

КАЧЕСТВО ЭЯКУЛЯТА МУЖЧИН С ГЕНИТАЛЬНОЙ ХЛАМИДИЙНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

В.В. Михайличенко¹, А.С. Есипов²

¹ Кафедра урологии и андрологии (зав. – проф. В.П. Александров), Медицинская академия последипломного образования, Санкт-Петербург

² Научно-поликлиническое отделение, ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта (дир. – акад. РАМН, з.д.н. РФ, проф. Э.К. Айламазян), РАМН, Санкт-Петербург

Quality of life in patients with genital *C. trachomatis* infections

V.V. Mihailichenko, A.S. Esipov

243 male patients were examined to determine the genital infections. DNA of *C. trachomatis* was found in urethral samples and prostate secretion of 10% patients (24/243). 18 of 24 males had the only *C. trachomatis* infection. Control group consisted of 73 patients, who were not infected with *C. trachomatis*, *M. hominis* and *U. urealyticum* and had not anti-*Chlamydia* antibodies in their blood serum and semen plasma. Comparative estimate of semen parameters of patients from both groups demonstrated that semen of infected males had higher percentage of spermatozoa with non-progressive (category C) motility ($P=0.03$). In comparison with the control data, structural abnormalities of acrosome were more prevalent in semen of males with infection ($P=0.02$). Leukocytospermia ($P=0.01$) and proportion of immotile spermatozoa with shaking tails ($P=0.04$) were more frequent in patients infected with *Chlamydia* than in healthy people.

Введение

Генитальный хламидиоз остается одной из наиболее распространенных в мире инфекций, передаваемых половым путем. Каждый год регистрируются десятки миллионов новых случаев заболевания. Инфекция нередко протекает бессимптомно, и это приводит к позднему обращению больных за медицинской помощью, развитию у них серьезных осложнений и последствий, среди которых выделяют репродуктивные нарушения.

Если связь генитальной хламидийной инфекции с обструктивным бесплодием у женщин четко установлена, то до сих пор остается не совсем понятным, какое влияние может оказывать хламидиоз на состояние репродуктивной функции у мужчин. В попытках связать хламидийную инфекцию с нарушениями репродуктивной функции у мужчин в ряде исследований была изучена

взаимосвязь хламидиоза и качества спермы. Однако, если в одних работах [1,2,3,4] было показано, что на фоне инфекции происходит ухудшение параметров эякулята, то в других публикациях [5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13] утверждалось противоположное.

Несколько лет назад группой исследователей из Великобритании в экспериментах *in vitro* было доказано, что элементарные тельца *Chlamydia trachomatis* при непосредственном контакте со сперматозоидами могут приводить к выраженному снижению подвижности последних [14]. В последующем эти же исследователи попробовали подтвердить свои выводы, полученные *in vitro*, изучением параметров спермограммы у инфицированных людей [15]. Оценив качество эякулята у пациентов с активной хламидийной инфекцией, исследователи не обнаружили различий между

здоровыми и инфицированными мужчинами по ряду показателей спермиологического анализа.

Такое противоречие данных побуждает к дальнейшим исследованиям, хотя результаты, полученные в эксперименте [14], не оставляют сомнений. Накопление новых сведений по этому вопросу, несомненно, должно привести к формированию правильного представления о том, как влияет хламидийная инфекция на показатели репродуктивной функции мужчин.

В этой связи, основываясь на собственном клинико-лабораторном материале, мы выполнили исследование, целью которого являлась сравнительная оценка параметров спермограммы у инфицированных хламидиями пациентов и здоровых людей.

Материалы и методы

Обследование 243 пациентов (средний возраст 34 ± 1 год) включало исследование генитального отделяемого (уретральный соскоб и секрет предстательной железы) методами ПЦР, посева, световой и иммерсионной микроскопии. Каждому пациенту была выполнена спермограмма и морфологическое исследование сперматозоидов. Сыворотка крови и семенная плазма тестировались методом ИФА для определения антихламидийных иммуноглобулинов классов IgA и IgG.

Метод ПЦР использовался для выявления фрагментов ДНК *C. trachomatis*, *M. hominis* и *U. urealyticum*. С этой целью применялись коммерческие тест-системы «АмплиСенс» (ЦНИИ Эпидемиологии МЗ РФ). Мишенью для амплификации фрагментов ДНК *C. trachomatis* являлась криптоическая плазида. В качестве внутреннего контроля использовался клонированный в плазмиде фрагмент ДНК *C. trachomatis*.

Для выявления хламидий культуральным методом применялись клеточные линии McCoу.

Уретральный материал и секрет предстательной железы окрашивались по Романовскому и исследовались методом иммерсионной микроскопии при оптическом увеличении $\times 1000$.

Спермограмма была выполнена через 1 час после эякуляции в соответствии с требованиями руководства ВОЗ (2001) [16]. Иммерсионное микроскопическое исследование эякулята выполнялось с целью определения доли различных видов патологии сперматозоидов, уточнения цитологической принадлежности круглых клеток и подсчета количества сегментоядерных нейтрофилов (СЯН) в поле зрения микроскопа при увеличении $\times 1000$. Среднее количество СЯН в одном поле зрения иммерсионного микроскопа ($\times 1000$) при исследовании секрета предстательной железы и эякулята определялось путем их подсчета в 30–50 полях зрения.

Для выявления антихламидийных иммуноглобулинов использовались коммерческие тест-системы ImmunoComb® *Chlamydia trachomatis* IgA и

ImmunoComb® *Chlamydia trachomatis* IgG (Orgenics, Israel).

Статистический анализ данных включал параметрические (описательная статистика, корреляционный анализ) и непараметрические (метод четырех полей) методы. Для определения достоверности различий значений параметров были использованы *t*-критерий Стьюдента (при нормальном распределении данных) и *Chi-square* метод (при асимметричном распределении данных). Значения $P < 0,05$ считались статистически значимыми.

Результаты

Методом ПЦР *C. trachomatis* были выявлены у 10% пациентов (24/243). У 4 из них хламидии, кроме этого, были обнаружены культуральным методом. У 6 пациентов хламидиоз сочетался с уреаплазменной и/или микоплазменной инфекцией. После исключения этих пациентов в исследуемой группе остались 18 человек с хламидийной моноинфекцией.

Группа сравнения состояла из 73 пациентов, у которых в уретральном материале и секрете предстательной железы не были выявлены хламидии, микоплазмы и уреаплазмы, а в сыворотке крови и в семенной плазме не были обнаружены антитела к хламидиям.

Ни у одного из пациентов обеих групп не было варикоцеле, гипогонадизма или какого-либо другого заболевания, сопровождающегося нарушением репродуктивной функции. Кроме того, ни одному из пациентов не были выполнены вазорезекция или какая-либо другая операция, которые бы могли привести к ухудшению качества эякулята.

Средние значения параметров спермограммы и морфологии сперматозоидов у пациентов исследуемой группы и группы сравнения представлены в табл. 1 и 2.

Корректно оценить достоверность различий, используя *t*-критерий Стьюдента, удалось только для значений доли нормальных сперматозоидов ($P = 0,45$), поскольку распределение значений всех остальных параметров было асимметричным (табл. 1 и 2). В связи с этим были исследованы внутригрупповые различия каждого параметра спермограммы и морфологии сперматозоидов (см. далее). Для оценки достоверности этих различий был использован *Chi-square* тест.

Полученные результаты показали, что у больных хламидийной инфекцией в сравнении со здоровыми людьми подвижность сперматозоидов была, хоть и незначительно, но достоверно снижена (рис. 1). При хламидиозе в 1,5 раза чаще доля сперматозоидов категории С (с непрогрессивным движением) превышала 20% ($P = 0,03$). Среди инфицированных в 3 раза было больше пациентов, у которых доля сперматозоидов, находящихся в состоянии колебательного дискинеза (неподвижные сперматозоиды с колебательными движениями жгу-

Таблица 1

Параметры спермограммы у мужчин с хламидийной генитальной инфекцией и здоровых лиц

Параметры эякулята	Пациенты с хламидийной инфекцией ($X \pm m_x$)	Здоровые пациенты ($X \pm m_x$)
Половое воздержание, (сутки)	8,2 ± 3,4 ■	4,8 ± 0,5 ■
Объем эякулята, (мл)	3,3 ± 0,4 □	3,1 ± 0,2 ■
Вязкость, (см)	0,8 ± 0,3 ■	0,5 ± 0,1 ■
Концентрация сперматозоидов, (10^6 /мл)	55,4 ± 12,6 ■	67,3 ± 5,0 □
Подвижность сперматозоидов, (%):		
категории (A + B)	30,1 ± 3,0 ■	35,5 ± 2,3 ■
категория C	31,2 ± 2,5 ■	25,4 ± 1,5 □
категория D	31,1 ± 2,4 □	34,6 ± 2,4 ■
колебательный дискинез ¹	7,0 ± 1,9 ■	4,5 ± 0,9 ■
□ – нормальное распределение значений;		
■ – ассиметричное распределение значений;		
¹ неподвижные сперматозоиды с колебательными движениями жгутиков.		

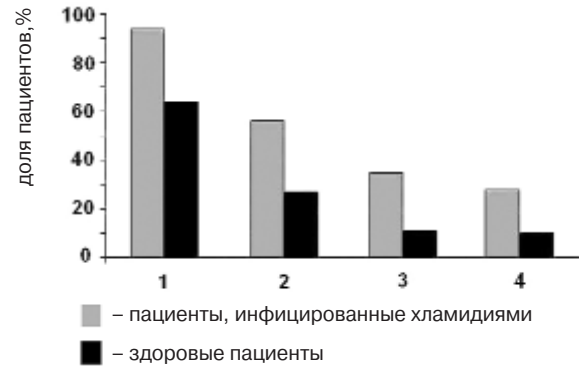
Таблица 2

Морфология сперматозоидов и количество лейкоцитов в эякуляте у мужчин с генитальной хламидийной инфекцией и здоровых лиц

Показатели морфологического исследования, (%)	Пациенты с хламидийной инфекцией ($X \pm m_x$)	Здоровые пациенты ($X \pm m_x$)
Нормальные формы	56,5 ± 4,0 □	55,0 ± 2,1 □
Патология акросомы	10 ± 1,5 ■	9,6 ± 1,1 ■
Патология нуклеосомы	8,9 ± 1,5 ■	8,9 ± 0,7 ■
Патология шейки	13,9 ± 1,6 ■	14,7 ± 0,9 ?
Патология хвоста	9,2 ± 1,2 □	8,7 ± 0,9 ■
Сегментоядерные нейтрофилы (количество в поле зрения микроскопа, x1000)	0,7 ± 0,3 □	0,2 ± 0,1 ■
□ – нормальное распределение значений;		
■ – ассиметричное распределение значений.		

тиков), превышала 10% ($P = 0,04$). Кроме того, среди больных хламидиозом в 2 раза чаще встречались люди, у которых доля сперматозоидов с патологией акросомы превышала 10% ($P = 0,02$). При хламидийной инфекции в 3 раза больше было пациентов, у которых в каждом втором поле зрения иммерсионного микроскопа выявлялись СЯН ($P = 0,01$).

Корреляционный анализ позволил обнаружить значительную взаимозависимость между выраженностью состояния колебательного дискинеза сперматозоидов и числом СЯН в эякуляте инфицированных хламидиями пациентов ($r = + 0,7$; $P < 0,01$). В группе сравнения такую взаимозависимость выявить не удалось ($r = - 0,05$; $P > 0,05$). В обеих группах доля неподвижных сперматозоидов с колебательными движениями жгутиков была больше при лей-



- 1 – пациенты, у которых в эякуляте сперматозоиды с непрогрессивным движением (категория C) составляют более 20% ($P = 0,03$);
 2 – пациенты, у которых колебательный дискинез сперматозоидов составляет более 10% ($P = 0,04$);
 3 – пациенты, у которых доля сперматозоидов с патологией акросомы составляет более 10% ($P = 0,02$);
 4 – пациенты с лейкоцитозом (сегментоядерные нейтрофилы в каждом втором поле зрения микроскопа при x1000) ($P = 0,01$)

Внутригрупповые различия некоторых параметров эякулята у инфицированных хламидиями пациентов и здоровых лиц

коцитоспермии ($P = 0,02$ и $P = 0,07$ для инфицированных пациентов и здоровых лиц, соответственно). Но все же, при хламидиозе количество пациентов с выраженным колебательным дискинезом сперматозоидов (более 10%) почти в 3 раза было больше, чем в группе сравнения (рисунок).

Обсуждение

В нашем исследовании количество пациентов, у которых была выявлена ДНК *C. trachomatis*, в два раза превысило величину аналогичного показателя, приведенную в работе Hosseinzadeh S. et al. [15]. Однако никаких разногласий в этом расхождении не было, так как частота выявления хламидий методом ПЦР в обоих исследованиях была в пределах общепринятых представлений о распространенности хламидийной инфекции [17].

Hosseinzadeh S. et al. (2004) отметили, что при исследовании спермы методом ПЦР нельзя точно говорить о локализации возбудителя в генитальном тракте. Возможность контаминации эякулята или секрета предстательной железы хламидиями при трансуретральном пассаже была и остается основным методологическим препятствием для безоговорочного признания этиологической роли *C. trachomatis* в развитии воспалительных процессов в верхних отделах мужского генитального тракта [18].

Концепция Hosseinzadeh S. et al. о патогенном воздействии элементарных телец *C. trachomatis* на подвижность сперматозоидов *in vivo* логична и была убедительно доказана этими же учеными в эксперименте [14]. Однако в клиническом исследовании авторы получили результаты, которые не подтвердили их экспериментальные данные [15]. В качестве

объяснения такого несовпадения была предложена версия, что продолжительность контакта элементарных телец со сперматозоидами в нативном эякуляте была меньше, поскольку спермограмма была выполнена в течение 1 часа после эякуляции. Однако если следовать результатам, полученным в эксперименте [14], подвижность сперматозоидов становилась ниже уже через 1 час после контакта возбудителя со сперматозоидами. Это позволяет думать, что длительность контакта сперматозоидов с хламидиями является существенным, но не единственным, и возможно, не главенствующим фактором из числа тех, которые могут влиять на подвижность мужских гамет.

В своем исследовании мы также не обнаружили различий средних значений большинства параметров эякулята у инфицированных и здоровых пациентов. Но наши данные показали, что подвижность сперматозоидов у больных генитальной хламидийной инфекцией, хоть и незначительно, но статистически достоверно была хуже, чем подвижность сперматозоидов у здоровых людей. Это, прежде всего, относилось к сперматозоидам с непрогрессивным движением (категория С) по классификации ВОЗ. Действительно, различий подвижности сперматозоидов категорий (А+В) и D не было. Но доля сперматозоидов с непрогрессивным движением (категория С) у больных хламидиозом была достоверно выше (рис. 1). Результаты, полученные Hosseinzadeh S. et al. [15] при исследовании нативного эякулята, могли быть также следствием того, что авторы оценивали подвижность сперматозоидов в целом, а не по категориям, рекомендуемым ВОЗ.

Как уже было сказано выше, вряд ли снижение подвижности сперматозоидов в эксперименте *in vitro* могло быть объяснимо только продолжительностью контакта элементарных телец со сперматозоидами. Причина, скорее всего, заключалась в том, что выделяемые для эксперимента наиболее подвижные сперматозоиды в процессе исследования находились не в семенной плазме, а в солевом растворе Эрла, содержащем 0,3% человеческого сывороточного альбумина. Авторы сами упомянули о существовании защитных или нейтрализующих функций семенной плазмы, но не связали это с условиями своих экспериментов *in vitro* [15].

Мы не обнаружили разницы в объеме эякулята у пациентов обеих групп. Отсутствовала также какая-либо корреляция между сроком полового воздержания и объемом семенной жидкости (данные не показаны). Таким образом, предположение Hosseinzadeh S. et al. [15] о возможной гиперсекреции придаточных половых желез на фоне хламидийной инфекции не нашло своего подтверждения в нашем исследовании. Результаты, полученные Wolff H. et al. [2], на которые ссылаются Hosseinzadeh S. et al. [15], согласуются с нашими результатами и подтверждают несущественность изменений этого

параметра эякулята при хламидиозе. Критика работы Wolff H. et al. (1991) за использование культурального метода выявления хламидий [15], в данном случае, является излишней, так как исследование немецких коллег было выполнено до того, как метод ПЦР был рекомендован для выявления *C. trachomatis* в клинической практике. Поэтому рассматривать значение этой работы следует в историческом контексте.

Согласно нашим данным, у больных хламидиозом чаще встречалась патология акросомы сперматозоидов. В ряде предшествующих работ других авторов были представлены противоречивые данные о характере влияния хламидий на способность постэякуляторных сперматозоидов к акросомальной реакции. Vigil P. et al. и Hosseinzadeh S. et al. не выявили различий у здоровых и инфицированных пациентов [19,20]. В противовес им, Jungwirth A. et al. показали, что у пациентов с хламидийной инфекцией по сравнению со здоровыми людьми различие между спонтанной и индуцированной акросомной реакцией сперматозоидов было меньше [21]. Однако ни в одной из этих работ не рассматривался вопрос о том, как часто выявлялись структурные отклонения акросомы у инфицированных и здоровых лиц.

Несомненно, что хламидийная инфекция вызывает в мочеполовом тракте воспалительный процесс со свойственной ему местной лейкоцитарной реакцией. При этом не у каждого пациента с генитальной хламидийной инфекцией бывает лейкоцитоспермия. Однако, как показали наши данные, при хламидиозе пациенты с лейкоцитоспермией встречались значительно чаще, чем это было отмечено среди здоровых лиц (рис. 1). Увеличение доли сперматозоидов с признаками колебательного дискинеза на фоне лейкоцитоспермии могло быть связано как с негативным воздействием продуктов местной воспалительной реакции [22], так и с непосредственным влиянием хламидийного возбудителя на сперматозоиды [15].

Таким образом, результаты нашего исследования позволяют считать, что генитальная хламидийная инфекция может оказывать негативное влияние на репродуктивную функцию мужчин. Ухудшение параметров эякулята носит невыраженный характер и проявляется увеличением долей сперматозоидов с непрогрессивным движением (категория С), признаками колебательного дискинеза и структурными нарушениями акросомы. В большинстве случаев это происходит на фоне повышенного содержания лейкоцитов в семенной плазме. Логично предположить, что степень нарушения подвижности сперматозоидов определяется не только продолжительностью повреждающего воздействия хламидий на сперматозоиды, но и защитными свойствами семенной плазмы.

Литература

1. *Custo GM, Lauro V, Saitto C, Frongillo RE.* Chlamydial infection and male infertility: an epidemiological study. *Arch. Androl.* 1989; 23(3):243–248.
2. *Wolff H, Neubert U, Zebhauser M, Bezold G, Korting HC, Meurer M.* Chlamydia trachomatis induces an inflammatory response in male genital tract and is associated with altered semen quality. *Fertil. Steril.* 1991; 55(5):1017–1019.
3. *Witkin SS, Kligman I, Bongiovanni AM.* Relationship between an asymptomatic male genital tract exposure to Chlamydia trachomatis and an autoimmune response to spermatozoa. *Hum. Reprod.* 1995; 10(11):2952–2955.
4. *Cengiz T, Aydoganli L, Baykam M, Mungan NA, Tuncbilek E, Dincer M, Yakupoglu K, Akalin Z.* Chlamydial infections and male infertility. *Int. Urol. Nephrol.* 1997; 29(6):687–693.
5. *Gregoriou O, Vitoratos N, Papadias C, Gregoriou G, Zourlas PA.* The role of chlamydial serology in fertile and subfertile men. *Eur. J. Obstet. Gynecol.* 1989; 30(1):53–58.
6. *Nagy B, Corradi G, Vajda Z, Gimers R, Csomor S.* The occurrence of Chlamydia trachomatis in the semen of men participating in an IVF programme. *Hum. Reprod.* 1989; 4(1):54–56.
7. *Eggert-Kruse W, Gerhard I, Naber H, Tilgen W, Runnebaum B.* Chlamydial infection—a female and/or male infertility factors? *Fertil. Steril.* 1990; 53(6):1037–1043.
8. *Eggert-Kruse W, Bublinger-Gojparth N, Robr G, Probst S, Aufenanger J, Nahe.r H., Runnebaum B.* Antibodies to Chlamydia trachomatis in semen and relationship with parameters of male infertility. *Hum. Reprod.* 1996; 11(7):1408–1417.
9. *Eggert-Kruse W, Robr G, Demirakca T, Rusu R, Naber H, Petzoldt D, Runnebaum B.* Chlamydial serology in 1303 asymptomatic subfertile couples. *Hum. Reprod.* 1997; 12(7):1464–1475.
10. *Soffer Y, Ron-El R, Golan A, Herman A, Caspi E, Samra Z.* Male genital mycoplasmas and Chlamydia trachomatis culture: its relationship with accessory gland function, sperm quality, and autoimmunity. *Fertil. Steril.* 1990; 53(2):331–336.
11. *Dieterle S, Mahony JB, Luinstra KE, Stibbe W.* Chlamydial immunoglobulin IgG and IgA antibodies in serum and semen are not associated with the presence of Chlamydia trachomatis DNA or rRNA in semen from male partners of infertile couples. *Hum. Reprod.* 1995; 10(2):315–319.
12. *Weidner W, Floren E, Zimmermann O, Thiele D, Ludwig M.* Chlamydial antibodies in semen: search for “silent” chlamydial infections in asymptomatic andrological patients. *Infection.* 1996; 24(4):309–313.
13. *Habermann B, Krause W.* Altered sperm function or sperm antibodies are not associated with chlamydial antibodies in infertile men with leukocytospermia. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 1999; 12(1):25–29.
14. *Hosseinzadeh S, Brewis IA, Eley A, Pacey AA.* Co-incubation of human spermatozoa with Chlamydia trachomatis serovar E causes premature sperm death. *Hum. Reprod.* 2001; 16(2):293–299.
15. *Hosseinzadeh S, Eley A, Pacey AA.* Semen quality of men with asymptomatic chlamydial infection. *J. Androl.* 2005; 25(1):104–109.
16. World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction. 4th ed. Cambridge, United Kingdom: University Press; 1999.
17. *Black CM.* Current methods of laboratory diagnosis of Chlamydia trachomatis infections. *Clin. Microbiol. Rev.* 1997; 10(1):160–184. 16
18. *Гомберг МА, Ковальк В.П.* Хламидиоз и простатиты. ИППП. 2002; 4:3–8. 17
19. *Vigil P, Morales P, Tapia A, Riquelme R, Saldago AM.* Chlamydia trachomatis infection in male partners of infertile couples: incidence and sperm function. *Andrologia.* 2002; 34(1):155–161.
20. *Hosseinzadeh S, Pacey AA, Eley A.* Chlamydia trachomatis – induced death of human spermatozoa is caused primarily by lipopolysaccharide. *J. Med. Microbiol.* 2003; 52 (Pt 3):193–200.
21. *Jungwirth A, Straberger A, Esterbauer B, Fink K, Schmeller N.* Acrosome reaction in Chlamydia-positive and negative patients. *Andrologia.* 2003; 35(5):314–316.
22. *Ochsendorf FR.* Infections in the male genital tract and reactive oxygen species. *Hum. Reprod. Update.* 1999; 5(5): 399–420.