

БИОХИМИЧЕСКОЕ И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕРМЫ МУЖЧИН, ИНФИЦИРОВАННЫХ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫМИ ШТАММАМИ *UREAPLASMA UREALYTICUM*

Д.Л. Луцкий^{1,2}, А.М. Луцкая^{1,2}, С.В. Выборнов^{1,3}, Р.М. Махмудов⁴

¹ Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, Российская Федерация

² Лаборатория «ДИАМЕД-экспресс» ООО «РЕПРОДИАМЕД», Астрахань, Российская Федерация

³ Александро-Мариинская областная клиническая больница, Астрахань, Российская Федерация

⁴ Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова, Москва, Российская Федерация

Обоснование. Роль штаммов *Ureaplasma urealyticum* (UU) в патогенезе мужского бесплодия в настоящее время изучена не полностью. Несмотря на широкое распространение антибиотикорезистентных штаммов UU, практически отсутствуют данные об их влиянии на морфофункциональные характеристики сперматозоидов и биохимические параметры эякулята. **Цель исследования** — комплексная оценка фертильности сперматозоидов у мужчин, инфицированных антибиотикорезистентными штаммами UU.

Методы. Исследована сперма мужчин активного репродуктивного возраста ($n=4752$, возраст от 18 до 46 лет, средний возраст $27,8\pm 4,4$ года). В образцах спермы микробиологическим методом выявляли UU (посев на селективные питательные среды с последующей идентификацией и определением антибиотикочувствительности полученных изолятов). Из исследования исключали сперму мужчин с микст-инфекцией. В качестве контроля использованы образцы эякулятов здоровых фертильных мужчин ($n=67$, возраст от 19 до 43 лет, средний возраст $25,8\pm 5,1$ года). При исследовании эякулята были использованы методики, рекомендованные экспертной группой Всемирной организации здравоохранения. Кроме стандартной спермограммы были выполнены MAR-тесты (IgA, IgG и IgM); проведена оценка степени фрагментации ДНК сперматозоидов и взаимодействия сперматозоидов с гиалуроновой кислотой; определена активность акрозина и нейтральной альфа-глюкозидазы; определены уровни цинка, лимонной кислоты, фруктозы и гликоделина. Исследование было выполнено в период с 2018 по 2021 г. **Результаты.** Наиболее часто встречалась резистентность к эритромицину (88,2%), реже к азитромицину (47,0%), тетрациклину (41,7%). Сравнительно редко отмечалась резистентность к доксициклину (7,7%), джозамицину (5,9%) и медирамицину (5,8%). У мужчин, инфицированных антибиотикорезистентными штаммами UU, из показателей стандартной спермограммы наиболее часто наблюдалось нарушение двигательных характеристик сперматозоидов (астенозооспермия) и морфологии сперматозоидов (тератозооспермия). При наличии полирезистентных штаммов UU чаще встречалась высокая степень фрагментации ДНК сперматозоидов (10,03% случаев), чем у пациентов со штаммами UU, не резистентными к антибиотикам (5,92%) или резистентными только к одному антибиотику (6,16%). Нарушение взаимодействия сперматозоидов с гиалуроновой кислотой наблюдалось чаще при антибиотикорезистентных, чем нерезистентных, штаммах UU (более 12% и менее 4% случаев соответственно). У мужчин, инфицированных антибиотикорезистентными штаммами UU, часто наблюдалось снижение ферментативной активности акрозина (29,71% случаев), причем наиболее часто среди полирезистентных штаммов (40,46%). **Заключение.** Антибиотикорезистентные штаммы UU оказывают негативное влияние на показатели фертильности сперматозоидов, из них наиболее выраженные отрицательные эффекты вызывают полирезистентные штаммы. Рекомендуем определение активности акрозина при выполнении спермограммы для пациентов, инфицированных UU. При наличии полирезистентных штаммов UU целесообразна оценка степени фрагментации ДНК сперматозоидов. Рекомендуем проведение антибиотикограммы перед назначением лечения уреаплазмоза.

Ключевые слова: *Ureaplasma urealyticum*; антибиотикорезистентность; сперматозоиды; фертильность; мужское бесплодие.

Для цитирования: Луцкий Д.Л., Луцкая А.М., Выборнов С.В., Махмудов Р.М. Биохимическое и морфофункциональное исследование спермы мужчин, инфицированных антибиотикорезистентными штаммами *Ureaplasma urealyticum*. Клиническая практика. 2021;12(2):In Press. doi: <https://doi.org/10.17816/clinpract71584>

BIOCHEMICAL AND MORPHOFUNCTIONAL STUDY OF SPERM OF MEN INFECTED WITH ANTIBIOTIC-RESISTANT STRAINS OF UREAPLASMA

D.L. Lutsky^{1,2}, A.M. Lutskaya^{1,2}, S.V. Vybornov^{1,3}, R.M. Makhmudov⁴

¹ Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russian Federation

² Laboratory «DIAMED-Express» REPRODIAEMED, Astrakhan, Russian Federation

³ Alexander-Mariinsky Regional Clinical Hospital, Astrakhan, Russian Federation

⁴ Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov, Moscow, Russian Federation

Background: The role of UU in the pathogenesis of male infertility is currently not fully understood. Despite the widespread use of antibiotic-resistant UU strains, there is virtually no data on their effect on the morpho-functional characteristics of sperm and the biochemical parameters of the ejaculate. **Aims:** Comprehensive evaluation of sperm fertility in men infected with antibiotic-resistant UU strains. **Methods:** Semen of men of active reproductive age ($n=4752$, age from 18 to 46 years, average age 27.8 ± 4.4 years) was studied. In the semen samples, UU was detected by microbiological method (seeding on selective culture media with subsequent identification and determination of the antibiotic sensitivity of the obtained isolates). Semen from men with mixed infections was excluded from the study. As a control, we used samples of ejaculates from healthy fertile men ($n=67$, age from 19 to 43 years, average age 25.8 ± 5.1 years). In the study of the ejaculate, the methods recommended by the WHO expert group were used. In addition to the standard spermogram, MAR tests (IgA, IgG and IgM) were performed, the degree of fragmentation of sperm DNA was evaluated, the interaction of sperm with hyaluronic acid was evaluated, the activity of acrosin, the activity of neutral alpha-glucosidase was determined, the levels of zinc, citric acid, fructose and the level of glycodelin were determined. The study was carried out between 2018 and 2021. **Results:** The most common resistance was to erythromycin (88.2%), less often to azithromycin (47.0%), tetracycline (41.7%). Resistance to doxycycline (7.7%), josamycin (5.9%), and medicamycin (5.8%) was relatively rare. In men infected with antibiotic-resistant UU strains from the indicators of the standard spermogram, the most often observed violation of the motor characteristics of spermatozoa – asthenozoospermia and violation of the morphology of spermatozoa – teratozoospermia. In the presence of polyresistant UU strains, a high degree of sperm DNA fragmentation was more common (10.03% of cases) than in patients with UU strains not resistant to antibiotics (5.92% of cases) or resistant to only one antibiotic (6.16% of cases). Violation of the interaction of spermatozoa with hyaluronic acid was observed more often (more than 12% of cases) in antibiotic-resistant UU strains than in non-antibiotic-resistant UU strains (less than 4% of cases). In men infected with antibiotic-resistant UU strains, a decrease in the enzymatic activity of acrosin was often observed (29.71% of cases), and most often among polyresistant strains (40.46% of cases). **Conclusions:** Antibiotic-resistant UU strains have a negative effect on sperm fertility, of which the most pronounced negative effects are caused by polyresistant strains. We recommend the determination of acrosin activity when performing a spermogram for patients infected with UU. In the presence of polyresistant UU strains, it is advisable to assess the degree of fragmentation of sperm DNA. We recommend carrying out an antibioticogram before prescribing treatment for ureaplasmosis.

Keywords: *Ureaplasma urealyticum*; antibiotic resistance; spermatozoa; fertility; male infertility.

For citation: Lutsky DL, Lutskaya AM, Vybornov SV, Makhmudov RM. Biochemical and morphofunctional study of sperm of men infected with antibiotic-resistant strains of *Ureaplasma*. *Journal of Clinical Practice*. 2021;12(2):In Press. doi: <https://doi.org/10.17816/clinpract71584>

Submitted 15. 05.2021

Revised 17.06.2021

Published 30.06.2021

ОБОСНОВАНИЕ

Ureaplasma urealyticum (UU) является условно-патогенным микроорганизмом, имеющим широкое распространение, особенно у мужчин и женщин активного репродуктивного возраста, в том числе среди условно здоровых лиц [1–3]. Результаты метаанализа, полученные независимо и в разное вре-

мя учеными из Китая [4] и Ирана [5], убедительно свидетельствуют о неблагоприятном влиянии UU на репродуктивное здоровье мужчин. У мужчин, инфицированных UU, в ряде случаев могут наблюдаться ухудшение параметров эякулята [3, 6], нарушение двигательной активности сперматозоидов [7, 8] и неспецифическое изменение их микрострук-

туры [8], а также нарушение биохимического состава спермоплазмы [3, 7].

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) [9], в мире неуклонно растет число устойчивых к антибиотикам штаммов микроорганизмов. С началом пандемии COVID-19 ситуация резко усугубилась из-за широкого, но зачастую не вполне обоснованного применения антибиотиков, поэтому не случайно, что в последние годы возрос интерес к антибиотикорезистентным штаммам *UU*, которые стали встречаться все чаще среди клинических изолятов как в России [10], так и в других странах [11–13], в том числе у субфертильных и инфертильных мужчин [14]. Однако, как справедливо отмечает ряд авторов [1, 15], несмотря на проводимые исследования о влиянии *UU* на фертильность мужчин, остается много спорных моментов и нерешенных вопросов. В частности, малоизученным является вопрос влияния антибиотикорезистентных штаммов *UU* на морфофункциональные характеристики сперматозоидов и биохимический состав спермоплазмы.

Цель исследования — комплексная оценка фертильности спермы у мужчин, инфицированных антибиотикорезистентными штаммами *UU*.

МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Нерандомизированное контролируемое ретроспективное исследование.

Исследована сперма мужчин репродуктивного возраста (от 18 до 49 лет).

Критерии соответствия

В дальнейшее исследование были включены образцы спермы с *UU* в титре $\geq 10^4$ КОЕ/мл.

Из исследования исключены образцы спермы мужчин с микст-инфекцией.

Оставшиеся образцы были разделены на три опытные группы: группа-АЧ (образцы спермы, инфицированной неантибиотикорезистентными штаммами *UU*), группа-МР (образцы спермы, инфицированные штаммами *UU*, резистентными к одному антибиотику), группа-ПР (образцы спермы, инфицированные полирезистентными штаммами *UU*).

Контрольная группа (группа-К) включала образцы спермы здоровых мужчин с подтвержденной фертильностью, у которых параметры спермограммы соответствовали нормативным значениям, рекомендованным ВОЗ [16] (табл. 1).

Продолжительность исследования

Исследование проводилось с 2018 по 2021 г.

Для исследования в сперме *UU* и определения антибиотикорезистентности использовали коммерческий набор транспортной среды «Микоплазма-Т» и коммерческий набор для одноэтапного обнаружения, идентификации, оценки титра и определения чувствительности *UU* к 12 антибиотикам «Уреаплазма АЧ-12» (ОНТ ФГУН НИИЭМ им. Пастера Роспотребнадзора, Россия).

Стандартную спермограмму выполняли строго по протоколу ВОЗ [16]. Определение лейкоцитов в эякулятах проводили одноступенчатым методом окраски на пероксидазу с бензидином при помощи

Таблица 1 / Table 1

Референсные значения показателей эякулята / Reference values of ejaculate parameters

Характеристики эякулята	Уровень
Объем, мл	>1,5
Общее количество сперматозоидов, $\times 10^6$	>39,0
Концентрация сперматозоидов, $\times 10^6$ /мл	>15,0
Общая подвижность сперматозоидов, %	>40,0
Прогрессивно подвижные сперматозоиды (категории a+b), %	>32,0
Живые сперматозоиды, %	>58,0
НOS-тест, %	>58,0
Нормальные формы сперматозоидов, %	>4,0
pH	$\geq 7,2$
Лейкоциты, $\times 10^6$ /мл	<1,0
Неспецифическая агрегация сперматозоидов	Отсутствует
Агглютинация сперматозоидов	Отсутствует
MAR-тест, %	<50,0
IBD-тест, %	<50,0
HBA-тест, %	>80,0
SDF-тест, %	<15,0
Лимонная кислота, мг/эякулят	>10,0
Цинк, мкг/эякулят	>150,0
Фруктоза, мг/эякулят	>2,4
Нейтральная альфа-глюкозидаза, мМЕ/эякулят	>20,0
Акрозин, мкМЕ/ 10^6 сперматозоидов	от 50,0 до 250,0
Гликоделин-S, мкг/мл	от 20,0 до 200,0

коммерческого набора LeucoScreen (FertiPro, Бельгия). Для оценки жизнеспособности сперматозоидов проводили витальное окрашивание с использованием эозина и нигрозина (коммерческий набор VitalScreen, FertiPro, Бельгия), а также тест на гипосмотическое набухание сперматозоидов (коммерческий набор HOS-test, FertiPro, Бельгия).

Выполнение MAR-теста проводили в соответствии с рекомендациями ВОЗ [16] с использованием коммерческих наборов SpermMar IgA и SpermMar IgG (FertiPro, Бельгия) и коммерческого набора ImmunoSpheres Anti-IgM (Bioscreen Inc., США).

Определение уровня цинка в спермоплазме в соответствии с рекомендациями ВОЗ [16] проводили спектрофотометрическим методом с использованием коммерческого набора Zinc Sp-DAC. Lq (DAC-SpectroMed s.r.l., Республика Молдова) с 2-(5-нитро-2-пиридилазо)-5-(N-пропил-N-сульфопропиламино)-фенолом (нитро-PAPS) в качестве хромогена. Оптическую плотность определяли при длине волны 570 нм.

Определение в спермоплазме уровня лимонной кислоты проводили стандартным спектрофотометрическим методом с использованием коммерческого набора Citric Acid Test (FertiPro, Бельгия). Оптическую плотность определяли при длине волны 405 нм.

Определение в спермоплазме уровня фруктозы проводили спектрофотометрическим методом в соответствии с рекомендациями ВОЗ [16] с использованием коммерческого набора Fructose Test (FertiPro, Бельгия). Оптическую плотность определяли при длине волны 492 нм.

Активность нейтральной α -глюкозидазы определяли спектрофотометрическим методом [16] с *p*-нитрофенил- α -D-глюкопиранозидом в качестве субстрата. Для исследования использовали коммерческий набор EpiScreen Plus (FertiPro, Бельгия). Оптическую плотность определяли при длине волны 405 нм.

Для определения степени фрагментации ДНК сперматозоидов оценивали дисперсию хроматина [17]. В работе использовали коммерческий набор GoldCyto DNA (Guangzhou Jinsaito Trading, Китай).

Тест на связывание сперматозоидов с гиалуроновой кислотой (HBA-тест) проводили на слайдах с иммобилизованной гиалуроновой кислотой по стандартной методике [18, 19] с использованием коммерческого набора HBA Assay (Biocoat Inc., США).

Активность акрозина определяли стандартным спектрофотометрическим методом с N- α -бензо-

ил-DL-аргенин-*p*-нитроанидидом (BAPNA) в качестве субстрата [20] с использованием коммерческого набора AcroScreen (Bioscreen Inc., США). Оптическую плотность определяли при длине волны 405 нм.

Определение гликоделина в спермоплазме проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа в «сэндвич»-модификации с использованием коммерческого набора «АМГФ Фертитест-М» (Диатекс-ЭМ, Россия).

Статистический анализ

Размер выборки предварительно не рассчитывался.

Для выполнения статистического анализа был использован программный пакет MedCalc Ver.19.7 (MedCalc Software Ltd., Бельгия). Непрерывные и категориальные переменные представлены как среднее \pm стандартное отклонение. Для сравнения количественных характеристик был использован *U*-критерий Манна-Уитни. В качестве порогового уровня статистической значимости было принято значение $p < 0,01$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Объекты (участники) исследования

В работе была исследована сперма мужчин ($n=4752$) в возрасте от 18 до 46 (средний возраст $27,8 \pm 4,4$) лет. В качестве контроля использованы образцы эякулятов здоровых фертильных мужчин ($n=67$) в возрасте от 19 до 43 (средний возраст $25,8 \pm 5,1$) лет.

После микробиологического исследования спермы было установлено, что *UU* в титре 10^4 КОЕ/мл и более встречалась в 33,8% образцов. В соответствии с критериями исключения для дальнейшего исследования были оставлены только образцы эякулятов мужчин с моноинфекцией *UU*; случаи микст-инфекции в настоящей работе не учитывались (табл. 2).

Основные результаты исследования

Определение чувствительности к антибиотикам позволило установить, что наиболее часто среди выделенных штаммов *UU* встречалась резистентность к эритромицину (почти 90% случаев). Высокая частота встречаемости (от 20 до 50% случаев) устойчивых штаммов *UU* была отмечена и для ряда других антибиотиков (тетрациклин, кларитромицин, рокситромицин, азитромицин, офлоксацин, спарфлоксацин, левофлоксацин, моксифлокса-

Таблица 2 / Table 2

Объекты исследования / Objects of the investigation

Общее количество образцов спермы: $n=4752$
Образцы, соответствующие критериям включения (UU в титре $\geq 10^4$ КОЕ/мл): $n=1890$
Образцы, соответствующие критериям исключения (случаи микст-инфекции): $n=657$
Исследованные образцы спермы (моноинфекция UU): $n=1233$

цин). Сравнительно редко (менее 10% случаев) отмечалась резистентность UU к мефлоксацину, джозамицину и доксициклину (табл. 3).

После выполнения антибиотикограммы образцы спермы в соответствии с дизайном исследования

были разделены на три опытные и одну контрольную группу (табл. 4).

Для всех групп, включая контрольную, было выполнено комплексное исследование спермы для определения частоты встречаемости откло-

Таблица 3 / Table 3

Частота встречаемости резистентности к антибиотикам среди изолятов UU в исследованных образцах спермы /Frequency of occurrence of antibiotic resistance among UU isolates in the studied sperm samples

Тестируемые антибиотики			Антибиотикорезистентные изоляты UU , %
Группа	Подгруппа / поколение	Международное непатентованное название	
Тетрациклины	Природный	Тетрациклин	41,7
	Полусинтетический	Доксициклин	8,7
Макролиды	14-членный / 1-е	Эритромицин	88,2
	14-членный / 2-е	Кларитромицин	23,5
		Рокситромицин	35,3
	15-членный (азалид)	Азитромицин	47,0
	16-членный / 2-е	Мидекамицин	5,8
Джозамицин		5,9	
Фторхинолоны	2-е поколение	Офлоксацин	29,4
	3-е поколение	Спарфлоксацин	36,8
		Левифлоксацин	34,4
	4-е поколение	Моксифлоксацин	29,5

Таблица 4 / Table 4

Характеристики опытных групп и группы контроля / Characteristics of the experimental groups and the control group

Название группы	Количество образцов спермы, n	Возрастной состав группы, лет
Группа-АЧ	169	26,2 \pm 5,0 (от 19 до 42)
Группа-МР	276	27,4 \pm 4,6 (от 18 до 46)
Группа-ПР	788	28,2 \pm 4,4 (от 19 до 46)
Группа-К	67	25,8 \pm 5,1 (от 19 до 43)

Примечание. Здесь и для табл. 5: Группа-АЧ — образцы спермы, инфицированной штаммами UU , не резистентными к антибиотикам; Группа-МР — образцы спермы, инфицированные штаммами UU , резистентными к одному антибиотику; Группа-ПР — образцы спермы, инфицированные полирезистентными штаммами UU ; Группа-К — образцы спермы здоровых мужчин с подтвержденной фертильностью.

Note. Here for tab. 5: Группа-АЧ — sperm samples infected with strains of the UU , is not resistant to antibiotics; Группа-МР — sperm samples infected with strains of UU -resistant one the antibiotic; Группа-ПР — sperm samples infected with multidrug resistant strains of UU ; Группа-К — sperm samples of healthy men with proven fertility.

нений оцениваемых параметров от нормативных значений.

Как видно из данных табл. 5, при инфицировании антибиотикорезистентными штаммами *UU* (по сравнению со штаммами *UU*, не резистентными к антибиотикам) чаще наблюдается нарушение двигательных характеристик сперматозоидов (астенозооспермия), а также почти в 2 раза чаще отмечается нарушение морфологического строения сперматозоидов (тератозооспермия).

Следует отметить, что концентрация и общее количество сперматозоидов в эякуляте не были ассоциированы с антибиотикорезистентностью *UU*.

При определении антиспермальных антител на поверхности сперматозоидов (MAR- и IBD-тест) при инфицировании антибиотикорезистентными штаммами *UU* (по сравнению со штаммами *UU*, не резистентными к антибиотикам) отмечалось повышение частоты встречаемости IgA и IgG, но не IgM (см. табл. 5).

Нарушение взаимодействия сперматозоидов с гиалуроновой кислотой (HBA-тест) чаще наблюдалось в присутствии антибиотикорезистентных штаммов *UU* (более 12% случаев), чем в присутствии штаммов *UU*, чувствительных к антибиотикам (менее 4% случаев).

Таблица 5 / Table 5

Частота встречаемости нарушений параметров качества спермы у мужчин, инфицированных *UU* с разной чувствительностью к антибиотикам / Frequency of abnormalities in the parameters of sperm quality in men infected with *UU* with different sensitivity to antibiotics

Характеристики спермы	Частота отклонения от нормативного значения, %			
	Группа-К	Группа-АЧ	Группа-МР	Группа-ПР
Объем, мл	1,49	7,69	7,61	7,87
Общее количество сперматозоидов, $\times 10^6$	0	7,10	7,25	7,49
Концентрация сперматозоидов, $\times 10^6$ /мл	0	5,92	6,88	6,85
Общая подвижность сперматозоидов, %	0	8,28	23,55*	27,66*
Прогрессивно подвижные сперматозоиды (категории a+b), %	0	17,16	26,09*	29,44*
НОС-тест (жизнеспособность), %	0	5,33	6,16	5,71
Нормальные формы сперматозоидов, %	0	15,38	31,88*	35,03*
pH	2,99	4,73	6,16	6,35
Лейкоциты, $\times 10^6$ /мл	0	24,26	23,19	25,63
Неспецифическая агрегация сперматозоидов	4,48	13,02	12,68	16,75
Агглютинация сперматозоидов	1,49	10,06	13,41	14,97
MAR-тест (IBD-тест) IgA, %	0	5,33	17,39*	17,89*
MAR-тест (IBD-тест) IgG, %	0	7,1	13,04*	13,58*
MAR-тест (IBD-тест) IgM, %	0	1,18	1,81	1,90
HBA-тест, %	0	3,55	12,32*	12,44*
SDF-тест, %	0	5,92	6,16	10,03*#
Лимонная кислота, мг/эякулят	0	4,14	5,43	7,71
Цинк, мкг/эякулят	0	4,73	5,07	5,08
Фруктоза, мг/эякулят	0	3,55	3,99	4,31
Нейтральная альфа-глюкозидаза, мМЕ/эякулят	0	1,18	1,45	1,52
Акрозин, мкМЕ/ 10^6 сперматозоидов	0	11,83	29,71*	40,36*#
Гликоделин-S, мкг/мл	0	1,78	1,81	1,90

Примечание. * Различия достоверны с группой-АЧ; # различия достоверны с группой-МР. Для всех групп (АЧ, МР, ПР) различия достоверны с группой контроля (К).

Note. Differences are significant with the group-AS (Группа-АЧ); # differences are significant with the group-MR (Группа-МР). For all groups (АЧ, МР, ПР) the differences are significant with the control group (К).

При инфицировании *UU* повышается вероятность нарушения целостности ДНК сперматозоидов. Наиболее часто (более 10% случаев) фрагментация ДНК сперматозоидов наблюдается при инфицировании полирезистентными штаммами *UU* (см. табл. 5).

Снижение активности акрозина при инфицировании штаммами *UU*, не резистентными к антибиотикам, наблюдалось у каждого десятого пациента. Если штамм *UU* был устойчив к действию одного антибиотика, то низкая активность акрозина встречалась уже у 3 из 10 пациентов, а при полирезистентных штаммах — у 4 из 10 пациентов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Профиль антибиотикограммы изолятов *UU* в целом согласуется с данными как российских [10, 21], так и зарубежных [11–13] авторов, например низкая частота встречаемости устойчивости к доксициклину, мидекамицину и джозамицину. Однако нами были отмечены и особенности, в частности высокая частота встречаемости изолятов *UU*, устойчивых к эритромицину, тетрациклину, азитромицину. И если тенденция к росту распространенности *UU*, генетически устойчивых к эритромицину и тетрациклину, в литературе описывается [21], то высокая частота встречаемости изолятов *UU*, устойчивых к азитромицину, вероятно, является региональной особенностью.

Комплексное исследование спермы мужчин, инфицированных *UU*, подтвердило неблагоприятное влияние этого патогена на морфофункциональное состояние сперматозоидов и их биохимическое микроокружение, что согласуется с ранее полученными данными [2–7].

Многие авторы отмечают нарушение подвижности и морфологии сперматозоидов при уреэплазмозе [4, 5, 7]. Часто встречающееся нарушение двигательных характеристик сперматозоидов, вероятно, обусловлено микроструктурными повреждениями двигательного аппарата сперматозоидов (гипертрофия митохондрий, деструкция крист, нарушение спиральной упаковки митохондрий и др.), наблюдаемыми у мужчин, инфицированных *UU* [8]. Возможно также нарушение подвижности за счет прямого связывания *UU* со сперматозоидами [15], при этом антибиотикорезистентные штаммы *UU*, по полученным нами данным, были чаще ассоциированы с нарушением двигательной активности и морфологии сперматозоидов.

Нарушения процесса взаимодействия сперматозоидов с гиалуроновой кислотой, особенно часто наблюдаемое при инфицировании антибиотикорезистентными штаммами *UU*, могут быть обусловлены как прямым связыванием *UU* с поверхностью сперматозоидов [15], так и блокировкой рецепторов связывания с гиалуроновой кислотой кросс-реактивными антителами, которые могут вырабатываться на антигены *UU*, например уреазный комплекс UreG и кросс-антигены поверхностной мембраны сперматозоидов [22]. Продукция подобных кросс-реактивных антител, представляющих собой, по сути, антиспермальные антитела, согласуется с отмеченным нами увеличением частоты положительных MAR- и IBD-тестов, позволяющих выявлять антиспермальные антитела на поверхности сперматозоидов.

У мужчин, инфицированных *UU*, увеличивалась частота выявления сперматозоидов с повреждением ДНК. Мы полагаем, что причиной этого может являться продукция *UU*-токсичных метаболитов, способных повреждать мембраны сперматозоидов и вызывать фрагментацию ДНК [23], хотя не исключены и другие механизмы повреждения, что требует дополнительного исследования.

Известно, что при уреэплазмозе может вдвое снижаться экспрессия поверхностного белка P34H и активность гиалуронидазы [15], что нарушает нормальную акросомальную реакцию и пенетрацию сперматозоидами *zona pellucida* (блестящая оболочка, оолема). Наблюдаемое нами снижение активности акрозина, наиболее выраженное при инфицировании полирезистентными к антибиотикам штаммами *UU*, вероятно, может являться еще одним звеном в процессе нарушения акросомальной реакции при уреэплазмозе.

Отдельно отметим, что высокая частота встречаемости антибиотикорезистентных штаммов *UU*, способных оказывать повреждающее воздействие на сперматозоиды и нарушать биохимический состав спермоплазмы, при том что используемые для лечения уреэплазмоза антибиотики и сами способны оказывать токсическое воздействие на сперматогенез [24], требует особого внимания при назначении антибиотикотерапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, антибиотикорезистентные штаммы *UU* оказывают негативное влияние на показатели фертильности сперматозоидов, из них наиболее

выраженные отрицательные эффекты вызывают полирезистентные штаммы. Определение активности акрозина можно рекомендовать в качестве дополнительного теста при выполнении спермограммы для пациентов, инфицированных *UU*. При наличии полирезистентных штаммов *UU* целесообразна оценка степени фрагментации ДНК сперматозоидов.

Считаем необходимым рекомендовать проведение антибиотикограммы перед назначением лечения уреоплазмоза с целью повышения эффективности химиотерапии и снижения ее токсического влияния на сперматогенез.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Луцкий Д.Л., Луцкая А.М. — концепция и дизайн исследования, написание текста; Луцкая А.М., Выборнов С.В., Махмудов Р.М. — сбор и обработка материала; Луцкий Д.Л., Махмудов Р.М. — статистический анализ данных; Луцкий Д.Л., Выборнов С.В. — редактирование. Авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Author contribution. Lutsky D.L., Lutskaia A.M. — concept and design of the study, writing the text; Lutskaia A.M., Vybornov S.V., Mahmudov R.M. — collection and processing of the material; Lutsky D.L., Mahmudov R.M. — statistical data analysis; Lutsky D.L., Vybornov S.V. — editing. The authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ковалык В.П., Владимиров Е.В., Рубашева Т.В., Сирмай Н.С. Клиническое значение уреоплазм в урогенитальной патологии // *Клиническая практика*. 2019. Т. 10, № 1. С. 81–87. [Kovalyk VP, Vladimirova EV, Rubasheva TV, Sirmay NS. Clinical significance of ureaplasmas in urogenital pathology. *Journal of Clinical Practice*. 2019;10(1):81–87. (In Russ.)] doi: 10.17816/clinpract10181-87
2. Савзиханов Р.Т., Алибеков М.М. Клиническое значение биоваров уреоплазм в практике уролога // *Вестник урологии*. 2020. Т. 8, № 2. С. 37–42. [Savzikhanov RT, Alibekov MM. The clinical significance of ureaplasma biovars in the practice of a urologist. *Herald of Urology*. 2020;8(2):37–42. (In Russ.)] doi: 10.21886/2308-6424-2020-8-2-37-42
3. Луцкий Д.Л., Луцкая А.М., Махмудов Р.М. Исследование эякулята и его компонентов в диагностике воспалительных заболеваний мужской репродуктивной системы: клеточный состав, патогены // *Проблемы репродукции*. 2011. Т. 17, № 5. С. 77–82. [Lutsky DL, Lutskaia AM, Mahmudov RM. The study of ejaculate and its components in the diagnosis of inflammatory diseases of the male reproductive system: cellular composition, pathogens. *Problems of Reproduction*. 2011;17(5):77–82. (In Russ.)]
4. Huang C, Zhu HL, Xu KR, et al. Mycoplasma and ureaplasma infection and male infertility: a systematic review and meta-analysis. *Andrology*. 2015;3(5):809–816. doi: 10.1111/andr.12078
5. Moridi K, Hemmaty M, Azimian A, et al. Epidemiology of genital infections caused by *Mycoplasma hominis*, *M. genitalium* and *Ureaplasma urealyticum* in Iran; a systematic review and meta-analysis study (2000–2019). *BMC Public Health*. 2020;20(1):1020. doi: 10.1186/s12889-020-08962-5
6. Zhang QF, Zhang YJ, Wang S, et al. The effect of screening and treatment of *Ureaplasma urealyticum* infection on semen parameters in asymptomatic leukocytospermia: a case-control study. *BMC Urol*. 2020;20(1):165. doi: 10.1186/s12894-020-00742-y
7. Zhou YH, Ma HX, Shi XX, Liu Y. *Ureaplasma* spp. in male infertility and its relationship with semen quality and seminal plasma components. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 2018;51(6):778–783. doi: 10.1016/j.jmii.2016.09.004
8. Черешнев В.А., Пичугова С.В., Тулакина Л.Г., и др. Морфофункциональные изменения сперматозоидов при урогенитальной инфекции // *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2013. Т. 44, № 2. С. 88–92. [Chereshnev VA, Pichugova SV, Tulakina LG, et al. Morphofunctional changes of spermatozoa in urogenital infection. *Bulletin of the Ural Medical Academic Science*. 2013;44(2):88–92. (In Russ.)]
9. Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report 2021. Geneva: WHO Press; 2021. 167 p.
10. Колесникова Е.А., Бруснигина Н.Ф., Ефимов Е.И. Оценка распространенности антибиотикорезистентных штаммов генитальных микоплазм, выделенных у мужчин с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта // *РМЖ. Медицинское обозрение*. 2018. Т. 2, № 1. С. 4–7. [Kolesnikova EA, Brusnigina SF, Efimov EI. Evaluation of the prevalence of antibiotic-resistant strains of genital mycoplasmas isolated in men with inflammatory diseases of the urogenital tract. *RMJ. Medical Review*. 2018;2(1):4–7. (In Russ.)]
11. Schneider SC, Tinguely R, Droz S, et al. Antibiotic susceptibility and sequence type distribution of *Ureaplasma* species isolated from genital samples in Switzerland. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2015;59(10):6026–6031. doi: 10.1128/AAC.00895-15
12. Fernández J, Karau MJ, Cunningham SA, et al. Antimicrobial susceptibility and clonality of clinical ureaplasma isolates in the United States. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2016;60(8):4793–4798. doi: 10.1128/AAC.00671-16
13. Dumke R. Antimicrobial resistance in clinical isolates of *Ureaplasma* spp. from samples in Germany. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2021;65(5):e02342–20. doi: 10.1128/AAC.02342-20

14. Zhao L, Liu A, Li R, Zhao S. Antimicrobial resistance, genetic characterization, and molecular epidemiology of *Ureaplasma* species in males with infertility. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020;39(11):2177–2183. doi: 10.1007/s10096-020-03969-7
15. Beeton ML, Payne MS, Jones L. The role of *Ureaplasma* spp. in the development of nongonococcal urethritis and infertility among men. *Clin Microbiol Rev*. 2019;32(4):e00137-18. doi: 10.1128/CMR.00137-18
16. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. Geneva: WHO Press; 2010. 271 p.
17. Fernández JL, Muriel L, Goyanes V, et al. Simple determination of human sperm DNA fragmentation with an improved sperm chromatin dispersion test. *Fertility and Sterility*. 2005;84(4):833–842. doi: 10.1016/j.fertnstert.2004.11.089
18. Ye H, Huang GN, Gao Y, Liu DY. Relationship between human sperm-hyaluronan binding assay and fertilization rate in conventional in vitro fertilization. *Hum Reprod*. 2006;21(6):1545–1550. doi: 10.1093/humrep/del008
19. Huszar G, Ozenci CC, Cayli S, et al. Hyaluronic acid binding by human sperm indicates cellular maturity, viability, and unreacted acrosomal status. *Fertility and Sterility*. 2003;79(3):1616–1624. doi: 10.1016/S0015-0282(03)00402-3
20. Cui YH, Zhao RL, Wang Q, Zhang ZY. Determination of sperm acrosin activity for evaluation of male fertility. *Asian J Androl*. 2000;2(3):229–232.
21. Кондратьева Ю.С., Неймарк А.И. Урогенитальные инфекции и заболевания мочеполовой системы. Москва: Е-ното, 2017. 216 с. [Kondratieva JuS, Neymark AI. Urogenital infections and diseases of the genitourinary system. Moscow: E-noto; 2017. 216 p. (In Russ).]
22. Shi J, Yang Z, Wang M, et al. Screening of an antigen target for immunocontraceptives from crossreactive antigens between human sperm and *Ureaplasma urealyticum*. *Infect Immun*. 2007;75(4):2004–2011. doi: 10.1128/IAI.01171-06
23. Zhang Q, Xiao Y, Zhuang W, et al. Effects of biovar I and biovar II of *Ureaplasma urealyticum* on sperm parameters, lipid peroxidation, and deoxyribonucleic acid damage in male infertility. *Urology*. 2014;84(1):87–92. doi: 10.1016/j.urology.2014.04.014
24. Ших Е.В., Махова А.А., Мандыч Д.В. Влияние лекарственных средств на мужскую фертильность. Москва: ГЭОТАР-медиа, 2018. 128 с. [Shikh EV, Makhova AA, Mandych DV. The effect of medicines on male fertility. Moscow: GEOTAR-Media; 2018. 128 p. (In Russ).]

ОБ АВТОРАХ

Автор, ответственный за переписку:

Луцкий Дмитрий Леонидович, д.м.н., доцент;
адрес: Российская Федерация, 414056, Астрахань,
ул. Татищева, д. 17-45; e-mail: dmitry.lutsky@bk.ru;
eLibrary SPIN: 8826-1441;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1412-3322>

Соавторы:

Луцкая Аделя Мукминовна, к.м.н.;
e-mail: amm80@bk.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7094-6331>

Выборнов Сергей Владимирович, к.м.н.;
e-mail: andro_vibir@bk.ru; eLibrary SPIN: 6572-1798;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8584-5533>

Махмудов Рамиль Мукминович;
e-mail: ramilmahmudov@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8565-4788>

AUTHORS INFO

The author responsible for the correspondence:

Dmitry L. Lutsky, MD, Dr. Sci. (Med.), Assistant Professor;
address: 17-45 Tatishcheva street, 414056 Astrakhan,
Russia; e-mail: dmitry.lutsky@bk.ru;
eLibrary SPIN: 8826-1441;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1412-3322>

Co-authors:

Adelya M. Lutskaya, MD, Cand. Sci. (Med.);
e-mail: amm80@bk.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7094-6331>

Sergey V. Vybornov, MD, Cand. Sci. (Med.);
e-mail: andro_vibir@bk.ru; eLibrary SPIN: 6572-1798;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8584-5533>

Ramil M. Mahmudov,
e-mail: ramilmahmudov@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8565-4788>