

*На правах рукописи*

Фаниев Михаил Владимирович

**ТЕСТИКУЛЯРНЫЙ МИКРОБИОМ КАК ФАКТОР ПРОГНОЗА  
МУЖСКОГО БЕСПЛОДИЯ**

3.1.13. Урология и андрология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации

на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Москва – 2026

Работа выполнена на кафедре эндоскопической урологии и ультразвуковой диагностики федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы»

**Научный консультант:**

доктор медицинских наук, профессор

**Кадыров Зиёратшо Абдуллоевич**

**Официальные оппоненты:**

**Боровец Сергей Юрьевич** - доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры урологии с курсом урологии с клиникой ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И.П. Павлова» Минздрава России.

**Гамидов Сафаил Исраил оглы** - доктор медицинских наук, доцент, заведующий отделением андрологии и урологии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России.

**Гвасалия Бадри Роинович** - доктор медицинских наук, профессор кафедры урологии ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России.

**Ведущая организация:** федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (адрес: 150000, г. Ярославль, ул. Революционная, д.5).

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2026 года в \_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета ПДС 0300.026 при ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (адрес: 117198, г. Москва ул. Миклухо-Маклая, д.6).

С диссертацией можно ознакомиться в читальном зале УНИБЦ (Научная библиотека) ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (адрес: 117198, г. Москва ул. Миклухо-Маклая, д.6) и на сайте <https://www.rudn.ru/science/dissovet/dissertacionnye-sovety/pds-0300026>

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2026 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

доктор медицинских наук, доцент

**Елифанова Майя Владимировна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Коррекция нарушений мужского репродуктивного здоровья является важнейшей, нерешенной до настоящего времени, проблемой здравоохранения (Бородачева И.В. и соавт., 2021; Панченко И.А. и соавт., 2022; Cargnelutti F. et al., 2022; Sharma A. et al., 2021). Бесплодие определяется как неспособность пары в детородном возрасте зачать ребенка после одного года регулярной половой жизни без применения контрацепции. Эта проблема затрагивает около 10–20% пар в экономически развитых странах, при этом более чем в трети случаев точную причину бесплодия установить не удаётся. Реальная диагностика мужского бесплодия достаточно сложна, неточность оценок при этом обусловлена неоднородностью используемых клинических подходов (Вуйцик П.А., 2020; Сапожкова Ж.Ю. и соавт., 2022; Qi L. et al., 2021). Так, в большинстве случаев диагностика ограничивается анализом спермы, а лечение заключается в использовании вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) (Brant A., Schlegel P.N., 2023; Ferlin A. et al., 2022). В связи с этим ряд авторов в настоящее время считают, что определение «идиопатического» бесплодия следует ограничивать и использовать только в случаях, когда проведена тщательная диагностика (Саидов А.С. и соавт., 2023; Majzoub A. et al., 2022).

Помимо таких заболеваний, как варикоцеле и других четко охарактеризованных врожденных или приобретенных причин бесплодия, на мужскую фертильность могут существенно влиять факторы образа жизни, включая пищевые привычки, курение и употребление алкоголя (Мадыкин Ю.Ю. и соавт., 2019; Maciejewski R. et al., 2022; Petre G.C. et al., 2023), воздействие экологических факторов, в частности, эндокринных дизрапторов, связанное с производственной деятельностью человека (Фесенко М.А. и соавт., 2023; Чигринец С.В., Брюхин Г.В., 2018; Cargnelutti F. et al., 2022; 2023), а также метаболические нарушения (Venigalla G., 2023).

Актуальным направлением представляется повышение эффективности скрининга мужской инфертильности, в том числе с использованием современных лабораторных методов на основе определения различных биохимических, иммунологических и молекулярных маркеров (Andrade D.L. et al., 2021; Pozzi E. et al., 2024; Rastgar Rezaei Y. et al., 2021). На сегодняшний день в урологической практике практически отсутствуют надежные методы точной диагностики мужского бесплодия, основанные на использовании последних достижений иммунологии, молекулярной биологии и генетики. В частности, внимание специалистов в этом вопросе привлекают характеристики микробиологического пейзажа эякулята.

**Степень разработанности темы исследования.** Результаты ряда исследований продемонстрировали важнейшую роль микробиома человека в отношении развития широкого спектра заболеваний - от ожирения и метаболического синдрома до энтероколита, болезни Паркинсона и даже таких состояний, как депрессия (Бородачева

И.В. и соавт., 2021; Martinot E. et al., 2022; Tang L. et al., 2024; Wen et al., 2022). Наиболее изученной в организме человека представляется микробиота кишечника, именно ей отводится важнейшая роль в патогенезе ряда заболеваний, сопровождающихся воспалительным процессом и реакциями иммунной системы (Goyal S.P., Saravanan C., 2023; Liu J.B. et al., 2022). В то же время роль микроорганизмов мочевыводящих путей изучена недостаточно, состав и свойства микробиоты урогенитального тракта остаются предметом дискуссий, активно проводятся исследования по изучению ее многогранной роли (Паначева Е.А. и соавт., 2021; Mørup N. et al., 2023; Wei M. et al., 2024).

Общепризнанно, что микроорганизмы, присутствующие в мочевыводящих путях, как и в других областях организма, влияют на анатомические и физиологические характеристики тканей, которые они колонизируют, участвуют в регуляции ряда функций, в том числе репродуктивной (Hao Y. et al., 2022; Liu J.L. et al., 2024; Yan X. et al., 2022). Это, в свою очередь, свидетельствует о важнейшей роли микробиоты мочевыводящих путей и репродуктивных органов как в патогенезе нарушений фертильности, так и в механизмах ее сохранения и восстановления. Микробный дисбаланс, выявляемый при широком спектре заболеваний урологического тракта, нередко является ключевым этиологическим фактором их развития (Lv S. et al., 2024; Pan Y. et al., 2024; Rowe M. et al., 2020). Выявление подобных факторов и разработку подходов к воздействию на них следует рассматривать в качестве перспективных направлений исследований, которые будут способствовать разработке новых методов профилактики и лечения заболеваний репродуктивной системы и мочевыводящих путей и в результате - коррекции нарушений фертильности. Однако, до настоящего времени не получено подтверждений о наличии количественно охарактеризованных ассоциаций характеристик микробиоты с показателями мужского репродуктивного здоровья.

Вышеизложенное подтверждает актуальность исследований вышеуказанных аспектов, в том числе с применением технологий нового поколения, таких как NGS (Next Generation Sequencing) – секвенирование нового поколения. Результаты исследований последних лет позволили выдвинуть гипотезу о том, что ткань яичка не является микробиологически стерильной, при этом нарушение фертильности может быть ассоциировано с характеристиками дисбиоза с преобладанием определенного микробиома.

**Цель исследования:** улучшение результатов диагностики и лечения пациентов с мужским фактором бесплодия на основании углубленной оценки патогенного тестикулярного микробиома.

**Задачи исследования:**

1. Изучить иммуноморфологические характеристики ткани яичка у инфертильных мужчин с обструктивной и необструктивной азооспермией.
2. Разработать метод выделения бактериальной ДНК из биоптата яичка с целью определения тестикулярного микробиома у инфертильных мужчин.

3. Оценить нарушения микробиома в тестикулярной ткани у пациентов с нарушениями сперматогенеза на основе исследования бактериальной ДНК методом высокопроизводительного секвенирования NGS для определения таксономического состава на основе семейств и видов микроорганизмов и идентифицировать наличие таксономического разнообразия тестикулярного микробиома у пациентов с обструктивной и необструктивной азооспермией.

4. Провести корреляционный анализ ассоциаций значимых характеристик микробиоты уретры и тестикул с показателями гормонального статуса и нарушениями сперматогенеза у пациентов с различными видами азооспермии и сопутствующим варикоцеле.

5. Выявить взаимосвязи значимых характеристик микробиоты уретры и тестикул с показателями нарушений сперматогенеза у пациентов с различными видами азооспермии и сопутствующим варикоцеле.

6. Изучить взаимосвязи характеристик таксономической структуры тестикулярной и уретральной микробиоты у пациентов с различными видами азооспермии с результатами применения программ вспомогательных репродуктивных технологий.

7. Разработать и использовать модель прогноза эффективности программ ВРТ на основе характеристик микробиоты яичка и уретры у инфертильных пациентов с обструктивной и необструктивной азооспермией.

8. Предложить патогенетически обоснованную концепцию ведения пациентов с мужским фактором бесплодия с использованием методов оценки тестикулярного микробиома и прогноза результатов применения вспомогательных репродуктивных технологий при нарушениях сперматогенеза различной этиологии.

**Научная новизна исследования.** Впервые в России установлена ключевая роль тучных клеток с активной триптазой (СРА3+) в патогенезе азооспермии. Выявлена положительная корреляция между их количеством в интерстиции яичка и тяжестью нарушений сперматогенеза, что определяет новые мишени для терапевтического воздействия. (Патент РФ №2814377 от 28.02.2024 «Способ определения необходимости выполнения вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) с донацией сперматозоидов при идиопатическом мужском бесплодии с необструктивной азооспермией»; Патент РФ №2830702 от 26.11.2024 «Способ определения необходимости выполнения вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) с донацией сперматозоидов при обструктивном мужском бесплодии»).

Разработан новый диагностический инструмент – метод малоинвазивного выделения бактериальной ДНК из биоптата ткани предстательной железы и тестикул (Патент РФ №2810467 от 28.10.2023 «Способ малоинвазивного выделения бактериальной ДНК из биоптата тестикулярной ткани у инфертильных мужчин»; Патент РФ №2830876 от 26.11.2024 «Способ малоинвазивного выделения бактериальной ДНК из биоптата ткани предстательной железы»). Внедрение этого метода в практику впервые позволило проводить прямое исследование тестикулярного микробиома.

Получены новые данные, свидетельствующие о не стерильности тестикулярного

микробиома и статистически значимых различиях его состава при разных формах азооспермии: необструктивная (НОА) и обструктивная (ОА) азооспермия. Эти данные показывают важную роль микробиоты и воспалительного процесса в развитии бесплодия, что открывает новую страницу в понимании еще одного механизма развития мужского бесплодия и позволяет внедрить в клиническую практику исследование микробиома как новой диагностической опции.

Впервые выявлен комплекс значимых связей между гормональным фоном мужчины и составом тестикулярной микробиоты. Обнаружены специфические бактериальные таксоны, ассоциированные с маркерами функции яичек (фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), лютеинизирующий гормон (ЛГ), ингибин В, тестостерон (Т)), что указывает на потенциальное влияние микробиома на эндокринную регуляцию сперматогенеза.

Установлены конкретные бактериальные сообщества, ассоциированные с тяжестью нарушения сперматогенеза. Это позволяет рассматривать определенные таксоны уретрального и тестикулярного микробиома в качестве новых биомаркеров для диагностики.

Обнаружены специфические особенности тестикулярного микробиома, которые являются статистически значимыми предикторами успеха программ ВРТ. Это дает принципиально новую информацию для прогнозирования шансов наступления беременности в программах ВРТ.

Впервые в России разработаны и валидированы высокоточные диагностические модели на основе анализа микробиома для прогноза исхода ВРТ. Модели имеют высокий потенциал для внедрения в клиническую практику для персонализированного прогнозирования.

Предложена инновационная комплексная патогенетическая концепция диагностики мужского бесплодия, интегрирующая данные о тестикулярном микробиоме, иммуноморфологии и современных методах молекулярной генетики. Данная концепция базируется на установлении факта взаимосвязи микробиоты и бесплодия и направлена на переход к персонализированной медицине в репродуктологии.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Результаты работы позволяют расширить представления о роли иммунологических показателей (содержание СРАЗ-позитивных тучных клеток яичка) и характеристик микробиоты в нарушениях сперматогенеза у пациентов с различными видами азооспермии.

Разработанный и апробированный в работе метод малоинвазивного выделения бактериальной ДНК из биоптата ткани яичка позволяет усовершенствовать подходы к характеристике микробиоты тестикулярной ткани и тем самым усовершенствовать подходы к оценке мужского репродуктивного потенциала. Предложенный комплекс мероприятий позволил обосновать алгоритм выбора тактики преодоления мужской инфертильности, в том числе путем эффективного применения ВРТ.

Установленные различия спектра микробиоты тестикулярной ткани пациентов с обструктивной и необструктивной азооспермией представляют собой потенциал для разработки микробиологических биомаркеров и персонализированных терапевтических подходов.

Продемонстрировано, что применение разработанных прогностических моделей позволяет повысить эффективность программ ВРТ, тем самым принять своевременные меры к реализации повторного протокола ВРТ с использованием аутоспермиев или донацией половых клеток, что в свою очередь способствует уменьшению длительности программы и снижению субъективности морфологической оценки сперматогенеза.

По результатам работы разработан набор праймеров для полимеразной цепной реакции (ПЦР) при оценке микробиома уретры и ткани яичка, применение которого позволит существенно повысить точность диагностики нарушений сперматогенеза и персонализации ведения мужчин с различными видами азооспермии.

Выявленные нарушения относительной представленности отдельных семейств микробиоты уретры и яичек у пациентов с ОА позволяют выдвинуть гипотезу о «микробиоте фертильности тестикул», учет которой может быть использован при прегравидарной криоконсервации в программах ВРТ и разработке диагностических тестов для отбора сперматозоидов в программах искусственного оплодотворения.

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Иммунологический фактор играет ключевую роль в патогенезе нарушений сперматогенеза при азооспермии (повышение содержания тучных клеток СРА3+ в тестикулярной ткани). Обнаружена значимая положительная корреляция между их количеством в ткани яичка и выраженностью нарушений сперматогенеза, что открывает новые направления для терапии.

2. Разработанный в клинической практике новый диагностический инструмент – метод малоинвазивного выделения бактериальной ДНК из тестикулярной ткани – позволяет проводить прямое исследование тестикулярного микробиома. С помощью данной методики доказано, что тестикулярный микробиом не стерилен, его спектр статистически значимо различается при разных формах азооспермии (необструктивной и обструктивной).

3. Статистически значимые корреляционные связи между уровнем гормонов яичек (ФСГ, ЛГ, ингибин В, тестостерон) и специфическими таксонами тестикулярной микробиоты, выявляемые у инфертильных пациентов, свидетельствуют о потенциальном модулирующем влиянии микробиома яичка на эндокринную регуляцию сперматогенеза.

4. Ассоциированность идентифицированных бактериальных сообществ с тяжестью нарушения сперматогенеза позволяет рассматривать определенные таксоны уретрального и тестикулярного микробиома в качестве новых диагностических биомаркеров у инфертильных пациентов с обструктивной и необструктивной азооспермией.

5. Специфические особенности тестикулярного микробиома являются статистически значимыми предикторами положительного исхода программ ВРТ. Разработанные и валидированные высокоточные диагностические модели позволяют прогнозировать эффективность программ ВРТ на основе анализа микробиома с точностью >91%.

6. Предложенная комплексная патогенетическая концепция диагностики мужского бесплодия интегрирует полученные данные о тестикулярном микробиоме, иммуноморфологических изменениях в тестикулярной ткани и возможностях применения молекулярно-генетических методов. Внедрение этой концепции в клиническую практику подчеркивает важную роль микробиоты и воспалительного процесса в развитии бесплодия и дает возможность расширить применение принципов персонализированной медицины в репродуктологии.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Достоверность результатов исследования обеспечивается адекватным объемом клинического материала, репрезентативностью комплексного, многоуровневого обследования пациентов, адекватностью полученных результатов поставленной цели и задачам исследования, использованием современных методов статистической обработки полученных данных.

Основные результаты исследования представлены в виде докладов на: II Всероссийской научно-практической конференции (Краснодар, 2021); 7-й междисциплинарной конференции специалистов Юга «Инновационные технологии охраны репродуктивного здоровья» (Сочи, 2023); Научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы мужского здоровья», посвященной 90-летию со дня рождения д.м.н., профессора, член-корреспондента РАМН, В.Н. Степанова (Москва, 2023); V Всероссийской научно-практической конференции (Краснодар, 2024); 8-й междисциплинарной конференции специалистов Юга «Инновационные технологии охраны репродуктивного здоровья» (Сочи, 2024); XX Конгрессе «Мужское здоровье» (Сочи, 2024); VI Невском урологическом форуме (Санкт-Петербург, 2024); XXIV Конгрессе Российского общества урологов (Екатеринбург, 2024); 9-й междисциплинарной конференции специалистов Юга «Инновационные технологии охраны репродуктивного здоровья» (Сочи, 2024); XXI Конгрессе «Мужское здоровье» (Сочи, 2025); XXV Конгрессе Российского общества урологов (Казань, 2025); V научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы уроандрологии и репродуктивного здоровья у мужчин» в рамках «Медицинской образовательной недели РУДН» (Москва, 2025).

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Диссертационная работа соответствует паспорту специальности: 3.1.13. Урология и андрология, по тематике, методам исследования и научным положениям соответствует п.2 «Разработка и усовершенствование методов диагностики и профилактики урологических и андрологических заболеваний», п.3 «Экспериментальная и клиническая разработка методов лечения урологических и андрологических заболеваний и внедрение их в клиническую практику».

**Внедрение результатов исследования.** Результаты работы и предложенный

протокол ведения инфертильных больных с различными видами азооспермии внедрены в работу Центра репродуктивной и клеточной медицины, отделения вспомогательных репродуктивных технологий г. Краснодара.

Материалы работы включены в лекционные курсы для курсантов, ординаторов и аспирантов кафедры эндоскопической урологии и ультразвуковой диагностики факультета непрерывного медицинского образования Российского Университета Дружбы народов им. Патриса Лумумбы.

**Личное участие автора в получении научных результатов.** Личный вклад соискателя заключается в непосредственном участии на всех этапах подготовки диссертационной работы. Автором были сформулированы цель и задачи, исходя из них составлен дизайн исследования. Разработаны технические приемы, используемые в процессе изучения микробиоты мочевыводящих путей и репродуктивной системы у мужчин. Проведен поиск и анализ научной литературы по изучаемой проблеме. В ходе реализации исследования диссертант лично проводил набор, скрининг, обследование, хирургическое лечение и последующее наблюдение пациентов, включенных в исследование. Автором выполнен статистический анализ полученных данных, их описание и анализ, сформулированы основные положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации.

**Публикации по теме диссертации.** По теме диссертации опубликовано 29 печатных работ в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки для публикации основных результатов диссертации, из них 3 SCOPUS, 6 RSCI, 1 учебно - методическое пособие, 2 монографии, получено 5 патентов на изобретения.

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследования, 6 глав с изложением результатов собственных исследований, обсуждения полученных данных, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы. Общий объем диссертации изложен на 243 страницах, работа иллюстрирована 46 рисунками и 34 таблицами. Список литературы включает 357 источников, в том числе 40 отечественных и 317 зарубежных публикаций.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

Проведен ретроспективный и проспективный анализ данных 108 пациентов, проходивших обследование по поводу мужского бесплодия на базе отделения вспомогательных репродуктивных технологий Центра репродуктивной и клеточной медицины ГБУЗ ДГКБ г. Краснодар Министерства здравоохранения Краснодарского края в 2018–2024 гг.

Материалом исследования послужили результаты обследования, в том числе образцы тестикулярной ткани инфертильных пациентов с различными видами

азооспермии и сопутствующим варикоцеле.

Использовали следующие **критерии включения** пациентов в исследование: мужчины в возрасте 18 лет и старше, бесплодие в браке более 1 года при регулярной половой жизни без использования средств контрацепции, подтвержденная ОА или НОА, отсутствие в анамнезе двусторонних поражений яичек, их гипоплазии, онкологической патологии, отсутствие клинико-лабораторных симптомов инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), в течение 3 месяцев до исследования, отсутствие антибактериальной терапии в течение 3 месяцев до исследования, подписанное добровольное информированное согласие пациента на участие в исследовании.

**Критерии невключения:** повышение концентрации простатспецифического антигена в сыворотке крови более 4 нг/мл и/или его свободной фракции более 5 нг/мл, установленные генетические и эндокринные факторы бесплодия, регулярный прием лекарственных средств, приводящих к развитию бесплодия и гипогонадизма, тяжелая соматическая патология на момент обследования, наличие онкологической патологии, признаки ИППП на момент обследования и в течение последних 3 месяцев перед включением в исследование, ВИЧ-инфекция, психические заболевания, хронический алкоголизм и наркомания.

С целью диагностики после предварительного обследования с оценкой общесоматического статуса, а также по основной патологии, каждому пациенту была выполнена microTESE в рамках протокола ВРТ, а также с целью диагностики бесплодия и возможности криоконсервации.

Полученный материал был отправлен на рутинное патогистологическое исследование. При проведении гистологического анализа важным этапом микроскопического изучения биоптата яичка являлась оценка степени нарушений сперматогенеза по шкале D. De Kretser и A. Holstein, что подтверждало диагностику азооспермии различного генеза. Помимо оценки состояния семенных канальцев изучали межканальцевую структуру паренхимы яичка, оценивали состояние микроциркуляторного русла и соотношение клеток Лейдига, фибробластов, макрофагов и мастоцитов. Для определения ИГХ-экспрессии маркеров мастоцитов использовали иммуногистохимическую окраску с анти-МСТ (Anti-Mast Cell Tryptase).

Для исследования структуры микробиоты тестикулярной ткани был проведен анализ ампликонов бактериального гена 16S рРНК с использованием высокопроизводительного секвенирования нового поколения (NGS)

Дизайн работы представлен на Рисунках 1-4.

**На первом этапе исследования** выполнено обоснование и апробация применения метода прогноза необходимости применения вспомогательных репродуктивных технологий с донацией сперматозоидов при идиопатическом бесплодии у мужчин на основании иммуноморфологических характеристик ткани яичка при нарушениях сперматогенеза (Рисунок 1).

**Этап 1 – Обоснование и апробация метода прогноза необходимости применения ВРТ с донацией сперматозоидов при идиопатическом бесплодии у мужчин на основании иммунофлюоресцентных характеристик ткани яичка**



Рисунок 1 - Этап исследования 1

Этап включал экспериментальное исследование роли СРАЗ-позитивных тучных клеток яичка в нарушениях сперматогенеза, в ходе которого было проведено исследование распределения тучных клеток в семенных канальцах при различных видах азооспермии и дана цитоморфологическая характеристика СРАЗ-позитивных тучных клеток у пациентов с различными формами азооспермии.

По показаниям всем пациентам выполнялась биопсия яичка с последующим морфологическим извлечением биоптатов.

Полученные данные позволили осуществить патогенетическое обоснование, разработку и апробацию алгоритма прогнозирования

применения ВРТ с донацией сперматозоидов при идиопатическом бесплодии у мужчин с НОА.

На **втором этапе работы** выполнена разработка малоинвазивного метода выделения бактериальной ДНК из биоптата тестикулярной ткани у инфертильных мужчин (патент) (Рисунок 2).

## Этап 2 - Разработка малоинвазивного метода выделения бактериальной ДНК из биоптата тестикулярной ткани у инфертильных мужчин

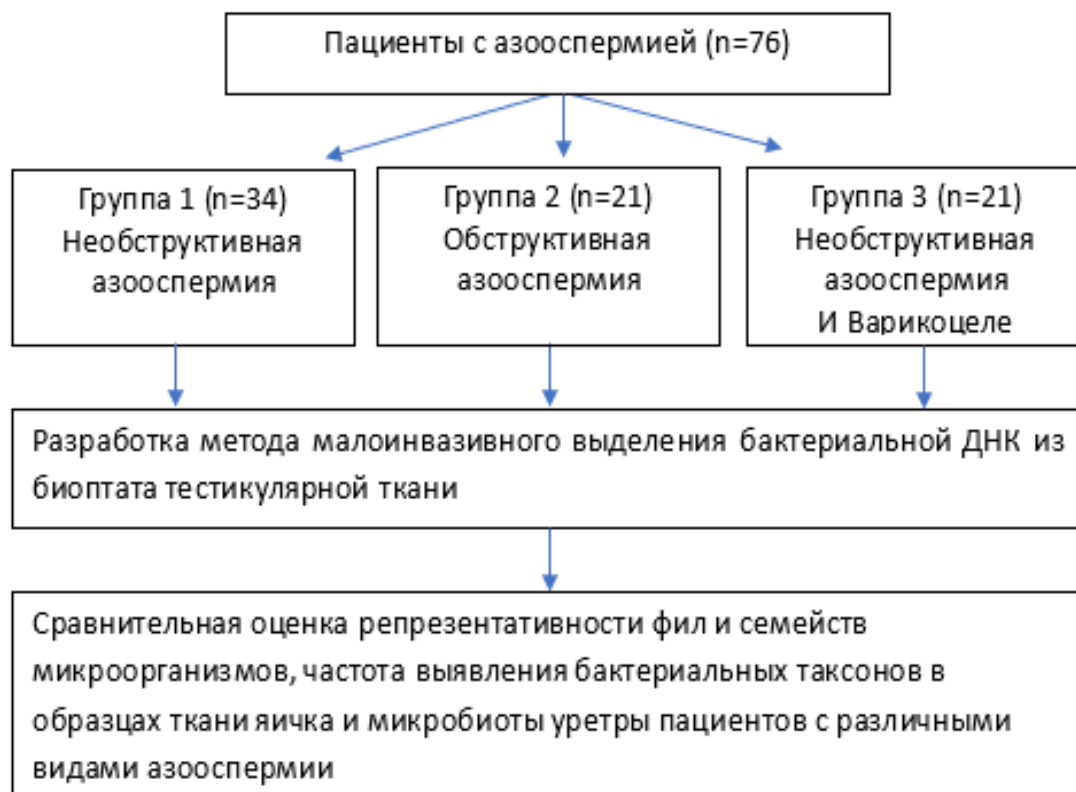


Рисунок 2 - Этап исследования 2

Применение разработанного метода позволило получить характеристики тестикулярной микробиоты у пациентов с различными видами азооспермии и сопутствующим варикоцеле. Была выполнена сравнительная оценка таксономического состава микробиоты уретры и ткани яичка на основании данных о частоте встречаемости различных представителей микробиоты у 76 пациентов, в том числе у 34 – с ОА, у 21 пациента с НОА и у 21 пациента с НОА и сопутствующим варикоцеле.

**Третий этап исследования** был посвящен поиску взаимосвязей уровней гормонов и характеристик микробиоты уретры и ткани яичка у пациентов с различными видами азооспермии и сопутствующим варикоцеле (Рисунок 3).

**Этап 3 - Изучение уровней гормонов и характеристик сперматогенеза в сопоставлении с характеристиками микробиоты уретры и ткани яичка у пациентов с различными видами азооспермии**

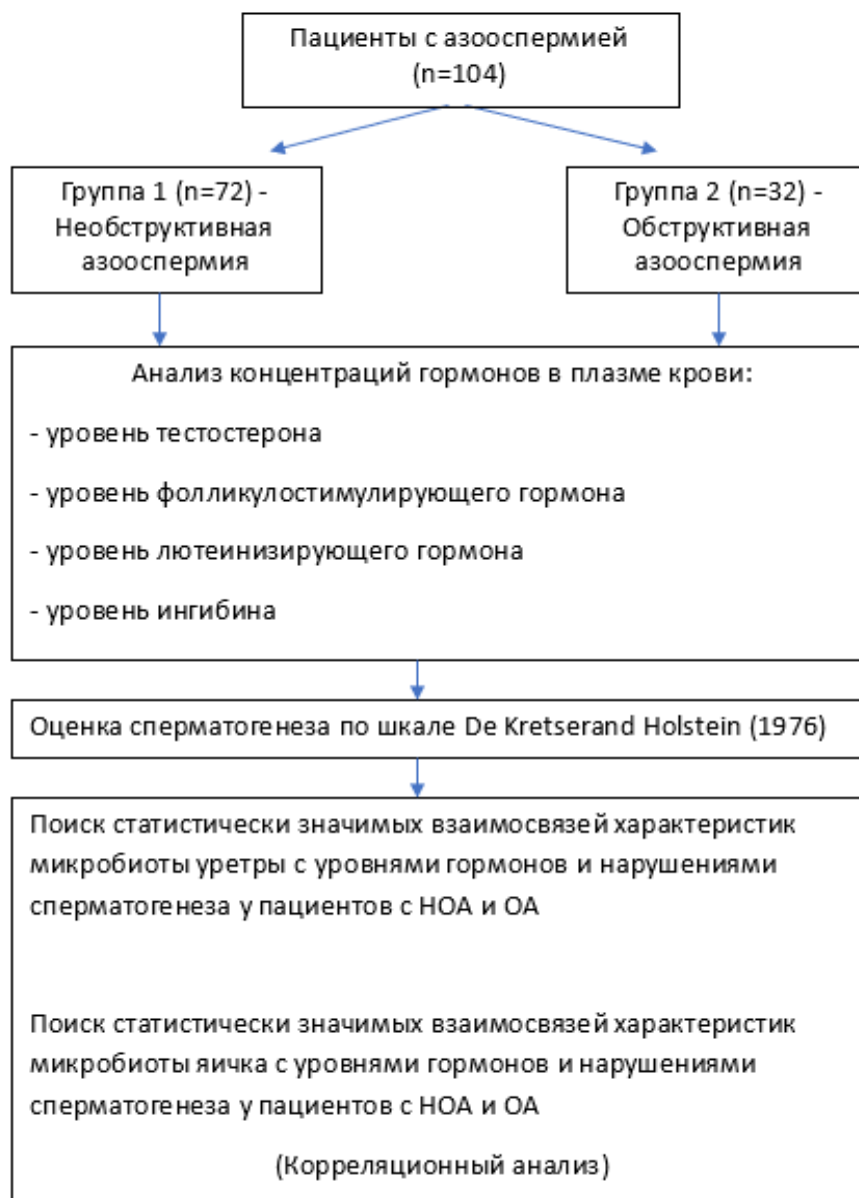


Рисунок 3 - Этап исследования 3

Показатели гормонального статуса и шкалы оценки сперматогенеза D. De Kretser и A. Holstein были оценены у пациентов с различными видами азооспермии и сопутствующим варикоцеле, произведен поиск статистически значимых ассоциаций показателей состава микробиоты уретры и ткани яичка с клинико-лабораторными показателями у пациентов с НОА и ОА.

**На четвертом этапе работы** был произведен сравнительный анализ таксономической структуры микробиоты тестикул и уретры пациентов с ОА и положительными результатами применения ВРТ (рожденные дети) и пациентов с отрицательным результатом (Рисунок 4).

**Этап 4 - Разработка модели прогнозирования результатов программ ВРТ с использованием характеристик микробиоты яичка и уретры у пациентов с азооспермией**

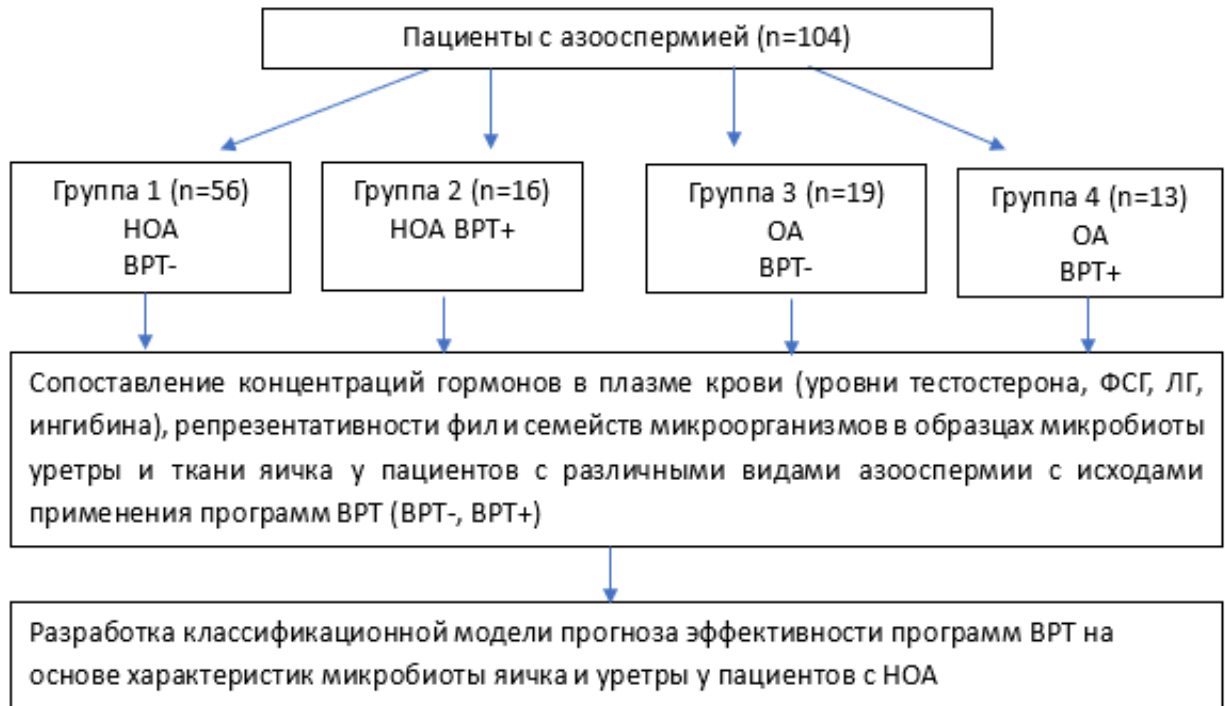


Рисунок 4 - Этап исследования 4

Задачами этого этапа исследования являлись поиск варианта микрофлоры урогенитального тракта у пациентов с положительным результатом ВРТ, а также выявления особенностей представленности отдельных семейств микробиоты при неудачном исходе ВРТ. Проводили оценку гормонального статуса пациентов, тестикулярной и уретральной микробиоты у пациентов с различными видами азооспермии в сопоставлении с результатами применения ВРТ. Данные, обработанные с помощью машинного обучения с использованием метода «дерево решений» позволили разработать модель прогноза эффективности ВРТ на основе обнаружения видов в микробиоте яичка и уретры у пациентов с НОА.

**Методы исследования.** На этапе включения пациентов в исследование проводили сбор жалоб, анамнеза, физикальный осмотр и обследование по стандартам протоколов для пар, вступающих в протокол ВРТ. Спермограмму оценивали в соответствии с «Руководством ВОЗ по лабораторному исследованию эякулята человека и взаимодействия сперматозоидов с цервикальной слизью» (ВОЗ, 2010) после 3-5 дневного полового воздержания.

Всем пациентам при госпитализации выполнялись исследования, относящиеся к категории обязательных скрининговых, для выявления заболеваний сердечно-сосудистой, дыхательной системы, в том числе выявления очагов туберкулезной инфекции.

УЗИ почек, мочевого пузыря, предстательной железы (ПЖ), и органов мошонки проводили на аппаратах ультразвуковой цифровой диагностический сканер SONOACE R7-RUS, SONOACE X6-RUS линейным датчиком LN 5-12МГц внутриволновым микроконвексным датчиком EVN4-9МГц, трансабдоминальным конвексным датчиком С 2-8 МГц.

Выполняли определение уровней гормонов в плазме крови (Т, ФСГ, ЛГ, ингибина В) иммуноферментным методом. Определение гормонального статуса позволило исключить эндокринный генез infertility у обследуемых пациентов.

Анализ для определения микроделений хромосомы Y проводили методом мультиплексной ПЦР (мПЦР) с одновременной амплификацией нескольких фрагментов ДНК. Анализ микроделений в локусе AZF проводили в два этапа. На первом этапе проводили идентификацию полных делеций, на втором – частичных делеций AZF локуса хромосомы Y.

Для анализа бактериального пейзажа урогенитального тракта у всех участников исследования проводился забор биологического материала из уретры, а также осуществлялась биопсия яичка. 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).

Для реализации репродуктивного потенциала всем пациентам была выполнена microTESE в протоколе VPT. Методика проведения microTESE впервые описана Schlegel в 1999 г. в качестве наиболее эффективной для извлечения сперматозоидов у infertility мужчин с НОА и последующим проведением экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) по технологии ИКСИ (Schlegel P.N., 1999).

Степень нарушения сперматогенеза у каждого пациента оценивали по десятибальной шкале состояния сперматогенеза. Исследование бактериального разнообразия тестикулярной ткани и уретры было выполнено с использованием высокопроизводительного секвенирования нового поколения.

Для иммуногистохимического окрашивания использовали срезы яичка толщиной 2 мкм. Депарафинизированные срезы подвергали тепловому извлечению антигена (95°C, 30 мин) в R-УНИВЕРСАЛЬНОМ буфере (Aptum Biologics Ltd., Великобритания). Первичные антитела инкубировали в течение 12 ч при +4°C. Сначала проводили инкубацию с первичным антителом (кроличьи поликлональные антитела, AbCam, United Kingdom) в разведении 1:2000 при температуре +4°C, что позволяет получить более сильный и специфичный сигнал. После тщательного промывания выполняли инкубацию срезов со вторичной системой детекции. Связанные антитела визуализировали вручную

вторичными антителами (Dianova/Molecular Probes), конъюгированными с Alexa Fluor-488/Cy3 (5-10 мкг/мл в PBS). СРАЗ-позитивные тучные клетки визуализируются как клетки с интенсивно окрашенными коричневыми гранулами в цитоплазме.

Для совмещённой детекции СРАЗ-позитивных тучных клеток и эластических волокон применяли комбинированный протокол (иммуногистохимическое исследование + окраска по Вайгерту).

Содержание тучных клеток в интерстиции яичка при различных видах азооспермии было оценено после сканирования гистологических срезов на сканере Leica Ареgio АТ2. Планиметрический анализ для выявления количества тучных клеток (ТК) на единице площади ткани яичка, а также абсолютного числа ТК и других клеток интерстиция яичка выполнялся с помощью программного обеспечения цифрового анализа изображений QuPath.

**Статистический анализ полученных данных** осуществляли при помощи пакета программ Statistica for Windows 10.0 (StatSoft® Inc., США). Использованы методы описательной статистики и ряд непараметрических критериев для проверки значимости различий. Количественные показатели представляли в виде  $M (SD)$ , где  $M$  – среднее значение, а  $SD$  – среднее квадратичное отклонение, а также в виде  $Me (25\%Q - 75\%Q)$ , где  $Me$  – медианное значение показателя, а  $25\%Q$  и  $75\%Q$  – нижний и верхний квартили соответственно. Оценку распределения значений проводили при помощи критерия Колмогорова-Смирнова.

Анализ различий в независимых выборках, где распределение количественного признака отличалось от нормального, проводили с помощью  $U$ -критерия Манна-Уитни. Различия качественных признаков анализировали при помощи критерия  $\chi^2$  или с использованием непараметрического точного критерия Фишера.

С помощью корреляционного анализа проводили поиск ассоциаций характеристик микробиоты ткани яичка и простаты с концентрациями гормонов и показателем нарушения сперматогенеза.

Для оценки характеристик модели прогноза метода оценки тучных клеток в  $1 \text{ мм}^2$  интерстиция яичка у мужчин с патозооспермией и нормозооспермией проведен ROC - анализ в программе MedCalc statistical software с построением ROC - кривых и построением LOESS-графиков, которое выполнялось в программе PAST4.

Для оценки прогностической значимости микробиоты тканей яичка и уретры у пациентов с НОА в контексте результата применения ВРТ была разработана классификационная модель с использованием алгоритма дерева решений. В качестве входных параметров использовались данные о наличии или отсутствии определённых бактериальных таксонов.

Достоверность различий подтверждалась в случае недостижения  $p$  порогового уровня статистической значимости нулевой гипотезы 0,05.

**Изучение патогенетической роли СРАЗ-позитивных тучных клеток яичка в нарушениях сперматогенеза.** Морфологические характеристики тканевого

микроокружения являются важнейшим фактором обеспечения необходимых условий для нормального сперматогенеза. В связи с этим оценка клеточных субпопуляций интерстиция яичка может рассматриваться в качестве перспективного подхода к патогенетическому обоснованию методов диагностики бесплодия у мужчин. В этом аспекте интерес исследователей привлекает оценка таких клеточных популяций интерстиция яичка, в частности ТК, которые являются наименее изученными клеточными элементами. Полагают, что именно ТК могут играть ключевую роль в регуляции местного гомеостаза. При формировании провоспалительного и профиброзного фона локальных тканевых ниш важнейшую роль играет активность специфических ферментов - протеаз ТК: триптазы, химазы и карбоксипептидазы АЗ. Ряд авторов полагают, что именно активность этих ферментов обуславливает роль ТК в патогенезе мужского бесплодия (Atiakshin D. et al., 2024; Elieh Ali Komi D., Jalili A., 2022). Однако вопрос участия СРАЗ+ТК в патогенезе мужского бесплодия до настоящего времени остается дискуссионным.

Проведено обследование 34 мужчин с ОА и НОА, средний возраст –  $35,7 \pm 10,8$  лет, которые были включены в две группы: группа 1 – 22 пациента с НОА, группа 2 – 12 пациентов с ОА.

У пациентов первой группы при морфологическом анализе нативных биоптатов яичка были получены сперматозоиды лишь у 4 (18,2%) мужчин. У абсолютного большинства – 18 пациентов с НОА (81,9%) результаты биопсии яичка оказались неудовлетворительными: половые клетки обнаружены не были. В то же время у пациентов второй группы при морфологическом анализе нативных биоптатов яичка были получены сперматозоиды статистически значимо чаще – у 10 (83,3%) мужчин, тогда как в 2 случаях (16,7%) сперматозоиды отсутствовали. Таким образом, в группе ОА сперматозоиды обнаруживались статистически значимо чаще - в 4,6 раза ( $p < 0,001$ ).

У всех обследуемых пациентов изменений кариотипа отмечено не было, уровень половых гормонов был в пределах референтных значений, количество лейкоцитов и уровни иммуноглобулинов А и G в эякуляте не превышало референтных значений.

Морфологический анализ биоптатов яичка показал, что характеристики сперматогенеза в группах пациентов статистически значимо различались и составили в группах 1 (НОА) и 2 (ОА):  $2,77 \pm 0,71$  и  $5,83 \pm 0,93$  баллов соответственно ( $p = 0,001$ ).

Анализ распределения ТК в семенных канальцах обследуемых пациентов показал, что количество ТК в  $1 \text{ мм}^2$  ткани яичка составило  $45,22 \pm 9,08$  у пациентов с НОА, в то время как в группе 2 (ОА) значение показателя было статистически значимо ниже –  $26,05 \pm 10,31$  ( $p = 0,012$ ). Планиметрический анализ выявил неравномерное распределение СРАЗ+ТК в интерстиции яичка. Большинство ТК локализовались в межтубулярном интерстиции яичка независимо от варианта мужского бесплодия, значительно меньшее количество ТК было локализовано вблизи микроциркуляторного русла или вокруг извитых семенных канальцев (Таблица 1).

Таблица 1 – Количественные показатели СРАЗ-активных тучных клеток в интерстиции яичка у мужчин с необструктивной и обструктивной азооспермией

Гистотопография ТК	Количество тучных клеток	Группы пациентов	
		Группа 1 НОА, (n=72)	Группа 2 ОА, (n=32)
Межтубулярный интерстиций яичка	Абсолютное количество на 1 мм <sup>2</sup>	27,64±9,31	19,09±2,73*
	Относительное содержание в структуре клеток интерстиция (%)	0,51±0,12	0,32±0,06*
Перитубулярное микроокружение	Абсолютное количество на 1 мм <sup>2</sup>	7,36±1,27	1,94±0,05*
	Относительное содержание в структуре клеток интерстиция (%)	0,13±0,08	0,03±0,02*
Периваскулярное микроокружение	Абсолютное количество на 1 мм <sup>2</sup>	10,22±2,69	2,62±0,08*
	Относительное содержание в структуре клеток интерстиция (%)	0,18±0,10	0,05±0,03*

Примечание: \*различия статистически значимы ( $p < 0,05$ ) по сравнению с показателями при обструктивной азооспермии по критерию Манна-Уитни

При изучении межтубулярного интерстиция было установлено, что у пациентов с НОА статистически значимо выше, чем в группе ОА было как абсолютное, так и относительное количество ТК в интерстиции на 1 мм<sup>2</sup>. При анализе перитубулярного микроокружения выявленные соотношения сохранились и были еще более выраженными. При этом в обеих группах значения этих показателей были существенно ниже для перитубулярного микроокружения, чем для межтубулярного интерстиция.

Показатели количества ТК в периваскулярном были примерно на уровне таковым для перитубулярного окружении, выявленные межгрупповые различия сохранились: в группе 1 (НОА) величина абсолютного и относительного содержания ТК в структуре клеток интерстиция были статистически значимо выше, чем в группе 2 (ОА).

Распределение СРАЗ+ ТК в зависимости от выявленных качественных морфологических изменений и соответствующих нарушений сперматогенеза в извитых семенных канальцах пациентов групп 1 и 2 представлено в Таблице 2. У пациентов с ОА количество клеток, в которых нарушения сперматогенеза соответствовали критерию гипосперматогенез составило 12,9 (11,4-14,4), количество клеток, свидетельствующих об остановке сперматогенеза было на уровне 27,2 (23,7-32,0). В то же время у пациентов группы 1 (НОА) не было отмечено признаков гипосперматогенеза, а значение признака остановка сперматогенеза составило 29,1 (26,0-34,5). Чаще всего отмечались признаки «Смешанная атрофия» – 77,9 (77,3-78,5), синдром только клеток Сертоли – 46,6 (35,8-57,1). Полная атрофия канальцев была выявлена в одном случае, значение показателя составило 97,7.

Таблица 2 – Количество СРАЗ+ тучных клеток в зависимости от выявленных морфологических изменений в извитых семенных канальцах пациентов групп 1 и 2, Me (Q25; Q75)

Качественные показатели нарушения сперматогенеза	Группа 1 - НОА (n=72)	Группа 2 - ОА (n=32)
Гипосперматогенез	-	12,9 (11,42-14,4)
Остановка сперматогенеза	29,1 (26,0-34,5)	27,2 (23,7-32,0)
Синдром только клеток Сертоли	46,6 (35,8-57,1)	-
«Смешанная атрофия»	77,9 (77,3-78,5)	-
Полная атрофия канальцев	97,7	-

Изучение цитотопографических особенностей СРАЗ показало присутствие двух морфологических типов ТК, структурные характеристики которых зависели от топографии клеток в интерстиции яичка. ТК, включенные в структуру стенки извитых семенных канальцев, характеризовались удлиненной вытянутой формой, которая соответствовала расположению миоидных клеток семенных канальцев (Рисунок 5).

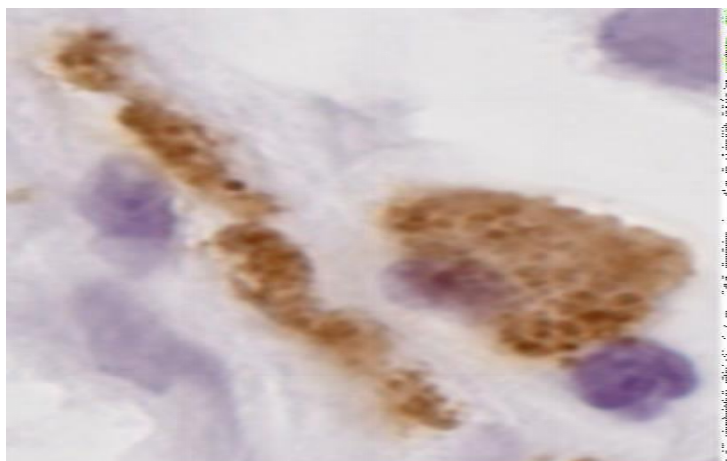


Рисунок 5 – Солокализация двух типов тучных клеток в интерстиции яичка: округлой и вытянутой формы. Моноплексное иммуногистохимическое исследование СРАЗ тучных клеток

Подобная форма клеток способствовала увеличению площади контакта ТК с миоидными клетками и усилению их влияния на гемато-тестикулярный барьер. ТК, локализующиеся в межтубулярном интерстиции яичка, были более крупными размерами, их форма была округлой и могла изменяться в зависимости от функциональной нагрузки. СРАЗ локализовалась преимущественно в секреторных гранулах и в меньшей мере аккумулировалась в межгранулярном пространстве.

Цито- и гистотопографические характеристики СРАЗ<sup>+</sup>ТК у пациентов с НОА отличались от таковых при ОА. В частности, помимо более высокого содержания ТК в интерстиции яичка, была отмечена более интенсивная секреция СРАЗ во внеклеточный матрикс к соответствующим регулируемым мишеням. Обращала на себя внимание чаще наблюдавшаяся миграция ТК к эндотелию микроциркуляторного русла, а также выраженная секреция протеазы, действующей на клетки эндотелия (Рисунок 6).

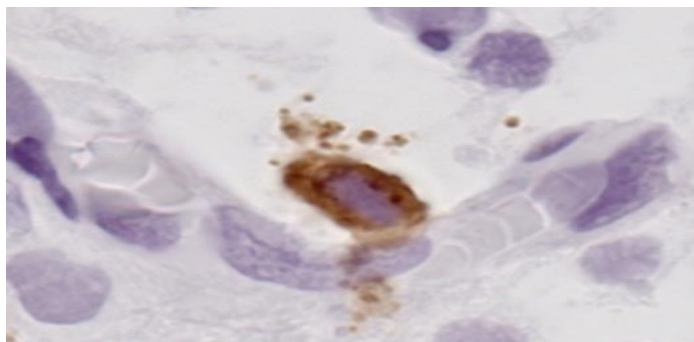


Рисунок 6 – Гистотопографическая характеристика СРА3-позитивных ТК при необструктивной форме азооспермии, моноплексная ИГХ СРА3 ТК

Примечание: перикапиллярная ТК в состоянии активной секреции СРА3

Кроме того, при НОА ТК чаще, чем при ОА, выявлялись около стенки извитых семенных канальцев, в которых они активно дегранулировали, что способствовало поступлению СРА3 во внеклеточный матрикс. Также ТК активно мигрировали в паракринное тканевое микроокружение клеток Сертоли и тесно контактировали с миоидными клетками. В отдельных случаях СРА3<sup>+</sup>ТК фактически являлись посредниками между клетками Лейдига и стенкой семенного канальца.

Обращало на себя внимание также частое обнаружение ТК около клеток фибробластического дифферона интерстиция, в том числе миофибробластов. В интерстиции яичка часто выявлялись обширные поля, заполненные автономными секреторными гранулами, в которых часто сохранялось периферическое расположение СРА3. Эти характеристики сочетались с обнаружением сети эластических волокон в интерстиции яичка при НОА, а также более высокой частоты солокализации СРА3<sup>+</sup>ТК с волокнистым компонентом внеклеточного матрикса. При обеих формах азооспермии ТК располагались в межтубулярном интерстиции яичка (Рисунок 7). В то же время количество ТК было статистически значимо меньше по сравнению с соответствующим показателем при НОА.

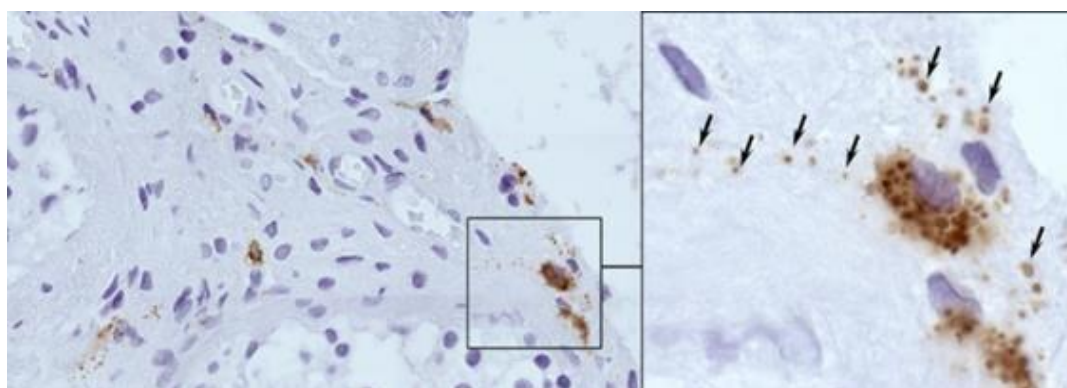


Рисунок 7 – Морфологическая характеристика СРА3-позитивных ТК при обструктивной форме азооспермии, моноплексная ИГХ СРА3 тучных клеток

Примечание: преимущественная локализация тучных клеток в интерстиции яичка между извитыми семенными канальцами; в увеличенном фрагменте стрелки указывают на секреторные гранулы, диффузно расположенные в интерстиции яичка.

Стоит отметить, что секреция автономных гранул во внеклеточной матрике наблюдалась реже по сравнению с необструктивными формами мужского бесплодия. Кроме того, снижалось количество ТК вокруг элементов микроциркуляторного русла и стенки извитых семенных канальцев, частота прилегания к клеткам Лейдига, при сохранении уровня секреторной активности ТК. Несмотря на более высокое относительное содержание СРАЗ<sup>+</sup>ТК в межканальцевом интерстиции яичка у пациентов группы ОА, необходимо отметить более редкую солокализацию ТК с фибробластами, эластическими волокнами.

Корреляционный анализ свидетельствовал о наличии сильной статистически значимой взаимосвязи выраженности нарушений сперматогенеза по данным морфологического исследования (снижения показателя вышеприведенной шкалы) от количества СРАЗ<sup>+</sup>ТК в 1 мм<sup>2</sup> интерстиция яичка, то есть отрицательной зависимости. При этом коэффициент корреляции Спирмена в группе пациентов с НОА составил  $r = -0,763$  ( $p < 0,001$ ). Аналогичная корреляция была выявлена и для пациентов с ОА, значение коэффициента корреляции составило  $-0,759$  ( $p = 0,004$ ). Таким образом, увеличение количества СРАЗ<sup>+</sup>ТК в интерстиции яичка негативно отражается на сперматогенезе.

**Разработка метода прогнозирования применения ВРТ с донацией сперматозоидов при идиопатическом бесплодии у мужчин с НОА.** Нами разработан метод прогнозирования нарушений сперматогенеза неустановленного генеза, который основан на данных гистологического анализа биоптатов яичка.

При статистической обработке полученных данных (ROC - анализ) была определена площадь под ROC - кривой, которая соответствует взаимосвязи прогноза патозооспермии и количества триптазаактивных ТК в 1 мм<sup>2</sup> интерстиция яичка у мужчин и составила  $0,994 \pm 0,01$  с 95% ДИ: 0,979-1,0.

Пороговое значение количества триптазаактивных ТК в точке cut-off составило 39,0 на 1 мм<sup>2</sup>. При выявлении количества ТК в интерстиции яичка в равном или превышающем данное значение прогнозировалась тяжелая степень бесплодия (патозооспермии) с низкой эффективностью ЭКО/ИКСИ с применением собственных сперматозоидов и высокий прогноз приверженности ИКСИ с использованием донорской спермы. Чувствительность и специфичность метода составила 95% и 100% соответственно.

Качество сперматогенеза оценивали на поперечных срезах извитых семенных канальцах в баллах с использованием следующей градации:

- 10 баллов - сперматогенез полностью сохранен;
- 9 - незначительные нарушения сперматогенеза - дезорганизация сперматогенного эпителия, много поздних сперматид;
- 8 - менее 5 сперматозоидов в канальце, немного поздних сперматид;
- 7 - отсутствие сперматозоидов и поздних сперматид, много ранних сперматид;
- 6 - отсутствие сперматозоидов и поздних сперматид, мало ранних сперматид;

- 5 - отсутствие сперматозоидов и сперматид, много сперматоцитов;
- 4 - отсутствие сперматозоидов и сперматид, мало сперматоцитов;
- 3 - только сперматогонии;
- 2 - отсутствие половых клеток, только клетки Сертоли;
- 1 - отсутствие элементов сперматогенного эпителия (тубулярная атрофия) (Aafjes J.H. et al., 1978).

В случае выявления у пациента интенсивной инфильтрации интерстиция яичка триптазаактивными ТК более 39 в 1 мм<sup>2</sup> на фоне нарушения сперматогенеза, оцененного на уровне 6 баллов и ниже, прогнозировали необходимость выполнения протокола ВРТ с донацией сперматозоидов.

По нашему мнению, применение вышеописанного подхода позволяет повысить эффективность программ ВРТ, тем самым принять своевременные меры к реализации повторного протокола ВРТ с использованием аутоспермиев или донацией половых клеток, уменьшить длительность программы и снизить субъективность морфологической оценки сперматогенеза.

**Сравнительная характеристика тестикулярной и уретральной микробиоты у пациентов с различными видами азооспермии и сопутствующим варикоцеле.** На следующем этапе работы было проведено изучение уретральной и тестикулярной микробиоты у 76 мужчин с подтверждённой азооспермией и сопутствующим варикоцеле в возрасте от 23 до 49 лет (средний возраст  $28,5 \pm 5,1$  лет). В зависимости от диагноза исследуемые пациенты были разделены на три группы. В группу 1 были включены 34 пациента с НОА, группу 2 представлял 21 пациент с ОА, в группу 3 был включен 21 пациент с НОА и сопутствующим варикоцеле (Var).

Исследование было произведено с использованием разработанных нами малоинвазивных методов выделения бактериальной ДНК из биоптата ткани ПЖ и биоптата тестикулярной ткани. В операционных условиях, по стандартной методике биопсии яичка производили забор тестикулярной ткани у пациентов.

**Таксономический состав микробиоты уретры.** Исследование показало, что на таксономическом уровне фил наблюдалось значительное увеличение доли представителей *Bacteroidota* у пациентов с варикоцеле (группа 3) ( $16,81 \pm 1,91\%$ ) по сравнению с пациентами группы 2 (НОА) ( $6,78 \pm 1,82\%$ ,  $p < 0,01$ ), а также умеренное увеличение по сравнению с пациентами 2 группы (ОА) ( $14,75 \pm 2,17\%$ ) (Таблица 3). *Firmicutes\_C* встречались чаще при варикоцеле (группа 3) ( $7,69 \pm 0,93\%$ ) по сравнению с 1 группой (НОА) ( $3,80 \pm 0,74\%$ ) и 2 группой (ОА) ( $3,30 \pm 0,66\%$ ), различия были статистически значимыми между пациентами 3 группы (варикоцеле) и обеими другими группами ( $p = 0,02$ ). Также при варикоцеле была выше представленность *Patescibacteria* ( $0,15 \pm 0,03\%$ ) и *Fusobacteriota* ( $0,46 \pm 0,14\%$ ) по сравнению с пациентами из 1 группы (НОА) и 2 группы (ОА) ( $p = 0,02$  для обеих фил). Интересен также факт наличия *Desulfobacterota\_I* преимущественно при варикоцеле ( $0,12 \pm 0,04\%$ ), при их отсутствии у пациентов с НОА (группа 1) и почти полном отсутствии у пациентов с ОА (группа 2), с

достоверными различиями ( $p < 0,01$  и  $p = 0,01$  соответственно).

Таблица 3 – Показатели относительной репрезентативности фил (%) в образцах микробиоты уретры,  $M \pm m$

Филы	Группа 1 (НОА), n=34	Группа 2 (ОА), n=21	Группа 3 (Вар), n=21	p1-2	p1-3	p2-3
Bacteroidota	6,78±1,82	14,75±2,17	16,81±1,91	0,10	<0,01	0,09
Firmicutes_C	3,80±0,74	3,30±0,66	7,69±0,93	1,00	0,02	0,02
Patescibacteria	0,31±0,05	0,01±0,01	0,15±0,03	0,48	0,02	0,02
Fusobacteriota	1,00±0,18	0,04±0,01	0,46±0,14	0,51	0,02	0,02
Desulfobacterota_I	0	0,01±0,01	0,12±0,04	0,56	<0,01	0,01

На уровне семейств выявлен ряд таксонов с выраженными межгрупповыми различиями. Так, *Bacteroidaceae* были значимо более представлены у пациентов 2 группы (ОА) ( $13,12 \pm 2,97\%$ ) и 3 группы (варикоцеле) ( $12,42 \pm 1,71\%$ ) по сравнению с пациентами 1 группы (НОА) ( $5,74 \pm 0,51\%$ ,  $p = 0,01$ ). В то же время *Streptococcaceae* доминировали в 1 группе (НОА) ( $9,35 \pm 1,52\%$ ) их количество было снижено у пациентов с варикоцеле (группа 3) ( $4,59 \pm 0,41\%$ ,  $p = 0,03$ ) и особенно при ОА (группа 2) ( $0,80 \pm 0,18\%$ ,  $p = 0,01$ ).

Семейства *Lachnospiraceae* и *Micrococcaceae* также чаще встречались при варикоцеле (группа 3) ( $2,16 \pm 0,60\%$  и  $2,18 \pm 0,22\%$  соответственно), чем при НОА (группа 1) и ОА (группа 2) ( $p < 0,05$ ). Отдельного внимания заслуживают *Weeksellaceae* ( $1,52 \pm 0,30\%$ ), *Porphyromonadaceae* ( $1,46 \pm 0,37\%$ ), *Acutalibacteraceae* ( $0,78 \pm 0,16\%$ ), *Negativicoccaceae* ( $2,90 \pm 0,61\%$ ) и *Enterococcaceae* ( $1,52 \pm 0,26\%$ ), которые были повышены преимущественно в группе варикоцеле (группа 3) по сравнению с НОА (группа 1) и ОА (группа 2), с достоверными различиями между группами ( $p < 0,05$ ).

Дополнительно, ряд семейств присутствовал практически исключительно при варикоцеле (группа 3): *Rikenellaceae* ( $0,30 \pm 0,06\%$ ), *Tannerellaceae* ( $0,15 \pm 0,04\%$ ), *Helicobacteraceae* ( $0,44 \pm 0,12\%$ ), *Peptostreptococcaceae\_256921* ( $0,41 \pm 0,08\%$ ), *Coprobaicillaceae* ( $0,23 \pm 0,05\%$ ), *Microbacteriaceae* ( $0,29 \pm 0,08\%$ ) и *Oscillospiraceae\_88309* ( $0,17 \pm 0,04\%$ ), причем все они имели статистически значимые отличия по сравнению с другими группами. Также только при варикоцеле (группа 3) достоверно выявлялись *Desulfovibrionaceae*, *o\_\_Christensenellales.f CAG-74*, *c\_\_Clostridia\_258483,o\_\_UBA1381.f\_\_UBA1381*, а также неклассифицированные представители порядка *Bacteroidales*.

Группа 1 (НОА) заняла промежуточное положение ( $79,00 \pm 7,16$ ). Статистически значимые различия отмечены при сравнении групп 3 (Вар) и 1 (НОА) ( $p = 0,01$ ), а также групп 3 (Вар) и 2 (ОА) ( $p = 0,02$ ), что может свидетельствовать о потенциальной ассоциации варикоцеле с повышенным микробным разнообразием уретры. Различия

между группами 1 (НОА) и 2 (ОА) не достигли статистической значимости ( $p = 0,72$ ).

Таким образом, полученные данные показали, что обструктивная форма азооспермии ассоциирована с минимальным разнообразием и бедным таксономическим составом уретральной микробиоты, тогда как при НОА, особенно в сочетании с варикоцеле, наблюдается достоверное увеличение как таксономического разнообразия, так и обилия определённых семейств и фил, потенциально ассоциированных с воспалением и дисбиозом. Эти различия могут отражать нарушение местных барьерных механизмов и иммунной регуляции на фоне варикоцеле, что требует дальнейшего изучения с позиций патогенеза мужского бесплодия и возможных микробиом-модулирующих стратегий.

**Таксономический состав микробиоты ткани яичка.** Анализ таксономического состава микробиоты ткани яичка выявил статистически значимые различия в альфа-разнообразии и относительной репрезентативности таксонов между пациентами с НОА (группа 1), ОА (группа 2) и НОА в сочетании с варикоцеле (группа 3).

На таксономическом уровне фил выявлены значимые различия как в составе доминирующих фил, так и в распределении отдельных семейств бактерий. У пациентов с НОА (группа 1) был значительно выше относительный вклад Proteobacteria ( $65,09 \pm 3,6\%$ ), тогда как в группах 2 (ОА) и 3 (НОА с варикоцеле) их доля снижалась до  $34,06 \pm 2,19\%$  и  $44,32 \pm 3,96\%$  соответственно ( $p < 0,01$  и  $p = 0,01$  по сравнению с НОА), что может указывать на потенциальную связь этих бактерий с патогенезом необструктивной формы бесплодия (Таблица 4). В то же время, представленность Actinobacteriota была наименьшей у пациентов 1 группы (НОА) ( $8,30 \pm 0,94\%$ ) и существенно возрастала при ОА (группа 2) и варикоцеле (группа 3) (до  $19,46\%$  и  $16,81\%$ ,  $p = 0,01$ ). Аналогичные закономерности наблюдались для подфил Firmicutes\_D, Firmicutes\_A и Firmicutes\_C, доля которых была значительно выше в группах 2 (ОА) и 3 (варикоцеле) ( $p$  от 0,03 до 0,049). Также филы Bacteroidota и Deinococcota были более выражены у пациентов 3 группы (НОА и варикоцеле) по сравнению с 1 группой (НОА), особенно у последних ( $p < 0,05$ ).

Таблица 4 – Показатели относительной репрезентативности фил (%) в образцах микробиоты яичка,  $M \pm m$

Филы	Группа 1 (НОА), n=34	Группа 2 (ОА), n=21	Группа 3 (Var), n=21	p1-2	p1-3	p2-3
Actinobacteriota	8,30±0,94	19,46±1,71	16,81±1,98	0,01	0,01	0,84
Proteobacteria	65,09±3,60	34,06±2,19	44,32±3,96	<0,01	0,01	0,45
Firmicutes_D	8,99±1,31	16,57±1,85	13,93±1,34	0,03	0,047	0,74
Firmicutes_A	5,63±0,32	8,15±0,97	8,58±0,82	0,049	0,04	0,77
Bacteroidota	3,45±0,33	9,93±1,38	6,05±0,22	0,01	0,01	0,66
Firmicutes_C	0,95±0,18	1,58±0,28	1,63±0,99	0,04	0,04	0,79
Deinococcota	0,14±0,03	0,33±0,08	0,31±0,04	0,17	0,01	0,23

На уровне семейств выявлены множественные статистически значимые различия. У пациентов 1 группы (НОА) наблюдалась высокая относительная представленность семейств *Mycobacteriaceae* (4,34%) и *Peptoniphilaceae* (3,06%), тогда как в группах 2 (ОА) и 3 (НОА с варикоцеле) их доля значительно увеличивалась (до 9,78% и 5,40%,  $p < 0,03$ ). Также группа 1 (НОА) характеризовалась низким содержанием *Streptococcaceae* (1,23%) и *Weeksellaceae* (0,44%) по сравнению с другими группами (до 6,07% и 1,14% соответственно,  $p < 0,01$ ), что может свидетельствовать о вовлечённости этих таксонов в патогенез мужского бесплодия при обструктивных формах и варикоцеле.

Семейства *Staphylococcaceae* и *Lactobacillaceae* были умеренно представлены во всех трёх группах, однако их относительное содержание было достоверно выше в группе 3 (НОА с варикоцеле) ( $p = 0,02$  и  $p = 0,04$  соответственно по сравнению с 1 группой (НОА без варикоцеле)). Кроме того, уровни *Enterococcaceae* и *Porphyromonadaceae* были значительно выше у пациентов 2 (ОА) и 3 (варикоцеле) групп, чем при изолированной НОА (1 группа) (до 0,48%,  $p < 0,02$ ). Также в группе варикоцеле (3 группа) наблюдалось достоверное увеличение содержания *Micrococcaceae* и *Moraxellaceae* ( $p < 0,01$  и  $p = 0,02$ ), а семейство *Pseudomonadaceae* было значительно более представлено по сравнению с 1 группой (НОА) ( $p < 0,01$ ).

Некоторые семейства, такие как *Pasteurellaceae*, *Flavobacteriaceae*, *Beijerinckiaceae* и *Acetivibacteraceae*, показали достоверно более высокую представленность в 3 группе варикоцеле ( $p < 0,05$ ), а семейства *Nanopelagicaceae* и *Dermabacteraceae* были преимущественно представлены при ОА (группа 2). Особого внимания заслуживают редкие, но статистически значимо повышенные в 3 группе (НОА с варикоцеле) таксоны: *Nitrococcaceae* (0–1,41%,  $p < 0,01$ ), *Vibrionaceae* (встречается только при варикоцеле,  $p < 0,01$ ), *Rhizobiaceae\_A\_499470* и *Bacillaceae\_H\_294103*. Также в ткани яичка при варикоцеле (3 группа) были значительно выше показатели по семействам *Helicobacteraceae* и *Marinococcaceae* ( $p < 0,05$ ).

Полученные результаты указывают на то, что микробиота ткани яичка обладает высокой чувствительностью к патофизиологическим изменениям, сопровождающим различные формы мужского бесплодия. Характерные изменения микробного разнообразия и состава при НОА (1 группа), ОА (2 группа) и НОА с варикоцеле (3 группа) могут рассматриваться как потенциальные диагностические и прогностические биомаркеры, а также как мишени для будущих терапевтических вмешательств, направленных на модуляцию локального микробного окружения.

**Частота встречаемости различных представителей микробиоты яичка.** Анализ значимых различий частот встречаемости бактериальных таксонов в ткани яичка у пациентов с НОА (1 группа), ОА (2 группа) и варикоцеле (3 группа) выявил четкие тенденции в распространённости как фил, так и семейств бактерий, подтверждённые статистически достоверными различиями по результатам точного критерия Фишера с поправкой на множественные сравнения методом Бенджамини–

Хохберга.

На уровне фил значимые различия были отмечены в первую очередь между группами 3 (НОА и варикоцеле), где наблюдается значительное увеличение частоты обнаружения Actinobacteriota (с 73,5% до 100%,  $p = 0,03$ ), Firmicutes\_C (с 35,3% до 76,2%,  $p = 0,02$ ), Fusobacteriota (с 20,6% до 57,1%,  $p = 0,03$ ) и Deinococcota (с 8,8% до 47,6%,  $p = 0,01$ ), что может свидетельствовать о перестройке микробной экосистемы в сторону более разнообразного и потенциально анаэробного или стрессоустойчивого состава при варикоцеле (Таблица 5).

Таблица 5 – Частота выявления бактериальных таксонов (фил) в ткани яичка в группах сравнения, %

Филы	Группа 1 (НОА), n=34	Группа 2 (ОА), n=21	Группа 3 (Ваp), n=21	p1-2	p1-3	p2-3
Actinobacteriota	73,5	95,2	100,0	0,11	0,03	1,00
Firmicutes_C	35,3	66,7	76,2	0,04	0,02	0,73
Fusobacteriota	20,6	33,3	57,1	0,35	0,03	0,32
Deinococcota	8,8	28,6	47,6	0,11	0,01	0,34

На уровне семейств выявлен широкий спектр таксонов с достоверными различиями в частоте обнаружения между группами. В частности, у пациентов 2 группы (ОА) и варикоцеле (3 группа) существенно выше частота выявления семейств Mусobacteriaceae, Peptoniphilaceae, Streptococcaceae, Lactobacillaceae и Micrococcaceae по сравнению с НОА (1 группа), при этом доля Mусobacteriaceae достигает 100% у пациентов с варикоцеле ( $p < 0,01$ ) (Таблица 6).

Таблица 6 – Частота выявления бактериальных таксонов (семейств) в ткани яичка в группах сравнения, %

Семейства	Группа 1 (НОА), n=34	Группа 2 (ОА), n=21	Группа 3 (Ваp), n=21	p1-2	p1-3	p2-3
Mусobacteriaceae	50,0	85,7	100,0	0,01	<0,01	0,23
Peptoniphilaceae	38,2	81,0	90,5	<0,01	<0,01	0,66
Bacteroidaceae	55,9	81,0	90,5	0,12	0,02	0,66
Streptococcaceae	44,1	76,2	85,7	0,04	0,01	0,70
Lactobacillaceae	41,2	76,2	85,7	0,02	0,01	0,70
Micrococcaceae	44,1	71,4	95,2	0,09	<0,01	0,09
Lachnospiraceae	47,1	57,1	90,5	0,58	<0,01	0,049
Aerococcaceae	26,5	42,9	66,7	0,25	0,01	0,25
Veillonellaceae	23,5	52,4	61,9	0,06	0,03	0,76

Продолжение таблицы 6

Семейства	Группа 1 (НОА), n=34	Группа 2 (ОА), n=21	Группа 3 (Ваp), n=21	p1-2	p1-3	p2-3
Moraxellaceae	38,2	52,4	85,7	0,40	<0,01	0,06
Pseudomonadaceae	29,4	42,9	95,2	0,39	<0,01	<0,01
Weeksellaceae	29,4	66,7	85,7	0,02	<0,01	0,28
Neisseriaceae_563222	32,4	52,4	76,2	0,20	0,01	0,20
Porphyromonadaceae	14,7	28,6	52,4	0,30	0,02	0,30
Acutalibacteraceae	23,5	28,6	61,9	0,75	0,03	0,09
Ruminococcaceae	26,5	33,3	61,9/38,1	0,76	0,04	0,18
Xanthomonadaceae_616009	29,4	42,9	76,2/23,8	0,39	<0,01	0,09
Pasteurellaceae	5,9	23,8	47,6/52,4	0,14	<0,01	0,20
Sphingomonadaceae	20,6	38,1	66,7	0,22	<0,01	0,18
Enterococcaceae	2,9	4,8	33,3	1,00	0,01	0,07
Flavobacteriaceae	20,6	42,9	57,1	0,19	0,03	0,54
Alcanivoracaceae	2,9	14,3	47,6	0,15	<0,01	0,06
Sphingobacteriaceae	2,9	14,3	47,6	0,15	<0,01	0,06
Beijerinckiaceae	23,5	9,5	57,1	0,29	0,03	0,01
Bacillaceae_H_294103	8,8	4,8	47,6	1,00	0,01	0,01
c__Alphaproteobacteria	17,6	28,6	57,1	0,50	0,01	0,18
Nitrococcaceae	0	4,8	38,1	0,38	<0,01	0,03
Nanopelagicaceae	5,9/94,1	38,1	14,3	0,01	0,36	0,24
Helicobacteraceae	0,0/100,0	4,8	23,8	0,38	0,02	0,28
Deinococcaceae	5,9/94,1	23,8	38,1	0,14	0,01	0,51
Propionibacteriaceae	8,8/91,2	9,5	42,9	1,00	0,02	0,049
Rhizobiaceae_A_499470	5,9/94,1	9,5	52,4	0,63	<0,01	0,01
Vibrionaceae	0	0	23,8	1,00	0,02	0,07

Семейства, ассоциированные с анаэробной или факультативно-анаэробной флорой, такие как *Peptoniphilaceae* и *Lachnospiraceae*, демонстрируют значительное увеличение при варикоцеле (3 группа) по сравнению с НОА (1 группа) ( $p < 0,01$ ), что может быть связано с гипоксией и венозным застоем. Кроме того, такие семейства, как *Moraxellaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Weeksellaceae* и *Sphingomonadaceae*, также значительно чаще встречаются у пациентов 3 группы (варикоцеле) ( $p < 0,01$ ), что, вероятно, отражает более высокую бактериальную нагрузку или изменения в тканевом иммунном гомеостазе. Особого внимания заслуживают уникальные таксоны, преимущественно выявляемые в группе варикоцеле, включая семейства *Nitrococcaceae*,

*Vibrionaceae*, *Bacillaceae\_H\_294103*, *Rhizobiaceae* и *Propionibacteriaceae*. Эти бактерии отсутствовали или крайне редко встречались в группах 1 (НОА) и 2 (ОА), однако демонстрировали высокую частоту обнаружения при варикоцеле (группа 3) (до 52,4%,  $p < 0,01$ ), что позволяет рассматривать их как потенциально специфические маркеры микробной трансформации, связанной с этим состоянием. Аналогично, значимое различие между группами 2 (ОА) и 3 (варикоцеле) установлено для семейств *Lachnospiraceae* ( $p = 0,049$ ), *Propionibacteriaceae* ( $p = 0,049$ ), *Rhizobiaceae\_A\_499470* ( $p = 0,01$ ), *Bacillaceae\_H\_294103* ( $p = 0,01$ ) и *Weijerinckiacae* ( $p = 0,01$ ), что указывает на возможность дополнительной стратификации пациентов по микробиологическим признакам.

**Результаты поиска взаимосвязей уровней гормонов, характеристик микробиоты уретры и ткани яичка у пациентов с различными видами азооспермии и сопутствующим варикоцеле.** На данном этапе работы была выполнена сравнительная оценка уровней гормонов и шкалы нарушений сперматогенеза у 104 пациентов, которые составили группу 1 – 72 пациента с НОА, группу 2 – 32 пациента с ОА.

Полученные данные были проанализированы на предмет выявления статистически значимых ассоциаций концентраций гормонов, нарушений сперматогенеза и характеристик микробиоты уретры и тканей яичка.

Проведённый корреляционный анализ позволил выявить статистически значимые ассоциации между характеристиками микробиоты ткани яичка и клинико-лабораторными параметрами у пациентов с НОА. Установлены многочисленные связи между микробными таксонами и уровнями половых гормонов, маркерами сперматогенеза, а также выраженностью воспалительных изменений.

Как видно из Таблицы 7, выявлены отрицательные корреляции между уровнем ФСГ и различными показателями микробного разнообразия и составом тестикулярной микробиоты. Так, уровень ФСГ обратно коррелировал с филогенетическим разнообразием ( $R = -0,314$ ;  $p = 0,007$ ) и численностью таких таксонов, как *Lactobacillaceae* ( $R = -0,383$ ;  $p < 0,001$ ), *Streptococcaceae* ( $R = -0,357$ ;  $p = 0,012$ ), *Veillonellaceae* ( $R = -0,332$ ;  $p = 0,034$ ), *Moraxellaceae* ( $R = -0,340$ ;  $p = 0,028$ ), *Pasteurellaceae* ( $R = -0,317$ ;  $p = 0,041$ ) и *Xanthomonadaceae* ( $R = -0,312$ ;  $p = 0,015$ ), что может указывать на возможное подавление локального микробного разнообразия при выраженной гипергонадотропной стимуляции.

Таблица 7 – Значимые корреляции между характеристиками микробиоты ткани яичка и клинико-лабораторными показателями у пациентов с необструктивной азооспермией

Показатель	Таксон / Показатель микробиоты	R	p
ФСГ	Филогенетическое разнообразие	-0,314	0,007
ФСГ	<i>Lactobacillaceae</i>	-0,383	<0,001
ФСГ	<i>Streptococcaceae</i>	-0,357	0,012
ФСГ	<i>Veillonellaceae</i>	-0,332	0,034
ФСГ	<i>Moraxellaceae</i>	-0,340	0,028
ФСГ	<i>Pasteurellaceae</i>	-0,317	0,041

Продолжение таблицы 7

Показатель	Таксон / Показатель микробиоты	R	p
ФСГ	Xanthomonadaceae	-0,312	0,015
ЛГ	ASV (общее число)	-0,312	0,006
ЛГ	Lactobacillaceae	-0,320	0,017
ЛГ	Moraxellaceae	-0,393	<0,001
ЛГ	Porphyromonadaceae	-0,303	0,004
ЛГ	Flavobacteriaceae	-0,400	0,001
ЛГ	Dermatophilaceae	-0,344	0,030
ЛГ	Sphingobacteriaceae	-0,342	0,024
ЛГ	Salinicoccaceae	-0,304	0,046
Ингибин В	Bacteroidaceae	0,409	0,028
Ингибин В	Burkholderiaceae_A	0,445	<0,001
Ингибин В	Pasteurellaceae	0,479	<0,001
Ингибин В	Aerococcaceae	0,318	0,016
Ингибин В	Acutalibacteraceae	0,375	0,004
Ингибин В	Coriobacteriaceae	0,326	0,014
Тестостерон	Burkholderiaceae_A	0,328	0,001
Тестостерон	Actinomycetaceae	0,404	<0,001
Тестостерон	Streptomycetaceae	0,368	0,024
Шкала нарушений сперматогенеза	Burkholderiaceae_A	0,309	0,008
Шкала нарушений сперматогенеза	Pseudomonadaceae	0,289	0,006
Шкала нарушений сперматогенеза	Acutalibacteraceae	0,259	0,019
Шкала нарушений сперматогенеза	Pasteurellaceae	0,297	0,034
Шкала нарушений сперматогенеза	Dermabacteraceae	0,293	0,027
Шкала нарушений сперматогенеза	Marinococcaceae	0,232	0,036
Шкала нарушений сперматогенеза	Coprobacillaceae	0,266	0,022
Шкала нарушений сперматогенеза	Haliangiaceae	0,254	0,013
Шкала нарушений сперматогенеза	Caulobacteraceae	0,244	0,047

Аналогичным образом, уровень ЛГ показал статистически значимую отрицательную корреляцию с общим числом ASV (amplicon sequence variants) ( $R = -0,312$ ;  $p = 0,006$ ), а также с относительным содержанием *Lactobacillaceae* ( $R = -0,320$ ;  $p = 0,017$ ), *Moraxellaceae* ( $R = -0,393$ ;  $p < 0,001$ ), *Porphyromonadaceae* ( $R = -0,303$ ;  $p = 0,004$ ), *Flavobacteriaceae* ( $R = -0,400$ ;  $p = 0,001$ ), *Dermatophilaceae* ( $R = -0,344$ ;  $p = 0,030$ ), *Sphingobacteriaceae* ( $R = -0,342$ ;  $p = 0,024$ ) и *Salinicoccaceae* ( $R = -0,304$ ;  $p = 0,046$ ). Эти данные могут свидетельствовать о системном влиянии гонадотропной дисрегуляции на локальные микробные сообщества.

В противоположность этому, уровень ингибина В, отражающий функциональную активность клеток Сертоли, положительно коррелировал с численностью различных бактериальных таксонов: *Bacteroidaceae* ( $R = 0,409$ ;  $p = 0,028$ ), *Burkholderiaceae\_A* ( $R = 0,445$ ;  $p < 0,001$ ), *Pasteurellaceae* ( $R = 0,479$ ;  $p < 0,001$ ), *Aerococcaceae* ( $R = 0,318$ ;  $p = 0,016$ ), *Acutalibacteraceae* ( $R = 0,375$ ;  $p = 0,004$ ) и *Coriobacteriaceae* ( $R = 0,326$ ;  $p = 0,014$ ), что может указывать на возможную связь между сохранённой функцией

поддерживающих клеток и наличием определённой тестикулярной микробиоты.

Интересные закономерности наблюдались при оценке выраженности воспалительных изменений по шкале нарушений сперматогенеза. Относительное обилие *Burkholderiaceae\_A* показало умеренную положительную корреляцию с баллами по шкале ( $R = 0,309$ ;  $p = 0,008$ ), что позволяет предположить участие представителей данного таксона в формировании локального воспалительного ответа. Также статистически значимые положительные корреляции с уровнем воспаления были зафиксированы для *Pseudomonadaceae* ( $R = 0,289$ ;  $p = 0,006$ ), *Acetivibacteraceae* ( $R = 0,259$ ;  $p = 0,019$ ), *Pasteurellaceae* ( $R = 0,297$ ;  $p = 0,034$ ), *Dermabacteraceae* ( $R = 0,293$ ;  $p = 0,027$ ), *Marinococcaceae* ( $R = 0,232$ ;  $p = 0,036$ ), *Coprobaecillaceae* ( $R = 0,266$ ;  $p = 0,022$ ), *Haliangiaceae* ( $R = 0,254$ ;  $p = 0,013$ ) и *Caulobacteraceae* ( $R = 0,244$ ;  $p = 0,047$ ), что может свидетельствовать об их роли в патогенезе хронического воспалительного процесса.

Таким образом, полученные данные указывают на наличие сложных взаимосвязей между гормональным статусом, воспалительными маркерами и структурой микробных сообществ ткани яичка у пациентов с НОА, часть из которых может быть клинически значимой и требует дальнейшего изучения в рамках патогенеза нарушений сперматогенеза.

**Взаимосвязь состава микробиоты ткани яичка с клинико-лабораторными показателями пациентов с обструктивной азооспермией.** Корреляционный анализ, проведённый у пациентов с ОА, выявил ряд статистически значимых ассоциаций между таксономическим составом микробиоты ткани яичка и ключевыми клинико-лабораторными показателями, отражающими гормональный статус, сперматогенную активность и наличие воспалительных изменений (Таблица 8).

Таблица 8 – Значимые корреляции между характеристиками микробиоты ткани яичка и клинико-лабораторными показателями у пациентов с обструктивной азооспермией

Клинический показатель	Таксон / Показатель микробиоты	R	p
ФСГ	Streptococcaceae	0,659	<0,001
ФСГ	Flumetobacteraceae	0,368	0,028
ФСГ	Rhodanobacteraceae	-0,387	0,014
ЛГ	Streptococcaceae	0,490	0,004
ЛГ	Weeksellaceae	0,424	0,048
ЛГ	Porphyromonadaceae	0,397	0,037
Ингибин В	Bacteroidaceae	0,459	0,010
Ингибин В	Acetobacteraceae	0,381	0,022
Ингибин В	Enterobacteriaceae_A	0,537	<0,001
Ингибин В	Dialisteraceae	0,489	0,031
Ингибин В	Pasteurellaceae	0,386	0,044
Ингибин В	Bacillaceae_H	0,379	0,027
Ингибин В	Marinococcaceae	0,386	0,039
Ингибин В	Oscillospiraceae	0,563	<0,001
Ингибин В	Coprobaecillaceae	0,430	0,002
Ингибин В	Beijerinckiaceae	0,417	0,037

Продолжение таблицы 8

Клинический показатель	Таксон / Показатель микробиоты	R	p
Ингибин В	Peptostreptococcaceae	0,372	0,049
Ингибин В	c__Polyangia;o DRWM01;f _ JAAZOP01	0,381	0,012
Ингибин В	Coriobacteriaceae	0,479	0,024
Ингибин В	Listeriaceae	0,433	0,008
Ингибин В	c__Alphaproteobacteria; ;__	0,379	0,038
Ингибин В	Xanthobacteraceae	0,528	0,019
Ингибин В	o__Vicinamibacterales;f__UBA2999	0,501	0,009
Ингибин В	o__Burkholderiales;f__SG8-39	0,463	0,015
Ингибин В	Rhodanobacteraceae	0,458	0,043
Ингибин В	o__Bacillales_B;f__DSM-18226	0,366	0,046
Ингибин В	Streptosporangiaceae	0,376	0,038
Тестостерон	Bacteroidaceae	0,388	0,014
Тестостерон	Dermabacteraceae	-0,441	0,012
Тестостерон	Pelagibacteraceae	-0,390	0,040
Шкала нарушений сперматогенеза	Burkholderiaceae_A	-0,379	<0,001
Шкала нарушений сперматогенеза	Aerococcaceae	0,379	0,017
Шкала нарушений сперматогенеза	Veillonellaceae	-0,361	0,009
Шкала нарушений сперматогенеза	Obscuribacteraceae	-0,390	0,023
Шкала нарушений сперматогенеза	Chitinophagaceae	-0,408	0,002
Шкала нарушений сперматогенеза	c__Polyangia;o DRWM01;f _ JAAZOP01	-0,437	0,012
Шкала нарушений сперматогенеза	Haliangiaceae	-0,431	0,009

Проведенное исследование показало, что для микробиоты ткани яичка при ОА характерно множество значимых ассоциаций с гормональными и воспалительными параметрами. В отличие от НОА наблюдается преобладание положительных корреляций между микробными таксонами и уровнем ингибина В, что может указывать на различную структуру микробных паттернов в зависимости от патогенетического варианта азооспермии. Эти данные подчёркивают важность учёта микробного компонента в комплексной оценке мужского бесплодия.

Установлено также, что микробиота уретры при ОА характеризуется рядом значимых ассоциаций с уровнями гонадотропинов, андрогенов и маркеров воспаления. Эти данные подтверждают участие уретральной микробной экосистемы в локальной регуляции иммунного баланса и подчеркивают её возможную диагностическую или прогностическую ценность при оценке состояния мужского репродуктивного тракта даже в условиях сохранённого сперматогенеза.

**Разработка модели прогнозирования результатов программ вспомогательных репродуктивных технологий на основании характеристик микробиоты яичка и уретры пациентов с азооспермией.** На следующем этапе работы были проанализированы микробиологические параметры у пациентов с различными формами азооспермии, с учётом исходов применения ВРТ. Всего исследовано 208 образцов, полученных от 104 пациентов. От каждого пациента было получено два типа образцов – биоптаты ткани яичка и мазки из уретры. Пациенты были стратифицированы по двум основным диагностическим категориям – НОА и ОА – с последующим разделением по результатам ВРТ.

У 72 пациентов диагностирована НОА, из которых у 56 был получен отрицательный результат (группа 1А), у 16 был получен положительный результат ВРТ (наличие беременности у партнёрши) (группа 1Б). В группу с ОА вошли 32 пациента: у 19 из них ВРТ завершилось отсутствием результата (группа 2А), у 13 был получен положительный результат (группа 2Б).

Использованный дизайн исследования позволил обеспечить прямое сопоставление локального микробного профиля уретры и ткани яичка с клиническими исходами ВРТ, что создаёт предпосылки для выявления микробиомных маркеров прогноза эффективности лечения.

Анализ таксономической структуры микробиоты биоптатов ткани яичка выявил различия в распределении доминирующих фил в зависимости от формы азооспермии и результата применения ВРТ (Таблица 9). Наиболее широко представленной филой во всех исследуемых группах оказалась *Proteobacteria*, с максимальной относительной представленностью у пациентов с НОА и отрицательным результатом ВРТ (34,9%).

Таблица 9 – Таксономический состав микробиоты яичка (относительная представленность фил) у пациентов с различными видами азооспермии в зависимости от результата ВРТ, %

Фила	Группа 1А (НОА, ВРТ-), n=56	Группа 1Б (НОА, ВРТ+), n=16	Группа 2А (ОА, ВРТ-), n=19	Группа 2Б (ОА, ВРТ+), n=13
<i>Proteobacteria</i>	34,9	33,2	23,6	18,1
<i>Firmicutes_D</i>	9,3	6,3	8,9	9,3
<i>Actinobacteriota</i>	6,2	7,6	6,9	9,2
<i>Firmicutes_A</i>	4,2	5,1	5,8	2,9
<i>Bacteroidota</i>	3,8	5,2	3,3	5,9
Other	41,6	42,6	51,5	54,9

В группе с положительным результатом ВРТ при НОА этот показатель снижался до 33,2%, а в группах с ОА – более выражено: до 23,6% (ВРТ-) и 18,1% (ВРТ+), что может свидетельствовать о потенциальной связи избыточного присутствия *Proteobacteria* с неблагоприятными исходами ВРТ и выраженными нарушениями сперматогенеза при НОА.

Второй по частоте филой были представители *Firmicutes*. Примечательно, что таксоны этой группы были представлены отдельно как *Firmicutes\_D*, так и

*Firmicutes\_A*, что, вероятно, отражает их филогенетическое и функциональное разделение в используемой таксономической базе. Доля *Firmicutes\_D* колебалась от 6,3% (НОА, ВРТ+) до 9,3% (НОА, ВРТ– и ОА, ВРТ+), в то время как *Firmicutes\_A* варьировала от 2,9% (ОА, ВРТ+) до 5,8% (ОА, ВРТ–).

Представители *Actinobacteriota*, напротив, демонстрировали умеренное увеличение относительной представленности у пациентов с положительным результатом ВРТ, как при НОА (с 6,2% до 7,6%), так и при ОА (с 6,9% до 9,2%), что может свидетельствовать о возможной роли этой филы в поддержании или восстановлении локального микробного гомеостаза, способствующего успешному исходу ВРТ. Филя *Bacteroidota* также демонстрировала тенденцию к увеличению в группах с положительным результатом ВРТ: при НОА с 3,8% до 5,2%, при ОА с 3,3% до 5,9%. Это может отражать участие представителей *Bacteroidota* в модуляции иммунной среды яичка или влиянии на метаболическую активность клеток Сертоли и Лейдига.

Анализ микробного профиля ткани яичка у пациентов с ОА и НОА продемонстрировал вариабельность относительной представленности ключевых бактериальных семейств в зависимости от формы азооспермии и клинического исхода ВРТ (Таблица 10).

Таблица 10 – Таксономический состав микробиоты яичка (относительная представленность семейств) у пациентов с различными видами азооспермии в зависимости от результата ВРТ, %

Семейство	Группа 1А (НОА, ВРТ-) n=56	Группа 1Б (НОА, ВРТ+) n=16	Группа 2А (ОА, ВРТ-) n=19	Группа 2Б (ОА, ВРТ+) n=13
<i>Enterobacteriaceae_A</i>	17,6	6,7	5,3	7,6
<i>Burkholderiaceae_A_580492</i>	9,3	16,9	4,3	7,9
<i>Acetobacteraceae</i>	3,7	1,6	0,6	1,0
<i>Mycobacteriaceae</i>	2,8	2,3	3,1	5,4
<i>Peptoniphilaceae</i>	2,0	2,0	1,6	2,5
<i>Staphylococcaceae</i>	1,8	2,2	3,2	1,4
<i>Bacteroidaceae</i>	1,4	1,9	3,1	0,4
<i>Lactobacillaceae</i>	1,3	2,4	1,4	1,0
<i>Lachnospiraceae</i>	0,9	2,4	1,8	0,6
<i>Obscuribacteraceae</i>	0,9	0,7	2,7	4,3
<i>Streptococcaceae</i>	0,7	1,7	2,3	1,5
<i>Chitinophagaceae_966727</i>	0,3	0,3	2,1	1,1
Other	57,1	58,8	68,5	65,3

Среди доминирующих таксонов выделялись представители *Enterobacteriaceae\_A* и *Burkholderiaceae\_A\_580492*, составившие значительную долю микробной популяции во всех исследуемых группах. Наибольшая относительная представленность семейства *Enterobacteriaceae\_A* наблюдалась в группе пациентов с НОА и неудачным исходом ВРТ (17,6%), с последующим резким снижением в группе НОА/ВРТ+ (6,7%) и ещё более низкими значениями в группах ОА (5,3% и 7,6% соответственно).

Выявленная динамика может свидетельствовать о возможной ассоциации высоких уровней *Enterobacteriaceae\_A* с неблагоприятным микробным профилем, препятствующим успешному проведению ВРТ, особенно в условиях выраженного нарушения сперматогенеза при НОА. В противоположность этому, семейство *Burkholderiaceae\_A\_580492* продемонстрировало обратную зависимость: в группе НОА/ВРТ+ его доля была наибольшей (16,9%), тогда как в группе НОА/ВРТ– составляла лишь 9,3%, а при ОА показатели были ещё ниже (4,3–7,9%). Это может указывать на потенциальную протективную роль *Burkholderiaceae*-подобных таксонов в репродуктивной нише при условии НОА.

Также заслуживают внимания представители *Mycobacteriaceae*, чья относительная представленность увеличивалась в группах с успешным исходом ВРТ (5,4% при ОА/ВРТ+, 2,3% при НОА/ВРТ+), что, возможно, связано с их участием в регуляции локального иммунного статуса или поддержании тканевого гомеостаза. Интересные различия также наблюдались в семействе *Bacteroidaceae*: при ОА/ВРТ– его доля была максимальной (3,1%), в то время как при ОА/ВРТ+ резко снижалась до 0,4%. Подобная обратная динамика может свидетельствовать о возможном участии представителей *Bacteroidaceae* в воспалительных или деструктивных процессах, снижающих вероятность успешной имплантации эмбриона.

Некоторые семейства демонстрировали повышенную представленность в группах с положительным исходом ВРТ, в частности *Lachnospiraceae* (2,4% при НОА/ВРТ+) и *Lactobacillaceae* (2,4% при НОА/ВРТ+), что может свидетельствовать о благоприятной роли этих анаэробных и факультативных бактерий в поддержании микробного равновесия и барьерной функции. Наконец, наиболее выраженные различия в группе ОА касались семейства *Obscuribacteraceae*, доля которого возрастала при положительном результате ВРТ (4,3% против 2,7%), а также *Chitinophagaceae\_966727* (2,1% при ОА/ВРТ– и 1,1% при ВРТ+), что требует дальнейшей интерпретации с учётом их потенциальной роли в локальных иммуномодулирующих механизмах.

Совокупно, категория *Other* включала разнообразные и малораспространённые таксоны, суммарная представленность которых была выше при ОА (68,5% и 65,3%), чем при НОА (57,1% и 58,8%). Это может отражать большую таксономическую неоднородность микробиоты ткани яичка у пациентов с обструкцией, вероятно вследствие анатомической изоляции и снижения микробного обмена с уретрой.

Таксономический анализ микробиоты ткани яичка у пациентов с НОА выявил статистически значимые различия в представленности бактериальных семейств между группами с положительным и отрицательным результатом применения ВРТ. В частности, у пациентов с успешным исходом ВРТ наблюдалось достоверное увеличение относительной представленности 11 бактериальных семейств. Эти изменения затрагивали как условно-комменсальные таксоны, так и представителей с предполагаемыми метаболически активными или иммуномодулирующими функциями (Таблица 11).

Таблица 11 – Бактериальные семейства, относительная представленность которых статистически значимо различается в микробиоте ткани яичка у пациентов с НОА в зависимости от результатов ВРТ, М±m

Семейство	Группа 1А (НОА, ВРТ-), n=56	Группа 1Б (НОА, ВРТ+), n=16	p
<i>Acutalibacteraceae</i>	0,120±0,039	0,469±0,177	<0,001
<i>Pasteurellaceae</i>	0,155±0,094	0,229±0,087	0,004
<i>Coprobacillaceae</i>	0,015±0,006	0,155±0,062	0,006
<i>Ruminococcaceae</i>	0,144±0,048	0,653±0,286	0,022
<i>Trueperaceae</i>	0,024±0,024	0,102±0,071	0,027
<i>Cellvibrionaceae</i>	0,005±0,004	0,665±0,582	0,030
<i>Eggerthellaceae</i>	0,0002±0,0002	0,055±0,051	0,036
<i>Alcanivoracaceae</i>	0,104±0,046	0,284±0,133	0,038
<i>Porphyromonadaceae</i>	0,193±0,105	0,333±0,162	0,044
<i>Coriobacteriaceae</i>	0,064±0,024	0,171±0,081	0,046
<i>Lachnospiraceae</i>	0,934±0,198	2,400±0,799	0,049

Наиболее выраженные различия касались семейств *Acutalibacteraceae*, *Cellvibrionaceae*, *Coprobacillaceae*, *Ruminococcaceae*, *Trueperaceae* и *Eggerthellaceae*, доля которых в ткани яичка у пациентов с ВРТ+ была существенно выше, чем у пациентов с ВРТ-. Например, представители семейства *Acutalibacteraceae*, практически отсутствовавшие у мужчин с неудачным результатом ВРТ (в среднем 0,12%), демонстрировали четырехкратное увеличение доли при успешной имплантации (0,47%;  $p < 0,001$ ), что может свидетельствовать о положительной роли данного таксона в формировании микробной ниши, поддерживающей гомеостаз ткани и потенциально содействующей сперматогенезу.

Значительное повышение доли *Ruminococcaceae* и *Lachnospiraceae*, известных своими метаболическими функциями в продукции короткоцепочечных жирных кислот, может указывать на активацию анаэробных метаболических путей, способствующих поддержанию барьерных свойств гемато-тестикулярного барьера или иммунной толерантности. Подобное повышение может отражать восстановление функционального микробного ядра в условиях успешно функционирующих клеток Сертоли.

Дополнительного внимания заслуживает семейство *Coriobacteriaceae*, представители которого ранее ассоциировались с гормональной активностью и модуляцией воспалительных процессов. Представленность этих семейств была почти в три раза выше при положительном результате ВРТ, что подтверждает гипотезу об их возможной роли в обеспечении локального микробно-гормонального баланса.

Анализ микробиоты уретры также выявил значимые изменения между группами сравнения.

При положительном исходе ВРТ достоверно снижалась относительная представленность семейства *Streptococcaceae* и неопределённых (*Unassigned*) таксонов, что может отражать снижение микробной нагрузки и восстановление таксономической специфичности уретрального сообщества. Повышение доли *Enterococcaceae*,

*Brevibacteriaceae*, *Microbacteriaceae* и *Rikenellaceae* в группе ВРТ+ может свидетельствовать о формировании микробного профиля, менее склонного к провоспалительным реакциям и лучше адаптированного к физиологическому состоянию.

Особенно показательной является резкая разница в представленности *Enterococcaceae* – семейства, нередко считающегося условно-патогенным, но в определённых условиях способного выполнять протективную функцию. Их доля при ВРТ+ увеличивалась более чем в 10 раз, что, возможно, отражает фенотипическую разницу штаммов или метаболическую кооперацию с другими представителями уретрального микробиома.

Снижение неопределённых (*Unassigned*) таксонов при ВРТ+ может интерпретироваться как индикатор более стабильного и хорошо сформированного микробного сообщества, тогда как их высокая представленность у пациентов с ВРТ- может свидетельствовать о микробной нестабильности, дисбиозе или присутствии недостаточно изученных микроорганизмов с потенциальной патогенностью.

Выявленные различия в микробиоте ткани яичка и уретры у пациентов с НОА в зависимости от исхода ВРТ подчеркивают важную роль микробного сообщества в патофизиологии репродуктивной функции. Рост представительства метаболически активных и иммуномодулирующих таксонов в ткани яичка, а также формирование более сбалансированной микробиоты уретры у пациентов с успешным ВРТ, может отражать улучшение локального микробно-гормонального баланса, что способствует достижению беременности у партнёра. Эти данные открывают перспективы для использования микробиомных профилей как прогностических биомаркеров и потенциальных мишеней для микробиальной коррекции с целью повышения эффективности ВРТ.

Анализ результатов, представленных в Таблице 12, позволяет констатировать, что у пациентов с ОА и ВРТ- выявлено статистически значимое повышение частоты встречаемости трёх бактериальных семейств по сравнению с группой ВРТ+.

Таблица 12 – Бактериальные семейства, для которых выявлены статистически значимые различия представленности в микробиоте ткани яичка пациентов с ОА в зависимости от результатов ВРТ, абс. (%)

Семейство	Группа 2А (ОА, ВРТ), n=19	Группа 2Б (ОА, ВРТ+), n=13	p
<i>Beijerinckiaceae</i>	8 (42.1%)	0	0,010
<i>Actinomycetaceae</i>	8 (42.1%)	1 (7,7%)	0,049
<i>Oscillospiraceae</i>	8 (42.1%)	1 (7,7%)	0,049

В частности, семейства *Beijerinckiaceae* (42,1% против 0%,  $p = 0,010$ ), *Actinomycetaceae* (42,1% против 7,7%,  $p = 0,049$ ) и *Oscillospiraceae* (42,1% против 7,7%,  $p = 0,049$ ) значительно чаще обнаруживаются в ткани яичка пациентов с неудачным исходом ВРТ. Данная закономерность свидетельствует о возможном участии этих

таксонов в формировании неблагоприятного микробного окружения, ассоциированного с нарушением сперматогенеза или локальной иммунной дисфункцией, что отрицательно сказывается на эффективности репродуктивных вмешательств.

При сравнении микробиоты уретры у пациентов с ОА выявлено, что у группы ВРТ- значительно реже встречаются семейства *Burkholderiaceae* (5,3% против 53,8%,  $p = 0,003$ ), *Polyangia* (0% против 30,8%,  $p = 0,012$ ) и *Chitinophagaceae* (10,5% против 46,2%,  $p = 0,038$ ) по сравнению с пациентами с положительным результатом ВРТ.

Снижение частоты представителей этих семейств у лиц с отрицательным исходом может свидетельствовать о нарушении микробного баланса уретральной среды, которая в норме способствует поддержанию локального иммунного гомеостаза и благоприятному репродуктивному потенциалу. Особенно заметна разница по семейству *Burkholderiaceae*, играющему, по данным ряда исследований, важную роль в микробиомной регуляции слизистых оболочек.

Таким образом, полученные данные подтверждают значимое влияние специфического состава микробиоты ткани яичка и уретры на исход применения ВРТ у пациентов с ОА. Наличие повышенной частоты *Veijerinckiacae*, *Actinomycetaceae* и *Oscillospiraceae* в ткани яичка при ВРТ- указывает на потенциальное участие этих таксонов в патогенезе неблагоприятных исходов, в то время как сниженная представленность *Burkholderiaceae*, *Polyangia* и *Chitinophagaceae* в уретре может отражать дисбиоз, способствующий репродуктивным нарушениям.

**Разработка классификационной модели прогноза эффективности программ ВРТ на основе характеристик микробиоты яичка и уретры у пациентов с НОА.** Для оценки прогностической значимости микробиоты тканей яичка и уретры у пациентов с НОА в контексте результата применения ВРТ была разработана классификационная модель с использованием алгоритма дерева решений. Анализ проводился только для пациентов с НОА, поскольку объём выборки в группе ОА оказался недостаточным для построения статистически надёжной модели. В качестве входных параметров использовались данные о наличии или отсутствии определённых бактериальных таксонов, преимущественно идентифицированных до уровня вида, что позволяет в дальнейшем адаптировать модель для практического применения.

Наиболее точная модель, построенная на основе микробиоты ткани яичка, представлена на Рисунке 8. Она обеспечивает правильную классификацию положительных исходов ВРТ (ВРТ+) в 93,75% случаев (15 из 16 пациентов) и отрицательных исходов (ВРТ-) в 91,1% случаев (51 из 56 пациентов). Общая точность модели составила 91,9%.

Ключевыми дискриминантными таксонами, включёнными в модель, оказались *Leuconostoc falkenbergense*, *Ruminococcus\_E* sp003438075, *Bifidobacterium adolescentis*, *g\_Staphylococcus*, *g\_Rubellimicrobium*, *g\_Bacillus\_P\_294101* и *s\_Bacilli*. Присутствие некоторых видов, в частности *Bifidobacterium adolescentis* и *Leuconostoc falkenbergense*, ассоциировалось с благоприятными исходами ВРТ, тогда как отсутствие *s\_Bacilli* и

наличие *g\_Staphylococcus* повышало вероятность неудачи.

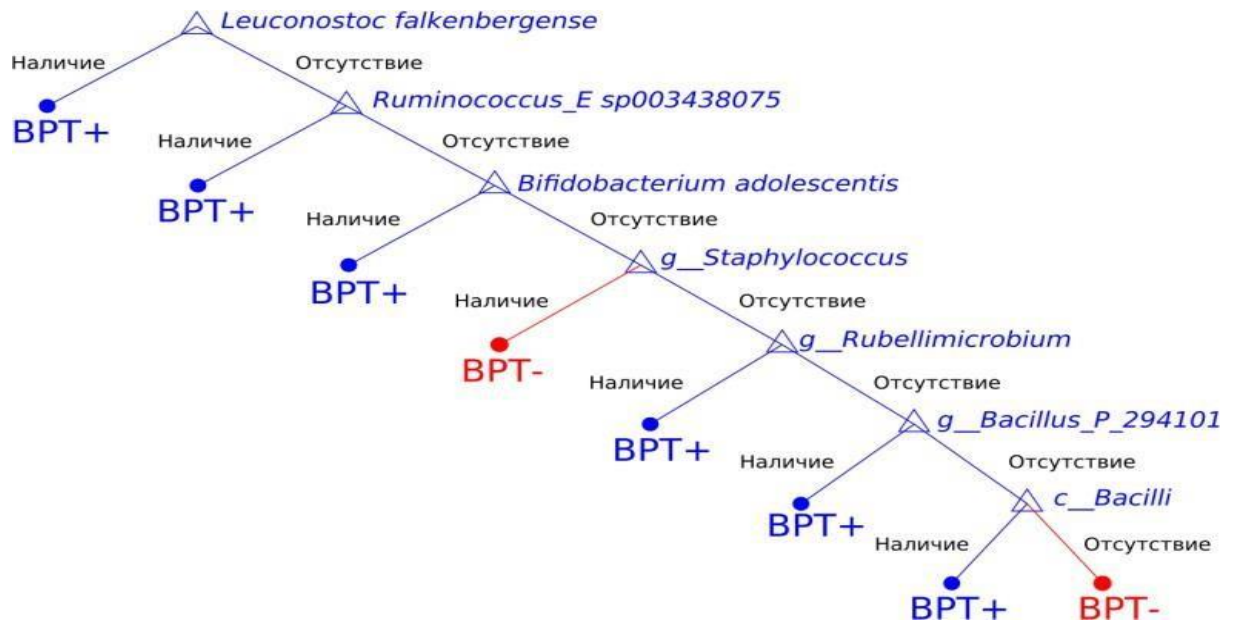


Рисунок 8 – Модель прогноза результатов применения программ ВРТ на основе видового состава микробиоты яйца

Модель, основанная на характеристиках микробиоты уретры, представленная на Рисунке 9, показала высокую специфичность при умеренной чувствительности. Она позволила корректно предсказать 68,75% положительных результатов ВРТ (11 из 16 пациентов) и 98,2% отрицательных результатов (55 из 56 пациентов), обеспечивая общую точность классификации 91,2%.

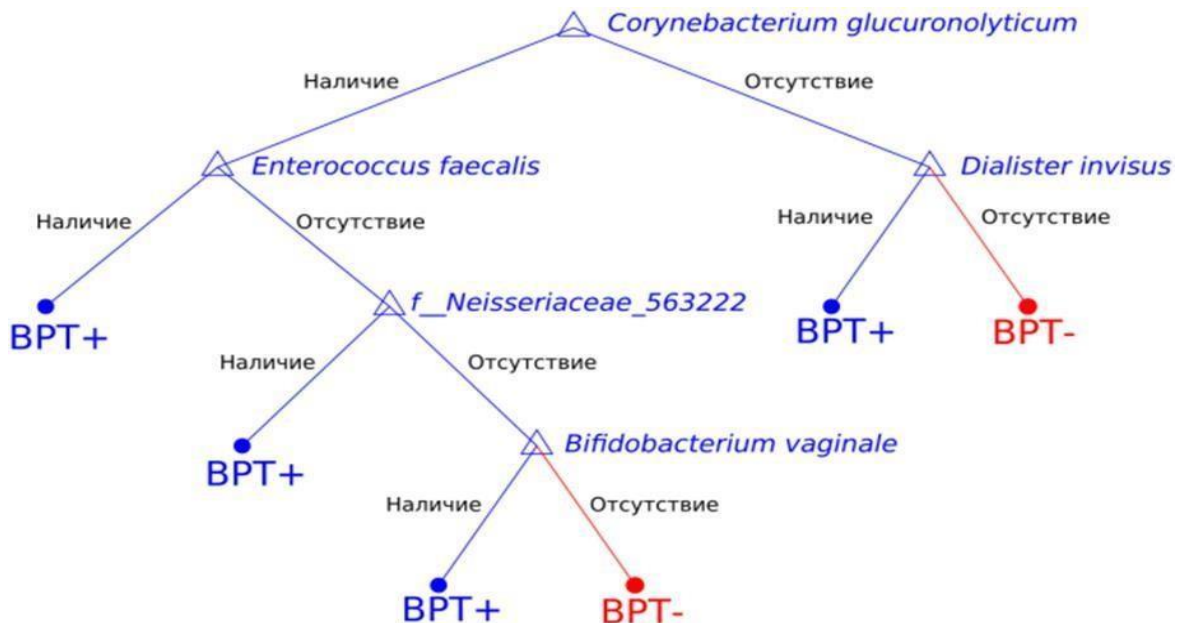


Рисунок 9 – Модель прогноза результатов применения программ ВРТ на основе видового состава микробиоты уретры

Таким образом, полученные модели демонстрируют высокую прогностическую ценность характеристик микробиоты, особенно при анализе ткани яичка. Применение разработанных зависимостей позволит осуществлять персонализацию подходов к лечению бесплодия у мужчин с НОА и может стать основой для разработки микробиологических диагностических тестов, направленных на оценку репродуктивного прогноза при планировании проведения ВРТ.

Разработка новой стратегии скрининга мужской фертильности на основе молекулярных инструментов представляет собой насущную потребность. Действительно, экспрессия генов стала важным инструментом для диагностики, прогноза и стратегии лечения пациентов с данной патологией. В рамках нашего исследования разработан метод выделения бактериальной ДНК из биоптата яичка с целью характеристики тестикулярного микробиома у фертильных пациентов, что является высокоактуальным при диагностике факторов мужского бесплодия.

Сопоставление собственных результатов исследования и данных литературы позволило нам предложить к применению в клиничко-лабораторной практике набор праймеров для проведения ПЦР при оценке микробиома уретры и ткани яичка мужчин с азооспермией (Таблица 13). Использование подобного набора в рамках диагностического обследования пациентов в центрах репродуктологии позволит значительно повысить точность диагностики, будет способствовать персонализации ведения мужчин с азооспермией и повышению эффективности прогнозирования результатов участия пациентов в программах ВРТ.

Таблица 13 – Патогенетическое обоснование предлагаемого набора праймеров, рекомендуемых при проведении ПЦР для оценки микробиома мужчин с азооспермией

Семейства микроорганизмов	Род / вид микроорганизмов	Механизм действия/ клиническая значимость	Действие на сперматозоиды	Рекомендуемые мишени ПЦР / гены	Примеры праймеров (последовательности)
Acutalibacteraceae (Firmicutes_A; Clostridia; Oscillospirales)	Acutalibacter spp.	Ассоциируется с дисбиозом, влияет на иммунный ответ, возможное опосредованное действие через метаболиты	Непосредственные клинические эффекты на сперму не подтверждены	16S rRNA (V3–V4 или V4–V5) в метагеномных исследованиях; предлагается разработать генноспецифические праймеры по 16S.	Универсальные 16S праймеры (например, 341F/806R)
Pasteurellaceae (Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales)	Haemophilus spp., Aggregatibacter spp.	Способны вызывать хроническое воспаление урогенитального тракта; потенциально негативно влияют на сперматогенез при инфекции	Потенциальное снижение жизнеспособности и подвижности и сперматозоидов при хронической инфекции	16S rRNA (видоспецифические мишень, например, hpd for H. influenzae in respiratory studies) или видоспецифическая ПЦР	Мишени hpd-праймеров, 16S-праймеры
Flavobacteriaceae (Bacteroidota; Bacteroidia; Flavobacteriales)	Flavobacterium spp., Chryseobacterium spp.	Анаэробные/ факультативно-анаэробные; по данным NGS-исследований семенной микробиоты связаны с дисбиозом; вызывают	Связь с уменьшением подвижности и нарушениями морфологии и сперматозоидов показана в отдельных исследованиях	16S rRNA (генно-/видоспецифические праймеры 16S) или функциональные гены (например csIA для F. columnare).	Видоспецифические 16S праймеры для Flavobacterium

		воспаление , опосредова нное цитокинам и			
Burkholde riaceae (Proteoba cteria; Gamma- proteobact eria; Burkholde riales)	Burkholderi a spp., Ralstonia spp. (Ralstonia Proteobacter ia)	Некоторые представит ели (Pseudomo nas-like и Burkholder ia) выделяют токсичные ферменты; могут вызывать воспалени е и нарушения сперматоге неза	Снижение подвижност и и жизнеспосо бности сперматозои дов, зависит от вида микроорган измов	recA или gyrB для Burkholderia ; 16S. Для Ralstonia – 16S или генно- специфичес кие мишени	recA преймеры BUR1/BUR2 и BUR3/BUR 4 gyrB-based праймеры

## ВЫВОДЫ

1. У мужчин с азооспермией при морфологическом анализе нативных биоптатов яичка нарушения сперматогенеза характеризуются высокой частотой отсутствия сперматозоидов (81,9% у пациентов с необструктивной азооспермией, 17,7% – у пациентов с обструктивной азооспермией,  $p < 0,001$ ), выраженными морфологическими признаками нарушения сперматогенеза ( $2,77 \pm 0,71$  балла у пациентов с НОА и  $5,83 \pm 0,93$  балла при ОА,  $p = 0,001$ ). Наличие признаков нарушений сперматогенеза сопровождается повышением количества тучных клеток со специфической активной триптазой (CPA3+ТК) в семенных канальцах ( $45,22 \pm 9,08$  клеток на  $1 \text{ мм}^2$  ткани при НОА,  $26,05 \pm 10,31$  при ОА,  $p = 0,012$ ), что характерно для различных участков ткани яичка: перитубулярного, периваскулярного микроокружения и межтубулярного интерстиция и периваскулярного микроокружения. Корреляционный анализ подтверждает наличие статистически значимой взаимосвязи между выраженностью нарушений сперматогенеза и количеством CPA3+ТК в интерстиция яичка ( $r = -0,763$ ,  $p < 0,001$  при НОА и  $r = -0,759$ ,  $p = 0,004$  при ОА).

2. Метод малоинвазивного выделения бактериальной ДНК из биоптата тестикулярной ткани у инфертильных мужчин, предусматривающий интраоперационный забор образца тестикулярной ткани путем биопсии яичка с последующим забором материала из уретры, позволяет осуществлять углубленное

изучение микробиоты тестикулярной ткани. Это способствует повышению эффективности диагностики репродуктивного потенциала мужчины и позволяет обосновать алгоритм выбора тактики преодоления мужской infertility, в том числе путем эффективного применения программ вспомогательных репродуктивных технологий.

3. Структура и таксономическое разнообразие микробиома тестикулярной ткани достоверно различаются у пациентов с обструктивной (ОА) и необструктивной (НОА) азооспермией, что было установлено в исследовании, проведенном методом NGS. Для группы НОА характерно статистически значимое обеднение микробного сообщества (снижение альфа-разнообразия), в то время как при ОА формируется разнообразная и специфичная микробная экосистема. Общим для обеих групп является выявление колонизации ткани яичка представителями фил Firmicutes, Pseudomonadota, Bacteroidota и Fusobacteriota. Ключевым общим таксоном является семейство Lactobacillaceae, которое детектировалось в 87,5% случаев в группе ОА и в 54,3% случаев в группе НОА, что подтверждает его потенциальную роль в микробной экологии яичка независимо от этиологии нарушения сперматогенеза. Полученные данные свидетельствуют о наличии этиологически зависимых паттернов колонизации тестикулярной ткани и позволяют рассматривать особенности тестикулярного микробиома в качестве нового потенциального маркера для дифференциации форм мужского бесплодия.

4. Корреляционные связи между наличием микробных таксонов, уровнями половых гормонов, маркерами сперматогенеза, а также выраженностью воспалительных изменений являются статистически значимыми могут указывать на возможную связь между сохранённой функцией поддерживающих клеток и наличием определённой тестикулярной микробиоты. В частности, концентрация фолликулостимулирующего гормона отрицательно коррелирует с численностью таксонов Lactobacillaceae, Streptococcaceae, Veillonellaceae, Moraxellaceae, Pasteurellaceae, Xanthomonadaceae, уровень лютеинизирующего гормона отрицательно коррелирует с относительным содержанием Lactobacillaceae, Moraxellaceae, Porphyromonadaceae, Flavobacteriaceae, Dermatophilaceae, Sphingobacteriaceae и Salinicoccaceae. В противоположность этому уровень ингибина В, отражающий функциональную активность клеток Сертоли, положительно коррелирует с численностью бактериальных таксонов Bacteroidaceae, Burkholderiaceae\_A, Pasteurellaceae, Aerococcaceae, Acutalibacteraceae и Coriobacteriaceae. Уровень тестостерона демонстрирует разнонаправленные корреляции: положительную с Bacteroidaceae и отрицательные с Dermabacteraceae и Pelagibacteraceae.

5. Характеристики микробиоты уретры и тестикул статистически значимо ассоциированы с выраженностью нарушений сперматогенеза, причем выявленные ассоциации носят этиологически специфичный характер. Для обструктивной азооспермии характерно снижение в тестикулярной ткани численности потенциально протективных таксонов (Dermabacteraceae, Pelagibacteraceae), что указывает на дисбиоз и провоспалительный фон, усугубляющий повреждение сперматогенного эпителия. Для необструктивной азооспермии обнаружены прямые корреляции между тяжестью патологии и увеличением обилия специфических бактериальных семейств

(Burkholderiaceae\_A, Veillonellaceae и др.), что позволяет рассматривать их как потенциальные маркеры или патогенетические агенты секреторного бесплодия. Выделен также ряд таксонов (Pseudomonadaceae, Pasteurellaceae и др.), ассоциированных с бесплодием независимо от его формы, что определяет их в качестве общих микробных сигнатур. Полученные результаты подтверждают гипотезу о ключевой роли уретрального и тестикулярного микробиома в патогенезе идиопатического мужского бесплодия и открывают перспективы для разработки новых микробиом-ассоциированных диагностических и терапевтических стратегий.

6. Таксономическая структура микробиоты биоптатов ткани яичка ассоциирована с исходами программ ВРТ. У пациентов с успешным исходом ВРТ наблюдается статистически значимое увеличение относительной представленности бактериальных семейств Acutalibacteraceae, Cellvibrionaceae, Coprobacillaceae, Ruminococcaceae, Trueperaceae и Eggerthellaceae. Повышение доли Enterococcaceae более чем в 10 раз, а также Brevibacteriaceae, Microbacteriaceae и Rikenellaceae в группе пациентов с положительным результатом применения ВРТ свидетельствует о формировании микробного профиля, менее склонного к провоспалительным реакциям и лучше адаптированного к физиологическому состоянию. Кроме того, при положительном исходе ВРТ отмечено снижение относительной представленности семейства Streptococcaceae и неопределённых таксонов, что может отражать снижение микробной нагрузки и восстановление таксономической специфичности уретрального сообщества. У пациентов с отрицательным исходом программ ВРТ наиболее часто выявляется Proteobacteria с максимальной относительной представленностью.

7. Разработанная классификационная модель прогноза эффективности программ ВРТ у пациентов с НОА, основанная на выявлении ключевых дискриминантных таксонов *Leuconostoc falckenbergense*, *Ruminococcus E sp003438075*, *Bifidobacterium adolescentis*, *g\_Staphylococcus*, *g\_\_Rubellimicrobium*, *g\_Vacillus\_P\_294101* и *s\_Vacilli* в микробиоте ткани яичка, обеспечивает корректное прогнозирование положительных исходов ВРТ в 93,75% случаев (15 из 16 пациентов) и отрицательных исходов в 91,1% случаев (51 из 56 пациентов). Общая точность модели составила 91,9%. Применение разработанной модели, основанной на характеристиках микробиоты уретры, позволило достоверно предсказать 68,75% положительных результатов ВРТ (11 из 16 пациентов) и 98,2% отрицательных результатов (55 из 56 пациентов). Наиболее значимыми признаками в данной модели является наличие представителей микробиоты *Corynebacterium glucuronolyticum*, *Enterococcus faecalis*, *f\_Neisseriaceae\_563222*, *Bifidobacterium vaginale* и *Dialister invisus* и отсутствие *Dialister invisus* и *Bifidobacterium vaginale*. Общая точность модели составила 91,2%.

8. Концепция ведения пациентов с мужским фактором бесплодия должна быть основана:

- на современных представлениях о молекулярно-генетических, микробиологических, иммунологических, цитоморфологических характеристиках тестикулярной ткани пациентов, в частности сведений о ее таксономическом дизайне и патогенетической роли ТК СРАЗ-позитивных тучных клеток в ткани яичка в

нарушениях сперматогенеза;

- на результатах оценки характеристик тестикулярного микробиома, основанных на получении биологического материала с использованием метода малоинвазивного выделения бактериальной ДНК из биоптата тестикулярной ткани у инфертильных мужчин, а также на основе результатов ПЦР-исследования с применением предложенного набора праймеров при оценке микробиома уретры и ткани яичка;

- на использовании моделей прогноза результатов применения программ вспомогательных репродуктивных технологий при нарушениях сперматогенеза различной этиологии;

- с учетом того, что микробиом тестикулярной ткани инфертильных мужчин имеет ограниченный спектр разнообразия таксонов не только по филумам, но и по семейственной принадлежности микроорганизмов.

Интеграция описанной концепции в рутинную практику создаёт научную основу для внедрения персонализированных подходов в репродуктивной урологии.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Рекомендуется использовать разработанный метод малоинвазивного выделения бактериальной ДНК из биоптата тестикулярной ткани для повышения точности диагностики воспалительных изменений яичка и коррекции алгоритма ведения пациентов с мужским бесплодием.

2. Использование разработанной прецизионной технологии выделения бактериальной ДНК из ткани биоптата яичка является целесообразным при анализе микробиоты тестикулярной ткани и выборе тактики преодоления мужской инфертильности, в том числе прогноза эффективности участия пациентов в программах вспомогательных репродуктивных технологий.

3. В случае выявления у пациента интенсивной инфильтрации интерстиция яичка триптазаактивными тучными клетками на уровне  $> 39$  в  $1 \text{ мм}^2$  тестикулярной ткани и при выявлении нарушений сперматогенеза на уровне 6 баллов и ниже рекомендуется проведение протокола ВРТ с донацией сперматозоидов. Чувствительность и специфичность метода составляет 95% и 100% соответственно.

4. Для повышения точности диагностики нарушений сперматогенеза и персонализации ведения мужчин с азооспермией рекомендуется применение предложенного набора праймеров для полимеразной цепной реакции при оценке микробиома уретры и ткани яичка.

5. Целесообразным является применение классифицирующих моделей на основе характеристик микробиоты ткани уретры и яичка (ключевых дискриминантных таксонов) для прогноза исходов программ ВРТ при участии в них мужчин с различными видами азооспермии.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

**В индексируемых международных базах данных Web of Science (RSCI) и Scopus**

1. Cyto- and Histopographic Assessment of CPA3-Positive Testicular Mast Cells in Obstructive and Non-Obstructive Azoospermia / D. Atiakshin, N. Kulchenko, A. Kostin [et al.] // Cells. – 2024. – Vol. 13. – P. 833. **Scopus**
2. Репродуктивное здоровье населения России как ключевой фактор демографической динамики / З. А. Кадыров, М. В. Фаниев, Я. В. Прокопьев [и соавт.] // Вестник современной клинической медицины. – 2022. – Т. 15, № 5. – С. 100-106. **Scopus**
3. Барсуков, И.А. Многогранность репродуктивных нарушений у пациентов с ожирением: взгляд эндокринолога, акушера-гинеколога и уролога / И. А. Барсуков, Т. В. Тазина, М. В. Фаниев // РМЖ. Мать и дитя. – 2024. – Т. 7, № 3. – С. 248-258. **Scopus**
4. Микробиота органов уrogenитальной системы / З. А. Кадыров, В. Н. Степанов, М. В. Фаниев, Ш.В. Рамишвили // Урология. – 2020. – № 1. – С. 116-120. **RSCI**
5. Тестикулярный микробиом у инфертильных мужчин / М. В. Фаниев, З. А. Кадыров, Я. В. Прокопьев [и соавт.] // Экспериментальная и клиническая урология. – 2023. – Т. 16, № 3. – С. 81-86. **RSCI**
6. Высокопроизводительное секвенирование микробиома яичка у пациентов с необструктивной формой азооспермии и сопутствующим варикоцеле / М. В. Фаниев, Я. В. Прокопьев, К. В. Фаустова [и соавт.] // Экспериментальная и клиническая урология. – 2023. – Т. 16, № 2. – С. 38-43. **RSCI**
7. Тучные клетки в сочетании с обеднением микробиома яичка как фактор патогенеза необструктивного мужского бесплодия / Н. Г. Кульченко, М. В. Фаниев, З. А. Кадыров [и соавт.] // Экспериментальная и клиническая урология. – 2024. – Т. 17, № 3. – С. 94-99. **RSCI**
8. Характеристика таксономической структуры микробиоты тестикул и уретры у мужчин с необструктивной азооспермией с различными исходами в протоколах вспомогательных репродуктивных технологий / М. В. Фаниев, З. А. Кадыров, Н. К. Дружинина [и соавт.] // Урология. – 2025. – № 1. – С. 47-53. **RSCI**
9. Сравнительный анализ микробиоты уретры и яичек у пациентов с обструктивной азооспермией с результатами вспомогательных репродуктивных технологий / М. В. Фаниев, З. А. Кадыров, Я. В. Прокопьев [и соавт.] // Экспериментальная и клиническая урология. – 2025. – Т. 18, № 3. – С. 88-97. **RSCI**

**В рецензируемых научных изданиях, рекомендованных перечнем ВАК**

10. Кадыров, З. А. Показатели мужских половых гормонов и ингибина В у больных с азооспермией / З. А. Кадыров, Д. В. Москвичев, М. В. Фаниев // Медицинский вестник Башкортостана. – 2015. – Т. 10, № 3. – С. 94-96.
11. Кадыров, З. А. Показатели ингибина В в сыворотке крови у инфертильных больных / З. А. Кадыров, Д. В. Москвичев, М. В. Фаниев // Андрология и генитальная хирургия. – 2016. – Т. 17, № 1. – С. 23-27.
12. Фаниев, М. В. Современные стратегии ведения инфертильных мужчин с хроническим бактериальным простатитом на этапе прегравидарной подготовки в протоколе вспомогательных репродуктивных технологий / М. В. Фаниев, Н. П. Шевченко, З. А. Кадыров // Андрология и генитальная хирургия. – 2017. – Т. 18, № 3. – С. 44-53.
13. Клиническое значение варикоцелэктомии: Обзор литературы / Ю. В. Олефир, Е. А. Ефремов, М. А. Родионов [и соавт.] // Андрология и генитальная хирургия. – 2023. – Т. 24. – С. 49-57.
14. Кадыров, З. А. Сравнительный анализ микробиоты секрета простаты у больных

- хроническим абактериальным простатитом категории IIIa и IIIb / З. А. Кадыров, М. В. Фаниев, Ш. В. Рамишвили // Андрология и генитальная хирургия. – 2024. – Т. 25, № 2. – С. 93-103.
15. Сравнительный анализ микробиоты ткани яичка и уретры у пациентов с азооспермией методом секвенирования нового поколения (NGS) / М. В. Фаниев, Я. В. Прокопьев, К. В. Фаустова [и соавт.] // Андрология и генитальная хирургия. – 2024. – Т. 25, № 2. – С. 120-126.
  16. Микробиота секрета простаты у больных хроническим абактериальным простатитом категории III, ассоциированным с герпесвирусами / З. А. Кадыров, В. С. Степанов, М. В. Фаниев, Х. С. Ишонаков // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2024. – № 11. – С. 13-18.
  17. Кадыров, З. А. Состояние микробиоты секрета предстательной железы у больных хроническим бактериальным простатитом до и после антибактериального лечения / З. А. Кадыров, А. В. Игнатъев, М. В. Фаниев // Андрология и генитальная хирургия. – 2024. – Т. 24, № 3. – С. 81-92.
  18. Проблемы и перспективы криоконсервации сперматозоидов человека в современной России / М. В. Фаниев, З. А. Кадыров, Я. В. Прокопьев [и соавт.] // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2024. – Т. 8, № 4. – С. 215–220.
  19. Взаимосвязь микробиома и мастоцитоза тестикулярной ткани при азооспермии / М. В. Фаниев, З. А. Кадыров, Т. В. Федоренко [и соавт.] // Вестник урологии. – 2024. – Т. 12, № 3. – С. 97-105.
  20. Структура микробиоты фертильных и инфертильных пациентов с различными видами азооспермии / М. В. Фаниев, З. А. Кадыров, Н. К. Дружинина [и соавт.] // Экспериментальная и клиническая урология. – 2024. – Т. 17, № 2. – С. 36–44.
  21. Микробиота урогенитального тракта и мужская фертильность / Н. А. Коваль, З. А. Кадыров, В. С. Степанов, М. В. Фаниев // Андрология и генитальная хирургия. – 2025. – Т. 24, № 2. – С. 15-21.
  22. Микробиом простаты и мочевыводящих путей у пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы / И.А. Леви, М. В. Фаниев, З. А. Кадыров [и соавт.] // Вестник медицинского института непрерывного образования. – 2025. – Т. 5, № 2. – С. 8-13.
  23. Микробиота секрета предстательной железы у больных хроническим абактериальным простатитом / З. А. Кадыров, М. В. Фаниев, Ш. В. Рамишвили [и соавт.] // Андрология и генитальная хирургия. – 2024. – Т. 24, № 1. – С. 73-86.
  24. Функции, взаимодействия и роль микробиома в нарушении репродуктивного здоровья мужчин, обусловленного дисбиозом урогенитального тракта/ М. В. Фаниев, З. А. Кадыров, Я. В. Прокопьев, Н. А. Коваль // Вестник медицинского института непрерывного образования. – 2025. – Т. 5, № 4. – С. 91-95.
  25. Кадыров, З.А. Некоторые патофизиологические механизмы нарушения сперматогенеза у пациентов с варикоцеле. / З. А. Кадыров, В. С. Степанов, М. В. Фаниев // Часть 1 Андрология и генитальная хирургия. – 2025. – Т. 25., № 4. – С. 84-92.
  26. Роль оксидативного стресса и генетических факторов в патофизиологических механизмах нарушения сперматогенеза у пациентов с варикоцеле/ В. С. Степанов, М. В. Фаниев, В. А. Мирзонов [и соавт.] // Часть 2 Андрология и генитальная хирургия. – 2025. – Т. 25, № 4. – С. 93-100
  27. Сравнительная характеристика тестикулярной и уретральной микробиоты у пациентов с различными видами азооспермии и сопутствующим варикоцеле / М. В. Фаниев, З. А. Кадыров, Н. К. Дружинина [и соавт.] // Экспериментальная и клиническая урология. – 2023. – Т. 16, № 4. – С. 80-91.
  28. Изолированное варикоцеле справа у пациента с situs inversus totalis : клинический случай / Комаров А.С., Наумов Н.П., Щеплев П.А., Столетов Я.А., Коньшев А.В.,

Базунов Д.С., Бунак С.А., Гагай К.В., Фаниев М.В., Сулейманов С.И. // Андрология и генитальная хирургия. Некоммерческое партнерство "Профессиональная Ассоциация Андрологов" Vol. 24. 2023. С 157-161

29. Типичные ошибки при диагностике и лечении перекрута яичка у взрослых. Клиническое наблюдение / Фаниев М.В., Сулейманов С.И., Кадыров З.А., Ягудаев Д.М., Гиёев М.А // Андрология и генитальная хирургия. Некоммерческое партнерство "Профессиональная Ассоциация Андрологов" Vol. 24. 2023. С 121-125

#### Патенты

1. Патент № 2810467 С1 Российская Федерация, МПК С12N 15/00, G01N 33/68. Способ малоинвазивного выделения бактериальной ДНК из биоптата тестикулярной ткани у инфертильных мужчин : № 2022121553 : заявл. 08.08.2022 ; опубл. 27.12.2023, Бюл. № 36 / М. В. Фаниев, З. А. Кадыров, Г. В. Гудков, Д. В. Крутенко, Я.В.Прокопьев, Д. И.Водолажский ; патентообладатель М.В.Фание – 9 с.
2. Евразийский патент на изобретение №049922. 22.05.2025. Способ определения необходимости выполнения вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) с донацией сперматозоидов при обструктивном мужском бесплодии. Кадыров З.А., Кульченко Н.Г., Фаниев М.В. и др.
3. Патент № 2814377 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/50, А61В 5/00. Способ определения необходимости выполнения вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) с донацией сперматозоидов при идиопатическом мужском бесплодии с необструктивной азооспермией : № 2023117159 : заявл. 29.06.2023 ; опубл. 28.02.2024, Бюл. № 7 / Н. Г. Кульченко, М. В. Фаниев, Д. А. Атякшин, З. А. Кадыров, Э. А. Коровякова ; заявители Н. Г. Кульченко, М. В. Фаниев. – 11 с.
4. Патент № 2830876 С1 Российская Федерация, МПК С12N 15/00, G01N 33/68. Способ малоинвазивного выделения бактериальной ДНК из биоптата ткани предстательной железы : № 2024110325 : заявл. 16.04.2024 ; опубл. 26.11.2024, Бюл. №33 / З. А. Кадыров, М. В. Фаниев, Н. К. Дружинина, И. А. Леви, А. Г. Гишев ; патентообладатель Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (РУДН). – 10 с.
5. Патент № 2839155 С1 Российская Федерация, МПК С12N 1/00. Способ диагностики дисбиоза микробиоты секрета простаты у больных хроническим бактериальным простатитом : № 2024117742 : заявл. 27.06.2024 ; опубл. 28.04.2025, Бюл. № 13 / З. А. Кадыров, А. В. Игнатъев, В. С. Степанов, М. В. Фаниев, И. А. Леви, А. Г. Гишев ; патентообладатель Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (РУДН). – 22 с

#### Монографии

1. Фаниев, М. В. Тестикулярный микробиом [Электронный ресурс]: монография / М. В. Фаниев, З. А. Кадыров, Н. Г. Кульченко, Д. И. Водолажский, В. С. Степанов. — СПб.: Научно-технологические технологии, 2026. – 180 с. – URL: <https://publishing.intelgr.com/archive/Testikulyarnii-mikrobiom.pdf>.
2. Кадыров, З. А. Варикоцеле и мужское бесплодие: монография / З. А. Кадыров, В. С. Степанов, М. В. Фаниев, Т. А. Пиров и др. – СПб.: Научно-технологические технологии, 2026. – 252 с. – URL: <https://publishing.intelgr.com/index.php/izdannye-raboty?id=1089>

#### Учебно-методические пособия

1. Характеристика структуры микробиоты яичка и гистологические предикторы инфертильности у пациентов с идиопатической формой мужского бесплодия при необструктивной азооспермии. Учебно-методическое пособие / М. В. Фаниев, З. А. Кадыров, Н. Г. Кульченко, Я. В. Прокопьев. – СПб., 2024. – 66 с.

## **ТЕСТИКУЛЯРНЫЙ МИКРОБИОМ КАК ФАКТОР ПРОГНОЗА МУЖСКОГО БЕСПЛОДИЯ**

Фаниев Михаил Владимирович  
(РОССИЯ)

Современная андрология переживает кардинальный пересмотр взглядов, связанный с осознанием фундаментальной роли микробиома в регуляции мужской репродуктивной функции. Представленное диссертационное исследование Фаниева Михаила Владимировича «Тестикулярный микробиом как фактор прогноза мужского бесплодия» посвящено одному из наиболее дискуссионных и динамично развивающихся направлений – исследованию тестикулярного микробиома и его влияния на фертильность. Долгое время стерильность паренхимы яичка считалась аксиомой, однако развитие высокоточных методов молекулярной диагностики опровергло эту догму, открыв новое измерение в понимании физиологии и патологии сперматогенеза.

Особое внимание в работе уделяется роли микробных сообществ в патогенезе идиопатической азооспермии – наиболее тяжелой формы мужского бесплодия, при которой традиционные диагностические алгоритмы часто не позволяют установить этиологию. Новейшие данные свидетельствуют, что дисбиоз тестикулярной микробиоты может выступать триггером каскада патологических процессов, ведущих к нарушению сперматогенеза. Одним из ключевых механизмов является опосредованная микробиомом дестабилизация гемато-тестикулярного барьера – высокоспециализированной структуры, обеспечивающей иммунную привилегию герминативного эпителия. Особую ценность представляет синтез современных данных о взаимосвязи между кишечным, уретральным и тестикулярным микробиомами, формирующими единую экосистему, нарушения в которой могут иметь системные последствия для репродуктивного здоровья.

## **TESTICULAR MICROBIOME AS A PROGNOSTIC FACTOR FOR MALE INFERTILITY**

Faniev Mikhail Vladimirovich  
(RUSSIA)

Modern andrology is undergoing a radical revision of its views, which is associated with the recognition of the fundamental role of the microbiome in the regulation of male reproductive function. The presented dissertation research by Faniev Mikhail Vladimirovich, "Testicular Microbiome as a Predictor of Male Infertility," focuses on one of the most controversial and rapidly developing areas: the study of the testicular microbiome and its impact on fertility. For a long time, the sterility of the testicular parenchyma was considered an axiom, but the development of high-precision molecular diagnostic methods has refuted this dogma, opening up a new dimension in understanding the physiology and pathology of spermatogenesis.

The latest data suggests that dysbiosis of the testicular microbiota can trigger a cascade of pathological processes leading to impaired spermatogenesis. One of the key mechanisms is the microbiome-mediated destabilization of the hemato-testicular barrier, a highly specialized structure that provides immune privilege to the germinal epithelium. Of particular interest is the synthesis of current data on the relationship between the intestinal, urethral, and testicular microbiomes, which form a unified ecosystem, and how disturbances in this ecosystem can have systemic consequences for reproductive health.