



Шестое руководство ВОЗ по обработке и исследованию эякулята: всё новое — это хорошо забытое старое?

© Ю.В. Олефир¹, И.В. Виноградов², М.А. Родионов³, Андрей Р. Живулько⁴,
Д.М. Попов⁵, Д.М. Монаков²

¹ Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова (Сеченовский Университет) [Москва, Россия]

² Российский университет дружбы народов [Москва, Россия]

³ Медицинский центр вспомогательных репродуктивных технологий [Москва, Россия]

⁴ Центр иммунологии и репродукции [Москва, Россия]

⁵ Клиническая больница «РЖД-Медицина» им. Н. А. Семашко [Москва, Россия]

Аннотация

Несмотря на отдельные недостатки, спермограмма остаётся ведущим методом оценки мужской фертильности. Уже несколько десятилетий ВОЗ работает над стандартизацией методики исследования эякулята человека. В 2021 году издано уже шестое руководство по обработке и исследованию эякулята человека, в котором предложен ряд концепций по выполнению и интерпретации результатов исследования эякулята. Многие из этих концепций не являются новыми и ранее уже рассматривались в предыдущих руководствах. Вместе с тем отказ от референсных значений и переход к «пределам принятия решений» вызывает ряд вопросов, ответа на которые пока нет.

Ключевые слова: спермограмма; мужское бесплодие; подвижность сперматозоидов; оксидативный стресс

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки. **Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. **Вклад авторов.** Авторы внесли эквивалентный вклад в проведение исследования и написание статьи.

✉ **Корреспондирующий автор:** Андрей Романович Живулько; e-mail: a.zhivulko@yandex.ru

Поступила в редакцию: 21.11.2022. **Принята к публикации:** 10.01.2023. **Опубликована:** 26.03.2023.

Для цитирования: Олефир Ю.В., Виноградов И.В., Родионов М.А., Живулько А.Р., Попов Д.М., Монаков Д.М. Шестое руководство ВОЗ по обработке и исследованию эякулята: всё новое — это хорошо забытое старое? *Вестник урологии.* 2023;11(1):171-176. DOI: 10.21886/2308-6424-2023-11-1-171-176.

The Sixth Edition of the WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen: is everything new a well-forgotten old?

Yu.V. Olefir¹, I.V. Vinogradov², M.A. Rodionov³, A.R. Zhyvulko⁴, D.M. Popov⁵,
D.M. Monakov²

¹ Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University) [Moscow, Russian Federation]

² Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University) [Moscow, Russian Federation]

³ Moscow Medical Centre for Assisted Reproductive Technologies [Moscow, Russian Federation]

⁴ Moscow Centre for Immunology and Reproduction [Moscow, Russian Federation]

⁵ Semashko Clinical Hospital "Russian Railways-Medicine" (RZD-Medicine) [Moscow, Russian Federation]

Abstract

Despite many shortcomings, the semen analysis remains the leading method of male fertility assessment. For several decades, the WHO has been working on standardisation of the methodology for examining human ejaculate. In 2021, the sixth edition of WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen was released, which proposed several concepts for performing and interpreting the results of a semen analysis. Many of these concepts are not new and have already been covered in previous tutorials. At the same time, the rejection of reference values and the transition to "decision limits" raises several questions that have not yet been answered.

Keywords: semen analysis; male infertility; sperm motility; oxidative stress

Financing. The study was not sponsored. **Conflict of interests.** The authors declare no conflicts of interest. **Authors' contribution.** The authors made equivalent contributions to the study and manuscript.

✉ **Corresponding author:** Andrey R. Zhyvulko; e-mail: a.zhyvulko@yandex.ru

Received: 11/21/2022. **Accepted:** 01/10/2023. **Published:** 03/26/2023.

For citation: Olefir Yu.V., Vinogradov I.V., Rodionov M.A., Zhyvulko A.R., Popov D.M., Monakov D.M. The Sixth Edition of the WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen: is everything new a well-forgotten old? *Urology Herald*. 2023;11(1):171-176. (In Russ.). DOI: 10.21886/2308-6424-2023-11-1-171-176.

Введение

Мужское бесплодие — распространённое состояние, делающее значительный вклад в демографические проблемы, крайне характерные для современной России [1 – 4]. Спермограмма является основным методом на начальном этапе диагностики мужского бесплодия. Это исследование позволяет оценить мужской репродуктивный потенциал, а также определить наиболее эффективную тактику лечения супружеской пары. В течение последних 40 лет эксперты ВОЗ пытаются стандартизировать методику исследования эякулята. Первое издание руководства ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека было опубликовано в 1980 году. С тех пор было издано 5 обновлений этого руководства, в каждом из которых делается попытка интерпретировать имевшиеся на момент публикации статистические данные для разделения популяции фертильных и бесплодных мужчин. В каждом новом руководстве производится анализ, учёт и исправление недостатков предыдущих изданий.

В марте 2021 года ВОЗ выпустило предварительную версию шестого издания для публичного обсуждения и предложений [5]. По сути, новое руководство состоит из трёх частей: исследование спермы, подготовка и криоконсервация эякулята, контроль и обеспечение качества. Разделы, касающиеся процедуры исследования спермы, включают в себя базовые (рутинные) исследования, дополнительные исследования (которые могут использоваться лабораториями или клиницистами в определённых ситуациях) и так называемые «продвинутые» (прогрессивные) тесты (которые в настоящее время не рекомендуются для рутинного использования и предназначены в основном для исследовательских целей). В шестом издании процедура выполнения исследования расписана детально и поэтапно для того, чтобы техника выполнения была точно воспроизведена в других лабораториях. Разделы расширенных и углублённых обследований были полностью

переработаны в соответствии с текущей клинической практикой.

В данной публикации мы рассматриваем основные изменения, внесённые в шестое издание руководства ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека, их достоинства и недостатки, а также их влияние на текущую клиническую практику.

Пределы принятия решения

Одним из наиболее значимых изменений, предложенных в обновленной версии руководства ВОЗ, является предложение отказаться от референсных интервалов, так как они не позволяют достоверно дифференцировать фертильных и бесплодных пациентов. Референсные интервалы, принятые в пятом издании ВОЗ, были основаны на данных популяционных исследований, включавших 1800 фертильных пациентов [6]. В качестве референсного значения в пятом издании был взят 5-й процентиль. Решение о принятии такого нижнего порогового значения критиковалось в связи с тем, что не позволяло однозначно дифференцировать бесплодных и фертильных мужчин [7]. В ряде исследований также отмечалось, что использование референсных значений, принятых в пятом издании, вместо установленных четвертым изданием, приводит к тому, что от 15% до 44% мужчин со снижением фертильности будут иметь нормозооспермию [8 – 11]. По этой причине многие специалисты в области репродуктивной медицины считают, что пороговые значения, принятые в пятом издании, не позволяют адекватно отразить потенциал фертильности многих пациентов, наблюдающихся в клиниках репродукции.

Необходимо сказать, что не существует и, вероятно, не может существовать референсных интервалов, которые бы полностью позволяли решить проблему диагностики бесплодия и отделения однозначно бесплодных от фертильных индивидуумов.

В связи с этим в шестом издании выдвигается предложение об отказе от референсных значений и переходе к так на-

зываемым «пределам принятия решения», которые представляют из себя разделение значений показателей спермограммы на диапазоны, характерные для фертильных, бесплодных, а также выделение области пограничных значений — серую зону. Предлагается считать попадание значений спермограммы конкретного пациента в тот или иной диапазон ориентиром для клинициста в отношении тактики диагностики и лечения, собственно, почему эти диапазоны и были названы «пределами принятия решения». Необходимо сказать, что этот подход не является новым. Ещё в 2001 году D. S. Guzick et al. была предложена концепция 2 уровней референсных значений с выделением «серой зоны». Ими были исследованы результаты минимум двух спермограмм 765 бесплодных пациентов, а также 696 фертильных мужчин. У супруг мужчин, участвовавших в обследовании, женского фактора бесплодия выявлено не было. В соответствии с данными исследования у субфертильных мужчин определились показатели концентрации сперматозоидов менее $13,5 \times 10^6/\text{мл}$, подвижности менее 32% и нормальной морфологии менее 9%. Группа фертильных пациентов имела концентрации сперматозоидов более $48,0 \times 10^6/\text{мл}$, подвижность — более 63%, и нормальную морфологию — более 12%. Показатели в промежутке между этими двумя уровнями значений, таким образом, попадают в серую зону [12].

Безусловно, применение лимитов принятия решения теоретически позволило бы делать более правильное суждение относительно клинической ситуации, так как вводило бы биологически более правильное понимание нормы в отношении фертильности обследуемых.

Принятие серой или пограничной зоны, вероятно, оказало бы значительный эффект на клиническую практику специалистов андрологов, так как многие пациенты вместо того, чтобы быть сразу направлены на ЭКО в связи с идиопатическим бесплодием, теперь, вполне вероятно, будут находиться в серой зоне и будут рассматриваться как пациенты со снижением фертильности и по этой причине будут направлены к андрологу и будут более тщательно и углубленно обследованы, что, безусловно, может повысить эффективность лечения бесплодия в паре.

Однако отмена референсных значений приведёт и к отмене терминов олиго-, астено-, тератозооспермии. Каким в таком случае должно быть заключение спермограммы? Какие диапазоны значений должны быть приняты в качестве «лимитов принятия решения» и на основе какого объёма данных они должны быть разработаны?

На эти вопросы на сегодняшний день ответа нет.

Новые данные

Несмотря на «призыв» отказаться от референсных значений, эксперты ВОЗ в шестом издании выполнили перерасчёт 5-го перцентиля на основе обновлённых данных и результатов исследований, опубликованных до 2020 года. В шестое издание вошли данные из 5 новых исследований, которые включали данные из 2 регионов Европы и Азии, а также одного региона Африки. Однако необходимо отметить, что подавляющее большинство пациентов азиатского региона представлено жителями Китая, что безусловно является специфическим фактором, так как данные китайской популяции могут неоднозначно отражать характеристики населения других регионов Азии. Также настоящее руководство подвергается критике за отсутствие исследований популяции стран Латинской Америки [13].

Вопрос подвижности

Отдельного обсуждения заслуживают изменения в системе оценки подвижности. Пятое издание подвергалось критике за решение убрать оценку прогрессивной подвижности по категориям. В шестом издании мы видим вновь присутствие этих категорий: быстро прогрессивно подвижные сперматозоиды,двигающиеся со скоростью более 25 мкм/с, медленно прогрессивно подвижные двигающиеся со скоростью от 5 до 25 мкм/с, непрогрессивно подвижные (< 5 мкм / или менее одной длины головки и неподвижные, нет движения хвостом). Это действительно очень «ожидаемое» изменение или, скорее сказать, возврат к позиции четвёртого издания, так как такая классификация позволяет лучше оценить такую важную характеристику сперматозоидов, как подвижность, что в свою очередь позволяет лучше в целом оценить потенциал фертильности.

MAR-тест

Необходимо также сказать об изменении позиции специалистов ВОЗ по вопросу порогового значения для процента сперматозоидов, связанных антиспермальными антителами. На сегодняшний день не существует нижнего референсного значения для подтверждения наличия у пациента иммунного фактора мужского бесплодия, который бы отвечал имеющимся на сегодняшний день стандартам доказательной медицины. В пятом издании руководства принималось консенсусное мнение экспертов об определении порогового значения для сперматозоидов, связанных антиспермальными антителами в 50% [6]. Однако в шестом издании руководства ВОЗ не делается акцент на какое-либо определённое референсное значение. Вместо этого предлагается, чтобы каждая лаборатория определяла свои пороговые показатели с помощью тестирования достаточно большого количества фертильных мужчин [5].

Новые методы

Важное нововведение также касается оценки целостности генетического материала сперматозоидов. Редакторы шестого издания включили тест фрагментации ДНК сперматозоидов в список расширенных методов. В деталях были описаны такие методики, как TUNEL, Comet, SCD, а также внесены примечания по клинической интерпретации этих тестов. В том, что касается референсных значений, авторы шестого издания говорят о том, что каждая лаборатория должна самостоятельно определять референсные значения для каждого из тестов оценки целостности генетического материала сперматозоидов исходя из практики. Безусловно оценка целостности генетического материала сперматозоидов является важным компонентом оценки потенциала фертильности пациента. Авторы шестого издания руководства отмечают, что анализ Comet включает несколько эта-

пов, требует высокого уровня подготовки лаборантов и имеет высокий уровень межлабораторной вариативности, в связи с чем может не подходить для некоторых лабораторий.

Редакторы руководства не рассматривали клиническую значимость этих анализов и не предоставили никаких указаний относительно показаний для тестирования.

Авторы шестого издания подчеркнули значимость исследования уровня оксидативного стресса и посвятили отдельный подраздел этому исследованию. Вероятно, по причине ограниченной доступности методов определения активных радикалов подраздел, посвящённый этой проблеме, был включён в раздел «продвинутых» методов и в большей степени ещё должен рассматриваться как метод, применяемый в научных исследованиях. Однако, учитывая большое количество публикуемых исследований, говорящих о влиянии избыточной продукции активных форм кислорода на мужскую фертильность, а также выделении многими авторами мужского бесплодия, вызванного оксидативным стрессом, как отдельной клинической сущности [14], исследование уровня окислительного стресса может рассматриваться в отдельных клинических ситуациях.

Заключение

Серия изданий руководств ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека, безусловно, отражает эволюцию представлений об оценке мужской фертильности. Авторы нового руководства учли и исправили недостатки предыдущих изданий. Некоторые концепции, которые были приняты ранее, а затем упразднены, вновь пересмотрены и возвращены на страницы руководства. Несмотря на нововведения, многие проблемы, связанные со сложностью оценки мужской фертильности, по-прежнему остаются нерешёнными.

Список литературы | References

1. Аполихин О.И., Москвин С.В. Лазерная терапия при мужском бесплодии. Ч. 1. Этиология и патогенез. Экспериментальные исследования. *Урология*. 2017;(5):115-123. Apolikhin O.I., Moskvina S.V. Laser therapy for male infertility. Part 1. Etiology and pathogenesis. experimental studies. *Urologiya*. 2017;(5):115-123. (In Russian). DOI: 10.18565/urology.2017.5.115-123
2. Аполихин О.И., Красняк С.С. Влияние алкоголя на мужскую репродуктивную систему. *Общественное здоровье*. 2021;1(2):62-69. Apolikhin O.I., Krasnyak S.S. The impact of alcohol on the male reproductive system. *Public Health*. 2021;1(2):62-69. (In Russian). DOI: 10.21045/2782-1676-2021-1-2-62-69

3. Боровец С.Ю., Москвин С.В. Методики лазерной терапии при мужском бесплодии. *Вестник урологии*. 2017;5(3):49-61.
Borovets S.Yu., Moskvina S.V. Laser therapy techniques for the treatment of male infertility. *Urology Herald*. 2017;5(3):49-61. (In Russian).
DOI: 10.21886/2308-6424-2017-5-3-49-61
4. Гамидов С.И., Овчинников Р.И., Попова А.Ю., Наумов Н.П., Гасанов Н.Г. Роль мужского фактора бесплодия в программе вспомогательных репродуктивных технологий (обзор литературы). *Андрология и генитальная хирургия*. 2017;18(3):28-36.
Gamidov S.I., Ovchinnikov R.I., Popova A.Yu., Naumov N.P., Gasanov N.G. Role of male infertility in assisted reproductive technology programs (a literature review). *Andrology and Genital Surgery*. 2017;18(3):28-36. (In Russian).
DOI: 10.17650/2070-9781-2017-18-3-28-36
5. World Health Organization (WHO). *WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, sixth edition*. Geneva: World Health Organization; 2021.
6. World Health Organization (WHO). *WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen*. 5th ed. Geneva: WHO; 2010.
7. Patel AS, Leong JY, Ramasamy R. Prediction of male infertility by the World Health Organization laboratory manual for assessment of semen analysis: A systematic review. *Arab J Urol*. 2017;16(1):96-102.
DOI: 10.1016/j.aju.2017.10.005
8. Esteves SC, Zini A, Aziz N, Alvarez JG, Sabanegh ES Jr, Agarwal A. Critical appraisal of World Health Organization's new reference values for human semen characteristics and effect on diagnosis and treatment of subfertile men. *Urology*. 2012;79(1):16-22.
DOI: 10.1016/j.urology.2011.08.003
9. Alshahrani S, Aldossari K, Al-Zahrani J, Gabr AH, Henkel R, Ahmad G. Interpretation of semen analysis using WHO 1999 and WHO 2010 reference values: Abnormal becoming normal. *Andrologia*. 2018;50(2).
DOI: 10.1111/and.12838
10. Esteves SC. Clinical relevance of routine semen analysis and controversies surrounding the 2010 World Health Organization criteria for semen examination. *Int Braz J Urol*. 2014;40(4):443-53.
DOI: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2014.04.02
11. Murray KS, James A, McGeedy JB, Reed ML, Kuang WW, Nangia AK. The effect of the new 2010 World Health Organization criteria for semen analyses on male infertility. *Fertil Steril*. 2012;98(6):1428-31.
DOI: 10.1016/j.fertnstert.2012.07.1130
12. Guzik DS, Overstreet JW, Factor-Litvak P, Brazil CK, Nakajima ST, Coutifaris C, Carson SA, Cisneros P, Steinkampf MP, Hill JA, Xu D, Vogel DL; National Cooperative Reproductive Medicine Network. Sperm morphology, motility, and concentration in fertile and infertile men. *N Engl J Med*. 2001;345(19):1388-93.
DOI: 10.1056/NEJMoa003005
13. Nzisa J. The Evolution of the World Health Organization (WHO) Manual on Semen Analysis. *EMJ Repro Health*. 2021;7(1):23-26.
URL: <https://doi.org/10.33590/emjreprohealth/21F0810>
14. Agarwal A, Parekh N, Panner Selvam MK, Henkel R, Shah R, Homa ST, Ramasamy R, Ko E, Tremellen K, Esteves S, Majzoub A, Alvarez JG, Gardner DK, Jayasena CN, Ramsay JW, Cho CL, Saleh R, Sakkas D, Hotaling JM, Lundy SD, Vij S, Marmar J, Gosalvez J, Sabanegh E, Park HJ, Zini A, Kavoussi P, Micic S, Smith R, Busetto GM, Bakircioglu ME, Haidl G, Balercia G, Puchalt NG, Ben-Khalifa M, Tadros N, Kirkman-Browne J, Moskvovtsev S, Huang X, Borges E, Franken D, Bar-Chama N, Morimoto Y, Tomita K, Srini VS, Ombelet W, Baldi E, Muratori M, Yumura Y, La Vignera S, Kosgi R, Martinez MP, Evenson DP, Zylbersztejn DS, Roque M, Cocuzza M, Vieira M, Ben-Meir A, Orvieto R, Levitas E, Wiser A, Arafat M, Malhotra V, Parekattil SJ, Elbardisi H, Carvalho L, Dada R, Sifer C, Talwar P, Gudeloglu A, Mahmoud AMA, Terras K, Yazbeck C, Nebojsa B, Durairajanayagam D, Mounir A, Kahn LG, Baskaran S, Pai RD, Paoli D, Leisegang K, Moein MR, Malik S, Yaman O, Samanta L, Bayane F, Jindal SK, Kendirci M, Altay B, Perovic D, Harlev A. Male Oxidative Stress Infertility (MOSI): Proposed Terminology and Clinical Practice Guidelines for Management of Idiopathic Male Infertility. *World J Mens Health*. 2019;37(3):296-312.
DOI: 10.5534/wjmh.190055

Сведения об авторах

Юрий Витальевич Олефир — доктор медицинских наук, доцент; профессор Института урологии и репродуктивного здоровья человека ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)
г. Москва, Россия
<https://orcid.org/0000-0001-7652-4642>
litostar@mail.ru

Игорь Владимирович Виноградов — доктор медицинских наук, профессор; профессор кафедры урологии и оперативной нефрологии с курсом онкоурологии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»
г. Москва, Россия
<https://orcid.org/0000-0001-7469-3952>
ivvinogradov@mail.ru

Михаил Андреевич Родионов — врач-уролог ООО «Медицинский Центр ВРТ»
г. Москва, Россия
<https://orcid.org/0000-0002-4145-0185>
doctor.m.a.rodionov@gmail.ru

Information about the authors

Yury V. Olefir — M.D., Dr.Sc.(Med), Assoc.Prof.(Docent); Prof., Institute of Urology and Human Reproductive Health, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University)
Moscow, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0001-7652-4642>
litostar@mail.ru

Igor V. Vinogradov — M.D., Dr.Sc.(Med), Full Prof.; Prof., Dept. of Urology and Surgical Nephrology with Oncological Urology Course, People's Friendship University of Russia (RUDN University)
Moscow, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0001-7469-3952>
ivvinogradov@mail.ru

Mikhail A. Rodionov — M.D.; Urologist, Moscow Medical Centre for Assisted Reproductive Technologies
Moscow, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0002-4145-0185>
doctor.m.a.rodionov@gmail.ru

Андрей Романович Живулько — врач-уролог ООО «Центр иммунологии и репродукции»
г. Москва, Россия
<https://orcid.org/0000-0002-1651-4343>
a.zhivulko@yandex.ru

Дмитрий Михайлович Попов — врач-уролог Центра урологии, нефрологии и литотрипсии ЧУЗ «Клиническая Больница «РЖД-Медицина» им. Н.А. Семашко»
г. Москва, Россия
<https://orcid.org/0009-0005-1229-504X>
doctorpopoff@yandex.ru

Дмитрий Михайлович Монаков — кандидат медицинских наук; ассистент кафедры урологии и оперативной нефрологии с курсом онкоурологии ФGAOU BO «Российский университет дружбы народов»
г. Москва, Россия
<https://orcid.org/0000-0002-9676-1802>
gvvk-monakov@mail.ru

Andrey R. Zhyvulko — M.D.; Urologist, Moscow Centre for Immunology and Reproduction
Moscow, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0002-1651-4343>
a.zhivulko@yandex.ru

Dmitry M. Popov — M.D.; Urologist, Centre for Urology, Nephrology and Lithotripsy, Semashko Clinical Hospital “Russian Railways-Medicine” (RZD-Medicine)
Moscow, Russian Federation
<https://orcid.org/0009-0005-1229-504X>
doctorpopoff@yandex.ru

Dmitry M. Monakov — M.D. Cand.Sc.(Med); Assist.Prof., Dept. of Urology and Surgical Nephrology with Oncological Urology Course, People’s Friendship University of Russia (RUDN University)
Moscow, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0002-9676-1802>
gvvk-monakov@mail.ru