ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ
Original articles

Научная статья
УДК 616-076.5
DOI: 10.14489/lcmp.2023.01.pp.019-036

ИНФОРМАТИВНОСТЬ КОМБИНИРОВАННОГО АНАЛИЗА ЭЯКУЛЯТА ЧЕЛОВЕКА В ПОИСКАХ ПРИЧИН НАРУШЕНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ: СПЕРМОГРАММА И ЦИТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОСАДКА ЭЯКУЛЯТА (ЦОЭ)

Ж. Ю. Сапожкова[1, 2]

[1]Международная Школа Цитологии и Медицинская Школа Инноваций, Москва, Россия, icsschool.2019@gmail.com
[2]Подольский диагностический центр, клинико-диагностическая лаборатория, Подольск, Россия

Цель исследования. Провести анализ информативности комбинированного анализа эякулята человека с помощью спермограммы и ЦОЭ в поисках причин нарушения репродуктивной функции.
Материалы и методы. За период с 2019 по 2022 г. обследовано 529 образцов эякулята от пациентов в возрасте от 18 до 59 лет. Мужчины обращались с целью прегравидарной подготовки, по поводу бесплодия или направлены для исключения у сексуальных партнеров инфекций *мужских добавочных половых желез* (*МДПЖ/Male Accessory Gland Infections/MAGI*). Проведено одномоментное исследование, в котором диагностический метод 1 «спермограмма» и метод 2 "ЦОЭ" применялись в одинаковых условиях ко всем обследуемым пациентам, т.е. был осуществлен комбинированный подход к диагностике эякулята всех пациентов (n = 529), выполненный «в одной биологической пробе за одну процедуру», – ROSE (Rapid Onesite Examination) («Спермограмма+ЦОЭ»-ROSE).
Результаты. 15,13 % всех обследуемых бесплодных мужчин были с нормозооспермией, у 1,25 % из которых были отмечены ЦОЭ-маркеры бактериоспермии (ЦОЭ-мБ «+»). Результаты ЦОЭ показывают, что 84,69 % всех обследуемых мужчин имели диагностически значимые находки и их комбинации, 69,75 % из которых были ЦОЭ-мБ «+». «Нормозооспермия» и «ЦОЭ-мБ» ассоциированы, таким образом, частота ЦОЭ-мБ при наличии фактора нормозооспермии статистически значимо ниже.
Заключение. Комбинированный подход «Спермограмма+ЦОЭ»-ROSE позволит лечащим врачам избежать диагностических потерь в лабораторном алгоритме обследования мужчины с нарушением репродуктивной функции и выявить причины идиопатического бесплодия, которые прежде позиционировались как неуточненные.

Ключевые слова: спермограмма, цитология осадка эякулята (ЦОЭ), мужское бесплодие.

Для цитирования: Сапожкова Ж.Ю. Информативность комбинированного анализа эякулята человека в поисках причин нарушения репродуктивной функции: спермограмма и цитологическое исследование осадка эякулята (ЦОЭ) // Лабораторная и клиническая медицина. Фармация. 2023. Т. 3, № 1. С. 19 – 36. DOI: 10.14489/lcmp.2023.01.pp.019-036

Research Article

INFORMATIVENESS OF COMBINED HUMAN SEMEN ANALYSIS ON THE WAY TO CLARIFY THE CAUSES OF REPRODUCTIVE DYSFUNCTION: BASIC SEMEN EXAMINATION AND SPERM SEDIMENT CYTOLOGY (SSC)

Zh. Yu. Sapozhkova[1, 2]

[1]International Cytology School & Innovatory Medical School, Moscow, Russia
[2]Podolsk Diagnostic Center, Medical Laboratory, Podolsk, Russia

Aim. To analyze the informativeness of combined human semen analysis using a basic semen examination & SSC on the way to clarify the causes of reproductive dysfunction.

Materials and methods. We examined 529 samples of semen sediment from men aged 18 – 59 years with infertility and male accessory gland infection (MAGI) between 2019 and 2022. Study was conducted in combination of two laboratory methods like ROSE (rapid onesite examination) which one of them is 1 – 'basic semen examination' and second one is 2 – 'SSC' ('Basic semen examination+SSC'-ROSE).
Results. 15.13 % of all of patients presented normozoospermia, 1.25 % of them have SSC-markers like bacteriospermia (SSC-mB «+»). Outcomes of SSC-reports clarify that 84.69 % of all men have the diagnostic significant SSC-findings and different combination of it; 69.75 % of them were SSC-mB «+». 'Normozoospermia' and 'SSC-mB' are associated, thus, the frequency of SSC-mB in the presence of normozoospermia is recorded as follows.
Conclusion. The combined approach 'Basic semen examination+SSC'-ROSE, allows the doctors to exclude a missing in the laboratory algorithm for check-up in male with impaired reproductive function and identifying the causes of idiopathic infertility, the causes of which were mainly positioned as unspecified.

Key words: basic semen examination, sperm sediment cytology (SSC), male infertility.

For citation: Sapozhkova ZhYu. Informativeness of combined human semen analysis on the way to clarify the causes of reproductive dysfunction: basic semen examination and sperm sediment cytology (SSC). *Laboratory and Clinical Medicine. Pharmacy.* 2023;3(1):19-36. (In Russ). DOI: 10.14489/lcmp.2023.01.pp.019-036

Актуальность. Методы *лабораторной диагностики* (*ЛД*) играют ключевую роль в установлении факта фертильности мужчины, ЛД *мужского бесплодия* (*МБ*) начинается с обязательного базового анализа эякулята (спермограммы) [1 – 5]. Основной критерий диагноза МБ – патологические изменения в показателях спермограммы или в дополнительных анализах эякулята в сочетании с невозможностью зачатия в браке в течение 12 мес и более при условии репродуктивного здоровья супруги (изолированный мужской фактор). При получении нормальных результатов по всем анализам эякулята данный диагноз не выставляется [6].

Спермограмма остается основным тестом для оценки МБ, но информативность и прогностическая значимость обычных параметров спермограммы (количества сперматозоидов, подвижности, морфологии) невелики, поскольку им присущи высокая внутри- и межлабораторная вариабельность и низкая предсказательная ценность [7]. В этой связи наряду со спермограммой *Всемирная Организация Здравоохранения* (*ВОЗ*) рекомендует проводить дополнительное исследование эякулята с помощью тестов для выявления *оксидативного стресса* (*ОС*) и *фрагментации ДНК сперматозоидов* (*ФДНКС*) [8].

В лабораторной медицине России не существует наборов реагентов с разрешительными документами Росздравнадзора для использования в медицинских целях, что ограничивает использование тестов ОС и ФДНКС в клинической практике [7].

Обеспечение выполнения одного из условий Национального проекта «Демография» 2018 – 2024 гг.[1], а именно увеличение коэффициента рождаемости до 1,7 ребенка на одну женщину, представляется возможным при внедрении в практику усовершенствованных лабораторных технологий диагностики фертильности. В целях исключения диагностических потерь остается актуальным внедрение вспомогательных лабораторных технологий на биоматериале «эякулят» с функцией контроля принятия диагностического решения, так называемого follow up. Наряду с базовой оценкой эякулята человека перспективно применение в клинической и лабораторной практике ЦОЭ для обнаружения на клеточном уровне важных диагностических находок, в том числе неоплазии. Комбинированный подход «Спермограмма+ЦОЭ», выполненный «в одной биологической пробе за одну процедуру» в режиме ROSE (далее, «Спермограмма+ЦОЭ»-ROSE), позволит лечащим врачам сократить диагностический интервал в поисках причин нарушения репродуктивной функции, так как клиницисту представляется расширенный лабораторный отчет о клеточном составе МДПЖ [9 – 11].

Цель исследования. Провести анализ информативности комбинированного анализа эякулята человека с помощью спермограммы и ЦОЭ в поисках причин нарушения репродуктивной функции.

Материалы и методы. Статистический анализ данных выполнялся с использованием пакета программ Statistica 13 (StatSoft, Inc., США) в соответствии с рекомендациями [12]. Описательная

[1] https://mintrud.gov.ru/ministry/programms/demography

статистика количественных признаков представлена средними и среднеквадратическими отклонениями, медианами и квартилями. Сравнение несвязанных групп по качественным признакам проводилось с использованием теста Хи-квадрат. Применимость теста Хи-квадрат оценивалась на основании ожидаемых частот: при ожидаемой частоте признака в одной из групп менее 10 тест считался неприменимым.

При проверке гипотез статистически значимыми результаты считались при достигнутом уровне значимости $P < 0,05$. Поскольку во всех случаях возникала проблема множественных сравнений, применялась поправка Бонферрони: пороговый уровень статистической значимости 0,05 был разделен на количество проверенных гипотез (27), таким образом, пороговый уровень значимости был принят равным 0,0019.

Исходные характеристики – описательная статистика. 529 пациентов мужского пола, средний возраст которых был 38 лет (стандартное отклонение 8,56; медиана возраста – 38 лет, минимальный возраст – 18 лет, максимальный – 59 лет) (табл. 1), обращались с целью прегравидарной подготовки, по поводу бесплодия или были направлены гинекологом для исключения у сексуальных партнеров MAGI.

У шести (6; 1,13 %) из всех обследуемых мужчин (529; 100 %) было установлено первичное бесплодие. У шести (6; 1,13 %) из 523 мужчин (523; 98,87 %) было установлено первичное либо вторичное бесплодие. У 389 (389; 73,53 %) из 517 мужчин (517; 97,73 %) были отмечены урогенитальные жалобы, а также первичное либо вторичное бесплодие.

У 128 (128; 24,20 %) обследуемых отмечены неудачные попытки зачатия, в том числе с помощью *вспомогательных репродуктивных технологий* (*ВРТ*), а также невынашивание беременности у женщин на ранних и поздних сроках после ВРТ (табл. 2).

У всех мужчин (529; 100 %) результаты исследования традиционного биоматериала уретрального *отделяемого/уретрального соскоба* (*УО/УС*), *секрета предстательной железы* (*СПЖ*) *методом амплификации нуклеиновых кислот с полимеразно-цепной реакцией в режиме реального времени* (*МАНК/ПЦР-РВ*) и микро-биологическим методом были отрицательными, т.е. не диагностически значимыми (табл. 3).

У 274 (274; 51,79 %) женщин, кто являлся половым партнером обследуемых мужчин (529; 100 %), в анамнезе был бактериальный вагиноз. У 255 (255; 48,20 %) женщин не было отмечено ни лабораторной, ни соматической патологии репродуктивного здоровья (табл. 4).

Критерии включения в исследование: соблюдение полового воздержания в течение 3 – 5 суток до исследования; наличие у пациентов жалоб на отсутствие беременности у партнерши на протяжении года и более, в том числе после ВРТ (невынашивание на ранних и поздних сроках), наличие жалоб, характерных для MAGI и(или) в анамнезе MAGI, а именно специфический или неспецифический уретрит, хронический или острый простатит, орхит, эпидидимит; наличие у пациентов сексуальных партнеров-женщин с рецидивирующими нарушениями влагалищного биоценоза.

Критерии исключения: применение антибактериальных, противовирусных препаратов в последние 4 недели до обследования; использование местных лекарственных препаратов в течение 3 недель, предшествующих обследованию; отсутствие нарушений кариотипа, микроделеций AZF локуса Y-хромосомы, мутаций гена *CFTR*; несоблюдение полового воздержания в течение 3 – 5 суток до исследования.

Выбывших из исследования пациентов не было.

Таблица 1 / Table 1

Средний возраст мужчин, *n* = 529
Age Median in male, *n* = 529

Переменная / Variable	**Описательная статистика / Descriptive Statistics**							
	Число участников / Valid *n*	**Среднее / Mean**	**Медиана / Median**	**Минимальное / Minimum**	**Максимальное / Maximum**	**Нижний квартиль / Lower Quartile**	**Верхний квартиль / Upper Quartile**	**Стандартное отклонение / Std.Dev.**
Возраст / AGE	529	38,08129	38,00000	18,00000	59,00000	30,00000	45,00000	8,658450

Таблица 2 / Table 2

Сводная таблица распределения пациентов согласно анамнестическим данным и жалобам
Frequency table: DIAGNOSIS

Категории / Categories	Число *n* / Count *n*	Совокупное число *n* / Cumulative Count *n*	Процент, % / Percent, %	Совокупный процент, % / Cumulative Percent, %
Неудачные попытки зачатия+ / USATC+	128	128	24,19660	24,1966
Урогенитальные жалобы+ / первичное бесплодие+ или вторичное бесплодие+ / GUC+/IF 1-2+	389	517	73,53497	97,7316
Первичное бесплодие+ или вторичное бесплодие+ / IF1-2+	6	523	1,13422	98,8658
Первичное бесплодие+ / IF1+	6	529	1,13422	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000

USATC+ / Unsuccessfully attempts to conceive+
GUC+ / Genitourenal complaints+
IF1+ / Infertility 2+
IF1-2+ / Infertility 1-2+

Таблица 3 / Table 3

Сводная таблица распределения пациентов относительно результатов лабораторных исследований по действующему регламенту РФ
Frequency table: RESULTS REG RF

Категория / Category	Число *n* / Count *n*	Совокупное число *n* / Cumulative Count *n*	Процент, % / Percent, %	Совокупный процент, % / Cumulative Percent, %
ПЦР, посев, микроскопия норма / Normal PCR, Culture, Microscopy	529	529	100,0000	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,0000	100,0000

Таблица 4 / Table 4

Сводная таблица распределения половых партнеров женщин (ж.) согласно их анамнестическим данным и жалобам
Frequency table: FEMALE PARTNERS

Категория / Category	Число *n* / Count *n*	Совокупное число *n* / Cumulative Count *n*	Процент, % / Percent, %	Совокупный процент, % / Cumulative Percent, %
Отсутствие лабораторной и соматической патологии у полового партнера ж. / Female Rep Health Normal	255	255	48,20416	48,2042
У полового партнера ж. в анамнезе бактериальный вагиноз / FBV+	274	529	51,79584	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000

На базе научно-исследовательской лаборатории клинических разработок Международной Школы Цитологии и Медицинской Школы Инноваций (Москва, Россия) за период с 2019 по 2022 г. проведено одномоментное исследование, в котором диагностический *метод 1* «*спермограмма*» и *метод 2 ЦОЭ* применялись в одинаковых условиях ко всем обследуемым пациентам, т.е. был осуществлен комбинированный подход к диагностике эякулята всех пациентов (n = 529) – «Спермограмма+ЦОЭ»-ROSE.

Метод 1 был выполнен с помощью светлопольной микроскопии, входит во все *клинические рекомендации* (*КР*) РФ и в европейский регламент по диагностике репродуктивной функции мужчин и женщин [1 – 5], к тому же рекомендован ВОЗ для первичной диагностики нарушения репродуктивной функции и мониторинга сперматогенеза [8].

Метод 2, который в настоящее время не входит в КР РФ, несмотря на то, что внедрен во многих медицинских лабораториях России и зарубежом[2, 3], активно описывается в патентах РФ и многочисленных научных публикациях и преподается в Международной Школе Цитологии и Медицинской Школе Инноваций в виде дополнительных профессиональных программ повышения квалификации, аккредитованных на портале НМиФО МЗ РФ (непрерывного медицинского и фармацевтического образования Министерства здравоохранения РФ)[4, 5] [11, 13 – 20].

Спермограмму проводили в соответствии с рекомендациями ВОЗ 6-го издания по лабораторному исследованию эякулята человека (WHO 2021) [8]. ЦОЭ проведено с соблюдением правил всех этапов лабораторного процесса согласно протоколу исследования [13, 18].

Всю порцию эякулята, отработанную после исполнения *Метода 1*, переносили в конусовидную стерильную одноразовую полипропиленовую пробирку объемом 10 – 12 мл, центрифугировали на медицинской центрифуге в режиме 1000 об/мин 15 – 20 мин, отделяли супернатант без захвата осадка стерильным наконечником с помощью дозатора пипеточного одноканального переменного объема, 5 – 10 мкл освобожденного от супернанатна *осадка эякулята* (*ОЭя*) размещали на стороне заранее подготовленного и маркированного/штрихкодированного предметного стекла с повышенной адгезией типа Super Frost Plus с положительно заряженной поверхностью. Предметное стекло с нанесенной каплей ОЭя размещали в устройство для приготовления стандартизированных мазков V-Sampler (West Medica, Австрия), высушивали на воздухе и окрашивали красителями по Романовскому (Гемстандарт, Россия) аппаратным способом с использованием автоматического устройства для окрашивания стеклопрепаратов V-Chromer III (West Medica, Австрия) согласно заданному протоколу.

По результатам оценки эякулята *Методом 1* были определены семиологические диагнозы, которые соответствовали следующим параметрам: нормозоосмермия – параметр 1, олигоастенотератозооспермия – параметр 2, астенозооспермия – параметр 3, олигоастенозооспермия – параметр 4, дискинезия – параметр 5, вискозипатия – параметр 6, пиоспермия – параметр 7, криптозооспермия – параметр 8, азооспермия – параметр 9, гемоспермия – параметр 10, олигоспермия – параметр 11, агглютинация – параметр 12, некрозооспермия – параметр 13.

Диагностические находки *Метода 2* соответствовали следующим параметрам: лейкоциты ≥3 / поле зрения (п/з) или ЦОЭ-пиоспермия (общее увеличение х100) – параметр 14, макрофаги-моноциты ≥2 / п/з (общее увеличение х100) – параметр 15, многоядерные гигантские клетки (клетки типа инородных тел) – параметр 16, дегенеративные изменения уротелия, железистого эпителия – параметр 17, плоский эпителий с признаками папилломавирусной инфекции высокого канцерогенного риска/ВПЧ ВКР – параметр 18, включения в железистом эпителии/уротелии, морфологически сходные с ретикулярными тельцами Cl. trachomatis – параметр 19, десквамация уротелия, железистого эпителия ≥5/п/з (общее увеличение ×100) – параметр 20, полиморфная микробиота – параметр 21, элементы (споры, псевдомицелий) гриба рода Candida – параметр 22, лептотрихии/ Leptotrichia – параметр 23, дегенеративные формы T.vaginalis – параметр 24, внутри- и внеклеточные диплококки, морфологически сходные с N.gonorhoeae – параметр 25, атипичные клетки/подозрение на атипичные клетки – параметр 26, нормальная картина

[2] https://citilab.ru/moskva/catalog/issledovanie_eyakulyata_123/kompleksnoe_issledovanie_osadka_eyakulyata_2_tsitologicheskoe_issledovanie_s_otsenkoy_kletochnogo_so/

[3] https://citilab.rs

[4] {https://www.sscschool.com/%D0%A1%D0%BE%D0%B4%D0%B5%D1%80%D0%B6%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D0%B5-%D0%BF%D1%80%D0%BE%D0%B3%D1%80%D0%B0%D0%BC%D0%BC/

[5] https://www.ssc-school.com/%D0%A6%D0%9E%D0%AD/

осадка эякулята или «пустого» осадка эякулята при азооспермии – параметр 27.

Параметры 21, 22, 23 как по отдельности, так и в комбинациях с другими ЦОЭ-параметрами были определены как ЦОЭ-мБ.

Результаты. *Методом 1* у 80 (80; 15,12 %) всех обследуемых мужчин была установлена нормозооспермия (параметр 1); у 76 (76; 14,37 %) мужчин отмечалась олигоастенотератозооспермия (параметр 2); у 297 (297; 56,14 %) – астенозооспермия (параметр 3); у 36 (36; 6,8 %) – олигоастенозооспермия (параметр 4); у 203 (203; 38,37 %) – дискинезия (параметр 5); у 96 (96; 18,15 %) – вискозипатия (параметр 6), у 52 (52; 9,83 %) – пиоспермия (параметр 7); у 13 (13; 2,46 %) – криптозооспермия (параметр 8); у 24 (24; 4,54 %) – азооспермия (параметр 9); у 18 (18; 3,4 %) – гемоспермия (параметр 10); у 21 (21; 3,97 %) – олигоспермия (параметр 11); у 204 (204; 9,83 %) – агглютинация (параметр 12); у 165 (165; 31,2 %) – некрозооспермия (параметр 13) (табл. 5).

Также была отмечена комбинация семиологических диагнозов: олигоастенозооспермия и дискинезия (сочетание параметров 2 и 5) встречались у 16 мужчин (16; 3,03 %); астенозооспермия, дискинезия и вискозипатия (сочетание параметров 3, 5, 6) встречались у 12 мужчин (12; 2,27 %); астенозооспермия, дискинезия, вискозипатия, агглютинация и некрозооспермия (сочетание параметров 3, 5, 6, 12, 13) – у 26 (26; 4,91 %); астенозооспермия, агглютинация и некрозооспермия (сочетание параметров 3, 12, 13) – у 29 (29; 5,48 %); астенозооспермия, дискинезия, агглютинация и некрозооспермия (сочетание параметров 3, 5, 12, 13) – у 37 (37; 6,99 %); астенозооспермия и агглютинация (сочетание параметров 3, 12) – у 13 (13; 2,46 %); нормозооспермия и агглютинация (сочетание параметров 1, 12) – у 14 (14; 2,65 %) (табл. 6).

Таблица 5 / Table 5

Сводная таблица выявленных параметров 1 – 13 по результатам Метода 1
Frequency table of categories 1 – 13 reporting by semen examination

Параметры / Categories	Число *n* / Count *n*	Совокупное число *n* / Cumulative Count *n*	Процент, % / Percent, %	Совокупный процент, % / Cumulative Percent, %
Параметр 1 /Category 1	**Нормозооспермия / Normozoospermia**			
Нет / Absence	449	529	84,87713	100,0000
Да / Presents	80	80	15,12287	15,1229
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000
Параметр 2 / Category 2	**Олигоастенотератозооспермия / Olygoasthenotheratozoospermia**			
Нет / Absence	453	453	85,63327	85,6333
Да / Presents	76	529	14,36673	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000
Параметр 3 / Category 3	**Астенозооспермия / Asthenozoospermia**			
Нет / Absence	232	232	43,85633	43,8563
Да / Presents	297	529	56,14367	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000
Параметр 4 / Category 4	**Олигоастенозооспермия / Olygoasthenozoospermia**			
Нет / Absence	493	493	93,19471	93,1947
Да / Presents	36	529	6,80529	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000
Параметр 5 / Category 5	**Дискинезия / Dyskinesis**			
Нет / Absence	326	326	61,62571	61,6257
Да / Presents	203	529	38,37429	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000

Таблица 5. Продолжение / Table 5. Continuation

Параметры / Categories	Число *n* / Count *n*	Совокупное число *n* / Cumulative Count *n*	Процент, % / Percent, %	Совокупный процент, % / Cumulative Percent, %
Параметр 6 / Category 6	**Вискозипатия / Viscosipathy**			
Нет / Absence	433	433	81,85255	81,8526
Да / Presents	96	529	18,14745	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000
Параметр 7 / Category 7	**Пиоспермия / Pyospermia**			
Нет / Absence	477	477	90,17013	90,1701
Да / Presents	52	529	9,82987	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000
Параметр 8 / Category 8	**Криптозооспермия / Cryptozoospermia**			
Нет / Absence	516	516	97,54253	97,5425
Да / Presents	13	529	2,45747	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000
Параметр 9 / Category 9	**Азооспермия / Azoospermia**			
Нет / Absence	505	505	95,46314	95,4631
Да / Presents	24	529	4,53686	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000
Параметр 10 / Category 10	**Гемоспермия / Hemathospermia**			
Нет / Absence	511	511	96,59735	96,5974
Да / Presents	18	529	3,40265	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000
Параметр 11 / Category 11	**Олигоспермия / Olygospermia**			
Нет / Absence	508	508	96,03025	96,0302
Да / Presents	21	529	3,96975	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000
Параметр 12 / Category 12	**Агглютинация / Agglutination**			
Нет / Absence	325	325	61,43667	61,4367
Да / Presents	204	529	38,56333	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000
Параметр 13 / Category 13	**Некрозооспермия / Necrozoospermia**			
Нет / Absence	364	364	68,80907	68,8091
Да / Presents	165	529	31,19093	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000

Таблица 6 / Table 6

Сводная таблица выявленных комбинаций семиологических диагнозов по результатам Метода 1
Frequency table for combined semiological diagnosis reporting by Method 1

Параметры / Categories	Число *n* / Count *n*	Совокупное число *n* / Cumulative Count *n*	Процент, % / Percent, %	Совокупный процент, % / Cumulative Percent, %
2, 5	16	96	3,02457	18,1474
3, 5, 6	12	269	2,26843	50,8507
3, 5, 6, 12, 13	26	341	4,91493	64,4612
3, 12, 13	29	386	5,48204	72,9679
3, 5, 12, 13	37	423	6,99433	79,9622
3, 12	13	460	2,45747	86,9565
1, 12	14	482	2,64650	91,1153
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000

Методом 2 были обнаружены следующие диагностические находки: у 164 (164; 31 %) мужчин в осадке эякулята отмечались лейкоциты ≥3 / п/з или ЦОЭ-пиоспермия (параметр 14); у 390 (390; 73,72 %) – макрофаги/моноциты ≥2 / п/з (параметр 15); у 73 (73; 13,8 %) – многоядерные гигантские клетки (клетки типа инородных тел) (параметр 16); у 284 (284; 53,69 %) – дегенеративные изменения уротелия, железистого эпителия (параметр 17); у 45 (45; 8,5 %) – плоский эпителий с признаками ВПЧ ВКР (параметр 18); у 40 (40; 7,56 %) – включения в железистом эпителии/уротелии, морфологически сходные с ретикулярными тельцами Cl.trachomatis (параметр 19); у 54 (54; 10,21 %) – десквамация уротелия, железистого эпителия ≥5/п/з (параметр 20); у 328 (328; 62 %) – полиморфная микробиота (ЦОЭ-мБ) (параметр 21); у 20 (20; 3,78 %) – элементы (споры, псевдомицелий) гриба рода Candida (параметр 22); у 21 (21; 3,97 %) – липтотрихии (параметр 23); у 57 (57; 10,78 %) – дегенеративная форма T.vaginalis (параметр 24); у 10 (10; 1,89 %) – внутри- и внеклеточные диплококки, морфологически сходные с N.gonorhoeae (параметр 25); у 8 (8; 1,51 %) – атипичные клетки/подозрение на атипичные клетки (параметр 26); у 81 (81; 15,31 %) – нормальная картина осадка эякулята/либо «пустого» осадка эякулята при азооспермии (параметр 27) (табл. 7).

У 369 пациентов (369; 69,75 %) был установлен ЦОЭ-мБ (согласно параметрам 21 – 23).

Также были отмечены комбинации ЦОЭ-находок: а) у 17 мужчин (17; 3,21 %) – лейкоциты ≥3 / п/з или пиоспермия/макрофаги/моноциты ≥2 / п/з, дегенеративные изменения уротелия, железистого эпителия и полиморфная микробиота (ЦОЭ-мБ) (сочетание параметров 14, 15, 17, 21); б) у 99 мужчин (99; 18,71 %) – макрофаги/моноциты ≥2 / п/з, дегенеративные изменения уротелия, железистого эпителия и микробиота (ЦОЭ-мБ) (сочетание параметров 15, 17, 21); в) у 12 (12; 2,27 %) – пиоспермия, макрофаги/моноциты ≥2 / п/з, дегенеративные изменения уротелия, железистого эпителия, полиморфная микробиота (ЦОЭ-мБ), гигантские многоядерные клетки (клетки типа инородных тел) и десквамация уротелия и железистого эпителия (сочетание параметров 14, 15, 16, 17, 20, 21); г) у 32 (32; 6,05 %) – макрофаги/моноциты ≥2 / п/з, дегенеративные изменения уротелия, железистого эпителия и полиморфная микробиота (ЦОЭ-мБ) и дегенеративная форма T.vaginalis (сочетание парметров 15, 17, 21, 24); д) у 16 (16; 3,02 %) – лейкоциты ≥3 / п/з или пиоспермия/макрофаги/моноциты ≥2 / п/з, дегенеративные изменения уротелия, железистого эпителия, полиморфная микробиота (ЦОЭ-мБ и десквамация уротелия и железистого эпителия (сочетание параметров 14, 15, 17, 20, 21); и) у 18 (18; 3,4 %) – макрофаги/моноциты ≥2 / п/з и полиморфная микробиота (ЦОЭ-мБ (сочетание параметров 15, 21); к) у 16 (16; 3,02 %) – лейкоциты ≥3 / п/з или пиоспермия и макрофаги/моноциты ≥2 / п/з (сочетание параметров 14, 15); л) у 16 (16; 3,02 %) – лейкоциты ≥3 / п/з или пиоспермия, макрофаги/моноциты ≥2 / п/з и дегенеративные изменения уротелия, железистого эпителия (сочетание параметров 14, 15, 17) (табл. 8).

Таблица 7 / Table 7

Сводная таблица выявленных параметров 14 – 27 по результатам Метода 2
Frequency table of categories 14 – 27 reporting by Method 2

Параметры / Categories	Число *n* / Count *n*	Совокупное число *n* / Cumulative Count *n*	Процент, % / Percent, %	Совокупный процент, % / Cumulative Percent, %
Параметр 14 / Category 14	**Лейкоциты ≥3 / п/з или Пиоспермия / Leucosytes ≥3 in sight or Pyospermia**			
Нет / Absence	365	365	68,99811	68,9981
Да / Presents	164	529	31,00189	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000
Параметр 15 / Category 15	**Макрофаги/моноциты ≥2 / п/з / Macrophages/monocytes ≥2 in sight**			
Нет / Absence	139	139	26,27599	26,2760
Да / Presents	390	529	73,72401	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000
Параметр 16 / Category 16	**Многоядерные гигантские клетки / (клетки типа инородных тел) / Multinucleated giant cells (foreign like bodies cells)**			
Нет / Absence	456	456	86,20038	86,2004
Да / Presents	73	529	13,79962	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000
Параметр 17 / Category 17	**Дегенеративные изменения уротелия, железистого эпителия / Degenerative changes of urothelium and glandular epithelium**			
Нет / Absence	245	245	46,31380	46,3138
Да / Presents	284	529	53,68620	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000
Параметр 18 / Category 18		**ВПЧ ВКР / hr-HPV**		
Нет / Absence	484	484	91,49338	91,4934
Да / Presents	45	529	8,50662	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000
Параметр 19 / Category 19	**Включения в железистом эпителии/уротелии, морфологически сходные с ретикулярными тельцами Cl.trachomatis / Like Cl.trachomatis corpuscles in glandular epithelium and urothelium**			
Нет / Absence	489	489	92,43856	92,4386
Да / Presents	40	529	7,56144	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000
Параметр 20 / Category 20	**Десквамация уротелия, железистого эпителия ≥5/п/з / Desquamation of glandular epithelium and urothelium ≥5 in sight**			
Нет / Absence	475	475	89,79206	89,7921
Да / Presents	54	529	10,20794	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000
Параметр 21 / Category 21	**Полиморфная микробиота (ЦОЭ-мБ) / SSC-marker of bacteriaspermia (SSC-mB)**			
Нет / Absence	201	201	37,99622	37,9962
Да / Presents	328	529	62,00378	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000
Параметр 22 / Category 22	**Элементы гриба рода Candida (ЦОЭ-мБ) / Fungal elements of Candida (SSC-mB)**			
Нет / Absence	509	509	96,21928	96,2193
Да / Presents	20	529	3,78072	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000

Таблица 7. Продолжение / Table 7. Continuation

Параметры / Categories	**Число *n* / Count *n***	**Совокупное число *n* / Cumulative Count *n***	**Процент, % / Percent, %**	**Совокупный процент, % / Cumulative Percent, %**
Параметр 23 / Category 23	**Лептотрихии (ЦОЭ-мБ) / Leptotrichia (SSC-mB)**			
Нет / Absence	508	508	96,03025	96,0302
Да / Presents	21	529	3,96975	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000
Параметр 24 / Category 24	**Дегенеративная форма T.vaginalis / T.vaginalis degenerative**			
Нет / Absence	472	472	89,22495	89,2250
Да / Presents	57	529	10,77505	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000
Параметр 25 / Category 25	**Внутри- и внеклеточные диплококки, морфологически сходные с N.gonorhoeae / Intra- and extracellular diplococci morphologically similar to N.gonorrhoeae**			
Нет / Absence	519	519	98,10964	98,1096
Да / Presents	10	529	1,89036	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000
Параметр 26 / Category 26	**Атипичные клетки/подозрение на атипичные клетки / Malignant cells/suspicion to malignancy**			
Нет / Absence	521	521	98,48771	98,4877
Да / Presents	8	529	1,51229	100,0000
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000
Параметр 27 / Category 27	**Нормальная картина осадка эякулята или «пустого» осадка эякулята при азооспермии / Azoospermia SSC-pictures**			
Нет / Absence	448	529	84,68809	100,0000
Да / Presents	81	81	15,31191	15,3119
Пропущенные значения / Missing	0	529	0,00000	100,0000

Таблица 8 / Table 8

Сводная таблица выявленных комбинаций ЦОЭ-находок по результатам Метода 2

Frequency table for combined SSC-findings diagnosis reporting by Method 2

Параметры / Categories	**Число *n* / Count *n***	**Совокупное число *n* / Cumulative Count *n***	**Процент, % / Percent, %**	**Совокупный процент, % / Cumulative Percent, %**
14, 15, 17, 21	17	118	3,21361	22,3062
15, 17, 21	99	231	18,71456	43,6673
14, 15, 16, 17, 20, 21	12	274	2,26843	51,7958
15, 17, 21, 24	32	306	6,04915	57,8450
14, 15, 17, 20, 21	16	330	3,02457	62,3819
15, 21	18	404	3,40265	76,3705
14, 15	16	420	3,02457	79,3951
14, 15, 17	16	444	3,02457	83,9319
Пропущенные значения / Missing	3	529	0,56711	100,0000

Таблица 9 / Table 9

Сводная таблица по результатам Методов 1 и 2
Frequency table reporting by Method 1, 2

Параметр / Category	Метод 1 / Method 1		Метод 2 / Method 2	
	Патоспермия «–» / Pathospermia negative	Патоспермия «+» / Pathospermia positive	ЦОЭ «–» / SSC negative	ЦОЭ «+» / SSC positive
Пациенты *n* (%) / Patient *n* (%)	80; 15,13 %	449; 84,87 %	81; 15,31 %	448; 84,69 %

Патоспермия «–» – присутствует нормозооспермия (параметр 1) / Pathospermia negative – normozoospermia presents (Category 1)

Патоспермия «+» – присутствуют различные сценарии патоспермии по параметрам 2 – 13 или их комбинациям согласно табл. 6 / Pathospermia positive-several scenario of pathospermia are presents according Categories 2 – 13 or their combination tabl. 6

ЦОЭ «–» – диагностические находки, не характерные для нормального осадка эякулята, не обнаружены по параметру 27 / SSC negative-findings are not suitable for normal SSC, not detectable according Category 27

ЦОЭ «+» – диагностические находки, не характерные для нормального осадка эякулята, обнаружены по параметрам 14 – 26 / SSC positive-findings are not suitable for normal SSC, detectable according Categories 14 – 26

Все пациенты с патоспермией, кроме одного (1; 0,18 %), были ЦОЭ «+» (449; 84,87 % vs 448; 84,69 %) (табл. 9). Все пациенты без патоспермии (нормозооспермия) были ЦОЭ «–» (80; 15,13 % vs 81; 15,31 %), кроме одного (1; 0,18 %), где был установлен факт ЦОЭ «+», а именно ЦОЭ-мБ (параметры 21 – 23) (табл. 9).

Проведена связь нормозооспермии (параметр 1) с исходами ЦОЭ-мБ (табл. 10).

Признаки «ЦОЭ-мБ» и «Нормозооспермия (параметр 1)» ассоциированы ($P < 0{,}001$, Хи-квадрат) (табл. 11).

Частота ЦОЭ-мБ при наличии фактора нормозооспермии (параметр 1) статистически значимо ниже.

Таблица 10 / Table 10

Связь нормозооспермии (параметр 1) и ЦОЭ-мБ (параметры 21 – 23)
Normozoospermia (category 1) vs SSC-mB (categories 21 – 23)

ЦОЭ-мБ / SSC-mB	2-Way Summary Table: Observed Frequencies		
	Параметр 1 / Category 1 Да / Presents	Параметр 1 / Category 1 Нет / Absence	Итоговая строка / Row Totals
Да / Presents	1	161	162
% по столбцу	1,25 %	35,86 %	
Нет / Absence	79	288	367
% по столбцу	98,75 %	64,14 %	
Итого / Totals	80	449	529

Таблица 11 / Table 10

Статистика: ЦОЭ-мБ vs Нормозооспермия (Параметр 1)
Statistics: SSC-mB vs Normozoospermia (Category 1)

Статистика / Statistics	Хи-квадрат / Chi-square	df	p
Хи-квадрат Пирсона / Pearson Chi-square	29,12844	df = 1	p = ,00000
M-L Хи-квадрат / M-L Chi-square*	37,57413	df = 1	p = ,00000
Хи-квадрат Йетса / Yates Chi-square	27,72481	df = 1	p = ,00000

* M-L Chi-square – Maximum-Likelihood **Chi square**

Обсуждение. Результаты *Метода 1* у обследуемых пациентов с бесплодием показывают, что у 15,13 % базовые показатели спермограммы остаются нормальными, что подразумевает своевременное и точное дальнейшее обследование мужчин в целях выявления причин нарушения мужской фертильности (табл. 5), так как диагноз «нормозооспермия» – это не причина прекратить ЛД мужчины, а повод к более детальному диагностическому подходу.

В комбинациях семиологических диагнозов наблюдается тенденция к наиболее часто встречающейся астенозооспермии и различных степеней агглютинации наряду с дискинезией, а также некрозооспермией и вискозипатией (табл. 6).

Результаты *Метода 2* показывают, что высокий процент всех обследуемых мужчин с бесплодием, у которых была установлена патоспермия (84,69 %), имели различные ЦОЭ-находки (табл. 9), и не менее высокая доля из которых (69,75 %) имела бактериоспермию (табл. 7).

Обращает на себя внимание то, что практически у всех пациентов с нормозооспермией (15,13 % из 15,31 %) не было обнаружено ЦОЭ-находок, нетипичных для нормального ОЭя, т.е. они были ЦОЭ «–» (табл. 9).

В комбинациях ЦОЭ-находок наблюдается тенденция к обнаружению макрофагов/моноцитов ≥2 / п/з, дегенеративных изменений уротелия, железистого эпителия и полиморфной микробиоты (ЦОЭ-мБ), а также лейкоцитов ≥3 / п/з / ЦОЭ-пиоспермии и десквамации уротелия и железистого эпителия ≥5 / п/з (табл. 8).

Предоставление урологу-андрологу/репродуктологу/гинекологу информации в виде описания ЦОЭ-находок МДПЖ является важным, так как без ЦОЭ-отчетов информации дальнейшее лабораторное обследование мужчины или супружеской пары будет субъективным и неполноценным.

Так, наличие лейкоцитов ≥3 / п/з или ЦОЭ-пиоспермии, особенно нейтрофильных гранулоцитов или ППК (пероксидазо-позитивных клеток), является пусковым фактором для образования *активных форм кислорода* (*АФК*) в сперматозоидах, что приводит к повреждению ДНК и снижению качества спермы. Стоит подчеркнуть, что пиоспермия по результатам спермограммы обнаруживается примерно у 10 – 20 % бесплодных мужчин [21, 22]. Согласно настоящему исследованию, *Методом 1* пиоспермия была установлена у 9,83 % мужчин, что коррелирует с результатами научных публикаций (табл. 5), а *Методом 2* – у 31 % мужчин (табл. 7) с нарушением репродуктивной функции, что указывает на возможные диагностические потери (21 %) при условии присутствия только одной спермограммы в алгоритме лабораторного обследования инфертильных и субфертильных пациентов. Более того, пиоспермия, наряду с вискозипатией, сниженным объемом (олигоспермией) и повышенным pH эякулята, является одним из важных диагностических признаков присутствия ВПЧ ВКР, так как у мужчин этот вирус протекает в основном асимптомно и малосимптомно [23, 24], в этой связи информация в отчете ЦОЭ о пиоспермии не должна оставаться без должного внимания.

Обнаружение макрофагов/моноцитов ≥2 / п/з, многоядерных гигантских клеток (клетки типа инородных тел), десквамации уротелия, железистого эпителия ≥5 / п/з, дегенеративных изменений уротелия/железистого эпителия как в различных комбинациях, так и по раздельности (*Находки 1-го типа*) может свидетельствовать о локальном нарушении иммунной защиты с усиленной клеточной реакцией, т.е. о затяжном воспалительном процессе МДПЖ, вероятно, связанном с: 1) инфекционной этиологией: ВПЧ ВКР, присутствием полиморфной микробиоты, Cl.trachomatis, T.vaginalis, N.gonorhoeae и др., а также гриба рода Candida; 2) неинфекционной этиологией (иммунологической), в том числе неоплазией.

Диагностический алгоритм лечащего врача при инфекционных и неинфекционных Находках 1-го типа должен быть акцентирован на поиск их причин, для чего необходимо дообследование ОЭя: а) МАНК/ПЦР-РВ с тестом Андрофлор, куда входит расширенное исследование облигатной и условно-патогенной микробиоты, в том числе определением абсолютно-патогенных инфекций N.gonorhoeae (N) / Cl.trachomatis (C) / M.genitalium (M) / T.vaginalis (T) (Андрофлор+NCMT); б) ВПЧ ВКР с расширенной линейкой генотипов (21-й тип) (ВПЧ ВКР-21); в) микробиологическое исследование ОЭя для идентификации и определения чувствительности к антибактериальным препаратам [9, 25].

Присутствие полиморфной микробиоты (ЦОЭ-мБ) как самостоятельно, так и в комбинациями с другими ЦОЭ-находками (*Находки 2-го типа*) предоставляет клиницисту информацию о бактериоспермии, которая может быть причиной бесплодия мужчины, а также рецидивирующих

бактериальных вагинозов у женщин. В случаях выявления Находок 2-го типа первоочередным шагом к дополнительной ЛД пациента должны быть назначены МАНК/ПЦР-РВ с тестом Андрофлор+ +NCMT в ОЭя и микробиологическое исследование ОЭя для идентификации и определения чувствительности к антибактериальным препаратам [25].

Выявление элементов (споры, псевдомицелий) гриба рода Candida и Leptotrichia (ЦОЭ-мБ) (*Находки 3-го типа*) предоставляют информацию о грибковых поражениях локусов МДПЖ, что не требует подтверждения дополнительными методами, за исключением случаев, когда у пациента может иметь место толерантность к антимикотическим средствам ввиду бесконтрольного их применения на протяжении многих лет. В случае обнаружения Находок 3-го типа рекомендовано микробиологическое исследование ОЭя для идентификации видовой принадлежности гриба рода Candida и определения чувствительности к антимикотическим препаратам.

Обнаружение плоского эпителия с признаками ВПЧ ВКР (*Находки 4-го типа*) и, как упоминалось выше, в комбинации с пиоспермией, вискозипатией, сниженным объемом и повышенным pH эякулята должно направить лечащего врача на исключение у пациента в ОЭя ВПЧ ВКР, так как, согласно клиническим наблюдениям, ВПЧ ВКР у мужчин протекает асимптомно или малосимптомно [17, 23 – 25]. Иногда на протяжении от полугода и более пациенты предъявляют жалобы на внезапно приходящие ноющие, тупые боли в области простаты, иррадиирущие в область мошонки, заднего прохода и ноги. В таких случаях отсутствие в российских КР назначения для обследования мужчины на hr-HPV создает высокий риск диагностических потерь со всеми негативными последствиями для репродуктивного здоровья семьи в целом. Понимание ценности Находок 4-го типа важно для своевременного доназначения МАНК/ПЦР-РВ с тестом ВПЧ ВКР-21 в ОЭя [17, 23 – 25].

Морфологическая картина ЦОЭ, где упомянуты включения в железистом эпителии/уротелии, морфологически сходные с ретикулярными тельцами Cl.trachomatis (*Находки 5-го типа*), дает лечащему врачу представление о локальной клеточной реакции МДПЖ, если мужчина имеет в анамнезе хламидийную инфекцию или в настоящее время персистирующую инфекцию, вызванную возбудителем Cl.trachomatis. При обнаружении Находок 5-го типа диагностический алгоритм клинициста должен быть направлен на верификацию Cl.trachomatis в ОЭя МАНК/ПЦР-РВ. Следует отметить, что на территории РФ в клинико-лабораторной практике микробиологическое исследование на Cl.trachomatis не применяется. Более того, В КР ЕОУ (Европейской Ассоциации Урологов) также отмечено, что ввиду отсутствия альтернативных точных методов, в том числе микробиологического, для обнаружения Cl.trachomatis верификацию Находок 5-го типа необходимо проводить с помощью МАНК/ПЦР-РВ в ОЭя, так как литературные данные подчеркивают критично низкий процент (19 %) выявления хламидиоза в УО/УС с помощью МАНК/ПЦР-РВ [5].

Нахождение дегенеративной формы T.vaginalis (*Находки 6-го типа*) в ЦОЭ-отчете свидетельствует о хронической форме урогенитального трихомониаза, который поражает одинаково часто как мужчин, так и женщин, но частота детекции T.vaginalis у мужчин в 2–3 раза ниже, что, вероятно, обусловлено следующими причинами: 1) анатомо-гистологическими особенностями уретры; 2) изменением фенотипа T.vaginalis – образованием различных морфологических форм простейшего в силу разницы в среде обитания паразита в мужской уретре и женском влагалище. Очевидно, неблагоприятные условия обитания T.vaginalis в меньшей степени обусловлены разницей в pH среды влагалища и уретры, предстательной железы, семенных пузырьков, придатков яичек (МДПЖ). Если учитывать, что при pH 5,0 – 8,5 трихомонада проявляет оптимум патогенной активности, то как раз при колонизации МДПЖ, где pH нейтрально-щелочная, создаются комфортные условия для активации ее факторов патогенности [26].

Причина образования различных морфопитов простейшего, вероятнее всего, в том, что нормальная слизистая оболочка уретры у мужчин по своему гистологическому строению и биохимическим свойствам является менее подходящей средой для роста влагалищной трихомонады по сравнению со слизистой оболочкой влагалища. Трихомонады питаются гликогеном; малое количество гликогена в мочеиспускательном канале мужчин создает неблагоприятные условия для обитания трихомонад, что сказывается на биологических и морфологических свойствах возбудителя. Результаты научных исследований показывают, что T.vaginalis является облигатным паразитом, у которого потеряна способность синтезировать самостоятельно многие макромолекулы: пурины,

пиримидины, витамины, ионы, липиды, жирные кислоты, аминокислоты. Все эти компоненты микроорганизм получает из вагинального секрета, менструальной крови или при фагоцитозе микроорганизмов, обитающих на слизистых оболочках мочеполового тракта. Как известно, нормальная слизистая уретры мужчины имеет очень скудную бактериальную обсемененность, бедна по сравнению со слизистой влагалища необходимыми для роста трихомонад питательными веществами [26].

При заражении T.vaginalis возбудитель распространяется по всей уретре и может проникнуть в МДПЖ. Оказавшись в нетипичных условиях, требующих изменения привычного способа жизни, жгутиковые трихомонады грушевидной формы прячут жгутики и могут трансформироваться в округлые или дегенеративные формы, по существу являющиеся адаптивной разновидностью простейших. В МДПЖ постоянно вырабатывается секрет, содержащий необходимые для роста T.vaginalis питательные вещества. Недостаточное содержание ионов железа для синтеза трихомонадой некоторых липидов, вероятно, также может сказаться на морфологических и физиологических свойствах простейшего. Экспрессия четырех генов адгезинов (белков патогенности) координированно регулируется на транскрипционном уровне ионами железа. Так, синтез белка AP 65-1 (белок прилипания 65 000) регулируется через железочувствительные элементы ДНК. Недостаток синтеза этого белка фенотипически может проявляться в снижении адгезивных свойств возбудителя. Таким образом, дегенеративная форма трихомонад, являющихся транзиторным коменсалом уретры, вероятно, в меньшей степени подвержена прилипанию к клеткам органов-мишеней. Как известно, адгезивные свойства напрямую не коррелируют с вирулентностью: вирулентные штаммы, выделенные у больных, отличаются как слабой, так и выраженной способностью прикрепляться к клеткам хозяина [26].

Учитывая сказанное, отметим, что дегенеративные формы T.vaginalis в силу сниженной адгезивной способности и не ярко реализованных вирулентных свойств могут удерживать на высоком уровне процент малосимптомных и асимптомных форм инфекции у мужчин. Более того, МАНК/ПЦР-РВ могут давать ложноотрицательные результаты в силу низкой концентрации возбудителей, присутствующих на слизистых, доступных для исследования, а именно УО/УС. С другой стороны – в силу того, что измененный морфотип (дегенеративные, округлые формы) T.vaginalis меняет свой генотип, что также ведет к диагностическим потерям МАНК/ПЦР-РВ, так как праймеры наборов реагентов детектируют исключительно типичный (неизменный) фенотип T.vaginalis [26].

Микробиологические выявления T.vaginalis на территории РФ в клинико-лабораторной практике отсутствуют. В этой связи Находки 6-го типа подтверждать дополнительными методами нецелесообразно, необходимо немедленно приступить к тактике медикаментозного лечения трихомониаза сразу после получения ЦОЭ-протокола.

Присутствие в ЦОЭ-протоколе внутри- и внеклеточных диплококков, морфологически сходных с N.gonorhoeae (*Находки 7-го типа*), информирует о подозрении на гонорейную инфекцию. У мужчин с манифестными формами заболевания Находки 7-го типа требуют подтверждения окрашиванием по Граму. Что касается диагностики бессимптомных форм и микст-инфекции, а также скрининговых обследований, то 100%-ную чувствительность и специфичность демонстрирует только МАНК/ПЦР-РВ [27, 28], в связи с чем алгоритм дообследования пациента необходимо направить в отношении МАНК/ПЦР-РВ в ОЭя с тестом N.gonorhoeae.

Обнаружение в ЦОЭ-отчете атипичных клеток или подозрение на атипичные клетки (*Находки 8-го типа*) дает представление клиницисту о находках неинфекционного генеза, а именно о наличии предопухолевых изменений и злокачественных клеток, имеющих происхождение как из МДПЖ, так и из мочевого пузыря и даже почек [11, 14, 15, 17 – 19, 29]. Присутствие Находок 8-го типа должно определять тактику дообследования пациента в соответствии с действующим регламентом РФ обследования пациентов при онконастороженности. Находки 8-го типа имеют особую важность, так как несут информацию на клеточном уровне, что первично по сравнению с реакцией ткани.

Находки 9-го типа в виде нормальной картины осадка эякулята/либо «пустого» осадка эякулята при азооспермии – не менее важные по сравнению с остальными восьмью находками. Азооспермия и Находки 9-го типа в виде «пустого» осадка – это ожидаемая комбинация параметров, при наличии которых лечащий врач следует рекомендациям по диагностике причин азооспермии. Нормальная картина осадка эякулята требует пристального внимания, так как это не означает отсутствия причин нарушения фертильности. Согласно настоящему исследованию, 15,31 % пациентов с бесплодием имеют Находки 9-го типа (табл. 7), из которых 4,54 % – это пациенты с азооспермией (табл. 5).

Отсутствие своевременного и правильного лабораторного алгоритма дообследования мужчины приводит к риску диагностических потерь у 10,77 % пациентов, что негативно отражается на репродуктивном здоровье семьи в целом.

Атипичные клетки/подозрение на атипичные клетки в ОЭя *(Находки 10-го типа)* имеют исключительно принадлежность к ЦОЭ-находкам, тем самым определяя важность и ценность этого диагностического подхода у мужчин с нарушением репродуктивной функции. ЦОЭ можно считать продолжением начинаний великого цитопатолога Д. Папаниколау, интерес которого в области исследования образцов эякулята на атипичные клетки при опухолях яичка возник еще 70 лет назад. Сегодня мы имеем широкие возможности применения лабораторной технологии ЦОЭ в выявлении на клеточном уровне неоплазии в биоматериале «эякулят», полученном неинвазивным способом. Применение в клинической и лабораторной практике ЦОЭ может быть первым шагом на пути однопрофильного скрининга групп лиц мужской популяции с хроническими заболеваниями МДПЖ или с начальными их признаками в целях первичного отбора лиц, требующих консультации узких специалистов, оптимизации выбора тактики дообследования и формирования групп повышенного риска [11].

Помимо указанных в работе находок, диагностические возможности ЦОЭ позволяют обнаружить клетки, указывающие на наличие герпесвирусной и цитомегаловирусной инфекции (многоядерные клетки со складчатыми ядрами и клетки по типу «совиный глаз» соответственно), так как информация о наличии локального вирусного поражения крайне необходима.

Также следует отметить, что только 1,25 % пациентов с нормозооспермией был ЦОЭ-мБ «+» (табл. 10), что определяет необходимость дальнейшей ЛД мужчин МАНК/ПЦР-РВ с тестом Андрофлор в ОЭя и микробиологическим исследованием ОЭя.

С другой стороны, 98,75 % пациентов с нормозооспермией были ЦОЭ-мБ «–», 35,86 % пациентов с различными сценариями патоспермии (отсутствие нормозооспермии) были ЦОЭ-мБ «+»; 64,14 % пациентов с различными сценариями патоспермии (отсутствие нормозооспермии) были ЦОЭ-мБ «–» (табл. 10). Полученные результаты подтверждают гипотезу о том, что бактериоспермия ассоциируется с отклонениями от нормы различных параметров спермограммы (патоспермией), т.е. имеет место отсутствие ассоциации между бактериоспермией и нормозооспермией (табл. 11).

Безусловно, спермограмма – важнейший первичный метод оценки фертильности мужчины. Настоящая работа предоставила клиническим специалистам информацию о не менее важном подходе к алгоритму ЛД мужского бесплодия – Методу 2 «ЦОЭ» и значимости его применения в комбинации с Методом 1 «Спермограмма», так как оба метода являются взаимодополняющими. Высока вероятность того, что применение комбинированного исследования «Спермограмма+ +ЦОЭ»-ROSE способно развенчать миф о высоком проценте (30 – 50 %) неуточненного бесплодия [30], которое может с такой же долей вероятности (30 – 50 %) иметь причины и не быть идиопатическим, если идти по предложенному в представленном исследовании пути.

Заключение. У бесплодных мужчин базовые показатели спермограммы были нормальными, но сопровождались ЦОЭ-мБ, что определяет необходимость своевременного и точного дальнейшего обследования для поиска причин нарушения мужской фертильности.

У более чем половины всех обследуемых пациентов была установлена ЦОЭ-мБ .

Частота ЦОЭ-мБ при наличии фактора нормозооспермии статистически значимо ниже.

Комбинированный подход «Спермограмма+ +ЦОЭ»-ROSE позволит лечащим врачам избежать диагностических потерь в лабораторном алгоритме обследования мужчины с нарушением репродуктивной функции и выявить причины идиопатического бесплодия, причины которого прежде позиционировались как неуточненные.

Список литературы

1. Урология. Российские клинические рекомендации / под ред. Ю.Г. Аляева, П.В. Глыбочко, Д.Ю. Пушкаря. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2016. 496 с.

2. Вспомогательные репродуктивные технологии и искусственная инсеминация (протокол лечения). Клинические рекомендации МЗ РФ 05 марта 2019 г. № 15-4/и/2-1908.
Доступно по: https://rahr.ru/d_pech_mat_metod/BPT1.pdf. Ссылка активна на 12.02.2023.

3. Женское бесплодие. Клинические рекомендации 2021.
Доступно по: https://rahr.ru/d_pech_mat_metod/gbesp.pdf. Ссылка активна на 12.02.2023.

4. Мужское бесплодие. Клинические рекомендации 2021.
Доступно по: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/5_2. Ссылка активна на 12.02.2023.

5. EAU Guidelines. Edn. Presented at the EAU Annual Congress, Amsterdam, the Netherlands, 2020. ISBN 978-94-92671-07-3.

6. Мсхалая Г.Ж., и др. Мужское бесплодие. State art. М.: Практическая медицина; 2014. 80 с.

7. Сапожкова Ж.Ю., Еремин К.И., Пацап О.И. Оценка дисперсии ДНК-фрагментов сперматозоидов у мужчин с бесплодием: из клинических исследований первого российского набора ГЕМСТАНДАРТ – Гало-Сперм Л&К // Лабораторная и клиническая медицина. Фармация. 2022. Т. 2, № 3. С. 37 – 56.

8. Who Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. Sixth Edition. World Health Organization. 2021. Доступно по: https://www.who.int/publications/i/item/9789240030787. Ссылка активна на 12.03.2023

9. Сапожкова Ж.Ю., Милованова Г.А., Пацап О.И. Лабораторная диагностика мужского бесплодия. Маркеры и методы. Часть II // Лабораторная и клиническая медицина. Фармация. 2021. Т. 1, № 2. С. 65 – 79.

10. Почерников Д.Г., Сапожкова Ж.Ю. Тенденции использования ПЦР в обследовании мужчин на инфекции, передающиеся половым путем // Лабораторная и клиническая медицина. Фармация. 2022. Т. 2, № 3. С. 18 – 26.

11. Сапожкова Ж.Ю., Никанорова А.В., Пацап О.И., и др. Роль цитологического исследования осадка эякулята в неинвазивной диагностике семиномы. Клиническое наблюдение // Лабораторная и клиническая медицина. Фармация. 2022. Т. 2, № 2. С. 44 – 59.

12. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: МедиаСфера; 2002. 312 с.

13. Сапожкова Ж.Ю., Шабалова И.П., Касоян К.Т. Исследование осадка эякулята в диагностике инфекций, передаваемых половым путем: учеб. пособие. М.: ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ; 2017. 27 с.

14. Sapozhkova Z., Kasoyan K., Kovalchuk E., Sperm Sediment Cytology: A New Technique for Diagnosing Occult Urologic Infections // ActaCytologica. 2017. Vol. 61. P. 247 – 251.

15. Сапожкова Ж.Ю., Маколин И.А. ОАО «Медицина» Злокачественные новообразования мочеполовой системы у мужчин. Медицина: образование, практика и наука: сборник научных трудов. Выпуск 1. М.: ОАО «Медицина»; 2018. С. 11 – 16.

16. Сапожкова Ж.Ю., Маколин И.А., Шаталов Ю.Н. ОАО «Медицина», НПЦЭМП ДЗМ Вопросы диагностики урогенитальных инфекций у мужчин. Актуальные вопросы медицинской практики: сб. науч. тр. Выпуск 2. М.: ОАО «Медицина»; 2018. С. 58 – 61.

17. Сапожкова Ж.Ю., Почерников Д.Г., Галкина И.С. Роль цитологии осадка эякулята и ПЦР-диагностики в поиске возможной причины мужского бесплодия и ранней онкопатологии: тезисы Первого национального конгресса с международным участием ЛАБРиН // Научно-практический журнал «Акушерство и гинекология». Приложение. 2019. № 4. С. 75–76. ISSN 0300-9092 (печ. вер.), ISSN 2412-5679 (эл. вер.). Доступно по: https://aig-journal.ru/articles/Rol-citologii-osadka-eyakulyata-i-PCR-diagnostiki-v-poiske-vozmojnoi-prichiny-mujskogo-besplodiya-i-rannei-onkopatologii.html. Ссылка активна на 14.02.2023.

18. Сапожкова Ж.Ю. Способ микроскопической диагностики качества спермы после седиментации эякулята. Патент РФ на интеллектуальную собственность. № 2686685. 2019 г. Доступно по: http://new.fips.ru. Ссылка активна на 14.02.2023.

19. Sapozhkova Z.Y., Pochernikov D.G., Galkina I.S. Infectioous and Non-Infectious Findings in Infertile Men with Asymptomatic Chronic Prostatitis: Sperm Sediment Cytology vs DNA-Screening 20th International Cytology Congress. 2019. 96. 89 p.

20. Сапожкова Ж.Ю. Способ лабораторной диагностики мужской репродуктивной функции. Патент РФ на интеллектуальную собственность. Заявка 2022113772/14 (028779).

21. Saleh R.A., Agarwal A., Kandirali E., et al. Leukocytospermia Is Associated with Increased Reactive Oxygen Species Production by Human Spermatozoa // Fertil. Sterility. 2002. Vol. 78, N 6. P. 1215 – 1224.

22. Agarwal A., Mulgund A., Alshahrani S., et al. Reactive Oxygen Species and Sperm DNA Damage in Infertile Men Presenting with Low Level Leukocytospermia // Reprod. Biol. Endocrinol. 2014. Vol. 12, N 126.

23. Damke E., Kurscheidt F.A., Balani V.A., Takeda K.I. Irie MMT, Gimenes F, Consolaro MEL. Male Partners of Infertile Couples with Seminal Infections of Human Papillomavirus Have Impaired Fertility Parameters // Biomed Res Int. 2017. P. 4684629.

24. Luttmer R., Dijkstra M.G., Snijders P.J., et al. Presence of Human Papillomavirus in Semen in Relation to Semen Quality // Hum Reprod 2016. Vol. 31. P. 280 – 286.

25. Сапожкова Ж.Ю., Милованова Г.А., Почерников Д.Г., Постовойтенко Н.Т. Диагностические возможности исследования осадка эякулята с помощью амплификации нуклеиновых кислот методом полимеразно-цепной реакции в режиме реального времени и микробиологического исследования при поиске причин нарушения мужской репродуктивной функции // Медицинские технологии. Оценка и выбор. 2022. Т. 44, № 2. С. 62 – 71.

26. Сапожкова Ж.Ю. Диагностическое значение различных лабораторных методов выявления трихомоноза у мужчин: дис. … канд. мед. наук. М.; 2010.

27. European Guideline on the Diagnosis and Treatment of Gonorrhoea in Adults 2012.

28. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2015 // MMWR. 2015. Vol. 64, N 3.

29. Rojewska I., Pykalo R., Czaplici M. Urine and Semen Cytomorphology in Patients with Testicular Tumors // Diagn Cytopathol. 1989. Vol. 5. P. 9 – 13.

30. Сапожкова Ж.Ю. Влияние вируса SARS-CoV-2 на мужское бесплодие // Лабораторная и клиническая медицина. Фармация. 2021. Т. 1, № 1. С. 8 – 13.

References

1. Urology. Russian clinical guidelines. Under the editorship of YuG Alyaev, PV Glybochko, DYu Pushkar. M.: GEOTAR-Media; 2016. 496. (In Russ).

2. Vspomogatel'nye reproduktivnye tekhnologii i iskusstvennaya inseminatsiya (protokol lecheniya). Klinicheskie rekomendatsii Available at: https://rahr.ru/d_pech_mat_metod/BPT1.pdf. Accessed: 12 Feb 2023 (In Russ).

3. Zhenskoe besplodie. Klinicheskie rekomendatsii. 2021.
Available at: https://rahr.ru/d_pech_mat_metod/gbesp.pdf. Accessed: 12 Feb 2023 (In Russ).

4. Muzhskoe besplodie. Klinicheskie rekomendatsii. 2021. Available at: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/5_2 Accessed: 12 Feb 2023 (In Russ).

5. EAU Guidelines. Edn. presented at the EAU Annual Congress, Amsterdam, the Netherlands, 2020.

6. Mskhalaya GZh, i dr. Muzhskoe besplodie. State art. M.: Prakticheskaya meditsina; 2014. P. 80. (In Russ).

7. Sapozhkova ZhYu, Eremin KI, Patsap OI. Sperm Chromatin Dispersion Test for Examination of Infertile Male: From Clinical Trials of First Russian Kit GEMSTANDART–HaloSperm L&Q. *Laboratory and Clinical Medicine*. *Pharmacy*. 2022;2(3):37-56. (In Russ). DOI: 10.14489/ lcmp.2022.03.pp.037-056

8. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. Sixth Edition. World Health Organization. 2021 Available at: https://www.who.int/publications/i/item/9789240030787. Accessed: 12.03.2023.

9. Sapozhkova ZhYu, Milovanova GA, Patsap OI. Laboratory diagnostics of male infertility. Biomarkers and methods. Part II. *Laboratory and Clinical Medicine*. *Pharmacy*. 2021;1(2):65-79. (In Russ). DOI: 10.14489/lcmp.2021.02.pp.065-079

10. Pochernikov DG, Sapozhkova ZhYu. PCR "checkup" in male in the sexually transmitted infections. Trend watching. *Laboratory and Clinical Medicine. Pharmacy*. 2022;2(3):18-26. (In Russ). DOI: 10.14489/lcmp.2022.03.pp.018-026

11. Sapozhkova ZhYu, Nikanorova AV, Patsap OI, et al. The Role of Sperm Sediment Cytology in Non-Invasive Diagnostics of Seminoma. Case report. *Laboratory and Clinical Medicine. Pharmacy*. 2022;2(2):44-59. (In Russ).

12. Rebrova OYu. Statisticheskii analiz meditsinskikh dannykh. Primenenie paketa prikladnykh programm STATISTICA. M.: MediaSfera, 2002; 312. (In Russ).

13. Sapozhkova ZhYu, Shabalova IP, Kasoyan KT. Issledovanie osadka eyakulyata v diagnostike infektsii, peredavaemykh polovym putem: Uchebnoe posobie. M.: FGBOU DPO RMANPO MZ RF, 2017;27. (In Russ).

14. Sapozhkova Z, Kasoyan K, Kovalchuk E, et al; Sperm Sediment Cytology: A New Technique for Diagnosing Occult Urologic infections. *ActaCytologica*. 2017;61:247-51. DOI: 10.1159/000469653b

15. Sapozhkova ZhYu, Makolin IA. OAO "Meditsina" Zlokachestvennye novoobrazovaniya mochepolovoi sistemy u muzhchin. Meditsina: obrazovanie, praktika i nauka: sbornik nauchnykh trudov. Vypusk 1. M.: OAO "Meditsina", 2018; P. 11-6.

16. Sapozhkova ZhYu, Makolin IA, Shatalov YuN. OAO "Meditsina", NPTsEMP DZM Voprosy diagnostiki urogenital'nykh infektsii u muzhchin. Aktual'nye voprosy meditsinskoi praktiki: sbornik nauchnykh trudov. Vypusk 2. M.: OAO "Meditsina", 2018; P. 58-61.

17. Sapozhkova ZhYu, Pochernikov DG, Galkina IS. Rol' tsitologii osadka eyakulyata i PTsR-diagnostiki v poiske vozmozhnoi prichiny muzhskogo besplodiya i rannei onkopatologii. Tezisy Pervogo natsional'nogo kongressa s mezhdunaronym uchastiem LABRiN. *Nauchno-prakticheskii zhurnal* "*Akusherstvo i ginekologiya*". Prilozhenie. 2019;4:75-6.

18. Sapozhkova ZhYu. Sposob mikroskopicheskoi diagnostiki kachestva spermy posle sedimentatsii eyakulyata. Patent RUS na intellektual'nuyu sobstvennost'. N 2686685. 2019 g Available at: http://new.fips.ru. Accessed: 14.02.2023. (In Russ).

19. Sapozhkova ZY, Pochernikov DG, Galkina IS. Infectioous and non-infectious findings in infertile men with asymptomatic chronic prostatitis: Sperm Sediment Cytology vs DNA-screening 20th International Cytology Congress. 2019;96:89.

20. Sapozhkova ZhYu. Sposob laboratornoi diagnostiki muzhskoi reproduktivnoi funktsii. Patent RUS na intellektual'nuyu sobstvennost'. Zayavka 2022113772/ 14 (028779).

21. Saleh RA, Agarwal A, Kandirali E, et al. Leukocytospermia is associated with increased reactive oxygen species production by human spermatozoa. *Fertil Steril*. 2002;78(6):1215-24. DOI: 10.1016/s0015-0282(02)04237-1

22. Agarwal A, Mulgund A, Alshahrani S, et al. Reactive oxygen species and sperm DNA damage in infertile men presenting with low level leukocytospermia. *Reprod Biol Endocrinol*. 2014;12:126. DOI: 10.1186/1477-7827-12-126

23. Damke E, Kurscheidt FA, Balani VA, et al. Male Partners of Infertile Couples with Seminal Infections of Human Papillomavirus Have Impaired Fertility Parameters. *Biomed Res Int*. 2017:4684629. DOI: 10.1155/2017/4684629

24. Luttmer R, Dijkstra MG, Snijders PJ, et al. Presence of human papillomavirus in semen in relation to semen quality. *Hum Reprod*. 2016;31(2):280-6. DOI: 10.1093/humrep/dev317

25. Sapozhkova ZhYu, Milovanova GA, Pochernikov DG, Postovoitenko NT. Diagnostic capabilities of ejaculate sediment examination with the help of nucleic acid amplification by polymerase chain reaction and microbiologic examination in searching for causes of male reproductive disfunction. *Medical Technologies.*

Assessment and Choice. 2022;44(2):62-71. (In Russ). https://doi.org/10.17116/medtech20224402162

26. Sapozhkova ZhYu. Diagnosticheskoe znachenie razlichnykh laboratornykh metodov vyyavleniya trikhomonoza u muzhchin. Dissertatsii na soiskanie uchenoi stepeni kandidata meditsinskikh NAUK. M.; 2010. (In Russ).

27. European Guideline on the Diagnosis and Treatment of Gonorrhoea in Adults 2012.

28. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2015. *MMWR*. 2015;64(3).

29. Rojewska, I, Pykalo R, Czaplici M. Urine and semen cytomorphology in patients with testicular tumors. *Diagn Cytopathol*. 1989;5:9-13.

30. Sapozhkova ZhYu. Viral Effect of SARS-Cov-2 on male infertility. *Laboratory and Clinical Medicine. Pharmacy*. 2021;1(1):8-13. (In Russ). DOI: 10.14489/lcmp.2021.01.pp.008-013

Поступила в редакцию / Received 22.02.2023
Принята к публикации / Accepted 01.03.2023

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.
Financing. The study was conducted without sponsorship.

Вклад авторов.
Сапожкова Ж. Ю. – концепция, дизайн исследования, обзор литературы, редактирование, анализ результатов, перевод на английский – 100 %.
Authors' contributions.
Sapozhkova Zh. Yu. – main concept, research design, review writing, editing, outcomes analysing, translation – 100 %.

Сведения об авторах / Information about authors

Жанна Юрьевна Сапожкова – к.м.н., руководитель Международной Школы Цитологии и Медицинской Школы Инноваций, Москва, Россия; руководитель клинико-диагностической лаборатории, Подольский диагностический центр, Подольск, Россия.
Zhanna Yu. Sapozhkova – MD, PhD, The International Cytology School & Innovatory Medical School, Head, Moscow, Russia; Medical Laboratory, Podolsk Diagnostic Center, Head, Podolsk, Russia.
E-mail: icsschool.2019@gmail.com. **SPIN РИНЦ:** 3191-4189
ORCID: 0000-0003-3068-2260