

<https://doi.org/10.29188/2222-8543-2023-16-4-80-91>

# Сравнительная характеристика тестикулярной и уретральной микробиоты у пациентов с различными видами азооспермии и сопутствующим варикоцеле

КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

**М.В. Фаниев<sup>1</sup>, З.А. Кадыров<sup>1</sup>, Н.К. Дружинина<sup>1</sup>, В.С. Степанов<sup>1</sup>, Я.В. Прокопьев<sup>2</sup>, Т.В. Федоренко<sup>3</sup>, М.И. Маркелова<sup>4</sup>, Д.Р. Хуснутдинова<sup>4</sup>, Т.В. Григорьева<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> ФНМО МИ РУДН; д. 6, ул. Миклухо-Маклая, Москва, 117198, Россия

<sup>2</sup> КГМА – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России; д. 11, ул. Муштары, г. Казань, Республика Татарстан, 420012, Россия

<sup>3</sup> Центр репродуктивной и клеточной медицины диагностического центра ГБУЗ «ДГКБ г. Краснодар» МЗ КК; д. 97, ул. Академика Лукьяненко П.П., г. Краснодар, 350012, Россия

<sup>4</sup> ФГАОУ ВО КФУ, Институт фундаментальной медицины и биологии; д. 9, ул. Парижской коммуны, г. Казань, Республика Татарстан, 420008, Россия

**Контакт:** Дружинина Надежда Константиновна, kvdrdnk@mail.ru

## Аннотация:

**Введение.** Повсеместно с проблемой бесплодия сталкивается около 15% пар репродуктивного возраста, при этом мужской фактор, выступает основной причиной в 50% случаев. Отсутствие эффективного лечения мужского бесплодия во многом обусловлено многофакторной этиологией данного заболевания. Одним из таких факторов выступают инфекции урогенитального тракта, диагностический поиск которых требует разработки новых методов. На сегодняшний день, секвенирование следующего поколения (NGS), использующие последовательность нуклеотидов в 16S рРНК-область бактериального генома является самым современным и высокочувствительным методом определения микробиома. Цель: изучить и сравнить структуру тестикулярной и уретральной микробиоты у пациентов с различными видами азооспермии и сопутствующим варикоцеле.

**Материалы и методы.** В исследование вошли 107 инфертильных пациентов с различными видами азооспермии, в отдельных случаях, с сопутствующим варикоцеле, обратившиеся в Центр репродуктивной и клеточной медицины ГБУЗ ДГКБ г. Краснодар Министерства здравоохранения Краснодарского края. В результате подготовки проб 31 образец не соответствовал критериям качества исследования. Во всех случаях пациентам было выполнено тисго-TESE (мультифокальная биопсия яичек), а также забор биологического материала уретры. При исследовании структуры микробиома тестикулярной ткани был проведен анализ ампликонов бактериального гена 16S рРНК с использованием высокопроизводительного секвенирования нового поколения (NGS). Данные обрабатывали с помощью программы QIIME (версия 1.9.1).

**Результаты.** Сравнительная характеристика структуры микробиоты уретры и тестикул была проведена с использованием средних значений в группах, на уровне фил и семейств. При сравнении микробиоты уретры было выявлено сходство видового состава микробиоты у пациентов с необструктивной азооспермией (NOA) и обструктивной азооспермией (OA), тогда как видовой состав микробиоты яичка у пациентов с OA имеет сходство с аналогичным у пациентов с варикоцеле. В результате анализа данных было выявлено 6 фил и 12 семейств бактерий общих как для ткани яичка, так и для уретры. При сравнении частоты встречаемости данных бактерий, были выявлены отличия в группах сравнения.

**Выводы.** Микробиота уретры у мужчин имеет широкий таксономический состав, имеющий особенности у инфертильных пациентов, обусловленные, на наш взгляд нарушением работы ГТБ в частности, у пациентов с варикоцеле. Структура микробиоты тестикулярной ткани имеет снижение видового разнообразия у пациентов с необструктивной азооспермией с доминирующим семейством Enterobacteriaceae\_A, в отличие от пациентов с обструктивной азооспермией и пациентов с NOA и сопутствующим варикоцеле. Сложившаяся ситуация и различие научных публикаций и экспертных мнений требует дальнейшего расширения спектра научных междисциплинарных исследований.

**Ключевые слова:** азооспермия; микробиота яичка; микробиота уретры; варикоцеле; мужское бесплодие.

**Для цитирования:** Фаниев М.В., Кадыров З.А., Дружинина Н.К., Степанов В.С., Прокопьев Я.В., Федоренко Т.В., Маркелова М.И., Хуснутдинова Д.Р., Григорьева Т.В. Сравнительная характеристика тестикулярной и уретральной микробиоты у пациентов с различными видами азооспермии и сопутствующим варикоцеле. Экспериментальная и клиническая урология 2023;16(4):80-91; <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2023-16-4-80-91>

<https://doi.org/10.29188/2222-8543-2023-16-4-80-91>

# Comparative characteristics of testicular and urethral microbiota in patients with various types of azoospermia and concomitant varicocele

CLINICAL STUDY

**M.V. Faniev<sup>1</sup>, Z.A. Kadyrov<sup>1</sup>, N.K. Druzhinina<sup>1</sup>, V.N. Stepanov<sup>1</sup>, Ya.V. Prokopyev<sup>2</sup>, T.V. Fedorenko<sup>3</sup>, M.I. Markelova<sup>4</sup>, D.R. Khusnutdinova<sup>4</sup>, T.V. Grigorieva<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> RUDN University; 6, st. Miklouho-Maclay, Moscow, 117198, Russia

<sup>2</sup> KSMA – department of the Federal State Budgetary Educational Institution of Further Professional Education RMANPO of the Ministry of Health of the Russian Federation; 11, st. Mushtari, Kazan, Republic of Tatarstan, 420012, Russia

<sup>3</sup> Center for Reproductive and Cellular Medicine of the Diagnostic Center of the State Budgetary Institution of Healthcare «DGKB in Krasnodar» of the Ministry of Health of the Krasnodar Region, st. Academician Lukyanenko P.P., Krasnodar, 350012, Russia

<sup>4</sup> Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education KFU, Institute of Fundamental Medicine and Biology; 9, st. Paris Commune, Kazan, Republic of Tatarstan, 420008, Russia

**Contacts:** Druzhinina K. Nadezhda, kvdrdnk@mail.ru

### Summary:

**Introduction.** Everywhere, about 15% of couples of reproductive age have the problem of infertility, with the male factor being the main cause in 50% of cases. The lack of effective treatment for male infertility is largely due to the multifactorial etiology of this disease. One of these factors is infections of the urogenital tract, the diagnostic search for which requires the development of new methods. Today, next generation sequencing (NGS), using the nucleotide sequence in the 16S rRNA region of the bacterial genome, is the most modern and highly sensitive method for determining the microbiome. Aim: to study and compare the structure of the testicular and urethral microbiota in patients with various types of azoospermia and concomitant varicocele.

**Materials and methods.** The study included 107 infertile patients with various types of azoospermia, in some cases, with concomitant varicocele, who applied to the Center for Reproductive and Cellular Medicine of the State Budgetary Healthcare Institution of the Children's City Clinical Hospital in Krasnodar, Ministry of Health of the Republic of Krasnodar region. As a result of sample preparation, 31 samples did not meet the quality criteria and were excluded from the study. In all cases, patients underwent micro-TESE (multifocal testicular biopsy), as well as collection of biological material from the urethra. When studying the structure of the microbiome of testicular tissue, amplicons of the bacterial 16S rRNA gene were analyzed using high-throughput next-generation sequencing (NGS). Data were processed using the QIIME program (version 1.9.1).

**Results.** Comparative characteristics of the structure of the microbiota of the urethra and testicles were carried out using average values in groups, at the level of phyla and families. When comparing the urethral microbiota, a similarity in the species composition of the microbiota was revealed in patients with non-obstructive azoospermia (NOA) and obstructive azoospermia (OA), while the species composition of the testicular microbiota in patients with OA is similar to that in patients with varicocele. As a result of data analysis, 6 phyla and 12 families of bacteria were identified that are common to both testicular and urethral tissue. When comparing the frequency of occurrence of these bacteria, differences were identified in the comparison groups.

**Conclusions.** The microbiota of the urethra in men has a wide taxonomic composition, which has characteristics in infertile patients, caused, in our opinion, by disruption of the GTB, in particular, in patients with varicocele. The structure of the microbiota of testicular tissue has a decrease in species diversity in patients with non-obstructive azoospermia with the dominant Enterobacteriaceae\_A family, in contrast to patients with obstructive azoospermia and patients with NOA and concomitant varicocele. The current situation and the discrepancy in scientific publications and expert opinions require further expansion of the range of scientific interdisciplinary research.

**Key words:** azoospermia; testicular microbiota; urethral microbiota; varicocele; male infertility.

**For citation:** Faniev M.V., Kadyrov Z.A., Druzhinina N.K., Stepanov V.N., Prokopyev Ya.V., Fedorenko T.V., Markelova M.I., Khusnutdinova D.R., Grigorieva T.V. Comparative characteristics of testicular and urethral microbiota in patients with various types of azoospermia and concomitant varicocele. *Experimental and Clinical Urology* 2023;16(4):80-91; <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2023-16-4-80-91>

## ВВЕДЕНИЕ

Во всем мире с проблемой бесплодия сталкивается около 15% пар репродуктивного возраста [1], при этом мужской фактор, выступает основной причиной в 50% случаев [1–3]. Исследование глобальных показателей бесплодия, проведенное с 1990 по 2010 год в 190 странах, показало, что 48,5 миллионов пар были бесплодными, 19,2 миллиона из них страдали от первичного бесплодия, в то время как у 29,3 миллионов было диагностировано вторичное бесплодие [4]. В 10-15% случаев этиология бесплодия остается идиопатической [5, 6].

Отсутствие эффекта от лечения мужского бесплодия во многом связано с многофакторной этиологией данного заболевания. Одним из таких факторов могут являться инфекции уrogenитального тракта, не всегда подвергшиеся адекватному диагностическому поиску. Исследования *in vitro* выявили механизмы, с помощью которых бактерии влияют на функцию семенной жидкости, включая агглютинацию подвижных сперматозоидов, индукцию апоптоза, выработку факторов иммобилизации и нарушение акросомальной реакции [7–11]. Микроорганизмы, населяющие определенный локус человеческого тела, способны формировать сообщества. Данные сообщества носят название микробиом. Анализ последовательности гена 16S рРНК может привести к открытию новых патогенов и позволяет идентифицировать некультивируемые бактерии, обеспечивая независимость от условий роста [12]. Тра-

диционно считалось, что мужская уретра стерильна или лишь временно колонизирована микроорганизмами, однако, сегодня Van Der Pol. и соавт. отмечают, что микробиота уретры формируется еще до начала половой жизни, расширяя свой видовой состав при получении индивидом сексуального опыта и дополняясь транзитной микрофлорой. Однако существует и резидентная микробиота уретры, к ней относят: *Lactobacilli*, *Diphtheroides*, *Streptococcus*, *Peptostreptococcus* [13].

Особое место в исследовании структуры микробиоты уrogenитального тракта занимает тестикулярная ткань, что связано с инвазией при заборе материала и техническими трудностями диагностики. В связи с чем многие клинические исследования основывались на диагностике показателей эякулята. Долгое время внутренняя среда яичка считалась абсолютно стерильной, и первым, кто опроверг данную догму, стал М. Alfano и соавт., доказавшие присутствие микроорганизмов в структуре микробиоты яичка [14]. При исследовании микробиологического состава семенной жидкости чаще всего выделяют такие виды, как Enterobacteriaceae (включая *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella spp.*, *Salmonella spp.*, *Proteus spp.* и *Pseudomonas spp.*), *Streptococcus spp.* (*S. agalactiae*, *S. anginosus*, *S. faecalis* и *S. viridians*), *Staphylococcus spp.* (*S. aureus*, *S. haemolyticus*, *Sepidermidis*), также встречаются возбудители инфекций, передающихся половым путем (ИППП) (*Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma spp.* и *Chlamydia trachomatis*), *Gardnerellavaginalis*, *Bacteroides spp.*, *Morganella morganii* и др. [15]. ■

Следует отметить, что эякулят представляет собой совокупность секретов желез, входящих в уrogenитальный тракт мужчины и, следовательно, микробиологические сообщества, населяющие последний, способны оказывать влияние на качество семенной жидкости. Методы исследования микробиологических сообществ всегда вызвали огромный интерес среди врачебного сообщества. К основным методам, позволяющим установить микробиологический состав исследуемой области, на сегодняшний день в рутинной практике относят культуральные методы исследования [16]. Однако, по мнению Г.А. Осипова и соавт., существующая методология микробиологического обследования пациента в клинических лабораториях по разным причинам не позволяет выявлять большинство клинически значимых микробов из числа аэробных актинобактерий, всех анаэробов и других трудно культивируемых микроорганизмов [17]. Альтернативным методом, позволяющим определить состав микробиологического сообщества, является метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) [18]. Однако данный метод позволяет выявить строго определенный спектр микроорганизмов, что толкает исследователей к поиску новых методов верификации состава микробиологических сообществ.

К самым современным и высокочувствительным методам определения микробиома относят секвенирование следующего поколения (NGS), которое использует последовательность нуклеотидов в 16S рРНК-область бактериального генома для идентификации бактерий [19, 20]. Это позволило более точно охарактеризовать микробиологический спектр бактериальных таксонов, которые не могли быть выделены стандартными методами исследования и проанализировать крупномасштабные последовательности микробного генома.

Целью данной работы является изучение, а также сравнение структуры тестикулярной и уретральной микробиоты у пациентов с различными видами азооспермии и сопутствующим варикоцеле.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В основу данной работы легли результаты анализа 107 инфертильных пациентов с различными видами азооспермии и, в отдельных случаях, с сопутствующим варикоцеле, обратившихся в Центр репродуктивной и клеточной медицины ГБУЗ ДГКБ г. Краснодар Министерства здравоохранения Краснодарского края.

В результате подготовки проб 31 образец не соответствовал критериям качества и был исключен из исследования. Таким образом, в исследовании вошли 76 мужчин с подтвержденной азооспермией и сопутствующим варикоцеле в возрасте 23-49 (в среднем  $28 \pm 5,1$ ). В зависимости от вида азооспермии и сопут-

ствующего варикоцеле пациенты были разделены на три группы, где 1 группу (n=34), составили пациенты с необструктивной азооспермией (NOA), 2 группу (n=21) пациенты с обструктивной азооспермией (OA) и 3 группу (n=21) с необструктивной азооспермией и сопутствующем варикоцеле (Var).

Критериями включения служили: добровольное информированное согласие пациента на участие в исследовании, возраст старше 18 лет, бесплодие в браке более 1 года при регулярной половой жизни без использования средств контрацепции, азооспермия, отсутствие антибактериальной терапии в течение последних 3 месяцев, наличие варикоцеле, подтвержденного ультразвуковым исследованием органов мошонки с доплерографией.

Критериями исключения были: наличие онкологической патологии, инфекции, передаваемые половым путем (ИППП), генетические и эндокринные факторы бесплодия, тяжелая соматическая патология на момент обследования, регулярный прием лекарственных средств, приводящих к развитию бесплодия и гипогонадизма, повышение концентрации простатспецифического антигена в сыворотке крови более 4 нг/мл, психические заболевания, хронический алкоголизм и наркомания, наличие ВИЧ-инфекции.

Для исследования бактериального спектра уrogenитального тракта и контроля чистоты метода, был произведен забор биологического материала из уретры у каждого пациента, которому проводилась micro-TESE (мультифокальная биопсия яичек) в протоколе вспомогательных репродуктивных технологий (BPT). Методика проведения, micro-TESE была первоначально описана P.N. Schlegel в 1999 году, в качестве более эффективной альтернативы по сравнению с TESE, для извлечения сперматозоидов у мужчин с НОА [21].

Для исследования структуры микробиома тестикулярной ткани был проведен анализ ампликонов бактериального гена 16S рРНК с использованием высокопроизводительного секвенирования нового поколения (NGS) [22].

Данные обрабатывали с помощью программы QIIME (версия 1.9.1). При определении микробиологического состава образцов были использованы новые версии программы обработки данных секвенирования ампликонов 16SpРНК и таксономическая база данных (QIIME2+GreenGenes2), позволяющая повысить точность определения таксонов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Сравнительная характеристика структуры микробиоты уретры и тестикул пациентов была проанализирована по средним значениям в группах, на уровне фил и семейств. При анализе полученных дан-



ных таксоны, доля которых была ниже 0,5% хотя бы в двух образцах, были исключены.

**Таксономический состав микробиоты уретры**

При оценке полученных данных таксономический состав микробиоты уретры можно представить следующим образом. (рис. 1).

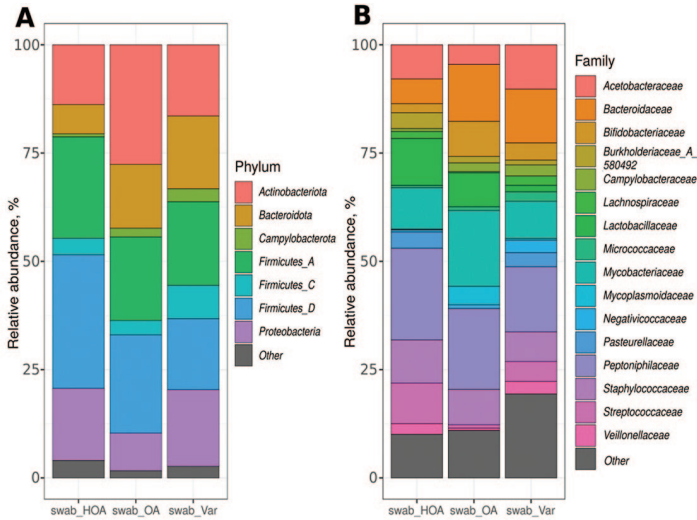


Рис. 1. Таксономический состав микробиоты уретры (по средним значениям в группе). А – на уровне фил, В – на уровне семейств  
Fig. 1. Taxonomic composition of the urethral microbiota (based on average values in the group). A – at the phylum level, B – at the family level

Достоверных отличий микробиологического состава при исследовании микробиоты уретры у пациентов с группой 1 (NOA) и группой 2 (OA) обнаружено не было. Однако, выявлены отличия таксономического состава микробиоты уретры у пациентов 3 группы (Var) с варикозным расширением вен лозовидного сплетения и азооспермией (рис. 2А).

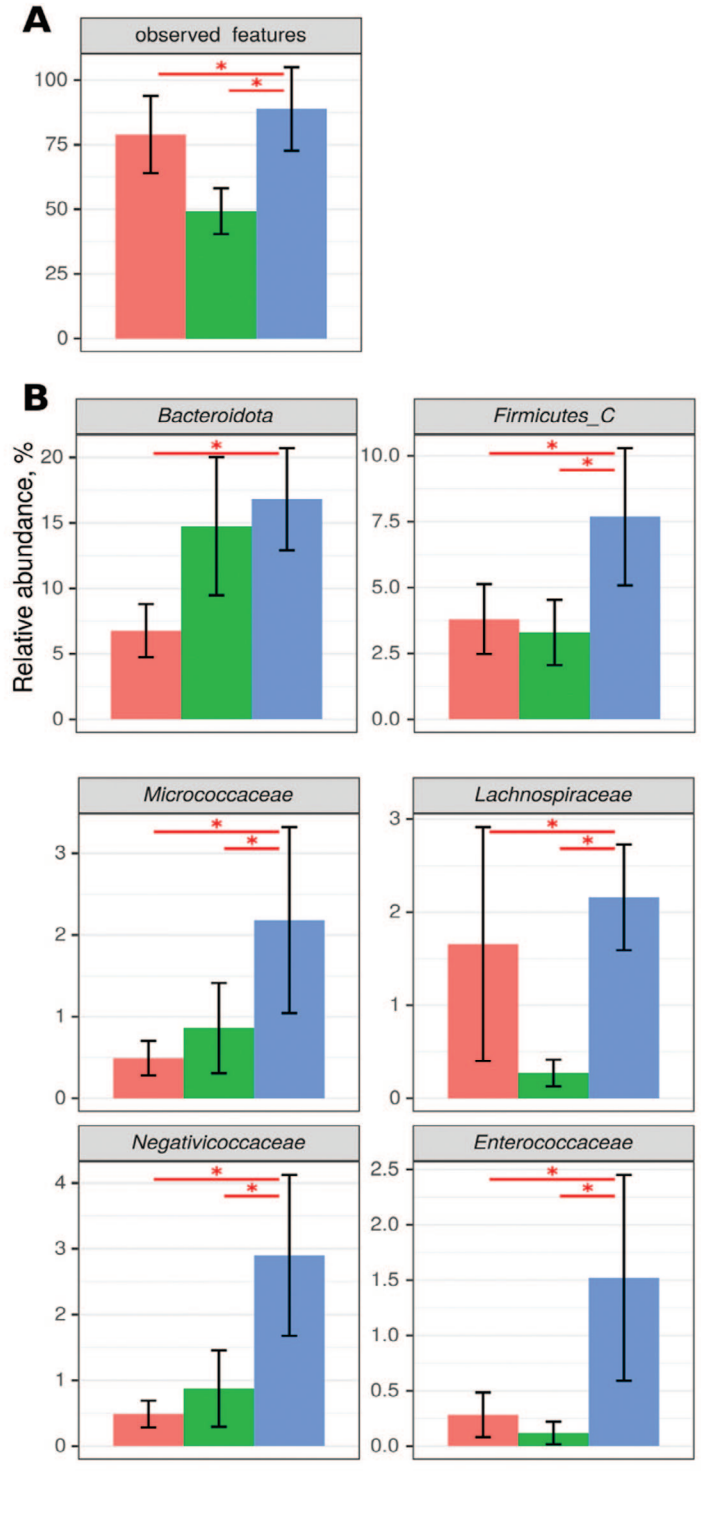


Рис. 2. Достоверные отличия таксономического состава микробиоты уретры.  
Примечания: А – разнообразие сообщества, В – филы, С – семейства. \* - достоверность различий между группами p<0,05 (тест Краскела-Уоллиса с поправкой на множественное сравнение методом Бенджамини Хохберга).  
Fig. 2. Significant differences in the taxonomic composition of the urethral microbiota. Notes: A – community diversity, B – phyla, C – families. \* - significance of differences between groups p<0.05 (Kruskal-Wallis test adjusted for multiple comparisons using the Benjamini-Hochberg method)

Достоверно снижено количество обнаруженных таксонов, а также фил и семейств, которые представлены на рисунке 2 ( $p < 0,05$ ) и таблице 1, характеризующие различия относительной представленности таксонов в образцах микробиоты уретры.

Если сравнивать качественные данные, наличие или отсутствие таксона в образце, то NOA и OA различаются частотой встречаемости только филы *Bacteroidota*. При сравнении видового состава микроорганизмов у пациентов с варикоцеле и группами па-

Таблица 1. Представленность таксонов в образцах микробиоты уретры  
Table 1. Representation of taxa in urethral microbiota samples

Таксоны Taxa	Относительная представленность таксонов микробиоты уретры, (M±SD) Relative representation of urethral microbiota taxa, (M±SD)			Достоверность различий между группами, (p) Significance of differences between groups, (p)		
	Группа 1/Group 1 (NOA)	Группа 2/Group 2 (OA)	Группа 3/Group 3 (Var)	NOA vs OA	NOA vs Var	OA vs Var
<b>Альфа-разнообразие</b>						
Observed_features	79,00±87,16	49,29±40,62	88,86±73,96	0,72	<b>0,01</b>	<b>0,02</b>
<b>Филы</b>						
<i>Bacteroidota</i>	6,78±11,82	14,75±24,17	16,81±17,91	0,10	<b>&lt;0,01</b>	0,09
<i>Firmicutes_C</i>	3,80±7,74	3,30±5,66	7,69±11,93	1,00	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>
<i>Patescibacteria</i>	0,31±1,65	0,01±0,03	0,15±0,33	0,48	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>
<i>Fusobacteriota</i>	1,00±3,83	0,04±0,13	0,46±0,84	0,51	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>
<i>Desulfobacterota_I</i>	0,00±0,00	0,01±0,06	0,12±0,24	0,56	<b>&lt;0,01</b>	<b>0,01</b>
<b>Семейства</b>						
<i>Bacteroidaceae</i>	5,74±11,51	13,12±23,97	12,42±16,71	0,20	<b>0,01</b>	0,19
<i>Streptococcaceae</i>	9,35±23,52	0,80±2,18	4,59±10,41	0,27	<b>0,03</b>	<b>0,01</b>
<i>Micrococcaceae</i>	0,49±1,23	0,86±2,53	2,18±5,22	0,99	<b>0,04</b>	<b>0,04</b>
<i>Lachnospiraceae</i>	1,66±7,33	0,27±0,65	2,16±2,60	0,60	<b>&lt;0,01</b>	<b>&lt;0,01</b>
<i>Weeksellaceae</i>	0,27±1,51	0,10±0,30	1,52±5,30	0,36	<b>0,03</b>	0,18
<i>Porphyromonadaceae</i>	0,16±0,52	1,16±2,90	1,46±3,37	0,21	<b>&lt;0,01</b>	<b>0,03</b>
<i>Acutalibacteraceae</i>	0,03±0,17	0,10±0,24	0,78±1,16	0,15	<b>&lt;0,01</b>	<b>0,01</b>
<i>Ruminococcaceae</i>	0,14±0,67	0,07±0,20	0,30±0,56	0,77	<b>0,04</b>	0,08
<i>Negativicoccaceae</i>	0,49±1,18	0,88±2,66	2,90±5,61	0,99	<b>0,03</b>	<b>0,03</b>
<i>Enterococcaceae</i>	0,28±1,17	0,12±0,47	1,52±4,26	0,82	<b>0,04</b>	<b>0,02</b>
<i>Fusobacteriaceae_993521</i>	0,39±1,99	0,00±0,02	0,37±0,72	0,46	<b>0,01</b>	<b>&lt;0,01</b>
<i>Flavobacteriaceae</i>	0,05±0,27	0,00±0,00	0,06±0,13	0,31	0,12	<b>0,04</b>
<i>Coprobacillaceae</i>	0,08±0,38	0,03±0,12	0,23±0,35	1,00	<b>&lt;0,01</b>	<b>0,01</b>
<i>Brevibacteriaceae</i>	0,12±0,54	0,00±0,00	0,26±0,97	0,29	0,14	<b>0,04</b>
<i>Peptostreptococcaceae_256921</i>	0,09±0,48	0,14±0,59	0,41±0,98	0,29	<b>&lt;0,01</b>	0,06
<i>Oscillospiraceae_88309</i>	0,01±0,04	0,04±0,15	0,17±0,34	0,89	<b>0,03</b>	<b>0,04</b>
<i>Microbacteriaceae</i>	0,22±1,16	0,03±0,11	0,29±0,68	1,00	0,05	<b>0,047</b>
<i>Helicobacteraceae</i>	0,03±0,15	0,01±0,05	0,44±1,22	0,85	<b>0,01</b>	<b>0,02</b>
<i>o__Bacteroidales,f__</i>	0,00±0,00	0,11±0,38	0,15±0,35	0,22	<b>0,01</b>	0,21
<i>Rikenellaceae</i>	0,01±0,03	0,00±0,00	0,30±0,63	0,87	<b>&lt;0,01</b>	<b>&lt;0,01</b>
<i>Desulfovibrionaceae</i>	0,00±0,00	0,01±0,06	0,12±0,24	0,56	<b>&lt;0,01</b>	<b>0,01</b>
<i>o__Christensenellales,f__CAG-74</i>	0,00±0,00	0,02±0,07	0,07±0,18	0,33	<b>0,03</b>	0,23
<i>c__Clostridia_258483, o__UBA1381, f__UBA1381</i>	0,00±0,00	0,00±0,01	0,07±0,19	0,52	<b>0,02</b>	0,08
<i>Tannerellaceae</i>	0,01±0,04	0,00±0,00	0,15±0,40	0,72	<b>&lt;0,01</b>	<b>&lt;0,01</b>

Примечания: для оценки различий между группами применяли тест Краскела-Уоллиса с поправкой на множественное сравнение методом Бенджамини-Хохберга  
Notes: To assess differences between groups, the Kruskal-Wallis test was used, corrected for multiple comparisons using the Benjamini-Hochberg method.

циентов с азооспермией невозможно выделить определенные фило, в силу широкого разнообразия последних (табл. 2).

**Таксономический состав микробиоты ткани яичка**

При исследовании микробиоты яичка обнаружены значительные отличия видового разнообразия у пациентов с NOA, пациентов с OA и пациентов с варикоцеле.

При NOA отмечается снижение видового разнообразия микробиоты яичка, и достоверно отличается целый ряд таксонов. При сравнении микробиоты уретры было выявлено сходство видового состава микробиоты у пациентов с NOA и АО, тогда как видовой состав микробиоты яичка у пациентов с OA имеет сходство с аналогичным у пациентов с варикоцеле (рис. 4, табл. 3). Интересная ситуация с семейством *Enterobacteriaceae\_A*, представленность которого в среднем больше 34% в биопсиях группы NOA (рис. 3B).

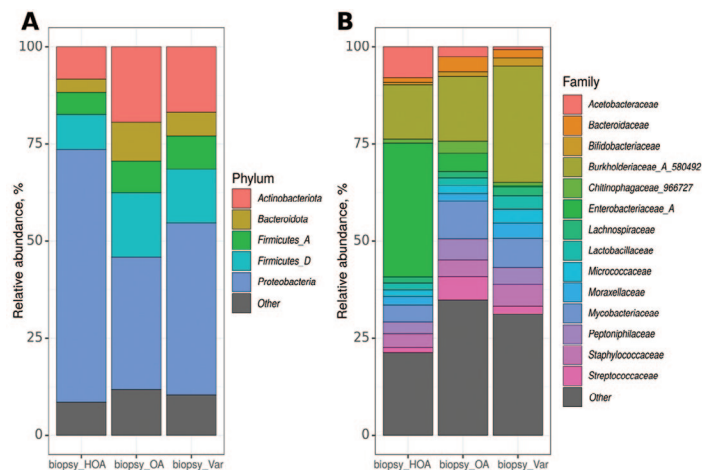


Рис. 3. Таксономический состав микробиоты ткани яичка (по средним значениям в группе). А – на уровне фил, В – на уровне семейств.  
Fig. 3. Taxonomic composition of testicular tissue microbiota (based on average values in the group). A – at the phylum level, B – at the family level

Однако достоверных отличий дальше по этому семейству мы не обнаружили. На наш взгляд это связано с тем, что у 12 пациентов в группе NOA доля данного

**Таблица 2. Частоты встречаемости бактериальных таксонов в уретре в группах сравнения**  
Table 2. Frequencies of occurrence of bacterial taxa in the urethra in comparison groups

Таксоны Taxa	Частота встречаемости таксона, (%) Frequency of taxon occurrence, (%)			Достоверность различий между группами, (p) Significance of differences between groups, (p)		
	Группа 1/Group 1 (NOA)	Группа 2/Group 2 (OA)	Группа 3/Group 3 (Var)	NOA vs OA	NOA vsVar	OA vsVar
<b>Филы</b>						
<i>Bacteroidota</i>	70,6	100,0	100,0	<b>0,01</b>	<b>0,01</b>	1,00
<i>Firmicutes_C</i>	52,9	57,1	95,2	0,79	<b>&lt;0,01</b>	<b>0,01</b>
<i>Fusobacteriota</i>	20,6	14,3	52,4	0,72	<b>0,03</b>	<b>0,03</b>
<i>Desulfobacterota_I</i>	0,0	4,8	28,6	0,38	<b>0,01</b>	0,04
<b>Семейства</b>						
<i>Bacteroidaceae</i>	61,8	85,7	95,2	0,11	<b>0,03</b>	0,61
<i>Burkholderiaceae_A_580492</i>	38,2	42,9	76,2	0,78	<b>0,03</b>	0,09
<i>Streptococcaceae</i>	44,1	33,3	81,0	0,57	<b>0,02</b>	<b>0,01</b>
<i>Lachnospiraceae</i>	35,3	52,4	85,7	0,27	<b>&lt;0,01</b>	<b>0,06</b>
<i>Pseudomonadaceae</i>	17,6	28,6	52,4	0,50	<b>0,04</b>	0,31
<i>Porphyromonadaceae</i>	17,6	33,3	71,4	0,21	<b>&lt;0,01</b>	<b>0,04</b>
<i>Acutalibacteraceae</i>	8,8	28,6	61,9	0,07	<b>&lt;0,01</b>	0,07
<i>Fusobacteriaceae_993521</i>	11,8	4,8	42,9	0,64	<b>0,03</b>	<b>0,03</b>
<i>Coprobacillaceae</i>	8,8	9,5	42,9	1,00	<b>0,02</b>	<b>0,049</b>
<i>Peptostreptococcaceae_256921</i>	5,9	19,0	42,9	0,19	<b>&lt;0,01</b>	0,19
<i>Helicobacteraceae</i>	2,9	4,8	28,6	1,00	<b>0,03</b>	0,14
<i>o__Bacteroidales;__</i>	0,0	9,5	23,8	0,21	<b>0,02</b>	0,41
<i>Rikenellaceae</i>	2,9	4,8	38,1	1,00	<b>&lt;0,01</b>	<b>0,03</b>
<i>Desulfovibrionaceae</i>	0,0	4,8	28,6	0,38	<b>0,01</b>	0,14
<i>Tannerellaceae</i>	2,9	0,0	28,6	1,00	<b>0,03</b>	<b>0,03</b>

Примечания: для оценки различий между группами применяли тест Краскела-Уоллиса с поправкой на множественное сравнение методом Бенджамини-Хохберга  
Notes: To assess differences between groups, the Kruskal-Wallis test was used, corrected for multiple comparisons using the Benjamini-Hochberg method.

Таблица 3. Представленность таксонов в образцах микробиоты ткани яичка  
Table 3. Representation of taxa in testicular tissue microbiota samples

Таксоны Taxa	Относительная представленность таксонов микробиоты уретры, (M±SD) Relative representation of urethral microbiota taxa, (M±SD)			Достоверность различий между группами, (p) Significance of differences between groups, (p)		
	Группа 1/Group 1 (NOA)	Группа 2/Group 2 (OA)	Группа 3/Group 3 (Var)	NOA vs OA	NOA vsVar	OA vsVar
<b>Альфа-разнообразие</b>						
faith_pd	31,59±51,66	46,32±45,78	88,82±81,82	<b>0,046</b>	<b>&lt;0,01</b>	0,08
observed_features	63,32±72,10	99,90±71,98	180,57±98,12	<b>0,04</b>	<b>&lt;0,01</b>	<b>0,02</b>
shannon_entropy	3,41±1,64	4,51±0,98	4,95±1,22	<b>0,047</b>	<b>&lt;0,01</b>	0,21
simpson	0,78±0,16	0,89±0,07	0,86±0,15	<b>0,046</b>	<b>0,02</b>	0,61
<b>Филы</b>						
<i>Actinobacteriota</i>	8,30±10,94	19,46±17,71	16,81±13,98	<b>0,01</b>	<b>0,01</b>	0,84
<i>Proteobacteria</i>	65,09±30,60	34,06±22,19	44,32±30,96	<b>&lt;0,01</b>	<b>0,01</b>	0,45
<i>Firmicutes_D</i>	8,99±12,31	16,57±13,85	13,93±11,34	<b>0,03</b>	<b>0,047</b>	0,74
<i>Firmicutes_A</i>	5,63±9,32	8,15±6,97	8,58±6,82	<b>0,049</b>	<b>0,04</b>	0,77
<i>Bacteroidota</i>	3,45±4,33	9,93±11,38	6,05±4,22	<b>0,01</b>	<b>0,01</b>	0,66
<i>Firmicutes_C</i>	0,95±2,58	1,58±3,28	1,63±2,99	<b>0,04</b>	<b>0,04</b>	0,79
<i>Deinococcota</i>	0,14±0,63	0,33±0,80	0,31±0,54	0,17	<b>0,01</b>	0,23
<b>Семейства</b>						
<i>Mycobacteriaceae</i>	4,34±8,25	9,78±14,78	7,48±8,01	0,03	<b>0,01</b>	0,97
<i>Peptoniphilaceae</i>	3,06±8,38	5,40±6,90	4,37±4,32	0,01	<b>0,01</b>	0,91
<i>Bacteroidaceae</i>	1,18±2,56	3,81±9,70	2,20±2,66	0,08	<b>0,03</b>	0,57
<i>Staphylococcaceae</i>	3,59±9,42	4,28±7,28	5,55±5,80	0,34	<b>0,02</b>	0,19
<i>Streptococcaceae</i>	1,23±3,01	6,07±9,82	2,01±2,09	<0,01	<b>0,01</b>	0,58
<i>Lactobacillaceae</i>	1,71±4,65	1,91±2,74	3,53±6,46	0,09	<b>0,04</b>	0,58
<i>Micrococcaceae</i>	1,60±4,49	2,12±3,58	3,60±3,82	0,10	<b>&lt;0,01</b>	0,15
<i>Moraxellaceae</i>	2,32±5,99	1,89±4,12	3,94±6,83	0,64	<b>0,02</b>	0,07
<i>Pseudomonadaceae</i>	0,94±1,96	1,55±2,62	1,64±1,57	0,35	<b>&lt;0,01</b>	<b>0,04</b>
<i>Weeksellaceae</i>	0,44±1,02	1,14±1,86	1,01±1,01	0,01	<b>&lt;0,01</b>	0,37
<i>Porphyromonadaceae</i>	0,33±1,36	0,34±0,67	0,48±0,86	0,26	<b>0,02</b>	0,25
<i>Acutalibacteraceae</i>	0,14±0,38	0,58±1,66	0,63±1,07	0,45	<b>0,01</b>	0,07
<i>Dermabacteraceae</i>	0,16±0,46	0,82±1,19	0,17±0,27	0,02	0,25	0,23
<i>Pasteurellaceae</i>	0,14±0,69	1,20±3,29	0,41±1,30	0,12	<b>&lt;0,01</b>	0,19
<i>Sphingomonadaceae</i>	0,42±0,99	0,39±0,98	0,37±0,61	0,36	<b>0,03</b>	0,22
<i>Enterococcaceae</i>	0,07±0,41	0,04±0,18	0,27±0,69	0,86	<b>&lt;0,01</b>	<b>0,01</b>
<i>Flavobacteriaceae</i>	0,11±0,29	0,46±0,69	0,45±0,67	0,07	<b>0,02</b>	0,54
<i>Alcanivoracaceae</i>	0,07±0,40	0,12±0,32	0,49±0,68	0,33	<b>&lt;0,01</b>	<b>0,01</b>
<i>Sphingobacteriaceae</i>	0,04±0,24	0,56±1,94	0,40±0,64	0,24	<b>&lt;0,01</b>	<b>0,02</b>
<i>Beijerinckiaceae</i>	0,56±2,06	0,14±0,55	0,71±1,45	0,28	<b>0,03</b>	<b>0,01</b>
<i>Bacillaceae_H_294103</i>	0,10±0,37	0,01±0,05	0,18±0,24	0,61	<b>&lt;0,01</b>	<b>&lt;0,01</b>
<i>c_Alphaproteobacteria</i>	0,11±0,33	0,21±0,48	0,27±0,41	0,37	<b>0,02</b>	0,14
<i>Marinococcaceae</i>	0,04±0,18	0,14±0,44	1,16±2,58	0,41	<b>0,03</b>	0,18
<i>Nitrococcaceae</i>	0,00±0,00	0,04±0,17	1,41±4,41	0,59	<b>&lt;0,01</b>	<b>&lt;0,01</b>
<i>Nanopelagicaceae</i>	0,02±0,08	0,50±0,95	0,01±0,03	<0,01	0,52	<b>0,03</b>
<i>Helicobacteraceae</i>	0,00±0,00	0,03±0,12	0,42±1,83	0,51	<b>0,01</b>	<b>0,04</b>
<i>Deinococcaceae</i>	0,13±0,64	0,28±0,88	0,18±0,37	0,17	<b>0,02</b>	0,32
<i>Legionellaceae_A</i>	0,06±0,31	0,27±0,70	0,03±0,13	0,047	<b>0,74</b>	0,09
<i>Gemmatimonadaceae</i>	0,07±0,41	0,18±0,47	0,12±0,56	0,04	<b>0,80</b>	0,07
<i>Propionibacteriaceae</i>	0,05±0,18	0,02±0,08	0,14±0,28	0,98	<b>0,01</b>	<b>0,01</b>
<i>Rhizobiaceae_A_499470</i>	0,02±0,09	0,07±0,32	0,28±0,70	0,76	<b>&lt;0,01</b>	<b>&lt;0,01</b>
<i>Listeriaceae</i>	0,00±0,00	0,06±0,25	0,10±0,26	0,30	<b>0,04</b>	0,27
<i>Vibrionaceae</i>	0,00±0,00	0,00±0,00	0,12±0,27	1,00	<b>&lt;0,01</b>	<b>&lt;0,01</b>
<i>Gaiellaceae</i>	0,00±0,00	0,21±0,52	0,04±0,18	0,03	0,33	0,23
<i>Blastocatellaceae_430966</i>	0,00±0,00	0,15±0,37	0,01±0,03	0,02	0,52	0,08

Примечания: для оценки различий между группами применяли тест Краскела-Уоллиса с поправкой на множественное сравнение методом Бенджамини-Хохберга  
Notes: To assess differences between groups, the Kruskal-Wallis test was used, corrected for multiple comparisons using the Benjamini-Hochberg method

Таблица 4. Частоты встречаемости бактериальных таксонов в ткани яичка в группах сравнения  
Table 4. Frequencies of occurrence of bacterial taxa in testicular tissue in comparison groups

Таксоны Taxa	Относительная представленность таксонов микробиоты уретры, (M±SD) Relative representation of urethral microbiota taxa, (M±SD)			Достоверность различий между группами, (p) Significance of differences between groups, (p)		
	Группа 1/ Group 1 (NOA)	Группа 2/Group 2 (OA)	Группа 3/Group 3 (Var)	NOA vs OA	NOA vsVar	OA vsVar
<b>Филы</b>						
<i>Actinobacteriota</i>	73,5/26,5	95,2/4,8	100,0/0,0	0,11	<b>0,03</b>	1,00
<i>Firmicutes_A</i>	35,3/64,7	66,7/33,3	76,2/23,8	<b>0,04</b>	<b>0,02</b>	0,73
<i>Fusobacteriota</i>	20,6/79,4	33,3/66,7	57,1/42,9	0,35	<b>0,03</b>	0,32
<i>Deinococcota</i>	8,8/91,2	28,6/71,4	47,6/52,4	0,11	<b>0,01</b>	0,34
<b>Семейства</b>						
<i>Mycobacteriaceae</i>	50,0/50,0	85,7/14,3	100,0/0,0	<b>0,01</b>	<b>&lt;0,01</b>	0,23
<i>Peptoniphilaceae</i>	38,2/61,8	81,0/19,0	90,5/9,5	<b>&lt;0,01</b>	<b>&lt;0,01</b>	0,66
<i>Bacteroidaceae</i>	55,9/44,1	81,0/19,0	90,5/9,5	0,12	<b>0,02</b>	0,66
<i>Streptococcaceae</i>	44,1/55,9	76,2/23,8	85,7/14,3	<b>0,04</b>	<b>0,01</b>	0,70
<i>Lactobacillaceae</i>	41,2/58,8	76,2/23,8	85,7/14,3	<b>0,02</b>	<b>0,01</b>	0,70
<i>Micrococcaceae</i>	44,1/55,9	71,4/28,6	95,2/4,8	0,09	<b>&lt;0,01</b>	0,09
<i>Lachnospiraceae</i>	47,1/52,9	57,1/42,9	90,5/9,5	0,58	<b>&lt;0,01</b>	<b>0,049</b>
<i>Aerococcaceae</i>	26,5/73,5	42,9/57,1	66,7/33,3	0,25	<b>0,01</b>	0,25
<i>Veillonellaceae</i>	23,5/76,5	52,4/47,6	61,9/38,1	0,06	<b>0,03</b>	0,76
<i>Moraxellaceae</i>	38,2/61,8	52,4/47,6	85,7/14,3	0,40	<b>&lt;0,01</b>	0,06
<i>Pseudomonadaceae</i>	29,4/70,6	42,9/57,1	95,2/4,8	0,39	<b>&lt;0,01</b>	<b>&lt;0,01</b>
<i>Weeksellaceae</i>	29,4/70,6	66,7/33,3	85,7/14,3	<b>0,02</b>	<b>&lt;0,01</b>	0,28
<i>Neisseriaceae_563222</i>	32,4/67,6	52,4/47,6	76,2/23,8	0,20	<b>0,01</b>	0,20
<i>Porphyromonadaceae</i>	14,7/85,3	28,6/71,4	52,4/47,6	0,30	<b>0,02</b>	0,30
<i>Acutalibacteraceae</i>	23,5/76,5	28,6/71,4	61,9/38,1	0,75	<b>0,03</b>	0,09
<i>Ruminococcaceae</i>	26,5/73,5	33,3/66,7	61,9/38,1	0,76	<b>0,04</b>	0,18
<i>Xanthomonadaceae_616009</i>	29,4/70,6	42,9/57,1	76,2/23,8	0,39	<b>&lt;0,01</b>	0,09
<i>Pasteurellaceae</i>	5,9/94,1	23,8/76,2	47,6/52,4	0,14	<b>&lt;0,01</b>	0,20
<i>Sphingomonadaceae</i>	20,6/79,4	38,1/61,9	66,7/33,3	0,22	<b>&lt;0,01</b>	0,18
<i>Enterococcaceae</i>	2,9/97,1	4,8/95,2	33,3/66,7	1,00	<b>0,01</b>	0,07
<i>Flavobacteriaceae</i>	20,6/79,4	42,9/57,1	57,1/42,9	0,19	<b>0,03</b>	0,54
<i>Alcanivoracaceae</i>	2,9/97,1	14,3/85,7	47,6/52,4	0,15	<b>&lt;0,01</b>	0,06
<i>Sphingobacteriaceae</i>	2,9/97,1	14,3/85,7	47,6/52,4	0,15	<b>&lt;0,01</b>	0,06
<i>Beijerinckiaceae</i>	23,5/76,5	9,5/90,5	57,1/42,9	0,29	<b>0,03</b>	<b>0,01</b>
<i>Bacillaceae_H_294103</i>	8,8/91,2	4,8/95,2	47,6/52,4	1,00	<b>0,01</b>	<b>0,01</b>
<i>c_Alphaproteobacteria</i>	17,6/82,4	28,6/71,4	57,1/42,9	0,50	<b>0,01</b>	0,18
<i>Nitrococcaceae</i>	0,0/100,0	4,8/95,2	38,1/61,9	0,38	<b>&lt;0,01</b>	<b>0,03</b>
<i>Nanopelagicaceae</i>	5,9/94,1	38,1/61,9	14,3/85,7	<b>0,01</b>	0,36	0,24
<i>Helicobacteraceae</i>	0,0/100,0	4,8/95,2	23,8/76,2	0,38	<b>0,02</b>	0,28
<i>Deinococcaceae</i>	5,9/94,1	23,8/76,2	38,1/61,9	0,14	<b>0,01</b>	0,51
<i>Propionibacteriaceae</i>	8,8/91,2	9,5/90,5	42,9/57,1	1,00	<b>0,02</b>	<b>0,049</b>
<i>Rhizobiaceae_A_499470</i>	5,9/94,1	9,5/90,5	52,4/47,6	0,63	<b>&lt;0,01</b>	<b>0,01</b>
<i>Vibrionaceae</i>	0,0/100,0	0,0/100,0	23,8/76,2	1,00	<b>0,02</b>	0,07

Примечания: для оценки различий между группами применяли тест Краскела-Уоллиса с поправкой на множественное сравнение методом Бенджамини-Хохберга  
Notes: To assess differences between groups, the Kruskal-Wallis test was used, corrected for multiple comparisons using the Benjamini-Hochberg method



семейства составляет >87%, тогда как у остальных 22 пациентов в данной группе выявляемость этого семейства равна нулю. В группе пациентов с ОА данный микроорганизм был выявлен только в одном образце. У пациентов с варикоцеле данное семейство не обнаружено.

Оценка качественного состава микробиоты яичка у пациентов 1 и 2 группы показала, что видовой состав микробиоты значительно отличается от такового у пациентов 3 группы, а группа 2 занимает промежуточное положение по видовому составу (табл. 4).

#### Бактериальные таксоны, которые обнаруживаются как в уретре, так и в ткани яичка

В результате анализа данных нами было выявлено 6 фил и 12 семейств бактерий общих для ткани яичка и для уретры. При сравнении частоты встречае-

мости этих бактерий, были выявлены отличия в группах сравнения. В основном отличия характерны для группы NOA по сравнению с варикоцеле. ОА занимает промежуточное положение (рис. 5).

#### ОБСУЖДЕНИЕ

При сравнении микробиоты уретры в группах инфертильных пациентов с различными видами азооспермии с сопутствующим варикоцеле и без, можно отметить сходство 1 и 2 группы за счет обеднения микробного спектра, в отличие от пациентов 3 группы, где представлено более широкое разнообразие бактериальных таксонов. Следует отметить, что применение высокопроизводительных методов секвенирования ДНК следующего поколения позволило охарактеризовать микробиом мочевыводящих путей и привело к отказу от ранее установленной концепции

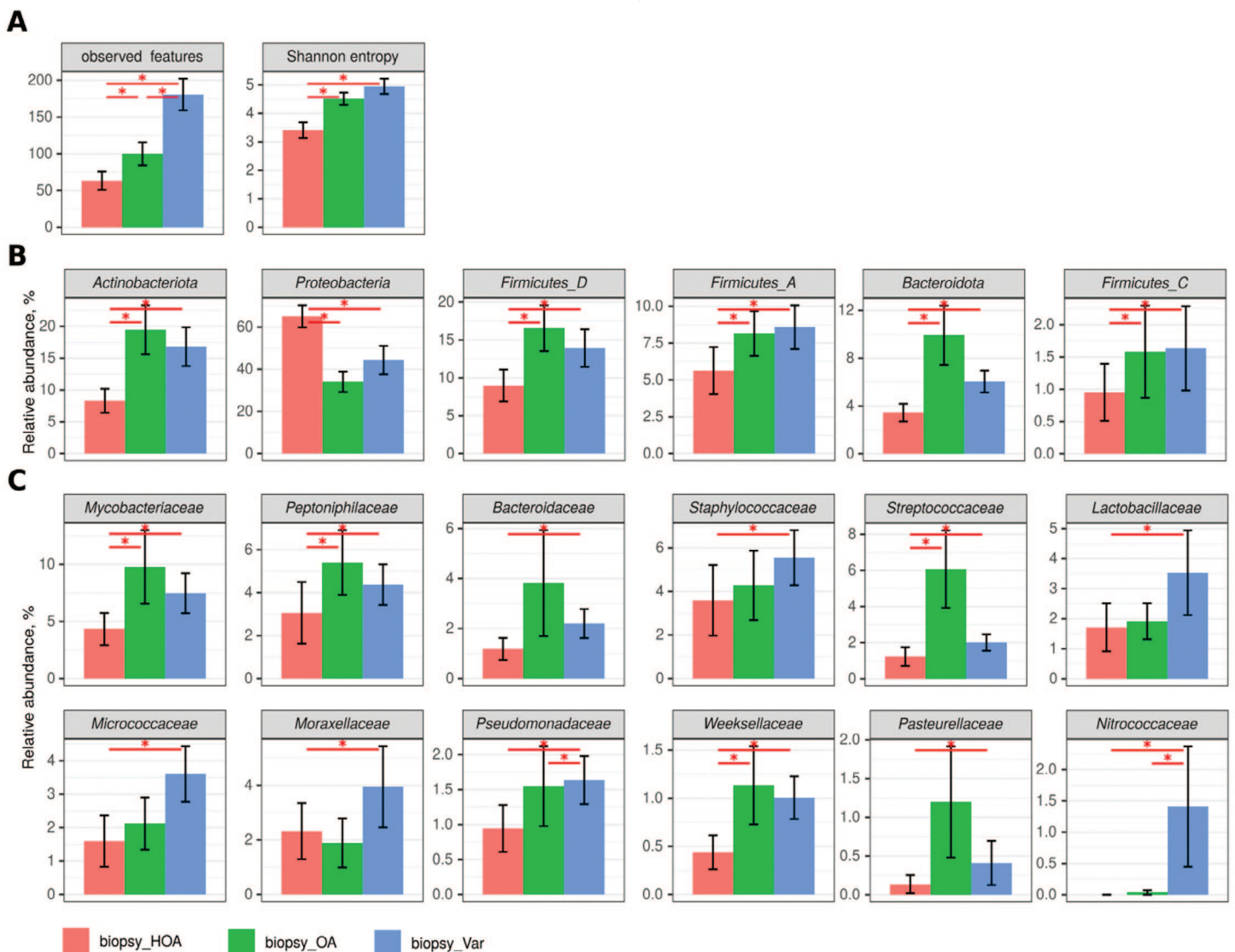


Рис. 4. Достоверные отличия таксономического состава микробиоты ткани яичка

Fig. 4. Significant differences in the taxonomic composition of testicular tissue microbiota

Примечания: А – разнообразие сообщества, В – филы, С – семейства. \* - достоверность различий между группами  $p < 0.05$  (тест Краскела-Уоллиса с поправкой на множественное сравнение методом Бенджамини Хохберга)

Notes: A – community diversity, B – phyla, C – families. \* - significance of differences between groups  $p < 0.05$  (Kruskal-Wallis test adjusted for multiple comparisons by the Benjamini-Hochberg method)

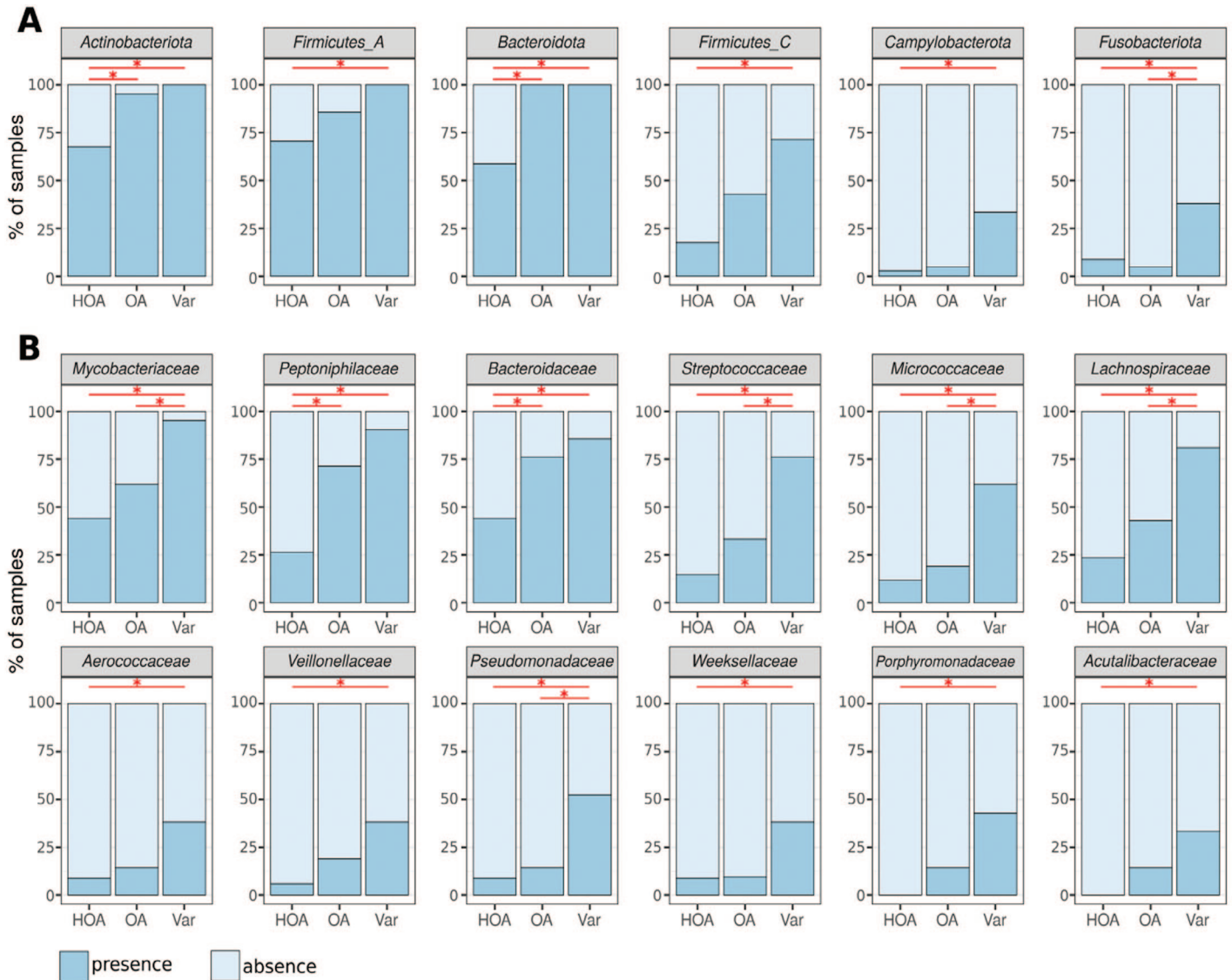


Рис. 5. Достоверно отличающиеся частоты встречаемости бактериальных таксонов, которые обнаруживаются и в уретре, и в яичке одновременно  
 Fig. 5. Significantly different frequencies of occurrence of bacterial taxa, which are found in both the urethra and the testicle at the same time  
 Примечания: А – филы, В – семейства. \*- $p < 0,05$ , точный критерий Фишера с поправкой на множественное сравнение методом Бенджамини-Хохберга  
 Notes: A – phyla, B – families. \*- $p < 0,05$ , Fisher's exact test adjusted for multiple comparisons by the Benjamini-Hochberg method

стерильности, так же данный метод позволил идентифицировать состав комменсальных микробных сообществ в мочевыводящих путях и, непосредственно, в уретре.

Учитывая вариабельность микробиоты уретры мужчин, которая формируется на протяжении всей жизни под действием внешней среды, описывают широкий спектр уретральной микрофлоры, составляющий более 70 родов, среди которых могут быть выделены патогенные таксоны, способные снизить репродуктивный потенциал мужчины [13]. В свою очередь при сравнении частоты встречаемости микроорганизмов в 1 и 2 группе обращает на себя внимание только фила *Bacteroidota*, которую трудно определить в 3 группе за счет широкого разнообразия видового спектра биотопов. Данная ситуация, на наш взгляд, объясняется нарушением целостностью гематотестикулярного барьера (ГТБ) у пациентов 3 группы с нали-

чием варикоцеле за счет таксономического разнообразия микробиоты полового партнера, которая способна вызвать дисбиоз. По данным R. Mändar и соавт., *Streptococcus agalactiae* и *Gardnerella vaginalis*, традиционно ассоциированные с бактериальным вагинозом у женщин, способны вызвать воспалительные реакции в ткани яичка [22]. Эта гипотеза не является патогномичной в развитии инфертильности, так как микробиота уретры вариабельна и нестабильна за счет своих анатомических и физиологических особенностей, в отличие от микробиома яичка.

Следует отметить, что при сравнении в группах структуры микробиоты яичка наблюдается скудный микробный спектр по видовому разнообразию у пациентов с необструктивной азооспермией. Особое место занимает с семейство *Enterobacteriaceae\_A*, так как данный биотоп не определен в нашем исследовании у пациентов в группе NOA и сопутствующим

варикоцеле, и лишь в одном случае выявлен в группе обструктивной азооспермии.

Также следует учитывать, что впервые проведено исследование тестикулярного микробиома инфертильных мужчин в Краснодарском крае. Опираясь на качественный состав микробиоты яичка у пациентов с НОА, пациентов с ОА и пациентов с варикоцеле можно с уверенностью заключить, что видовой состав микробиоты яичка значительно различается у пациентов с НОА и пациентов с варикоцеле, в то время как видовой состав микробиома тканей яичка у пациентов с ОА занимает промежуточную позицию имея общие микроорганизмы с каждой из приведенных выше групп.

## ВЫВОДЫ

На основании проведенного исследования

можно заключить, что микробиота уретры мужчин имеет широкий бактериальный спектр, который формируется на протяжении всей жизни, но имеет свои особенности у инфертильных мужчин за счет большего разнообразия бактериальных таксонов, фил и семейств, что, на наш взгляд, связано с нарушением работы ГТБ, в частности, у пациентов с варикоцеле, и требует дальнейших исследований. Структура микробиоты тестикулярной ткани имеет снижение видового разнообразия у пациентов с необструктивной азооспермией с доминирующим семейством *Enterobacteriaceae*\_A, в отличие от пациентов с обструктивной азооспермией и пациентов с НОА и сопутствующим варикоцеле. Сложившаяся ситуация и разночтения научных публикаций и экспертных мнений требует дальнейшего расширения спектра научных междисциплинарных поисков и исследований. ■

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Assidi M. Infertility in men: advances towards a comprehensive and integrative strategy for precision theranostics. *Cells* 2022;11(10):1711. <https://doi.org/10.3390/cells11101711>.
- World Health Organization. WHO Manual for the Standardised Investigation and Diagnosis of the Infertile Couple. 2000. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9780521774741>.
- Кульченко Н.Г., Мяндина Г.И., Альхеджой Х. Клинический опыт выявления полиморфизма гена SEPS1 при мужском бесплодии. *Трудный пациент* 2018;(6):65-6. [Kulchenko N.G., Myandina G.I., Alkhedjoy H. Clinical experience of detecting polymorphism in the seps1 gene in a male patient with infertility. *Trudnyy patsiyent = Difficult Patient* 2018;(6):65-6. (In Russian)]. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/klinicheskiy-opyt-vyavleniya-polimorfizma-gena-seps1-pri-muzhskom-besplodii>.
- Starc A, Trampuš M, Pavan Jukić D, Rotim C, Jukić T, Polona Mivšek A. Infertility and sexual dysfunctions: a systematic literature review. *Acta Clin Croat* 2019;58(3):508-15. <https://doi.org/10.20471/acc.2019.58.03.15>.
- Knez J, Vlaisavljević V. Ženska neplodnost. In: Takač I, Geršak K, eds. *Ginekologija in perinatologija*. 1st edn. Maribor: Medicinska fakulteta 2016;170-9. (In Slovene).
- Raheem A, Ralph D. Male infertility: causes and investigations. *Trends Urol Men's Health* 2011;2(5):8-11. <http://doi.org/10.1002/tre.216>.
- Villegas J, Schulz M, Soto L, Sanchez R. Bacteria induce expression of apoptosis in human spermatozoa. *Apoptosis* 2005;10(1):105-10. <https://doi.org/10.1007/s10495-005-6065-8>.
- Kaur S, Prabha V. Receptor mediated amelioration of the detrimental effects of sperm agglutinating factor on sperm parameters. *Andrology* 2013;1(4):624-31. <https://doi.org/10.1111/j.2047-2927.2013.00088.x>.
- Núñez-Calonge R, Caballero P, Redondo C, Baquero F, Martínez-Ferrer M, Meseguer MA. *Ureaplasma urealyticum* reduces motility and induces membrane alterations in human spermatozoa. *Hum Reprod* 1998;13(10):2756-61. <https://doi.org/10.1093/humrep/13.10.2756>.
- Boguen R, Treulen F, Uribe P, Villegas JV. Ability of *Escherichia coli* to produce hemolysis leads to a greater pathogenic effect on human sperm. *Fertil Steril* 2015;103(5):1155-61. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.01.044>.
- Maps, Geo-Q. The effect of *Ureaplasma urealyticum* on the level of P34H expression, the activity of hyaluronidase, and DNA fragmentation in human spermatozoa. *Am J Reprod Immunol* 2017;77(1):e12600.
- Clarridge JE 3rd. Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. *Clin Microbiol Rev* 2004;17(4):840-62. <https://doi.org/10.1128/CMR.17.4.840-862.2004>.
- Van Der Pol, Nelson DE. Microbial Communities of the Male in editors David H. Persing, Fred C. Tenover, Randall T. Hayden, Margareta Ieven, Melissa B. Miller, Frederick S. Nolte, Yi-Wei Tang, Alex van Belkum *Molecular Microbiology: Diagnostic Principles and Practice, Third Edition*. <https://doi.org/10.1128/9781555819071.ch13>.
- Alfano M, Ferrarese R, Locatelli I, Ventimiglia E, Ippolito S, Gallina P, et al. Testicular microbiome in azoospermic men—first evidence of the impact of an altered microenvironment. *Hum Reprod* 2018;33(7):1212-7. <https://doi.org/10.1093/humrep/dey116>.
- Farahani L, Tharakan T, Yap T, Ramsay JW, Jayasena CN, Minhas S. The semen microbiome and its impact on sperm function and male fertility: A systematic review and meta-analysis. *Andrology* 2021;9(1):115-44. <https://doi.org/10.1111/andr.12886>.
- Кадыров З.А., Степанов В.С., Алдыраков Э.М., Мошеинашвили Ш.Г. Микробиота органов уrogenитальной системы. *Урология* 2021;6:136-40. [Kadyrov Z.A., Stepanov V.S., Aldyrakov E.M., Mosheinaashvili Sh.G. Microbiota of the urogenital system. *Urologiya = Urologia* 2021;6:136-40. (In Russian)]. <https://dx.doi.org/10.18565/urology.2021.6.136-140>
- Осипов Г.А., Родионов Г.Г. Микроэкология человека в норме и патологии по данным масс-спектрометрии микробных маркеров. *Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях* 2013;(2):43-53. [Osipov G.A., Rodionov G.G. Microenvironment in human health and disease by mass spectrometry of microbial markers. *Mediko-biologicheskie i sotsialnopsikhologicheskie problemy bezopasnosti v chrezvychainykh situatsiyakh = MedicoBiological and Socio-Psychological Problems of Safety in Emergency Situations* 2013;(2):43-53. (In Russian)].
- Рахматулина М.Н., Болдырева М.Н., Липова Е.В., Чекмарев А.С., Галкина И.С. Оценка состава микробиоты мочеиспускательного канала у мужчин с инфекциями, передающимися половым путем. *Урология* 2019;(6):31-7. [Rakhmatulina M.R., Boldyreva M.N., Lipova E.V., Chekmarev A.S., Galkina I.S. Evaluation of the composition of the microbiota of the urethra in men with sexually transmitted infections. *Urologiya = Urologia* 2019;(6):31-37. (In Russian)].
- Fraczek M, Hryhorowicz M, Gill K, Zarzycka M, Gaczarzewicz D, Jędrzejczak P, et al. The effect of bacteriospermia and leukocytospermia on conventional and nonconventional semen parameters in healthy young normozoospermic males. *J Reprod Immunol* 2016;118:18-27. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2016.08.006>.
- Rybar R, Prinosilova P, Kopecka V, Hlavicova J, Veznik Z, Zajicova A, Rubes J. The



ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

effect of bacterial contamination of semen on sperm chromatin integrity and standard semen parameters in men from infertile couples. *Andrologia* 2012;44 Suppl 1:410-8. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.2011.01198.x>.  
 21. Schlegel PN. Testicular sperm extraction: microdissection improves sperm yield with minimal tissue excision. *Hum Reprod* 1999;14(1):131-135. <https://doi.org/10.1093/humrep/14.1.131>.

22. Фаниев М.В., Кадыров З.А., Гудков Г.В., Крутенко Д.В., Прокопьев Я.В., Водолажский Д.И. Способ малоинвазивного выделения бактериальной ДНК из биоптата тестикулярной ткани у инфертильных мужчин. Патент Российской Федерации 2 810 467. URL: <https://www.fips.ru/iiss/document.xhtml?faces-redirect=true&id=7b8c6d8dccc562974c0a370b0eb52ac1>.

Сведения об авторах:

Фаниев М.В. – к.м.н., доцент кафедры эндоскопической урологии РУДН; Краснодар, Россия; RINЦ Author ID 1056145; <https://orcid.org/0000-0002-7323-3126>

Кадыров З.А. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой эндоскопической урологии РУДН; Москва, Россия; RINЦ Author ID 721133; <https://orcid.org/0000-0002-1108-8138>

Дружинина Н.К. – аспирантка кафедры эндоскопической урологии и ультразвуковой диагностики факультета непрерывного медицинского образования медицинского института РУДН; Москва, Россия; RINЦ Author ID 1074829; <https://orcid.org/0000-0003-3277-6068>

Степанов В.С. – ведущий специалист уролог медицинского холдинга СМ Клиника, Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-0525-3026>

Прокопьев Я.В. – к.м.н., доцент кафедры урологии и нефрологии Казанской государственной медицинской академии – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; Казань, Россия; RINЦ Author ID 1066425; <https://orcid.org/0000-0002-4345-127X>

Федоренко Т.В. – к.б.н., биолог лаборатории клеточных технологий центра репродуктивной и клеточной медицины диагностического центра ГБУЗ «ДГКБ г. Краснодар» МЗ КК; Краснодар, Россия; RINЦ Author ID 706354; <https://orcid.org/0009-0008-9780-4158>

Маркелова М.И. – младший научный сотрудник OpenLab «Омиксные технологии» Института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»; Казань, Россия; RINЦ Author ID 57188689882; <https://orcid.org/0000-0001-7445-2091>

Хуснутдинова Д.Р. – главный инженер проекта Междисциплинарного центра протеомных исследований Института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»; Казань, Россия; RINЦ Author ID 57188680130; <https://orcid.org/0000-0002-9982-9059>

Григорьева Т.В. – к.б.н., старший научный сотрудник OpenLab «Омиксные технологии» Института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»; Казань, Россия; RINЦ Author ID 56310630200; <https://orcid.org/0000-0001-5314-7012>

Вклад авторов:

Фаниев М.В. – сбор и обработка материала, редактирование текста, 20%  
 Кадыров З.А. – разработка концепции исследования, утверждение окончательного варианта статьи, 20%  
 Дружинина Н.К. – написание текста, 15%  
 Степанов В.Н. – сбор и обработка материала, 15%  
 Прокопьев Я.В. – обработка материала, статистический анализ данных, 5%  
 Федоренко Т.В. – обработка материала статистический анализ данных, 5%  
 Маркелова М.И. – статистический анализ полученных данных, 5%  
 Хуснутдинова Д.Р. – статистический анализ полученных данных, обработка материалов, 5%  
 Григорьева Т.В. – разработка концепции исследования, 10%

**Конфликт интересов:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

**Статья поступила:** 18.08.23

**Результаты рецензирования:** 24.10.23

**Исправления получены:** 07.11.23

**Принята к публикации:** 17.11.23

Information about authors:

Faniev M.V. – PhD, Associate Professor of the Department of Endoscopic Urology of the RUDN University; Krasnodar, Russia; RSCI Author ID 1056145; <https://orcid.org/0000-0002-7323-3126>

Kadyrov Z.A. – Dr. Sci., Professor, Head of the Department of Endoscopic Urology of the RUDN University; Moscow, Russia; RSCI Author ID 721133; <https://orcid.org/0000-0002-1108-8138>

Druzhinina N.K. – postgraduate student of the Department of Endoscopic Urology and Ultrasound Diagnostics, Faculty of Continuing Medical Education, Medical Institute of the Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba; Moscow, Russia; RSCI Author ID 1074829; <https://orcid.org/0000-0003-3277-6068>

Stepanov V.S. – leading specialist urologist of the medical holding SM Clinic, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-0525-3026>

Prokopyev Ya.V. – PhD, Associate Professor of the Department of Urology and Nephrology of the Kazan State Medical Academy – branch of the Federal State Budgetary Educational Institution of Further Professional Education «Russian Medical Academy of Continuing Professional Education» of the Ministry of Health of Russia; Kazan, Russia; RSCI Author ID 1066425; <https://orcid.org/0000-0002-4345-127X>

Fedorenko T.V. – PhD, biologist of the Laboratory of Cell Technologies of the Center for Reproductive and Cellular Medicine of the Diagnostic Center of the State Budgetary Institution of Healthcare «DGKB in Krasnodar» of the Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan; Krasnodar, Russia; RSCI Author ID 706354; <https://orcid.org/0009-0008-9780-4158>

Markelova M.I. – junior researcher at OpenLab «Omics Technologies» of the Institute of Fundamental Medicine and Biology of the Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «Kazan (Volga Region) Federal University»; Kazan, Russia; RSCI Author ID 57188689882; <https://orcid.org/0000-0001-7445-2091>

Khusnutdinova D.R. – Chief Project Engineer of the Interdisciplinary Center for Proteomic Research, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan (Volga Region) Federal University; Kazan, Russia; RSCI Author ID 57188680130; <https://orcid.org/0000-0002-9982-9059>

Grigorieva T.V. – Ph.D., senior researcher at OpenLab «Omics Technologies» of the Institute of Fundamental Medicine and Biology of the Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «Kazan (Volga Region) Federal University»; Kazan, Russia; RSCI Author ID 56310630200; <https://orcid.org/0000-0001-5314-7012>

Authors' contributions:

Faniev M.V. – collection and processing of material, text editing, 20%  
 Kadyrov Z.A. – development of the research concept, approval of the final version of the article, 20%  
 Druzhinina N.K. – text writing, 15%  
 Stepanov V.N. – collection and processing of material, 15%  
 Prokopyev Ya.V. – material processing, statistical data analysis, 5%  
 Fedorenko T.V. – material processing, statistical data analysis, 5%  
 Markelova M.I. – statistical analysis of the obtained data, 5%  
 Khusnutdinova D.R. – statistical analysis of the data obtained, processing of materials, 5%  
 Grigorieva T.V. – development of the research concept, 10%

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Financing.** The article was published without financial support.

**Received:** 18.08.23

**Peer review:** 24.10.23

**Corrections received:** 07.11.23

**Accepted for publication:** 17.11.23