https://doi.org/10.29188/2222-8543-2025-18-3-88-97

Сравнительный анализ микробиоты уретры и яичек у пациентов с обструктивной азооспермией с результатами вспомогательных репродуктивных технологий

КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

М.В. Фаниев[1], З.А. Кадыров[1], Я.В. Прокопьев[2], Т.В. Федоренко[3], М.И. Маркелова[4], Д.Р. Хуснутдинова[4], Т.В. Григорьева[4]

[1] Российский университет дружбы народов, факультет непрерывного медицинского образования; Москва, Россия

[2] Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; Казань, Республика Татарстан, Россия

[3] Центр репродуктивной и клеточной медицины диагностического центра ДГКБ г. Краснодара» Минздрава Краснодарского края; Краснодар, Россия

[4] Казанский (Приволжский) федеральный университет, институт фундаментальной медицины и биологии; Казань, Республика Татарстан, Россия

Контакт: *Фаниев Михаил Владимирович, faniev.mv@gmail.ru*

Аннотация:

Введение. *Проблема мужского бесплодия сохраняет свою актуальность в области репродуктивной медицины, так как мужская инфертильность прогрессирует с каждым годом. Мужской микробиом репродуктивной системы представляет собой сложное сообщество микроорганизмов, обитающих в разных частях мужского организма, включая уретру, предстательную железу и семенные пузырьки. Исследования показывают, что микробиом играет важную роль в поддержании здоровья репродуктивной системы и может влиять на фертильность.*

Цель исследования. *Выявление различий в составе микробиота яичек и уретры между группами пациентов с положительными и отрицательными результатами вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ).*

Материалы и методы. *Проведен сравнительный анализ таксономической структуры микробиоты ткани тестикул и уретры у 24 инфертильных мужчин с обструктивной азооспермией (ОА), которые проходили процедуры ВРТ. В 13 случаях наступила беременность (группа ВРТ+), в 11 случаях беременности не достигли (группа ВРТ-). Для анализа бактериального пейзажа урогенитального тракта у всех участников исследования проводился забор биологического материала из уретры, а также осуществлялась биопсия яичка. Анализ ампликонов бактериального гена 16S рРНК выполнялся с использованием высокопроизводительного секвенирования нового поколения (NGS). Полученные данные обрабатывались с использованием программного обеспечения QIIME (версия 1.9.1), что позволяло провести таксономический анализ и оценить разнообразие микробиоты.*

Результаты. *В ходе нашего исследования были выявлены значительные различия в составе микробиоты между тканью яичка и уретры у инфертильных мужчин с ОА, а также между группами пациентов с положительными и отрицательными результатами ВРТ. В ткани яичка основными семействами микробиоты оказались Enterobacteriaceae и Burkholderiaceae, в то время как в уретре доминирующими семействами были Mycobacteriaceae, Staphylococcaceae, Lactobacillaceae и Peptoniphilaceae. Несмотря на наличие различий в составе микробиоты, не обнаружено достоверных отличий в индексах альфа-разнообразия микробиоты ткани яичка и уретры между группами ВРТ- и ВРТ+. Однако в группе ВРТ- в микробиоте ткани яичка была отмечена достоверно повышенная относительная представленность 19 бактериальных семейств по сравнению с пациентами из группы ВРТ+, отмечено и увеличение представленности двух семейств: Mycobacteriales и Legionellaceae. Это может указывать на возможную связь между составом микробиоты и успешностью ВРТ. Корреляционный анализ показал положительную связь между уровнем ингибина и составом микробиты тестикулярной ткани. Это может свидетельствовать о том, что микробиота тестикул может влиять на уровень ингибина, который является важным маркером функции семенников и может играть роль в фертильности.*

Выводы. *Результаты демонстрируют, что нарушения, ассоциированные с ОА, приводят к изменению относительной представленности отдельных семейств микробиоты уретры и яичек, что оказывает существенное влияние на исходы ВРТ. Практическая значимость этих данных заключается в том, что коррекция микробиоты может стать потенциальной стратегией для улучшения результатов ВРТ у пациентов с ОА, открывая новые подходы к лечению и повышению фертильности и позволяет предположить теорию о «микробиоте фертильности тестикул» и впоследствии может играть немаловажную роль при прегравидарной криоконсевации в программах ВРТ и создании новых тестов для отбора сперматозоидов в программах искусственного оплодотворения.*

Ключевые слова: *микробиом, микробиота; азооспермия; мужское бесплодие; секвенирования нового поколения (NGS); вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ).*

Для цитирования: *Фаниев М.В., Кадыров З.А., Прокопьев Я.В., Федоренко Т.В., Маркелова М.И., Хуснутдинова Д.Р., Григорьева Т.В. Сравнительный анализ микробиоты уретры и яичек у пациентов с обструктивной азооспермией с результатами вспомогательных репродуктивных технологий. Экспериментальная и клиническая урология 2025;18(3):88-97; https://doi.org/10.29188/2222-8543-2025-18-3-88-97*

https://doi.org/10.29188/2222-8543-2025-18-3-88-97

Comparative analysis of the urethral and testicular microbiota in obstructive azoospermia patients with the results of assisted reproductive technologies

CLINICAL STUDY

M.V. Faniev[1], Z.A. Kadyrov[1], Ya.V. Prokopyev[2], T.V. Fedorenko[3], M.I. Markelova[4], D.R. Khusnutdinova[4], T.V. Grigorieva[4]

[1] RUDN University of Russia, Faculty of Continuing Medical Education; Moscow, Russia

[2] Kazan State Medical Academy – Branch of the Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation; Kazan, Republic of Tatarstan, Russia

[3] Center for Reproductive and Cellular Medicine, Diagnostic Center, Children's City Clinical Hospital of Krasnodar, Ministry of Health of Krasnodar region; Krasnodar, Russia

[4] Kazan (Volga Region) Federal University, Institute of Fundamental Medicine and Biology; Kazan, Republic of Tatarstan, Russia

Contacts: *Mikhail V. Faniev, faniev.mv@gmail.ru*

Summary:

Introduction. *The problem of male infertility remains a pressing issue in the field of reproductive medicine, as male infertility progresses year after year. The male reproductive microbiome is a complex community of microorganisms that inhabit various parts of the male body, including the urethra, prostate, and seminal vesicles. Research shows that the microbiome plays an important role in maintaining reproductive health and may influence fertility.*

Objective. *To identify differences in the composition of the testicular and urethral microbiota between groups of patients with positive and negative results of assisted reproductive technologies (ART).*

Materials and methods. *A comparative analysis of the taxonomic structure of the testicular and urethral microbiota was conducted in 24 infertile men with obstructive azoospermia (OA) who underwent ART procedures. Pregnancy occurred in 13 cases (ART+ group), while pregnancy was not achieved in 11 cases (ART- group). To analyze the bacterial composition of the urogenital tract, biological material was collected from the urethra of all study participants, as well as a testicular biopsy. Analysis of bacterial 16S rRNA gene amplicons was performed using high-throughput next-generation sequencing (NGS). The obtained data were processed using QIIME software (version 1.9.1), which allowed for taxonomic analysis and assessment of microbiota diversity.*

Results. *Our study revealed significant differences in the microbiota composition between testicular and urethral tissue in infertile men with OA, as well as between groups of patients with positive and negative ART results. In testicular tissue, the main microbiota families were Enterobacteriaceae and Burkholderiaceae, while in the urethra, the dominant families were Mycobacteriaceae, Staphylococcaceae, Lactobacillaceae, and Peptoniphilaceae. Despite differences in microbiota composition, no significant differences in alpha diversity indices of testicular and urethral microbiota were found between the ART- and ART+ groups. However, in the ART- group, a significantly increased relative representation of 19 bacterial families was observed in the testicular microbiota compared to patients in the ART+ group, including increased representation of two families: Mycobacteriales and Legionellaceae. This may indicate a possible link between microbiota composition and ART success. Correlation analysis revealed a positive association between inhibin levels and testicular microbiota composition. This suggests that testicular microbiota may influence inhibin levels, which are an important marker of testicular function and may play a role in fertility.*

Conclusions. *The results demonstrate that OA-associated disorders lead to changes in the relative representation of individual families of the urethral and testicular microbiota, which has a significant impact on ART outcomes. The practical significance of these data is that microbiota correction may be a potential strategy for improving ART outcomes in patients with OA, opening up new approaches to treatment and enhancing fertility, and suggests the theory of «testicular fertility microbiota» and may subsequently play an important role in pre-conception cryopreservation in ART programs and the creation of new tests for sperm selection in artificial insemination programs.*

Key words: *microbiome; microbiota; azoospermia; male infertility; new generation sequencing (NGS); assisted reproductive technologies (ART).*

For citation: *Faniev M.V., Kadyrov Z.A., Prokopyev Ya.V., Fedorenko T.V., Markelova M.I., Khusnutdinova D.R., Grigorieva T.V. Comparative analysis of the urethral and testicular microbiota in obstructive azoospermia patients with the results of assisted reproductive technologies. Experimental and Clinical Urology 2025;18(3):88-97; https://doi.org/10.29188/2222-8543-2025-18-3-88-97*

ВВЕДЕНИЕ

Проблема бесплодия значима и не теряет своей актуальности в мире. Данная ситуация затрагивает около 15% сексуально активных пар, не использующих методы контрацепции, что составляет примерно 48,5 млн пар во всем мире [1]. По данным Российских авторов, роль мужского фактора в бесплодном браке в России может варьироваться от 30 до 50% [2].

Причины ухудшения качества эякулята у ряда мужчин остаются неясными даже после проведения комплексного обследования, что классифицируется как идиопатическая форма бесплодия. В случаях, когда в эякуляте отсутствуют сперматозоиды, диагностируется азооспермия [3].

Распространенность азооспермии в популяции всех мужчин составляет примерно 1%, среди бесплодных мужчин – 7-10%. Необструктивная

азооспермия (НОА) является наиболее тяжелой формой бесплодия, при этом до 80% мужчин с НОА классифицируются как идиопатические по своей природе.

В свою очередь обструктивная азооспермия (ОА) не вызывает особых сложностей в диагностике и составляет приблизительно 40-50% всех случаев азооспермии [4–6].

В ряде исследований проводился анализ потенциальных факторов риска, способствующих снижению мужской фертильности. К этим факторам относятся генетические аномалии, иммунологические, эндокринные нарушения, наличие новообразований, сопутствующие системные заболевания, а также врожденные или приобретенные патологии мочеполовой системы [7].

Не менее значимыми факторами, влияющими на мужскую фертильность, являются острые и хронические инфекции урогенитального тракта, которые считаются потенциально обратимыми факторами, влияющими на параметры эякулята. Эти нарушения составляют от 15 до 20% всех зарегистрированных случаев [8–10].

Однако, проведенные исследования у пациентов с мужским фактором бесплодия показали возможную связь заболевания не только с инфекциями, передаваемым половым путем, но и с изменением состава нормальной микробиоты. Изучение микробиома человека представляет большой интерес для научного сообщества во всех областях медицины, в частности, его роли в регуляции специфических функций тканей [11].

Мужской микробиом репродуктивной системы представляет собой сложное сообщество микроорганизмов, обитающих в разных частях мужского организма, включая уретру, предстательную железу и семенные пузырьки. Исследования показывают, что микробиом играет важную роль в поддержании здоровья репродуктивной системы и может влиять на фертильность [12, 13].

Вопрос о наличии микроорганизмов, в частности условно-патогенной флоры, в мужском репродуктивном тракте и их влиянии на фертильность семенной жидкости активно обсуждается в научных кругах. Споры касаются роли микроорганизмов в колонизации мужских мочеполовых органов, а не только их инфицирования, в контексте ухудшения параметров спермы. Некоторые исследователи утверждают, что прямое воздействие патогенных микроорганизмов отрицательно сказывается на морфологии сперматозоидов, что уменьшает их оплодотворяющую способность. В то же время другие ученые указывают на то, что инфекции мужской репродуктивной системы могут нарушать функционирование гематотестикулярного барьера, что приводит к апоптозу клеток сперматогенного эпителия и, как следствие, к развитию аутоиммунного бесплодия [14–17].

Неэффективность лечения мужского бесплодия часто обусловлена множеством факторов, способствующих возникновению данной проблемы. К их числу могут относиться инфекции урогенитального тракта, которые порой не получают должного внимания в процессе диагностики. Проведенные исследования *in vitro* показали, что бактерии способны оказывать значительное влияние на подвижность сперматозоидов, их функциональную зрелость, качество и состав семенной жидкости. Данные нарушения включают в себя агглютинацию подвижных сперматозоидов, индукцию апоптоза, выработку веществ, ответственных за иммобилизацию, а также нарушение акросомальной реакции [18–22].

В имеющихся на сегодняшний день исследованиях было обнаружено, что определенные микроорганизмы, такие как *Lactobacillus iners, Gardnerella vaginalis, Enterococcus faecalis, Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*, могут быть связаны с необструктивной формой азооспермии [23, 24].

Наряду с необструктивной формой азооспермии не меньший интерес научного сообщества вызывает ОА, которая так же влечет за собой репродуктивные потери. В мета-анализах последних десятилетий было доказано, что ОА связана не только с генетической и эндокринной патологией, но и воспалительными заболеваниями, где одну из ведущих ролей занимает патология урогенитального тракта не всегда выявляемая рутинными культуральными методами и зачастую приводящая к обструкции семявыводящих путей, что напрямую связано с изменением таксономической структуры микробиома репродуктивного потенциала мужчин и развитием ОА [3].

С учетом того, что общая эффективность использования вспомогательных репродуктивных технологий составляет лишь 30-35%, становится очевидной важность изучения влияния различных факторов, приводящих к мужскому бесплодию. Наименее изученной и одной из самых обсуждаемых проблем, ассоциированных с мужским бесплодием, является влияние условно-патогенной микрофлоры на снижение мужской фертильности. Это вновь подтверждает актуальность изучения микробиома мужской репродуктивной системы [25].

Наиболее часто инфекции, передаваемые половым путем (ИППП), особенно условно-патогенные, обнаруживаются у людей фертильного возраста. Бессимптомное течение таких инфекций может приводить к структурно-воспалительным изменениям в тканях органов урогенитального тракта, что в конечном итоге ведет к бесплодию. Это подчеркивает важность своевременной диагностики и адекватной терапии [26–28].

Из-за отсутствия полноценных исследований и противоречивости полученных результатов, влияние микробиоты на качество семенной жидкости до сих

пор неясно. Большинство исследований в данной области опираются на методы культивирования или полимеразной цепной реакции, ориентированные на конкретные микроорганизмы. Однако такие подходы имеют два основных недостатка: во-первых, множество бактерий невозможно культивировать или идентифицировать, во-вторых, они ограничиваются лишь теми микроорганизмами, на которые направлен тест, не позволяя проводить анализ всей микробиоты, что является преимуществом метода секвенирования нового поколения (NGS).

Цель исследования: проведение сравнительного анализа микробиоты тестикул и уретры у пациентов с ОА, имеющих положительные результаты применения вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) (рожденные дети), и у пациентов с отрицательным результатом ВРТ и определить таксономическую структуру микробиома, ассоциируемого с фертильностью у пациентов с положительным результатом ВРТ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами исследован и проанализирован биологический материал 24 инфертильных мужчин с ОА, проходивших процедуры ВРТ с 2020 по 2022 год. Успехом считалось наступление беременности у 13 пациентов (группа ВРТ+), не удалось достичь успеха у 11 пациентов (группа ВРТ-).

Критериям 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, отсутствие в анамнезе двусторонних поражений яичек, их гипоплазии, а также отсутствие антибактериальной терапии в течение 3 месяцев, отсутствие варикоцеле, подтвержденного ультразвуковым исследованием органов мошонки с доплерометрией.

В свою очередь, критериями исключения явились: 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.

Биологический материал был получен из мазков уретры и путем микрохирургической экстракции сперматозоидов из паренхимы яичка в стерильных условиях в ходе стандартной процедуры извлечения сперматозоидов из яичек (microTESE).

Выделение ДНК выполнялось по стандартной методике, описанной ранее [29]. Исследование бактериального разнообразия тестикулярной ткани и уретры было выполнено с использованием высокопроизводительного NGS.

Статистическую обработку данных выполняли с помощью программы QIIME (версия 1.9.1). Таксономическое альфа-разнообразие оценивали с помощью индекса Симпсона и Шеннона. Таргетный анализ проводился с помощью относительной представленности семейства. Корреляционный анализ был проведен с использованием коэффициента Спирмена. Значение $p<0,05$ было принято как статистически достоверное.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сравнительный анализ распределения таксономического состава микробиоты уретры и яичка на уровне фил и семейств был выполнен на основе средних значений по исследуемым группам сравнения в зависимости от исхода ВРТ.

1. Общая характеристика таксономического состава микробиоты ткани яичка и уретры

Распределение на уровне фил, представленное на рисунках 1 и 2, указывает на преобладание определенных групп микроорганизмов. В частности, важными могут быть филы *Firmicutes, Proteobacteria, Actinobacteria* и *Bacteroidota*, каждая из которых имеет свои уникальные функции. Это может указывать на их ключевую роль в поддержании гомеостаза и защиты от патогенных факторов.

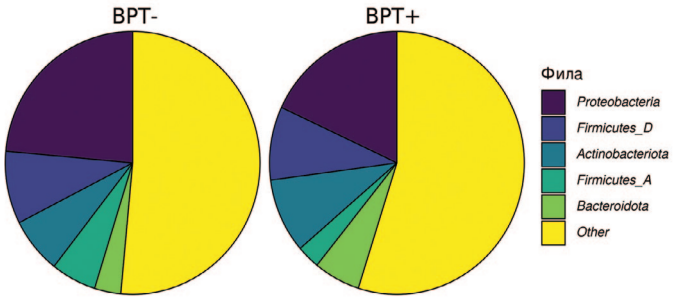


Рис. 1. Таксономический состав на уровне фил в образцах микробиоты ткани яичка в группах сравнения
Fig. 1. Taxonomic composition at the phylum level in testicular tissue microbiota samples in comparison groups

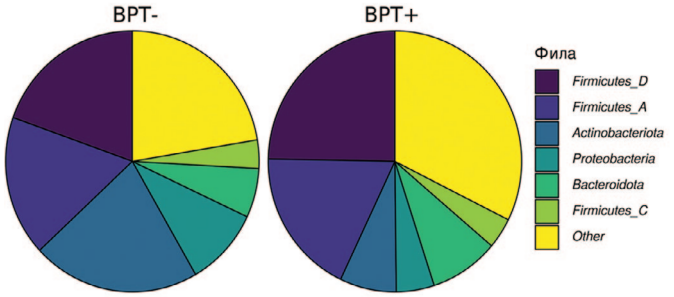


Рис. 2. Таксономический состав на уровне фил в образцах микробиоты уретры в группах сравнения
Fig. 2. Taxonomic composition at the phylum level in urethral microbiota samples in comparison groups

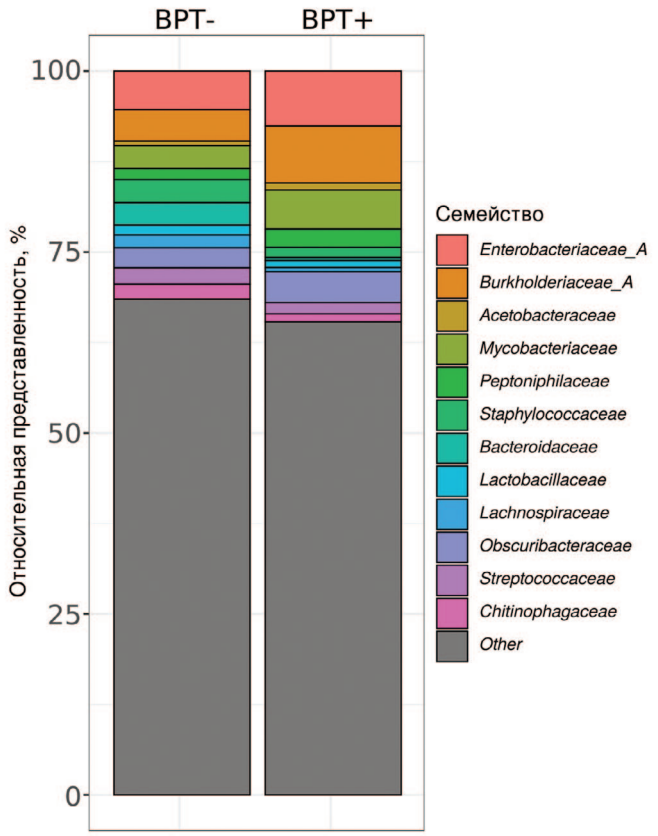


Рис. 3. Таксономический состав бактериальных семейств в образцах микробиоты ткани яичка
Fig. 3. Taxonomic composition of bacterial families in testicular tissue microbiota samples

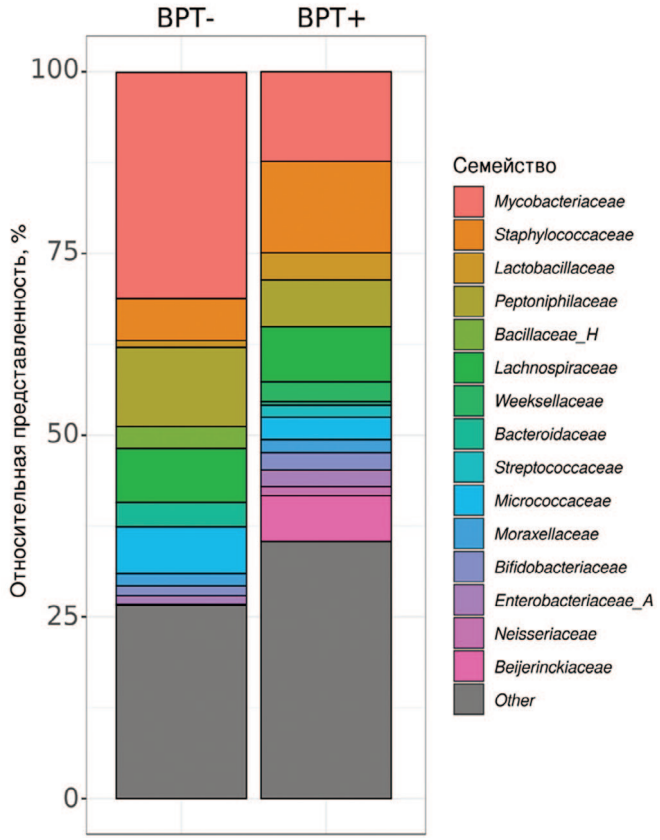


Рис. 4. Таксономический состав бактериальных семейств в образцах микробиоты ткани уретры
Fig. 4. Taxonomic composition of bacterial families in urethral tissue microbiota samples

Распределение на уровне бактериальных семейств позволило выделить такие семейства, как *Enterobacteriaceae* и *Burkholderiaceae* в ткани яичка, в то время как в уретре основными семействами являются *Mycobacteriaceae, Staphylococcaceae, Lactobacillaceae* и *Peptoniphilaceae* (рис. 3 и 4).

В результате проведенного исследования достоверных отличий между индексами альфа-разнообразия (ADV) микробиоты ткани яичка и уретры в группах ОА ВРТ- и ОА ВРТ+ обнаружено не было. В таблице 1 приведены значения индексов ADV.

2. Сравнение таксономического состава микробиоты ткани яичка и уретры на уровне семейств у пациентов с ОА в зависимости от результатов ВРТ

У пациентов с ОА с отрицательными результатами ВРТ в микробиоте ткани яичка статистически значима выше относительная представленность 19 бактериальных семейств и снижена по 2 семействам (*Mycobacteriales* и *Legionellacea*) по сравнению с пациентами с ОА с положительными результатами ВРТ (рис. 5). В микробиоте уретры статистически значимо снижена представленность 5 семейств (рис. 6).

Таблица 1. Индексы альфа-разнообразия в исследуемых образцах
Table 1. Alpha diversity indices (ADV) in the studied samples

Биологический образец Biological sample	Результат ВРТ ART result	ADV индекс ADV index	Филогенетическое разнообразие, M±SD Phylogenetic Diversity, M±SD	Индекс Симпсона, M±SD Simpson Index, M±SD	Индекс Шеннона, M±SD Shannon Index, M±SD
Ткань яичка Testicular tissue	–	126,3±106,9	40,4±60,4	0,88±0,11	4,7±1,7
	+	73,0±60,3	42,0±44,4	0,86±0,10	4,1±1,2
Уретра Urethra	–	175,0±251,1	114,9±173,8	0,81±0,14	3,9±1,9
	+	44,5±20,2	13,9±10,1	0,83±0,14	3,6±1,1

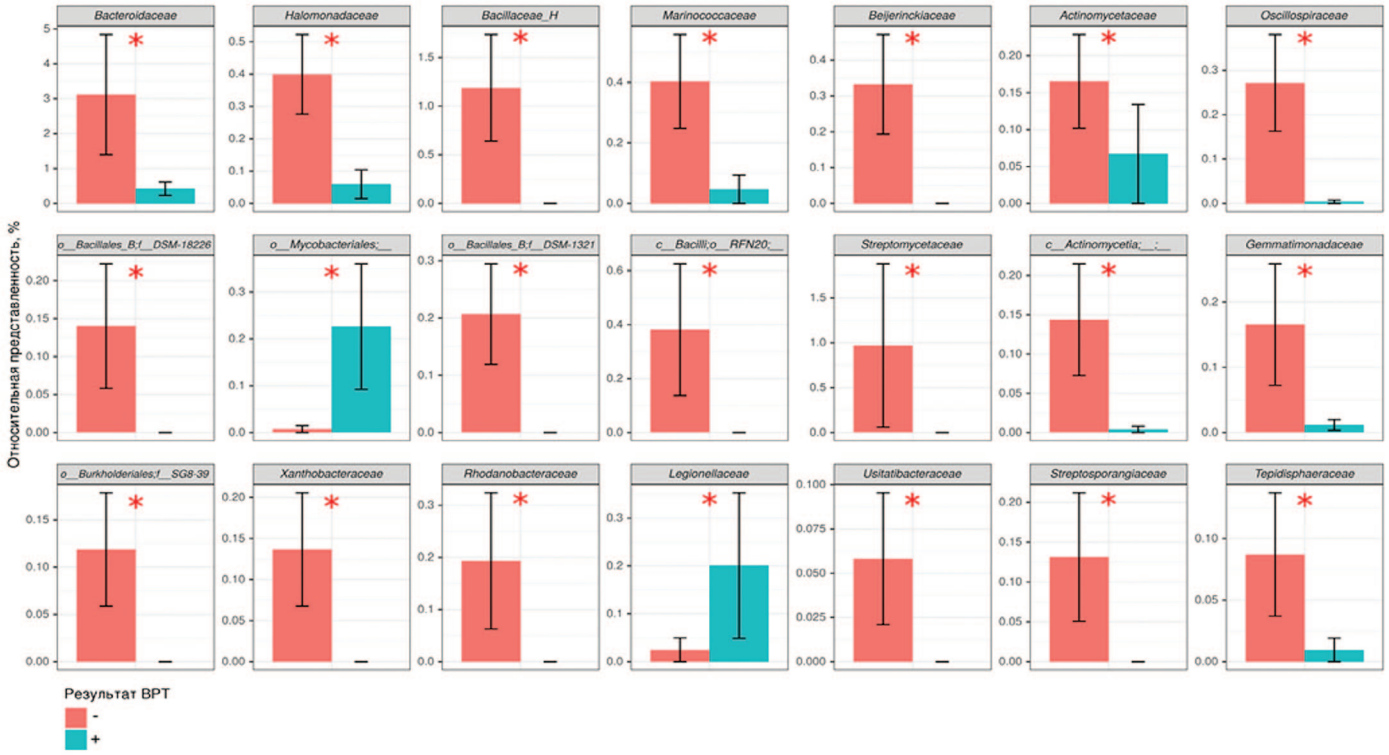


Рис. 5. Относительная представленность бактериальных семейств в микробиоте ткани яичка у пациентов с ОА в зависимости от результатов ВРТ
* статистически достоверные отличия $p<0,05$ (критерий Краскела-Уоллиса)
Fig. 5. Relative representation of bacterial families in the testicular tissue microbiota in patients with OA depending on the results of ART
* statistically significant differences $p<0.05$ (Kruskal-Wallis test)

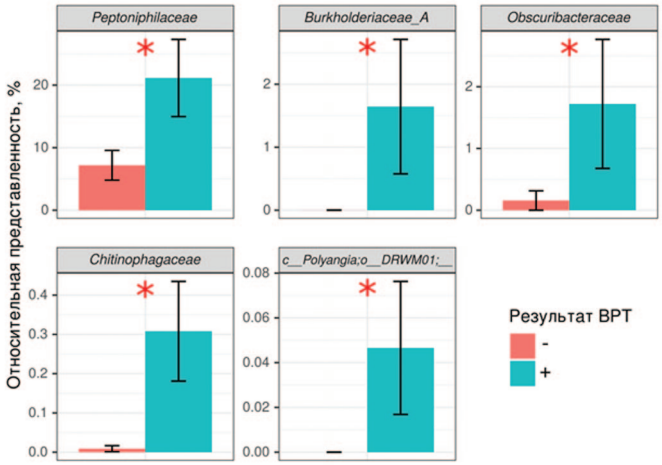


Рис. 6. Относительная представленность бактериальных семейств в микробиоте в микробиоте уретры у пациентов с ОА в зависимости от результатов ВРТ
* статистически достоверные отличия $p<0,05$ (критерий Краскела-Уоллиса)
Fig. 6. Relative representation of bacterial families in the urethral microbiota of patients with OA depending on the results of ART
* statistically significant differences $p<0.05$ (Kruskal-Wallis test)

3. Корреляционный анализ микробиоты с клиническими параметрами

Результаты корреляционного анализа микробиоты ткани яичка и уретры с клиническими параметрами у пациентов с ОА приведены на рисунке 7 и в таблицах 2 и 3.

Проведенный корреляционный анализ наглядно иллюстрирует коррелирующие взаимосвязи между уровнями ингибина B и характеристиками микробиоты тестикулярной ткани.

ОБСУЖДЕНИЕ

Микробиота уретры и яичка является важной частью микробной экосистемы человека, которая играет роль в поддержании здоровья мочеполовой системы и профилактике инфекций. Взаимосвязь между микробиотой мочеполовой системы и репродуктивным здоровьем мужчин, особенно в отношении фертильности и таких состояний, как наиболее тяжелые факторы мужского бесплодия, является новой областью исследований, направленных на понимание того, как микробные сообщества влияют на качество спермы и результаты ВРТ.

Мы сравнили результаты анализа микробиоты у пациентов с ОА с успешным и неудачным ВРТ и не выявили существенных отличий в таксономическом альфа-разнообразии на уровне фил. В контексте отрицательных результатов ВРТ, данные о представленности фил *Firmicutes_D* и *Proteobacteria* может свидетельствовать о возможных бактериальных инфекциях или дисбиотических состояниях, которые нарушают нормальное функционирование яичек и влияют на репродуктивную функцию.

Нарушение нормальной микробиоты тестикул может вызывать воспалительные процессы, которые могут сказываться на производстве и функции гормонов, таких как ингибин B и тестостерон. Исследования показывают, что изменения в таксономической структуре микробиоты тестикул могут быть связаны с низкими уровнями ингибина B и тестостерона. Например, таксономические структурные нарушения микробиоты

Таблица 2. Коэффициенты корреляции Спирмена между бактериальными семействами, выявленными в ткани яичка, и клиническими параметрами пациентов с ОА
Table 2. Spearman's correlation coefficients between bacterial families identified in testicular tissue and clinical parameters of patients with OA

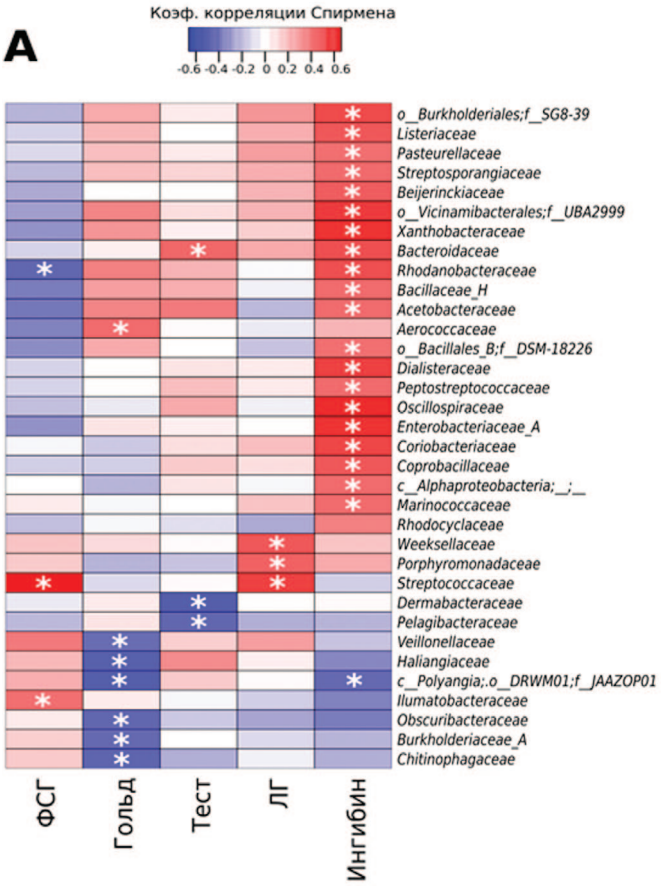
Биологический образец Biological sample	ФСГ FSH	Гольд Gold	Тест Test	ЛГ LH	Ингибин В Inhibin B
o__Burkholderiales;f__SG8-39	-0,198	0,215	0,058	0,276	0,463*
Listeriaceae	-0,107	0,178	-0,011	0,204	0,433*
Pasteurellaceae	-0,104	0,165	0,061	0,239	0,368*
Streptosporangiaceae	-0,181	0,163	0,111	0,203	0,376*
Beijerinckiaceae	-0,214	0,008	0,000	0,196	0,417*
o__Vicinamibacterales;f__UBA2999	-0,246	0,315	0,083	0,194	0,501*
Xanthobacteraceae	-0,264	0,272	0,048	0,125	0,528*
Bacteroidaceae	-0,111	0,044	0,388*	0,218	0,459*
Rhodanobacteraceae	-0,387*	0,324	0,190	-0,018	0,458*
Bacillaceae_H	-0,328	0,250	0,209	-0,042	0,371*
Acetobacteraceae	-0,342	0,310	0,332	-0,184	0,381*
Aerococcaceae	-0,306	0,379*	0,016	-0,060	0,191
o__Bacillales_B;f__DSM-18226	-0,281	0,218	-0,005	-0,154	0,366*
Dialisteraceae	-0,113	-0,006	0,075	0,053	0,489*
Peptostreptococcaceae	-0,106	-0,003	0,169	0,063	0,372*
Oscillospiraceae	-0,171	-0,060	0,211	-0,040	0,563*
Enterobacteriaceae_A	-0,271	0,068	0,042	0,010	0,537*
Coriobacteriaceae	-0,035	-0,142	0,085	0,162	0,479*
Coprobacillaceae	-0,125	-0,126	0,136	0,085	0,430*
c__Alphaproteobacteria;__;__	0,006	-0,196	0,070	-0,027	0,379*
Marinococcaceae	0,064	-0,039	-0,006	0,149	0,379*
Rhodocyclaceae	-0,165	-0,037	-0,088	-0,216	0,321
Weeksellaceae	0,157	0,098	0,020	0,424*	0,150
Porphyromonadaceae	0,145	-0,196	-0,152	0,397*	0,222
Streptococcaceae	0,659*	-0,095	0,021	0,490*	-0,119
Dermabacteraceae	-0,059	0,055	-0,441*	0,008	0,017
Pelagibacteraceae	-0,183	0,069	-0,390*	-0,199	-0,194
Veillonellaceae	0,334	-0,361*	0,123	0,245	-0,154
Haliangiaceae	0,173	-0,431*	0,298	0,048	-0,297
c__Polyangia;.o__DRWM01;f__JAAZOP01	0,209	-0,437*	0,132	0,025	-0,381*
Ilumatobacteraceae	0,368*	0,059	-0,038	-0,119	-0,308
Obscuribacteraceae	0,060	-0,390*	-0,138	-0,225	-0,328
Burkholderiaceae_A	0,121	-0,379*	-0,002	-0,099	-0,188
Chitinophagaceae	0,138	-0,408*	-0,203	-0,051	-0,204

Примечание: ФСГ - фолликулостимулирующий гормон, Гольд - Морфологическая шкала Гольдштейна, Тест. – тестостерон, ЛГ - лютеинизирующий гормон. * - статистически достоверные корреляции, $p < 0,05$
Note: FSH – follicle-stimulating hormone, Gold – Goldstein's morphological scale,, Test – testosterone, LH – luteinizing hormone. * – statistically significant correlations, $p < 0.05$

Таблица 3. Коэффициенты корреляции Спирмена между бактериальными семействами, выявленными в уретре и клиническими параметрами пациентов с ОА
Table 4. Spearman's correlation coefficients between bacterial families identified in the urethra and clinical parameters of patients with OA

Семейство Family	ФСГ FSH	Гольд Gold	Тест Test	ЛГ LH	Ингибин В Inhibin B
Индекс Симпсона	-0.221	0.057	0.160	-0.386*	-0.135
Acetobacteraceae	0.007	0.373*	0.312	0.102	0.047
Bifidobacteriaceae	-0.310	0.177	0.064	-0.190	0.404*
Veillonellaceae	-0.220	-0.099	0.075	-0.290	0.400*
Mycoplasmoidaceae	-0.084	0.007	-0.375*	-0.242	0.175
Actinomycetaceae	0.149	-0.397*	-0.086	-0.021	-0.186
Leptotrichiaceae	-0.066	-0.495*	-0.030	-0.219	-0.025
Staphylococcaceae	0.171	-0.012	-0.164	-0.031	-0.433*
Chitinophagaceae	0.435*	-0.079	-0.158	-0.029	-0.215
Burkholderiaceae_A	0.419*	-0.150	-0.260	0.012	-0.241
Obscuribacteraceae	0.406*	-0.165	-0.191	-0.153	-0.303
Neisseriaceae					

* статистически достоверные корреляции, $p < 0,05$
* statistically significant correlations, $p < 0.05$



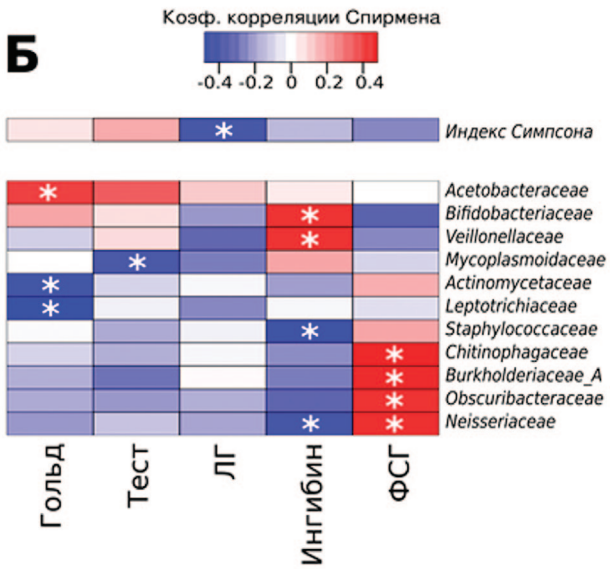


Рис. 7. Корреляционный анализ микробиоты ткани яичка (А) и уретры (Б) с клиническими параметрами для пациентов с ОА.
* - статистически достоверные корреляции, красная ячейка – корреляция положительная, синяя – отрицательная. Чем интенсивнее цвет, тем сильнее корреляция. /Тест-показатели общ. тестостерона /Гольд- Морфологическая шкала Гольдштейна/ ЛГ - лютеинизирующий гормон / ФСГ - фолликулостимулирующий гормон/
Fig. 7. Correlation analysis of testicular (A) and urethral (B) tissue microbiota with clinical parameters in patients with OA.
* - statistically significant correlations; red cells indicate positive correlations; blue cells indicate negative correlations. The more intense the color, the stronger the correlation/Test indicators of total testosterone /Goldstein Morphological Scale/ LH - luteinizing hormone / FSH - follicle-stimulating hormone/

кишечника, за счет определенных биотопов могут угнетать функцию клеток Лейдига, которые отвечают за продуцирование тестостерона [30]. Сравнив наши данные о микробиоте и уровнях ингибина, мы установили, что при увеличении разнообразия микробной флоры тестикулярной ткани наблюдается соответствующий рост уровня ингибина. Это подтверждено данными корреляционного анализа нашего исследования:

Beijerinckiaceae r=0,501, $p<0,05$; o__Vicinamibacterales; f__UBA2999 r=0,528, $p<0,05$; Oscillospiraceae r=0,563, $p<0,05$, Enterobacteriaceae_A r=0,537, $p<0,05$. Результаты проведенного корреляционного анализа показали положительную коррелятивную связь между уровнями ингибина и характеристиками микробиоты тестикулярной ткани. Это указывает на потенциальное взаимовлияние между нормальной микробиотой и эндокринной функцией тестикул К примеру, определенные виды бактерий могут способствовать производству метаболитов, которые влияют на клеточную сигнализацию и гормональную активность.

Микробное разнообразие уретры, как правило, менее сложное по сравнению с другими слизистыми оболочками, такими как кишечник или вагинальная микрофлора. Однако оно может значительно различаться у разных людей и определенные бактериальные сообщества могут коррелировать со здоровьем мочевыводящих путей и репродуктивной системы [31]. Как и другая микробиота в организме, микробиота уретры важна как для поддержания здорового состояния, так и в развитии различных патологических процессов. У здоровых мужчин наиболее распространенными бактериями являются *Lactobacillaceae Corynebacteriaceae* и *Staphylococcaceae* [32]. При исследовании микробиоты уретры в группах сравнения нами было выявлено что у пациентов с неудачными результатами ВРТ значительно увеличена относительная представительность фил *Actinobacteriacea* и *Proteobacteria* по сравнению с пациентами ВРТ+. Также в группе ВРТ- достоверно реже встречаются семейства *Burkholderiaceae_A, c_Polyangia; o_DRWM01;_* и *Chitinophagaceae*. Микробиота уретры может играть защитную роль, предотвращая колонизацию и инфицирование патогенными бактериями. Эта колонизационная резистентность аналогична тому, что наблюдается в других микробных средах организма. Микробиом, вероятно, взаимодействует с местной иммунной системой, помогает поддерживать сбалансированный иммунный ответ и предотвращает хроническое воспаление или инфекцию [33].

Таким образом можно предположить, что дисбаланс в уретральной и репродуктивной микробиоте может быть связан с такими состояниями как азооспермия различного генеза и другими проблемами с фертильностью у мужчин, а также изменение относительной представленности отдельных семейств может потенциально влиять на результаты проведения ВРТ.

ВЫВОДЫ

Результаты демонстрируют, что нарушения, ассоциированные с обструктивной азооспермией, приводят к изменению относительной представленности отдельных семейств микробиоты уретры и яичек, что оказывает существенное влияние на исходы ВРТ. Практическая значимость этих данных заключается в том, что коррекция микробиоты может стать потенциальной стратегией для улучшения результатов ВРТ у пациентов с обструктивной азооспермией, открывая новые подходы к лечению и повышению фертильности, и позволяет предположить теорию о «микробиоте фертильности тестикул» и впоследствии может играть немаловажную роль при прегравидарной криоконсевации в программах ВРТ и создании новых тестов для отбора сперматозоидов в программах искусственного оплодотворения.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Agarwal A, Mulgund A, Hamada A, Chyatte MR. A unique view on male infertility around the globe. *Reprod Biol Endocrinol* 2015;13(1):37. https://doi.org/10.1186/s12958-015-0032-1
2. Сухих Г.Т., Божедомов В.А. Иммунное мужское бесплодие. Учебное пособие. М., 2009, 240 с. [Sukhikh G.T., Bozhedomov V.A. Immune male infertility. Textbook M., 2009. 240 p. (In Russian)].
3. Chen H, Luo T, Chen T, Wang G. Seminal bacterial composition in patients with obstructive and non-obstructive azoospermia. *Exp Ther Med* 2018;15(3):2884-2890. https://doi.org/10.3892/etm.2018.5778
4. Cocuzza M, Alvarenga C, Pagani R. The epidemiology and etiology of azoospermia. *Clinics (Sao Paulo)* 2013;68 Suppl 1(Suppl 1):15-26. https://doi.org/10.6061/clinics/2013(sup01)03
5. Malik S. Genital tuberculosis and implantation in assisted reproduction. *Reviews in Gynaecological Practice* 2003;3 (3):160-4. https://doi.org/10.1016/S1471-7697(03)00059-5
6. Бушмакин А.Д., Луговой К.А., Помешкин Е.В., Тришкин А.Г., Курганова Л.В., Зуева Г.П., и др. Ведение пациента с секреторной формой азооспермии. *Медицина в Кузбассе* 2022;21(3):115-21. [Bushmakin A.D., Lugovoi K.A., Pomeshkin E.V., Trishkin A.G., Kurganova L.V.,Zueva G.P., et al. Management of a patient with a secretory form of azoospermia. *Meditsina v Kuzbasse = Medicine in Kuzbass* 2022;21(3):115-21. (In Russian)]. https://doi.org/10.24412/2687-0053-2022-3-115-121
7. Jungwirth A, Diemer T, Kopa Z, Krausz C., Minhas S., Tournayel H. EAU guidelines on male infertility. European Association of Urology, 2019. 48 p. UIRL: https://uroweb.org/wpcontent/uploads/EAU-Guidelines-on-Male-Infertility-2019.pdf.
8. Moretti E, Figura N, Campagna MS, acoponi F, Gonnelli S, Collodel G. Infectious burden and semen parameters. *Urology* 2017;100:90-6. https://doi.org/10.1016/j.urology.2016.10.032
9. Zhang L, Zhang KP, Liang CZ. Ureaplasma urealyticum in male genital tract: a hidden risk factor for male infertility. *Andrologia* 2016;48(10):1077-9. https://doi.org/10.1111/and.12577
10. Ahmadi MH, Mirsalehian A, Sadighi Gilani MA, Gilani MA, Bahador A, Talebi M. Asymptomatic infection with Mycoplasma hominis negatively affects semen parameters and leads to male infertility as confirmed by improved semen parameters after antibiotic treatment. *Urology* 2017;100:97-102. https://doi.org/10.1016/j.urology.2016.11.018
11. Young VB. The role of the microbiome in human health and disease: an introduction for clinicians. *BMJ* 2017;356:j831. https://doi.org/10.1136/bmj.j831
12. Fraczek M, Kurpisz M. Mechanisms of the harmful effects of bacterial semen infection on ejaculated human spermatozoa: potential inflammatory markers in semen. *Folia Histochem Cytobiol* 2015;53(3):201-17. https://doi.org/10.5603/fhc.a2015.0019
13. Lundy SD, Sangwan N, Parekh NV, Selvam MKP, Gupta S, McCaffrey P, Bessoff K, Vala A, Agarwal A, Sabanegh ES, Vij SC, Eng C. Functional and Taxonomic Dysbiosis of the Gut, Urine, and Semen Microbiomes in Male Infertility. *Eur Urol* 2021;79(6):826-836. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2021.01.014
14. Isaiah IN, Nche BT, Nwagu IG, Nnanna II. Current studies on bacteriospermia the leading cause of male infertility: a protégé and potential threat towards means extinction. *N Am J Med Sci* 2011;3(12):562-4. https://doi.org/10.4297/najms.2011.3559
15. Lu Y, Bhushan S, Tchatalbachev S, Marconi M, Bergmann M, Weidner W, et al. Necrosis is the dominant cell death pathway in uropathogenic Escherichia coli elicited epididymo-orchitis and is responsible for damage of rat testis. *PLoS One* 2013;8(1):e52919. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052919
16. Havrylyuk A, Chopyak V, Boyko Y, Kril I, Kurpisz M. Cytokines in the blood and semen of infertile patients. Cent Eur J Immunol 2015;40(3):337-44. https://doi.org/10.5114/ceji.2015.54596.
17. Schulz M, Sánchez R, Soto L, Risopatrón J, Villegas J. Effect of Escherichia coli and its soluble factors on mitochondrial membrane potential, phosphatidylserine translocation, viability, and motility of human spermatozoa. *Fertil Steril* 2010;94(2):619-23. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.01.140.
18. 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
19. Kaur S, Prabha V. Receptor mediated amelioration of the detrimental effects of sperm aggluti-

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

nating factor on sperm parameters. *Andrology* 2013;1(4):624-31. https://doi.org/10.1111/j.2047-2927.2013.00088.x
20. 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
21. 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
22. Ma XP, Gao XQ. 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. https://doi.org/10.1111/aji.12600
23. Campbell K, Suarez Arbelaez MC, Ghomeshi A, Ibrahim E, Roy S, Singh P, et al. Next-generation sequencing analysis of semen microbiome taxonomy in men with nonobstructive azoospermia vs. fertile controls: a pilot study. *F S Sci* 2023;4(3):257–264. https://doi.org/10.1016/j.xfss.2023.06.001
24. Alfano M, Ferrarese R, Locatelli I, Ventimiglia E, Ippolito S, Gallina P, et all. Testicular microbiome in azoospermic men-first evidence of the impact of an altered microenvironment. *Hum Reprod* 2018;33(7):1212-1217. https://doi.org/10.1093/humrep/dey116
25. Абдрахманов А.Р., Абдрахманов Р.М. Влияние условно-патогенной микрофлоры на репродуктивное здоровье. *Современные проблемы науки и образования* 2018;2:8 [Abdrakhmanov AR, Abdrakhmanov RM. The impact of conditionally pathogenic microflora on reproductive health. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education* 2018;(2):8 (in Russian)].
26. Яковлев А.В., Неймарк А.И., Таранина Т.С., и др. Клиника и патоморфология полипов уретры у женщин при уреаплазменной инфекции. *Уральский медицинский журнал* 2012;1(93):90-3 [Yakovlev AV, Neimark AI, Taranina TS, et al. Clinical and pathomorphology of urethral polyps in women with ureaplasma infection. *Ural'skii meditsinskii zhurnal = Ural Medical Journal* 2012;1(93):90-3 (in Russian)].
27. Евстигнеева Н.П., Кузнецова Ю.Н., Рахматулина М.Р., Михайлова О.О. Новые медицинские технологии ведения пациентов с урогенитальной микоплазменной инфекцией. *Врач* 2011;(6):7-12 [Evstigneeva NP, Kuznetsova YuN, Rakhmatulina MR, Mikhailova OO. New medical technologies for the management of patients with urogenital mycoplasma infection. *Vrach = Vrach (The Doctor)* 2011;(6):7-12 (in Russian)].
28. Герасимова Н.А., Евстигнеева Н.П., Зильберберг Н.В., Гущин А.Е. К вопросу о дискордантных результатах выявления Mycoplasma hominis и Ureaplasma spp. молекулярно-биологическим и культуральным методами у пациентов с урогенитальными заболеваниями. *Фундаментальные исследования* 2014;(10-3):487-92 [Gerasimova NA, Evstigneeva NP, Zilberberg NV, Guschin AE. To the question of discordant results detection of Mycoplasma hominis and Ureaplasma spp.molecular-biological and cultural methods of patients with urogenital diseases. *Fundament'al'nyye Issledovaniyaya = Fundamental Research* 2014;10-3:487-92 (in Russian)].
29. Патент на изобретение №2810467. Дата регистрации: 27.12.2023. 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. URL: https://www.fips.ru/iiss/document.xhtml?faces
30. Santacroce L, Imbimbo C, Ballini A, Crocetto F, Scacco S, Cantore S, et al. Testicular immunity and its connection with the microbiota. Physiological and clinical implications in the light of personalized medicine. *J Pers Med* 2022;12(8):1335. https://doi.org/10.3390/jpm12081335
31. ZuberA, PericA, PluchinoN, BaudD, StojanovM. Human male genital tract microbiota. *Int J Mol Sci* 2023;24(8):6939. https://doi.org/10.3390/ijms24086939
32. Kim DS, Lee JW. Urinary tract infection and microbiome. *Diagnostics (Basel)* 2023;13(11):1921. https://doi.org/10.3390/diagnostics13111921
33. Zou H, Xu N, Xu H, Xing X, Chen Y, Wu S. Inflammatory cytokines may mediate the causal relationship between gut microbiota and male infertility: a bidirectional, mediating, multivariate Mendelian randomization study. *Front Endocrinol* 2024;15:1368334. https://doi.org/10.3389/fendo.2024.1368334

Сведения об авторах:

Фаниев М.В. – к.м.н., доцент кафедры эндоскопической урологии Российского университета дружбы народов; Краснодар, Россия; РИНЦ Author ID 1056145, https://orcid.org/0000-0002-7323-3126

Кадыров З.А. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой эндоскопической урологии Российского университета дружбы народов; Москва, Россия; РИНЦ Author ID 721133, https://orcid.org/0000-0002-1108-8138

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 детской городской клинической больницы г. Краснодара» Минздрава Краснодарского края, 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 Казанского (Приволжского) федерального университета, Казань, Россия РИНЦ 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 Казанского (Приволжского) федерального университета, Казань, Россия; РИНЦ 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 Казанского (Приволжского) федерального университета, Казань, Россия; Author ID 56310630200, https://orcid.org/0000-0001-5314-7012

Information about authors:

Faniev M.V. – PhD, Associate Professor of the department of endoscopic urology of faculty of continuous medical education of medical institute of RUDN University; Moscow, Russia; RSCI Author ID 1056145, https://orcid.org/0000-0002-7323-3126

Kadyrov Z.A. – Dr. Sci., professor, head of dept. of endoscopic urology, RUDN University; Moscow, Russia; RSCI Author ID 721133, https://orcid.org/0000-0002-1108-8138

Prokopyev Ya.V. – PhD, Associate Professor of the Department of Urology and Nephrology, Kazan State Medical Academy – branch of the Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation; Kazan, Russia; RSCI Author ID 1066425, https://orcid.org/0000-0002-4345-127X

Fedorenko T.V. – PhD, biologist, laboratory of cellular technologies, Center for Reproductive and Cellular Medicine, Diagnostic Center, Children's City Clinical Hospital of Krasnodar, Ministry of Health of Krasnodar region, Krasnodar, Russia; RSCI Author ID 706354, https://orcid.org/0009-0008-9780-4158

Markelova M.I. – Researcher, Scientific Research Laboratory «Multimix Technologies of Living Systems», Kazan Federal University, Institute of Fundamental Medicine and Biology; Kazan, Russia; RSCI Author ID 976359, https://orcid.org/0000-0001-7445-2091

Khusnutdinova D.R. – Chief 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., PhD, Senior Researcher, OpenLab «Omics Technologies», Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia; Author ID 56310630200, https://orcid.org/0000-0001-5314-7012

Вклад авторов:
Фаниев М.В. – разработка концепции исследования сбор и обработка материала, редактирование текста, 30%
Кадыров З.А. – разработка концепции исследования, утверждение окончательного варианта статьи, 20%
Прокопьев Я.В. – обработка материала, статистический анализ данных, 15%
Федоренко Т.В. – обработка материала статистический анализ данных, 15%
Маркелова М.И – статистический анализ полученных данных, 10%
Хуснутдинова Д.Р. – статистический анализ полученных данных, обработка материалов, 5%
Григорьева Т.В. – разработка концепции исследования, 5%

Authors contributions:
Faniev M.V. – study concept development, data collection and processing, and text editing, 30%
Kadyrov Z.A. – study concept development and approval of the final version of the article, 20%
Prokopyev Ya.V. – data processing and statistical analysis, 15%
Fedorenko T.V. – data processing and statistical analysis, 15%
Markelova M.I. – statistical analysis of the obtained data, 10%
Khusnutdinova D.R. – statistical analysis of the obtained data and data processing, 5%
Grigorieva T.V. – study concept development, 5%

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: Статья подготовлена без финансовой поддержки.

Статья поступила: 14.12.2024

Результаты рецензирования: 17.04.2025

Исправления получены: 20.05.2025

Принята к публикации: 27.07.2025

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

Financing. The article was made without financial support.

Received: 14.12.2024

Peer review: 17.04.2025

Corrections received: 20.05.2025

Accepted for publication: 27.07.2025