількістю пацієнтів у цій групі.

Серед усіх виявлених хромосомних порушень у ембріонах частка анеуплоїдів за аутосомами та статевими хромосомами склала 86,8% та 13,2% ($n_1 = 33$, $n_2 = 5$, відповідно). Частки анеуплоїдів за аутосомами та гоносомам у ембріонах співставні у обох досліджуваних групах. Серед бластоцист з хромосомними порушеннями, отриманими від вітчизняних пацієнтів, частка анеуплоїдів за аутосомами та статевими хромосомами склала 81,25% та 18,75% ($n_1 = 13$, $n_2 = 3$, відповідно). Серед ембріонів зі змінами у каріотипі, отриманих від чоловіків з Іспанії, частка анеуплоїдів за аутосомами та статевими хромосомами склала 90,91% та 9,1% ($n_1 = 20$, $n_2 = 2$, відповідно). У результаті генетичного аналізу бластоцист від пацієнтів зі Східної України були виявлені анеуплоїдії за аутосомами 13, 16, 18 та 21 – переважно за хромосомами 18 та 21, що склало 30,77% та 46,15%, відповідно (**рис. 2**).

Для ембріонів, отриманих від чоловіків з Іспанії, були у рівних долях встановлені анеуплоїдії за аутосомами 1, 3, 4, 5, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 21, 22.

При цьому анеуплоїдію за хромосомою 18 у ембріонах, отриманих від пацієнтів даної групи, не виявлено. Виявлено статистично значущу різницю у розподілі анеуплоїдів за досліджуваними хромосомами у ембріонах зі змінами каріотипу, отриманих від пацієнтів з Іспанії та Східної України ($df = 3$, $\chi^2_{\text{факт.}} = 18,342$, $\chi^2_{\text{крит.}} = 11,345$, $p < 0,01$). Отримана різниця пов'язана, ймовірно, з невеликою кількістю ембріонів у розглянутих групах.

Обговорення. Отримані внаслідок проведеного аналізу результати підтверджують зв'язок між рівнем фрагментації ДНК у сперматозоїдах й особливостями розвитку ембріонів, отриманих у програмах екстракорпорального запліднення у чоловіків, що має важливе практичне значення, беручи до уваги ствердження ряду авторів про залежність якості ембріонів лише від якості ооцитів [20]. Вплив підвищеного рівня фрагментації ДНК у чоловічих гаметах на виникнення анеуплоїдів у ембріонах пов'язаний, ймовірно, з порушенням розходження хромосом при утворенні зиготи у процесі формування чоловічого та жіночого пронуклеусів з послідовним об'єднанням материнських та батьківських хромосом на стадії метафази мітозу [21]. По-перше, нами продемонстровано, що рівень фрагментації ДНК у чоловіків зі зниженою фертильністю з Іспанії не відрізняється від даного показника для неплодних чоловіків зі Східної України. По-друге, частка анеуплоїдних ембріонів, отриманих при використанні допоміжних репродуктивних технологій, від чоловіків Східної України з порушеннями фертильності співставна з часткою бластоцист зі змінами каріотипу, отриманих від іспанських пацієнтів. Отже, отримані результати дозволяють використовувати для подальшого обговорення дані, отримані для представників інших країн Європи.

Висновки. Доведено зв'язок між показниками рівня фрагментації ДНК сперми і особливостями раннього розвитку ембріонів, отриманих у програмах екстракорпорального запліднення. Оцінка якості сперми чоловіків зі зниженою фертильністю є необхідним заходом перед використанням допоміжних репродуктивних технологій. Високий рівень



Рис. 1. Бластоцисти з різними морфологічними властивостями: а – бластоцисти 1AA–5AA, б – бластоциста 1CC.

Рис. 2. Моносомія за хромосомою 21 у ядрі клітини ембріону.

фрагментації ДНК у сперматозоїдах може бути показанням для проведення передімплантаційної генетичної діагностики при отриманні ембріонів у програмах екстракорпорального запліднення.

Перспективи подальших досліджень. Актуальним є подальше вивчення впливу підвищення фрагментації ДНК у сперматозоїдах на виникнення анеуплоїдій у ембріонах, отриманих при викорис-

танні допоміжних репродуктивних технологій від чоловіків з порушеннями фертильності. Запровадження у широку практику передімплантаційної генетичної діагностики ембріонів з використанням методу секвенування нового покоління дозволить знизити репродуктивні втрати у програмах екстракорпорального запліднення.

References

1. Palermo G, Neri O, Rosenwaks Z. To ICSI or not to ICSI. *Seminars in Reproductive Medicine*. 2015;33(2):92–102.
2. Rodrigo L, Rubio C, Mateu E, Simon C, Remohi J, Pellicer A, Gil-Salom M. Analysis of chromosomal abnormalities in testicular and epididymal spermatozoa from azoospermic ICSI patients by fluorescence in-situ hybridization. *Hum Reprod*. 2004;19(1):118–23.
3. Tang SS, Gao H, Robinson WP, Ho Yuen B, Ma S. An association between sex chromosomal aneuploidy in sperm and an abortus with 45,X of paternal origin: possible transmission of chromosomal abnormalities through ICSI. *Hum Reprod*. 2004;19(1):147–51.
4. Worrilow KC, Eid S, Woodhouse D, Perloe M, Smith S, Witmyer J, Ivani K, Khoury C, Ball GD, Elliot T, Lieberman J. Use of hyaluronan in the selection of sperm for intracytoplasmic sperm injection (ICSI): significant improvement in clinical outcomes – multicenter, double-blinded and randomized controlled trial. *Hum Reprod*. 2013;28(2):306–14.
5. López G, Lafuente R, Checa MA, Carreras R, Brassesco M. Diagnostic value of sperm DNA fragmentation and sperm high-magnification for predicting outcome of assisted reproduction treatment. *Asian J Androl*. 2013;15(6):790–4.
6. Speyer BE, Pizzey AR, Ranieri M, Joshi R, Delhanty JDA, Serhal P. Fall in implantation rates following ICSI with sperm with high DNA fragmentation. *Hum Reprod*. 2012;25(7):1609–18.
7. Brahem S, Mehdi M, Landolsi H, Mougou S, Elghezal H, Saad A. Semen parameters and sperm DNA fragmentation as causes of recurrent pregnancy loss. *Urology*. 2011;78(4):792–6.
8. Ebner T, Moser M, Sommergruber M, Feichtinger O, Tews G. First polar body morphology and blastocyst formation rate in ICSI patients. *Human Reprod*. 2002;17(8):2415–8.
9. Fisch JD, Rodriguez H, Ross R, Overby G, Sher J. The graduated embryo score (GES) predicts blastocyst formation and pregnancy rate from cleavage – stage embryos. *Hum Reprod*. 2001;16(9):1970–5.
10. Zini A, Sigman M. Are tests of sperm DNA damage clinically useful? *Prosand cons*. *J Androl*. 2009;30:219–29.
11. Bronet F, Martínez E, Gaytán M, Liñán A, Cernuda D, Ariza M, Nogales M, Pacheco A, SanCelestino M, Garcia-Velasco JA. Sperm DNA fragmentation index does not correlate with the sperm of embryo aneuploid rate in recurrent miscarriage of implantation failure patients. *Hum Reprod*. 2012;27(7):1922–9.
12. Winkle T, Rosenbusch B, Gagsteiger F, Paiss T, Zoller N. The correlation between male age, sperm quality and sperm DNA fragmentation in 320 men attending a fertility center. *J Assist Reprod Genet*. 2009;26:41–6.
13. Nijs M, DeJonge C, Cox A, Janssen M, Bosmans E, Ombelet W. Correlation between male age, WHO sperm parameters, DNA fragmentation, chromatin packaging and outcome in assisted reproduction technology. *Andrologia*. 2011;43(3):174–9.
14. García-Ferreira J, Romero R, Hilario R, Dueñas-Chacón J. High levels of DNA fragmentation observed in an infertile population attending a fertility center are related to advanced paternal age. *J FertInVitro*. 2012;2:1–5.
15. Gardner DK, Sakkas D, Seli E, Wells D. *Human Gametes and Preimplantation Embryos*. New York: Springer Science&Business Media; 2013. 306 p.
16. Martin J, Cervero A, Mir P, Martinez-Conejero JA, Pellicer A, Simón C. The impact of next-generation sequencing technology on preimplantation genetic diagnosis and screening. *Fertility&Sterility*. 2013;99:1054–61.
17. Treff NR, Fedick A, Tao X, Devkota B, Taylor D, Scott RT Jr. Evaluation of targeted next-generation sequencing-based preimplantation genetic diagnosis of monogenic disease. *FertilSteril*. 2013;99:1377–84.
18. Atramentova LO, Utevs'ka OM. *Statistichni metodi v biologii: pidruch. dlya studentiv biolog. spets. vishchikh navch. zakladiv*. Khar'kov; 2007. 286 s.
19. Fes'kov AM, Zhilkova YES, Sotnik NN, Fedota AM. Issledovaniye svyazi mezhdru narusheniyem kompaktizatsii khromatina i nalichiyem aneuploidiy v yadrakh spermatozoidov u muzhchin so snizhennoy ferti'lnost'yu. *Vestnik KHNU im. V.N. Karazina. Seriya: Biologiya*. 2013;17(1056):92–8.
20. Meseguer M, Santiso R, Garrido N, Garcia-Herrero S, Remohi J, Fernandez JL. Effect of sperm DNA fragmentation on pregnancy outcome depends on oocyte quality. *Fertility&Sterility*. 2011;95:124–8.
21. Sharbatoghli M, Valojerdi MR, Amanlou M, Khosravi F, Jafar-abadi MA. Relationship of sperm DNA fragmentation, apoptosis and dysfunction of mitochondrial membrane potential with semen parameters and ART outcome after intracytoplasmic sperm injection. *Arch Gynecol Obstet*. 2012;286(5):1315–22.

УДК 573.6:577.21-075

ЭФФЕКТ ФРАГМЕНТАЦИИ ДНК В СПЕРМАТОЗОИДАХ НА РАЗВИТИЕ ЭМБРИОНОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ*Жилкова Е. С., Феськов В. А., Сомова Е. В., Феськов А. М., Федота А. М.*

Резюме. Исследован уровень фрагментации ДНК в сперматозоидах и связь данного нарушения с особенностями развития эмбрионов, полученных в программах экстракорпорального оплодотворения от мужчин со сниженной фертильностью из Восточной Украины и Испании. Доказана обратная связь между уровнем фрагментации ДНК в сперматозоидах и частотой формирования бластоцист для мужчин Украины ($p < 0,01$). Выявлена положительная корреляция между уровнем фрагментации ДНК в сперматозоидах и долей анеуплоидные бластоцист, полученных от пациентов из Испании ($p < 0,01$). Уровень фрагментации ДНК у мужчин с пониженной фертильностью из Испании значительно не отличается от данного показателя для бесплодных мужчин с Восточной Украины. Высокий уровень фрагментации ДНК в сперматозоидах может быть показанием для проведения преимплантационной генетической диагностики при получении эмбрионов в программах экстракорпорального оплодотворения.

Ключевые слова: фрагментация ДНК; ПГД; мужское бесплодие.

UDC 573.6:577.21-075

THE EFFECT OF SPERM DNA FRAGMENTATION ON THE DEVELOPMENT OF EMBRYOS IN ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGIES*Zhylkova Ye., Feskov V., Somova O., Feskov O., Fedota O.*

Abstract. Recently high attention in the reproductive medicine is paid to the paternal genome failures. Assisted reproductive techniques (ART) such as conventional in vitro fertilization (IVF), and especially intracytoplasmic sperm injection (ICSI), allow couples whose sperm characteristics are impaired obtaining a pregnancy, whereas a few years ago, these couples would have had to use sperm donation in order to obtain their child. One can nevertheless wonder about the capacity of poor quality sperm samples to generate embryos having normal capacities of development. Among the factors involved in the failure of obtaining embryos and/or pregnancies, the impaired sperm genome is frequently incriminated. Sperm DNA fragmentation is rather new discussible reason of male infertility. There are contradictory data about the possible influence of sperm DNA fragmentation on the sperm fertilization ability and the process of embryo development, particularly on the process of the blastocyst formation. There are data about the correlation of the sperm DNA fragmentation level and high percentage of the spontaneous miscarriages for patients included in the IVF treatment. Sperm DNA fragmentation consists of single and double stranded DNA breaks, frequently occurring in semen of subfertile patients. Despite the origin and the mechanisms responsible for such genomic anomaly are not yet clarified, it has been proposed that sperm DNA fragmentation could be a good parameter to predict the male fertility status as an alternative or in addition to poorly predictive standard parameters presently determined in routine semen analysis. Spermatogenesis is a complicated process that includes spermatozoa development and maturation. It depends on such factors as genetics, hormonal statement, environmental conditions etc. Spermatogenesis failures could lead to the formation of aneuploid sperm or sperm with the DNA damage.

The level of sperm DNA fragmentation index (DFI) and its relationship with the features of embryos' development obtained in IVF from men with reduced fertility from Eastern Ukraine and Spain were studied. The negative correlation between DFI and the blastocyst formation rates for Ukrainian men is proved ($p < 0.01$). A positive correlation was found between the level of sperm DNA fragmentation and the proportion of aneuploid blastocysts obtained from patients from Spain ($p < 0.01$). The level of DNA fragmentation in men with a reduced fertility from Spain does not significantly differ from this indicator for infertile men from Eastern Ukraine. A high level of DNA fragmentation in spermatozoa can be an indication for preimplantation genetic diagnosis in IVF.

In studies investigating the impact of sperm DNA fragmentation on reproduction, the prevailing idea is that sperm with damaged DNA, even if retaining the ability to fertilize the oocyte, affect the subsequent steps resulting in increased failure of embryo development and miscarriage. However, data on the relationship between DNA damage and ART outcome are very conflicting. The obtained data confirmed that DNA fragmentation could be one of the male infertility factor that affects the embryo development.

Keywords: DNA fragmentation; PGD; male infertility.

Стаття надійшла 14.03.2017 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування