

<https://doi.org/10.29188/2222-8543-2024-17-2-36-44>

Структура микробиоты фертильных и инфертильных пациентов с различными видами азооспермии

КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

М.В. Фаниев¹, З.А. Кадыров¹, Н.К. Дружинина¹, В.С. Степанов¹, Я.В. Прокопьев², Т.В. Федоренко³, М.И. Маркелова⁴, Д.Р. Хуснутдинова⁴, Т.В. Григорьева⁴

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

² КГМА – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России; д. 11, ул. Муштары, Казань, Республика Татарстан, 117198, Россия

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

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

Контакт: Дружинина Надежда Константиновна, kvdrdnk@mail.ru

Аннотация:

Введение. Исследование микробиома человека стало темой, вызывающей все больший научный интерес. Сбалансированная и разнообразная микробиота мужской половой системы необходима для оптимального репродуктивного здоровья. Сегодня нет диагностических тестов, позволяющих определить влияние конкретных микроорганизмов на качество семенной жидкости, однако, применение секвенирования нового поколения (NGS), использующего в качестве молекулярного маркера последовательность гена 16S рРНК, предоставляет нам возможность понять всю сложность взаимоотношений микробиома и его хозяина.

Цель. Провести сравнительный анализ таксономической структуры микробиоты пациентов с обструктивной и необструктивной азооспермией и группой фертильности (пациенты с рожденными детьми в анамнезе).

Материалы и методы. В исследование вошли 57 человек. Все пациенты ретроспективно были распределены на три группы: группа 1 (n=29) – пациенты с необструктивной азооспермией (НОА) и отсутствием детей; группа 2 (n=19) – пациенты с обструктивной азооспермией (ОА); группа 3 (n=9) – фертильные пациенты (FERT). Всем пациентам была выполнена микроскопическая биопсия яичка (micro-TESE) с последующим проведением экстракорпорального оплодотворения по технологии интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ), либо криоконсервации биологического материала. Был проведен анализ ампликонов бактериального гена 16S рРНК с использованием высокопроизводительного секвенирования нового поколения (NGS). Для исследования бактериального пейзажа урогенитального тракта и контроля чистоты метода был произведен забор биологического материала из уретры у каждого пациента, которому проводилась биопсия яичка. Данные обрабатывали с помощью программы QIIME (версия 1.9.1).

Результаты. Достоверных отличий в группах сравнения при исследовании бактериального пейзажа уретры не обнаружено. Видовое разнообразие микробиоты тестикулярной ткани, а также общее количество обнаруженных таксономических единиц (ОТЕ) в группах НОА и ОА достоверно ниже, чем в группе ФЕРТ. Различается представленность фил Proteobacteria, Firmicute, Bacteroidetes, Bifidobacterium adolescentis в исследуемых группах. При сравнении таксономического состава микробиоты тестикулярной ткани и уретры выявлено три микроорганизма, представленных с одинаковой частотой (использовался точный критерий Фишера с поправкой на множественное сравнение методом Бенджамини-Хохберга). Различается представленность фил Prevotella, Comamonadaceae, Veillonella диспа, Comamonadaceae в исследуемых группах.

Выводы. Тестикулярная ткань нестерильна и имеет свой неповторимый микробный пейзаж для каждой группы сравнения. Бактериальные сообщества ткани яичка у пациентов с азооспермией характеризуются пониженным разнообразием и специфическим составом, отличающимся от микробиоты уретры. Данные результаты могут быть полезны при дальнейшем изучении роли микробиоты в патологии сперматогенеза и разработке новых подходов к лечению и диагностике мужского бесплодия.

Ключевые слова: микробиом; азооспермия; мужское бесплодие; секвенирования нового поколения (NGS); 16S рРНК.

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. Структура микробиоты фертильных и инфертильных пациентов с различными видами азооспермии. Экспериментальная и клиническая урология 2024;17(2):36-44; <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2024-17-2-36-44>

<https://doi.org/10.29188/2222-8543-2024-17-2-36-44>

The structure of the microbiota of fertile and infertile patients with different types of azoospermia

CLINICAL STUDY

M.V. Faniev¹, Z.A. Kadyrov¹, N.K. Druzhinina¹, V.S. Stepanov¹, Ya.V. Prokopyev², T.V. Fedorenko³, M.I. Markelova⁴, D.R. Khusnutdinova⁴, T.V. Grigorieva⁴

¹ Peoples' Friendship University of Russia; 6, st. Miklouho-Maclay, Moscow, 117198, Russia

² KSMА – branch 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, 117198, Russia

³ 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 Russian Federation; 97, st. Academician Lukyanenko P.P., Krasnodar, 350012, Russia

⁴ 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. The study of the human microbiome has become of increasing scientific interest. A balanced and diverse microbiota of the male reproductive system is essential for optimal reproductive health. Today, there are no diagnostic tests to determine the effect of specific microorganisms on the quality of seminal fluid, however, the use of next-generation sequencing (NGS), using the 16S rRNA gene sequence as a molecular marker, provides us with the opportunity to understand the complexity of the relationship between the microbiome and its host.

The aim of the study. To conduct a comparative analysis of the taxonomic structure of the microbiota between patients with obstructive and non-obstructive azoospermia and the fertility group (patients with a history of having children).

Materials and methods. The study included (n=57) patients (infertile patients with obstructive azoospermia (OA), non-obstructive azoospermia (NOA) and a control group (FERT). All patients underwent percutaneous aspiration of sperm from the testicle (testicular sperm aspiration, MESA), with subsequent *in vitro* fertilization using ICSI technology, or cryopreservation of biological material. The amplicons of the bacterial 16S rRNA gene were analyzed using high-performance next-generation sequencing (NGS). For this research of bacterial composition of the urogenital tract and control the purity of the method, samples has been taken from the urethra of each patient who underwent testicular biopsy. The data was processed using the QUICKTIME program (version 1.9.1).

Results. No significant differences were found in the comparison groups during the study of the urethral bacterial composition. The species diversity, as well as the total number of detected taxonomic units (OTE) in the NOA and OA groups are significantly lower than in the FERT group. The presentation of the phylum like Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes, Bifidobacterium adolescentis in the studied groups is different. Three microorganisms were identified with the same frequency in the urethra and testicular tissue (the exact Fisher criterion was used, adjusted for multiple comparison by the Benjamin-Hochberg method). The representation of the phylum Prevotella, Comamonadaceae, Veillonella dispa, Comamonadaceae in the studied groups differs.

Conclusion. Testicular tissue is not sterile and has its own unique microbial landscape for each comparison group. Bacterial communities of testicular tissue in patients with azoospermia are characterized by a reduced diversity and a specific composition that differs from the urethral microbiota. These results may be useful in further to study the role of microbiota in the pathology of spermatogenesis and developing new approaches to the treatment and diagnosis of male infertility.

Key words: microbiome; azoospermia; male infertility; new generation sequencing (NGS); 16S rRNA.

For citation: Faniev M.V., Kadyrov Z.A., Druzhinina N.K., Stepanov V.S., Prokopyev Y.V., Fedorenko T.V., Markelova M.I., Khusnutdinova D.R., Grigorieva T.V. The structure of the microbiota of fertile and infertile patients with different types of azoospermia. *Experimental and Clinical Urology* 2024;17(2):36-44; <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2024-17-2-36-44>

ВВЕДЕНИЕ

Исследование микробиома человека стало темой, вызывающей большой научный и общественный интерес. Человеческое тело – это экосистема, в которой хозяин взаимодействует с огромным количеством микроорганизмов [1]. Эта связь может быть положительной, нейтральной или патогенной. Поэтому микроорганизмы играют важную роль в здоровье человека. Как правило, микробный состав варьирует в зависимости от расположения органов и систем, их функции и взаимодействия с внешней средой [2], а также связан с генетикой человека, возрастом, типом питания и приемом лекарственных препаратов. Тем не менее, различные профили микробиома были связаны с конкретными заболеваниями путем сравнения различий между пациентами и здоровыми людьми. Эти различия могут возникать на любом уровне таксономического ранга [3] и проявляются увеличением количества конкретных микроорганизмов или снижением микробиомного разнообразия [4]. Одним из основных факторов, вызывающих снижение разнообразия и богатства микробиома человека, является прием антибактериальных лекарственных препаратов. Антибактериальная химиотерапия изменяет таксономическую структуру микробиома. Данная ситуация связана с повышенной восприимчивостью к другим патогенам, нарушением регуляции иммунитета и появлением генов резистентности [5, 6].

Мужская репродуктивная система, которая когда-то считалась в значительной степени стерильной, теперь признана сложной мозаикой микробных сообществ [7, 8]. Новые данные свидетельствуют о ключевой роли микробиома в мужской фертильности [9]. Сбалансированная и разнообразная микробиота мужской половой системы необходима для оптимального репродуктивного здоровья. В настоящее время нет тестов, позволяющих определить порог и предсказать влияние конкретных микроорганизмов на качество семенной жидкости, а также признать ее непригодной для оплодотворения. Однако достижения в области молекулярно-генетической идентификации микробиома, в частности, применение секвенирования нового поколения (NGS), предоставляет нам возможность понять всю сложность взаимоотношений микробиома и его хозяина. Последовательность гена 16S rPHK широко используется в качестве молекулярного маркера в независимых от культуры методах идентификации и классификации разнообразных бактериальных сообществ [10]. Последовательности бактериальной 16S rPHK в настоящее время используются для изучения эволюции, филогенетических взаимоотношений и распространенности различных таксонов в окружающей среде [11]. Идентификация конкретных групп бактерий, позволяющих отнести мужчин к бесплодным, требует дальнейших исследований.

Цель исследования. Провести сравнительный анализ таксономической структуры микробиоты пациентов с обструктивной и необструктивной азооспермией ■

и группой фертильности (пациенты с рожденными детьми в анамнезе).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования послужили образцы тестикулярной ткани и урогенитального тракта инфертильных пациентов с азооспермией (n=57). Исследование одобрено Этическим комитетом (выписка из протокола №4 заседания Комитета по Этике Медицинского института РУДН им. Патриса Лумумбы от 18 января 2024 г. об одобрении научного исследования «Тестикулярный микробиом как фактор прогноза мужского бесплодия»).

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, подтвержденная необструктивная азооспермия, отсутствие в анамнезе двусторонних поражений яичек, их гипоплазии, онкологической патологии, а также отсутствие антибактериальной терапии и инфекций, передаваемых половым путем (ИППП) в течение 3 месяцев.

В свою очередь, критериями исключения явились: возраст до 18 лет, наличие онкологической патологии, 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 (PSA) в сыворотке крови более 4 нг/мл и/или его свободной фракции более 5 нг/мл, психические заболевания, хронический алкоголизм и наркомания, наличие ВИЧ инфекции.

Для реализации репродуктивного потенциала всем пациентам, вошедшим в исследование, была выполнена микроскопическая биопсия яичка (micro-TESE) с последующим проведением экстракорпорального оплодотворения по технологии интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ), либо криоконсервации биологического материала.

Все пациенты ретроспективно были распределены на три группы: группа 1 (n=29) – пациенты с необструктивной азооспермией (НОА) и отсутствием детей; группа 2 (n=19) – пациенты с обструктивной азооспермией (ОА); группа 3 (n=9) – фертильные пациенты (ФЕРТ).

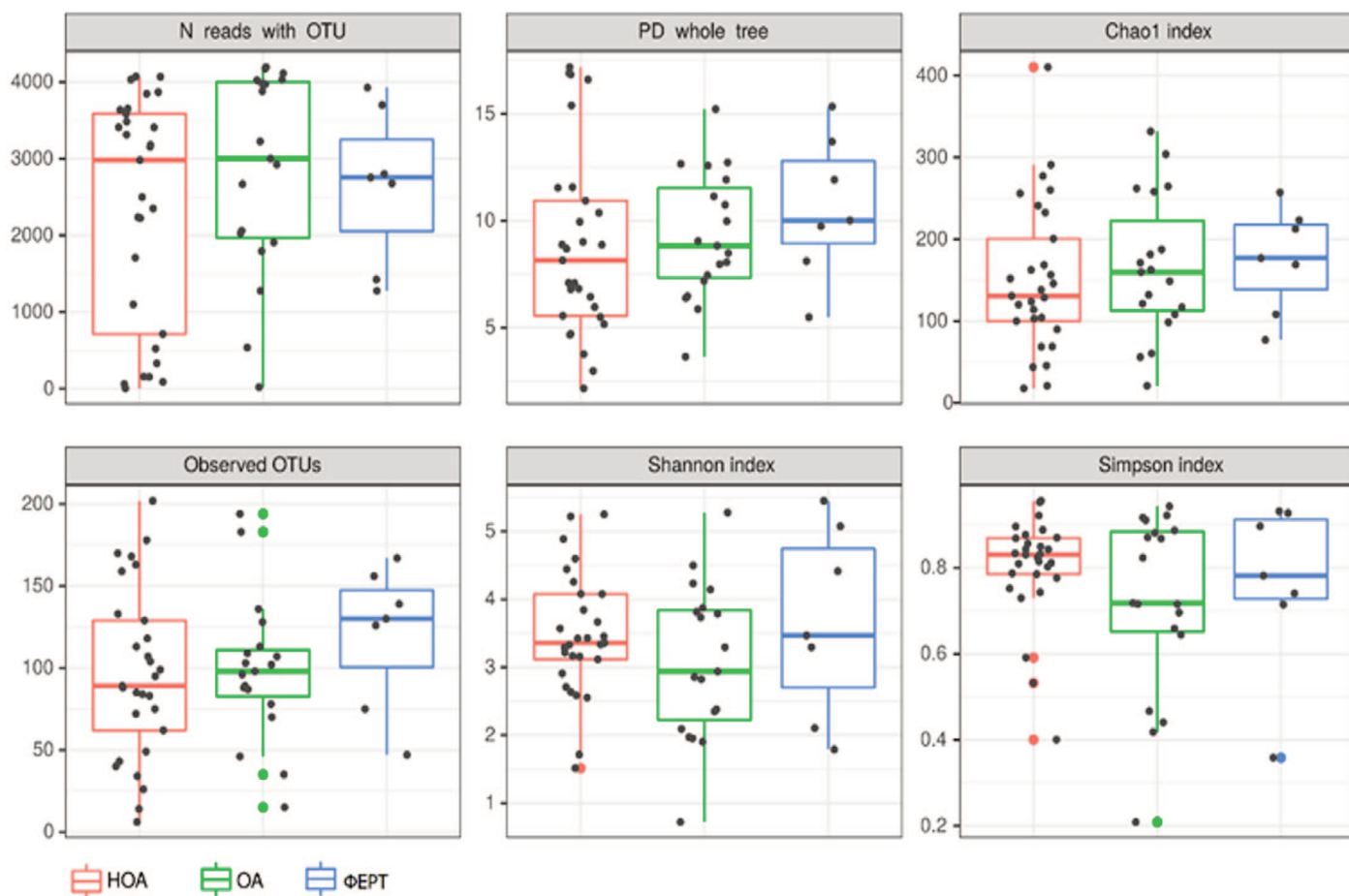


Рис. 1. Альфа-разнообразие бактериального сообщества уретры.
Примечание: статистически достоверных отличий не обнаружено
Fig. 1. Alpha diversity of the urethral bacterial community.
Note: no statistically significant differences were found

Для исследования бактериального разнообразия тестикулярной ткани был проведен анализ ампликонов бактериального гена 16S рРНК с использованием высокопроизводительного секвенирования нового поколения (NGS) [12]. Выделение ДНК из образцов проводили колоночным методом (ReliaPrep™ gDNA Tissue Miniprep System, Promega USA) с предварительной обработкой лизоцимом. Также для исследования бактериального пейзажа урогенитального тракта и контроля чистоты метода был произведен забор биологического материала из уретры у каждого пациента, которому проводилась биопсия яичка. Данные обрабатывали с помощью программы QIIME (версия 1.9.1).

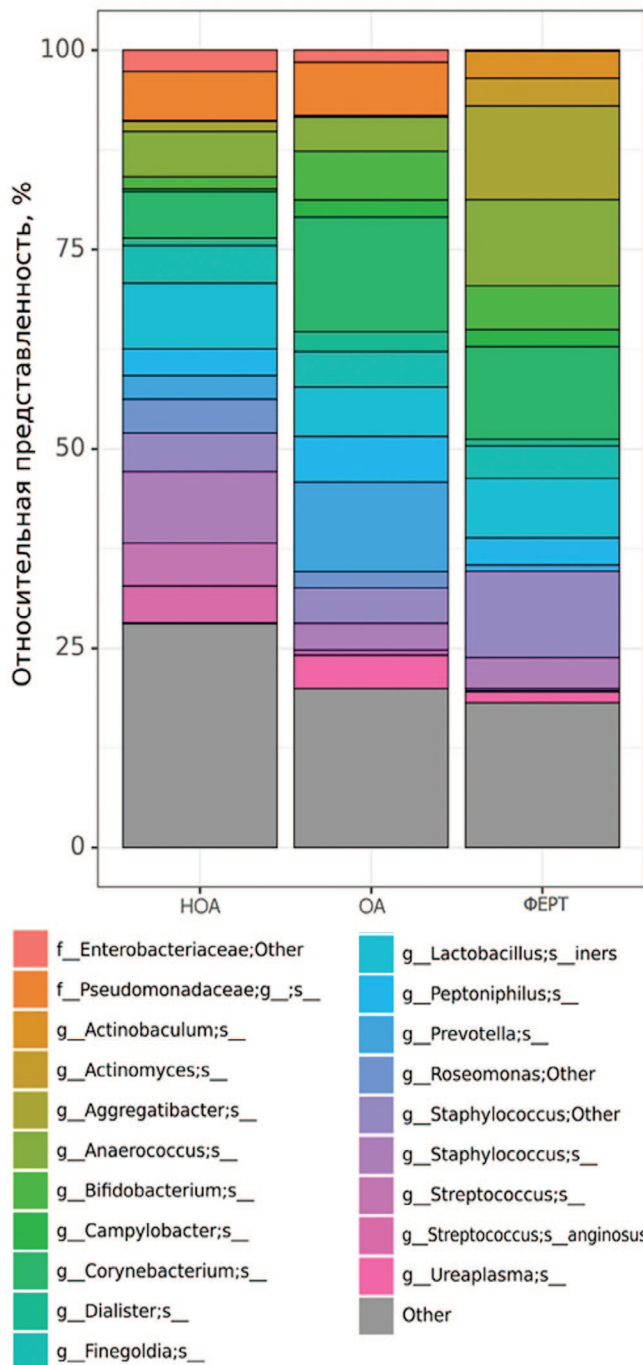


Рис. 2. Наиболее представленные виды микробиоты уретры в группах сравнения
Fig. 2. The most represented types of urethral microbiota in comparison groups

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе исследования был проведен сравнительный анализ таксономического состава микробиоты уретры и тестикулярной ткани в исследуемых группах.

Таксономический состав микробиоты уретры

На первом этапе был проведен сравнительный анализ таксономической структуры и разнообразия микробиоты уретры. Альфа-разнообразие оценивалось по индексу Шеннона и Симпсона, который описывает видовое разнообразие, а также количество операционных таксономических единиц (ОТУ) и индекс Чжао1 исследуемых бактериальных сообществ уретры. Результат показал, что достоверных отличий в группах сравнения обнаружено не было (рис. 1).

Видовое разнообразие в группах, представленное на рисунке 2, демонстрирует отличия только для видов, представленных в малом количестве (не более 3% в среднем, рис. 3), то есть микробиота уретры данных групп пациентов отличается незначительно.

Таксономический состав микробиоты тестикулярной ткани

Далее была произведена оценка альфа-разнообразия исследуемых бактериальных сообществ ткани яичка (рис. 4).

Выявлено, что индексы филогенетического разнообразия, Чжао1, Шеннона и Симпсона, а также общее количество обнаруженных таксономических единиц (ОТЕ) в группах НОА и ОА достоверно ниже, чем в группе ФЭРТ. То есть, у пациентов с азооспермией бактериальное сообщество ткани яичка более обедненное.

При анализе данных микробных сообществ ткани яичка были выявлены достоверные различия в представленности микробных фил исследуемых групп сравнения (рис. 5).

Так, например, у пациентов с НОА достоверно повышена представленность филы *Proteobacteria*, а группа пациентов ФЭРТ имела повышенную относительную представленность фил *Firmicutes* и *Bacteroidetes*, которые обычно преобладают в микробиоте кишечника. Таким образом, микробиота яичка отличается между группами сравнения даже на крупных таксонах, чего не было выявлено для микробиоты уретры данных пациентов (рис. 6).

Наибольшее различие в группах сравнения мы выявили, анализируя отдельные виды микробиота ткани яичка (рис. 7). Интересно, что группы НОА и ОА отличаются друг от друга в основном представленностью вида *Bifidobacterium adolescentis*, в то время как от группы ФЭРТ группы НОА и ОА отличаются в основном сниженной представленностью

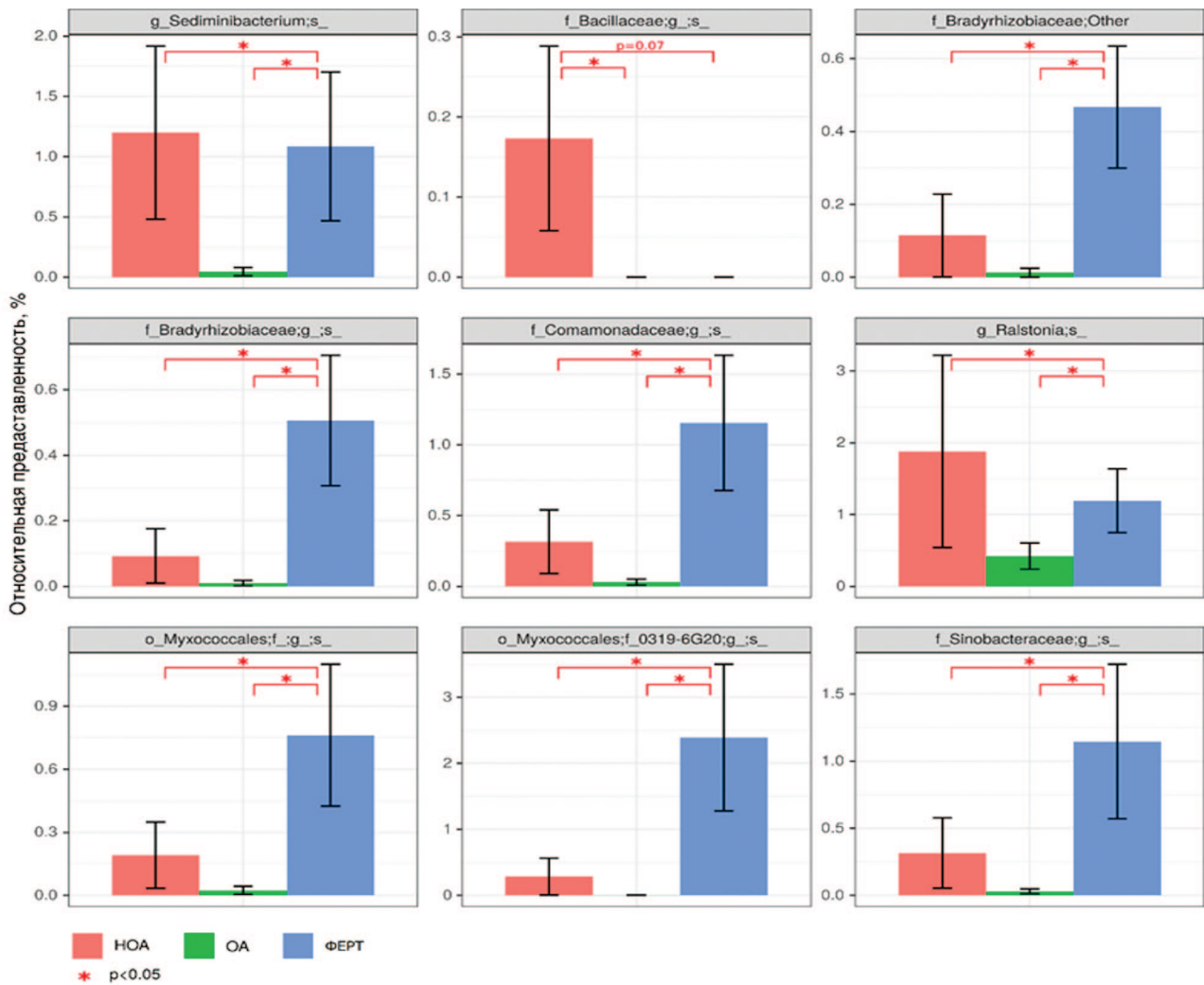


Рис. 3. Статистически значимо отличающиеся между группами сравнения виды, обнаруженные в микробиоте уретры
 Fig. 3. Statistically significantly different species found in the urethral microbiota between comparison groups

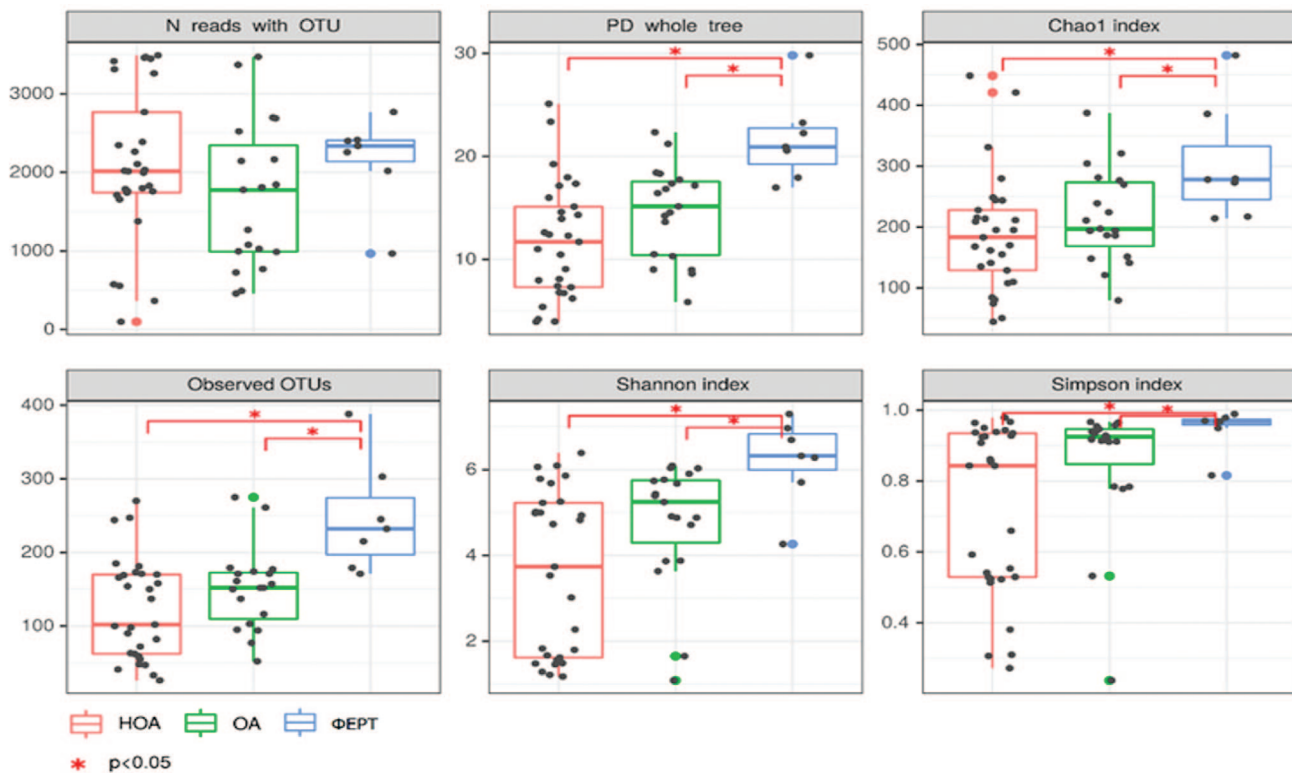


Рис. 4. Альфа-разнообразие бактериального сообщества ткани яичка. Примечания: * достоверность различий между группами $p < 0,05$
 Fig. 4. Alpha diversity of testicular tissue bacterial community. Notes: * significance of differences between groups $p < 0.05$

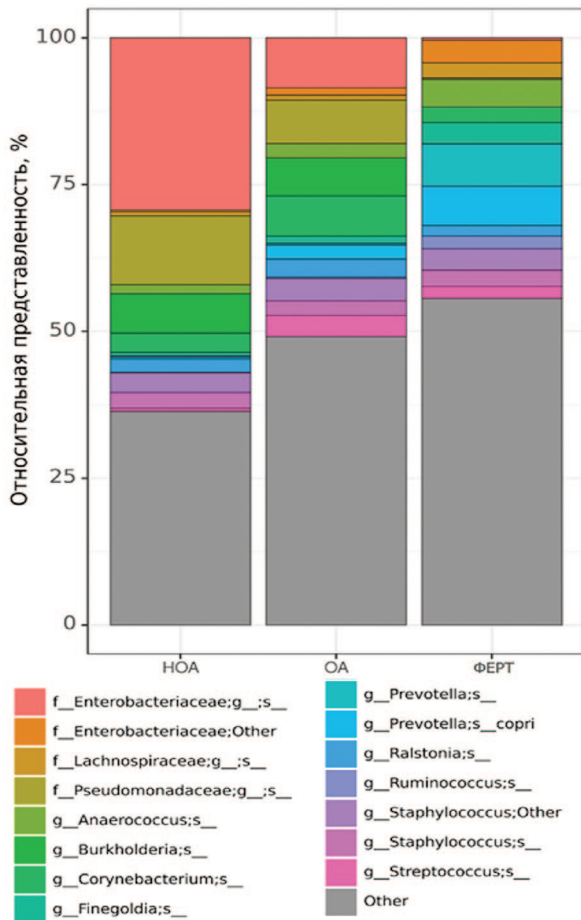


Рис. 5. Наиболее представленные виды микробиоты яичка в группах сравнения
Fig. 5. The most represented types of testicular microbiota in comparison groups

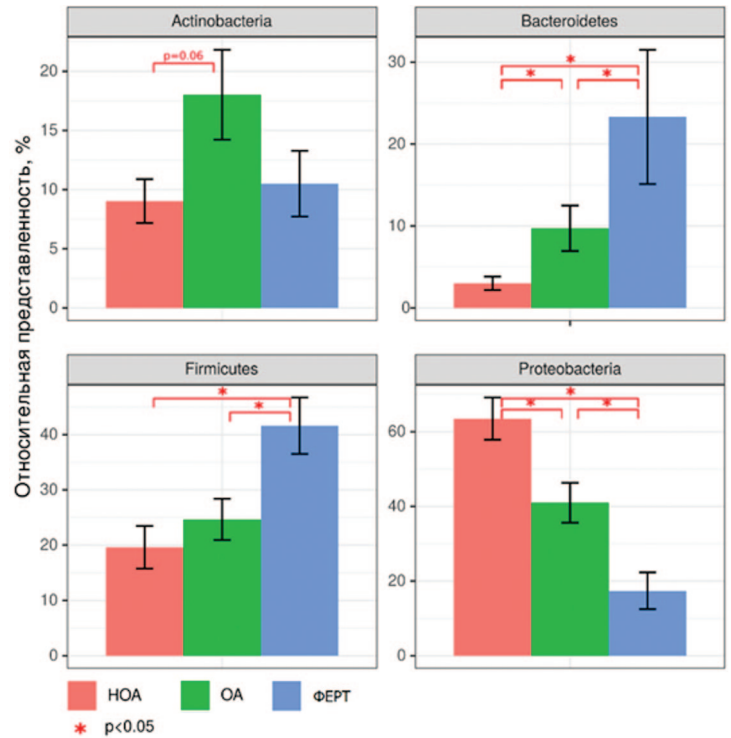


Рис. 6. Филы, обнаруженные в микробиоте ткани яичка, статистически значимо отличающиеся между группами сравнения

Примечания: достоверность различий между группами $p < 0,05$ (тест Краскела-Уоллиса с поправкой на множественное сравнение методом Бенджамини-Хохберга).

Fig. 6. Statistically significantly different phyla between comparison groups found in the microbiota of testicular tissue.

Notes: significance of differences between groups $p < 0.05$ (Kruskal-Wallis test corrected for multiple comparisons by the Benjamini-Hochberg method)

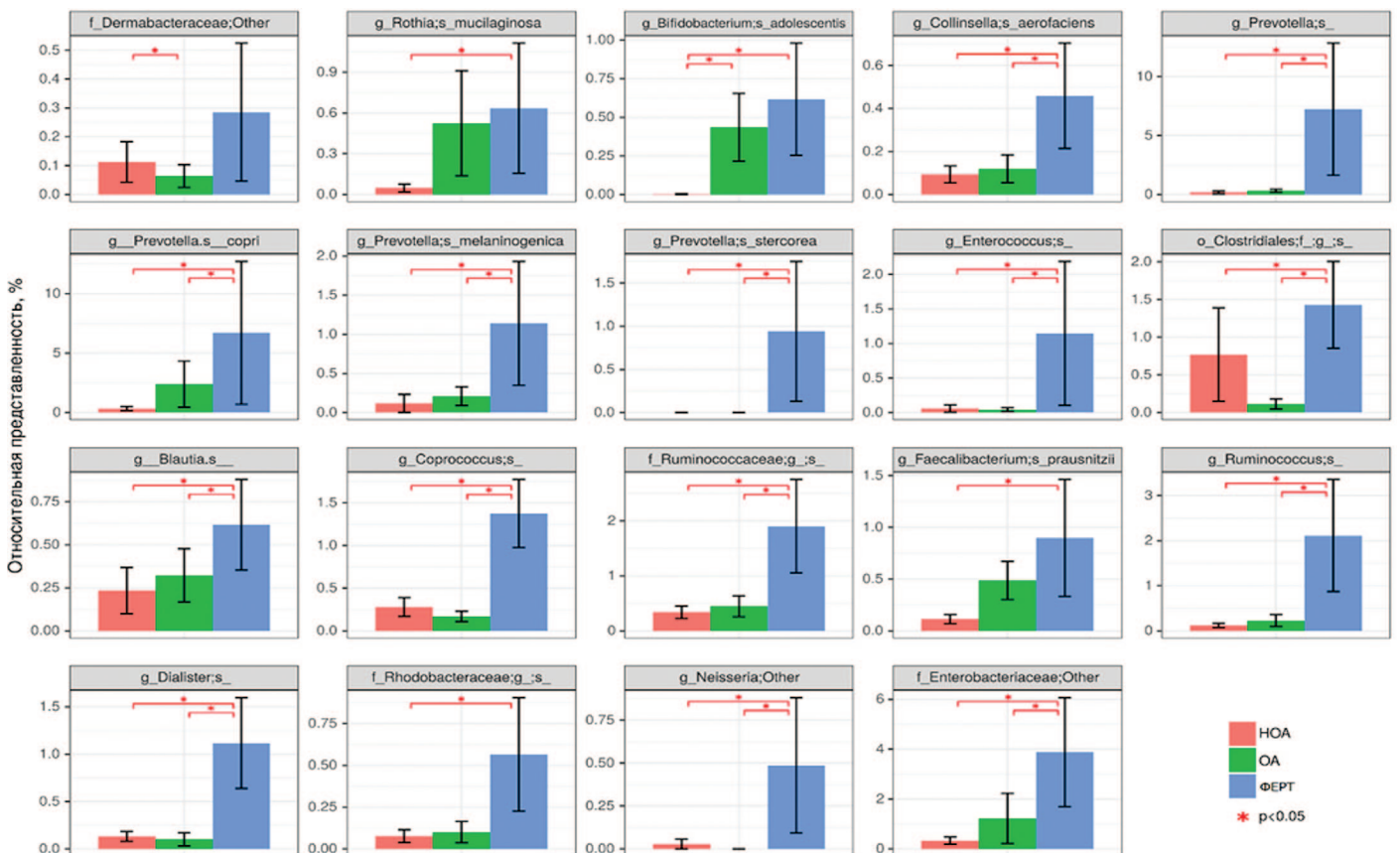


Рис. 7. Статистически значимо отличающиеся между группами сравнения виды, обнаруженные в микробиоте ткани яичка
Fig. 7. Statistically significantly different species found in the microbiota of testicular tissue between comparison groups

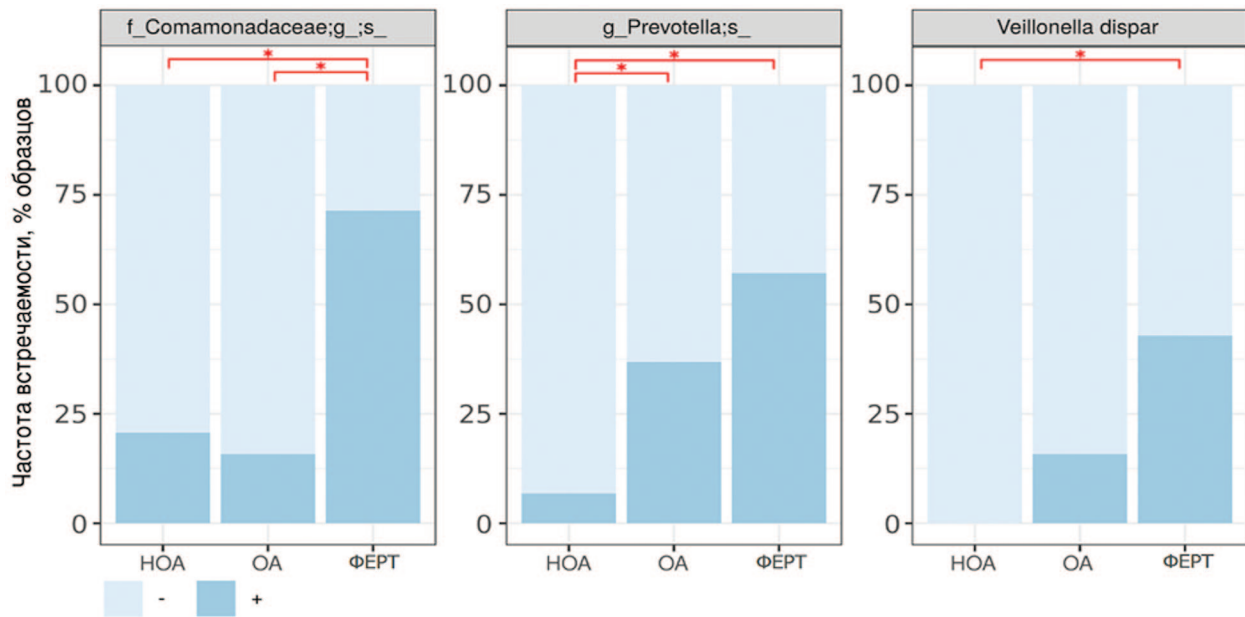


Рис. 8. Частота встречаемости бактерий и для уретры, и для ткани яичка
Fig. 8. Frequency of occurrence of bacteria for both urethra and testicular tissue

таксонов бактерий, которые являются нормальными представителями микробиоты кишечника.

Таким образом, группы НОА и ОА близки друг к другу представленностью обнаруженных видов в ткани яичка.

При сравнении частоты встречаемости бактерий и для уретры, и для ткани яичка выявлено только три вида (использовался точный критерий Фишера с поправкой на множественное сравнение методом Бенджамини-Хохберга). В группе НОА по сравнению с группой ОА достоверно реже обнаруживается неопределенный представитель рода *Prevotella*, а в сравнении с группой ФЕРТ достоверно реже обнаруживается неопределенный представитель семейства *Comamonadaceae*, неопределенный представитель рода *Prevotella* и вид *Veillonella dispar*. В свою очередь в группе ОА достоверно реже обнаруживается неопределенный представитель семейства *Comamonadaceae* по сравнению с группой ФЕРТ (рис. 8).

ОБСУЖДЕНИЕ

Передовые методы секвенирования нового поколения (NGS) позволили проанализировать микробиом мужской половой системы, определить его уникальный состав. Точное происхождение бактерий в ткани яичка человека остается неясным, и неизвестно, представляют ли они временную колонизацию или статичную резидентную флору. Хотя существует сходство между тестикулярным и уретральным микробиомом, большее альфа-разнообразие бактериального сообщества в группах сравнения выявлено в тестикулярной ткани [13]. В нашем исследовании при сравнении таксономической структуры микробиоты мужчины с

НОА имели большую бактериальную нагрузку ткани яичка по сравнению с мужчинами с ОА и ФЕРТ, с преобладанием актинобактерий и фирмикутов. В то время как в уретре наибольшую бактериальную представленность имели пациенты группы ФЕРТ. В свою очередь, мужчины с НОА имели пониженное таксономическое разнообразие вследствие истощения *Bacteroidetes* и *Proteobacteria* и преобладания фило *Proteobacteria*. Международный опыт в данной области также подтверждает, что различия в таксономической структуре микробиоты могут быть связаны с патологическими изменениями репродуктивной системы у мужчин. Некоторые исследования установили связь микробиоты яичка с различными аспектами мужской фертильности, включая сперматогенез и качество спермы [14].

Результаты исследования позволяют обсудить связь между составом микробиоты и фертильностью, а также пролить свет на патологические изменения при азооспермии. В результате анализа частоты встречаемости видов бактерий в уретре и тестикулярной ткани были выявлены достоверные различия между группами. В группе НОА по сравнению с группой ОА реже обнаруживался неопределенный представитель рода *Prevotella*. Эти данные говорят о потенциальном влиянии данного представителя рода *Prevotella* на развитие азооспермии и могут указывать на возможную причину необструктивной формы заболевания. G. Campisciano и соавт. описывают нарушение подвижности сперматозоидов в группе пациентов с выявленной *Prevotella*, а также данный микроорганизм был выявлен в группе пациентов с идиопатическим мужским бесплодием [15]. Также были выявлены интересные различия между группой НОА и группой Ферт. В

группе НОА реже обнаруживались неопределенные представители семейства Comamonadaceae, неопределенных видов *Prevotella* и вида *Veillonella dispar* по сравнению с группой ФЕРТ. В группе ОА также было обнаружено снижение обнаружения неопределенного представителя семейства Comamonadaceae по сравнению с группой ФЕРТ. Эти результаты согласуются с данными международных исследований, которые показывают, что микробиота уретры и микробиота яичка имеют своеобразные составы и могут отличаться. Данная ситуация свидетельствует о различии в таксономической структуре микробиоты в этих двух группах и указывает на возможную связь данного представителя семейства Comamonadaceae с обструктивной формой азооспермии. I. Veneruso и соавт. отмечают изменения свойств спермы, ассоциирующиеся с наличием Comamonadaceae [16]. Таким образом, результаты проведенного исследования подтверждают наличие различий в таксономической структуре микробиоты ткани яичка у пациентов с обструктивной и необструктивной азооспермией, а также у пациентов с нормальной фертильностью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наши данные подтверждают, что тестикулярная ткань нестерильна и имеет свой неповторимый микробный пейзаж. Таксономическая структура микробиоты яичка различается у пациентов с обструктивной азооспермией, необструктивной азооспермией и фертильных мужчин. Бактериальные сообщества ткани яичка у пациентов с азооспермией характеризуются пониженным разнообразием и специфическим составом, отличающимся от микробиоты уретры. Индексы филогенетического разнообразия (Chao1, Шеннона и Симпсона) и общее количество ОТЕ были достоверно ниже у пациентов с НОА и ОА по сравнению с пациентами группы фертильности. Таким образом, можно предположить, что у пациентов с азооспермией имеет место снижение разнообразия бактериального сообщества тестикулярной ткани. Эти результаты могут быть полезны для дальнейшего изучения роли микробиоты в патологии сперматогенеза и разработки новых подходов к лечению и диагностике мужского бесплодия. ■

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Berg G, Rybakova D, Fischer D, Cernava T, Vergès MC, Charles T, et al. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome* 2020;8(1):103. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>.
- Simon JC, Marchesi JR, Mougel C, Selosse MA. Host-microbiota interactions: from holobiont theory to analysis. *Microbiome* 2019;7(1):5. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0619-4>.
- Gilbert JA, Quinn RA, Debelius J, Xu ZZ, Morton J, Garg N, et al. Microbiome-wide association studies link dynamic microbial consortia to disease. *Nature* 2016;535(7610):94-103. <https://doi.org/10.1038/nature18850>.
- Manor O, Dai CL, Kornilov SA, Smith B, Price ND, Lovejoy JC, et al. Health and disease markers correlate with gut microbiome composition across thousands of people. *Nat Commun* 2020;11(1):5206. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18871-1>.
- Francino MP. Antibiotics and the Human Gut Microbiome: Dysbioses and Accumulation of Resistances. *Front Microbiol* 2016;6:1543. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01543>.
- Raymond F, Ouameur AA, Déraspe M, Iqbal N, Gingras H, Dridi B, et al. The initial state of the human gut microbiome determines its reshaping by antibiotics. *ISME J* 2016;10(3):707-20. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.148>.
- Zuber A, Peric A, Pluchino N, Baud D, Stojanov M. Human Male Genital Tract Microbiota. *Int J Mol Sci* 2023;24(8):6939. <https://doi.org/10.3390/ijms24086939>.
- Tomaiuolo R, Veneruso I, Cariati F, D'Argenio V. Microbiota and Human Reproduction: The Case of Male Infertility. *High Throughput* 2020;9(2):10. <https://doi.org/10.3390/ht9020010>.
- Magill RG, MacDonald SM. Male infertility and the human microbiome. *Front Reprod Health* 2023;5:1166201. <https://doi.org/10.3389/frph.2023.1166201>.
- 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>.
- Větrovský T, Baldrian P. The variability of the 16S rRNA gene in bacterial genomes and its consequences for bacterial community analyses. *PLoS One* 2013;8(2):e57923. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057923>.
- 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 на изобретение № 2 810 467 от 27.12.2023. [Faniev M.V., Kadyrov Z.A., Gudkov G.V., Krutenko D.V., Prokopyev Ya.V., Vodolazhsky D.I. A method for minimally invasive isolation of bacterial DNA from testicular tissue biopsy in infertile men. Patent for invention No. 2,810,467 dated December 27, 2023. (In Russian)].
- Фаниев М.В., Кадыров З.А., Дружинина Н.К., Степанов В.С., Прокопьев Я.В., Федоренко 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. [Faniev M.V., Kadyrov Z.A., Druzhinina N.K., Stepanov V.S., Prokopyev Ya.V., Fedorenko T.V. Comparative characteristics of testicular and urethral microbiota in patients with various types of azoospermia and concomitant varicocele. *Experimental'naya i klinicheskaya urologiya = Experimental and Clinical Urology* 2023;16(4):80-91. (In Russian)]. <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2023-16-4-80-91>.
- 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>.
- Campisciano G, Iebba V, Zito G, Luppi S, Martinelli M, Fischer L, et al. Lactobacillus iners and gasseri, Prevotella bivia and HPV Belong to the Microbiological Signature Negatively Affecting Human Reproduction. *Microorganisms* 2020;9(1):39. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010039>.
- Veneruso I, Cariati F, Alviggi C, et al. Metagenomics Reveals Specific Microbial Features in Males with Semen Alterations. *Genes (Basel)* 2023;14(6):1228. <https://doi.org/10.3390/genes14061228>.

Сведения об авторах:

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

Кадыров З.А. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой эндоскопической урологии РУДН; Москва, Россия; РИНЦ 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; РИНЦ 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; РИНЦ 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; РИНЦ 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; РИНЦ Author ID 976359, <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; РИНЦ Author ID 877569, <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; Author ID 616577, <https://orcid.org/0000-0001-5314-7012>

Вклад авторов:

Кадыров З.А. – разработка концепции исследования, утверждение окончательного варианта статьи, 20%
 Фаниев М.В. – сбор и обработка материала, редактирование текста, 20%
 Дружинина Н.К. – написание текста, 15%
 Степанов В.С. – сбор и обработка материала, 10%
 Прокопьев Я.В. – обработка материала, статистический анализ данных, 10%
 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: 12.02.24

Результаты рецензирования: 17.03.2024

Исправления получены: 27.04.2024

Принята к публикации: 12.05.2024

Information about authors:

Faniev M.V. – PhD, Associate Professor, Department of Endoscopic Urology, RUDN University; Moscow, 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 at RUDN University; Moscow, Russia; RSCI AuthorID 721133, <https://orcid.org/0000-0002-1108-8138>

Druzhinina N.K. – postgraduate student of the Department of Endoscopic Urology and Ultrasound Diagnostics of the Faculty of Continuing Medical Education of the Medical Institute of the RUDN University; 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 Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Ministry of Health of Russia; Kazan, Russia; RSCI AuthorID 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 Healthcare Institution «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 976359, <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 877569, <https://orcid.org/0000-0002-9982-9059>

Grigorieva T.V. – PhD, 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; Author ID 616577, <https://orcid.org/0000-0001-5314-7012>

Authors' contributions:

Kadyrov Z.A. – development of the research concept, approval of the final version of the article, 20%
 Faniev M.V. – collection and processing of material, text editing, 20%
 Druzhinina N.K. – text writing, 15%
 Stepanov V.S. – collection and processing of material, 10%
 Prokopyev Ya.V. – material processing, statistical data analysis, 10%
 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: 12.02.24

Peer review: 17.03.2024

Corrections received: 27.04.2024

Accepted for publication: 12.05.2024