

© Коллектив авторов, 2021

Н.П. МАКАРОВА, Н.Н. ЛОБАНОВА, Е.В. КУЛАКОВА, О.С. НЕПША, А.Н. ЕКИМОВ, Е.А. КАЛИНИНА

## ВЛИЯНИЕ ПРЕИМПЛАНТАЦИОННОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ НА РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОГРАММ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ У СУПРУЖЕСКИХ ПАР С МУЖСКИМ ФАКТОРОМ БЕСПЛОДИЯ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава, России, Москва, Россия

**Актуальность:** Связь между тяжелым мужским фактором (ТМФ) и частотой анеуплоидией эмбриона находится в фокусе внимания, а вопрос о том, следует ли рассматривать ТМФ в качестве показателя для проведения преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии (ПГТ-А), остается спорным.

**Цель:** Оценить влияние старшего репродуктивного возраста мужчин и разных форм мужского бесплодия на частоту получения анеуплоидных эмбрионов и исходы программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ).

**Материалы и методы:** Был выполнен ретроспективный анализ 2915 циклов ВРТ (2225 циклов стимуляции, в т.ч. 371 цикл с ПГТ-А, и 690 криоциклов). Эякулят оценивали на основе критериев 5-го издания ВОЗ. Группу с ТМФ составили пациенты с олигоастенотератозооспермией и пациенты с биопсией яичка. Дополнительно выделены 2 группы с тератозооспермией (Т) в зависимости от процента морфологически аномальных сперматозоидов. На 5-е сутки после оплодотворения проводили биопсию трофэктодермы эмбрионов с последующим проведением ПГТ-А.

**Результаты:** При сравнении исходов программ ВРТ в циклах стимуляции при переносе свежего эмбриона и исходов программ ВРТ в криопротоколах с ПГТ-А с исходами в криопротоколах без ПГТ-А статистически значимое снижение частоты наступления беременности (ЧНБ) и частоты родов было выявлено для групп пациентов с морфологией сперматозоидов 0–2% и 3% – при переносе криоконсервированного эмбриона без ПГТ-А. Для пациентов с ТМФ была отмечена тенденция к увеличению ЧНБ и частоты родов в программах ВРТ с ПГТ-А.

**Заключение:** В парах с ТМФ ПГТ-А может повысить частоту родов с меньшим количеством перенесенных эмбрионов за счет снижения числа потерь на ранних сроках беременности.

**Ключевые слова:** мужское бесплодие, тяжелый мужской фактор, анеуплоидия, ПГТ-А.

**Вклад авторов:** Макарова Н.П. – культивирование эмбрионов, проведение биопсии трофэктодермы эмбриона, криоконсервация эмбриона, редактирование и утверждение публикации; Непша О.С., Лобанова Н.Н. – сбор и анализ литературных данных, написание статьи; Кулакова Е.В. – редактирование рукописи статьи; Екимов А.Н. – проведение преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии методом высокопроизводительного секвенирования (NGS); Калинина Е.А. – редактирование и утверждение публикации.

**Конфликт интересов:** Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

**Финансирование:** Исследование проведено без спонсорской поддержки.

**Согласие пациентов на публикацию:** Пациенты подписали информированное согласие на публикацию своих данных.

**Обмен исследовательскими данными:** Данные, подтверждающие выводы этого исследования, доступны по запросу у автора, ответственного за переписку, после одобрения ведущим исследователем.

Для цитирования: Макарова Н.П., Лобанова Н.Н., Кулакова Е.В., Непша О.С., Екимов А.Н., Калинина Е.А. Влияние преимплантационного генетического тестирования на результаты программ вспомогательных репродуктивных технологий у супружеских пар с мужским фактором бесплодия. Акушерство и гинекология. 2021; 11: 154-164 <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.154-164>

© A group of authors, 2021

N.P. MAKAROVA, N.N. LOBANOVA, E.V. KULAKOVA, O.S. NEPSHA, A.N. EKIMOV, E.A. KALININA

## IMPACT OF PREIMPLANTATION GENETIC TESTING ON ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGY OUTCOMES IN COUPLES WITH MALE FACTOR INFERTILITY

V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

**Background:** In recent years, considerable attention has been focused on the association between severe male factor (SMF) and the incidence of embryonic aneuploidy, including whether SMF should be considered an indication for preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A).

**Objective:** To investigate the impact of men's age and form of male infertility on the rate of embryonic aneuploidy and the outcomes of assisted reproductive technology (ART).

**Materials and methods:** This retrospective study analyzed 2915 ART cycles (2225 stimulation cycles, including 371 cycles with PGT-A and 690 cryopreserved cycles). The ejaculate was evaluated based on the sperm quality criteria of the WHO reference values. The SMF group consisted of patients with oligoasthenoteratozoospermia and patients with testicular biopsy. Patients with teratozoospermia were divided into two groups, categorized by the percentage of morphologically abnormal spermatozoa. On day five after fertilization, the embryo trophectoderm was biopsied, followed by PGT-A.

**Results:** Comparison of ART outcomes in stimulation cycles and a fresh embryo transfer and in cryopreserved cycles with and without PGT-A showed statistically significantly lower pregnancy and birth rates in patients with the sperm morphology score of 0–2% and 3% in cryopreserved cycles without PGT-A. Patients with SMF undergoing ART with PGT-A showed a trend towards increasing pregnancy and birth rates.

**Conclusion:** PGT-A can improve pregnancy outcomes for couples with SMF with fewer embryos transferred due to reducing early pregnancy losses.

**Keywords:** male infertility, severe male factor, aneuploidy, PGT-A.

**Authors' contributions:** Makarova N.P. – embryo culture, embryo trophectoderm biopsy, embryo cryopreservation, manuscript editing and approval; Nepsha O.S., Lobanova N.N. – collection and review of the relevant literature, manuscript preparation; Kulakova E.V. – manuscript editing; Ekimov A.N. – c preimplantation genetic testing for aneuploidy by next-generation sequencing (NGS); Kalinina E.A. – manuscript editing and approval.

**Conflicts of interest:** The authors have no conflicts of interest to declare.

**Funding:** There was no funding for this study.

**Patient Consent for Publication:** All patients provided informed consent for the publication of their data.

**Authors' Data Sharing Statement:** The data supporting the findings of this study are available on request from the corresponding author after approval from the principal investigator.

*For citation: Makarova N.P., Lobanova N.N., Kulakova E.V., Nepsha O.S., Ekimov A.N., Kalinina E.A. Impact of preimplantation genetic testing on assisted reproductive technology outcomes in couples with male factor infertility. Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2021; 11: 154-164 (in Russian) <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.154-164>*

Внедрение в 1992 г. интрацитоплазматической инъекции сперматозоидов (ИКСИ) резко изменило лечение мужского бесплодия, что позволило пациентам с тяжелым мужским фактором (ТМФ) иметь биологическое потомство [1]. Однако, согласно всемирному отчету Международного комитета по мониторингу вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), несмотря на развитие лабораторных технологий, частота наступления беременности после ИКСИ составляет около 25–30%, а частота родов – около 20% [2]. В большинстве случаев стратегия выбора эмбриона для переноса основывается на морфологических характеристиках эмбриона, в то время как эмбрион отличного или хорошего качества может оказаться генетически аномальным. На сегодняшний день хорошо известно, что анеуплоидии являются наиболее частыми генетическими аномалиями, которые приводят к неудачам имплантации и потерям беременности на ранних сроках более, чем в 50% случаев.

На бесплодие, связанное с мужским фактором, по разным данным, приходится от 20 до 50% всех случаев [3]. Из них чуть более 20% имеют диагноз тяжелого мужского бесплодия [4]. Стоит также отметить, что отсроченное родительство во всем мире становится все более распространенным явлением как для женщин, так и для мужчин [5], в связи с чем растет интерес к изучению влияния отцовского возраста на мужскую фертильность, репродуктивный потенциал и здоровье потомства. Известно, что старший репродуктивный возраст мужчин отрицательно влияет на функции яичек, гормональный баланс мужской репродуктивной системы, параметры спермы, а

также целостность генома и эпигенома сперматозоидов. Однако систематический обзор 12 статей, показал, что возраст отца не был связан с результатами ВРТ [6], но данные в отношении эмбриологического этапа менее достоверны и неоднозначны.

Поскольку мужской фактор является одним из наиболее часто встречающихся показаний к проведению ВРТ, связь между ТМФ и частотой анеуплоидией эмбриона также находится в фокусе внимания, а вопрос о том, следует ли рассматривать ТМФ в качестве показания для проведения пренатального генетического тестирования на анеуплоидии (ПГТ-А), все еще остается спорным [7]. Ранние исследования по анализу частоты анеуплоидий показали, что ТМФ может способствовать более высокой распространенности анеуплоидных эмбрионов при ВРТ. Однако этот вывод в основном основан на исследованиях с использованием флуоресцентного анализа гибридизации *in situ* (FISH) для ограниченного числа хромосом на эмбрионах на стадии дробления [8].

Цель исследования заключалась в оценке влияния разных форм мужского бесплодия на репродуктивные результаты с особым вниманием к раннему эмбриональному развитию (частота оплодотворения и частота образования бластоцист высшего качества), частоте получения анеуплоидных эмбрионов и исходам программ ВРТ.

## Материалы и методы

На базе отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. проф. Б.В. Леонова ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский

центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России был выполнен ретроспективный анализ 2915 циклов ВРТ (2225 циклов стимуляции, из которых 371 цикл с ПГТ-А и 690 криоциклов) с января 2018 г. по июнь 2021 г. Все пары подписали добровольное информированное согласие. Исследование было одобрено Этическим Комитетом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России.

Критерием исключения являлся возраст женщин >35 лет, пары с измененным кариотипом. Мы не исключали пары, использующие замороженную сперму, донорскую сперму, а также пары с донорскими ооцитами. Возраст доноров половых гамет не превышал 35 лет.

Образцы эякулята, полученные после 3–5 дней полового воздержания путем мастурбации в день трансвагинальной пункции, оценивали на основе критериев 5-го издания Всемирной Организации Здравоохранения [9]. Для характеристики спермы использовали следующие параметры: концентрация (млн/мл), процент прогрессивно подвижных сперматозоидов и процент морфологически нормальных сперматозоидов. Группы для исследования были сформированы на основании параметров эякулята. В группу сравнения/контроля вошли пары с донорской спермой, а также с нормозооспермией (концентрация  $\geq 15$  млн/мл, прогрессивно подвижные сперматозоиды  $\geq 32\%$ , морфология  $\geq 4\%$ ). Группу с олигоастенотератозооспермией (ОАТ) составили пациенты с концентрацией <15 млн/мл, прогрессивно подвижными сперматозоидами <32% и морфологией <4%, в том числе пациенты с азооспермией (концентрация <1 млн/мл в нативном образце). Пациенты с абструктивной и неабструктивной азооспермией, у которых сперматозоиды были получены путем аспирации или биопсии тканей яичка, составили группу microTESE. Дополнительно нами были выделены 2 группы с тератозооспермией в зависимости от процента морфологически аномальных сперматозоидов: мужчины с морфологией сперматозоидов в диапазоне от 0 до 2% составили группу «0–2%Т», а с морфологией 3% – группу «3%Т». Группу с ТМФ бесплодия составили пациенты с ОАТ и пациенты с microTESE. Данные группы пациентов объединили вместе ввиду малого количества наблюдений.

У всех пациентов начало овариальной стимуляции приходилось на 2–5-й день менструации по протоколу с использованием антагонистов гонадотропин-рилизинг-гормона и рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона или препаратов человеческого менопаузального гонадотропина. В качестве триггера финального созревания ооцитов использовался человеческий хорионический гонадотропин в дозе 6 000–10 000 ЕД внутримышечно по достижении диаметра фолликулов  $\geq 17$  мм. Через 36 часов после введения триггера производился забор ооцитов с помощью трансвагинальной пункции фолликулов с последующей оценкой качества полученного материала. Сразу же после аспирации фолликулярной жидкости про-

изводили идентификацию ооцит кумулюсных комплексов (ОКК) и оценку степени зрелости ооцитов под стереомикроскопом на нагретой поверхности стерильного ламинарного бокса. Оплодотворение ооцитов проводилось методом ИКСИ, после чего оплодотворенные клетки были перенесены в культуральную среду CSCM (Irvine Sc., США) с целью дальнейшего культивирования. Оценку наступления стадии двух пронуклеусов (формирования зиготы) проводили через 14–16 ч после оплодотворения. Все этапы культивирования выполняли в мультигазовых инкубаторах COOK (Ирландия) в каплях по 25 мкл под маслом (Irvine Sc., США). Среду CSCM не меняли в течение 5 суток культивирования. На 4-е или 5-е сутки в цикле стимуляции выполняли перенос 1 эмбриона хорошего/отличного качества.

На 5-е или 6-е сутки после оплодотворения в ряде циклов была проведена процедура биопсии клеток трофэктодермы с последующей криоконсервацией биопсированных эмбрионов. Бластоцисты, подходящие для генетического анализа, были оценены по классификации, принятой Стамбульским консенсусом по оценке качества эмбрионов, и соответствовали степени 3BB и выше [10]. Полученные клетки трофэктодермы были перенесены в пробирки типа Эппендорф, содержащие лизирующий буфер, для проведения ПГТ-А с помощью методики высокопроизводительного секвенирования (NGS). Процедура ПГТ-А состояла из нескольких этапов: на первом этапе была проведена полногеномная амплификация и подготовка библиотеки для нанесения на чип. Для создания библиотеки к фрагментам ДНК присоединялись специальные молекулярные метки-баркоды, уникальные для каждого образца в постановке. Далее было выполнено ионное полупроводниковое секвенирование с последующим биоинформатическим анализом результатов и подготовкой заключения на основании полученных данных согласно стандартной методике ПГТ-А.

При переносе криоконсервированных эмбрионов пациенткам назначалась циклическая гормональная терапия (с 4–5-го дня менструального цикла – эстрадиола валерат в дозе 6 мг/сутки, с 15–16-го дня менструального цикла – микронизированный прогестерон 400–600 мг/сутки вагинально) и осуществлялся ультразвуковой контроль динамики роста эндометрия на 9–10-й день менструального цикла и на 15–16-й день цикла для назначения гестагенов. Перенос эмбрионов в полость матки осуществлялся на 20–21-й день менструального цикла с помощью мягкого катетера Wallace (Германия) или Cook (Австралия). Предварительное размораживание эмбрионов и ведение посттрансферного периода осуществлялось согласно принятым в клинической практике протоколам.

В качестве основных эмбриологических показателей циклов стимуляции оценивали количество ОКК, зрелых ооцитов, частоту оплодотворения и частоту бластуляции. Под частотой бластуляции понимали отношение числа бластоцист хорошего и отличного качества (количество замороженных бластоцист + число перенесенных эмбрионов) к числу зигот с двумя пронуклеусами. В качестве основных клини-

ческих показателей исходов программ ВРТ оценивали частоту наступления клинической беременности (ЧНБ), частоту потерь на сроках до 12 недель гестации, а также частоту родов. На 14-й день после переноса эмбриона пациентки сдавали кровь на содержание бета-субъединицы хорионического гонадотропина человека ( $\beta$ -ХГЧ) для диагностики беременности. Положительный результат соответствовал уровню  $\beta$ -ХГЧ более 35 МЕ/л. При положительном результате  $\beta$ -ХГЧ для диагностики клинической беременности на 21-й день после переноса эмбриона выполняли трансвагинальное ультразвуковое исследование с целью визуализации гестационного мешка/плодного яйца. Случаи внематочной беременности, анэмбрионии, а также прерывание беременности на сроках до 12 недели гестации вошли в группу с ранними потерями. Частота родов рассчитывалась на число переносов.

### Статистический анализ

Анализ результатов проводился с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics версии 23.0 (США), а также с помощью таблиц Microsoft Excel. Для анализа количественных данных в группах определялся вид распределения данных (тест Колмогорова–Смирнова). Для описания категориальных бинарных данных использовали абсолютные числа  $N$  и процентные доли от общего числа пациенток в группе  $P$  в формате  $N (P\%)$ . Непрерывные переменные были представлены в виде медианы ( $Me$ ) и межквартильных значений ( $Q1; Q3$ ) на основе распределения выборки. Статистический анализ проводили с использованием критерия Краскела–Уоллиса для нескольких независимых выборок, теста Манна–Уитни для парного сравнения. Статистическую значимость различий двух или нескольких относительных показателей (частот, долей) оценивали с помощью критерия  $\chi^2$ . При множественных сравнениях использовали поправку Бонферрони. Для оценки связи между определенным исходом и фактором риска рассчитывали отношение шансов (ОШ) с доверительным интервалом (ДИ) 95%, если ДИ не включал 1, делали вывод о статистической значимости выявленной связи между фактором и исходом при уровне значимости  $p < 0,05$ . Величину порогового уровня значимости  $p$  принимали равной 0,05.

### Результаты

Для оценки влияния параметров эякулята на эмбриологический этап было проанализировано 2225 циклов ВРТ, из них 161 цикл был с исполь-

зованием донорских ооцитов, а 87 циклов – с донорской спермой. Для всех анализируемых параметров (возраст, число ОКК, число зрелых ооцитов, частота оплодотворения и частота бластуляции) проверка критерием Колмогорова–Смирнова на нормальное распределение показала отсутствие такового ( $p < 0,001$ ). Для сравнения групп использовали непараметрические критерии. Средний возраст мужчин ( $n=2138$ ) составил  $Me 34 (31; 38)$  лет, исключая программы с донорской спермой. Средний возраст женщин ( $n=2064$ ) составил  $Me 31 (29; 34)$  лет, исключая программы с донорскими ооцитами.

Чтобы оценить влияние старшего репродуктивного возраста мужчин ( $>40$  лет) на эмбриологический этап были сформированы две группы: 1918 программ с возрастом мужчин  $\leq 40$  лет и 307 программ с возрастом мужчин  $>40$  лет. В результате сравнения характеристик эмбриологического этапа не были выявлены значимые различия в группах мужчин разного возраста: частота оплодотворения (100,0 (80,0; 100,0) в группе мужчин  $\leq 40$  лет против 92,3 (75,0; 100,0) в группе мужчин  $>40$  лет) и частота бластуляции (50,0 (33,3; 75,0) в группе мужчин  $\leq 40$  лет против 50,0 (33,3; 75,0) в группе мужчин  $>40$  лет) были сравнимы в анализируемых группах и не имели статистически значимых различий (табл. 1).

На основании показателей спермограммы было сформировано 5 групп: группу сравнения составили 257 пар с нормозооспермией (в т.ч. пары с донорской спермой), 214 пар с ОАТ, 105 пар с биопсией яичка (microTESE), 1061 пара с морфологией сперматозоидов 0–2% и 588 пар с морфологией сперматозоидов 3%. Стоит отметить, что в группу сравнения вошли пары с трубно-перитонеальным фактором, пары с мужским фактором или одинокие женщины без партнера, которые воспользовались донорской спермой (87 пар), а также пары с бесплодием с нормальными показателями спермограммы. Средний возраст мужчин значимо не отличался в анализируемых группах ( $p=0,057$ ). Анализ числа ОКК и зрелых ооцитов между группами не выявил значимых различий в стимуляции пациенток (табл. 2). При сравнении показателей эмбриологического этапа в группах с разной мужской патологией при помощи критерия Краскела–Уоллиса было показано наличие значимых различий между группами в отношении частоты оплодотворения и частоты бластуляции. Для уточнения между какими именно группами имеются различия был выполнен апостериорный анализ и попарное сравнение анализируемых групп с контрольной груп-

Таблица 1. Характеристика эмбриологического этапа циклов ВРТ в группах мужчин разного возраста

Параметры эмбриологического этапа	Мужчины $\leq 40$ лет $n=1918$ циклов	Мужчины $>40$ лет $n=307$ циклов	$p$ ( $U$ -критерий Манна–Уитни)
ОКК	8,0 (4,0; 13,0)	6,0 (4,0; 11,0)	0,004
Зрелые ооциты	6,0 (4,0; 10,0)	5,0 (4,0; 9,0)	0,106
Частота оплодотворения, %	100,0 (80,0; 100,0)	92,3 (75,0; 100,0)	0,356
Частота бластуляции, %	50,0 (33,3; 75,0)	50,0 (33,3; 75,0)	0,597

пой с помощью критерия Манна–Уитни с поправкой Бонферрони. В результате чего был определен новый критический уровень значимости  $p=0,0125$ , который использовали при интерпретации результатов сравнения групп. Были выявлены статистически значимые различия по частоте бластуляции между группой ОАТ и группой сравнения ( $p=0,007$ ), а также группой с морфологией 0–2% и группой сравнения ( $p=0,005$ ). Таким образом, в группах мужчин с ОАТ и в группе с показателями морфологии сперматозоидов 0–2% выявлено статистически значимое снижение частоты бластуляции по сравнению с группой контроля. При попарном сравнении показателей частоты оплодотворения групп с разными показателями спермограммы с группой контроля не была преодолена величина нового критического уровня значимости  $p=0,0125$ . Однако стоит отметить, что частота оплодотворения в группах ОАТ и microTESE в среднем была ниже, чем в группах с морфологией сперматозоидов 0–2% и 3%. Возможно, ввиду недостаточного количества наблюдений в группах эти различия не достигли уровня статистической значимости, но тенденция была отмечена, что проявилось при сравнении всех анализируемых групп с помощью критерия Краскала–Уоллиса ( $p=0,03$ ) (табл.2).

Для оценки влияния возраста мужчин на частоту анеуплоидий была проанализирована 341 программа ВРТ с ПГТ-А (1022 эмбриона). Когорта пациентов была разделена на 2 группы: мужчины  $\leq 40$  лет и  $>40$  лет. В группе мужчин  $\leq 40$  ( $n=271$ ) средний возраст мужчин составил Me 34 (32; 36) лет, средний возраст

женщин – Me 32 (29,75; 34) лет. В когорте мужчин  $>40$  ( $n=70$ ) средний возраст мужчин составил Me 44 (42; 48) лет, средний возраст женщин – Me 33 (31; 34) лет. Структура мужской патологии на основании показателей спермограммы не отличалась в группах мужчин  $\leq 40$  и  $>40$  лет: группа ОАТ – 34/271 (12,5%) против 11/70 (15,7%); группа с морфологией 0–2% – 144/271 (53,1%) против 32/70 (45,7%); группа с морфологией 3% – 69/271 (25,5%) против 20/70 (28,6%); группа сравнения – 20/271 (7,4%) против 3/70 (4,3%) соответственно (табл. 3). Однако пациенты с биопсией яичка (microTESE) чаще встречались в группе мужчин  $>40$  лет по сравнению с группой мужчин  $\leq 40$  лет: 4/70 (5,7%) против 4/271 (1,5%) соответственно ( $p=0,037$ ).

Сравнение характеристик эмбриологического этапа не выявило значимых различий в группах мужчин разного возраста: частота оплодотворения (88,9 (77,8; 100,0) в группе мужчин  $\leq 40$  лет против 87,5 (75,0; 100,0) в группе мужчин  $>40$  лет) и частота бластуляции (50,0 (33,3; 66,7) в группе мужчин  $\leq 40$  лет против 42,9 (26,7; 66,7) в группе мужчин  $>40$  лет) были сравнимы в анализируемых группах и не имели статистически значимых различий (табл. 4).

Анализ частоты эуплоидных, анеуплоидных и мозаичных эмбрионов в группах мужчин  $\leq 40$  лет и  $>40$  лет показал отсутствие влияния возрастного фактора на генетический статус эмбриона: частота получения эуплоидных эмбрионов в группе мужчин  $\leq 40$  лет составила 422/829 (50,9%), а в группе мужчин  $>40$  лет – 91/193 (47,2%) (табл. 5). Частота получения

Таблица 2. Характеристика эмбриологического этапа и возраста мужчин в группах с разными показателями спермограммы

Параметры	ОАТ, $n=214$ (9,6%)	microTESE, $n=105$ (4,7%)	0–2% Т, $n=1061$ (47,7%)	3% Т, $n=588$ (26,4%)	Группа сравнения, $n=257$ (11,5%)	$p$ , критерий Краскала– Уоллиса
Возраст мужчин, лет (исключая циклы с донорской спермой), $n=2138$	34,0 (32,0;39,0)	35,0 (30,0;40,0)	34,0 (32,0;38,0)	34,0 (31,0;38,0)	34,0 (31,0;37,0)	0,057
ОКК	9,0 (4,8;13,0)	8,0 (4,0;13,0)	8,0 (4,0;12,0)	7,0 (4,0;12,0)	8,0 (4,0;13,5)	0,161
Зрелые ооциты	7,0 (4,0;10,0)	6,0 (3,5;11,0)	6,0 (4,0;10,0)	6,0 (4,0;9,0)	6,0 (4,0;11,0)	0,170
Частота оплодотворения, %	90,0 (76,9;100,0)	88,9 (66,7;100,0)	100,0 (80,0;100,0)	100,0 (80,0;100,0)	92,3 (75,0;100,0)	0,030
Частота бластуляции, %	50,0± (33,3;66,7)	50,0 (33,3;81,7)	50,0* (33,3;71,4)	50,0 (33,3;75,0)	60,0±* (36,0;77,8)	0,043

\*  $p=0,005$  при сравнении группы пациентов с морфологией сперматозоидов 0–2% и группы пациентов с нормозооспермией;

±  $p=0,007$  при сравнении группы пациентов с ОАТ и группы пациентов с нормозооспермией.

Таблица 3. Структура мужской патологии в циклах ВРТ+ПГТ-А в группах мужчин разного возраста

Параметры	Мужчины $\leq 40$ лет (271 цикл)	Мужчины $>40$ лет (70 циклов)	$p$ (критерий $\chi^2$ )
ОАТ, $n$ (%)	34/271 (12,5%)	11/70 (15,7%)	0,486
microTESE, $n$ (%)	4/271 (1,5%)	4/70 (5,7%)	0,037 ОШ 4,045 ДИ [0,986, 16,601]
0–2% Т, $n$ (%)	144/271 (53,1%)	32/70 (45,7%)	0,268
3% Т, $n$ (%)	69/271 (25,5%)	20/70 (28,6%)	0,598
Группа сравнения, $n$ (%)	20/271 (7,4%)	3/70 (4,3%)	0,358

мозаичных эмбрионов также значимо не отличалась между группами мужчин  $\leq 40$  лет и  $>40$  лет: 56/829 (6,8%) против 14/193 (7,2%) соответственно.

Принимая во внимание отсутствие влияния возраста мужчины на частоту анеуплоидий в когорте получаемых эмбрионов, мы решили оценить влияние ТМФ (группа с OAT и microTESE) и других характеристик эякулята (морфология сперматозоидов 0–2% и 3%) на частоту анеуплоидий в циклах ВРТ+ПГТ-А, для чего были проанализированы результаты генетического анализа эмбрионов в группах пациентов с разными параметрами спермограммы. В результате анализа было показано, что частота получения анеуплоидных и эуплоидных эмбрионов не зависит от структуры мужской патологии (табл. 6). Стоит отметить, что частота получения мозаичных эмбрионов значимо отличалась в сравниваемых группах от 6/155 (3,9%) в группе с ТМФ до 9/73 (12,3%) в группе сравнения с нормальными параметрами спермограммы ( $p=0,022$ ). При введении поправки на множественные сравнения был определен новый критический уровень значимости  $p=0,0125$ , однако в результате попарного сравнения анализируемых групп с группой контроля не была преодолена данная величина:  $p=0,017$ ,  $0,029$  и  $0,456$  при сравнении OAT, 0–2%Т и 3%Т против группы контроля соответственно.

Для оценки влияния параметров эякулята на исход программы ВРТ в исследование вошли все пары, которым был осуществлен перенос 1 эмбриона в полость матки на 4-е или 5-е сутки в цикле стимуляции, или перенос 1 эмбриона 5-х или 6-х суток

культивирования как после проведения ПГТ-А, так и без ПГТ-А в криопротоколе, за исключением пар с донорскими ооцитами.

В качестве ключевых параметров исходов программ ВРТ на основании характеристик спермограммы рассматривали частоту наступления клинической беременности (ЧНБ) на число переносов, частоту ранних потерь беременности до 12 недель гестации на ЧНБ и частоту родов на число переносов. Стоит отметить, что информация для контрольных точек доступна не для всех пациенток, т.к. у ряда из них в настоящее время беременность продолжается.

Сравнение исходов программ ВРТ в контрольных временных точках между группами мужчин с разными показателями спермограммы показало, что структура мужской патологии не влияла на исходы лечения бесплодия ни в цикле стимуляции при переносе свежего эмбриона, ни в криопротоколе при переносе замороженного/размороженного эмбриона как в программах с ПГТ-А, так и в программах без генетического тестирования (табл. 7–9).

Сравнение исходов программ ВРТ в циклах стимуляции при переносе свежего эмбриона с исходами в криопротоколах без ПГТ-А показало снижение ЧНБ и частоты родов в криоциклах для всех групп пациентов с разными показателями спермограммы. Однако статистически значимое снижение ЧНБ и частоты родов было выявлено для групп пациентов с морфологией сперматозоидов 0–2%Т и 3%Т. ЧНБ при переносе свежего эмбриона в группе с морфологией 0–2% составила 216/554 (39%) про-

**Таблица 4. Характеристика эмбриологического этапа циклов ВРТ+ПГТ-А в группах мужчин разного возраста**

Параметры эмбриологического этапа	Мужчины $\leq 40$ лет (271 цикл)	Мужчины $>40$ лет (70 циклов)	<i>P</i> ( <i>U</i> -критерий Манна–Уитни)
ОКК	11,0 (7,0;15,0)	8,0 (5,0;13,3)	0,094
Зрелые ооциты	9,0 (6,0;12,0)	7,5 (4,0;12,0)	0,235
Частота оплодотворения, %	88,9 (77,8;100,0)	87,5 (75,0;100,0)	0,971
Частота blastуляции, %	50,0 (33,3;66,7)	42,9 (26,7;66,7)	0,307

**Таблица 5. Частота получения эуплоидных и анеуплоидных эмбрионов в группах мужчин разного возраста**

	Мужчины $\leq 40$ лет, 829 эмбрионов	Мужчины $>40$ лет, 193 эмбриона	<i>p</i> (критерий $\chi^2$ )
Анеуплоидные эмбрионы, <i>n</i> (%)	351/829 (42,3%)	88/193 (45,6%)	0,411
Эуплоидные эмбрионы, <i>n</i> (%)	422/829 (50,9%)	91/193 (47,2%)	0,348
Мозаичные эмбрионы, <i>n</i> (%)	56/829 (6,8%)	14/193 (7,2%)	0,594

**Таблица 6. Частота получения эуплоидных, анеуплоидных и мозаичных эмбрионов в группах мужчин с разными параметрами спермограммы**

	OAT+ microTESE, <i>n</i> =155	0–2%Т, <i>n</i> =517	3%Т, <i>n</i> =277	Группа сравнения, <i>n</i> =73	<i>p</i> (критерий $\chi^2$ )
Анеуплоидные эмбрионы, <i>n</i> (%)	68/155 (43,9%)	215/517 (41,6%)	129/277 (46,6%)	27/73 (37,0%)	0,394
Эуплоидные эмбрионы, <i>n</i> (%)	81/155 (52,3%)	273/517 (52,8%)	122/277 (44,0%)	37/73 (50,7%)	0,118
Мозаичные эмбрионы, <i>n</i> (%)	6/155 (3,9%)	29/517 (5,6%)	26/277 (9,4%)	9/73 (12,3%)	0,022

тив 61/211 (28,9%) в криопротоколе ( $p=0,01$ ,  $\chi^2$ ), ОШ 0,636; ДИ [0,452; 0,897], частота родов – 153/527 (29,0%) против 35/202 (17,3%) соответственно ( $p=0,002$ ,  $\chi^2$ ); ОШ 0,512; ДИ [0,340; 0,772]. В группе с морфологией 3% ЧНБ при переносе свежего эмбриона составила 115/299 (38,5%) против 34/132 (25,8%) в криопротоколе ( $p=0,01$ ,  $\chi^2$ ), ОШ 0,555; ДИ [0,32; 0,874]; частота родов – 72/285 (25,3%) против 16/122 (13,1%) соответственно ( $p=0,007$ ,  $\chi^2$ ); ОШ 0,447; ДИ [0,248; 0,805].

При сравнении исходов программ ВРТ в криопротоколах с ПГТ-А и без проведения генетического тестирования на анеуплоидии было отмечено увеличение ЧНБ при переносе эуплоидного эмбриона, снижение числа ранних потерь, а также увеличение частоты родов, что обусловлено переносом генетически нормального эмбриона по результатам скрининга. Однако статистически значимые отличия были также описаны для групп пациентов с морфологией сперматозоидов 0–2% и 3%. ЧНБ при переносе эуплоидного эмбриона в группе с морфологией 0–2% составила 49/116 (42,2%) против 61/211 (28,9%) в криопротоколе без ПГТ-А ( $p=0,015$ ,  $\chi^2$ ); ОШ 1,798; ДИ [1,120; 2,888]; частота родов – 33/107 (30,8%) против 35/202 (17,3%) соответственно ( $p=0,007$ ,  $\chi^2$ ),

ОШ 2,128; ДИ [1,229; 3,683]. В группе с морфологией 3% ЧНБ в криоцикле при переносе эуплоидного эмбриона составила 23/55 (41,8%) против 34/132 (25,8%) в криопротоколе без ПГТ-А ( $p=0,03$ ,  $\chi^2$ ); ОШ 2,072; ДИ [1,068; 4,019]; частота родов – 19/53 (35,8%) против 16/122 (13,1%) соответственно ( $p<0,001$ ,  $\chi^2$ ); ОШ 3,702; ДИ [1,716; 7,989]. Таким образом, ЧНБ и частота родов в группах с морфологией 0–2 и 3% почти в 2 раза ниже в криопротоколах по сравнению с переносом свежего эмбриона в цикле стимуляции и по сравнению с переносом эуплоидного эмбриона в криоцикле, при отсутствии разницы в частоте получения эуплоидных эмбрионов в группах с измененными параметрами спермограммы и в группах мужчин старше и младше 40 лет.

### Обсуждение

На сегодняшний день данные о влиянии мужского фактора (возраст, ТМФ) на результаты программ ВРТ, такие как жизнеспособность эмбриона/раннее эмбриональное развитие, частота анеуплоидии, а также частота наступления беременности и частота родов являются достаточно неоднознач-

**Таблица 7. Исходы программ ВРТ при переносе 1 эмбриона в полость матки в цикле стимуляции в группах мужчин с разными показателями спермограммы**

Исходы программ ВРТ	ОАТ, n=107	microTESE, n=38	0–2%Т, n=554	3%Т, n=299	Группа сравнения, n=151	p (критерий $\chi^2$ )
Клиническая беременность	45/107 (42,1%)	11/38 (28,9%)	216/554 (39,0%)	115/299 (38,5%)	57/151 (37,7%)	0,715
Ранние потери	7/45 (15,6%)	0/11 (0%)	33/216 (15,3%)	27/115 (23,5%)	10/57 (17,5%)	0,194
Роды *(/n пациенток, для которых известны исходы)	31/103* (30,1%)	8/35* (22,9%)	153/527* (29,0%)	72/285* (25,3%)	43/147* (29,3%)	0,711

**Таблица 8. Исходы программ ВРТ при переносе 1 эмбриона в полость матки в криоцикле в группах мужчин с разными показателями спермограммы**

Исходы программ ВРТ	ОАТ, n=47	microTESE, n=13	0–2%Т, n=211	3%Т, n=132	Группа сравнения, n=68	p (критерий $\chi^2$ )
Клиническая беременность	16/47 (34,0%)	3/13 (23,1%)	61/211 (28,9%)	34/132 (25,8%)	24/68 (35,3%)	0,601
Ранние потери *(/n пациенток, для которых известны исходы)	3/15* (20%)	0/3 (0%)	15/61 (24,6%)	8/33* (24,2%)	5/24 (20,8%)	0,886
Роды *(/n пациенток, для которых известны исходы)	10/44* (22,7%)	3/13 (23,1%)	35/202* (17,3%)	16/122* (13,1%)	14/63* (22,2%)	0,448

**Таблица 9. Исходы программ ВРТ-ПГТ-А при переносе 1 эуплоидного эмбриона в полость матки в криоцикле в группах мужчин с разными показателями спермограммы**

Исходы программ ВРТ	ОАТ, n=29	microTESE, n=6	0–2%Т, n=116	3%Т, n=55	Группа сравнения, n=13	p (критерий $\chi^2$ )
Клиническая беременность	13/29 (44,8%)	3/6 (50%)	49/116 (42,2%)	23/55 (41,8%)	4/13 (30,8%)	0,921
Ранние потери *(/n пациенток, для которых известны исходы)	1/13 (7,7%)	0/3 (0%)	6/47* (12,8%)	2/23 (8,7%)	0/4 (0%)	0,862
Роды *(/n пациенток, для которых известны исходы)	11/28* (39,3%)	3/6 (50%)	33/107* (30,8%)	19/53* (35,8%)	3/13 (23,1%)	0,688

ными и дискуссионными. Настоящее исследование было посвящено изучению влияния старшего репродуктивного возраста отцов (>40 лет) и наличия ТМФ на частоту эмбриональных анеуплоидий в программах ЭКО/ИКСИ, а также изучению влияния данных факторов на эмбриологический этап лечения бесплодия. Принимая во внимание, что большинство анеуплоидий эмбриона являются результатом наследования материнских aberrаций, распространенность которых увеличивается с 30% у женщин в возрасте от 30 лет до почти 90% у женщин в возрасте 44 лет [11], мы исключили все циклы ВРТ, в которых возраст женщин превышал 35 лет, чтобы нивелировать влияние материнского фактора на частоту анеуплоидий и исходы программ ВРТ.

Считается, что возраст мужчины отрицательно влияет на результаты ВРТ, возможно вследствие повреждения ДНК в сперматозоидах в результате оксидативного стресса [11]. В результате проведенного анализа не было выявлено значимых различий в характеристиках эмбриологического этапа в группах мужчин старше и младше 40 лет: частота оплодотворения и частота бластуляции были сопоставимы в обеих группах, что согласуется с данными Kasman A.M. et al. [13], которые показали, что возраст отца ( $\geq 40$  лет) не связан ни с эмбриологическим этапом, ни исходами программ ВРТ. Хотя в исследовании Dviri M. et al. [14] было отмечено статистически значимое снижение частоты оплодотворения с 80% до 76% в группе мужчин  $\geq 50$  по сравнению с более молодыми мужчинами, что конечно не является столь клинически значимым фактом, в то время как Hanson B.M. et al. в своей работе при анализе 4058 циклов показали снижение процента бластуляции в группе мужчин  $\geq 40$  лет [15], а Morris G. et al. в исследовании 2021г показали, что независимо от причины бесплодия, увеличение мужского возраста ( $\geq 50$  лет) связано с уменьшением количества живорождений и ЧНБ, но не влияет на частоту ранних потерь [16]. Требуется дальнейшие исследования по изучению возможных механизмов этого эффекта, а также необходимо совершенствовать существующие методы отбора сперматозоидов, которые могут смягчить данные эффекты.

При сравнении показателей эмбриологического этапа в группах мужчин с разными параметрами эякулята нами было отмечено снижение процента получения бластоцист высокого качества в анализируемых группах по сравнению с группой с нормозооспермией. Статистически значимая разница была определена для группы мужчин с ОАТ и группы с морфологией сперматозоидов 0–2%, что может свидетельствовать о влиянии мужского фактора на раннее эмбриональное развитие. В работе Mazzilli R. et al. в результате анализа 1219 циклов было отмечено снижение частоты оплодотворения для групп с ТМФ по сравнению с группой с нормозооспермией, в то время как частота получения бластоцист топового уровня была значимо ниже только в группе с неабструктивной азооспермией [17]. Анализ 1266 циклов ИКСИ показал, что снижение концентрации (<5 млн/мл) связано со снижением

частоты оплодотворения, но не влияет на частоту получения бластоцист отличного качества и на частоту продолжающейся беременности [18].

Сперматозоиды играют важную роль на этапах эмбриогенеза, таких как оплодотворение, эпигенетический контроль и деление клеток, что может повлиять на результаты ИКСИ. Существует мнение, что негативное влияние тяжелой ОАТ на скорость бластуляции может быть связано с повышенной фрагментацией ДНК сперматозоидов [19]. В недавнем исследовании, в котором за эмбрионами наблюдали с помощью метода покадровой съемки, продемонстрировали, что ТМФ связан с более низким процентом бластоцист, доступных для переноса, по сравнению с другими причинами бесплодия. Однако ранние и поздние морфокинетические параметры эмбрионов оставались схожими независимо от степени тяжести мужского бесплодия [20], но этот факт не дает полной уверенности в высоком репродуктивном потенциале переносимых бластоцист. Таким образом, присутствие ТМФ, по-видимому, в первую очередь влияет на способность оплодотворенных ооцитов достигать стадии бластоцисты, что приводит к уменьшению количества бластоцист топового качества. Однако это не полностью доказывает, сохраняется ли репродуктивный потенциал переносимых бластоцист.

Как показали ранние исследования с использованием FISH, количество анеуплоидных эмбрионов на стадии дробления может зависеть от тяжести мужского бесплодия. Однако вероятность того, что анеуплоидные на стадии дробления эмбрионы достигнут стадии бластоцисты, может отрицательно коррелировать с ТМФ. Таким образом, частота эуплоидных эмбрионов на стадии бластоцисты может быть одинаковой для группа мужчин со сниженными показателями спермограммы, как показали недавние исследования [17, 21]. Это можно объяснить преимуществом выживания эуплоидных на стадии дробления эмбрионов до стадии бластоцист. Другое возможное объяснение заключается в том, что время биопсии эмбриона влияет на частоту анеуплоидии, поскольку статус плоидности эмбрионов более точно определяется на стадии бластоцисты, чем на стадии дробления [22].

Установлен факт, что повышение частоты эмбриональных анеуплоидий связано с возрастом матери [11]. В отношении возраста отца и показателей эякулята и их связи с частотой анеуплоидий однозначных объективных данных нет. Известно, что по мере увеличения возраста у мужчин в сперматозоидах накапливаются точечные мутации, отвечающие за наследование определенных заболеваний (шизофрения, аутизм): удвоение отцовских наследуемых мутаций происходит каждые 16,5 года [23], в то время как доказательство генеза именно отцовских анеуплоидий остаются противоречивыми. В результате нашего исследования было показано, что ни аномальные параметры спермограммы (ОАТ, microTESE, морфология сперматозоидов), ни возраст отца старше 40 лет не связаны с повышением частоты анеуплоидии эмбрионов, что соответствовало более ранним исследованиям [17,

21]. В исследовании Carrasquillo R.J. et al. при анализе 1202 циклов с донорскими ооцитами и ПГТ-А было показано отсутствие влияния старшего репродуктивного возраста отца на генетический статус эмбриона [24]. Аналогичные результаты были получены при анализе 3118 эмбрионов на анеуплоидии в группах мужчин разного возраста ( $\leq 39$ , 40–49,  $\geq 50$  лет) в программах с донорскими ооцитами: не было найдено связи между возрастом отца и уровнем анеуплоидий [14]. Однако Coates A. et al. сообщили о повышенной частоте аномалий половых хромосом у эмбрионов в группе мужчин с олигозооспермией по сравнению с мужчинами с нормальной спермой [25]. Более низкая частота эуплоидии, более высокая частота мозаицизма и более высокая частота аномального морфокинетического развития были описаны при ИКСИ с тестикулярной спермой с женщинами  $\leq 35$  лет по сравнению с нормальными сперматозоидами [26].

Анализ исходов программ ВРТ показал, что при переносе как свежего эмбриона в цикле стимуляции, так и размороженного эмбриона в криопротоколе значения контрольных временных точек измерения (ЧНБ, потери на ранних сроках, частота родов) статистически значимо не различались в группах с разными показателями спермограммы. Таким образом, можно сделать вывод, что наличие фактора мужского бесплодия, связанного с изменениями в показателях эякулята не влияет на исходы программ ВРТ. Стоит отметить, что наилучшие показатели по суммарной ЧНБ (42,0%), случаям ранних потерь (10%) и частоте родов (33,3%) отмечены в программах ВРТ с ПГТ-А, что обусловлено переносом эуплоидного эмбриона, в отличие от программ без ПГТ-А. Минимальная суммарная ЧНБ 29,3%, максимальное количество ранних потерь 22,8% и минимальная частота родов 17,6% были выявлены при переносе замороженного/размороженного эмбриона в криопротоколе без ПГТ-А.

Сравнение исходов программ ВРТ для пар с нормозооспермией при переносе как свежего, так и размороженного эмбриона в циклах с ПГТ-А и без генетического скрининга показало отсутствие значимых различий по каждой из контрольных временных точек: частота родов составила 29,3%, 22,2% и 23,1% соответственно. Таким образом, для пар с нормозооспермией и возрастом женщин  $\leq 35$  лет проведение ПГТ-А не улучшает исходы программ ВРТ. В группе пациентов с ТМФ (объединенная группа ОАТ и microTESE) было отмечено повышение ЧНБ, снижение ранних потерь и увеличение частоты родов по сравнению с переносом размороженного эмбриона без ПГТ-А: 45,7% против 31,7%; 6,3% против 16,7% и 41,2% против 22,8% соответственно. Однако данные различия не достигли уровня статистической значимости, но была отмечена тенденция в отношении частоты родов ( $p=0,064$ ). Похожие выводы были сделаны Xu R. et al. [27], которые показали, что ПГТ-А на основе NGS может улучшить исходы беременности для пар с ТМФ за счет значительного снижения частоты выкидышей на ранних сроках (6,7% против 21,6%,  $p=0,02$ ), но без влияния на кумулятивную частоту продолжаю-

щейся беременности (54,9% против 55,8%,  $p=0,90$ ) по сравнению с ИКСИ без ПГТ-А.

Сравнение исходов программ ВРТ в группах мужчин с морфологией 0–2% и 3% показало статистически значимое снижение ЧНБ и частоты родов при переносе замороженного/размороженного эмбриона с неизвестным генетическим статусом как по сравнению с переносом свежего эмбриона в цикле стимуляции в аналогичной группе, так и по сравнению с переносом эмбриона в криопротоколе с ПГТ-А. Это согласуется с работой, в которой было показано, что наличие тератозооспермии у мужчин способствует повышенному риску неудачных исходов программ ВРТ [28]. Надо сказать, что тератозооспермия является одним из самых распространенных вариантов отклонений от нормы в спермограмме в общей популяции пациентов, а морфологическая оценка сперматозоидов сама по себе является крайне субъективной и во многом зависит от эмбриолога. Известно, что неудачи имплантации на 1/3 связаны с эмбрионом, а на 2/3 – с эндометрием [29]. Основная причина бесплодия в таких парах отводится женскому фактору бесплодия. Снижение ЧНБ и частоты родов в криопротоколе в таких парах, вероятно, связано с недостаточным обследованием женщины. В парах с ТМФ (ОАТ, microTESE), как правило, женщины не имеют отягощенного анамнеза, что подтверждается отсутствием статистически значимых различий в ЧНБ и частоте родов как при переносе эмбриона в цикле стимуляции, так и при переносе размороженного эмбриона в криопротоколе.

## Заключение

Настоящее исследование продемонстрировало, что в парах с ТМФ ПГТ-А на основе NGS может повысить частоту родов с меньшим количеством перенесенных эмбрионов за счет снижения именно числа потерь на ранних сроках беременности, т.к., по нашим данным, частота получения эуплоидных и анеуплоидных эмбрионов в группах мужчин с разными параметрами спермограммы, в том числе и с ОАТ, и с microTESE, не отличалась от таковой в группе сравнения и составила около 50%. Данный подход можно рекомендовать для пар с ТМФ. Также стоит отметить, что наличие тяжелых форм мужского бесплодия и преклонный возраст отца ( $\geq 50$  лет) могут отрицательно повлиять на скорость оплодотворения и бластуляции, но не на ЧНБ в циклах ИКСИ. Однако для подтверждения этих результатов по-прежнему необходимы хорошо спланированные и достаточно мощные рандомизированные контролируемые исследования.

## Литература/References

1. Palermo G., Joris H., Devroey P., Van Steirteghem A.C. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet*. 1992; 340(8810): 17–8. [https://dx.doi.org/10.1016/0140-6736\(92\)92425-f](https://dx.doi.org/10.1016/0140-6736(92)92425-f).
2. de Mouzon J., Chambers G.M., Zegers-Hochschild F., Mansour R., Ishihara O., Banker M. et al. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive

- Technologies world report: assisted reproductive technology 2012† Hum. Reprod. 2020; 35(8): 1900-13. <https://dx.doi.org/10.1093/humrep/deaa090>.
3. *Brugh V.M., Lipshultz L.I.* Male factor infertility: evaluation and management. Med. Clin. North Am. 2004; 88(2): 367-85. [https://dx.doi.org/10.1016/S0025-7125\(03\)00150-0](https://dx.doi.org/10.1016/S0025-7125(03)00150-0).
  4. *Punab M., Poolamets O., Paju P., Vihlajev V., Pomm K., Ladva R.* et al. Causes of male infertility: a 9-year prospective monocentre study on 1737 patients with reduced total sperm counts. Hum. Reprod. 2017; 32(1): 18-31. <https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dew284>.
  5. *Bergh C., Pinborg A., Wennerholm U.B.* Parental age and child outcomes. Fertil. Steril. 2019; 111(6): 1036-46. <https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.04.026>.
  6. *Sagi-Dain L., Sagi S., Dirmfeld M.* Effect of paternal age on reproductive outcomes in oocyte donation model: a systematic review. Fertil. Steril. 2015; 104(4): 857-65.e1. <https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.06.036>.
  7. *Carvalho F., Coonen E., Goossens V., Kokkali G., Rubio C., Meijer-Hoogveen M.* et al. ESHRE PGT Consortium good practice recommendations for the organisation of PGT. Hum. Reprod. Open. 2020; 2020(3): hoaa021. <https://dx.doi.org/10.1093/hropen/hoaa021>.
  8. *Magli M.C., Gianaroli L., Ferraretti A.P., Gordts S., Fredericks V., Crippa A.* Paternal contribution to aneuploidy in preimplantation embryos. Reprod. Biomed. Online. 2009; 18(4): 536-42. [https://dx.doi.org/10.1016/s1472-6483\(10\)60131-9](https://dx.doi.org/10.1016/s1472-6483(10)60131-9).
  9. *Cooper T.G., Noonan E., von Eckardstein S., Auger J., Baker H.W.G., Behre H.M.* et al. World Health Organization reference values for human semen characteristics. Hum. Reprod. Update. 2010; 16(3): 231-45. <https://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmp048>.
  10. Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. Hum. Reprod. 2011; 26(6): 1270-83. <https://dx.doi.org/10.1093/humrep/der037>.
  11. *Franasiak J.M., Forman E.J., Hong K.H., Werner M.D., Upham K.M., Treff N.R., Scott R.T. Jr.* The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15,169 consecutive trophoctoderm biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening. Fertil. Steril. 2014; 101(3): 656-63.e1. <https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.11.004>.
  12. *Смольникова В.Ю., Агаджанян Д.С., Красный А.М.* Активные формы кислорода и компоненты системы антиоксидантной защиты как маркеры прогнозирования качества эмбрионов у супружеских пар с различными типами бесплодия. Акушерство и гинекология. 2020; 11: 55-60. [Smolnikova V.Yu., Agadzhanyan D.S., Krasnyi A.M. Reactive oxygen species and components of the antioxidant defense system as markers for prediction of embryo quality in married couples with different infertility types. Obstetrics and Gynecology. 2020; 11: 55-60. (in Russian)]. <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.11.55-60>.
  13. *Kasman A.M., Li S., Zhao Q., Behr B., Eisenberg M.L.* Relationship between male age, semen parameters and assisted reproductive technology outcomes. Andrology. 2021; 9(1): 245-52. <https://dx.doi.org/10.1111/andr.12908>.
  14. *Dviri M., Madjunkova S., Koziaz A., Antes R., Abramov R., Mashlach J.* et al. Is there a correlation between paternal age and aneuploidy rate? An analysis of 3,118 embryos derived from young egg donors. Fertil. Steril. 2020; 114(2): 293-300. <https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.03.034>. Erratum in: Fertil. Steril. 2020; 114(5): 1122.
  15. *Hanson B.M., Kim J.G., Osman E.K., Tiegs A.W., Lathi R.B., Cheng P.J.* et al. Impact of paternal age on embryology and pregnancy outcomes in the setting of a euploid single-embryo transfer with ejaculated sperm: retrospective cohort study. F S Rep. 2020; 1(2): 99-105. <https://dx.doi.org/10.1016/j.xfre.2020.06.004>.
  16. *Morris G., Mavrelou D., Oda R., Viñals Gonzalez X., Cawood S., Yasmin E.* et al. Paternal age over 50 years decreases assisted reproductive technology (ART) success: A single UK center retrospective analysis. Acta Obstet. Gynecol. Scand. 2021; 100(10): 1858-67. <https://dx.doi.org/10.1111/aogs.14221>.
  17. *Mazzilli R., Cimadomo D., Vaiarelli A., Capalbo A., Dovere L., Alviggi E.* et al. Effect of the male factor on the clinical outcome of intracytoplasmic sperm injection combined with preimplantation aneuploidy testing: observational longitudinal cohort study of 1,219 consecutive cycles. Fertil. Steril. 2017; 108(6): 961-72.e3. <https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.08.033>.
  18. *Bartolacci A., Pagliardini L., Makieva S., Salonia A., Papaleo E., Viganò P.* Abnormal sperm concentration and motility as well as advanced paternal age compromise early embryonic development but not pregnancy outcomes: a retrospective study of 1266 ICSI cycles. J. Assist. Reprod. Genet. 2018; 35(10): 1897-903. <https://dx.doi.org/10.1007/s10815-018-1256-8>.
  19. *Sedó C.A., Bilinski M., Lorenzi D., Uriondo H., Noblía F., Longobucco V.* et al. Effect of sperm DNA fragmentation on embryo development: clinical and biological aspects. JBRA Assist. Reprod. 2017; 21(4): 343-50. <https://dx.doi.org/10.5935/1518-0557.20170061>.
  20. *Sacha C.R., Dimitriadis I., Christou G., James K., Brock M.L., Rice S.T.* et al. The impact of male factor infertility on early and late morphokinetic parameters: a retrospective analysis of 4126 time-lapse monitored embryos. Hum. Reprod. 2020; 35(1): 24-31. <https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dez251>.
  21. *Tarozzi N., Nadalini M., Lagalla C., Coticchio G., Zacà C., Borini A.* Male factor infertility impacts the rate of mosaic blastocysts in cycles of preimplantation genetic testing for aneuploidy. J. Assist. Reprod. Genet. 2019; 36(10): 2047-55. <https://dx.doi.org/10.1007/s10815-019-01584-w>.
  22. *Liñán A., Lawrenz B., El Khatib I., Bayram A., Armanz A., Rubio C.* et al. Clinical reassessment of human embryo ploidy status between cleavage and blastocyst stage by Next Generation Sequencing. PLoS One. 2018; 13(8): e0201652. <https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0201652>.
  23. *Kong A., Frigge M.L., Masson G., Besenbacher S., Sulem P., Magnusson G.* et al. Rate of de novo mutations and the importance of father's age to disease risk. Nature. 2012; 488(7412): 471-5. <https://dx.doi.org/10.1038/nature11396>.
  24. *Carrasquillo R.J., Kohn T.P., Cinnioglu C., Rubio C., Simon C., Ramasamy R., Al-Asmar N.* Advanced paternal age does not affect embryo aneuploidy following blastocyst biopsy in egg donor cycles. J. Assist. Reprod. Genet. 2019; 36(10): 2039-45. <https://dx.doi.org/10.1007/s10815-019-01549-z>.
  25. *Coates A., Hesla J.S., Hurliman A., Coate B., Holmes E., Matthews R.* et al. Use of suboptimal sperm increases the risk of aneuploidy of the sex chromosomes in preimplantation blastocyst embryos. Fertil. Steril. 2015; 104(4): 866-72. <https://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.06.033>.
  26. *Kahraman S., Sahin Y., Yelke H., Kumtepe Y., Tufekci M.A., Yapan C.C.* et al. High rates of aneuploidy, mosaicism and abnormal morphokinetic development in cases with low sperm concentration. J. Assist. Reprod. Genet. 2020; 37(3): 629-40. <https://dx.doi.org/10.1007/s10815-019-01673-w>.
  27. *Xu R., Ding Y., Wang Y., He Y., Sun Y., Lu Y., Yao N.* Comparison of preimplantation genetic testing for aneuploidy versus intracytoplasmic sperm injection in severe male infertility. Andrologia. 2021; 53(6): e14065. <https://dx.doi.org/10.1111/andr.14065>.
  28. *Долгушина Н.В., Сокур С.А., Глинкина Ж.И., Калинина Е.А.* Исходы программ вспомогательных репродуктивных технологий у супружеских пар с различными видами патозооспермии у мужчин. Акушерство и гинекология. 2013; 10: 69-75. [Dolgushina V.F., Sokur S.A., Glinkina Zh.I., Kalinina E.A. Outcomes of assisted reproductive technology programs in married couples with different types of pathozoospermia in men. Obstetrics and Gynecology. 2013; 10: 69-75. (in Russian)].
  29. *Achache H., Revel A.* Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. Hum. Reprod. Update. 2006; 12(6): 731-46. <https://dx.doi.org/10.1093/humupd/dml004>.

Поступила 12.10.2021

Принята в печать 28.10.2021

Received 12.10.2021

Accepted 28.10.2021

**Сведения об авторах:**

*Макарова Наталья Петровна*, д.б.н., в.н.с. отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, np\_makarova@oparina4.ru, <https://orcid.org/0000-0003-8922-2878>, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

*Лобанова Наталья Николаевна*, м.н.с. отделения вспомогательных репродуктивных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, n\_lobanova@oparina4.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0818-4073>, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

*Кулакова Елена Владимировна*, к.м.н., с.н.с. отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, e\_kulakova@oparina4.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4433-4163>, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

*Непша Оксана Сергеевна*, к.б.н., научный сотрудник отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, o\_nepsha@oparina4.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9988-2810>, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

*Екимов Алексей Николаевич*, врач-лабораторный генетик лаборатории молекулярно-генетических методов, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, a\_ekimov@oparina4.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5029-0462>, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

*Калинина Елена Анатольевна*, д.м.н., профессор, заведующая отделением вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова Минздрава России, e\_kalinina@oparina4.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8922-2878>, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

*Автор, ответственный за переписку:* Оксана Сергеевна Непша, o\_nepsha@oparina4.ru

**Authors' information:**

*Natalia P. Makarova*, Dr. Biol. Sci., Senior Researcher at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, np\_makarova@oparina4.ru, <https://orcid.org/0000-0003-8922-2878>, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.

*Nataliya N. Lobanova*, Junior Researcher at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, n\_lobanova@oparina4.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0818-4073>, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.

*Elena V. Kulakova*, Ph.D., Senior Researcher at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, e\_kulakova@oparina4.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4433-4163>, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.

*Oksana S. Nepsha*, Ph.D. (Biol. Sci.), Researcher at the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, nepsha@oparina4.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9988-2810>, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.

*Alexey N. Ekimov*, Clinical Geneticist at the Molecular Genetics Laboratory, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, a\_ekimov@oparina4.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5029-0462>, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.

*Elena A. Kalinina*, Dr. Med. Sci., Professor, Head of the B.V. Leonov Department of Assisted Technologies for the Treatment of Infertility, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia, e\_kalinina@oparina4.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8922-2878>, 117997, Russia, Moscow, Academician Oparin str., 4.

*Corresponding author:* Oksana S. Nepsha, nepsha@oparina4.ru